

Alessandra Armstrong Antunes

**Investigação dos Níveis Plasmáticos da Interleucina-6, em
Pacientes com Trauma Cranioencefálico Fechado, com
Hemorragia Intracerebral.**

Curitiba

2008

Alessandra Armstrong Antunes

**Investigação dos Níveis Plasmáticos da Interleucina-6, em
Pacientes com Trauma Cranioencefálico Fechado, com
Hemorragia Intracerebral.**

*Dissertação de Mestrado Apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências da
Saúde da Pontifícia Universidade Católica do
Paraná, para Obtenção do Título de Mestre.*

Orientador: Dr. Luiz Roberto Aguiar

Co-Orientadora: Dra. Vanessa Santos Sotomaior

Curitiba

2008

Agradecimentos

Aos Amigos e Familiares

“Agradeço a todos que me apoiaram nessa jornada. Esta conquista só foi possível por existir a minha volta amigos verdadeiros, com ou sem laços de sangue, que acreditaram em mim. Em especial ao meu marido Fulvio Jefferson Cordeiro e aos meus pais Silvio Marcio Antunes e Araci Armstrong Antunes, que estiveram todo o tempo ao meu lado, confortando-me nos momentos mais difíceis com palavras de sabedoria.”

Apoio Técnico

“O sucesso deste estudo dependeu de pessoas que participaram direta ou indiretamente das etapas de pesquisa. Agradeço aos médicos e residentes do Hospital Universitário Cajuru (HUC), em especial aos acadêmicos de medicina Keyth Suga Sakamoto e Cyro Pereira de Camargo Neto, que dispuseram de dedicação integral para a captação e coleta de amostra dos pacientes. Ao laboratório de Imunogenética do HUC, em especial à Dra. Cristina von Glehn, que permitiu a utilização do laboratório para o processamento e armazenamento das amostras coletadas. À Dra. Andréa Emília Marques Stinghen, por disponibilizar a estrutura física do laboratório NIMA (Núcleo de Investigação Molecular Avançada) e por acompanhamento das etapas de quantificação imunológica. E à Dra. Márcia Olandoski pela colaboração nas análises estatísticas”.

Aos Orientadores

“É muito difícil a caminhada em busca de conhecimento e certamente a dificuldade seria infinitamente maior se não houvesse alguém para me guiar. Agradeço aos meus orientadores Dr. Luiz Roberto Aguiar e Dra. Vanessa Santos Sotomaior pelas palavras e direcionamento”.

A todos aqui citados e aos que estão gravados em meu coração o meu muito obrigada.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	i
RESUMO	01
INTRODUÇÃO	02
1. Escala de Coma de Glasgow	03
2. Fisiopatologia do Trauma	04
2.1. <i>Injúria Primária</i>	04
2.2. <i>Desenvolvimento e Estabelecimento da Injúria Secundária</i>	05
2.3. <i>Processo de Regeneração Tecidual</i>	08
3. Resposta Inflamatória e Sistema Nervoso Central	10
3.1. <i>Neuroinflamação</i>	11
3.2. <i>Citocinas</i>	16
JUSTIFICATIVA E OBJETIVO	18
ARTIGO CIENTÍFICO	20
Abstract	21
Introduction	22
Materials and Methods	24
Results	28
Discussion	31
Reference	36
Figures	43
Annex	45
CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Ácido Araquidônico
AMPc	Adenosina Monofosfato Cíclica
APCs	Células Apresentadoras de Antígenos
BBB	Barreira Hematoencefálica
COX	Ciclooxigenase
COX1	Ciclooxigenase 1
COX2	Ciclooxigenase 2
CSF	Fluido Cerebro Espinhal
CSPG	Condroitin Sulfatoproteoglicano
GAP-43	Proteína Associada ao crescimento
GCS	Escala de Coma de Glasgow
IFN-γ	Interferon gama
IL	Interleucina
IL- 1	Interleucina 1
IL- 6	Interleucina 6
IL-12	Interleucina 12
IL-18	Interleucina 18
LO	Lipoxigenases
LPS	Lipopolissacarídeos
LT	Leucotrienos
MAG	Glicoproteína Associada à Mielina
MHC	Complexo Principal de Histocompatibilidade
MHCI	Complexo Principal de Histocompatibilidade de classe I
MHCII	Complexo Principal de Histocompatibilidade de classe II
NK	Células Matadoras Naturais
NO	Óxido Nítrico
OMgp	Glicoproteína de Oligodendrócitos da Mielina
PGF_{2α}	Prostaglandina F _{2α} Vasoconstritora
PL	Peroxidação Lipídica
SCRA	Síndrome Compensatória da Resposta Anti-inflamatória
SNC	Sistema Nervoso Central

TAC	Tomografia Axial Computadorizada
TCE	Traumatismo Cranioencefálico
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
TXA₂	Tromboxanos A ₂

RESUMO

Em pacientes com traumatismo cranioencefálico fechado, com hemorragia intracerebral, é comum observar evoluções clínicas distintas, em decorrência da progressão da lesão. Em alguns, a lesão inicial focal tende a desaparecer em poucos dias, entretanto, em outros, ocorre uma extensão da área inicial e conseqüentemente o agravamento clínico destes pacientes. Os processos de injúria secundária parecem ser os responsáveis pela determinação da evolução da lesão inicial, sendo os principais contribuintes a injúria hipóxico/isquêmica e o mecanismo de neuroinflamação. Embora a resposta inflamatória tenha como função a recuperação tecidual, no sistema nervoso central (SNC) os mecanismos inflamatórios acabam por contribuir para o dano cerebral. Ainda não é conhecido claramente de que maneira os mediadores celulares e as células imunológicas participam do estabelecimento deste dano. Entre os mediadores celulares sintetizados mediante insulto inflamatório, a IL-6 tem sido relacionada com a resposta imunológica no SNC, sendo observado que sua concentração pode aumentar no plasma e no fluido cerebro espinhal de pacientes com injúrias cerebrais. O presente estudo quantificou os níveis plasmáticos de IL-6 em 30 pacientes com trauma cranioencefálico fechado e hemorragia intracerebral, e acompanhou suas evoluções clínicas nas primeiras 72 horas pós-trauma. A média dos níveis de IL-6 foi de 18,556 ($\pm$ 4,887) e 15,976 ($\pm$ 5,692) pg/ml, para as quantificações realizadas 6 e 12 horas depois do trauma. Foi encontrada associação entre o prognóstico clínico do paciente e o nível plasmático de IL-6 quantificado 6 ($p = 0,0001$) e 12 horas após o trauma ($p = 0,0001$) e correlação entre os níveis de IL-6 após 6 horas do trauma e os volumes das lesões intracerebrais analisados na TAC de admissão ($r = 0,370$; $p = 0,0466$) e de controle ($r = 0,403$; $p = 0,0328$). Pacientes com prognóstico ruim apresentam maiores níveis de produção plasmática desta interleucina ($p < 0,0001$). Estes resultados mostram que os níveis plasmáticos de IL-6 estão associados com o prognóstico clínico dos pacientes, e correlacionados com a evolução da lesão inicial.

INTRODUÇÃO

Os traumatismos cranioencefálicos (TCE) representam um grave problema social devido ao elevado número de casos deste tipo de lesão na população mundial e às suas conseqüências ou seqüelas, entre as quais alterações físicas, cognitivas e de comportamento (Junqué et al. 2001; Kruijk et al. 2002), causando uma tensão financeira e psicológica nos familiares e amigos da vítima (Becker et al. 1988). Segundo o *National Head Injury Foundation*, o trauma cranioencefálico é definido como o “comprometimento do cérebro causado por uma força externa que pode produzir uma diminuição ou alteração do estado de consciência, acarretando uma alteração das habilidades cognitivas ou de funcionamento físico” (Junqué et al. 2001).

Várias são as causas do dano cerebral traumático – quedas, acidentes de trabalho, práticas desportivas, agressões, maus tratos na infância, entre outros. Porém, os decorrentes de acidentes de trânsito são os mais freqüentes (Junqué et al. 2001; Annegers et al. 1980).

As conseqüências do dano cerebral, produzido a partir de um trauma cranioencefálico, são dependentes tanto do tipo de lesão quanto da intensidade do traumatismo, sendo estes os determinantes do grau das alterações neurológicas e psicológicas sofridas pelo paciente, variando desde pequenos comprometimentos até um estado vegetativo persistente ou morte (Junqué et al. 2001; Kruijk et al. 2002).

Ainda é incógnito o mecanismo responsável pela determinação da evolução da lesão inicial em cura ou agravamento/morte do paciente. Porém estudos corroboram com a importância do processo inflamatório e a expressão das proteínas nele envolvidas, inclusive de IL-6 (Beamer et al. 1995; Kaplin et al. 2005; Smith et al. 2004; Osuka et al. 1996; Woiciechowsky et al. 1997; Woiciechowsky et al. 2002). Portanto, este é um tema de estudo relevante para o desenvolvimento de testes diagnósticos capazes de prever a evolução do trauma e permitir uma atividade profilática a fim de evitar o agravamento e/ou posterior morte do paciente.

1. ESCALA DE COMA DE GLASGOW

Como medida de prognóstico inicial é utilizada a escala de coma de Glasgow (GCS) que determina o nível de consciência do paciente no momento da admissão hospitalar e em momentos subseqüentes (Annegers et al. 1980; Kruijk et al. 2002; van der Naalt et al. 1999; Narayan et al. 2003; Teasdale and Jannett 1974; Thornhill et al. 2000; Wiese 2003). A pontuação varia entre 3 e 15 e permite subdividir o TCE de acordo com a gravidade: grau leve (entre 13 e 15 pontos), moderado (entre 9 e 12 pontos) e grave (entre 3 e 8 pontos) (Kruijk et al. 2002; van der Naalt et al. 1999, Thornhill et al. 2000). Os traumas de grau moderado representam 10% do total de injúrias traumáticas, sendo o mesmo valor observado nos traumas de grau grave, enquanto que os de grau leve representam 80% dos traumas (Narayan et al. 2002; Teasdale and Jannett 1974).

A GCS original foi proposta em 1974 por Teasdale e colaboradores para determinar o prognóstico de pacientes com TCE. A escala é composta de 3 etapas: 1º) análise da resposta motora, 2º) análise da resposta verbal e 3º) análise da abertura dos olhos.

A análise da resposta motora avalia a maneira como o paciente responde a um comando motor ou a maneira como responde a um estímulo local doloroso (avaliando a presença de uma resposta motora de retirada, flexora ou extensora). A análise da resposta verbal baseia-se na determinação da orientação do paciente, enquadrando-o como orientado, resposta confusa, uso de palavras inapropriadas, incompreensão total da fala ou ausência de resposta. A análise da abertura dos olhos determina se a ação ocorre espontaneamente, ou em resposta a um comando verbal, estímulo doloroso ou se não há abertura dos olhos (Teasdale and Jannett 1974) (Quadro - 1).

Somente a GCS não é suficiente para a obtenção de dados precisos sobre a real situação do paciente, devendo ser realizado um exame neurológico completo e, algumas vezes, este deve ser complementado por estudo radiológico, RX e/ou tomografia axial computadorizada (TAC) de crânio. Esta última provê dados adicionais que podem informar sobre a severidade da injúria traumática (deslocamento da linha média, obliteração ou apagamento de cisternas basais, efeito massa, edema hemisférico) e sobre o risco de

complicações e infecções, e permitem um controle clínico melhor do paciente (Woiciechowsky et al. 2002).

Quadro – 1. Elementos e suas pontuações na Escala de Coma de Glasgow

RESPOSTA MOTORA	
Pontuação	Característica
6	Obedece a ordens verbais
5	Localiza estímulos dolorosos
4	Retirada inespecífica a dor
3	Resposta flexora
2	Resposta extensora
1	Sem resposta motora
RESPOSTA VERBAL	
Pontuação	Característica
5	Sentido orientado
4	Resposta confusa
3	Uso de palavras inapropriadas
2	Incompreensão total da fala
1	Ausência de resposta
ABERTURA DOS OLHOS	
Pontuação	Característica
4	Olhos se abrem espontaneamente
3	Olhos se abrem a um comando verbal
2	Olhos se abrem a um estímulo doloroso
1	Não há abertura dos olhos

Fonte: Teasdale and Jannett (1974).

2. FISIOPATOLOGIA DO TRAUMA CEREBRAL

O trauma cranioencefálico é um processo complexo que inclui a injúria primária, o desenvolvimento e estabelecimento da injúria secundária e o processo de regeneração tecidual (Reilly 2001).

2.1. INJÚRIA PRIMÁRIA

A caracterização da injúria primária é feita pela avaliação da lesão sofrida pelo tecido cerebral em consequência da transmissão de energia cinética ao crânio e/ou de mecanismos de deslocamento excessivo da massa cerebral, onde as lesões formadas podem ser decorrentes do mecanismo de golpe, produzidas na área do impacto, ou de contra-golpe, lesões produzidas do lado oposto ao golpe, consequência do processo de aceleração/desaceleração (Junqué et al. 2001; Kruijk et al. 2002; Becker et al 1988).

A injúria primária refere-se às modificações estruturais e funcionais apresentadas pelo cérebro após o insulto traumático. O tecido lesado forma uma região de necrose, onde existe tecido perdido ou que vai se perder, ou seja, não há como recuperar funcionalmente esta área (Ibarra 2005; Kipnis et al. 2001; Teasdale and Graham 1998). Entretanto, a quantidade de tecido pertencente à região de necrose, de forma geral, não é o suficiente para gerar um prognóstico desfavorável do paciente, a piora clínica do indivíduo está relacionada à extensão da lesão inicial (Ibarra 2005; Teasdale and Graham 1998).

Ao redor da área de necrose está a área de penumbra, onde existe tecido parcialmente lesado e comprometido e capaz de recuperação. Este tecido é vulnerável a processos hipóxicos/isquêmicos (Ibarra 2005; Menon et al. 2003). Qualquer mecanismo que resulte em um processo isquêmico prolongado inviabiliza a recuperação na área de penumbra, resultando em extensão da área de necrose. Estes eventos resultam na progressão da injúria primária (Ibarra 2005).

2.2. DESENVOLVIMENTO E ESTABELECIMENTO DA INJÚRIA SECUNDÁRIA

A injúria secundária caracteriza-se pelas alterações bioquímicas e fisiológicas que são iniciadas pelo insulto primário e estabelecem uma deficiência neurológica pós-traumática (DeKosky et al. 1998; Ibarra 2005). Os mecanismos responsáveis por esta evolução iniciam um processo destrutivo que resulta no dano de neurônios ilesos na injúria primária, mediado principalmente por agentes tóxicos (Hall and Springer. 2004; Hauben et al. 2001; Kipnis et al. 2001; Kwon et al. 2002; Yoles et al. 2001).

A injúria secundária pode ser consequência de edema, processos isquêmicos, citotóxicos, apoptóticos e inflamatórios (Ibarra 2005).

Em consequência à lesão primária ocorrem mudanças na permeabilidade vascular do tecido cerebral. Os principais eventos associados são: a isquemia/hipóxia no momento da injúria, ocorrida nas regiões de maior concentração arterial no cérebro (os espasmos arteriais são frequentes após a

injúria) e o edema, sendo este o maior fator contribuinte para o aumento da pressão intracraniana. O inchaço do hemisfério cerebral resulta do aumento da permeabilidade capilar cerebral, resultante da perda de regulação fisiológica (Becker et al. 1988).

Em resposta ao processo de injúria primária uma série de eventos induz a despolarização e abertura de canais iônicos voltagem-dependentes (Na^+ , K^+ , Ca^{2+}) nos neurônios e a apoptose celular. Uma variedade de neurotransmissores, como o glutamato, pode causar a abertura de canais iônicos glutamato-dependentes (NMDA, AMPA) ocasionando um importante distúrbio iônico que resulta no acúmulo de Ca^{2+} intracelular, iniciando efeitos danosos que incluem: (1) disfunção mitocondrial – déficit do metabolismo aeróbico e acúmulo de lactato, (2) síntese de óxido nítrico (NO) por ativação mitocondrial e citoplasmática, (3) ativação de fosfolipase A_2 – ocasionando liberação de ácido araquidônico (AA) que é convertido em ciclooxygenases (COX) COX1 e COX2, liberando prostaglandina $F_{2\alpha}$ vasoconstritora ($\text{PGF}_{2\alpha}$), tromboxanos A_2 (TXA_2) e lipoxigenases (LO). Como resultado tem-se a síntese de leucotrienos (LT), quimioatraentes de leucócitos e macrófagos e a ativação por cálcio de cisteína-proteases e a (4) degradação do citoesqueleto (Hall and Springer 2004) (Figura - 1).

A disfunção mitocondrial produz NO e ativa o complexo COX e LO resultando na formação de espécies reativas de oxigênio (radicais livres) (Becker et al. 1988; Hall and Springer 2004), incluindo ânion peroxinitrito (ONOO^-) (Hall and Springer 2004). Alguns peroxinitritos podem danificar a célula através da peroxidação lipídica (PL) da membrana plasmática. A PL ocorre tanto nos vasos sangüíneos quanto em neurônios, prejudicando os neurônios através da perda funcional e da integridade axonal. Conseqüentemente, é causado um dano microvascular e uma isquemia secundária contribuindo, indiretamente, com a injúria neuronal secundária, responsável por uma série de eventos que resultam em apoptose pós-traumática (Hall and Springer 2004) (Figura - 1).

O aumento da síntese e o acúmulo de substâncias ácidas no cérebro podem ser observados subseqüentemente a um trauma mecânico ou mediante um processo de isquemia (Becker et al. 1988). O acúmulo de lactato no tecido

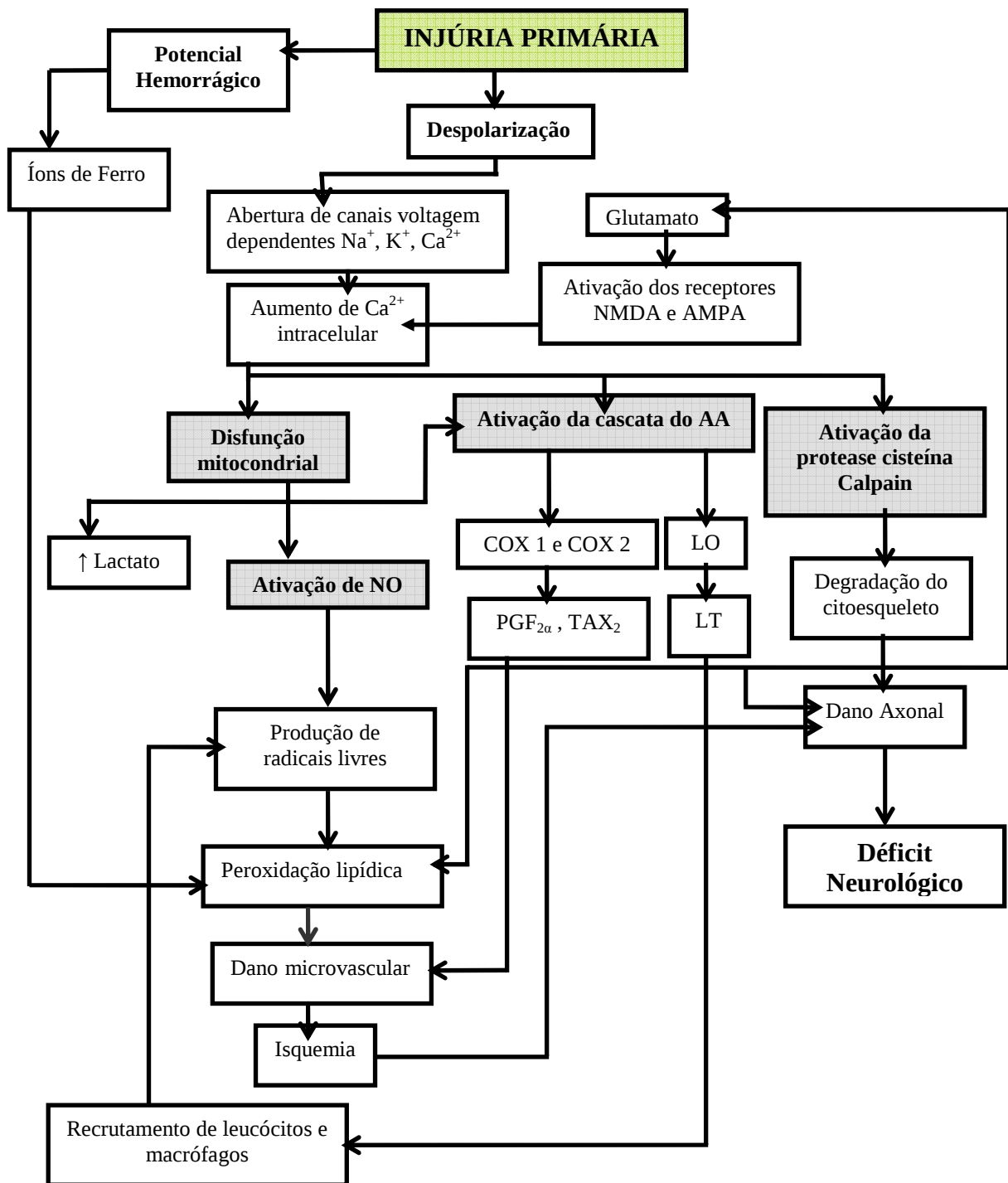


Figura - 1. Esquematização da cascata de eventos envolvidos no surgimento do dano secundário encefálico, após trauma.

Nota: Modificado de Hall and Springer (2004).

cerebral, mediante uma injúria, está associado ao prognóstico do paciente, um aumento progressivo desta substância, atingindo altos níveis, relacionam-se a um pior resultado. O acúmulo de lactato limita-se à região do cérebro afetada,

resultando em um significativo aumento da síntese de ácido láctico e da acidose local, gerando posterior alteração no pH cerebral e no fluido cerebrospinal (CSF). A constância do pH é um fator fundamental para determinar se a injúria celular será reversível ou não, uma vez que alterações desta constante não são toleráveis pelas células, que iniciam o processo de apoptose (Becker et al. 1988).

A resposta celular mediante o processo de acidose láctica varia em relação às condições celulares. Células não danificadas apresentam um mecanismo de controle que limita a produção de ácido láctico, evitando a mudança de pH, enquanto que as células danificadas não limitam esta produção, resultando em um acúmulo que pode ser letal a estas células (Becker et al. 1988).

A síntese de AA após injúria cerebral faz com que sejam produzidas as enzimas LO e COX, resultando em uma série de reações que geram radicais livres de oxigênio. A produção destes radicais livres pode resultar em um dano anatômico do endotélio cerebrovascular, desestabilizando a barreira hematoencefálica (BBB) (Becker et al. 1988; Hall and Springer 2004).

Algumas condições clínicas contribuem para a propagação da injúria secundária: hipotensão, hipóxia; bradicardia, taquicardia e hiperglicemia. Condições comuns em pacientes com TCE, o que dificulta a contenção da injúria secundária (Ibarra 2005).

A lesão secundária apresenta mecanismos de evolução (como a hipotensão e a hipóxia) que são responsáveis pela determinação prognóstica do paciente, embora não se saiba ainda em que momento e quais fatores direcionarão o quadro clínico à cura ou a complicações e/ou morte do paciente (Ibarra 2005).

2.3. PROCESSO DE REGENERAÇÃO TECIDUAL

Em lesão SNC vários eventos celulares e moleculares passam a atuar como fatores reparadores ou inibidores do processo de recuperação axonal (Becker et al. 1988; Ramer et al. 2005). Transtornos sofridos pelo SNC resultam em um déficit funcional devido a uma série de eventos responsáveis por impedir a neurogênese e/ou a reabilitação dos neurônios parcialmente lesados, favorecendo o aumento em extensão da área afetada (Hauben et al.

2000; Hauben et al. 2001; Kipnis et al. 2001; Yoles et al. 2001). O processo de reorganização pelo qual o cérebro passa, após o insulto neurológico é um mecanismo complexo que envolve a recuperação progressiva da parte não destruída do cérebro (Becker et al. 1988; Ibarra 2005), o processo regenerativo do cérebro mediante crescimento axonal e o reestabelecimento da comunicação sináptica (Becker et al. 1988; Kwon et al. 2002; Zhou et al. 2003).

Neurônios jovens do SNC apresentam, mediante injúria, plasticidade anatômica e funcional permitindo uma regeneração e/ou compensação neuronal após o insulto (Zhou et al. 2003). Em neurônios residentes do SNC de adultos esta plasticidade é limitada (Ramer et al. 2005; Zhou et al. 2003) embora sejam mais tolerantes a mudanças no ambiente (Condic 2001).

A falta da recuperação anatômica e funcional que se observa no SNC do adulto é devida à inabilidade regenerativa neuronal intrínseca e às características inóspitas locais. Baixos níveis de moléculas da matriz extracelular, essenciais para a promoção do crescimento neuronal, e altos níveis de fatores inibitórios são observados nesta situação (Condic 2001).

Tanto a perda das características naturais no ambiente lesado, quanto a presença de moléculas inibitórias são determinantes para dificultar o processo regenerativo axonal e o crescimento compensatório de axônios intactos (Hauben et al. 2000; Hauben et al. 2001; Kipnis et al. 2001; Ramer et al. 2005; Yoles et al. 2001; Zhou et al. 2003). Estes processos são esperados após o insulto traumático (Becker et al. 1988; Kwon et al. 2002).

Os mecanismos responsáveis pela determinação do processo inflamatório durante lesões no SNC não são totalmente conhecidos (Berti et al. 2002; Buckwalter and Wyss-Coray 2004; Chavarria and Alcocer-Varela 2004; Dietrich et al. 2004; Emsley and Tyrrell 2002; Herx et al. 2000; Holmin et al. 1998; Jean et al. 1998; Jerin et al. 2003; Kinoshita et al. 2002; Lichtor and Libermann 1994; Penkowa et al. 2003; Prins and Liao 2003; Qureshi et al. 2001; Sandhir et al. 2004; Wang and Feuerstein 2000).

A bainha de mielina e a cicatriz gliótica foram caracterizadas há mais de duas décadas como os principais elementos inibidores do crescimento axonal no ambiente lesado. Atualmente estes dois elementos continuam sendo considerados os principais, porém os avanços científicos e novos estudos

permitiram delimitar elementos específicos, na bainha de mielina responsáveis pelo processo inibitório (Buss et al. 2004; Caroni et al. 1988a; Caroni and Schwab 1988b; Kwon et al. 2002; Ramer et al. 2005), sendo eles o condroitin sulfato proteoglicano (CSPG) (Buss et al. 2004), a glicoproteína associada a mielina (MAG), a proteína Nogo e a glicoproteína de oligodendrócitos da mielina (OMgp) (Kwon et al. 2002; Ramer et al. 2005).

Embora vários fatores possam estar vinculados ao processo de regeneração alguns são mais competentes na promoção de crescimento neuronal. Entre eles são conhecidos: a adenosina monofosfato cíclica (AMPC) (Kwon et al. 2002; Ramer et al. 2005), o fator neurotrófico (Condic 2001; Kwon et al. 2002; Ramer et al. 2005; Zhou et al. 2003), as proteínas integrinas (Condic 2001), a proteína associada ao crescimento (GAP-43) (Kwon et al. 2002; Ramer et al. 2005) e mais recentemente os linfócitos T (Hammarberg et al. 2000; Hauben et al. 2000; Hauben et al. 2001; Kerschensteiner et al. 1999; Kipnis et al. 2001; Yoles et al. 2001).

As tentativas em promover a reestruturação do SNC visam diretamente deter a propagação da lesão secundária, através da formulação de métodos terapêuticos que estimulam os processos de regeneração e os mecanismos de neuroproteção, permitindo desta forma a recuperação funcional em lesões associadas ao SNC (Hauben et al. 2000; Hauben et al. 2001; Yoles et al. 2001).

3. RESPOSTA INFLAMATÓRIA NO SNC

A resposta inflamatória é um processo complexo que envolve células e seus produtos, estando presente em todos os compartimentos vascularizados do corpo, incluindo o SNC (Chavarria and Alcocer-Varela 2004).

O processo inflamatório, fora do SNC, se manifesta de uma forma clássica que inclui localmente edema, rubor, calor e dor, resultante da resposta vascular e do aumento do fluxo sanguíneo no sítio inflamatório. Seguido por um aumento da permeabilidade capilar por retração endotelial e saída de moléculas, mediadores solúveis e migração leucocitária (Lucas et al. 2006; Chavarria and Alcocer-Varela 2004).

A resposta inflamatória inclui a participação de uma variedade celular, entre elas os neutrófilos, macrófagos, mastócitos, eosinófilos, linfócitos, células

dendríticas, plaquetas, células endoteliais, e particularmente no SNC, as micróglia, astrócitos e neurônios (Chavarria and Alcocer-Varela 2004). Foi demonstrado que neurônios, astrócitos e micróglia produzem um repertório de moléculas inflamatórias e imunológicas, incluindo citocinas, quimiocinas e seus respectivos receptores, moléculas do sistema complemento, fatores de coagulação, proteases entre outras. (McGeer and McGeer 2001).

3.1. NEUROINFLAMAÇÃO

Durante o processo inflamatório ocorre a quimiotaxia, evento necessário para que haja o recrutamento e migração das células dos capilares sanguíneos ao sítio inflamatório (Chavarria and Alcocer-Varela. 2004; Shen et al. 2006; Karpus and Ransohoff 1998; Kawakami et al. 2005; Wu et al. 2001). O recrutamento de leucócitos implica: (1) na liberação de fatores quimioatraentes (quimiocinas) pelas células contidas no sítio de inflamação, (2) na expressão de receptores específicos para estas quimiocinas nos leucócitos, (3) na expressão de moléculas de adesão nos leucócitos e no endotélio capilar, (4) na interação entre leucócitos e endotélio e (5), finalmente, na passagem das células para o sítio inflamatório (diapedese) (Chavarria and Alcocer-Varela 2004; Karpus and Ransohoff 1998).

A inflamação é parte de um processo fisiológico que visa a reparação de um dano, porém, quando este processo não é controlado e se estende, a inflamação perde a função de reparação e pode vir a causar o dano tecidual (Chavarria and Alcocer-Varela 2004; Nathan 2002). Frequentemente, no SNC a inflamação causa dano e não desempenha função de reparação como ocorre em outras partes do corpo (Chavarria and Alcocer-Varela 2004).

O estudo de doenças neuroimunes (encefalomielite alérgica experimental e esclerose múltipla) trouxe informações importantes sobre o desenvolvimento do processo inflamatório em SNC (Krakowski and Owens 1997; McGeer and McGeer 2001; Paterson 1960;).

O processo de migração leucocitária ocorre em duas etapas: na primeira etapa, há a participação exclusiva de linfócitos que, quando ativados, conseguem transpor a BBB íntegra. Na segunda etapa, há a ativação do endotélio capilar, permitindo a diapedese. Esta ativação é resultado da entrada dos primeiros linfócitos no sítio inflamatório, que passam a sintetizar citocinas e

quimiocinas, favorecendo a expressão de moléculas de adesão no endotélio capilar e da quimiotaxia leucocitária (Hickey 1999; Krakowski and Owens 1997).

A resposta imunológica observada no SNC é dita privilegiada devido às particularidades do próprio SNC que garantem uma mortalidade menor das células envolvidas no trauma. Essa é determinada pela presença da BBB (Barker and Widner 2004, Sedgwick et al. 1991), pela ausência de APC e pela ausência de circulação linfática (Barker and Widner 2004, Sedgwick et al. 1991).

Embora não existam células apresentadoras de antígeno (APC) residentes no SNC, duas populações de células microgliais passam a ser responsáveis pela apresentação antigênica (Baker et al. 2004; Santambrogio et al. 2001). Uma variedade é encontrada permanentemente dispersa no parênquima, a qual entra no cérebro durante a fase embrionária sendo considerada residente (Baker et al. 2004; Santambrogio et al. 2001) e outra variedade é encontrada na região perivascular, elas residem entre a membrana basal e o endotélio e podem retornar aos órgãos linfóides secundários (Baker et al. 2004; Polfliet et al. 2002; Santambrogio et al. 2001). Estas células fazem apresentação antigênica a linfócitos T, produzem quimiocinas (MPC-1/CCL2, MIP-1 α /CCL3) e expressam moléculas ICAM-1 e VCAM-1 (Polfliet et al. 2002). Ambas as populações microgliais são semelhantes, porém em diferentes estágios de maturação (Santambrogio L 2001).

O papel da micróglia como mediadora da resposta inflamatória no SNC é determinado pela apresentação antigênica de classe II para as células T CD4+. As células microgliais são derivadas de uma linhagem de células mielóides que expressam CD45+ (assim como macrófagos, células dendríticas, granulócitos e linfócitos). A diferença entre as duas variedades de células microgliais é a expressão do CD45+, que é alta na população perivascular e baixa na população parenquimal. A maior expressão de CD45+ esta relacionada com uma maior expressão de moléculas do complexo principal de histocompatibilidade classe II (MHC II) e moléculas co-estimulatórias (Santambrogio L 2001).

A BBB é uma barreira natural que impede a entrada de uma série de moléculas no cérebro (Fillebeen et al. 1999; Grab et al. 2005; Shusta 2005;

Terasaki and Ohtsuki 2005, Wu 2005), sendo determinada por uma ação funcional entre a interface do sistema circulatório e do parênquima cerebral (Shusta 2005). Os estudos iniciais sobre a presença da BBB datam de experimentos de 1885 realizados por Paul Ehrlich, porém somente 80 anos depois foram obtidas as primeiras evidências de que esta barreira seria formada por células endoteliais dos capilares do cérebro (Fillebeen et al. 1999; Grab et al. 2005, Shusta 2005; Terasaki and Ohtsuki 2005). Estas células se apresentam unidas e contínuas sob forma de *tight junctions*, e demonstram uma alta resistência elétrica (Barker et al. 2004; Grab et al. 2005) e poucas vesículas endocíticas (Grab et al. 2005).

O endotélio é uma estrutura essencial da BBB e tem um papel importante no processo inflamatório do SNC (Chavarria and Alcocer-Varela 2004). Em condições fisiológicas as *tight junctions* endoteliais controlam o fluxo de células do sangue para o SNC, entretanto, linfócitos ativados podem passar a BBB intacta e contribuir com o mecanismo inflamatório. Células endoteliais cerebrais, em estado basal, expressam interferon gama (IFN- γ), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucina (IL) 1 que estimulam a expressão das moléculas ICAM-1, VCAM-1, PCAM-1 e E-selectina (Wong et al. 1999). A interação entre VLA-4/VCAM-1 e LFA/ICAM-1 é necessária para a migração de células T CD4⁺ e para a produção de citocinas pelas células endoteliais (Hickey 1999).

Linfócitos T ativados por citocinas que estimulam a diferenciação em células T auxiliares (Th) do tipo 1 sintetizam citocinas pró-inflamatórias como TNF- α e IFN- γ (Hickey 1999; Karpus and Ransohoff 1998). Esses linfócitos T expressam, também, quimiocinas (MIP-1 α /CCL3, MIP-1 β /CCL4) e aumentam a expressão de outras quimiocinas (RANTES/CCL5, IP-10/CXCL10, MIP-1 α /CCL3 e MCP-1/CCL2) em astrócitos e macrófagos perivasculares (Karpus and Ransohoff 1998). As citocinas secretadas pelos linfócitos Th1 podem ter efeito sobre a BBB: o TNF- α induz um maior recrutamento de leucócitos do espaço perivascular e do CSF (Seabrook and Hay 2001) e junto com o IFN- γ tem propriedade citotóxicas ao endotélio vascular, mediada pelo óxido nítrico (Yamaoka et al. 2002). O TNF- α estimula a síntese de MCP-1/CCL2, o qual induz a expressão de metaloprotease MMP-9. Tanto o TNF- α quanto o MCP-1/CCL2 aumentam a expressão de moléculas de adesão no endotélio capilar,

facilitando a adesão e a passagem de linfócitos T ativados e monócitos que expressem receptor CCR2. A metaloprotease MMP-9 facilita a migração através do endotélio (Cross and Woodroffe 1999; Orlikowski et al. 2003). Provavelmente os efeitos do TNF- α , MCP-1/CCL2 e IFN- γ contribuem para a ruptura da BBB e da infiltração leucocitária (Chavarria and Alcocer-Varela 2004).

Hickey (1999) demonstrou que outros leucócitos também têm a habilidade de entrar no SNC, constatando a presença de linfócitos B, células dendríticas, células matadoras naturais (NK), mastócitos e membros da família macrófago/monócito.

Os linfócitos B em estado ativado conseguem atravessar a BBB, através da expressão de CCR7, receptor de quimiocinas SLC/CCL21 e ECL/CCL19, produzidas pelo endotélio da BBB e por migróglia/astrocítico, respectivamente (Columba-Cabezas et al. 2003).

A presença de mastócitos é descrita em processos inflamatórios neuroimunes, sendo uma importante fonte de histamina, leucotrienos, prostaglandina, TNF- α e outras moléculas que podem apresentar efeito sobre a BBB, contribuindo para a ruptura ou aumento da permeabilidade endotelial, favorecendo uma massiva infiltração leucocitária (Benoist and Mathis 2002).

A função da célula NK em inflamação do SNC ainda não está claramente determinada. Estas células respondem a produção de interleucina IL-18 e IL-12, por ativação de macrófagos e células dendríticas, aumentando a produção de IFN- γ e favorecendo uma resposta Th1 (Shi et al. 2000).

As células dendríticas são APC podendo ativar linfócitos T auto-reativos em órgãos linfóides e no SNC (Serafini et al. 2000). A sua localização no SNC é de forma estratégica em locais de entrada do antígeno, como no plexo coróide e nas meninges, porém não no parênquima (Matyszak and Perry 2000; Serafini et al. 2000). A capacidade destas células em sair do SNC possibilita o transporte de antígenos e ativação de linfócitos T auto-reativos periféricos (Serafini et al. 2000). A interação das células dendríticas não é limitada aos linfócitos T, ela também favorece a expansão clonal de linfócitos B, através da secreção de citocinas, e uma subsequente produção de anticorpos (Genain et al. 1999). As células dendríticas podem chegar ao SNC por quimiotaxia, quando expressam CCR6 e CCR7, ambos receptores de quimiocinas

ECL/CCL19, MIP-3 α /CCL20 e SLC/CCL21, produzidos por micróglias e astrócitos (Ambrosini et al. 2003; Serafini et al. 2000).

Outra importante interação para a adesão e migração celular ocorre entre as moléculas CD40/CD40L, o endotélio capilar cerebral expressa constantemente CD40, esta expressão é aumentada após a estimulação das células por TNF- α , lipopolissacarídeos (LSP) ou CD40L (Omari and Dorovini-Zis 2003). As micróglias, astrócitos e neurônio também expressam CD40, linfócitos B, macrófagos perivasculares, linfócitos T ativados expressam moléculas ligantes para CD40 (Gerritse et al. 1996; Omari and Dorovini-Zis 2003). A interação CD40/CD40L é importante para a passagem celular através da BBB e para a ativação de micróglias e astrócitos (Chavarria and Alcocer-Varela 2004).

Os neurônios são menos importante no processo inflamatório, expressam molécula MHC I, produzem vários tipos de citocinas e podem induzir a apoptose de linfócitos T através da interação CD95-CD95L (Flugel 2000; Olsson 1994)

A produção de IFN- γ e TNF- α , no SNC, danificam a estrutura da BBB, devido aos seus efeitos citotóxicos ao endotélio celular e pelo favorecimento de um importante infiltrado leucocitário (Seabrook and Hay 2001; Yamaoka et al. 2002). A presença de IL-18 está associada ao perfil Th1 pela capacidade de induzir a produção de IFN- γ pelas células NK e linfócitos T (Chavarria and Alcocer-Varela 2004).

O IFN- γ promove a ativação de macrófagos e subsequente produção de óxido nítrico sintetase por essas células, o NO tem efeito neurotóxico e favorece o aumento da permeabilidade da BBB (Misko et al. 1995). Outro importante produtor de NO é a micróglia (Benveniste 1997).

A micróglia contribui para o dano inflamatório através da produção de glutamato, o qual é tóxico para neurônios e oligodendrócitos (Pitt et al. 2000). Também tem um importante papel regulatório através da indução apoptótica de linfócitos T auto-reativos (Sharief et al. 2003).

Muitas quimiocinas são detectadas em altos níveis no soro e no CSF mediante inflamação, porém as MIP-1 α /CCL3 e MCP-1/CCL2 parecem ser as mais importantes. A MIP-1 α /CCL3 está presente na fase aguda das doenças

inflamatórias onde se tem predominantemente resposta Th1, entretanto o MCP-1/CCL2 está associado a resposta Th2 (Karpus and Ransohoff 1998).

3.2. CITOCINAS

As citocinas são importantes fatores de conexão e modulação do sistema imunológico e neuroendócrino. Receptores para citocinas estão presentes no sistema neuroendócrino tendo efeitos tanto no SNC quanto no sistema nervoso periférico (Woiciechowski et al. 1997).

As citocinas são produzidas no cérebro por células gliais residentes ou por células imunológicas não residentes do SNC, porém, que ultrapassam a BBB (Hammarberg et al. 2000; Hauben et al. 2000; Hauben et al. 2001; Kerschensteiner et al. 1999; Kipnis et al. 2001; Woiciechowsky et al. 1997; Yoles et al. 2001).

Apesar da existência de uma grande variedade de citocinas, algumas têm sido mais fortemente relacionadas aos processos inflamatórios ocorridos no sistema nervoso central, tendo destaque as pró-inflamatórias: IL-1, TNF e IL-6 (de Bandt et al. 1994; Herx et al. 2000; Holmin et al. 1998; Jean et al. 1998; Kinoshita et al. 2002; Lichtor and Libermann 1994; Pasquale et al. 1996; Qureshi et al. 2001; Woiciechowsky et al. 1999a; Woiciechowsky et al. 1999b).

Os monócitos (Abbas and Lichtman 2003; Forte 2004; Oppenheim and Ruscetti 2000), as células endoteliais, os fibroblastos, os linfócitos T (Abbas and Lichtman 2003; Oppenheim and Ruscetti 2000) e os linfócitos B ativados (Forte 2004; Oppenheim and Ruscetti 2000) são os principais produtores de IL-6 no organismo, que aparecem em resposta às atividades antigênicas ou em resposta à presença de outras citocinas, principalmente as IL-1, TNF, (Abbas and Lichtman 2003; Forte 2004) e LPS (Forte 2004).

A atividade biológica da IL-6 consiste em estimular os efeitos mitogênicos das IL-1 e dos TNF sobre os linfócitos T CD4 (Oppenheim and Ruscetti 2000), participando conjuntamente com estas duas citocinas das reações inflamatórias e mediação da fase aguda da inflamação (Forte 2004; Oppenheim and Ruscetti 2000). A IL-6 estimula a produção de proteínas da fase aguda da inflamação nos hepatócitos (Abbas and Lichtman 2003; Forte 2004, Oppenheim and Ruscetti 2000), além de ter papel fundamental para a migração de eosinófilos para o sítio de inflamação (Forte 2004), e

desempenhar um potencial de pirógeno endógeno (Forte 2004; Oppenheim and Ruscetti 2000).

A IL-6 não atua na síntese de qualquer outra citocina já conhecida, então acredita-se que a sua função imunológica seja a potencialização dos efeitos de outras citocinas, podendo também exercer um efeito tóxico sobre as células neurais (Oppenheim and Ruscetti 2000).

A perda da homeostasia local leva a ativação de células imunológicas como os linfócitos T, os fibroblastos, as células endoteliais e os monócitos, todos passando a secretar IL-6. Por sua vez, a IL-6 passa a induzir a maturação de linfócitos B, a ativação de linfócitos T e a diferenciação hematopoiética (Heesen et al. 1996, Pasquale et al. 1996). A IL-6 é a citocina encontrada em maior quantidade na circulação em resposta a um insulto inflamatório ou traumático, atuando nas respostas local e sistêmica (Hulkkonen et al. 2001; Smith et al. 2004; Waage et al. 1989; Waring et al. 1992; Xing et al. 1998).

A IL-6 é pleiotrópica produzida e liberada na circulação em situações de perturbação da homeostase mediante endotoxemia, trauma e infecção. Durante uma resposta inflamatória local ou sistêmica, está envolvida com a indução da fase aguda da inflamação e também com o seu posterior controle. Este último ocorre através de um processo de auto-regulação que resulta em uma diminuição da expressão de citocinas pró-inflamatórias e em uma alta expressão de moléculas anti-inflamatórias (Hulkkonen et al. 2001; Woiciechowisky et al. 1999a; Woiciechowisky et al. 1999b) através da síndrome compensatória da resposta anti-inflamatória (SCRA) (Woiciechowisky et al. 1999a; Woiciechowisky et al. 1999b). O mecanismo que permite a auto-regulação de proteínas pró e anti-inflamatórias consiste em uma comunicação entre o sistema imunológico e o SNC, onde a IL-6, assim como o TNF- α e IL-1 β , ativam o eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal, responsável pela secreção de corticóides (de Bandt et al. 1994; Woiciechowisky et al. 1999a).

Em condições de homeostase do organismo, a IL-6 não é encontrada em níveis detectáveis (Abbas and Lichtman 2003). Porém, há uma grande variedade dos níveis de IL-6 detectados no organismo mediante um insulto traumático e/ou infeccioso (Burzotta et al. 2001; Heesen et al. 1996; Hulkkonen et al. 2001; Muylle et al. 1993; Smith et al. 2004; Waage et al. 1989).

JUSTIFICATIVA E OBJETIVO

A particularidade do comportamento imunológico no SNC é determinante para permitir a recuperação deste tecido em caso de injúria. O complexo processo neuroinflamatório depende tanto do sistema imunológico quanto de particularidades do próprio SNC. Esta complexidade inclui um importante processo fisiopatológico responsável pela ativação de células inflamatórias (neutrófilos, macrófagos e monócitos) e de mediadores celulares (citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão) os quais iniciam uma série de eventos em cascata, que resultam no surgimento do dano inflamatório.

Os traumas cranioencefálicos fechados, com hemorragia intracerebral, são comumente observados em hospitais, assim como as suas complicações clínicas, que põem em risco a vida dos pacientes traumatizados. O curso clínico destas contusões é bastante variável, sendo comum o agravamento neurológico após o trauma em decorrência de progressão da lesão, formação de edema e hipertensão intracraniana. Alguns pacientes desenvolvem uma contusão inicial isolada que evolui em conjunto com uma extensa área de injúria neural.

Os mecanismos responsáveis pelo agravamento/morte ou recuperação do paciente ainda não foram satisfatoriamente elucidados. É conhecida a importância da lesão hipóxico/isquêmica, ocorrida em consequência à lesão primária, assim como do processo inflamatório, desenvolvido subsequente. A inflamação tende a transformar a região afetada, inicialmente imunologicamente inativa, em um sítio ativador de células imunológicas locais, onde os produtos secretados por elas podem destruir neurônios parcialmente lesados e outros componentes celulares.

Durante o trauma no SNC, ocorre uma produção natural de IL-6 que parece influenciar a evolução clínica do paciente e constitui-se em um dos responsáveis pelo surgimento do dano cerebral secundário resultante do processo inflamatório. O controle dos níveis de IL-6 é recomendado para pacientes que apresentam riscos de complicação após o trauma. A isquemia cerebral também desencadeia um processo inflamatório pela indução da produção de diversas citocinas, o que ocorre em decorrência da injúria sofrida

pelo tecido, sendo os níveis da IL-6 encontrados em concentrações superiores às normais no sítio inflamatório.

Embora os níveis de IL-6 estejam associados a injúrias do SNC pouco se sabe sobre o comportamento desta citocina em pacientes com traumatismo cranioencefálico fechado e hemorragia intracerebral. Devido às complicações clínicas observadas, que acabam determinando a recuperação clínica dos pacientes, o presente estudo propôs estudar os níveis plasmáticos de IL-6 nas primeiras 72 horas pós-trauma e buscar associações e correlações desta com a evolução clínica do paciente.

Apesar do mecanismo inflamatório ser um processo multigênico o estudo do comportamento da IL-6 nos momentos iniciais do trauma pode trazer um direcionamento sobre o papel desta citocina pró-inflamatória, em lesões traumáticas do SNC.

INTERLEUKIN-6 PLASMATIC LEVELS IN PATIENTS WITH HEAD TRAUMA AND INTRACEREBRAL HEMORRHAGE

Alessandra Armstrong Antunes¹, Vanessa Santos Sotomaior¹, Keyth Suga Sakamoto², Cyro Pereira de Camargo Neto², Maria Carolina Martins de Lima³, Luiz Roberto Aguiar^{1,2}

1. Center for Health and Biological Sciences, Pontificia Universidade Católica do Paraná (PUCPR)
2. Neurosurgical Department, Hospital Universitário Cajuru, PUCPR
3. Medical School of Pernambuco IMIP, Recife

Correspondence to:

Prof. Dr. Luiz Roberto Aguiar

Neurosurgical Department – Hospital Universitário Cajuru

Av São José, 300 - Cristo Rei - CEP: 80.050-350 - Curitiba – PR – Brazil.

Phone/Fax: +55-41-30295131. E-mail: luiz.aguiar@pucpr.br

ABSTRACT

The exact role of inflammatory response in hemorrhagic contusions is not fully characterized. The present study quantified IL-6 plasmatic levels in patients with closed head trauma and hemorrhagic contusions during the first 6 to 12 hours posttrauma. A follow-up clinical outcome evaluation was carried out and the association between the plasmatic IL-6 levels with severity of trauma according to the Glasgow Coma Scale, volume of intracerebral hemorrhage and patient's outcome was investigated. Although inflammation is a multifactorial process, a strong correlation between IL-6 levels, volume of traumatic hemorrhage and prognosis could be observed. A correlation between the IL-6 levels quantified 6 hours posttrauma and progression of lesion volume between admission and 12 hours posttrauma is suggested. The present study reinforces the importance of IL-6 in influencing the clinical conditions of a patient with cerebral injury.

KEYWORDS: head injury, cerebral contusion, trauma, IL-6, clinical prognosis.

INTRODUCTION

In almost any trauma, the most important factor related to the outcome is the kind of damage sustained by the brain¹². In an attempt to provide clinicopathological correlations in closed head injury, two categories of contusions have been emphasized: those that occur at the local of the impact, called direct or coup-contusions, and those that occur in the brain diametrically opposite to the point of injury, called countercoup contusions⁸. They occur

characteristically in the frontal and temporal lobes, more commonly on the inferior surfaces, where brain tissue comes in contact with bony protuberances and are related to the amount of energy transmitted by the impact in the skull to the underlying brain, worsened by the acceleration/deceleration processes and/or brain rotation¹⁴.

The clinical course of these contusions is quite variable. Neurological worsening after trauma is common, as a consequence of the lesion progression, edema formation and intracranial hypertension. In some patients, the initial isolated contusion, as seen in brain CT, tends to disappear in a few days, in others, however, this contusion evolves together with an extensive area of neural injury⁵¹.

The structural modifications presented by the encephalon immediately after traumatic insult characterize the primary injury². Lacerations of the scalp, fractures of the skull, contusions on the surface of the brain and lacerations, as well as diffuse axonal injury are all included as the main primary damage in nonmissile head injuries^{1,2}. The tissue injured at the primary lesion forms a necrotic region that does not functionally recover^{22,42}. Around the necrotic area there is a tissue area partially injured and eventually capable of recovery²⁵. The cells present in this region can still be injured by the physiological and biochemical alterations occurred subsequently, characterizing the secondary injury^{2,22,26,49}.

Patients with⁴³ closed head TBI (Traumatic Brain Injury) usually develop conditions that encourage secondary injury propagation, such as hypotension, hypoxemia, hyperglycemia, tachycardia and bradycardia^{26,27,36}. However, the mechanism responsible for the worsening, death or recovery is not fully

understood. The importance of the hypoxic/ischemic lesion is recognized²³ as well as of the inflammatory process developed after the primary lesion^{34,44}.

In inflammatory processes, the increase of pro-inflammatory cytokines synthesis is observed, among them, interleukin-6 (IL-6)^{16,17,19,21,40,43,47}. The loss of local homeostasis leads to the activation of immunological cells - T lymphocytes and monocytes - and tissue cells - fibroblasts and endothelial cells, all of them capable of starting to secrete IL-6, which, in turn, starts to induce maturation of B lymphocytes, activation of T lymphocytes and hematopoietic differentiation¹⁵.

IL-6 is the cytokine found in the largest quantity in the circulation in response to an inflammatory or traumatic insult, acting in both systemic and local responses^{18,41,43,48}. IL-6 acts as a cellular mediator for immunological responses and can be produced through an inflammatory event in the central nervous system (CNS)^{9,16,17,19,21,24,31,35,47}. In a few cases of secondary cerebral damage, IL-6 plasmatic levels were increased^{19,39,50}.

This study analyzes IL-6 plasmatic levels in patients with closed head trauma and cerebral hemorrhage, correlating them to clinical evolution.

MATERIAL AND METHODS

The Ethical Committee on Research of the Center of Health and Biological Sciences of the Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) approved this study, according to the resolution 426/05/CEP-PUCPR, register number 790.

INCLUSION CRITERIA

All patients included in the research were admitted after TBI at Hospital Universitário Cajuru, from December 2005 to November 2006, and met the following criteria: a) Pre-hospital care given by Pre-Hospital Trauma Rescue System (SIATE); b) Initial tomographic diagnosis of intracerebral hemorrhage resulting from closed head trauma (hemorrhagic contusion); c) Diagnosis made up to 5 hours of the trauma; d) Absence of severe politrauma, severe superficial wounds, coagulation disturbances, infections or need for any other emergency surgery upon admission to the hospital;

To put into effect their participation in this research it was necessary for the patients or next of kin to fully understand and sign the Informed Consent.

30 patients were included, with median age of 40 ($\pm$ 18) years old, 25 men and 5 women. The patients were evaluated at the moment of hospital admission using Glasgow Coma Scale (GCS). Four patients presented GCS 3-8, four patients, 9 – 12 and all other 22 patients had GCS between 13 and 15. Alternative criteria were established from follow-up data during the first 72 hours posttrauma, for classification of patients according to prognosis. Patients considered of good prognosis did not present the following conditions: a) GCS scores equal or below 7; b) Need for mechanical ventilation; c) Need for a neurosurgical procedure. Similarly, patients who died during this period were not allocated to this group. According to these criteria, 21 patients presented good prognosis and 9 had poor prognosis.

CALCULATION OF INTRACEREBRAL LESION VOLUME

A CT scan was performed at admission for confirmation of closed head trauma and resulting hemorrhagic lesion. Follow-up scans for assessment of lesion evolution were performed 12 hours post-trauma. The volume (in cm³) of lesions was calculated using the software *eFilm Workstation 2.1*[®] - Merge Healthcare Software).

For determination of lesion volume, both, the hemorrhagic area and perihemorrhagic edema were included. If the patient presented multiple lesions, the volume of each lesion was calculated and added to obtain the total amount considered in the analysis.

To determine the lesion volume, identification of the CT slice with the largest area of hemorrhage was done. The largest diameter was considered "A", the largest diameter perpendicular to "A" on the same slice was "B" and for determination of C, the number of 10mm slices was counted: if the hemorrhage area was greater than 75% compared with the initial slice, it was considered as 1; if the hemorrhage was 25% to 75%, 0.5 was counted; if the hemorrhage was less than 25%, the slice was not counted. The ellipsoid method, in which the volume is the product of the diameters divided by two, as proposed by Bullock et al (2006)⁶ was used.

IL-6 QUANTIFICATION

For IL-6 quantification, five blood samples from each patient were collected. The blood samples were rigorously collected at 6, 12, 24, 48 and 72 hours postrauma. Those who needed surgical interventions or died had the blood samples collected up to that occurrence.

For IL-6 quantitative analysis, the plasma was isolated immediately after the collection^{28,29}. The material was centrifuged at 3000xg for 10 minutes and the supernatant stored at -70°C.

The quantification of the stored material was carried out using the “human IL-6 quantikine ELISA kit, 2nd generation[®] HS600B” (R&D Systems) commercial kit. The results in absorbance (690 nm) of the ELISA test were analyzed using GraphPad Prism 5[®] (GraphPad Software).

STATISTICAL ANALYSIS

For analysis of correlation between the variables, IL-6 levels and the volume of lesions, Spearman’s non-parametric test was used. The significance analysis between defined groups (good and poor prognosis) in dichotomic variables, in relation to the quantitative variables employed the Mann-Whitney U Test. The logistic regression test for the variables: prognosis, lesion volume and IL-6 levels were used. MedCalc[®] 9.2.0.0 – Windows Vista[™] software was used for statistical analyses.

RESULTS

INTRACEREBRAL LESIONS VOLUME CALCULATIONS

Upon admission to the hospital, two patients in the poor prognosis group and three in the good prognosis group presented multiple hemorrhagic lesions. A patient with good prognosis presented a single lesion and perihemorrhagic edema. The same situation was also observed in two patients with poor prognosis. In the other cases, one single lesion without edema was observed.

The mean volume of lesions obtained from admission CT was 6.4 cm³ and 36.1 cm³ for patients in the good and poor prognosis groups, respectively.

The analysis of the images obtained 12 hours posttrauma showed that patients in the good prognosis group maintained the profile of presence or absence of multiple hemorrhagic lesions and/or perihemorrhagic edema observed upon hospital admission. However, one of these patients with the presence of multiple lesions and two who presented a single lesion in the admission CT scan developed increasing perihemorrhagic edema.

Among the patients in the poor prognosis group, two who initially presented multiple lesions and two others presenting a single lesion developed perihemorrhagic edema. In all cases of poor prognosis it was possible to observe alterations in lesion's volume. Due to clinical instability of one of these patients it was not possible to perform and analyze the 12-hour CT.

The mean intracerebral lesion volume was of 10.35 cm³ and 69.05 cm³ respectively, for patients in good and poor prognosis groups, 12 hours posttrauma. The relationship of average intracerebral lesion volume and patients' prognosis is presented in Graphic 1.

Comparing the CT scans performed at admission and at 12 hours the variation of lesion volume showed a non-homogeneous distribution. When analyzing all patients together a mean value of 15.32 cm³ (initial CT) and 26.54 cm³ (control CT) was observed, with a standard deviation of ± 27.77 cm³ and ± 42.53 cm³, respectively for the admission CT scan and 12 hours posttrauma control. The heterogeneity was also observed when mean volumes found in the different groups were analyzed: in the good prognosis group, the standard deviation found was of ± 11.48 cm³ and ± 12.92 cm³ and for those that

composed the poor prognosis group it was of $\pm 42.13 \text{ cm}^3$ and $\pm 62.50 \text{ cm}^3$, in the first and second CT analyses, respectively.

The values of intracerebral lesion volume are presented in Table 1.

IL-6 QUANTIFICATION

Only samples collected 6 and 12 hours posttrauma were analyzed, because of variability in the number of samples collected at other proposed times. The IL-6 mean levels being respectively 18.57 (± 4.89) and 15.98 (± 5.69) pg/ml.

For the good prognosis group (21 patients), the mean values were: 17.11 (± 4.82) and 15.08 (± 5.16) pg/ml in both periods (6 and 12 hours posttrauma). The poor prognosis group (9 patients) presented a mean value of 21.93 (± 3.18) and 18.97 (± 6.85) pg/ml, for the same intervals (Table 2 and Graphic 2).

STATISTICAL ANALYSIS

There was a correlation between the IL-6 levels 6 hours posttrauma and the volumes of intracerebral lesions analyzed at the admission CT scan ($r=0.370$; $p=0.047$) and the control CT, taken 12 hours post-trauma ($r=0.403$; $p=0.033$).

An association with patients' prognosis and IL-6 levels quantified 6 hours ($p=0.0001$) and 12 hours ($p=0.0001$) posttrauma was observed. It was also possible to observe an association between intracerebral lesions volumes calculated from both, admission ($p=0.0001$) and control ($p=0.0001$) CT scans, and patients' prognosis. Similarly, there was an association between prognosis and volumetric variation observed between the CT scans ($p=0.0013$).

Considering the severity of trauma as classified by GCS – mild trauma as scores 3 – 15, moderate, 9 – 12 and severe TBI as GCS 3 – 8, there was an association between these groups and the quantified 6-hour postrauma IL-6. In a first analysis the IL-6 levels were associated with two variables: the group with mild GCS score *versus* moderate and severe scores levels group ($p < 0.0001$). In a subsequent analysis, the association between the quantified IL-6 levels and the moderate GCS score group *versus* the severe group ($p < 0.0001$) was also noted.

Using logistic regression analysis, an association was found between prognosis, quantified IL-6 levels 6 hours postrauma ($p = 0.046$) and lesion volume calculated from admission CT scans ($p = 0.037$). Likewise, an association was found between prognosis, the IL-6 levels 12 hours after trauma ($p = 0.040$) and lesion volume on admission CT ($p = 0.021$).

These results are presented in Table 3.

DISCUSSION

The inflammatory process which develops in CNS is complex and involves cells from the immunological system and those residing in the brain⁷. However, different from what occurs in other tissues, the immunological response, which develops in the CNS usually, favors more damage than tissue repair^{7,37}. Several cerebral insults - like trauma, ischemia, infection and others - result in production of cell mediators such as cytokines^{7,11,15,30,43,50}. In general, these inflammatory mediators are less expressed in the healthy CNS. Nevertheless, through injury or tissue infection, these mediators promote an immunological response and have their levels increased^{13,37}. Pro-inflammatory

cytokines have an essential role in inflammation occurring in the CNS, through the induction of adhesion molecules expression, chemokines, recruitment of immunological cells into the parenchyma and cellular activation³⁷.

The stimuli that contributes to an increase in the synthesis of these cytokines are several, but in the scenario of trauma, hypoxia and the axoplasmatic exudation - resulting from cellular necrosis - are the main stimuli for the production of these mediators^{40,47}.

Several injuries to the CNS result in an increase in IL-6 levels. The values of IL-6 levels found in this study, were quantitatively inferior to those of other studies associated with cerebral injuries^{4,20,30,41,45,46}, however there is no reference value for IL-6 levels in cerebral injuries.

In this study, the IL-6 average level found was of 18.56 ($\pm$ 4.89) and 15.98 ($\pm$ 5.69) pg/ml, quantified 6 and 12 hours postrauma, respectively. The values for patients in the good prognosis group were 17.11 ($\pm$ 4.82) and 15.08 ($\pm$ 5.16) pg/ml, and for the ones in the poor prognosis group, 21.93 ($\pm$ 3.18) and 18.97 ($\pm$ 6.85) pg/ml, for the same intervals.

As yet, IL-6 plasmatic levels inferior to those found in our study were described in ischemic stroke (4.6 ± 4.2 pg/ml)⁴. Higher values were found in studies considering IL-6 plasmatic levels in different surgical procedures, with an average of 30.83 pg/ml³⁰. Values closer to the ones found in this study - and a mean value of 13.9 pg/ml - were observed after a surgical procedure (craniotomy)¹⁵.

The inclusion criterion applied in our study prevented inclusion of patients with infectious processes. Absence of infectious processes was carefully observed in our patients from the beginning until the end of the study and this

may help explain IL-6 lower values, once the presence of infection increases significantly the levels of this cytokine⁴.

Control of IL-6 levels seem advisable in patients prone to complications after trauma¹⁵, as higher plasmatic levels of IL6 were associated with smaller survival rates of patients with septic meningococcal shock⁴³ and in patients that suffered ischemic stroke⁴¹.

Quantified IL-6 level in the cerebrospinal fluid (CSF) probably reflects its production in the CNS²⁰. Qureshi *et al* (2001)³⁵ in animal experimentation with spontaneous cerebral hemorrhage found similar values of IL-6 concentration in plasma and in regional CSF (< 5 pg/ml). Still, Kaplin *et al* (2005)²⁰ found IL-6 plasmatic levels (3.79 ± 2.03 pg/ml) inferior to those quantified in the CSF (654.3 ± 1239.6), in patients with neuroinflammatory disorders (transverse myelitis). In our study, IL-6 level quantification was carried out from plasma samples. The fact that cranioencephalic trauma is an acute process, as spontaneous hemorrhage, and not a chronic inflammatory process like myelitis, suggests that plasmatic levels might mirror satisfactorily the IL-6 production in the CNS in this scenario.

The present study found an association between quantified IL-6 plasmatic levels 6 ($p= 0.0001$) and 12 hours ($p= 0.0001$) postrauma; the intracerebral lesion volumes calculated from admission ($p= 0.0001$) and control ($p= 0.0001$) CT scans and patients' clinical prognosis. Furthermore, the variation in lesion volumes seen on CT scans corresponded to prognosis ($p= 0.0013$).

When analyzing the average level of IL-6, 6 and 12 hours postrauma in patients in the poor and good prognosis groups, a significant difference was

observed ($p < 0.0001$), suggesting that the highest IL-6 levels are produced by patients with worse clinical prognosis (Graphic 2). The same was observed for lesion mean volume ($p < 0.0001$) (Graphic 1), where patients showing a poor prognosis presented larger intracerebral lesions.

Although the CT findings could inform about the severity of traumatic injury and the risk of complications⁴⁶, the association between lesion volume in CT and the patient classification according to the GCS was not found. An association was found between IL-6 levels 6 hours posttrauma and intracerebral lesion volume calculated from the admission ($r = 0.370$; $p = 0.0466$) and control ($r = 0.403$; $p = 0.0328$) CT scans.

The average life span of the IL-6 *in vivo* is approximately one hour³⁰. IL-6 production detected 6 and 12 hours, posttrauma, as observed in this study, suggests a continual inflammatory stimulus. Ayala *et al* (1991)³ and Roumen *et al* (1993)³⁸ showed that an hemorrhagic process is stimuli enough to maintain systemic IL-6 levels increased - a reasonable explanation for our findings.

The adjustment of the logistic regression model has shown a correlation between prognosis, IL-6 levels at 6 hours ($p = 0.046$) and lesion volume on admission CT ($p = 0.037$), as well as the IL-6 levels quantified 12 hours posttrauma ($p = 0.040$) and the volumes found on admission CT ($p = 0.021$) and prognosis. Emsley *et al* (2003)¹⁰ and Smith *et al* (2004)⁴¹, in prospective studies of patients with ischemic stroke, found a strong association between inflammatory markers, including IL-6, with the severity of stroke and patient prognosis.

The observations suggest that IL-6 levels as well as the initial hemorrhagic volumes are important for the patient's prognosis. Nonetheless,

this first one would be associated to the trauma severity according to the GCS classification.

Since patients treated with steroids had inferior IL-6 plasmatic level values comparing to those without steroidal treatment³⁰, therapeutic use of steroids could be suggested as a measure to contain propagation cerebral damage resulting from the inflammatory process. This is a highly controversial matter, since there is Level I grade of evidence showing that the use of steroids is not recommended for improving outcome or reducing intracranial pressure, and even that high-dose methylprednisolone in patients with moderate or severe traumatic brain injury is associated with increased mortality and is contraindicated⁵. The question, which still remains, is if there is not a special group that could have benefit from this therapy.

Monitoring and control of blood pressure, glycemia, heart frequency, temperature and levels of oxygen saturation are recommended as measures for containing leucocitary recruitment to the inflammatory site⁴⁷. The leucocitary infiltration, one of the factors determining secondary lesion progression and cerebral damage, in experimental studies with mice, can be reduced by mild hypothermia (31°C – 33°C), locally applied ³³. The same author (2002)³², in studies with rabbits, showed that the area of ischemic cerebral infarct can be reduced when treated with mild hypothermia.

CONCLUSION

The results found in this study suggest an association between IL-6 plasmatic levels quantified during the first 6 to 12 hours postrauma with prognosis of patients harboring closed head trauma and cerebral hemorrhagic

contusions, as well as an association between IL-6 levels with the severity of trauma, according to the GCS.

A correlation between IL-6 levels quantified 6 hours postrauma with the lesion evolution - the difference found in intracerebral lesion volume in both the admission and 12-hour postrauma CT scans - is suggested.

The present study strengthens the importance of IL-6 in influencing the clinical condition of a patient with cerebral injury.

TABLE 1. INTRACEREBRAL HEMORRHAGIC LESION: ANALYSIS OF THE IMAGE VOLUME AND DISTRIBUTION ON CRANIAL CT

		Number of patients with hemorrhagic lesion				Total	Mean Volume (cm ³)
		single lesion		multiple lesion			
		Presence of perilesional edema		Presence of perilesional edema			
	Prognosis Group*	No	Yes	No	Yes		
First CT (Admission)	Poor	5	2	2	0	9	36,1
	Good	17	1	3	0	21	6,4
Total		22	3	5	0	30	
Second CT (12h Control)	Poor	3	4	0	2	9	69,0
	Good	15	3	2	1	21	10,3
Total		18	7	2	3	30	

* Patient prognosis according to the proposed classification (cited in the Material and Methods session).

TABLE 2. IL-6 QUANTIFICATION

Prognostic	IL-6 Quantification (pg/ml)	
	6 hour	12 hour
<i>good prognosis (n=9)</i>	<i>17.11 (± 4.82)</i>	<i>15.08 (± 5.16)</i>
<i>poor prognosis (n=21)</i>	<i>21.93 (± 3.18)</i>	<i>20.29 (± 5.81)</i>

Legend: media ($\pm$ *standard deviation*). n= total number of patients

TABLE 3. STATISTICAL RESULTS: ANALYSIS OF VARIANTS

Variants	6 hours Post-Trauma	12 hours Post-trauma
<i>Correlation between the IL-6 levels and the volumes of CT*</i>	$r=0.370$; $p=0,046$	$r=0.403$; $p=0.033$
<i>Association with the patient's prognosis and IL-6 levels**</i>	$p=0.0001$	$p=0.0001$
<i>Association between volumes of CT and patients' prognosis**</i>	$p=0.0001$	$p=0.0001$
<i>Association of the prognosis and the volumetric variation between the two CT scan**</i>	$p=0.0013$	
<i>Association between the GCS and the IL-6 levels**</i>	<i>mild GCS versus moderate + severe GCS</i>	$p<0.0001$
	<i>moderate GCS versus severe grup</i>	$p<0.0001$
<i>Association among prognosis and IL-6 levels and CT scan volumes***</i>	$p=0.046^1$	$p=0.040^1$
	$p=0.037^2$	$p=0.021^2$

Legend: *Spearman's non-parametric test.

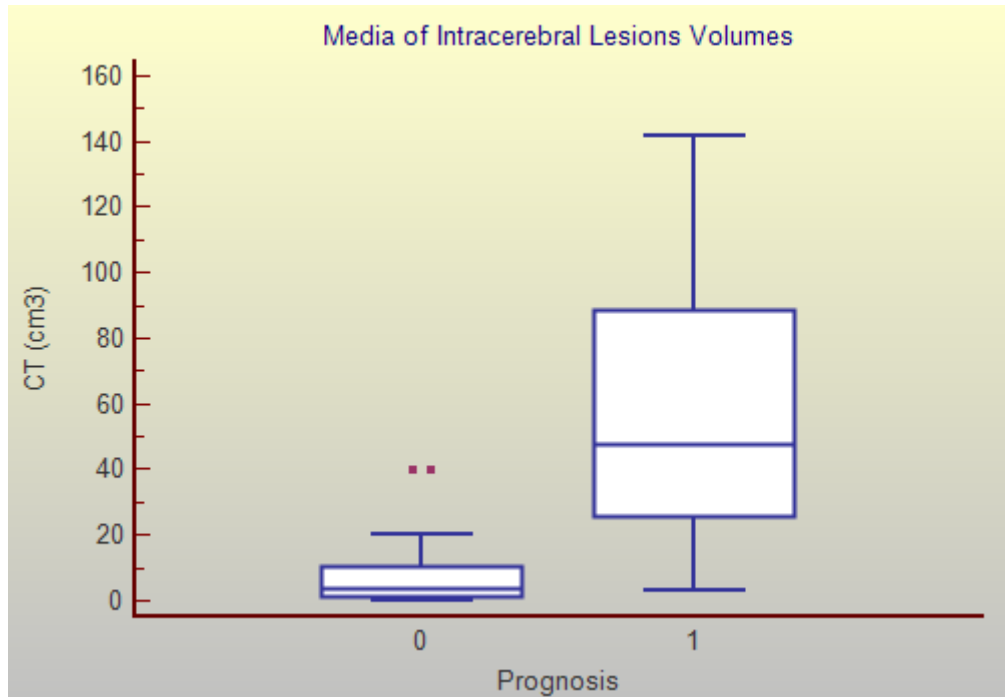
**Mann-Whitney U test.

***Logistic regression.

¹Association value between prognosis and IL-6 level

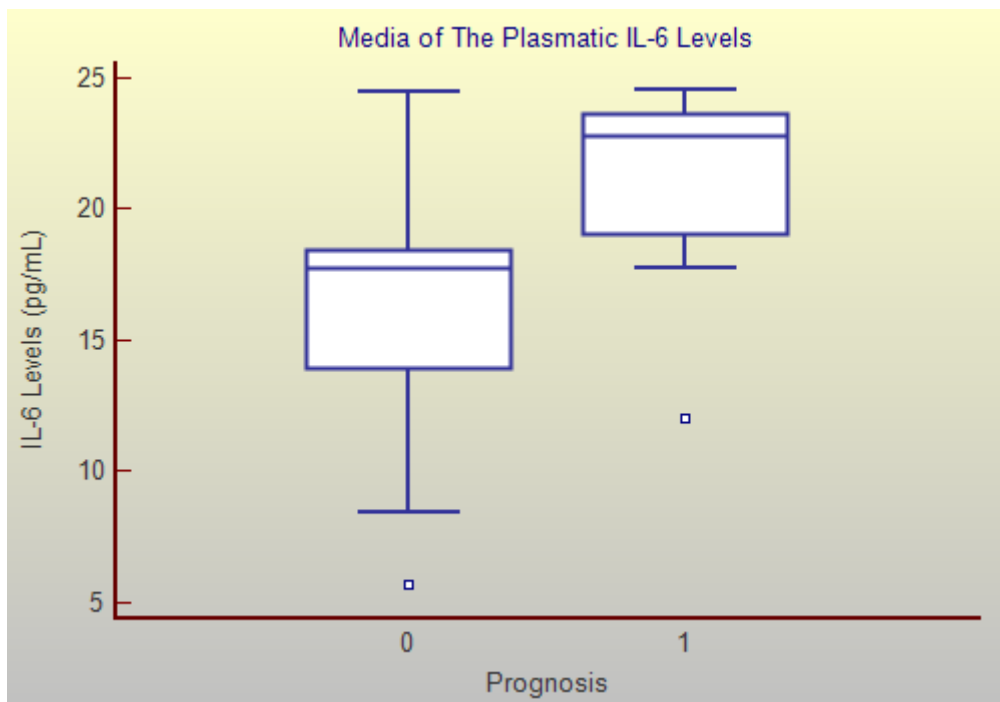
²Association value between prognosis and CT volume

GRAPHIC 1. DISTRIBUTION OF INTRACEREBRAL LESION VOLUME (CM³) (MEDIA BETWEEN ADMISSION AND CONTROL CT SCANS) IN THE GOOD AND POOR PROGNOSIS.



Legend: Group of patients with a good (0) and poor (1) prognosis; (p< 0.0001)

GRAPHIC 2. DISTRIBUTION OF MEAN PLASMATIC IL-6 LEVELS (PG/ML) (6 AND 12 HOURS POST-TRAUMA) WITH GOOD AND POOR PROGNOSIS.



Legend: Group of patients with a good (0) and poor (1) prognosis; $p < 0.0001$.

REFERENCES

1. Adams JH, Graham DI, Gennarelli TA: Head injury in man and experimental animals: neuropathology. **Acta Neurochir Suppl (Wien)** **32**:15-30, 1983
2. Adams JH, Graham DI, Scott G, Parker LS, Doyle D: Brain damage in fatal non-missile head injury. **J Clin Pathol** **33**:1132-1145, 1980
3. Ayala A, Wang P, Ba ZF, Perrin MM, Ertel W, Chaudry IH: Differential alterations in plasma IL-6 and TNF levels after trauma and hemorrhage. **Am J Physiol** **260**:R167-171, 1991
4. Beamer NB, Coull BM, Clark WM, Hazel JS, Silberger JR: Interleukin-6 and interleukin-1 receptor antagonist in acute stroke. **Ann Neurol** **37**:800-805, 1995
5. Bratton SL, Chestnut RM, Ghajar J, McConnell Hammond FF, Harris OA, Hartl R, et al: Guidelines for the management of severe traumatic brain injury. XV. Steroids. **J Neurotrauma** **24 Suppl 1**:S91-95, 2007
6. Bullock RM, Chesnut R, Ghajar J, Gordon D, Hartl R, Newell DW, et al: Guidelines for the Surgical Management of Traumatic Brain Injury. Appendix I: Post-traumatic Mass Volume Measurement in Traumatic Brain Injury Patients. **Neurosurgery** **58**:S2-61, 2006
7. Chavarria A, Alcocer-Varela J: Is damage in central nervous system due to inflammation? **Autoimmun Rev** **3**:251-260, 2004
8. Courville CB: Coup contre-coup mechanism of craniocerebral injuries. **Arch Surg** **45**:19-43, 1942
9. de Bandt JP, Chollet-Martin S, Hernvann A, Lioret N, du Roure LD, Lim SK, et al: Cytokine response to burn injury: relationship with protein metabolism. **J Trauma** **36**:624-628, 1994
10. Emsley HC, Smith CJ, Gavin CM, Georgiou RF, Vail A, Barberan EM, et al: An early and sustained peripheral inflammatory response in acute ischaemic stroke: relationships with infection and atherosclerosis. **J Neuroimmunol** **139**:93-101, 2003
11. Emsley HC, Smith CJ, Gavin CM, Georgiou RF, Vail A, Barberan EM, et al: Clinical outcome following acute ischaemic stroke relates to both activation and autoregulatory inhibition of cytokine production. **BMC Neurol** **7**:5, 2007
12. Graham DI, Adams JH, Gennarelli TA: Pathology of brain damage in head injury, in Cooper PR (ed): **Head Injury**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1993, pp 91-113
13. Gruol DL, Nelson TE: Physiological and pathological roles of interleukin-6 in the central nervous system. **Mol Neurobiol** **15**:307-339, 1997
14. Gurdjian ES: Cerebral contusions: re-evaluation of the mechanism of their development. **J Trauma** **16**:35-51, 1976
15. Heesen M, Deinsberger W, Dietrich GV, Detsch O, Boldt J, Hempelmann G: Increase of interleukin-6 plasma levels after elective craniotomy:

- influence of interleukin-10 and catecholamines. **Acta Neurochir (Wien)** **138**:77-80, 1996
16. Herx LM, Rivest S, Yong VW: Central nervous system-initiated inflammation and neurotrophism in trauma: IL-1 beta is required for the production of ciliary neurotrophic factor. **J Immunol** **165**:2232-2239, 2000
 17. Holmin S, Soderlund J, Biberfeld P, Mathiesen T: Intracerebral inflammation after human brain contusion. **Neurosurgery** **42**:291-298; discussion 298-299, 1998
 18. Hulkkonen J, Pertovaara M, Anttonen J, Pasternack A, Hurme M: Elevated interleukin-6 plasma levels are regulated by the promoter region polymorphism of the IL6 gene in primary Sjogren's syndrome and correlate with the clinical manifestations of the disease. **Rheumatology (Oxford)** **40**:656-661, 2001
 19. Jean WC, Spellman SR, Nussbaum ES, Low WC: Reperfusion injury after focal cerebral ischemia: the role of inflammation and the therapeutic horizon. **Neurosurgery** **43**:1382-1396; discussion 1396-1387, 1998
 20. Kaplin AI, Deshpande DM, Scott E, Krishnan C, Carmen JS, Shats I, et al: IL-6 induces regionally selective spinal cord injury in patients with the neuroinflammatory disorder transverse myelitis. **J Clin Invest** **115**:2731-2741, 2005
 21. Kinoshita K, Chatzipanteli K, Vitarbo E, Truettner JS, Alonso OF, Dietrich WD: Interleukin-1beta messenger ribonucleic acid and protein levels after fluid-percussion brain injury in rats: importance of injury severity and brain temperature. **Neurosurgery** **51**:195-203; discussion 203, 2002
 22. Kipnis J, Yoles E, Schori H, Hauben E, Shaked I, Schwartz M: Neuronal survival after CNS insult is determined by a genetically encoded autoimmune response. **J Neurosci** **21**:4564-4571, 2001
 23. Lee JM, Grabb MC, Zipfel GJ, Choi DW: Brain tissue responses to ischemia. **J Clin Invest** **106**:723-731, 2000
 24. Lichtor T, Libermann TA: Coexpression of interleukin-1 beta and interleukin-6 in human brain tumors. **Neurosurgery** **34**:669-672; discussion 672-663, 1994
 25. Menon DK: Procrustes, the traumatic penumbra, and perfusion pressure targets in closed head injury. **Anesthesiology** **98**:805-807, 2003
 26. Miller JD, Corales RL: Brain edema as a result of head injury: fact and fallacy., in de Vlieger M, de Lauge SA, Becks JWS (eds): **Brain Edema**. New York: John Wiley, 1981, pp 99-115
 27. Miller JD, Sweet RC, Narayan R, Becker DP: Early insults to the injured brain. **JAMA** **240**:439-442, 1978
 28. Muylle L, Joos M, Wouters E, De Bock R, Peetermans ME: Increased tumor necrosis factor alpha (TNF alpha), interleukin 1, and interleukin 6 (IL-6) levels in the plasma of stored platelet concentrates: relationship between TNF alpha and IL-6 levels and febrile transfusion reactions. **Transfusion** **33**:195-199, 1993
 29. Muylle L, Peetermans ME: Effect of prestorage leukocyte removal on the cytokine levels in stored platelet concentrates. **Vox Sang** **66**:14-17, 1994

30. Osuka K, Suzuki Y, Saito K, Takayasu M, Shibuya M: Changes in serum cytokine concentrations after neurosurgical procedures. **Acta Neurochir (Wien)** **138**:970-976, 1996
31. Pasquale MD, Cipolle MD, Monaco J, Simon N: Early inflammatory response correlates with the severity of injury. **Crit Care Med** **24**:1238-1242, 1996
32. Prandini MN, Lacanna SN, Valente PR, Stavale JN: Regional mild hypothermia in the protection for ischemic brain. **Acta Cir Bras** **17**:232-235, 2002
33. Prandini MN, Neves Filho A, Lapa AJ, Stavale JN: Mild hypothermia reduces polymorphonuclear leukocytes infiltration in induced brain inflammation. **Arq Neuropsiquiatr** **63**:779-784, 2005
34. Prins RM, Liao LM: Immunology and immunotherapy in neurosurgical disease. **Neurosurgery** **53**:144-152; discussion 152-143, 2003
35. Qureshi AI, Suri MF, Ling GS, Khan J, Guterman LR, Hopkins LN: Absence of early proinflammatory cytokine expression in experimental intracerebral hemorrhage. **Neurosurgery** **49**:416-420; discussion 421, 2001
36. Rose J, Valtonen S, Jennett B: Avoidable factors contributing to death after head injury. **Br Med J** **2**:615-618, 1977
37. Rothwell NJ, Strijbos PJ: Cytokines in neurodegeneration and repair. **Int J Dev Neurosci** **13**:179-185, 1995
38. Roumen RM, Hendriks T, van der Ven-Jongekrijg J, Nieuwenhuijzen GA, Sauerwein RW, van der Meer JW, et al: Cytokine patterns in patients after major vascular surgery, hemorrhagic shock, and severe blunt trauma. Relation with subsequent adult respiratory distress syndrome and multiple organ failure. **Ann Surg** **218**:769-776, 1993
39. Sandhir R, Puri V, Klein RM, Berman NE: Differential expression of cytokines and chemokines during secondary neuron death following brain injury in old and young mice. **Neurosci Lett** **369**:28-32, 2004
40. Schoning B, Elepfandt P, Lanksch WR, Volk HD, Woiciechowsky C: Continuous infusion of proinflammatory cytokines into the brain to study brain cytokine induced local and systemic immune effects. **Brain Res Brain Res Protoc** **4**:217-222, 1999
41. Smith CJ, Emsley HC, Gavin CM, Georgiou RF, Vail A, Barberan EM, et al: Peak plasma interleukin-6 and other peripheral markers of inflammation in the first week of ischemic stroke correlate with brain infarct volume, stroke severity and long-term outcome. **BMC Neurol** **4**:2, 2004
42. Teasdale GM, Graham DI: Craniocerebral trauma: protection and retrieval of the neuronal population after injury. **Neurosurgery** **43**:723-737; discussion 737-728, 1998
43. Waage A, Brandtzaeg P, Halstensen A, Kierulf P, Espevik T: The complex pattern of cytokines in serum from patients with meningococcal septic shock. Association between interleukin 6, interleukin 1, and fatal outcome. **J Exp Med** **169**:333-338, 1989

44. Wang Q, Tang XN, Yenari MA: The inflammatory response in stroke. **J Neuroimmunol** **184**:53-68, 2007
45. Woiciechowsky C, Asadullah K, Nestler D, Glockner F, Robinson PN, Volk HD, et al: Different release of cytokines into the cerebrospinal fluid following surgery for intra- and extra-axial brain tumours. **Acta Neurochir (Wien)** **139**:619-624, 1997
46. Woiciechowsky C, Schoning B, Cobanov J, Lanksch WR, Volk HD, Docke WD: Early IL-6 plasma concentrations correlate with severity of brain injury and pneumonia in brain-injured patients. **J Trauma** **52**:339-345, 2002
47. Woiciechowsky C, Schoning B, Lanksch WR, Volk HD, Docke WD: Mechanisms of brain-mediated systemic anti-inflammatory syndrome causing immunodepression. **J Mol Med** **77**:769-780, 1999
48. Xing Z, Gauldie J, Cox G, Baumann H, Jordana M, Lei XF, et al: IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. **J Clin Invest** **101**:311-320, 1998
49. Yoles E, Hauben E, Palgi O, Agranov E, Gothilf A, Cohen A, et al: Protective autoimmunity is a physiological response to CNS trauma. **J Neurosci** **21**:3740-3748, 2001
50. Zhu T, Yao Z, Yuan HN, Lu BG, Yang SY: Changes of interleukin-1 beta, tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 in brain and plasma after brain injury in rats. **Chin J Traumatol** **7**:32-35, 2004
51. Zimmerman RA, Bilaniuk LT: Computer tomography of traumatic intracerebral hemorrhagic lesions: the change in density and mass effect with time. **Neuroradiology** **16**:320-321, 1978

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Inferir uma resposta sobre o papel da IL-6 no prognóstico de pacientes com trauma cranioencefálico e hemorragia intracerebral, neste estudo, pode apresentar alguns vieses. O primeiro estaria relacionado ao grupo amostral participante da pesquisa, o qual não se encontra em um número satisfatório para uma inferência mais sustentada, outro fato seria a não homogeneidade do grupo quando observado o grau do traumatismo segundo a Escala de Coma de Glasgow (GCS), onde 73,4% dos pacientes apresentaram-se como grau leve, 13,3% grau moderado e 13,3% como grau grave. De qualquer maneira o presente estudo trouxe resultados interessantes sobre o observado e requer uma continuidade para concretização das inferências que serão feitas nos próximos parágrafos.

O grupo de bom prognóstico foi formado por 21 pacientes, com variação na GCS entre 9 e 15 pontos. O grupo de prognóstico ruim formou-se por 9 pacientes, destes 4 foram inicialmente diagnosticados com GCS entre 3 e 8 pontos e 5 pontuados entre 13 e 15.

Embora tenha havido o acompanhamento e a coleta dos pacientes dentre as primeiras 72 horas pós-trauma, apenas as coletas quantificadas 6 e 12 horas puderam ser utilizadas nas análises do nível de IL-6. Isto ocorreu em consequência dos critérios de exclusão, que retirou da análise as amostras de sangue coletadas após a necessidade de algum procedimento cirúrgico.

Os resultados obtidos mostraram associação entre o prognóstico clínico da paciente, ao final de 72 horas, e os níveis de IL-6 quantificados nas coletas de 6 e 12 horas pós-trauma, sugerindo que os níveis iniciais desta interleucina são importantes para a evolução clínica do paciente. Hipótese corroborada ao encontrar correlação entre o nível de IL-6, 6 horas pós-trauma, e a diferença volumétrica encontrada nas análises das lesões hemorrágicas, entre a TAC admissional e de controle.

O mais interessante foi a observação de que os níveis de IL-6, quantificados decorridas 6 horas do trauma, mostraram associação com a classificação prognóstica do paciente segundo a GCS (em leve, moderado e grave), o que não foi encontrado com as análises tomográficas. Sugerindo que os níveis plasmáticos de IL-6 são mais informativos para o enquadramento

neurológico do paciente, segundo a GCS, do que os volumes das lesões hemorrágicas.

O fato é que pacientes com prognóstico clínico ruim apresentam maiores médias dos níveis de IL-6 plasmáticos, quando comparados aos de prognóstico bom. Sendo assim, esta diferença não é mantida devido a uma síntese muito maior de IL-6 pelo grupo de pacientes com prognóstico ruim e sim devido ao fato de que neste grupo os níveis de IL-6 são mantidos constantes, enquanto que no grupo de pacientes com prognóstico bom estes níveis tenderam a diminuir.

Terapêuticas que visam a diminuição dos níveis de IL-6 como a administração de drogas imunossupressoras (corticosteróides) (Narayan et al. 2002; Osuka et al. 1996; Woiciechowsky et al. 2001) poderiam ser sugeridas no tratamento de pacientes com traumatismo cranioencefálico fechado e com hemorragia intracerebral, que mantivessem constantes os níveis de IL-6 plasmáticos nas primeiras 12 horas pós-trauma.

Outra medida profilática poderia ser a administração local de hipotermia moderada, a fim de conter a resposta inflamatória e o aumento da área da injúria mediada por mecanismos hipóxia e isquemia secundária (Prandini et al. 2005; Prandini et al 2002).

Como o mecanismo inflamatório se trata de um processo multifatorial, não há como prever se o posterior controle dos níveis de IL-6 seria o suficiente para garantir a sobrevivência dos pacientes. Uma vez que o estímulo que mantém constantes os níveis de IL-6, no grupo de pacientes com prognóstico ruim, também deve manter a síntese de outros mediadores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Abbas AK, Lichtman AH (2003). Cellular and Molecular Immunology. 5^oed. Philadelphia:Saunders, p.243-274.
- 2) Ambrosini E, Columba-Cabezas S, Serafini B, et al (2003). Astrocytes are the major intracerebral source of macrophage inflammatory protein-3 α /CCL20 in relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis and in vivo. *Glia* 41: 290-300.
- 3) Annegers JF, Grabow JD, Kurland LT, Laws ER (1980). The incidence, causes, and secular trends of head trauma in Olmsted County, Minnessota, 1935-1974. *Neurology* 30(9): 912-9.
- 4) Ayala A, Wahg P, Ba ZF, et al (1991) Differential alterations in plasma IL-6 and TNF levels after trauma and hemorrhage. *Am J Physiol* 260:R167-71.
- 5) Barker RA, Widner H (2004) Immune problems in central nervous system cell teraphy. *NeuroRx* 1(4): 472-81.
- 6) Beamer NB, Coull BM, Clark WM, Silberger JR (1995). Interleukin-6 and interleukin-1 receptor antagonist in acute stroke. *Ann Neurol* 37: 800-4.
- 7) Becker DP, Verity MA, Povlishock J, Cheung M (1988). Brain cellular injury and recovery – horizons for improving medical therapies in stroke and trauma. *West J Med* 148: 670-684.
- 8) Benoist C, Mathis D (2002). Mast cells in autoimmune disease. *Nature* 420: 875-8.
- 9) Benveniste EN (1997). Role of macrophages/microglia in multiple sclerosis and experimental allergic encephalomyelitis. *J Mol Med* 75: 165-73.
- 10) Berti R, Williams AJ, Moffett JR, et al (2002). Quantitative real-time RT-PCR analysis of inflammatory gene expression associated with ischemia-reperfusion brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 22(9): 1068-79.
- 11) Bradbury EJ, Moon LD, Popat RJ, et al (2002) Chondroitinase ABC promotes functional recovery after spinal cord injury. *Nature* 416:636–40.

- 12) Buckwalter MS, Wyss-Coray T (2004). Modelling neuroinflammatory phenotypes in vivo. *J Neuroinflammation* 1(1): 10.
- 13) Bullock MR, Chesnut R, Ghajar J, et al (2006). Surgical management of traumatic brain injury: author group. *Neurosurg* 58(3): S2-61.
- 14) Burzotta F, Iacoviella L, Di Castelnuovo A, et al (2001). Relation of the – 174 G/C polymorphism of interleukin-6 to interleukin-6 plasma levels and to length of hospitalization after surgical coronary revascularization. *Am J Cardiol* 88(10): 1125-8.
- 15) Buss A, Brook GA, Kakulas B, et al (2004) Gradual loss and formation of an astrocytic scar during Wallerian degeneration in the human spinal cord. *Brain* 127(1): 34-44.
- 16) Caroni P, Savio T, Schwab ME (1998a). Central nervous system regeneration: Oligodendrocytes and myelin as non-permissive substrates for neurite growth. *Prog Brain Res* 78: 363–70.
- 17) Caroni P, Schwab ME (1998b). Two membrane protein fractions from rat central myelin with inhibitory properties for neurite growth and fibroblast spreading. *J Cell Biol* 106: 1281–8.
- 18) Chavarria A, Alcocer-Varela J (2004). Is damage in central nervous system due to inflammation? *Autoimmun Rev* 3: 251-60.
- 19) Columba-Cabezas S, Serafini B, Ambrosini E, Aloisi F (2003). Lymphoid chemokines CCL19 and CCL21 are expressed in the central nervous system during experimental autoimmune encephalomyelitis: implications for the maintenance of chronic neuroinflammation. *Brain Pathol* 13: 38-51.
- 20) Condic M (2001). Adult neuronal regeneration induced by transgenic integrin expression. *J Neurosci* 21(13): 4782-88.
- 21) Cross AK, Woodroffe MN (1999). Chemokine modulation of matrix metalloproteinase and TIMP production in adult rat brain microglia and a human microglial cell line in vivo. *Glia* 28: 183-9.
- 22) De Bandt JP, Chollet-Martin S, Hervann A, et al (1994) Cytokine response to burn injury: relationship with protein metabolism. *J Trauma* 36(5): 624-28.

- 23) Dekosky ST, Kochanek PM, Clarck RS, et al (1998). Secondary injury after head trauma: subacute and long-term mechanisms. *Semin Clin Neuropsychiatry* 3(3): 176-85.
- 24) Dietrich WD, Chatzipanteli K, Vitarbo E, et al (2004). The role of inflammatory process in the pathophysiology and treatment of brain and spinal cord trauma. *Acta Neurochir (Suppl)* 89: 69-74.
- 25) Emsley HAC, Smith CJ, Gavin CM et al (2007). Clinical outcome following acute ischaemic stroke relates to both activation and autoregulatory inhibition of cytokine production. *BMC Neurol* 7:5-16.
- 26) Emsley HC, Tyrrell PJ (2002). Inflammation and infection in clinical stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* 22(12): 1399-419.
- 27) Emsley HCA, Smith CJ, Gavin CM et al (2003). An early and sustained peripheral inflammatory response in acute ischaemic stroke: relationships with infection and atherosclerosis. *J Neuroimmunol* 139:93-101.
- 28) Fillebeen C, Descamps L, Dehouck MP, et al (1999) Receptor-mediated transcytosis of lactoferrin through the blood-brain barrier. *J Biol Chem* 274(11): 7011-17.
- 29) Flugel A (2000). Neuronal Fas-1 induces cell death of encephalitogenic T lymphocytes. *Brain Pathol* 10: 353-64.
- 30) Forte WN (2004). *Imunologia Básica e Aplicada*. Porto Alegre: Artmed, p.141-160.
- 31) Genain CP, Cannella B, Hauser SL, Raine CS (1999). Identification of autoantibodies associated with myelin damage in multiple sclerosis. *Nat Med* 5: 170-5.
- 32) Grab DJ, Dumler JS, Kim KJ, et al (2005) Host-derived proteases, and the blood-brain barrier. *Infect Immun* 73(2): 1014-22.
- 33) Gruol DL, Nelson TE (1997). Physiological and pathological roles of interleukin-6 in central nervous system. *Mol Neurobiol* 15:307-39.
- 34) Hall ED, Springer JE (2004). Neuroprotection and acute spinal cord injury: a reappraisal. *Neuro RX* 1: 80-100.

- 35) Hammarberg H, Lindman O, Lundberg C, et al (2000). Neuroprotection By Encephalomyelitis: Rescue of Mechanically Injured Neurons and Neurotrophin Production By CNS-Infiltrating T and Natural Killer Cells. *J Neurosci* 20(14):5283-91.
- 36) Hauben E, Agronav E, Gothilf A, et al (2001). Posttraumatic Therapeutic Vaccination With Modified Myelin Self-Antigen Prevents Complete Paralysis While Avoiding Autoimmune Disease. *J Clin Invest* 108: 591-99.
- 37) Hauben E, Butovsky O, Nevo U, et al (2000). Passive or Active Immunization With Myelin Basic Protein promotes Recovery from Spinal Cord Contusion. *J Neurosci* 20(17): 6421-30.
- 38) Heesen M, Deinsberger W, Dietrich GV, et al (1996). Increase of interleukin-6 plasma levels after elective craniotomy: influence of interleukin-10 and catecholamines. *Acta Neurochir (Wien)* 138: 77-80.
- 39) Herx LM, Rivest S, Yong VW (2000). Central nervous system-initiated inflammation and neurotrophism in trauma, IL-1 β is required for the production of ciliary neurotrophic factor. *J Immunol* 165: 2232-39.
- 40) Hickey W (1999). Leucocyte traffic in the central nervous system: the participants and their roles. *Semin Immunol* 11: 125-37.
- 41) Holmin S, Söderlund J, Biberfeld P, Mathiesen T (1998). Intracerebral inflammation after human brain contusion. *Neurosurg* 42: 291-99.
- 42) Hulkkonen J, Pertovaara M, Anttonen J, et al (2001). Elevated interleukin-6 plasma levels are regulated by the promoter region polymorphism of the IL6 gene in primary Sjögren's syndrome and correlate with the clinical manifestations of disease. *Rheumatology* 40: 656-61.
- 43) Ibarra P (2005). Prevención/minimización de la injuria secundaria en el TCE. *Rev Col Anest* 33: 259-68.
- 44) Jean WC, Spellman SR, Nussbaum ES, Low WC (1998). Reperfusion injury after focal cerebral ischemia, the role of inflammation and the therapeutic horizon. *Neurosurg* 43: 1382-97.

- 45) Jerin A, Pozar-Lukanovic N, Sojar V, et al (2003). Balance of pro- and anti-inflammatory cytokines in liver surgery. *Clin Chem Lab Med* 41(7): 899-903.
- 46) Junqué C, Bruna O, Mataró M (2001). Traumatismos Cranioencefálicos: uma abordagem da neuropsicologia e fonoaudiologia. São Paulo: Santos, p.1-19.
- 47) Kaplin AI, Deshpande DM, Scott E, et al (2005). IL-6 induces regionally selective spinal cord injury in patients with the neuroinflammatory disorder transverse myelitis. *J Clin Invest* 115(10): 2731-41.
- 48) Karpus WJ, Ransohoff RM (1998). Chemokine regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis: temporal and spatial expression patterns govern disease pathogenesis. *J Immunol* 161: 2667-71.
- 49) Kawakami N, Nagerl V, Odoardi F, et al (2005). Live imaging of effector cell trafficking and autoantigen recognition within the unfolding autoimmune encephalomyelitis lesion. *J Exp Med* 201(11): 1805–1814.
- 50) Kerschensteiner M, Gallmeier E, Behrens L, et al (1999). Activated Human T Cells, B Cells, and Monocytes produce Brain-Derived Neurotrophic Factor In Vivo and in Inflammatory Brain Lesions: A Neuroprotective Role of Inflammation? *J Exp Med* 189(5): 865-70.
- Kinoshita K, Chatzipanteli K, Vitarbo E, et al (2002) Interleukin-1 β messenger ribonucleic acid and protein levels after fluid-percussion brain injury in rats: importance of injury severity and brain temperature. *Neurosurg* 51: 195-203.
- 51) Kinoshita K, Chatzipanteli K, Vitarbo E, et al (2002). Interleukin-1 β messenger ribonucleic acid and protein levels after fluid-percussion brain injury in rats: importance of injury severity and brain temperature. *Neurosurg* 51: 195-203.
- 52) Kipnis J, Yoles E, Schori H, et al (2001) Neuronal Survival After CNS Insult Is Determined by a Genetically Encoded Autoimmune Response. *J Neurosci* 21(13): 4564-71.

- 53) Krakowski ML, Owens T (1997). The central nervous system environment controls effector CD4⁺ T cell cytokine profile in experimental allergic encephalomyelitis. *J Immunol* 27: 2840-7.
- 54) Kruijk JR, Leffers P, Menheere PPCA, et al (2002). Prediction of post-traumatic complaints after mild traumatic brain injury: early symptoms and biochemical markers. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 73: 727-32.
- 55) Kulkarni AP, Kellaway LA, Lahiri CK, Kotwal GJ. (2004) Neuroprotection from complement-mediated inflammatory damage. *Ann N Y Acad Sci* 1035:147-64.
- 56) Kwon BK, Borisoff JF, Tetzlaff W. (2002). Molecular targets for therapeutic intervention after spinal cord injury. *Mol Interv* 2: 244-58.
- 57) Lee JM, Grabb MC, Zipfel GJ et al (2000) Brain tissue response to ischemia. *J Clin Invest* 106(6):723-31.
- 58) Lichtor T, Libermann TA (1994). Coexpression of interleukin-1 β and interleukin-6 in human brain tumors. *Neurosurg* 34: 669-73.
- 59) Lucas SM, Rothwell NJ, Gibson RM (2006). The role of inflammation in CNS injury and disease. *British J Pharmacol* 147: S232-40.
- 60) Matyszak MK, Perry H (1996). The potential role of dendritic cells in immune-mediated inflammatory disease in the central nervous system. *Neuroscience* 74: 599-608.
- 61) McGeer PL, McGeer EG (2001). Inflammation, autotoxicity and Alzheimer disease. *Neurobiol Aging* 22: 799-809.
- 62) Menon DK (2003). Procrustes, the traumatic penumbra, and perfusion pressure targets in closed head injury. *Anesthesiology* 98:805-7.
- 63) Misko TP, Troller JL, Cross AH (1995). Mediation of inflammation by encephalitogenic cells: interferon gamma induction of nitric oxide synthase and cyclooxygenase 2. *J Neuroimmunol* 61: 195-204.
- 64) Muylle L, Joos M, Mwouters E, et al (1993). Increased tumor necrosis factor alpha (TNF alpha), interleukin 1, and interleukin 6 (IL-6) levels in the

- plasma of stored platelet concentrates: relationship between TNF alpha and IL-6 levels and febrile transfusion reaction. *Transfusion* 33(3): 195-99.
- 65) Muylle L, Peetermans ME (1992) Effect of prestorage leukocyte removal on the cytokine levels in stored platelet concentrates. *Vox Sang* 66:14-7.
 - 66) Narayan RK, Michel ME, Anseel B, et al (2002). Clinical trials in head injury. *J Neurotrauma* 19(5): 503-57.
 - 67) Nathan C (2002). Points of control in inflammation. *Nature* 420: 846-52.
 - 68) Olsson T (1994). Neuronal interferon- γ immunoreactive molecule: bioactivities and purifications. *Eur J Immunol* 24: 308-14.
 - 69) Omari KM, Dorovini-Zis K (2003). CD40 expressed by human brain endothelial cells regulates CD4⁺ T cell adhesion to endothelium. *J neuroimmunol* 134: 166-78.
 - 70) Oppenheim JJ, Ruscetti, FW (2000). *Imunologia Médica*. In: Stites DP, Terr AI, Parslow TG. 9^{ed}. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.113-129.
 - 71) Orlikowski D, Chazaud B, Plonquet A, et al (2003). Monocyte chemoattractant protein 1 and chemokine receptor CCR2 productions in Guillain-Barré syndrome and experimental auto immune neuritis. *J Neuroimmunol* 134: 118-27.
 - 72) Osuka K, Suzuki Y, Saito K, et al (1996). Changes in serum cytokine concentration after neurosurgical procedures. *Acta Neurochir (Wien)* 138: 970-6.
 - 73) Pasquale MD, Cipolle MD, Monaco J, Simon N (1996). Early inflammatory response correlates with the severity of injury. *Crit Care Med* 24(7):1238-42.
 - 74) Paterson PY (1960). Transfer of allergic encephalomyelitis in rats by means of lymph node cells. *J Exp Med* 111: 119-35.
 - 75) Penkowa M, Giralt M, Lago N, et al (2003). Astrocyte-Targeted expression of IL-6 protects the CNS against a focal brain injury. *Exp Neurol* 181(2): 130-48.

- 76) Pitt D, Werner P, Raine CS (2000). Glutamate excitotoxicity in a model of multiple sclerosis. *Nat Med* 6: 67-70.
- 77) Polfliet MM, van der Veerdonk F, Döpp EA, et al (2002). The role of perivascular and meningeal macrophages in experimental allergic encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 122(1-2): 1-8.
- 78) Prandini MN, Lacanna SN, Valente PR, Stavale JN (2002). Regional mild hypothermia in the protection of the ischemic brain. *Acta Cir Bras* 17: 232-35.
- 79) Prandini MN, Neves-Filho A, Lapa AJ, Stavale JN (2005). Mild hypothermia reduces polymorphonuclear leucocytes infiltration in induced brain inflammation. *Arq Neuropsiquiatr* 63(3-B): 779-84.
- 80) Prins RM, Liao LM (2003). Immunology and immunotherapy in neurosurgical disease. *Neurosurg* 53:144-53.
- 81) Qureshi AI, Suri FK, Ling GSF, et al (2001). Absence of early proinflammatory cytokine expression in experimental intracerebral hemorrhage. *Neurosurg* 49: 416-21.
- 82) Ramer LM, Ramer MS, Steeves JD (2005). Setting the stage for functional repairs of spinal cord injuries: a cast of thousands. *Spinal Cord* 43(3): 134-61.
- 83) Rielly PL (2001). Brain injury: the pathophysiology of the first hours: 'Talk and die revisited'. *J Clin Neurosci* 8(5): 398-403.
- 84) Rothwell NJ, Strijbos PJ (1995). Cytokines in neurodegeneration and repair. *Int J Dev Neurosci* 13: 179-85.
- 85) Roumen RMH, Hendriks T, van der Vem-Jongekrijg, et al (1993). Cytokine patterns in patients after major vascular surgery, hemorrhagic shock, and severe blunt trauma: relation with subsequent adult respiratory distress syndrome and multiple organ failure. *Ann Surg* 218:769-76.
- 86) Sandhir R, Puri V, Klein RM, Berman NE (2004). Differential expression of cytokines and chemokines during secondary neuron death following brain injury in old and young mice. *Neurosci Lett* 369(1): 28-32.

- 87) Santambrogio L, Belyanskaya SL, Fischer FR, et al (2001). Developmental laticity of CNS microglia. *Pnas* 98(11): 6295-300.
- 88) Schöning B, Elepfandt P, Lanksch WR, et al (1999). Continuous infusion of proinflammatory cytokine into the brain to study brain cytokine induced local and systemic immune effects. *Brain Res Protoc* 4: 217-22.
- 89) Seabrook TJ, Hay JB (2001). Intracerebroventricular infusion of TNF-alpha preferentially recruit blood lymphocytes and induce a perivascular leukocyte infiltrate. *J Neuroimmunol* 113: 81-8.
- 90) Sedgwick JD, Schwender S, Imrich H, et al (1991). Isolation and direct characterization of resident microglial cells from the normal and inflamed central nervous system. *Proc Natl Acad Sci* 88: 7438-42.
- 91) Serafini B, Columba-Cabezas S, Di Rosa F, Aloisi F (2000). Intracerebral recruitment and maturation of dendritic cells in the onset and progression of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Am J Pathol* 157: 1991-2002.
- 92) Sharief MK, Matthews H, Noori MA (2003). Expression ratios of the Bel-2 family proteins and disease activity in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 134: 158-65.
- 93) Shen L, Smith JM, Shen Z, et al (2006). Differential regulation of neutrophil chemotaxis to IL-8 and fMLP by GM-CSF: lack of direct effect of oestradiol. *Immunology* 117(2): 205–212.
- 94) Shi FE, Takeda K, Akira S, et al (2000). IL-18 directs a autoreactive T cell and promotes autodestruction in the central nervous system via induction of IFN-gamma by NK cells. *J Immunol* 165: 3099-104.
- 95) Shusta EV (2005). Blood-brain genomics, proteomics, and new transposon discovery. *NeuroRx* 2: 151-61.
- 96) Smith CJ, Emsley HCA, Gavin CM, et al (2004). Peak plasma interleukin-6 and other peripheral markers of inflammation in the first week of ischaemic stroke correlate with brain infarct volume, stroke severity and long-term outcome. *BMC Neurol* 4: 2.

- 97) Teasdale G, Jannett B (1974). Assessment of coma and impaired consciousness: a practical scale. *Lancet* 2:81-4.
- 98) Teasdale GM, Graham DI (1998). Craniocerebral trauma: protection and retrieval of the neuronal population after injury. *Neurosurg* 43(4): 723-37.
- 99) Terasaki T, Ohtsuki S (2005). Brain-to-blood transporters for endogenous substrates and xenobiotics at the blood-brain barrier: an overview of biology and methodology. *NeuroRx* 2: 63-72.
- 100) Thornhill S, Teasdale GM, Murray GD, et al (2000). Disability in young people and adults one year after head injury: prospective cohort study. *BMJ* Jun; 320: 1631-35.
- 101) van der Naalt J, van Zomeren AH, Switer WS, Minderhoud JM (1999). One year outcome in mild to moderate head injury: the predictive value of acute injury characteristics related to complaints and return to work. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 66: 207-13.
- 102) Waage A, Brandtzaeg P, Halstensen A, et al (1989). The complex pattern of cytokine in serum from patients with meningococcal septic shock. *J Exp Med* 169: 333-8.
- 103) Wang X, Feuerstein GZ (2000). Role of immune and inflammatory mediators in CNS injury. *Drug News Perspect* 13(3): 133-40.
- 104) Waring P, Wycherley K, Cary D, et al (1992). Leukemia inhibitory factor levels are elevated in septic shock and various inflammatory body fluids. *J Clin Invest* 90: 2031-37.
- 105) Wiese M (2003). British hospital and different versions of the Glasgow coma scale: telephone survey. *BMJ* 327: 782-83.
- 106) Winter CD, Pringle AK, Clough GF, Church MK (2004). Raised parenchymal interleukin-6 levels correlate with improved outcome after brain injury. *Brain* 127(Pt2): 3315-20.
- 107) Woiciechowsky C, Asadullah K, Nestler D, et al (1997). Different release of cytokines into the cerebrospinal fluid following surgery for intra- and extra-axial brain tumours. *Acta Neurochir (wien)* 139: 619-24.

- 108) Woiciechowsky C, Schöning B, Cobanov J, et al (2002). Early IL-6 plasma concentrations correlate with severity of brain injury and pneumonia in brain-injured patients. *J Trauma* 52: 339-45.
- 109) Woiciechowsky C, Schöning B, Daberkow N, et al (1999b). Brain-1L-1 β induce local inflammation but systemic anti-inflammatory response through stimulation of both hypothalamic-pituitary-adrenal axis and sympathetic nervous system. *Brain Res* 816: 563-71.
- 110) Woiciechowsky C, Schöning B, Lanksch W, et al (1999a). Mechanisms of brain-mediated systemic anti-inflammatory syndrome causing immunodepression. *J Mol Med* 77: 769-80.
- 111) Wong D, Prameya R, Dorovinil-Zis K (1999). In vitro adhesion and migration of T lymphocytes across monolayers of human brain microvessel endothelial cells: regulation by ICAM-1, VCAM-1, E-selectin and PECAM-1. *Neuropathol Exp Neurol* 58: 138-52.
- 112) Wu D (2005). Neuroprotections in experimental stroke with targeted neurotrophins. *NeuroRx* 2: 120-8.
- 113) Wu JY, Feng L, Hwan-Tae P, et al (2001). The neuronal repellent Slit inhibits leukocyte chemotaxis induced by chemotactic factors. *Nature* 410(6831): 948–952.
- 114) Xing Z, Gauldie J, Cox G, et al (1998). IL-6 an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J Clin Invest* 101(2): 311-20.
- 115) Yamaoka J, Kabashima K, Kawanishi M, et al (2002). Cytotoxicity of IFN- γ and TNF- α for vascular endothelial cell is mediated by nitric oxide. *Biochem Biophys Res* 291: 780-90.
- 116) Yoles E, Hauben E, Palgi O, et al (2001). Protective Autoimmunity Is a Physiological Response to CNS Trauma. *J Neurosci* 21(11):3740–48.
- 117) Zhou L, Baumgartner BJ, Hill-Felberg SJ, et al (2003). Neurotrophin-3 expressed in situ induces axonal plasticity in the injured spinal cord. *J Neurosci* 23(4): 1424.

- 118) Zhu T, Yao Z, Yuan HN, et al (2004). Changes of interleukin-1 beta, tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 in brain and plasma after brain injury in rats. Chin J Traumatol 7(1): 32-5.