

Biokemijski označevalci nezgodne možganske okvare

Biochemical markers of traumatic brain injury

Primož Gradišek,¹ Joško Osredkar,² Boriana Kremžar,¹ Marjan Koršič³

¹ Univerzitetni klinični center Ljubljana, Kirurška klinika, Klinični oddelek za anesteziologijo in intenzivno terapijo operativnih strok, Center za intenzivno terapijo

² Univerzitetni klinični center Ljubljana, Klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo

³ Univerzitetni klinični center Ljubljana, Kirurška klinika, Klinični oddelek za nevrokirurgijo

Korespondenca/ Correspondence:

asist. Primož Gradišek, dr. med., Univerzitetni klinični center Ljubljana, Kirurška klinika, Klinični oddelek za anesteziologijo in intenzivno terapijo operativnih strok, Center za intenzivno terapijo, Zaloška 7, 1000 Ljubljana
Tel.: 01 522 33 12
email: primoz.gradisek@mf.uni-lj.si

Ključne besede: označevalci, S100B, NSE, GFAP, nevrološki izid zdravljenja

Key words:

markers, S100B, NSE, GFAP, neurological outcome

Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2011; 80: 293–301

Izvleček

Izhodišča: Diagnostična in napovedna moč kliničnih in radioloških kazalnikov predvsem blage oblike nezgodne možganske okvare je majhna.

Metode in rezultati: Za sistematični pregled raziskav o biokemijskih označevalcih in nezgodni možganski okvari, objavljenih v zadnjem desetletju, smo uporabili elektronsko bazo ameriške nacionalne knjižnice MEDLINE. Pregled literature je zajel predvsem klinične raziskave, za opis posameznega označevalca pa smo uporabili izbrane temeljne raziskave.

V pregledu so opisani in ovrednoteni najbolj raziskani in klinično uporabni biokemijski označevalci (protein S100B, nevronska specifična enolaza, glialni fibrilarni kisli protein), omenjeni pa so tudi novejši označevalci akutne možganske okvare (razgradni produkti spektrina, c-tau, amiloid-b). Na podlagi rezultatov raziskav podajamo usmeritve in priporočila za njihovo uporabo pri odkrivanju, zdravljenju in napovedovanju nevrološkega izida po blagi in težji obliki nezgodne možganske okvare.

Zaključki: Biokemijske označevalce možganske okvare bi bilo smiselno vključiti v klinično pot za odkrivanje in zdravljenje bolnikov z blago možgansko okvaro. Označevalci povečajo napovedno moč obstoječih kliničnih in radioloških kazalnikov za nevrološki izid in preživetje bolnikov po blagi in težji obliki nezgodne možganske okvare.

Abstract

Background: Currently used clinical and radiological findings of particularly mild traumatic brain injury have limited diagnostic and prognostic value.

Methods and results: We conducted a systematic review of selected primary clinical studies on biochemical markers of traumatic brain injury in the last 10 years, using an electronic search of the National Library of Medicine's database MEDLINE. The most explored and clinically relevant biochemical markers of acute brain injury are protein S100B, neuron-specific enolase and glial fibrillary acidic protein. In addition, novel markers such as spectrin breakdown product, c-tau and amiloid-b are presented. Based on clinical trials, the rationale for their use in the context of severity of traumatic brain injury is outlined.

Conclusions: Measurement of biochemical markers of brain injury should be introduced in the clinical management of mild traumatic brain injury. The predictive value of current clinical and radiological findings can be markedly improved by the determination of biochemical markers in mild and severe traumatic brain injury.

Prispelo: 23. sept. 2010,
Sprejeto: 10. feb. 2011

Uvod

Celični in organsko specifični označevalci so kazalniki biološkega stanja in kot taki nepogrešljivi del vsakdanje klinične prakse. Brez njih si skoraj ni mogoče predstavljati odkrivanja, zdravljenja in napovedovanja izida številnih bolezenskih stanj na področju kardiologije, onkologije ter vnetnih in infekcijskih bolezni. Ker označevalci odražajo odziv posameznika na bolezen ali stres, imajo skupaj z genetiko ključno vlogo pri t. i. »personalizirani medicini«. ^{1,2} Klinično uporabnih označevalcev akutne možganske okvare (po ishemični možganski kapi, srčnem zastoju, nezgodni možganski okvari (NMO) ipd. je malo, zato ne preseneča izjemno zanimanje za odkrivanje in njihovo uporabo pri vseh oblikah akutne možganske okvare.

Nedvomno bi bil označevalec možganske okvare v pomoč pri stopenjski diagnostiki NMO, začetni izbiri vrste in intenzivnosti zdravljenja ter pri natančnejšem napovedovanju izida bolezni. Slednje ni nezamisljivo, saj sta specifičnost in občutljivost posameznih kliničnih in radioloških kazalnikov možganske okvare pri napovedovanju nevrološkega izida in preživetja po NMO majhni. Naravni potek NMO je dinamičen, zato je končni nevrološki izid vedno nepredvidljiv in ga ne moremo napovedati le s klinično ali z morfološko oceno neposredno po poškodbi. Sekundarno nevrološko poslabšanje med zdravljenjem je namreč posledica presnovnih dogajanj po NMO, ki bi jih s pomočjo označevalca možganske okvare lahko zaznali precej pred kliničnim poslabšanjem ali pred vidnimi radiološkimi spremembami.

Nezgodna možganska okvara (NMO) in problem njenega diagnosticiranja

Nezgodna možganska okvara je nede generativna, nenadna, z zunanjiimi fizikalnimi silami povzročena poškodba osrednjega živčevja, za katero je značilna zmanjšana ali spremenjena zavest, ki lahko vodi v trajne ali začasne spremembe telesnih, spoznavnih in psihosocialnih funkcij poškodovanca. ³ Po-

gostost NMO, ki zahteva zdravljenje v bolnišnici, je v Evropi 235 primerov na 100.000 prebivalcev. ⁴ Na prvi pogled je to malo, vendar predstavlja NMO pomemben vzrok prezgodnje umrljivosti in invalidnosti zlasti med mlajšo, delovno aktivno populacijo. Največji delež zavzema blaga oblika NMO (ocena stopnje zavesti po Glasgowski točkovni lestvici (GCS) 13–15), sledita ji zmerna (GCS 9–12) in težja oblika NMO (GCS pod 9), vsaka s 5-odstotnim deležem. ⁴ Umrljivost zaradi težje oblike NMO je v razvitem svetu od 20 do 30 %, 50 % bolnikov pa preživi s prehodnimi ali trajnimi fizičnimi, spoznavnimi ali vedenjskimi posledicami. ⁵ Slovenski statistični letopis za leto 2008 navaja, da je pojavnost vseh oblik NMO, ki zahtevajo bolnišnično zdravljenje, 320 primerov na 100.000 prebivalcev. ⁶

Primarna možganska poškodba nastane v trenutku delovanja zunanje mehanske sile na možganski parenhim in nanjo ne moremo vplivati drugače kot s preventivnimi ukrepi. Njena obsežnost je odvisna od narave, jakosti, smeri in trajanja delovanja zunanje sile. ⁷ Strukturne spremembe žariščno ali difuzno prizadenejo ožilje, aksone, nevrone in glijo. Resnost in obsežnost primarne možganske poškodbe ugotavljamo z nevrološkim pregledom (zavest po lestvici GCS, oblika, širina in odzivnost zenic na svetlobo, gibljivost udov in prisotnost krčev) in računalniško tomografsko preiskavo možganov (CT), s pomočjo katere ločimo žariščne (ekstraduralni in subduralni hematomi, poškodbene intraparenhimske udarine oz. obtolčenine) od difuznih možganskih poškodb, pri katerih ni opaznih znakov učinka mase (difuzna poškodba aksonov). Omenjena klinična in radiološka merila predstavljajo temelj za izbiro intenzivnosti in načina zdravljenja (operacijsko ali konzervativno). ⁷ Z rutinskimi diagnostičnimi testi predvsem težko odkrijemo in ocenimo obsežnost difuzne možganske poškodbe; če je ne zdravimo, je izid bolezni zelo nepredvidljiv. Klinična uporabnost ocene zavesti po lestvici GCS je namreč zaradi vpliva pomirjeval in intoksikacije pogosto omejena. Zaradi različnih mehanizmov nastanka NMO je pričakovani vpliv poškodbe na oceno po lestvici GCS lahko povsem drugačen, kot so dejan-

ske strukturne poškodbe osrednjega živčevja.⁸ Občutljivost CT za odkrivanje difuzne možganske poškodbe je prav tako majhna. Visoki stroški ter časovni in logistični problemi omejujejo uporabnost magnetnoresonančne preiskave (MRI), ki je najbolj občutljivejša preiskovalna metoda za zaznavo difuzne znotrajlobanjske poškodbe. Omenjene pomanjkljivosti klinične preiskave in radioloških metod pri odkrivanju primarne možganske poškodbe bi lahko premostili z določanjem biokemijskih označevalcev možganske okvare.

Primarna poškodba sproži sekundarno možgansko poškodbo, ki postane klinično očitna nekaj ur do dni po poškodbi. Patofiziološko so zanjo značilni naprednejši dinamični presnovni procesi (sproščanje živčnih prenašalcev, nastajanje prostih radikalov, s kalcijem povzročena okvara celic, vnetje, okvara mitohondrijev, aktiviranje določenih genov). Sekundarna možganska poškodba se med zdravljenjem pogosto poslabša zaradi vpliva zunajlobanjskih dejavnikov (hipoksemija, hipokapnija, hipotenzija, hipertermija, hiponatremija, hipoglikemija, anemija, ipd.).^{9,10} Slednji za poslabšanje nevrološkega stanja (zoženje zavesti ali celo smrt) niso vedno nujni pogoj. Včasih se namreč pri nekaterih bolnikih z blago obliko NMO razvijejo usodni sekundarni nevrološki zapleti po določenem obdobju stabilnega stanja tudi brez vpliva zunajlobanjskih dejavnikov.¹¹ Ker začetni nevrološki izvid in radiološke spremembe navadno odražajo primarno možgansko poškodbo, bi nas označevalci lahko opozorili na razvijajočo se sekundarno možgansko poškodbo (sekundarne nevrološke zaplete) in s tem omogočili ustrezno spremembo zdravljenja.

Raziskovalci že desetletja poskušajo odkriti idealni označevalec, ki naj bi bil dovolj specifičen za možgansko tkivo in visoko občutljiv za možgansko okvaro. Zaradi anatomskih in funkcionalnih posebnosti osrednjega živčevja in heterogene narave NMO trenutno še nimamo na voljo označevalca, ki bi zadostil omenjenim zahtevam. Vzrokov za to je več. NMO ni bolezen, temveč sindrom, za katerega so značilni heterogeni bolezenski procesi (npr. lokalno ali difuzno stisnjenje ali uničenje tkiva, ishemija,

edem in krvavitve), ki različno vplivajo na sproščanje strukturnih označevalcev.⁷ Prostorina okvarjenega možganskega tkiva (s pripadajočim sproščanjem strukturnih označevalcev) ne sovпада vedno z nevrološko prizadetostjo. Selektivna (in majhna) okvara pomembnih možganskih struktur lahko namreč povzroči nesorazmerno slabši nevrološki izid kot pa npr. obsežnejša in težja okvara funkcionalno manj pomembnih delov možganov. Zaenkrat še ni jasno, ali je koncentracija označevalca v krvi odvisna tudi od prepustnosti krvno-možganske pregrade in ne samo od stopnje celične okvare. Krvno-možganska pregrada namreč omejuje prehod možganskih tkivnih beljakovin v periferno krvi.⁸ Nenazadnje pa pridružene zunajmožganske poškodbe zaradi nespecifičnosti določenih označevalcev še dodatno prispevajo h kompleksnosti problema.¹²

Označevalce možganske okvare določamo v vzorcu možgansko-hrbtenjačne tekočine, krvi ali urina. V praksi je najenostavnejše določanje označevalcev v krvi. Z označevalci ovrednotimo možgansko okvaro na dva načina. Strukturno okvaro osrednjega živčevja ocenjujemo neposredno s pomočjo specifičnih označevalcev okvarjenih nevronov, aksonov in glije. S pomočjo novejših tehnologij (proteomika) lahko – zaenkrat bolj v poskusne namene – ocenjujemo posrednike celičnih, biokemijskih in molekularnih kaskad v okviru sekundarne možganske poškodbe in procesa regeneracije oz. obnove. Omenjeni pristop je prav tako primeren za oceno obsežnosti strukturne (primarne) možganske poškodbe in za raziskovanje plastičnosti osrednjega živčevja.¹³

Čeprav poznamo kar nekaj označevalcev, se bomo tu osredotočili na označevalce, ki so najbolj raziskani na področju NMO. To so glialni Ca^{2+} vezujoči protein S100B, glialni fibrilarni kisli protein (*angl.* glial fibrillary acidic protein, GFAP), nevronska specifična enolaza (*angl.* neuron specific enolase, NSE) in mielinski bazični protein (*angl.* myelin basic protein, MBP). Klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo UKC Ljubljana ima izkušnje z določanjem in vrednotenjem omenjenih označevalcev. Načelno lahko analizo izvede vsak laboratorij, ki je usposobljen za delo na analizatorju ELISA. Značil-

Tabela 1: Značilnosti in uporabnost najbolj proučevanih biokemijskih označevalcev nezgodne možganske okvare.

Biokemijski označevalec	Izvor	Mol. teža (kDa)	Označevalec	Opombe
Protein S100B	glija osrednjega in perifernega živčevja (astrociti, Schwannove celice), hondrociti, adipociti, melanociti	20	aktivirani ali okvarjeni astrociti	hiter porast koncentracije v krvi po možganski poškodbi, razpolovni čas do 2h; manjša specifičnost v primeru pridruženih zunajlobanjskih poškodb
Nevronska specifična enolaza (NSE)	citoplazma nevronov, periferne neuroendokrine celice, eritrociti, tumorske celice	78	okvarjeni nevroni	počasen dvig koncentracije v krvi, razpolovni čas 20 h; manjša specifičnost v primeru pridruženih zunajlobanjskih poškodb
Gliadni nitkasti kisli protein (GFAP)	intermediarni protein citoskeleta astrocitov	53	okvarjeni astrociti	najbolj možgansko specifični označevalec
Mielinski bazični protein (MBP)	sestavni del mielina		okvarjeni aksoni	povečan samo po hudi NMO z znotrajlobanjsko krvavitvijo (majhna občutljivost); največje koncentracije v serumu 48–72 h po možganski poškodbi
Razgradni produkti spektrina in c-tau	mikrotubularni citoskeletni protein nevronov	150 (spektrin) 30–50 (c-tau)	okvarjeni nevroni	le c-tau je možgansko specifičen; ni primeren za pediatrično populacijo
Amiloid β_{1-42}	nevroni, glija	4,5	okvarjeni nevroni	odlaganje amiloidnih plakov (označevalci Alzheimerjeve demence) do nekaj ur po NMO pri genetsko izpostavljenih osebah

nosti najbolj proučevanih in klinično uporabnih označevalcev so prikazane v Tabeli 1.

Najbolj raziskani označevalci okvare osrednjega živčevja po NMO

S100 je beljakovina, ki veže kalcijeve ione; ime je dobil zaradi topnosti v 100-odstotni raztopini amonijevega sulfata. Poznamo tri podtipe, ki so sestavljeni iz dimerne kombinacije podenot α in β . S100B (to sta podenoti $\beta\beta$) je najbolj specifičen za možgane. Nahaja se v citoplazmi glialnih celic (astrociti in Schwannove celice) osrednjega in perifernega živčevja in tudi v celicah zunaj živčnega sistema (adipociti, hondrociti in melanociti). Koncentracije proteina S100B v ne-nevronske tkivih so v primerjavi s koncentracijo v glialnih celicah zelo majhne. Njegova funkcija v osrednjem živčevju je dvojna; pomemben je tako pri procesu degeneracije kot tudi obnavljanja (regeneracije) možganskega tkiva. V majh-

nih koncentracijah deluje zaščitno (izboljša preživetje nevronov po inzultih, pospeši razvoj sinaps v razvojnem obdobju), v večjih koncentracijah pa okvarja nevrone in sproži njihovo apoptozo.¹⁴ Mehanizem sproščanja proteina S100B po mehanski poškodbi osrednjega živčevja še ni docela pojasnjen: pasivno se sprosti ob poškodbi astrocitov, aktivno pa se izloča v zunajcelični prostor iz aktiviranih astrocitov kot odgovor na poškodbo nevronov. Prehodno aktiviranje glije po poškodbi je fiziološko, saj protein S100B deluje kot nevrotrofični dejavnik in omogoča preživetje nevronov. Vendar pa čezmerno in neuravnava aktiviranje glialnih celic vodi v kronično vnetje možganskega tkiva. Protein S100B preide v kri bodisi preko okvarjene krvno-možganske pregrade, bodisi se resorbira preko arahnoidnih resic iz možgansko-hrbtenjačne tekočine. Biološki razpolovni čas je do 2 uri. Primarni možganski poškodbi sledi hiter porast koncentracije beljakovine v krvi, ki pa se pri večini bolnikov normalizira v 24–48 urah po poškodbi. Vztrajno povečane vrednosti

nakazujejo sekundarno možgansko poškodbo. Specifičnost S100 za možgansko tkivo je zaradi zunajmožganskih izvorov manjša, kar nekoliko omejuje njegovo diagnostično vrednost pri pridruženih poškodbah ostalih delov telesa. Obstaja več laboratorijskih metod določanja proteina S100B. Določamo ga lahko tako v arterijski kot tudi v venski krvi, lahko tudi več ur po odvzemu, in sicer brez centrifugiranja, ker hemoliza nanj ne vpliva. Referenčne vrednosti proteina v krvi zdravih odraslih prostovoljcev (18–65 let) so v razponu od 0,02 do 0,15 µg/L. Vrednosti so neodvisne od spola, pri otrocih pa so zaradi razvoja osrednjega živčevja povečane.¹² Povečane vrednosti proteina S100B v možgansko-hrbtenjačni tekočini in v krvi so odkrili pri praktično vseh tipih možganske okvare (NMO, ishemična možganska kap, subarahnoidalna krvavitev, okužbe osrednjega živčevja, ishemična okvara možganov po srčnem zastoju).^{13,15}

Enolaze so glikolitični encimi nevronov osrednjega in perifernega živčevja in nevroendokrinih celic. Izooblika α - γ je specifična za periferne nevroendokrine celice in tumorje, ki sprejemajo gradnike aminov, medtem ko se izooblika γ - γ pojavlja samo v nevronih (nevronska specifična enolaza, NSE). NSE ureja homeostazo kloridnih ionov med nevronske aktivnostjo. V zunajcelični prostor se sprošča pasivno samo ob uničenju telesa nevrona. V primerjavi z ostalimi enolazami je zelo stabilna, njen biološki razpolovni čas pa je več kot 20 ur.¹⁶ NSE v klinični praksi uporabljamo kot označevalec tumorskih celic (drobnocelični pljučni rak, nevroblastom in melanom) in kot napovedni dejavnik funkcije osrednjega živčevja po ishemično-reperfuzijski okvari možganov po uspešnem oživljanju. Povišane koncentracije NSE (> 18 µg/L) so zaznali tudi med hemolizo, po hemoragičnem šoku, po zlomih dolgih kosti in reperfuzijskih okvarah organov, kar močno omejuje njeno diagnostično vrednost ob pridruženih poškodbah ostalih delov telesa.¹³

GFAP je intermediarni protein astrocitov z molekularno težo med 40 in 53 kDa in ga torej ne najdemo zunaj osrednjega živčevja. Kot član družine citoskeletnih proteinov zagotavlja strukturno stabilnost astro-

citom in igra pomembno vlogo pri ohranjanju krvno-možganske pregrade. Astroцитi se na mehansko poškodbo odzovejo enotno s povečano sintezo GFAP (reaktivna astrogliozna). Za razliko od proteina S100B, ki je označevalec aktiviranih ali okvarjenih glialnih celic, se GFAP sprošča samo ob smrti astrocitov.¹⁷ Povečane vrednosti GFAP v krvi so odkrili pri bolnikih z nevrodegenerativnimi boleznimi, možgansko kapjo in pri bolnikih po NMO.¹¹ Klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo UKC Ljubljana uporablja za določevanje GFAP v serumu encimski test, čigar referenčne vrednosti so od 0,03 do 0,30 µg/L. Povprečne vrednosti GFAP, izmerjene pri skupini 20 zdravih prostovoljcev in skupini bolnikov s težjo obliko NMO (GCS < 9), so znašale 0,10 µg/L in 4,65 µg/L.¹⁸

MBP je glavni gradnik mielina. V velikih količinah se nahaja v možganski belini in je označevalec okvare aksonov. Koncentracija MBP v serumu sovпада s klinično težo možganske kapi, prostornino ishemične možganovine in z nevrološkim izidom po možganski kapi. Serumske vrednosti MBP so za diagnozo NMO visoko specifične, vendar, žal, slabo občutljive.¹³

Ostali manj proučevani, a zanimivi označevalci akutne možganske okvare so razgradni produkti proteinov (spektrin¹⁹, c-tau²⁰ in β amiloid²¹).

Novejši pristopi odkrivanja predvsem označevalcev sekundarne možganske okvare in obnove

NMO, možganska kap in srčni zastoj sprožijo niz sekundarnih patofizioloških dogajanj. Proteomika je mlada veja molekularne biologije, ki omogoča hkratno analizo velikega števila proteinov v kompleksnih bioloških vzorcih s pomočjo tehnike dvo-dimenzionalne gelske elektroforeze (multipleksna tehnologija).²² Nevroproteomske metode nudijo vpogled v degenerativni in regenerativni proces po NMO: spremljanje različnih nevrokemijskih označevalcev (v diagnostične in napovedne namene) ter prepoznavanje ključnih patofizioloških do-

godkov, ki bi lahko predstavljali prijemališča za nove zdravilne učinkovine ali strategije zdravljenja.²² Jenkins s sod. je v poskusu na živalih odkril pri možganskih poškodbah kar 1500 proteinov; pri 150 izmed njih je bila razlika v koncentraciji med poškodovano in zdravo skupino živali desetkratna.²³ Kliničnih raziskav, ki uporabljajo omenjene metode, je malo. V serumu 95 otrok z NMO so odkrili 95 proteinov, katerih izvor je bil v možganih (amiloid β A4 in α -spektrin).²⁴ S pomočjo multipleksne tehnologije je Buttram s sod. dokazal, da terapevtska blaga hipotermija kljub vidnim učinkom na znotrajlobanjsko hipertenzijo nima vpliva na koncentracijo citokinov v možgansko-hrbtenjačni tekočini otrok po NMO.²⁵

Uporabnost označevalcev pri težji obliki NMO

Številne raziskave so proučevale pomen proteina S100B pri ocenjevanju obsežnosti primarne poškodbe in časovnega poteka sekundarne možganske poškodbe, pri oceni učinkovitosti določene metode zdravljenja in končno pri napovedi nevrološkega izida in preživetja po NMO.

Prva izmerjena vrednost proteina S100B pri bolnikih s težjo obliko NMO se dobro ujema z obsežnostjo in resnostjo primarne možganske poškodbe, ki jo klasično ocenjujemo s kliničnimi in z radiološkimi merili. Koncentracija proteina v krvi neposredno po poškodbi sovпада z velikostjo popoškodbene intraparenhimske udarnine (spremembe s pomikom osrednjih struktur in edemom so povezane z večjo koncentracijo proteina S100B) in z napredovanjem difuzne možganske poškodbe.²⁶

S pomočjo magnetnoresonančne spektroskopije so odkrili, da koncentracija proteina S100B v krvi ni premosorazmerna s koncentracijo v možganovini. Časovni profil sproščanja proteina S100B v kri pravzaprav sovпада z obdobjem okvarjene krvno-možganske pregrade.²⁷ Največje vrednosti proteina S100B v krvi navadno izmerimo v krvi neposredno po poškodbi. Na splošno imajo bolniki z neugodnim izidom velike začetne in/ali naraščajoče vrednosti proteina S100B, ki vztrajajo več kot 48 ur, medtem

ko se vrednosti proteina S100B pri bolnikih z ugodnim izidom normalizirajo znotraj 24–48 ur po poškodbi.²⁸ Vztrajajoče visoke vrednosti proteina S100B med drugim in šestim dnevom po poškodbi nakazujejo prisotnost sekundarne možganske poškodbe. Sekundarno povečanje koncentracije v kasnejšem poteku zdravljenja je povezano s sekundarnimi nevrološkimi zapleti. Pojavijo se pri približno polovici bolnikov, za katere je značilen neugoden izid zdravljenja (smrt, vegetativno stanje, težka prizadetost po Glasgowski točkovni lestvici nevrološkega izida; *angl.* Glasgow outcome scale, GOS). Žal pa dnevno spremljanje vrednosti proteina S100B ne more napovedati razvoja sekundarnih nevroloških zapletov, kar zmanjšuje pomen njegovega določanja med zdravljenjem.¹⁵ Sproščanje proteina S100B zaradi poškodb ostalih delov telesa (zlomi dolgih kosti, poškodba prsnega koša) zmanjša njegovo diagnostično moč v prvih 6 urah po poškodbi. Kasneje po poškodbi pa razlik v koncentraciji proteina S100B med skupino z osamljeno poškodbo možganov in skupino s poškodbo možganov ter pridruženimi poškodbami ostalih telesnih delov ni več opaziti.²⁹

Poznavanje napovedi izida pri bolniku s težjo obliko NMO je v pomoč tako zdravstvenemu osebju pri sprejemanju odločitev o diagnostiki in zdravljenju kot tudi svojcem. Protein S100B se je po številnih raziskavah sodeč izkazal kot dober neodvisni napovedni dejavnik nevrološkega izida in preživetja (zanesljivejši od GCS in CT). Vrednosti proteina S100B v krvi, večje od 0,32 $\mu\text{g/L}$, s 93-odstotno občutljivostjo in 72-odstotno specifičnostjo napovedujejo neugoden izid zdravljenja po težji obliki NMO (smrt, vegetativno stanje, težka prizadetost po GOS).³⁰ Označevalce možganske okvare uporabljajo tudi za oceno nevroprotektivnih metod (hipotermija) in načinov zdravljenja (kirurška razbremenitev, barbituratna koma).²⁶

Vrednosti GFAP v krvi so največje prve dni po težji obliki NMO in se nato postopoma normalizirajo. Označevalec GFAP je možgansko specifičen, zato je njegova koncentracija pri bolnikih s politravmo brez poškodbe možganov v normalnem območju. Zaradi visoke specifičnosti ima boljšo dia-

gnostično moč kot protein S100B. Raziskave kažejo, da vrednosti GFAP dobro sovpadajo z obsegom primarne možganske poškodbe, ocenjene z Marshallovo računalniškotomografsko klasifikacijo znotrajlobanjskih poškodb.³¹ Za razliko od proteina S100B lahko z označevalcem GFAP razlikujemo med nevrološkimi izidi pri posameznih kategorijah Glasgowske točkovne lestvice nevrološkega izida (npr. med težjo in zmerno prizadetostjo).³²

Uporabnost označevalcev pri blagi obliki NMO

Klinična pot bolnika z zmerno in s težjo obliko NMO vključuje obvezno CT.³³ Začetna obravnava bolnikov z blago obliko NMO je težavnejša. Odločitev za slikovno diagnostiko in/ali nevrološko opazovanje bolnika v bolnišnici je odvisna od verjetnosti, da so pri bolniku prisotni znotrajlobanjski zapleti. V praksi si pomagamo z vrsto dejavnikov tveganja, ki jih pridobimo z anamnezo (prisotnost in trajanje nezavesti in/ali amnezije) in s kliničnim pregledom.³⁴ Natančnost in zanesljivost anamnestičnih podatkov je pri velikem deležu bolnikov po blagi NMO majhna (otroci, starostniki, intoksicirani poškodovanci). Po drugi strani pa bi rutinska uporaba CT pri vseh bolnikih zaradi velikega deleža bolnikov z blago obliko NMO predstavljala logistični in finančni problem za urgentno službo (le pri majhnem deležu bolnikov z oceno 15 po GCS s CT vidimo znotrajlobanjsko spremembo). Velik delež oseb z blago obliko NMO trpi za dolgotrajnejšimi nevropsihološkimi posledicami (popoškodbeni sindrom) kljub normalnemu nevrološkemu izvidu in izvidu CT.³⁴

Rezultati 6 prospektivnih raziskav z 2000 vključenimi bolniki z blago obliko NMO potrjujejo, da sta občutljivost in negativna napovedna vrednost proteina S100B za znotrajlobanjsko spremembo, dokazano s CT, 98,2 % in 99,5 %, za klinično očiteno znotrajlobanjski zaplet pa 100 % ter 100 %.³⁵ Razmejnitvena vrednost proteina S100B na velikem vzorcu bolnikov z blago NMO je bila 0,1 µg/L.^{35,36} Vključitev določanja proteina S100B v krvi v obstoječi algoritem za obravnavo blage oblike NMO je tako v razvitih

zahodnih centrih za 30 % zmanjšala število opravljenih CT. Normalne vrednosti proteina S100B v krvi po blagi obliki NMO napovedujejo normalen izvid CT, če je bil vzorec odvzet v prvih urah po poškodbi. Problem predstavljajo bolniki z ekstraduralnimi hematomi, pri katerih je vrednost proteina S100B lahko povsem normalna, verjetno zaradi relativno majhne neposredne okvare možganovine.³⁷ Menimo, da zato proteina S100B ne moremo uporabljati kot izključni presajalni test za oceno potrebnosti izvedbe CT, vsekakor pa vrednosti proteina S100B nad 0,1 µg/L pomenijo jasno indikacijo za izvedbo CT.

Raziskave s področja nevrorehabilitacije potrjujejo napovedni pomen določanja proteina S100B za ugotavljanje poznih simptomov blage oblike NMO (popoškodbeni stres, spoznavne motnje). Uporabnost označevalcev strukturne možganske okvare se nakazuje tudi na področju športne medicine (odkrivanje možganskega pretresa), ocenjevanja delazmožnosti in odkrivanja simulantov.³⁸

Zaključek

Zanimanje za zanesljive in dovolj občutljive označevalce možganske okvare pri obravnavi bolnikov z akutno možgansko okvaro narašča. Raziskave potrjujejo njihovo vlogo pri odkrivanju, izbiri načina zdravljenja ter oceni nevrološkega izida in preživetja po možganski poškodbi. Najbolj proučevani označevalci so proteini S100B, NSE in GFAP. Slednji ima izmed vseh največjo možgansko specifičnost, obetajo pa tudi kombinacije omenjenih označevalcev. Novejše nevroproteomske metode omogočajo odkrivanje novih označevalcev, vendar zaenkrat samo v poskusne namene.

Označevalci možganske okvare pri bolnikih s težjo obliko NMO predvsem napovedujejo verjetni nevrološki izid. Napovedna moč kliničnih in radioloških kazalnikov možganske okvare glede nevrološkega izida in preživetja se namreč močno poveča, če v prognostični model vključimo še koncentracijo (najbolje različnih) možganskih označevalcev. Pretežno v diagnostične namene označevalce možganske okvare uporablja-

mo pri bolnikih z blago obliko NMO (zahvaljujoč njihovi veliki negativni napovedni vrednosti in majhni občutljivosti CT). Normalne koncentracije proteina S100B v krvi namreč skoraj v 100 % primerov izključijo prisotnost znotrajlobanjske spremembe pod pogojem, da vzorec odvzamemo zgodaj po poškodbi (v okviru 3 ur). Ker NMO poteka dinamično, spremljanje vrednosti označevalcev med zdravljenjem omogoča odkrivanje bolnikov, pri katerih se bodo zelo verjetno razvili sekundarni nevrološki zapleti.

V vsakdanji klinični obravnavi bolnikov z NMO označevalce možganske okvare pri nas uporabljamo le redko. Kaže, da je določanje in sledenje označevalcev zlasti koristno pri bolnikih z blago obliko NMO.

Razlaga uporabljenih kratic

- NMO: nezgodna možganska okvara
- GCS: Glasgowska točkovna lestvica zavesti (*angl.* Glasgow Coma Scale)
- CT: računalniška tomografska preiskava (*angl.* Computer Tomography)
- GFAP: glialni fibrilarni kisli protein (*angl.* Glial Fibrillary Acidic Protein)
- NSE: nevronska-specifična enolaza (*angl.* Neuron Specific Enolase)
- MBP: mielinski bazični protein (*angl.* Myelin Basic Protein)
- GOS: Glasgowska točkovna lestvica nevrološkega izida (*angl.* Glasgow Outcome Scale)

Literatura

1. Wulfkühle JD, Liotta LA, Petricoin EF. Proteomic applications for the early detection of cancer. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 267–75.
2. Shah SH, de Lemos JA. Biomarkers and cardiovascular disease: determining causality and quantifying contribution to risk assessment. *JAMA* 2009; 302: 92–3.
3. Menon DK, Schwab K, Wright DW, Maas AI. Position statement: definition of traumatic brain injury. *Arch Phys Med Rehabil* 2010; 91: 1637–40.
4. Agliaferri F, Compagnone C, Korsic M, Servadei F, Kraus J. A systematic review of brain injury epidemiology in Europe. *Acta Neurochir* 2006; 148: 255–68.
5. Bruns J Jr, Hauser WA. The epidemiology of traumatic brain injury: a review. *Epilepsia* 2003; 44 Suppl 10: 2–10.
6. Zdravstveni statistični letopis: Slovenija 2008. Ljubljana: Inštitut za varovanje zdravja RS; 2010.
7. Clumbergs PC. Pathology. In: Reilly P, Bullock R, eds. *Head injury: Pathophysiology and management*. 2nd ed. London: Hodder Arnold; 2005. p. 41–72.
8. Bullock R, Nathoo N. Injury and cell function. In: Reilly P, Bullock R, eds. *Head injury. Pathophysiology and management*. 2nd ed. London: Hodder Arnold; 2005. p. 113–39.
9. Mendelow AD, Crawford PJ. Primary and secondary brain injury. In: Reilly P, Bullock R, eds. *Head injury: Pathophysiology and management*. 2nd ed. London: Hodder Arnold; 2005. p. 73–92.
10. Bošnjak R. Sekundarna možganska okvara. Dinamična narava poškodbe glave in možganov. In: *Celjski dnevi. Zbornik izbranih predavanj Simpozija o poškodbah otroškega skeleta in poškodbah nevrokraniuma in možganov*; 2009 Mar 13–14; Portorož. Celje: Splošna bolnišnica Celje; 2009. p. 155–62.
11. Signoretti S, Vagnozzi R, Tavazzi B, Lazzarino G. Biochemical and neurochemical sequelae following mild traumatic brain injury: summary of experimental data and clinical implications. *Neurosurg Focus* 2010; 29: E1.
12. Kövesdi E, Lückl J, Bukovics P, Farkas O, Pál J, Czeiter E, et al. Update on protein biomarkers in traumatic brain injury with emphasis on clinical use in adults and pediatrics. *Acta Neurochir* 2010; 152: 1–17.
13. Kochanek PM, Berger RP, Bayir H, Wagner AK, Jenkins LW, Clark RS. Biomarkers of primary and evolving damage in traumatic and ischemic brain injury: diagnosis, prognosis, probing mechanisms, and therapeutic decision making. *Curr Opin Crit Care* 2008; 14: 135–41.
14. Van Eldik LJ, Wainwright MS. The Janus face of glial-derived S100B: beneficial and detrimental functions in the brain. *Restor Neurol Neurosci* 2003; 21: 97–108.
15. Undén J, Astrand R, Waterloo K, Ingebrigtsen T, Bellner J, Reinstrup P, et al. Clinical significance of serum S100B levels in neurointensive care. *Neurocrit Care* 2007; 6: 94–9.
16. Johnsson P. Markers of cerebral ischemia after cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1996; 10: 120–6.
17. Eng LF, Ghirnikar RS, Lee YL. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969–2000). *Neurochem Res* 2000; 25: 1439–51.
18. Malačič S. Razmejitvena vrednost nitkaste kisle glialne beljakovine pri možganski poškodbi [diplomska naloga]. Ljubljana: Univerza v Ljubljani; 2009.
19. Pineda JA, Lewis SB, Valadka AB, Papa L, Hannay HJ, Heaton SC, et al. Clinical significance of alpha-II spectrin breakdown products in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2007; 24: 354–66.
20. Gabbita SP, Scheff SW, Menard RM, Roberts K, Fugaccia I, Zemlan FP. Cleaved-tau: a biomarker of neuronal damage after traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2005; 22: 83–94.
21. Johnson VE, Stewart W, Smith DH. Traumatic brain injury and amyloid-beta pathology: a link to Alzheimer's disease? *Nat Rev Neurosci* 2010; 11: 361–70.

22. Ottens AK, Kobeissy FH, Golden EC, Zhang Z, Haskins WE, Chen SS, et al. Neuroproteomics in neurotrauma. *Mass Spectrom Rev* 2006; 25: 380–408.
23. Jenkins LW, Peters GW, Dixon CE, Zhang X, Clark RS, Skinner JC, et al. Conventional and functional proteomics using large format two-dimensional gel electrophoresis 24 h after controlled cortical impact in postnatal day 17 rats. *J Neurotrauma* 2002; 19: 715–40.
24. Haqqani AS, Hutchison JS, Ward R, Stanimirovic DB. Biomarkers and diagnosis; protein biomarkers in serum of pediatric patients with severe traumatic brain injury identified by ICAT-LC-MS/MS. *J Neurotrauma* 2007; 24: 54–74.
25. Buttram SDW, Wisniewski SR, Jackson EK, Adelson PD, Feldman K, Bayir H, et al. Multiplex assessment of cytokine and chemokine levels in cerebrospinal fluid following severe pediatric traumatic brain injury: effects of moderate hypothermia. *J Neurotrauma* 2007; 24: 1707–18.
26. Korfiatis S, Stranjalis G, Boviatisis E, Psachoulia C, Jullien G, Gregson B, et al. Serum S-100B protein monitoring in patients with severe traumatic brain injury. *Intensive Care Med* 2007; 33: 255–60.
27. Blyth BJ, Farhavar A, Gee C, Hawthorn B, He H, Nayak A, et al. Validation of serum markers for blood-brain barrier disruption in traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2009; 26: 1497–507.
28. Pelinka LE, Kroepfl A, Leixnering M, Buchinger W, Raabe A, Redl H. GFAP versus S100B in serum after traumatic brain injury: relationship to brain damage and outcome. *J Neurotrauma* 2004; 21: 1553–61.
29. da Rocha AB, Schneider RF, de Freitas GR, Andre C, Grivicich I, Zanoni C, et al. Role of serum S100B as a predictive marker of fatal outcome following isolated severe head injury or multitrauma in males. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44: 1234–42.
30. Townend W, Ingebrigtsen T. Head injury outcome prediction: a role for protein S-100B? *Injury* 2006; 37: 1098–108.
31. Lumpkins KM, Bochicchio GV, Keledjian K, Simard JM, McCunn M, Scalea T. Glial fibrillary acidic protein is highly correlated with brain injury. *J Trauma* 2008; 65: 778–82.
32. Nylen K, Ost M, Csajbok LZ, Nilsson I, Blennow K, Nellgard B, et al. Increased serum-GFAP in patients with severe traumatic brain injury is related to outcome. *J Neurol Sci* 2006; 240: 85–91.
33. Slovensko združenje za intenzivno medicino. Priporočene smernice za ukrepe in zdravljenje pri poškodbavancih s hudo poškodbo glave. *Zdrav Vestn* 2004; 73: 31–6.
34. Vos PE, Battistin L, Birbamer G, Gerstenbrand F, Potapov A, Prevec T, et al. EFNS guideline on mild traumatic brain injury: report of an EFNS task force. *Eur J Neurol* 2002; 9: 207–19.
35. Uden J, Romner B. A new objective method for CT triage after minor head injury—serum S100B. *Scand J Clin Lab Invest* 2009; 69: 13–7.
36. Muller K, Townend W, Biasca N, Uden J, Waterloo K, Romner B, et al. S100B serum level predicts computed tomography findings after minor head injury. *J Trauma* 2007; 62: 1452–6.
37. Uden J, Bellner J, Astrand R, Romner B. Serum S100B levels in patients with epidural haematoma. *Br J Neurosurg* 2005; 1: 43–5.
38. Sojka P, Stålnacke BM, Björnstig U, Karlsson K. One-year follow-up of patients with mild traumatic brain injury: occurrence of post-traumatic stress-related symptoms at follow-up and serum levels of cortisol, S-100B and neuron-specific enolase in acute phase. *Brain Inj* 2006; 20: 613–20.