



Kandidaatintutkielma

Aivovammat ja traumaattinen aksonivaurio eli TAI

Katja Päckilä

OULUN YLIOPISTO
BIOKEMIAN JA MOLEKYYLILÄÄKETIETEEN TIEDEKUNTA
2021

Sisällys

Käytetyt lyhenteet	
1. Johdanto	2
2. Aivovammat.....	2
3. Traumaattinen aksonivaurio.....	5
3.1 Patofysiologia.....	6
3.2 Primäärinen aksotomia.....	6
3.3 Sekundäärinen aksotomia.....	7
3.4 Neuroinflammaatio.....	8
3.5 Sytokiini	9
4. Veri-aivoesteen toimintahäiriöt aivovammoissa.....	10
4.1 Aivoödeema.....	11
5. Oksidatiivinen stressi TAI:ssa	11
5.1. Mitokondrio ja kalsium	12
5.2 Kalpainin aktivaatio oksidatiivisen stressin yhteydessä.....	13
6. Diagnostiikka	15
6.1. Diffuusitensorikuvaus	15
6.2 Tietokonekerroskuvaus	17
6.2 Biomarkkerit.....	17
7. Hoito.....	20
7.1 Käytössä olevat lääkkeaineet.....	21
7.2 Tutkimuksia lisää vaativat hoitomuodot	22
8. Yhteenveto	23
9. Lähdeluettelo.....	24

Käytetyt lyhenteet

AD = axial (parallel) diffusivity = aksiaalinen diffuusiivisuus

ADC = apparent diffusion coefficient

APP = amyloid precursor protein

AQP4 = akvaporini-4

ATP = adenosiniinitrifosfaatti

CDK = cyclic-dependent kinase

CT = tietokonekerroskuvaus

DAI = diffuusi aksonivaurio

DTI = diffuusitensorikuvaus

FA = fraktionaalinen anisotropia

GCS = Glasgow coma scale

ICP-mittari = aivopainemittari

MAPK = mitogeeniaktivoitu proteiinikinaasi

MBP = myelin basic protein

PPR = peroxisome proliferator-activated receptor

mPTP = mitochondrial permeability pore

RD = radial (perpendicular) diffusivity = säteittäinen diffuusiivisuus

ROI = region of interest

ROS = reactive oxygen species = reaktiiviset happiradikaalit

TAI = traumaattinen aksonivaurio

VBA = voxel-based analysis = vokselipohjainen analyysi

1. Johdanto

Aivovammat ovat maailmanlaajuinen ongelma, jotka tuottavat eniten kuolemia nuorten aikuisten keskuudessa länsimaissa. Erityisesti auto-onnettomuuksissa ja muissa moottoriajoneuvojen yhteentörmäyksissä olleilla potilailla esiintyy vakavia aivovammoja, ja niistä johtuvia jälkitiloja (Meythaler *et al.* 2001). Aivovammasta selvinneet kärsivät usein jälkitiloista, jonka aiheuttaa traumaattinen aksonivaurio (TAI), josta vanhempi ja tutumpi termi on diffuusi aksonivaurio (DAI). TAI syntyy aivojen parenkyymin suurienergisestä hidastuvuudesta tai kiihtyvyyden seurauksena, jossa aksonit taipuvat sekä vääntyvät katkeamiseen saakka. Yleensä TAI todetaan vasta myöhemmin kuin itse aivovamma ja se aiheuttaa potilaalle pitkäaikaisia, jopa elinikäisiä jälkitiloja. (Fratl *et al.* 2017) Jälkitilat haittaavat tavallista elämää merkittävästi, jolloin potilaat vaativat tukea arkeensa eivätkä usein kykene enää työelämään. TAI myös haittaa potilaan sosiaalista elämää, sillä usein jälkitilat aiheuttavat muutoksia persoonallisuudessa ja tunne-elämässä. Traumaattisesta aksonivauriosta ei voi parantua, mutta sen aiheuttamia oireita voidaan lieventää joko lääkityksin tai kuntouttavilla terapiamuodoilla, kuten fysioterapialla, puheterapialla ja neuropsykologialla.

Suomessa joka vuosi noin 20 000 ihmistä saa aivovamman. Näistä noin 5000 ovat sairaalassa ensimmäistä kertaa hoidettavissa aivovamman vuoksi. Peräti 2000–3000 henkilöä kärsii aivovamman jälkioireista, jotka johtuvat TAI:sta. On arvioitu, että pysyvien jälkitilojen esiintyvyys olisi noin 2 %. Tämän perusteella Suomessa olisi siis arviolta 100 000 henkilöä, jotka kärsivät aivovamman pysyvistä jälkioireista. (Alaranta *et al.* 2002)

2. Aivovammat

Aivovammat voidaan karkeasti jakaa kolmeen luokitusasteeseen: lievä, keskivaikea ja vaikea aivovamma. Vamman luokitusaste määritellään GCS:n eli Glasgow'n kooma-asteikon avulla. Potilaat, jotka saavat GCS:stä 13–15 pistettä luokitellaan lievän aivovamman saaneiksi ja 9–12 keskivaikean aivovamman saaneiksi. Alle kahdeksan pistettä saaneet potilaat luokitellaan vaikean aivovamman saaneiksi. GCS mittaa kolmea vastetta, joiden avulla todetaan vamman vakavuus (Taulukko 1). (Mesfin *et al.* 2020)

Lisäksi aivovammoihin liittyy jälkitiloja, jotka luokitellaan seuraavasti: Lievä aivovamman jälkitila, keskivaikea aivovamman jälkitila, vaikea aivovamman jälkitila ja erittäin vaikea aivovamman jälkitila. Jälkitilat johtuvat solutasojen vaurioista, kuten traumaattisesta aksonivauriosta eli TAI:sta.

Jälkitilojen haittaluokitusta arvioitaessa käytetään sosiaali- ja terveysministeriön asetuksiin perustuvaa taulukkoa (Taulukko 2). Jälkitiloja on tärkeä arvioida, sillä sen avulla saadaan potilaalle tarvittavaa tukea ja hoitoa arkeen. Jälkitiloista kärsivät potilaat käyvät usein muun muassa fysioterapiassa, jotta motoriikka kehittyisi. Erityisesti neuropsykologikäynnit ovat tärkeitä aivovamman jälkitilojen hoidossa.

Taulukko 1. GCS-tilukko aivovamman vakavuuden luokittelumiseksi

Vaste	Reagoiminen	Pisteet
Silmien avaus	Spontaanisti	4
	Puheelle	3
	Kivulle	2
	Ei mitään	1
Puhevaste	Normaali keskustelu	5
	Orientoitunut keskustelu	4
	Sanoja, mutta sekava	3
	Pelkkä äänteleminen	2
	Ei mitään	1
Motorinen vaste	Noudattaa käskyjä	6
	Kivun paikallistaminen	5
	Väistää kipua	4
	Fleksio kivulle	3
	Ekstensio kivulle	2
	Ei mitään	1
Pistemäärä		3–15

Taulukko 2. Aivovammjen jälkitilojen luokittelu. (Työtapaturma- ja ammattitautilaki 459/2015, 85 §)

Jälkitila	Haittaluokka
Lievä aivovamman jälkitila	0–5
<ul style="list-style-type: none"> - Alkuvaiheen tiedot viittaavat lievään tai keskivaikeaan aivovammaan - Lieviä pysyviä oireita: päänsärkytaipumus, muistin lievä epävarmuus kuormituksessa ja vähän alentunut rasiuksensieto - Sosiaalinen toimintakyky ennallaan 	
Keskivaikea aivovamman jälkitila	6–10
<ul style="list-style-type: none"> - Alkuvaiheen tiedot viittaavat vähintään keskivaikeaan aivovammaan - Lieviä, mutta selvästi haittaavia pysyviä oireita: toistuvat päänsäryt, muistin heikkeneminen, väsyvyys ja aloitekyvyn aleneminen - Sosiaalinen toimintakyky hieman heikentynyt - Tutkimuksissa voidaan todeta haittaavia vaikeuksia muun muassa toiminnan ohjauksessa ja muistissa - Voi esiintyä myös kognitiivisia erityshäiriöitä, epilepsiaa tai lieviä halvauksia 	
Vaikea aivovamman jälkitila	11–15
<ul style="list-style-type: none"> - Alkuvaiheen tiedot viittaavat vaikeaan aivovammaan - Esiintyy kohtalaisia tai vaikeita oireita, kuten esim. päänsärkyä tai selkeä kognitiivisen toimintakyvyn heikentyminen, jotka ovat tuntevia ja haittaavat merkittävästi jokapäiväistä toimintaa - Sosiaalinen toimintakyky selvästi heikentynyt - Eriasteisia neurologisia puutosoireita, kuten pareeseja ja kielellisiä häiriöitä tai epilepsiakohtauksia - Saattaa tarvita toisen henkilön ohjausta tai valvontaa 	
Erittäin vaikea aivovamman jälkitila	16–20
<ul style="list-style-type: none"> - Alkuvaiheen tiedot viittaavat erittäin vaikeaan aivovammaan - Erittäin vaikeita oireita, kuten neliraajahalvaus, vaikea ataksia ja vaikeahoitoinen epilepsia - Kognitiivinen tasonlasku on laaja-alainen ja merkittävä - Persoonallisuuden muutokset, toiminnanohjauksen vaikeudet, hidastuneisuus ja muut neuropsykologiset löydökset ovat niin vaikeita, että tarvitsee päivittäistä apua ja valvontaa 	

3. Traumaattinen aksonivaurio

Traumaattinen aksonivaurio tarkoittaa laajoja vaurioita aivojen solutasolla, joita erityisesti esiintyy aksoneissa aivorungossa, aivokuoren lähellä sijaitsevassa valkoisessa aineessa ja aivokurkiaisessa (Meythaler *et al.* 2001). Yleensä nämä vauriot syntyvät voimakkaissa hidastuvuuksissa ja kierroissa, jotka kohdistuvat nimenomaan aivojen valkeaan aineeseen. TAI on jälkiseurausta akuutista tai toistuvista aivovammoista. Tyypillisesti TAI jättää pysyviä vaurioita ja TAI-potilailla esiintyy erityisesti neurologisia toimintahäiriöitä kuten kognitiivisten kykyjen alentumista, motoristen taitojen ja aistien toimintojen heikkenemistä. TAI esiintyy 40–50 % aivovammoista. Yleensä TAI määritellään rakenteelliseksi vammaksi, jossa aivojen perusrakenteet ovat vaurioituneet mikroskooppitasolla, mutta TAI vaikuttaa molekyyalitasolla myös useisiin reaktioteihin kuten aineenvaihduntaan ja sähkökemian sekä aiheuttaa tulehdustiloja, mikä häiritsee aivojen normaalia toimintaa. (Laskowitz *et al.* 2016).

Uusimpien tutkimustulosten mukaan TAI eli traumaattinen aksonivaurio olisi tarkentavampi termi DAI:n eli diffuusin aksonivaurion sijasta, sillä DAI:n liittyvät löydökset yleensä viittaavat korkeaenergisestä trauman jälkeisiin tutkimuksiin jonkin ajan kuluessa itse onnettomuudesta (Bruggeman *et al.* 2021). TAI:n vakavuusastetta luokiteltaessa käytetään erilaisia kuvantamistekniikoita ja lisäksi Adamsin luokitusta (Taulukko 3).

Taulukko 3. Adamsin luokittelu TAI:n vakavuuden selvittämiseksi (Mesfin *et al.* 2020)

Luokitus	Löydökset
1-luokka	Lieviä mikroskoopilla havaittavia diffuusisia aksonivaurioita valkoisessa aineessa aivokuorella, aivokurkiaisessa ja aivorungossa.
2-luokka	Kohtalaisia diffuusisia aksonivaurioita. Lisäksi laajempia vaurioituneita alueita aivokurkiaisessa.
3-luokka	Vakavia diffuusisia aksonivaurioita. Myös laajempia vaurioituneita alueita aivokurkiaisessa sekä aivorungossa.

3.1 Patofysiologia

Aksonivauriot voidaan jakaa kahteen osa-alueeseen: primääriset vauriot, jotka tapahtuvat välittömästi iskun yhteydessä ja sekundääriset vauriot, jotka saavat alkunsa primäärisistä vaurioista. Sekundääriset vauriot ovat solutasolla tapahtuvia vaurioita, jotka muodostuvat kemiallisten sekä hermosolujen metabolian muutosten myötä (Bruggeman *et al.* 2021). Primäärisiä vaurioita ovat muun muassa häiriöt veri-aivoesteessä, veren virtauksen väheneminen tai muutokset veren virtauksessa. Primäärisiä vaurioita ovat myös hermosoluihin ja keskushermoston tukikudokseen liittyvät vauriot. Sekundääriset vauriot ilmenevät myöhemmin yleensä tuntien, päivien, mutta joskus vasta jopa kuukausien päästä. Niihin liittyy oksidatiivista stressiä, kalsiumin homeostasian muutoksia, tulehdusarvojen nousua sekä häiriöitä solun jakautumisessa ja synaptisten reittien katkeutumista. (Crupi *et al.* 2020)

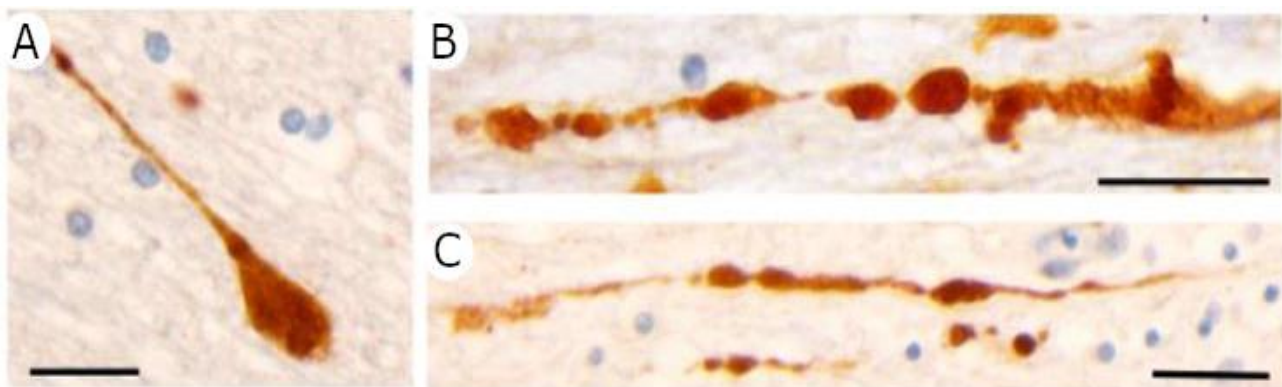
3.2 Primäärinen aksotomia

Kun aivot saavat voimakkaan dynaamisen iskun esimerkiksi auto-onnettomuuden yhteydessä, aivojen parenkyymi vääntyy sen johdosta aiheuttaen samalla aksoneiden ja verisuonien venymistä äärimmilleen sekä myös niiden katkeamista. Primäärinen aksotomia havaitaan muun muassa pieninä verenvuotoina aivoissa magneettikuvien avulla. Se aiheuttaa potilaalle myös alentunutta tajunnantasoja. Aksoneiden vääntyminen on haitallinen aksonaaliselle kuljetukselle ja johtaa kuljetettavien tuotteiden sekä kuljettajaproteiinien kasautumista vaurioituneille alueille. Näiden lisäksi on havaittu, että TAI:n myötä aksoneiden solukalvojen sekä mitokondrion kalvojen läpäisevyys kasvaa, jolloin mitokondriot paisuvat, kun läpäisevyyttä ei pystytä kontrolloimaan ja solun tukirangan tiivistyessä iskujen myötä mikrotubuluksien sekä neurofilamenttien rakenne vaurioituu. Vaikka primäärinen aksotomia aiheuttaakin vakavia vaurioita aivoissa, sen ei katsota olevan suurin vaurioiden aiheuttaja TAI:ssa (Singleton *et al.* 2002, Stone *et al.* 2004, Laskowitz *et al.* 2016)

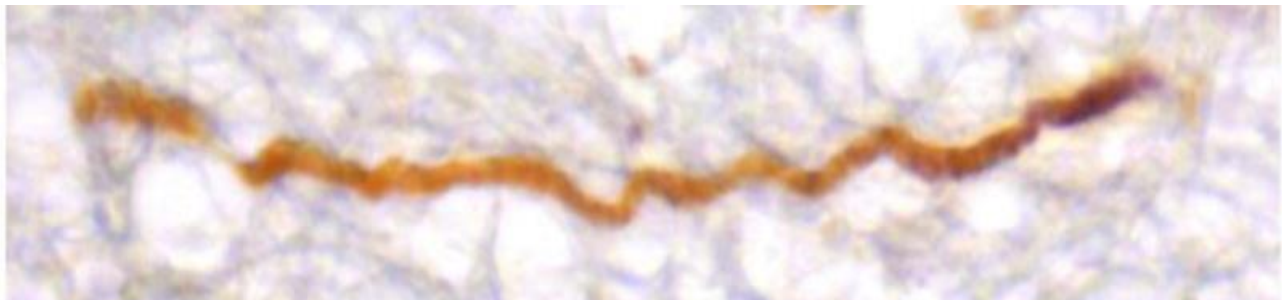
Kuljetettava materiaali kerääntyy aksoneihin pieniin alueisiin muodostaen tasavälein pullistuneita heterogeenisiä alueita (axonal varicosities), jotka muodostavat helmikaulakorumaisen rakenteen (Kuva 1B-C). Nämä vauriot vaikuttavat merkittävästi mikrotubuluksien toimintoihin ja aiheuttavat niille toimintahäiriöitä sekä pirstaloitumista. Kun mikrotubulukset joutuvat äkillisen venytyksen kohteeksi, ne venyvät äärimmilleen viskoelastisen rakenteensa vuoksi ja lopulta katkeavat. Niiden katketessa syntyy morfologisia muutoksia aksoneihin, jotka johtavat aksoneissa

kuljettajamolekyylien kuten esimerkiksi transmembraanisen glykoproteiinin β APP kerääntymistä katkenneisiin päihin.

Toinen tyypillinen histologinen löytö TAI:n yhteydessä ovat myös katkenneiden aksoneiden päissä esiintyvät terminaaliset pullistumat (retraction bulbs) (Kuva 1A). (Johnson *et al.* 2013, Hill *et al.* 2016, Gu 2021) Mikäli aksoni joutuu äärimmäisen venytyksen kohteeksi ilman katkeamista, sen tukiverkosto hajoaa joutuessaan eikä palaudu takaisin muotoonsa vaan aksoni on muodoltaan aaltomainen (Kuva 2) (Tang-Schomer *et al.* 2012). Kuvassa 3 on vertailukuva, jossa havainnollistetaan vaurioituneita aksoneita terveeseen aksoniin.



Kuva 1. Aivovamman seurauksena muodostuneet vauriot aksoneihin, joissa näkyy β APP (amyloid β precursor protein) kerääntyminen. Vauriot on kuvattu 10 tuntia onnettomuuden jälkeen menehtyneen miehen aivokurkiaisessa. (A) Tyypillinen katkenneen aksonin pään pullistuma. (B-C) Useita aksonissa esiintyviä kohjuja, joista tulee helmikoromainen muodostelma. (Kuva ja teksti muokattu lähteestä Johnson *et al.* 2013)



Kuva 2. 18-vuotiaan mieshenkilön aivokurkiaisesta löytynyt aaltoilevan muotoinen aksoni. Kyseinen mieshenkilö kuoli 10 tuntia myöhemmin saamiinsa vammoihin pahoinpitelyn myötä. (Kuva ja teksti muokattu lähteestä Tang-Schomer *et al.* 2012)

3.3 Sekundäärinen aksotomia

Primäärinen aksotomian aiheuttaessa rakenteellisia muutoksia kudoksiin ja niissä oleviin soluihin se johtaa usein sekundääriseen aksotomiaan, joka tapahtuu molekyylitasolla ja on huomattavasti monimutkaisempi sekä vakavampi tapahtumasarja kuin primäärinen aksotomia. Sekundäärinen

aksotomia käsittää muun muassa tulehdustiloja, eksitoksisuutta ja apoptoosia, jonka myötä merkittävä osa aksoneista tuhoutuu. (Bruggeman *et al.* 2020) Neuorotoksisuutta esiintyy, kun hermovälittäjäaineiden ja glutamaatin määrä kasvaa synapsien välitilassa, joka taas stimuloi ympäröivissä hermosoluissa N-metyyli-D-aspartaatti (NMDA) ja α -amino-3-hydroksi-5-metyyli-4-isoksatsolipropioinihappo (AMPA) -reseptorit. Kun nämä reseptorit pysyvät aktivoituneina, pääsevät natrium- ja kalsiumionit solun sisälle. (Crupi *et al.* 2020)

Solunsisäisten kalsium-ioneiden konsentraatio kasvaa sekundäärisen aksotomian myötä aiheuttaen muun muassa kaspasi-3-proteiini-reaktiotien aktivoitumista. Kalpastatiinin, joka on kalpaiinin endogeeninen inhibiittori, hydrolysaatio johtaa kalpaiinin kasautumiseen, joka hydrolysoi useita solun rakenteen ja toiminnan kannalta tärkeitä proteiineja vain muutaman tunnin kuluessa vamman saannista. Kalpaiinin aiheuttama natriumkanavien hydrolysaatio johtaa solunsisäisen kalsiumpitoisuuden kasvuun häiriten ionigradiattia, mikä vahingoittaa solua. Spektriinin hydrolysaatio aiheuttaa vakavia vaurioita solun tukirangalle. (Büki & Povlishock 2006, Bruggeman *et al.* 2020)



Kuva 3. Vasemmalla on normaali aksoni. Keskellä on aksoni, joka on venähtänyt ja sisältää pullistumia (axonal varicosities). Oikealla on katkennut aksoni, joiden katkenneet päät ovat turvonneet (retraction bulbs) (Kuva ja kuvateksti muokattu lähteestä Hostiuc *et al.* 2014)

3.4 Neuroinflammaatio

Ensimmäiset merkit neuroinflammaatiosta traumaattisen aksonivaurion jälkeen voidaan havaita jopa minuuttien kuluessa aivovauriosta mikroglion vastatessa tulehdustilaan. Mikroglia sijaitsevat keskushermoston tukikudoksissa ja ne ovat toisarvoisten makrofagien kanssa ensisijaiset immuunisolut aivoissa (Laskowitz *et al.* 2016). Normaalisti terveissä aivoissa mikroglia ovat

lepotilassa ja ne aktivoituvat vasta, kun niiden reseptoreihin sitoutuu esimerkiksi ATP:ta, glutamaattia ja sytokiineja, joita vapautuu neuroneiden vaurioituessa. Ne vastaavat aivojen homeostasiasta ja reagoivat ripeästi aivoissa tapahtuneisiin fysikaalisiin tai kemikaalisiin vaurioihin. Vaikka mikroglia ovat immuunisoluja, jotka ensisijaisesti vähentävät aivojen tulehdustilaa, ne myös ovat osallisena edistämässä sitä. Ne tuottavat sytotoksisia kemikaaleja, kuten kemokiineja, typpioksideja ja vapaita happiradikaaleja, jotka myötävaikuttavat solukuolemiin (Loane & Byrnes 2010). Mikroglia siirtyvät vaurioituneille alueille aivoissa aktivoituttuaan hallitsemattoman albumiinin kuljetuksen myötä ja eristävät vaurioituneita rakenteita. Albumiinin vapautuminen aiheuttaa myös sen, että astrosyytit vapauttavat matriisimetalloproteiinaasia (MMP), joka hajottaa solukalvoa lisäten veri-aivoesteen läpäisevyyttä. Veri-aivoesteen läpäisevyyden kasvaminen ilman kontrollia voi johtaa muun muassa aivoödeemaan. (Cash & Theus 2020)

Eläinkokeissa on havaittu, että mikroglia ja astrosyytit soluttavat talamusta 4–8 tuntia vammautumisen jälkeen, jossa voimakkaimmat signaalit aksonivaurioista näkyivät 48 tunnista kahteen viikkoon trauman jälkeen (Lin & Wen 2013). Kelley'n ryhmä (2007) havaitsi tutkimuksessaan, että aktivoituneiden mikrogliaojen määrä oli lisääntynyt akuutissa vaiheessa vammautumisen jälkeen (48 tunnin kuluttua) ja lisäksi oli havaittu mikrogliaojen kerääntyneen aksonivaurioille. Mikrogliaja voitiin yhä havaita viikon jälkeen vammasta aksonivaurioiden luona. Tutkijat totesivat tutkimuksensa päätteeksi, että mikrogliaojen aktiivisuuden ja aksonivaurioiden välillä on jonkinlainen spatiotemporaalinen yhteys, jota ei toistaiseksi vielä tunneta.

3.5 Sytokiini

Sytokiinit ovat proteiineja, joita eritetään soluista ulos ja niitä solut käyttävät kommunikoidessaan toisilleen. Useiden eri sytokiinien määrä lisääntyy päävammojen yhteydessä. Erityisesti IL-1-perheeseen kuuluvat, sekä IL-6, IL-10 ja TNF- α , ovat tärkeässä roolissa aivovammasta johtuvassa tulehdustilassa. Niillä on voimakas vaikutus muun muassa T-soluihin ja makrofageihin sekä muiden sytokiinien ja kemokiinien erityksessä. Parhaiten tutkitut sytokiinit kuuluvat IL-1-perheeseen, joita ovat esimerkiksi IL-1 α , IL-1 β and IL-18. (Lin & Wen 2013) Ciallellan ryhmä (2002) tutkimuksissaan hyödynsi hallittua aivokuoren iskua mallina ja käytti APP:ta markkerina aksonivaurioissa. Hippokampuksen ja aivokuoren alueilla, joissa APP:n kerääntyminen oli merkittävä, oli havaittu myös IL-1 β määrän kasvua kyseisellä alueella ja suurin määrä oli havaittu kuuden tunnin jälkeen vammautumisen jälkeen.

Glia-solujen vapauttamat sytokiinit laukaisevat muun muassa MAPK-reaktiotien, jotka vaikuttavat TJ-proteiinien (tight junction protein) fosforylaatioon ja ne myös myötävaikuttavat veriaivoesteen läpäisevyyteen (Cash & Theus 2020). MAPK eli mitogeneeniaktivoitu proteiinkinaasi säätelee muun muassa solun jakautumista, solun erilaistumista ja apoptoosia. MAPK-reaktiotie on keskeisessä roolissa solunsisäisessä viestinnässä solun pintareseptoreilta aina solun tumaan saakka. (Morrison 2012) MAPK:lla on suuri rooli ohimolohkoepilepsiassa ja aivokudoksen sisäisessä verenvuodossa (intraserebraalivuoto). Kokeissa, joissa on käytetty transkriptomista tutkimusta on havaittu AQP4 (akvaporini-4) määrän kasvua potilailla, joilla on todettu ohimolohkoepilepsia. AQP4:n arvellaan olevan säädelty MAPK-reaktiotien avulla. (Cash & Theus 2020)

Kitan ryhmä (2000) käytti tutkimuksessaan rottia mallina tehdessään aksonivaurioita keskushermostoon, ja havaitsi TNF- α :n pitoisuuden kasvua aivorungossa ja -kurkiaisessa ensimmäisten tuntien aikana vammautumisen jälkeen. Kolmannen tunnin kohdalle havaittiin suurimmat määrät, jonka jälkeen määrä lähti jyrkästi laskuun. TNF- α on havaittu mikrogliojen, astrozyttien ja oligodendroglionien lysosomeissa.

4. Veri-aivoesteen toimintahäiriöt aivovammoissa

Häiriöt veri-aivoesteessä ilmenevät vain tunteja aivovamman jälkeen, mutta sen vaikutukset jatkuvat vuosia. Veri-aivoesteen häiriöt kasvattavat riskiä neurologisille sairauksille, pysyväälle vammautumiselle ja kuolemalle. Vapaata fibrinogeeniä ja immunoglobuliini G:tä (kumpikin toimivat markerina veri-aivoesteen toimintahäiriöille) havaittiin potilailla, jotka kuolivat aivovamman akuutissa vaiheessa ja myös niillä potilailla, joita tutkittiin vuoden päästä aivovamman saatuaan. Lisäksi vapaan fibrinogeenin määrän nousua havaittiin potilailla 6–72 tunnin kuluessa, joille todettiin vaikea aivovamma. (Cash & Theus 2020)

Veri-aivoesteen toimintahäiriössä on kyse kahdesta biologisesta prosessista. Solujen välillä tapahtuva kuljetus (parasellulaarinen) lisääntyy huomattavasti, kun TJ-proteiinien määrä romahtaa ja solujen sisälle pääsee molekyyliä, joita ei normaaliolosuhteissa päästettäisi isoja määriä. Tämän seurauksena immuunisolujen, kuten neutrofiilien, määrä kasvaa. Toisessa prosessissa verisuonien sisälle endosytoottisesti otetut rakkulat kulkevat ilman kontrollia suoraan soluliman läpi vapauttaen isoja molekyyliä ja seerumiproteiineja, kuten albumiinia. Aivoihin kerääntyy liikaa vettä aiheuttaen lopulta aivoödeemaa, joka on seurausta veri-aivoesteen toimintahäiriöstä. (Keaney & Campbell 2015, Cash & Theus 2020)

4.1 Aivoödeema

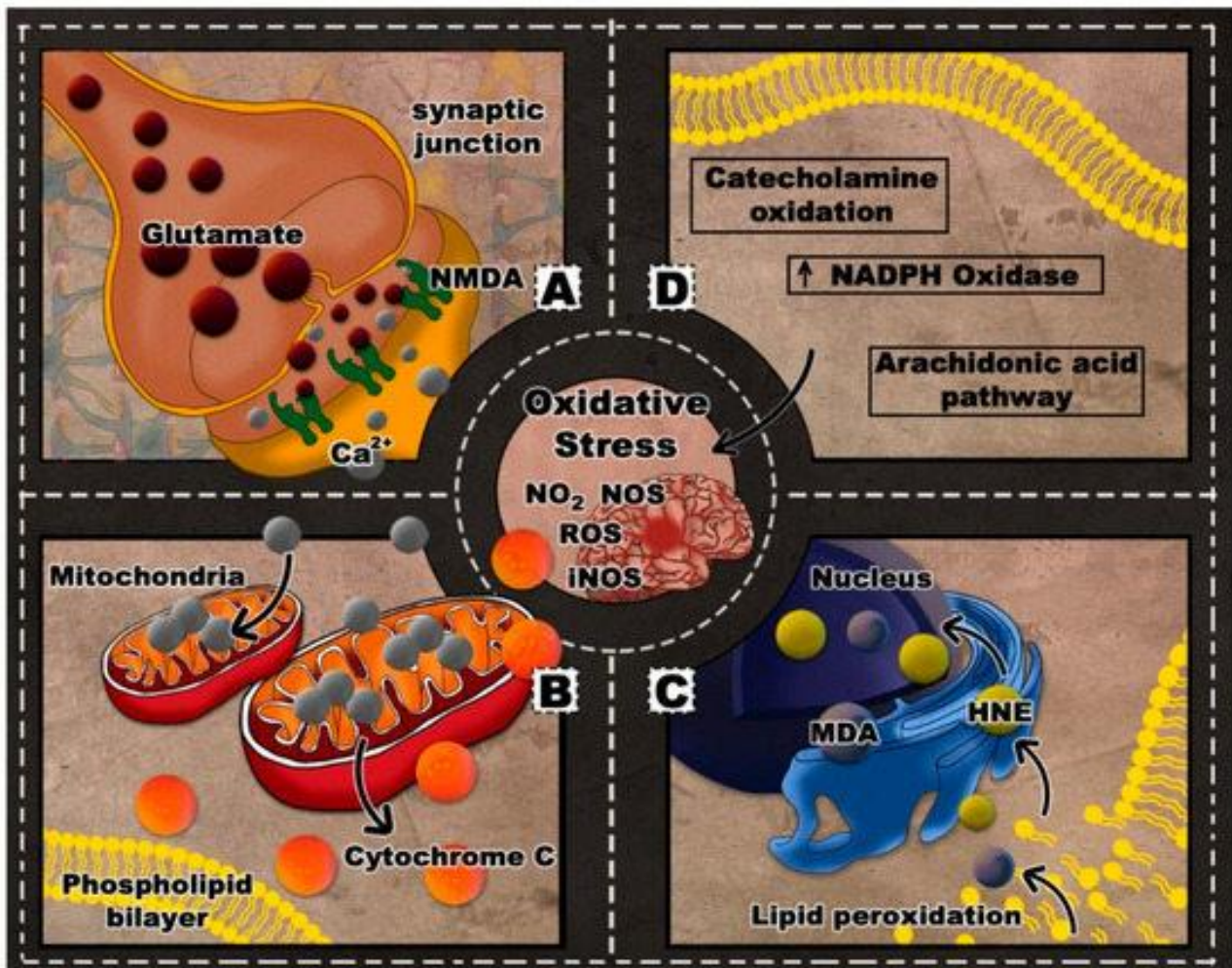
Aivovammoissa voi esiintyä kahdentyyppistä aivoödeemaa: sytotoksinen ödeema ja vasogeeninen ödeema. Sytotoksisessa ödeemassa solunsisäisen nesteen määrä on kasvanut ionikanavien aktivoituessa ja vasogeenisessä ödeemassa veriaivoeste on vaurioitunut, jolloin se päästää liikaa nestettä läpi. Vasogeeninen ödeema aiheuttaa muutoksia aivojen verenvirtauksessa ja kallonsisäiselle paineelle, kun nestettä pääsee kerääntymään peri-vaskulaariselle alueelle. Pitkään jatkunut korkea kallonsisäinen paine ja muutokset verenvirtauksessa johtavat peruuttamattomiin kudsvaurioihin sekä solukuolemiin, jotka ovat syynä kuolemiin aivovaurioissa. (Cash & Theus 2020)

Sytotoksisessa ödeemassa ionipumput eivät toimi tai tietyt ionipumput aktivoituvat niin, että vettä pääsee solun sisälle hallitsemattomasti ja lopputuloksena on ionigradientin epätasapaino. Noin tunnin jälkeen aivovammasta solut alkavat turvota veden virratessa solun sisälle. Sytotoksista ödeemaa voi esiintyä kaikenlaisissa solutyypeissä, kuten astrozyteissa, endoteelisoluissa ja neuroneissa. Akvaporineilla on merkittävä rooli ödeeman synnyssä aivovamman yhteydessä ja erityisesti akvaporini 1:llä ja akvaporini 4:lla. Akvaporini 1 on osallisena aivoselkäydinnesteen erittämisessä ja sitä tavallisesti esiintyy hermopunoksen epiteelissä. Akvaporini 4:tä esiintyy muun muassa perivaskulaarisissa astrozyteissa ja glialimitaaneissa. On havaittu, että akvaporini 4:n toiminta heikkenee 48 tunnin kuluttua aivovamman jälkeen, joka johtaa todennäköisemmin vasogeeniseen ödeemaan. Akvaporini 4:n avulla vettä pyritään poistamaan aivoista vasogeenisessä ödeemassa, kun taas sytotoksisessa ödeemassa akvaporini 4 päästää vettä keskushermostoon etenkin perivaskulaarisissa astrozyteissa. (Jha *et al.* 2019)

5. Oksidatiivinen stressi TAI:ssa

Aksoneiden rappeutuminen johtuu aksonaalisen kuljetuksen häiriintymisestä, joka taas on seuraus aksoneiden paisumisesta ja seurauksena on sekundäärinen aksonaalinen katkeaminen ja hermosolun tumasta erotetun viejähaarakkeen rappeutuminen eli Wallerin degeneraatio. Nämä vauriot häiritsevät normaalia aksoplasmista kuljetusta, jolloin kuljetettavaa materiaalia, kuten molekyyliä, kerääntyy aksoneihin aiheuttaen tukoksia ja paisumista. Tämä luonnollisesti vaikuttaa hermoston homeostaasiaan haitallisesti. (Fratl *et al.* 2017) Oksidatiivinen stressi on tila, jossa antioksidanttien määrä suhteessa hapen vapaisiin radikaaleihin, kuten peroksideihin (H₂O₂), anioneihin (O₂⁻), hydroksyyliihin (OH⁻) ja peroksyyleihin (ROO⁻), on epätasapainossa ja aiheuttaa häiriöitä elimistössä. Eksitotoksisuuden vallitessa ylimääräiset Ca₂⁺-ionit sytosolissa johtaa Ca₂⁺-ioneiden

eristämiseen mitokondriaan ja se puolestaan aiheuttaa reaktiivisten happiradikaalien syntyyn (ROS). (Ismail *et al.* 2020) Kuvassa 4 esitetään tiivistetysti oksidatiivinen stressi aivovaurioiden yhteydessä.



Kuva 4. Oksidatiivinen stressi aivovaurioiden yhteydessä. (A) Eksitotoksisuus, jossa glutamaatin määrän nousu aiheuttaa sen, että Ca²⁺-ioneja pääsee soluun suuria määriä. (B) Mitokondria eristää Ca²⁺-ioneja ja sen johdosta sytokromi c:tä vapautuu solulimaan. Vapautunut sytokromi c on yleensä merkki apoptoosin alkamisesta. (C) Lipidiperoksidaatio, jossa lipidikalvo vahingoittuu. (D) Oksidatiivisen stressin eri reaktiotiet. (Kuva ja kuvateksti muokattu lähteestä Ismail *et al.* 2020)

5.1. Mitokondrio ja kalsium

Aksonaalisen stressin myötä mitokondrion liikkuminen solun sisällä heikkenee, kristoihin eli mitokondrion sisäpöimuihin tulee funktionaalisia häiriöitä, mitokondrio turpoaa ja joskus mitokondriot saattavat sulautua yhteen. Aksonit ovat erityisen herkkiä energiavajeelle ja ne tarvitsevat ATP:ta pitääkseen yllä kalvopotentiaalia ja ionigradienttia. Primäärisen aksotomian myötä mitokondriaalinen respiraatio ja glykolyysi romahtaa, mikä johtaa ATP-vajeelle ja se johtaa peruuttamattomiin vaurioihin aksoneissa. Kun kalsiumia on solun sisällä ylimäärä, mPTP

(mitochondrial permeability pore), joka on mitokondriossa esiintyvä membraaniproteiini, avaa mitokondrion solukalvoa päästäten kalsiumin lisäksi muita pieniä molekyyliä (alle 1,5 kDa) sisälle mitokondrioon. (Hill *et al.* 2016)

Mitokondrio toimii sekä lähteenä, että kohteena vapaille happiradikaaleille. Vahingoittunut mitokondrion DNA aiheuttaa ATP:n alituottoa, jolloin vapaiden radikaalien määrä kasvaa huomattavasti. Mitokondrio sisältää myös puolustusjärjestelmän happiradikaaleja vastaan. Superoksidien syntymistä, eli käytännössä elektronien kuljetusta hapelle, tapahtuu silloin, kun redox-kuljettajia on iso määrä ja potentiaalienergia kuljetukselle on suuri. Myös mitokondrion kalvopotentiaalin on oltava tällöin suuri. ROS:n määrä vähenee, kun saatavien elektronien määrä on pieni ja potentiaalienergia kuljetukselle on matala. Kuten ROS:n syntyminen, myös antioksidanttinen puolustusjärjestelmä on riippuvainen redox-asteesta ja mitokondrion energiatasoista. Normaalisti toimiva mitokondrio kykenee pitämään ROS:n tuoton tasapainossa ja niiden määrä onkin pieni solussa. Mitokondrion vahingoittuessa esimerkiksi TAI:n yhteydessä tämä ei toteudu ja ROS määrä on korkea, joka vahingoittaa mitokondriota tuottaen lisää vapaita radikaaleja ja vähentäen antioksidanttien kapasiteettia. (Fрати *et al.* 2017, Ismail *et al.* 2020)

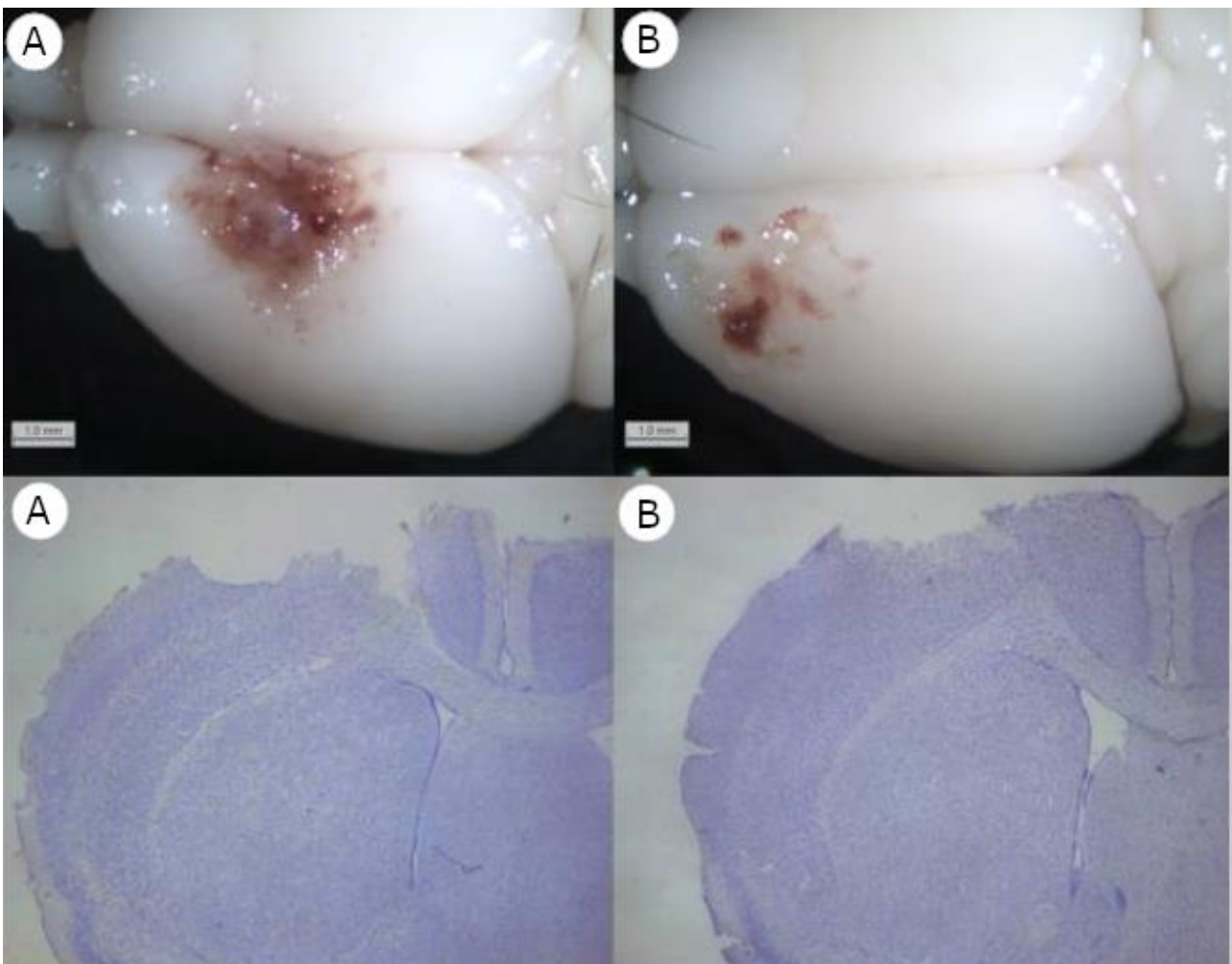
Mitokondrion ionipumput aktivoituvat, jotta ionitasapaino voidaan saavuttaa. Tämän myötä glukoosia kuluu enemmän ja energiavarastot tyhjenevät nopeasti. Mitokondrioon kerääntyy enemmän Ca_2^+ -ioneja. Epätasapaino oksidatiivisessa aineenvaihdunnassa ja glykolyysissä johtaa lopulta laktaatin tuotantoon, asidoosiin ja ödeemaan. Ca_2^+ -ionien kerääntyminen mitokondrioon ennen pitkään johtaa solun kuolemaan joko suoraan tai epäsuorasti oksidatiivisen fosforylaation heikentyessä ja näin ATP:n määrän vähentyessä merkittävästi. (Ismail *et al.* 2020)

Aksonaalisten vaurioiden myötä solunsisäisen Ca_2^+ -pitoisuus kasvaa ja sen myötä mitokondrion Ca_2^+ sisäänotto kasvaa, joka johtaa ROS:n tuottamista ja täten aiheuttaa oksidatiivista stressiä. Ionien määrässä vallitsevan epätasapainon epäillään olevan merkittävässä roolissa aksoneiden rappeutumisessa ja ehjien aksoneiden toimintojen häiriintymisessä (Johnson *et al.* 2017). Kalsiumin määrän kasvu vapauttaa eksitatorisia välittäjäaineita, joka johtaa kaspasien aktivaatioon ja distaalista aksonaalista rappeutumista. (Fрати *et al.* 2017)

5.2 Kalpaiinin aktivaatio oksidatiivisen stressin yhteydessä

Kalpaiini 1 on solunsisäinen kysteini-proteiinaasi, joka aktivoituu Ca_2^+ -ionien avulla. Se myös osallistuu solukuolemiin johtavien signaalikaskadien säätelyihin. Kokeissa, joissa on tutkittu fokaalia

ja diffuusioa aivovaurioita, on huomattu kalpaiinin hajoamistuotteiden merkittävää määrän nousua etenkin aivokuorella ja hippokampuksella ensimmäisten 24 tunnin aikana vamman saannin jälkeen (Yamada *et al.* 2012). Hiirikokeissaan Yamadan tutkimusryhmänsä kanssa (2012) havaitsi yhteyden Ca_2^+ -ionien sisäänvirtauksen, oksidatiivisen stressin ja kalpaiini 1 -aktivaation välillä. *In vitro* -kokeissa huomattiin kalpaiini 1 mahdollinen molekulaarinen mekanismi apoptoosissa ja näin samalla myös havaittiin sen olevan keskeisessä roolissa solunulkoisten Ca_2^+ -ionien sisäänoton säätelyssä. Lisäksi huomattiin, että kalpaiini 1 -poistogeenisillä hiirillä kontuusion koko oli merkittävästi pienempi (kuva 5), niillä havaittiin huomattavasti vähemmän hermosolujen rappeutumista ja kolmen päivän jälkeen vammasta niillä oli vähemmän apoptoosissa olevia soluja kuin villityypillä.



Kuva 5. Vertailukuvat villityyppi- ja poistogeeni-hiiristä, joita käytettiin Yamadan ryhmän (2012) tutkimuksessa. A-kuvat ovat villityypistä, jonka kontuusio on huomattavasti suurempi kuin B-kuvissa, joissa on kalpaiini 1-poistogeenisen hiiren aivojen kuvat.

Kalpaiini 1 -poistogeenisillä neuroneilla havaittiin olevan vähemmän alttiita apoptoosiin verrattuna villityypille. Lisäksi näillä neuroneilla kalsiumin sisäänvirtaus oli heikompaa, mitokondrion

läpäisevyys oli heikompaa, apoptoosiin indusoivia tekijöitä vapautui huomattavasti vähemmän mitokondriosta ja kaspasi 3:n pilkkoutumista tapahtui vähemmän. Nämä mekanismit ovat suuressa roolissa aivovaurioiden myötä tapahtuvassa hermosolujen rappeutumisessa ja solukuolemista. (Yamada *et al.* 2012)

Hiirikokeissa kalpaiini 1 -poistogeenisten hiirten mitokondrion kaksoiskalvon toiminnassa häiriötä, jolloin todettiin, että kalpaiini 1 ainakin osittain on mukana mitokondrion kalvon säätelyssä. Bid ja Bax ovat mitokondrion kalvon läpäisevyyttä sääteleviä proteiineja sekä niiden tiedetään myös olevan kalpaiini 1:n substraatteja. (Yamada *et al.* 2012) Kalpaiinin aktivaation myötä on lisäksi havaittu aksoneissa neurofilamenttien modifikaatioita ja tiivistymistä, mikrotubuluksien menetystä ja mitokondrioiden paisumista, kun kristoissa on ollut häiriöitä (Büki *et al.* 2000).

6. Diagnostiikka

Tällä hetkellä kaikista tarkin ja täsmällisin diagnoosi traumaattisesta aksonivauriosta on saatavilla ruumiinavauksesta tai aivokudoksen koepalasta, mikä on suuri ongelma TAI:n diagnoosin saamiseksi, sillä kumpaakaan ei voi tehdä elävälle potilaalle. TAI voidaan diagnosoida potilaalle tajuttomuuden keston (kuusi tuntia tajuttomuutta on pidetty rajapyykkinä mahdollisille aksonivaurioille), muistikatkoksen pituuden, kliinisten oireiden ja aivojen magneettikuvien perusteella. Kuitenkin kuuden tunnin tajuttomuuden säännölle ei ole tarpeeksi tieteellisiä todisteita ja TAI:ta on havaittu potilailla, joilla tajuttomuutta on ollut vähemmän kuin kuusi tuntia. Lisäksi on todettu, että magneettikuvaukset ovat liian epätarkkoja kuvantamaan mahdollisia aksonivaurioita, sillä magneettikuvissa vain noin puolella havaitaan TAI:n aiheuttamia kudosaivourioita. Tällä hetkellä on käytössä muutamia menetelmiä TAI:n diagnoosin saamiseksi, kuten diffuusitensorikuvaus (DTI), tietokonekerroskuvaus (CT) ja biomarkkereiden käyttö. (Jang 2020)

6.1. Diffuusitensorikuvaus

Diffuusitensorikuvaus eli DTI on magneettikuvauksen sovellus, joka hyödyntää vesimolekyylien mikroskooppista lämpöliikettä eli Brownin liikettä tuottaakseen dataa kuvia varten. DTI:n avulla on kyetty havaitsemaan muutoksia alueilla, jotka ovat herkkiä vaurioitumaan traumaattisessa aksonivauriossa, joita ei tavallisella magneettikuvauksella olla voitu havaita. Erityisen suuria eroja kuvantamisen laaduissa on havaittu frontaalilohkoissa ja aivokurkiaisissa. (Brander & Valanne 2013, Ranzenberger & Snyder 2020)

Magneettikuvauksissa saatu leike koostuu tuhansista kuva-alkioista, joita sanotaan vokseleiksi. DTI:ssä käytetään useamman eri molekyyllisen diffuusion keskiarvoa, joiden suunnan ja suuruuden laskemalla muodostetaan kolmiulotteinen matemaattinen malli. Tätä sanotetaan tensoriksi. Diffuusiotahtumia, joita käytetään kolmiulotteisen mallin muodostukseksi, ovat ADC (apparent diffusion coefficient), FA (fraktionaalinen anisotropia), RD (säteittäinen diffuusiivisuus) ja AD (aksiaalinen diffuusiivisuus). FA kuvaa diffuusion suuntautuvuutta, ADC kokonaisdiffuusion voimakkuutta, AD aksiaalisen diffuusion astetta päävektoriin nähden ja RD säteittäisen diffuusion astetta päävektoriin nähden. (Brander & Valanne 2013, Ranzenberger & Snyder 2020)

Mikäli valkea aine on terve ja hyvinvoiva, sen diffuusio on voimakkaasti anisotrooppista ja pitkälti vokselissa kulkevien aksonien suuntainen. Vaurioituneessa valkeassa aineessa anisotropia on heikkoa ja täten kokonaisdiffuusio kasvaa. Kokonaisdiffuusion kasvaminen toimii indikaationa muun muassa ödeemalle tai nekroosille. FA on herkkä mikrorakenteiden muutoksille, mutta sen avulla ei voida tarkasti määrittellä rakennemuutoksien syitä. RD laskee myeliinien neuropatologiaa ja se kasvaa myeliinikadon aikana. AD laskee aksoneiden degeneraatiota ja se kasvaa muun muassa aivojen vanhetessa iän myötä. (Brander & Valanne 2013, Ranzenberger & Snyder 2020)

Kuitenkaan, DTI:n avulla saaduissa kuvissa ei kontrasti- ja paikkaresoluutio ole tarpeeksi tarkka, jotta voitaisiin silmämääräisesti erotella terve ja vaurioitunut kudos. Kuva-analyysi suoritetaan halutuilta alueilta tekemällä raakadatakuvista kvantitatiivisia mittauksia käyttämällä ROI- (region of interest) ja VBA-(vokselipohjainen)menetelmiä. ROI:ssa kuvista rajataan haluttu alue, joiden ADC- ja FA-arvot ovat valmiiksi laskettu tavallisesti tietokoneohjelman avulla. ROI-menetelmää kuvataan yksinkertaiseksi eikä sen raakadataa tarvitse manipuloida. Se on kuitenkin myös hidas, työläs ja mittajaan kokemus vaikuttaa suuresti kuvien lopputulokseen. Mitattavat alueet ovat myös pieniä, minkä vuoksi niiden avulla ei saada vaurioista kokonaiskuvaa eikä mitattavien alueiden ulkopuolelle jääneistä alueista saada tietoa. (Brander & Valanne 2013)

VBA:ssa muodostetaan ryhmäkeskiarvo standarditilavuudesta verrokki- ja potilasryhmien magneettikuvien rakenteesta. Jokaisen potilaan FA-kartan antama informaatio sijoitetaan tähän keskiarvoon, kun vokselien rajapinnat on ensin häivytetty. Menetelmän myötä syntyneissä keskiarvoaivoissa esiintyneet vokselit toimivat samalla ryhmien vokselien keskiarvoina. Näin voidaan vertailla ryhmien kesken vokseleita toisiinsa. Tätä menetelmää ei kuitenkaan käytetä yksittäisen potilaan tulosten analysoinnissa ja on myös esitetty, että tällainen tilastollinen menetelmä ei ole tarpeeksi kattava analysoimaan yksittäisen potilaan analyysiin. (Brander & Valanne 2013)

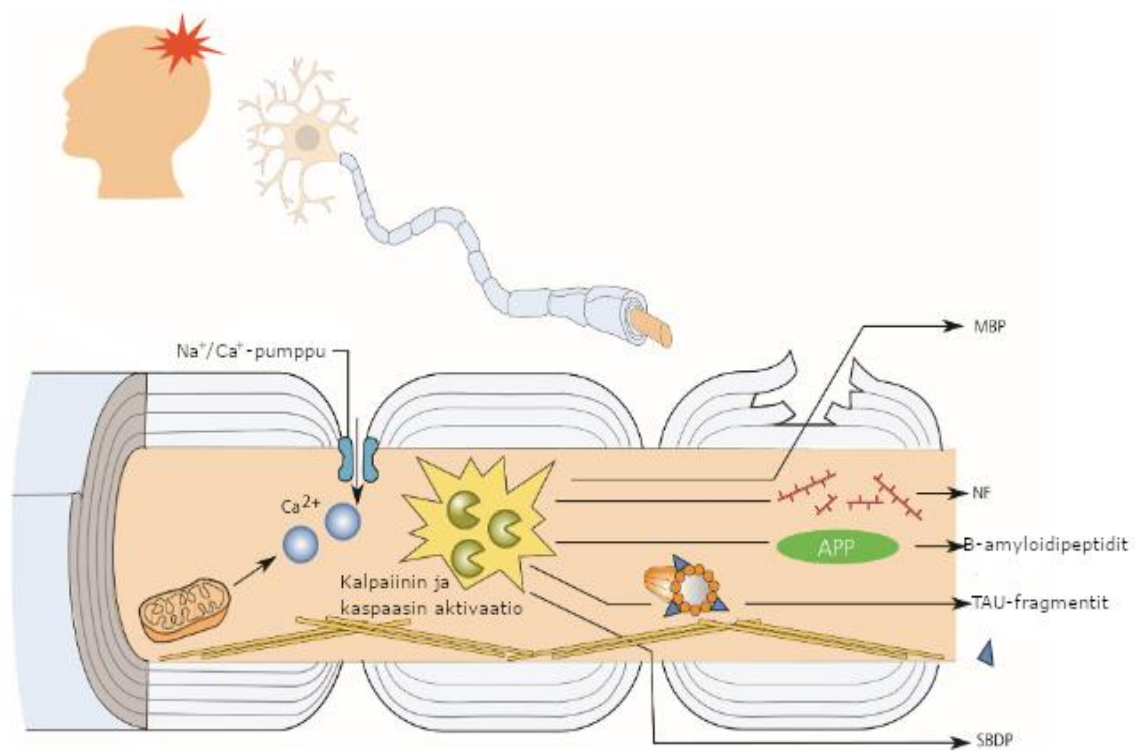
6.2 Tietokonekerroskuvaus

Voimakkaan päähän kohdistuvan iskun saaneet potilaat yleensä ohjataan ensimmäisenä tietokonekerroskuvauksiin (CT), joka voidaan toteuttaa ilman jodivarjoainetta tai varjoaineen kanssa. CT on helppo toteuttaa ja yleisesti käytetty kuvantamismenetelmä aivovaurioiden todentamisessa. Sen avulla voidaan havaita akuuttiset verenvuodot, jotka tarvitsevat kirurgista hoitoa. Erityisen kätevä CT on havaitsemaan kallonsisäiset hemodynaamiset vauriot. CT:n avulla havaitut pistemäiset verenvuodot voivat indikoida traumaattista aksonivaurioita. Nykyään magneettikuvaus ja etenkin DTI on korvannut CT:n aivojen kuvantamisessa aksonivaurioiden tarkasteluun, sillä CT ei kuvaa tarpeeksi tarkasti, jotta TAI voitaisiin suoraan kuvista todeta. (Fрати *et al.* 2017, Mesfin *et al.* 2021)

6.3 Biomarkkerit

Biomarkkereita käytetään niin aivovamman diagnosoinnissa kuin myös sen ennustamisessa. Biomarkkereiden avulla myös voidaan ymmärtää paremmin TAI solutasolla, kun tiedetään tarkemmin niiden biokemialliset reaktiot (Kuva 6). Eräitä tärkeitä biomarkkereita aivovamman lääketutkimukseen nähden ovat neuronaalisten veriarvojen mittaamiseen käytetty UCHL1 (ubiquitin C-terminal hydrolase L1) ja astrogliaalinen markkeri GFAP (glial fibrillary acidic protein). GFAP:n, tau:n (mikrotubuluksiin liittyvä proteiini) ja A β 42:n (amyloid β peptide) kombinaatiota on koettu hyödylliseksi niin akuutissa kuin subakuutisessa vaiheessa aivovammaa. (Fрати *et al.* 2017, Crupi *et al.* 2020)

Keskushermoston neuroneissa on tyypin IV filamentteja, joita kutsutaan neurofilamenteiksi. Neurofilamentit koostuvat kolmesta ketjusta: kevyestä ketjusta (NF-L), väliketjusta (NF-M) ja raskaasta ketjusta (NF-H). TAI:n myötä nämä neurofilamenttien ketjut irtoavat vapaiksi ketjuiksi ja niitä voidaan hyödyntää biomarkkereina. Vapaita neurofilamenttien ketjuja on löydetty muun muassa multipeliskleroosissa, jossa aksoneita vaurioituu myeliinituppien kadotessa. Solun tukirangan vaurioista ilmentää markkeri neurofilamenttiproteiini, jota hajotetaan kaspasiin ja kalpaiinin toimesta. Neurofilamentin alayksiköitä on löydetty aivovammapotilaiden aivokurkiaisista. Raskaan neurofilamentin (pNF-H) alayksikön fosforyloitua muotoa epäillään vapautuvan vaurioituneista



Kuva 6. Havainnollistava kuvakaavio aivovamman yhteydessä tapahtuvista reaktioista ja biomarkkereiden syntyminen. Oksidatiivisen stressin myötä mitokondrio vapauttaa kalsiumia aksonin sisälle ja kalsiumia virtaa $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -pumppua pitkin solun ulkopuolelta sisälle. Kalsiumin pitoisuuden kasvaminen solun sisällä aktivoi kalpaiinit ja kaspasiin, jotka hajottavat myeliinituppeja ja vapauttavat MBP:tä. Neurofilamentit hajoavat myös näiden proteiinien myötä, jolloin solun ulkopuolelle vapautuu eripainoisia neurofilamenttiketjuja. APP:n hajoamisen myötä vapautuu B-amyloidipeptidejä. Tau:n hajoaminen vapauttaa erikokoisia Tau-fragmentteja. Spektriinin hajoamisen myötä solun ulkopuolelle pääsee spektriinin hajoamistuotteita (SBD). (Kuva ja kuvateksti muokattu lähteestä Manivannan *et al.* 2018)

neuroneista. Sitä pidetään hyvänä biomarkkerina osoittamaan aksonivaurioita, jotka ovat tulleet aivovamman yhteydessä, sillä se on spesifinen aksoneille. pNF-H:n seerumia käytetään ennakoimaan vaurion vakavuutta potilailla, joilla on lievä aivovamma. Seerumin käyttö auttoi myös ohjaamaan potilaita jatkohoitoon ja tarkempiin kuvauksiin. (Frati *et al.* 2017, Crupi *et al.* 2020, Manivannan *et al.* 2018)

Myeliinitupit, joita esiintyy valkoisen aineen aksoneilla, muodostuvat oligodendrosyyttien ja Schwannin solujen (neurolemnosyytit) avulla. Oligodendrosyytit auttavat myeliinituppea muodostumaan aksonin ympärille, kun taas Schwannin solut tukevat aksoneita. MBP (myelin basic protein) on proteiini, jota esiintyy 30 % verran myeliinitupeissa kaikista proteiinikomponenteista. Etenkin aksonivaurioiden yhteydessä MBP:tä pääsee liukenemaan aivoselkäydinnesteeseen ja tällöin se toimii biomarkkerina TAI:lle. (Manivannan *et al.* 2018) Akuutissa aivovammassa MBP:n määrä kasvu on havaittavissa 1,5-8 tunnin välillä aivovammasta ja se pysyy korkeana jopa kaksikin viikkoa (Manivannan *et al.* 2018). Ottens tutkimusryhmänsä kanssa (2008) havaitsi rottatutkimuksissaan massaspektrometrin avulla, että MBP hajosi vielä pienemmiksi fragmenteiksi, mikä tekisi MBP:stä hyvän biomarkkerin TAI:lle. Tällä hetkellä kuitenkin vaaditaan lisää tutkimuksia, jotta saataisiin

tietää täsmällisesti MBP:n hajoamisesta TAI-potilaissa ja sen käyttämisestä biomarkkerina (Manivannan *et al.* 2018). Taulukossa 4 on tiivistetty tärkeimpiä biomarkkereita, joita käytetään aivovamman todentamisessa.

Taulukko 4. Tärkeimpiä biomarkkereita aivovamman vakavuuden TAI:n toteamisen yhteydessä (Taulukko ja kuvateksti muokattu lähteestä Crupi *et al.* 2020)

Biomarkkeri	Potilaat	Vamman osa-alue
Aivoselkäydinneste/albumiini-suhde	Potilaat, joilla on vaikea aivovamma	Veri-aivoesteen toimintahäiriöt
TJ-proteiinit	Potilaat, joilla on lievä pään vaurio	
PrPc (Plasma-soluble prion protein)	Aivotärähdys Urheilijat, joilla on aivotärähdys	
Tau-proteiinit	Potilaat, joilla on akuutti aivovamma Potilaat, joilla on lievä tai keskivaikea aivovamma	Aksonivauriot
UCHL1 (ubiquitin C-terminal hydrolaseL1)	Potilaat, joilla on vaikea aivovamma Tajuttomat urheilijat	
Neurofilamentit	Potilaat, joilla on lievä aivovamma ALS-potilaat	
NSE (glycolytic enzyme neuron-specific enolase)	Potilaat, joilla on vaikea aivovamma	
GFAP (glial fibrillary acidic protein)	Potilaat, joilla on vaikea aivovamma	
MBP (myelin basic protein)	Lapset, joilla on aivovamma	
α II ja β II-spektriinin hajoamistuotteet	Potilaat, joilla on vaikea aivovamma	
NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin)	Potilaat, joilla on vaikea aivovamma	
MMP (metalloproteinaasi)	Potilaat, joilla on lievä aivovamma	
MBG (marinobufageniini)		
IL-6, IL-8, IL-10	Aivovamman kliiniset mallit	Neuroinflammaatio

Tau-proteiineja on aksoneiden mikrotubuluksissa ja ne osallistuvat muun muassa aksonaaliseen kuljetukseen, solusignaalointiin ja risteäviin mikrotubulusverkostoihin. Tau:n rooli mikrotubuluksissa on vastata niiden viskoelastisuudesta. Mikäli tau joutuu liian suuren venytyksen kohteeksi, mikrotubulukset vaurioituvat ja laukaisevat monimutkaisen tapahtumaketjun, jotka johtavat aksonivaurioihin. Aivovamman myötä tapahtuu tau-proteiinien fosforylaatiota ja pilkkomista, ja näiden prosessien myötä syntyneet hajoamistuotteet voivat olla neurotoksisia tai laukaista erilaisia neuroneissa tapahtuvia reaktioita. (Manivannan *et al.* 2018)

Neurotoksiset tau:n hajoamistuotteet voivat muodostaa niin sanottuja vyyhtejä, joita nähdään joissain neurodegeneratiivisissa sairauksissa. Esimerkiksi C-tau, joka on tau-proteiinin c-terminaalinen fragmentti, on yksi tällainen neurotoksinen fragmentti, jota tavataan aivovammoissa. Sen pitoisuus kasvoi aivoselkäydinnesteessä potilailla, joilla oli päähän kohdistuneita vammoja. Tau-proteiinien fragmentteja ei kuitenkaan havaittu neurologisten sairauksien yhteydessä. Hyperfosforyloitunutta tau-proteiinia (P-tau) pidetään potentiaalisena biomarkerina prognosoinnissa. Hiirikokeissa P-taun on havaittu kerääntyvän useammille alueille aivoissa, jotka liittyvät työmuistiin. (Manivannan *et al.* 2018).

7. Hoito

Tällä hetkellä TAI-potilaiden hoito keskittyy sekundääristen vaurioiden (esimerkiksi aivoödeema, kallonsisäisen paineen laskeminen) ehkäisemiseen sekä kuntoutukseen, sillä täydellisesti parantavaa hoitoa ei ole. Suurimpana syynä täsmällisen hoidon puuttumiseen on se, ettei TAI:n mekanismeja vielä tunneta tarpeeksi hyvin. Sekundääriset vauriot kasvattavat riskiä vakavammalle vammautumiselle ja kuolemalle, joten on erittäin tärkeää, että potilas saa mahdollisimman nopeasti hoitoa (vähintään neljän tunnin sisällä vamman jälkeen). Jotkut potilaat voivat tarvita leikkaushoitoa. Potilaille, jotka saivat Glasgow'n kooma-asteikosta alle 8 pistettä, tyypillisesti asennetaan aivopainemittari eli ICP-mittari. Myös koomassa ja sedaatiossa oleville aivovammapotilaille asennetaan ICP-mittari. Tyypillisesti ICP-mittarin kanssa asennetaan lisäksi monitori, joka mittaa aivojen happisaturaatiota. Aivovammapotilaille voidaan annostella kouristuksia ehkäisevää lääkettä, jolloin välittömästi vamman jälkeisiä kouristuksia ei ole. Tämä ei kuitenkaan välttämättä ehkäise epilepsian puhkeamista kuntoutusvaiheessa. (Mesfin *et al.* 2021)

TAI yleensä ilmenee vaikeassa aivovammassa, joten potilaat vaativat tehokasta hoitoa, jotta toipuminen olisi mahdollisimman kokonaisvaltaista. Tärkeintä on, että hoitosuunnitelmaa luotaessa

olisi useampi ammattilainen mukana, johon kuuluu muun muassa neuropsykologi, fysioterapeutti, puheterapeutti ja lääkäreitä, kuten neurologeja ja neurokirurgeja. Toipuminen on pitkä ja monimutkainen prosessi eikä täydellinen toipuminen ole mahdollista, vaikka hoitosuunnitelma laaditaan useamman ammattilaisen kesken. (Mesfin *et al.* 2021)

7.1 Käytössä olevat lääkkeaineet

Tulehdustilan laskemiseen käytetään minosykliiniä, joka on tetrasykliinin johdannainen. Se on tehokas monessa aivoselkäydinnestettä koskevissa sairauksissa ja se myös vähentää apoptoottisiin johtavia prosesseja. Hiirikokeissa on havaittu, että minosykliini laskee kudosaivurioiden laajuutta ja vähentää samalla haitallisia eri neurologisia tapahtumia, kuten mikroglioosia ja laskee interleukiini-1 β ilmentyvyyttä (Bye *et al.* 2007). Minosykliini myös laskee aivoödeemaa ja edesauttaa pitkäaikaisen muistin palautumista. Synteettinen PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor) on myös eräs tulehdusta laskeva lääke, jota voidaan käyttää aivovamman hoidossa. Fenofibraatti, joka on PPAR α :n agonisti (eli lääkeaine, joka toimii spesifisen reseptorin välityksellä), on huomattu laskevan aivoödeemaa, oksidatiivista stressiä ja tulehdustilaa. PPAR γ :n agonistit, pioglitatsoni ja rosiglitatsoni, ovat puolestaan laskeneet mikrogliojen aktiivisuutta ja voimistaneet antioksidantteja, jotka suojaavat hermosoluja. (Crupi *et al.* 2020)

Monilla aivovammasta ja TAI:sta kärsivillä potilailla on neurologisia ongelmia, joihin tarvitaan lääkitystä. Muutokset käytöksessä, joka näkyy muun muassa henkilön lisääntyneenä impulsiivisuutena, hermostuneisuutena, aggressiivisuutena ja levottomuutena. Näihin oireisiin voidaan käyttää metyyylifenidaattia. Metyyylifenidaatti on psykostimulantti, jota käytetään myös ADHD:n hoidossa. Metyyylifenidaatti inhiboi dopamiinin ja noradrenaliinin kuljettajia, mikä estää dopamiinin ja noradrenaliinin takaisinoton, jolloin näiden molekyylien pitoisuus kasvaa hermosolujen välisessä tilassa. Tämä näkyy potilaiden paremmassa keskittymiskyvyssä, mielialan paranemisessa ja työkyvyn kohentumisessa. (Talsky *et al.* 2010)

Jotkut aivovamman saaneet henkilöt kärsivät myös psyykkisistä ongelmista, joihin tällä hetkellä käytetään psyykelääkkeitä, kuten serotoniinin takaisinoton estäjiä (SSRI). SSRI-lääkitys on edesauttanut potilaiden kognitiotaitoja, helpottanut masennusta ja joillain parantunut lähimuistin toimintaa. Myös sertaliinista on ollut apua muun muassa levottomuuteen, masentuneisuuteen ja joillain se on parantunut psykomotorista hidastuneisuutta. (Talsy *et al.* 2010)

Aivovamman hoidoksi on myös ehdotettu gliasolujen määrän vähentämiseksi solusyklin inhibitiota. Flavopiridoli inhiboi CDK:ta (cyclic-dependent kinase) ja laskee kudosaivovaurioita sekä edesauttaa sensomotorista hermostoa elpymään aivovamman yhteydessä. Roskovitiini puolestaan CDK:n inhibition lisäksi laskee tulehdustasoja ja vähentää neurodegeneraatiota. (Crupi *et al.* 2020)

7.2 Lisää tutkimuksia vaativat hoitomuodot

Eläinkokeissa erytropoietiini osoitti lupaavia hermosoluja suojaavia vaikutuksia ja sitä testattiin 200 potilaalla, joille todettiin vaikea aivovamma. Kokeet eivät kuitenkaan onnistuneet, sillä erytropoietiinin annostelusta huolimatta potilaiden vointi ei kohentunut eikä vammoissa näkynyt paranemisen merkkejä. (Peng *et al.* 2014) Statiineja on myös ehdotettu aivovamman hoitoon. Simvastatiini laskee kolesterolitasoa, inhiboi kaspasi-3:n toimintaa ja näin myös apoptoosia. Sen käyttö voisi tämän perusteella suojata hermosoluja, jotka eivät ole joutuneet apoptoosiin. Rottakokeissa huomattiin, että simvastatiini edesauttoi kasvutekijöiden lisääntymistä ja synnytti uusia hermosoluja. Simvastatiinia ei kuitenkaan ole hyväksytty viralliseksi hoidoksi aivovamman hoidossa, sillä sen havaittiin aiheuttavan kognitiivisia sivuvaikutuksia. (Crupi *et al.* 2020)

Mitokondrion membraaniproteiinin mPTP:n osallisuus aksoneiden surkastumisessa on ollut tutkijoiden kiinnostuksen kohteena ja se on yksi lupaava hoitokeino TAI:ssa. Syklofiliini D on proteiinikompleksi, joka osallistuu mPTP-kanavien avautumiseen. Syklosporiini A kiinnittyy ja inhiboi syklofiliini D:n toimintaa, jolloin mPTP ei avaudu eikä kalsiumia pääse virtaamaan mitokondrioon hallitsemattomasti. Syklofiliini D -poistogeenisillä hiirillä havaittiin vähemmän aksoneiden katkeamiskohtien pullistumia ja aksoneiden venymisestä johtuvia paisumia. Tutkimuksissa kuitenkin havaittiin, että etukäteen annettu syklosporiini A ei ehkäissyt tai lieventänyt aksonien alueiden turvotusta, jotka olivat altistuneet reaktiivisille happiradikaaleille. Se kuitenkin lievensi muutoksia solun tukirangassa ja aksonien degeneraatiota sekä viivästytti aksotomiaa. (Hill *et al.* 2016)

Mikrotubuluksia stabiloivia tekijöitä, kuten paklitakselia, pidetään potentiaalisina hermosolujen rakenteiden turvaajina TAI:ssa. Paklitakseli kuitenkin läpäisee huonosti veri-aivoesteen ja sen käytön yhteydessä on todettu vakavia sivuvaikutuksia, kuten perifeeristä neuropatiaa. Näistä huolimatta paklitakselin kaltaisia aineita, kuten taksaania, pidetään potentiaalisina lääkkeinä TAI:ssa. (Hill *et al.* 2016)

8. Yhteenveto

Aivovamman yhteydessä, yleensä kuitenkin vakavassa aivovammassa, esiintyvä traumaattinen aksonivaurio TAI on elinikäinen solutason vaurio aivojen hermosoluissa ja aiheuttaa pysyvää vammautumista. Aivovamma johtaa primääriseen aksotomiaan, joka on välittömästi havaittavissa aksoneiden rakenteellisena muutoksina ja verenvuodosta. Rakennemuutoksien myötä solunsisäinen homeostasia häiriintyy ja johtaa solukuolemiin. Tätä prosessia kutsutaan sekundääriksi aksotomiaksi ja se aiheuttaa vakavimmat vauriot TAI:ssa.

TAI:sta ei voi parantua täysin, mutta sen tuomia oireita, jotka ovat yleensä psyykkisiä ja neurologisia, voidaan helpottaa lääkityksellä ja säännöllisellä terapialla. Kuntouttaminen onkin isossa roolissa aivovammapotilaiden kohdalla ja se edistää toipumista, jolloin potilaiden arjessa pärjääminen helpottuu. Kuntoutus on pitkä ja haastava, ja nuoremmilla potilailla tehokkaampaa kuin vanhemmilla. Usein vasta parin vuoden päästä aivovamman jälkeen voidaan todeta, missä kunnossa potilas tulee aivovamman kannalta olemaan ja mikä on mahdollisten jälkitilojen vakavuus. TAI-potilaat silti harvoin ovat enää työkykyisiä ja jotkut tarvitsevat päivittäistä tukea jokapäiväiseen elämään.

Viime aikoina on huomattavasti edistytty aivovammojen ja aksonivaurioiden tutkimuksissa, mutta vielä on paljon asioita, joita ei tunneta tarpeeksi hyvin. Moni biokemiallinen reaktiotie on vielä osittain tuntematon. Lisäksi aivovammojen tutkimista hankaloittaa se, että koepaloja ei voida ottaa eläviltä potilailta vaan on käytettävä eläinmalleja tutkimuksissa. Aivovammat ovat myös erittäin yksilöllisiä ja ne ilmenevät eri tavalla jokaisella, jolloin oireiden kirjo on laaja potilaiden kesken. Tämä hankaloittaa eri hoitomuotojen kehittämistä tulevaisuudessakin.

9. Lähdeluettelo

- Alaranta H, Koskinen S & Turkka J (2002) Tapaturmainen aivovaurio ei ole harvinainen. *Suomen lääkirilehti* 2002 p. 4801–4808
- Brander A & Valanne L (2013) Diffuusitensorikuvaus ja aivovamman jälkitila. *Duodecim*, 129(14), 1449-1455. Saatavilla: <https://www.duodecimlehti.fi/duo11116>
- Bruggeman, G. F., Haitsma, I. K., Dirven, C., & Volovici, V. (2021). Traumatic axonal injury (TAI): definitions, pathophysiology and imaging-a narrative review. *Acta neurochirurgica*, 163(1), 31–44. Saatavilla: <https://doi.org/10.1007/s00701-020-04594-1>
- Bye, N., Habgood, M. D., Callaway, J. K., Malakooti, N., Potter, A., Kossmann, T., & Morganti-Kossmann, M. C. (2007). Transient neuroprotection by minocycline following traumatic brain injury is associated with attenuated microglial activation but no changes in cell apoptosis or neutrophil infiltration. *Experimental neurology*, 204(1), 220-233.
- Büki, A., & Povlishock, J. T. (2006). All roads lead to disconnection?--Traumatic axonal injury revisited. *Acta neurochirurgica*, 148(2), 181–194. Saatavilla: <https://doi.org/10.1007/s00701-005-0674-4>
- Büki, A., Okonkwo, D. O., Wang, K. K., & Povlishock, J. T. (2000). Cytochrome c release and caspase activation in traumatic axonal injury. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 20(8), 2825–2834. Saatavilla: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-08-02825.2000>
- Cash, A., & Theus, M. H. (2020). Mechanisms of Blood-Brain Barrier Dysfunction in Traumatic Brain Injury. *International journal of molecular sciences*, 21(9), 3344. Saatavilla: <https://doi.org/10.3390/ijms21093344>
- Ciallella, J. R., Ikonovic, M. D., Paljug, W. R., Wilbur, Y. I., Dixon, C. E., Kochanek, P. M., Marion, D. W., & DeKosky, S. T. (2002). Changes in expression of amyloid precursor protein and interleukin-1beta after experimental traumatic brain injury in rats. *Journal of neurotrauma*, 19(12), 1555–1567. Saatavilla: <https://doi.org/10.1089/089771502762300229>
- Crupi, R., Cordaro, M., Cuzzocrea, S., & Impellizzeri, D. (2020). Management of Traumatic Brain Injury: From Present to Future. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(4), 297. Saatavilla: <https://doi.org/10.3390/antiox9040297>

- Fрати, A., Cerretani, D., Fiaschi, A. I., Frati, P., Gatto, V., La Russa, R., Pesce, A., Pinchi, E., Santurro, A., Frascchetti, F., & Fineschi, V. (2017). Diffuse Axonal Injury and Oxidative Stress: A Comprehensive Review. *International journal of molecular sciences*, *18*(12), 2600. Saatavilla: <https://doi.org/10.3390/ijms18122600>
- Gu C. (2021). Rapid and Reversible Development of Axonal Varicosities: A New Form of Neural Plasticity. *Frontiers in molecular neuroscience*, *14*, 610857. Saatavilla: <https://doi.org/10.3389/fnmol.2021.610857>
- Hill, C. S., Coleman, M. P., & Menon, D. K. (2016). Traumatic Axonal Injury: Mechanisms and Translational Opportunities. *Trends in neurosciences*, *39*(5), 311–324. Saatavilla: <https://doi.org/10.1016/j.tins.2016.03.002>
- Hostiuc, Sorin & Pirici, Daniel & Negoii, Ionut & Ion, Daniela & Ceausu, Mihai. (2014). Detection of diffuse axonal injury in forensic pathology. *Romanian Journal of Legal Medicine*. *22*. 145-152. 10.4323/rjlm.2014.145.
- Ismail, H., Shakkour, Z., Tabet, M., Abdelhady, S., Kobaisi, A., Abedi, R., ... & Salameh, J. (2020). Traumatic brain injury: oxidative stress and novel anti-oxidants such as mitoquinone and edaravone. *Antioxidants*, *9*(10), 943. Saatavilla: <https://www.mdpi.com/844706>
- Jang S. H. (2020). Diagnostic Problems in Diffuse Axonal Injury. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, *10*(2), 117. Saatavilla: <https://doi.org/10.3390/diagnostics10020117>
- Jha, R. M., Kochanek, P. M., & Simard, J. M. (2019). Pathophysiology and treatment of cerebral edema in traumatic brain injury. *Neuropharmacology*, *145*(Pt B), 230–246. Saatavilla: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.08.004>
- Johnson, V. E., Stewart, W., & Smith, D. H. (2013). Axonal pathology in traumatic brain injury. *Experimental neurology*, *246*, 35–43. Saatavilla: <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2012.01.013>
- Johnson, V. E., Stewart, W., Arena, J. D., & Smith, D. H. (2017). Traumatic Brain Injury as a Trigger of Neurodegeneration. *Advances in neurobiology*, *15*, 383–400. Saatavilla: https://doi.org/10.1007/978-3-319-57193-5_15
- Keaney, J., & Campbell, M. (2015). The dynamic blood-brain barrier. *The FEBS journal*, *282*(21), 4067–4079. Saatavilla: <https://doi.org/10.1111/febs.13412>

Kelley, B. J., Lifshitz, J., & Povlishock, J. T. (2007). Neuroinflammatory responses after experimental diffuse traumatic brain injury. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 66(11), 989–1001. Saatavilla: <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e3181588245>

Kita, T., Tanaka, T., Tanaka, N., & Kinoshita, Y. (2000). The role of tumor necrosis factor-alpha in diffuse axonal injury following fluid-percussive brain injury in rats. *International journal of legal medicine*, 113(4), 221–228. Saatavilla: <https://doi.org/10.1007/s004149900095>

Laskowitz, D., & Grant, G. (Eds.). (2016). *Translational Research in Traumatic Brain Injury*. CRC Press/Taylor and Francis Group. Saatavilla: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326722/>

Lin, Y., & Wen, L. (2013). Inflammatory response following diffuse axonal injury. *International journal of medical sciences*, 10(5), 515–521. Saatavilla: <https://doi.org/10.7150/ijms.5423>

Loane, D. J., & Byrnes, K. R. (2010). Role of microglia in neurotrauma. *Neurotherapeutics*, 7(4), 366-377. Saatavilla: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2948548/>

Manivannan, S., Makwana, M., Ahmed, A. I., & Zaben, M. (2018). Profiling biomarkers of traumatic axonal injury: From mouse to man. *Clinical neurology and neurosurgery*, 171, 6–20. Saatavilla: <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2018.05.017>

Mesfin, F. B., Gupta, N., Hays Shapshak, A., & Taylor, R. S. (2020). Diffuse Axonal Injury. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. Saatavilla: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448102/>

Noseworthy, T. W., Anderson, B. J., Noseworthy, A. F., Shustack, A. L. L. A. N., Johnston, R. G., Petruk, K. C., & McPHERSON, T. A. (1985). Cerebrospinal fluid myelin basic protein as a prognostic marker in patients with head injury. *Critical care medicine*, 13(9), 743-746.

Meythaler, J. M., Peduzzi, J. D., Eleftheriou, E., & Novack, T. A. (2001). Current concepts: diffuse axonal injury-associated traumatic brain injury. *Archives of physical medicine and rehabilitation*, 82(10), 1461–1471. Saatavilla: <https://doi.org/10.1053/apmr.2001.25137>

Morrison D. K. (2012). MAP kinase pathways. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 4(11), a011254. Saatavilla: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a011254>

Ottens, A. K., Golden, E. C., Bustamante, L., Hayes, R. L., Denslow, N. D., & Wang, K. K. (2008). Proteolysis of multiple myelin basic protein isoforms after neurotrauma: characterization by mass spectrometry. *Journal of neurochemistry*, *104*(5), 1404-1414.

Peng, W., Xing, Z., Yang, J., Wang, Y., Wang, W., & Huang, W. (2014). The efficacy of erythropoietin in treating experimental traumatic brain injury: a systematic review of controlled trials in animal models: A review. *Journal of neurosurgery*, *121*(3), 653-664.

Ranzenberger LR, Snyder T. Diffusion Tensor Imaging. [Updated 2020 Sep 10]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. Saatavilla: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537361/>

Singleton, R. H., Zhu, J., Stone, J. R., & Povlishock, J. T. (2002). Traumatically induced axotomy adjacent to the soma does not result in acute neuronal death. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, *22*(3), 791–802. Saatavilla: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-03-00791.2002>

Stone, J. R., Okonkwo, D. O., Dialo, A. O., Rubin, D. G., Mutlu, L. K., Povlishock, J. T., & Helm, G. A. (2004). Impaired axonal transport and altered axolemmal permeability occur in distinct populations of damaged axons following traumatic brain injury. *Experimental neurology*, *190*(1), 59–69. Saatavilla: <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2004.05.022>

Talsky, A., Pacione, L. R., Shaw, T., Wasserman, L., Lenny, A., Verma, A., ... & Bhalerao, S. (2010). Pharmacological interventions for traumatic brain injury. *BC Med J*, *53*(1), 26-31. Saatavilla: <https://bcmj.org/articles/pharmacological-interventions-traumatic-brain-injury>

Tang-Schomer, M. D., Johnson, V. E., Baas, P. W., Stewart, W., & Smith, D. H. (2012). Partial interruption of axonal transport due to microtubule breakage accounts for the formation of periodic varicosities after traumatic axonal injury. *Experimental neurology*, *233*(1), 364–372. Saatavilla: <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2011.10.030>

Työtäpaturma- ja ammattitautilaki 459/2015, 85 §: Haittaluokitus. Viitattu 14.7.2021. Saatavilla: <https://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2015/20150768>

Yamada, K. H., Kozlowski, D. A., Seidl, S. E., Lance, S., Wieschhaus, A. J., Sundivakkam, P., Tiruppathi, C., Chishti, I., Herman, I. M., Kuchay, S. M., & Chishti, A. H. (2012). Targeted gene inactivation of calpain-1 suppresses cortical degeneration due to traumatic brain injury and neuronal

apoptosis induced by oxidative stress. *The Journal of biological chemistry*, 287(16), 13182–13193.
Saatavilla: <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.302612>