

Badanie biomarkerów w udarach mózgu

Biomarkers in stroke

Halina Sienkiewicz-Jarosz, Danuta Ryglewicz

I Klinika Neurologiczna, Instytut Psychiatrii i Neurologii w Warszawie

Streszczenie

Rutynowe metody diagnostyczne udaru mózgu nie pozwalają na wyeliminowanie innych schorzeń imitujących jego objawy. Ma to szczególne znaczenie u pacjentów kwalifikowanych do leczenia rekombinowanym tkankowym aktywatorem plazminogenu. Jest to powód licznych badań nad nowymi technikami neuroobrazowania oraz innymi, bardziej dostępnymi, metodami, które umożliwiłyby rozpoznanie udaru już w warunkach przedszpitalnych. W ciągu ostatnich kilkunastu lat prowadzone są prace nad poszukiwaniem markerów biochemicznych udaru mózgu.

Słowa kluczowe: udar mózgu, marker biochemiczny, diagnostyka

Abstract

Routine diagnostic methods in stroke are insufficient to exclude other potential causes of focal neurological deficits. It is important especially for patients eligible for thrombolysis. This is a cause of intensive studies on new neuroimaging and other simple and quick diagnostic tests for stroke easy to perform in pre-hospital care. Some of them are directed for biochemical markers of stroke.

Key words: stroke, biochemical marker, diagnosis

Wstęp

Obecnie brakuje ogólnie dostępnego oraz czułego testu diagnostycznego w udarze mózgu, co stanowi istotne ograniczenie zarówno w jego wczesnej diagnostyce, jak i w zakresie możliwości leczenia. W większości przypadków rozpoznania udaru niedokrwinnego dokonuje się na podstawie obrazu klinicznego, po wykluczeniu krwotoku mózgowego lub efektu masy w badaniu metodą tomografii komputerowej (CT, *computed tomography*). Taka diagnostyka nie pozwala jednak na wyeliminowanie schorzeń, które mogą imitować udar mózgu, takich jak: migrena powikłana, porażenie ponapadowe, przemijający atak niedokrwiny (TIA, *transient ischaemic attack*), niektóre guzy mózgu, stwardnienie rozsiane lub zaburzenia metaboliczne, w tym najczęściej hipoglikemia. Tomografia komputerowa, uznawana za metodę referencyjną w diagnostyce udaru, pozwala na wykluczenie zmian krwotocznych i, w większości przypadków, guzów mózgu, jednak jej czułość

w świeżym udarze niedokrwinnym ocenia się na 30–35% [1]. Nowsze techniki neuroobrazowe, takie jak perfuzja CT czy rezonans magnetyczny, bardziej czułe w stosunku do zmian niedokrwiniowych, są znacznie trudniej dostępne w praktyce klinicznej, bardziej kosztowne i na ogół zajmują więcej czasu. Ponadto metody te nie pozwalają na zróżnicowanie udaru niedokrwinnego z zaburzeniami czynnościowymi lub metabolicznymi, takimi jak wymienione wcześniej porażenie Todda, migrena powikłana, zaburzenia metaboliczne, w tym najczęściej hipoglikemia, zaburzenia kardiologiczne, porażenia psychogenne. Okazuje się, że — mimo dość jasnej definicji udaru i typowych objawów — 20–25% wszystkich rozpoznanych udaru to schorzenia imitujące udary [2, 3]. Ma to szczególne znaczenie u pacjentów spełniających kryteria kliniczne do leczenia rekombinowanym tkankowym aktywatorem plazminogenu (rt-PA, *recombinant tissue plasminogen activator*). Jednym z kierunków badań jest poszukiwanie markerów biochemicznych udaru mózgu.

Podobnie jak w przypadku diagnostyki zawału serca i ostrych zespołów wieńcowych, wiele badań poświęcono poszukiwaniu bezpośrednich i pośrednich markerów uszkodzenia mózgu. Jednak w odróżnieniu od serca, mózg jest dalece bardziej heterogeny pod względem budowy; zawiera komórki nerwowe i glejowe charakteryzujące się różnym stopniem wrażliwości na niedotlenienie. Wia-

Adres do korespondencji:

Dr med. Halina Sienkiewicz-Jarosz
I Klinika Neurologiczna, IPiN
Al. Sobieskiego 9, 02–957 Warszawa
tel.: 0 22 45 82 684, faks: 0 22 45 82 566
e-mail: hjarosz@chello.pl
Praca wpłynęła do Redakcji: 5 listopada 2007 r.
Zaakceptowano do druku: 14 stycznia 2007 r.

domo, że zróżnicowana jest także wrażliwość na niedotlenienie poszczególnych struktur mózgowia. Zatem stężenie danego markera biochemicznego może zależeć od czasu trwania niedokrwienia/niedotlenienia, czasu od początku naczyniopochodnego uszkodzenia mózgu do pobrania próbki, wielkości uszkodzenia oraz jego lokalizacji. Ponadto pojawianie się we krwi obwodowej markerów uszkodzenia tkanek mózgu zależy od tego, w jaki sposób została przerwana bariera krew–mózg, czyli od tego, czy było to uszkodzenie nagłe, jak w przypadku udaru krwotocznego, czy stopniowe, jak w udarze niedokrwinnym [4, 5].

Cel poszukiwania markerów biochemicznych udaru mózgu

Ze względu na dotychczasowe trudności diagnostyczne celem badań biochemicznych w udarze jest jego potwierdzenie, zróżnicowanie TIA, udaru niedokrwinnego i udaru krwotocznego, ocena ewentualnych korzyści lub ryzyka intensywnego leczenia (rt-PA), ocena ryzyka obrzęku złośliwego w udarach z rejonu tętnicy środkowej mózgu (MCA, *middle cerebral artery*) i ewentualne ustalenie rokowania. Największe zainteresowanie budzi wczesna diagnostyka udaru. Uważa się, że optymalny test biochemiczny to taki, który lekarz pogotowia ratunkowego mógłby wykonać podczas pierwszej konsultacji pacjenta z podejrzeniem udaru.

Markery biochemiczne

Według *Biomarkers Definition Working Group* [6] biomarker to charakterystyczna cecha biologiczna, którą można obiektywnie zmierzyć, wskaźnik prawidłowych procesów biologicznych, procesów patologicznych lub odpowiedzi farmakologicznej na interwencję terapeutyczną. Białka uznane za biomarkery w udarze mózgu mają pochodzenie glejowe (np. białko S100B, kwaśne włóknienkowe białko gleju [GFAP, *glial fibrillary acidic protein*]) lub neuronalne (białko *tau*, specyficzna enolaza neuronalna [NSE, *neuron special enolase*], czynnik wzrostu nerwów [NGF, *nerve growth factor*]); są czynnikami zaangażowanymi w kaskadę niedokrwienia lub funkcjonują jako markery pośrednie (białko C-reaktywne [CRP, *C-reactive protein*], amyloid A, metaloproteinaza-9 (MMP-9, *metalloproteinase 9*), białka adhezyjne, czynnik martwicy nowotworów α [TNF- α , *tumor necrosis factor α*], interleukiny). Inne, wyizolowane z płynu mózgowo-rdzeniowego lub krwi chorych, uznano za potencjalne markery udaru, choć ich roli patogenetycznej w udarze dotychczas nie ustalono, jak w przy-

padku swoistego białka wiążącego podjednostkę regulacyjną kwasów nukleinowych (PARK7) i enzymu — kinazy A nukleozydodifosforanu (NDKA) [7]. Najczęściej oceniane markery biochemiczne w udarze podsumowano w tabeli I.

Idealny marker biochemiczny w udarze powinien charakteryzować się wysoką specyficznością (tzn. pozwalać na odróżnienie udaru od innych chorób), być oznaczany we krwi lub osoczu, a jego stężenie we krwi powinno korelować ze stężeniem w płynie mózgowo-rdzeniowym. Ponadto powinien pojawić się w krótkim czasie od zachorowania i umożliwiać różnicowanie TIA z dokonanym udarem, a udar krwotoczny — z niedokrwinnym, a także być wskaźnikiem prognostycznym dla powodzenia leczenia trombolitycznego i dalszych wyników terapii. Ponieważ na podstawie dotychczas przeprowadzonych badań wiadomo, że żadne badanie biochemiczne nie ma szans na 100-procentową czułość i specyficzność, uważa się, że u każdego pacjenta z podejrzeniem udaru należy wykonać badanie CT lub inne badanie neuroobrazowe [8, 9].

Jak dotąd, najwięcej prac dotyczyło białka S100B oraz NSE [5, 10–13]. Stwierdzono, że stężenie białka S100B w surowicy zależy od wielkości i rodzaju ogniska naczyniopochodnego, a w pierwszej i trzeciej dobie udaru ma znaczenie rokownicze [5, 11]. Ustalono również, że białko S100B nie jest markerem diagnostycznym udaru, tylko markerem stopnia uszkodzenia [14], a jego oznaczanie w sposób izolowany nie pozwala na rozpoznanie udaru w bardzo wczesnym okresie [11, 15, 16]. Badanie stężenia tego białka może być jednak użyteczne w monitorowaniu terapii neuroprotektoryjnej i w ocenie jej skuteczności [17], rokowaniu w przypadku powikłań endarteriektomii tętnicy szyjnej (CEA, *carotid endarterectomy*) i stentowania (CAS, *carotid stenting*) [18] oraz w prognozowaniu ryzyka związanego z trombolizą [19].

Do 2005 roku przeprowadzono około 12 badań randomizowanych i kontrolowanych oraz kliniczno-kontrolnych, oceniających zastosowanie NSE w diagnostyce udaru (ogółem u 594 pacjentów) [13]. Obserwowano znamienny wzrost stężenia tego markera u pacjentów z udarem mózgu, wyraźniejszy w przypadku udaru niedokrwinnego niż krwotocznego. Niestety, wyniki dotyczące czasu pojawiania się i maksymalnego stężenia we krwi w różnych badaniach były rozbieżne, a zakres stężeń uznawanych przez poszczególnych badaczy za prawidłowe — szeroki (4,9–9,11 $\mu\text{g/l}$). Autorzy metaanalizy stwierdzili, że oznaczanie NSE w sposób izolowany jest nieprzydatne we wczesnej diagnostyce udaru mózgu, lecz może być pomocne jako składowa szerszego panelu badań biochemicznych [13].

Tabela I. **Wybrane markery biochemiczne w udarze mózgu [4, 7, 13, 29, 30, 32, 34]**Table I. **Selected biochemical markers in stroke [4, 7, 13, 29, 30, 32, 34]**

Markery glejowe i neuronalne <i>Glial and neuronal markers</i>	
S100B	Białko wiążące wapń obecne głównie w komórkach glejowych; wzrost stężenia obserwowano w udarze niedokrwiennym i krwotocznym; stężenie koreluje z rozległością ogniska <i>Calcium binding protein, presented especially in glial cells; increased concentrations were observed in ischemic and hemorrhagic strokes, and they were correlated with dimension of stroke lesions</i>
Kwaśne włóknienkowe białko gleju (GFAP) <i>Glial fibrillary acidic protein</i>	Składnik cytoszkieletu astrocytów; szybki wzrost stężenia tego białka we krwi stwierdzono w udarze krwotocznym, udarze niedokrwiennym i wodogłowie <i>Component of astrocyte cytoskeleton; high levels in plasma occur shortly after hemorrhagic and ischemic strokes and were observed also in hydrocephalus</i>
Enolaza neuronalna (NSE) <i>Neuron-specific enolase</i>	Enzym glikolityczny obecny w neuronach i komórkach neuroendokrynnych; może być markerem uszkodzenia (procesy patologiczne, choroby naczyniowe, urazy); szczególnie wysokie stężenie w korze mózgowej, skorupie, mózdku <i>Isoenzyme of glycolytic enzyme enolase, highly specific for neurons and neuroendocrine cells; it is proposed to act as marker of brain damage (stroke, injuries); high levels in cerebral cortex, putamen and cerebellum</i>
Elementy układu krzepnięcia (hemostaza/fibrynoliza) <i>Coagulation factors (hemostasis/fibrinolysis)</i>	
Czynnik VIIc, VIIIc <i>Factor VIIc, VIIIc</i>	Czynniki układu krzepnięcia/coagulation factors
Czynnik von Willebranda (vWF) <i>von Willebrand factor</i>	
Inhibitor aktywatora plazminogenu 1 (PAI-1) <i>Plasminogen activator inhibitor-1</i>	
Inhibitor aktywowanej trombiną fibrynolizy (TAFI) <i>Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor</i>	
D-dimery	Produkty degradacji fibryny uwalniane do układu krążenia podczas fibrynolizy; wzrost stężenia związany z zakrzepicą żylną i DIC, ale również z udarem niedokrwiennym i SAH; prognostyczne dla progresji udaru <i>Products of fibrin degradation, released into the circulation during fibrinolysis; elevations of D-dimers have been associated with venous thromboembolism, DIC, but also with ischemic stroke and SAH; prognostic factors for stroke progression</i>
Zapalenie <i>Inflammation</i>	
Białko C-reaktywne (CRP) <i>C-reactive protein</i>	Białko ostrej fazy biorące udział w odpowiedzi immunologicznej — ułatwia wiązanie dopełniacza, wpływając na fagocytozę (niszczenie i usuwanie czynnika infekcyjnego); podwyższone stężenie we krwi w stanach zapalnych <i>C-reactive protein is an acute phase protein, taking a part in immunological response; it assists in complement binding to foreign and damaged cells and enhances phagocytosis by macrophages; high levels in inflammatory diseases</i>
Interleukiny 1, 6, 8 (IL-1, 6, 8) <i>Interleukines 1, 6, 8</i>	Cytokiny o kluczowym znaczeniu dla procesu zapalnego <i>Key cytokines in inflammatory processes</i>
Metaloproteinaza 9 (MMP-9) <i>Metalloproteinase 9</i>	Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (MMPs) to enzymy proteolityczne o znaczeniu w degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej; w tkankach obecne w kompleksach z inhibitorami (TIMPs); MMP-9 należy do zelatynaz katalizujących proteolizę różnych typów kolagenu, głównie typu IV — jej aktywacja wiąże się ze stanem zapalnym w różnych patologiach, takich jak tworzenie blaszek miażdżycowych, stwardnienie rozsiane, wzrost guzów, powstawanie przerzutów; uważa się, że w udarze wzrost stężenia MMP-9 jest związany ze zwiększeniem przepuszczalności bariery krew-mózg i transformacją krwotoczną zmian niedokrwiennych <i>Metalloproteinases of extracellular matrix (MMPs) — proteolytic enzymes, which can break down extracellular proteins; in tissues they made an complexes with inhibitors (TIMPs); MMP-9 is involved in proteolysis of different types of collagen, especially IV type; MMP-9 activation is associated with inflammation in different pathologies such as atherosclerosis, sclerosis multiplex, tumor growth and metastasis; in ischemic stroke, increase in the MMP-9 concentration is connected with increased of brain-blood barrier permeability and hemorrhagic transformation of ischemic lesions</i>

cd. →

Tabela I. Wybrane markery biochemiczne w udarze mózgu [4, 7, 13, 29, 30, 32, 34] (cd.)

Table I. Selected biochemical markers in stroke [4, 7, 13, 29, 30, 32, 34] (continued)

Śródbłonkowy czynnik adhezji komórek-1 (VCAM-1) <i>Vascular cell adhesion molecule 1</i>	Białko związane z błoną komórkową endotelocytów, lecz może występować w formie rozpuszczalnej w surowicy; czynnik adhezyjny dla leukocytów, zaangażowany w infiltrację niedokrwionego obszaru mózgu przez komórki zapalne pochodzące z krwi <i>Connected with cell membrane of endothelial cells; adhesive factor for leukocytes, involved in infiltration of ischemic lesion with inflammatory cells from blood</i>
Wewnątrzkomórkowy czynnik adhezji komórek (ICAM) <i>Intracellular cell adhesion molecule</i>	
Czynnik martwicy nowotworów α (TNF- α) <i>Tumor necrosis factor α</i>	Cytokina pozapalna powstająca w odpowiedzi na ostre niedokrwienie mózgu; wraz z interleukiną indukuje ekspresję antygenów głównego układu zgodności tkankowej przez komórki mikrogleju <i>One of the pro-inflammatory cytokines expressed in ischemic brain; it can induce expression of major histocompatibility antigens on microglial cells</i>
Inne Other	
Mózgowy peptyd natriuretyczny (BNP) <i>Brain natriuretic peptide</i>	Neurohormon o silnym działaniu natriuretycznym, diuretycznym i wazodylatacyjnym; wzrost stężenia we krwi jest związany ze wzrostem ciśnienia tętniczego i zwiększeniem wolemii; podwyższone stężenia także u chorych z deficytami neurologicznymi będącymi wynikiem skurczu naczyniowego po SAH <i>Neurohormone with potent natriuretic, diuretic and vasodilating effects; elevations of BNP concentration is associated with increase of blood pressure, and fluid overload; elevation of BNP has been observed in patients with ischemic neurological deficits due to vasospasm after subarachnoid hemorrhage</i>
Neurotropowy czynnik wzrostu B (BNGF) <i>Brain nerve growth factor B-type</i>	Czynnik o potencjalnym działaniu neuroprotekcijnym <i>Neuroprotective factor</i>
Kaspazy <i>Caspases</i>	Enzymy z grupy proteaz, kontrolujących apoptozę <i>Proteolytic enzymes involved in control of apoptotic processes</i>
Białka szoku termicznego (HSP) <i>Heat shock proteins</i>	Białka opiekuńcze chroniące komórki przed szkodliwymi skutkami stresu, w tym stresu oksydacyjnego związanego z niedokrwieniem <i>Family of stress response proteins; specific HSPs play a role in protecting cells from effects of stress, involving oxidative stress after ischemia</i>
PARK7	Swoiste białko wiążące podjednostkę regulacyjną kwasów nukleinowych <i>Protein binding regulatory subunit of nucleic acids</i>
NDKA	Enzym kinaza A nukleozydodifosforanu; wysokie stężenie obecne we krwi i płynie mózgowo-rdzeniowym po śmierci oraz u osób z chorobami neurodegeneracyjnymi <i>Enzyme nucleoside diphosphate kinase A; levels of these proteins are increased in human postmortem cerebrospinal fluid and in plasma and CSF of patients with neurodegenerative disorders</i>
Chimeriny <i>Chimerins</i>	Grupa białek aktywujących GTP-azę <i>GTP-ase activating proteins</i>

DIC (disseminated intravascular coagulation) — zespół rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego; SAH (subarachnoid hemorrhage) — krwotok podpajęczynówkowy; TIMP (tissue inhibitor of matrix metalloproteinase) — tkankowy inhibitor metaloproteazy

W pracy Lam i wsp. [20] wykazano, że u pacjentów z objawami udaru mózgu, u których wynik CT był negatywny, można przewidywać wynik 0–2 punktów w zmodyfikowanej Skali Rankina po 6 miesiącach od incydentu na podstawie oceny stężenia fragmentów DNA w osoczu w fazie ostrej choroby, z 42-procentową czułością i 100-procentową specyficznością, zaś na podstawie stężenia białka S100B — z czułością wynoszącą 48% i ze specyficznością równą 75%. Kolejne badania dostarczają informacji o nowych potencjalnych markerach biochemicznych udaru mózgu, na przykład o akroleinie, oksydazie poliamin [21] i biał-

kach wiążących wapń z grupy VLP (VLP-1, *visinin-like protein*) [22]. Wielu autorów bada także aminokwasy pobudzające i ekspresję ich receptorów w udarze mózgu [23–26]. Ostatnio opublikowano również prace dotyczące roli fibronektyny i MMP-9 w ocenie ryzyka leczenia trombolitycznego [27, 28].

Oznaczanie stężenia tylko jednego markera biochemicznego nie jest wystarczające w diagnostyce udaru mózgu. Problemem są niska czułość i specyficzność takiego badania, brak powtarzalności wyników w kolejnych pracach oraz trudności w ustaleniu prawidłowych stężeń poszczególnych biomarkerów [29].

Badania dotyczące panelu biochemicznego

Obecnie zainteresowanie budzi ocena zestawów badań biochemicznych w diagnostyce udaru (tab. II).

W badaniu Reynoldsa i wsp. [30] z ponad 50 białek oznaczanych metodą ELISA u 214 zdrowych osób oraz u 223 pacjentów z udarem mózgu (w tym 82 ze świeżym udarem niedokrwinnym) wybrano ostatecznie panel złożony z pięciu czynników. Znalazły się w nim: białko S100B, neurotrofowy czynnik wzrostu B (NGF-B, *neurotrophic growth factor B-type*), czynnik von Willebranda (vWF, *von Willebrand's factor*), MMP-9 i czynnik chemotaktyczny monocytów-1 (MCP-1, *monocyte chemotactic protein 1*). Wzrost stężeń trzech z powyższych białek powyżej wartości odcięcia w ciągu 6 godzin od wystąpienia objawów pozwalał na przewidywanie rozpoznania udaru niedokrwinnego z 92-procentową czułością i ze specyficznością równą 93%.

W badaniu Lyncha i wsp. [31] z 26 początkowo oznaczanych we krwi białek uczestniczących w kaskadzie niedokrwiennej, za pomocą analizy regresji logistycznej, wybrano cztery najsilniej skorelowane z obecnością zmian niedokrwiniennych. Były to: białko S100B, dwa markery stanu zapalnego — MMP-9 oraz naczyniowa cząsteczka adhezyjna (VCAM, *vascular cell adhesion molecule*), a także vWF. Czułość i specyficzność badania tego panelu białek wynosiła około 90% [32]. Wadą badania była niewielka liczebność grupy, w której oceniano test.

Obiecujące wyniki przyniosły badania dotyczące swoistego białka wiążącego podjednostkę regulacyjną kwasów nukleinowych (PARK7) w płynie mózgowo-rdzeniowym i w osoczu oraz oznaczenia enzymu NDKA [7]. Stężenia obu markerów wzrastały znamienne w ciągu pierwszych 3 godzin od chwili wystąpienia objawów udaru. W badaniach obejmujących 622 chorych z rozpoznaniem udarem mózgu i 169 osób z grupy kontrolnej oznaczanie PARK7 charakteryzowało się czułością

Tabela II. Zestawy badań biochemicznych w diagnostyce udaru mózgu

Table II. Panels of biochemical markers proposed in diagnostics of ischemic stroke

Badanie <i>Study</i>	Grupa (n) <i>Group (n)</i>	Oznaczone parametry <i>Assessed markers</i>	Komentarz <i>Comment</i>
Reynolds i wsp., 2003 [30] <i>Reynolds et al., 2003 [30]</i>	214 — grupa kontrolna <i>214 — control group</i> 223 — pacjenci z rozpoznaniem udaru mózgu, w tym 82 ze świeżym udarem niedokrwinnym <i>223 — patients with diagnosis of stroke; 82 — with acute ischemic stroke</i>	S100B Neurotrofowy czynnik wzrostu B <i>Neurotrophic growth factor B-type</i> Czynnik von Willebranda <i>von Willebrand factor</i> Metaloproteinaza 9 <i>Metalloproteinase 9</i> Czynnik chemotaktyczny monocytów <i>Monocyte chemotactic protein 1</i>	Wzrost stężeń 3 białek powyżej wartości odcięcia; czułość 92%, specyficzność 93% dla świeżego udaru niedokrwinnego mózgu <i>Increase in the levels of three proteins above respective cutoffs: sensitivity — 92%, specificity 93% — for acute ischemic stroke</i>
Lynch i wsp., 2004 [31] <i>Lynch et al., 2004 [31]</i>	157 — grupa kontrolna <i>157 — control group</i> 65 — pacjenci z podejrzeniem udaru <i>65 — patients with suspected stroke</i>	S100B Metaloproteinaza 9 <i>Metalloproteinase 9</i> Naczyniowa cząsteczka adhezyjna <i>Vascular cell adhesion molecule 1</i> Czynnik von Willebranda <i>von Willebrand factor</i>	Czułość i specyficzność w prognozowaniu udaru ok. 90% przy wzroście stężeń 3 białek powyżej wartości odcięcia <i>Sensitivity and specificity in predicting ischemic stroke: about 90%, with increased levels of three proteins after cutoffs</i>
Montaner i wsp., 2005 [32] <i>Montaner et al., 2005 [32]</i>	99 — grupa kontrolna <i>99 — control group</i> 915 — osoby po udarze <i>915 — stroke patients</i> 90 — pacjenci z chorobą imitującą udar <i>90 — patients with stroke mimics</i>	Markery stanu zapalnego (CRP, RAGE, MMP-9), funkcji układu sercowo-naczyniowego i krzepnięcia (D-dimery, BNP), apoptozy (kaspaza 3, NT-3) oraz inne, takie jak: białko S100B, chimeryna, sekretagolina <i>Inflammatory markers (CRP, RAGE, MMP-9), markers of circulation and hemostasis (D-dimers, BNP), apoptosis (caspase-3, NT-3) and others S100b, chimerin, sekretagoline</i>	Wysokie stężenia D-dimerów i kaspazy 3 wykazały wartość predykcyjną dla udaru niedokrwinnego równą 95%, dodatkowo przy wysokim stężeniu RAGE — prawie 100% <i>High levels of D-dimers and caspase-3 had predictive value for ischemic stroke equal to 95%, and with additional high RAGE levels — near 100%</i>

cd. →

Tabela II. Zestawy badań biochemicznych w diagnostyce udaru mózgu (cd.)

Table II. Panels of biochemical markers proposed in diagnostics of ischemic stroke (continued)

Badanie Study	Grupa (n) Group (n)	Oznaczone parametry Assessed markers	Komentarz Comment
Allard i wsp., 2005 [7] <i>Allard et al., 2005 [7]</i>	165 — grupa kontrolna 165 — control group 622 — pacjenci z udarem mózgu 622 — stroke patients	PARK-7 NDKA	Czułość 54–91%; specyficzność 80–97% <i>Sensitivity 54–91%; specificity 80–97%</i> Czułość 70–90%; specyficzność 90–97% <i>Sensitivity 70–90%; specificity 90–97%</i>
Triage Stroke Panel [33]			Dostępny w sprzedaży panel badań biochemicznych w udarze mózgu; obliczony logarytmicznie MMX; przy wartościach MMX < 1,3 niskie prawdopodobieństwo udaru, dla MMX = 5,9 wysoka specyficzność — 90% (czułość 36%) <i>Commercially available panel of biochemical markers in ischemic stroke; calculated by a fixed algorithm MMX is used; MMX results less than or equal to 1,3 — low probability of stroke; for MMX = 5,9 — specificity is high = 90% (but sensitivity low — 36%)</i>
Rouanet i wsp., 2006 [34] <i>Rouanet et al., 2006 [34]</i>		Równoczesna analiza stężeń MMP-9, BNP; białka S100B, D-dimerów <i>Analysis of levels of MMP-9, BNP; S100B protein and D-dimers</i>	Przydatność diagnostyczna w warunkach ostrego dyżuru <i>The test could be helpful in emergency</i>
Brouns i wsp., [35] <i>Brouns et al., [35]</i>	109 — udar niedokrwienny 109 — ischemic stroke 32 — TIA		Pomocny w różnicowaniu udaru niedokrwiennego lakunarnego od płatowego i TIA <i>It has been show, that the test could help in differentiation of lacunar and lobar strokes with TIA</i>

CRP (C-reactive protein) — białko C-reaktywne; RAGE (receptors for advanced glycation end-products) — receptory dla produktów zaawansowanej glikacji białek; NT-3 (neurotrophin 3) — neurotropina 3; BNP (brain natriuretic peptide) — mózgowy peptyd natriuretyczny; MMX — Multimarker Index

w granicach 51–97% i swoistością w zakresie 80–97%, a oznaczanie NDKA — czułością 70–90% i swoistością 90–97% w prognozowaniu udaru niedokrwiennego mózgu.

Montaner i wsp. [32] zaprezentowali wyniki badania kolejnego zestawu biomarkerów, w skład którego wchodziły: markery stanu zapalnego (CRP, receptory dla produktów zaawansowanej glikacji białek [RAGE, *receptors for advanced glycation end-products*], MMP-9), markery funkcji układu sercowo-naczyniowego i krzepnięcia (D-dimery, mózgowy peptyd natriuretyczny [BNP, *brain natriuretic peptide*]), apoptozy (kaspaza 3, neurotropina 3) oraz inne, takie jak białko S100B i chimeryna. Stężenia tych białek oceniano metodą immunoenzymatyczną w osoczu pobranym od pacjentów w ciągu 24 godzin od czasu wystąpienia objawów udaru. Ogółem zbadano 915 chorych z udarem, 90 z innymi chorobami imitującymi udar (padaczka, migrena, guzy, hipoglikemia) oraz 99 zdrowych osób. Celem anali-

zy regresji było wykazanie, czy markery te są niezależnymi predyktorami wystąpienia udaru. W porównaniu z grupą kontrolną wysoki iloraz szans dla udaru był związany ze stężeniami CRP, MMP-9, D-dimerów, BNP i S100B, zaś choroby imitujące udar od faktycznego udaru lepiej różnicowały stężenia RAGE, MMP-9, D-dimerów i kaspazy 3.

Czułość i specyficzność każdego z biomarkerów analizowanych oddzielnie były niskie, jednak zwiększały się w przypadku ich skojarzenia. Na przykład, wysokie stężenia D-dimerów i kaspazy-3 miały wartość predykcyjną dla udaru równą 95%, a dodatkowo przy wysokim stężeniu RAGE — prawie 100%.

W 2005 roku w Wielkiej Brytanii zarejestrowano *Triage Stroke Panel* — biochemiczny test diagnostyczny stosowany w udarze mózgu [33]. Test polega na oznaczaniu stężeń kilku czynników: BNP, D-dimerów, MMP-9 oraz białka S100B. Oznaczenie odbywa się metodą immunofluorescencyjną, z próbki krwi pełnej lub osocza. Czas wyko-

niania testu wynosi około 15 minut. Metodą logarytmiczną z uzyskanych stężeń wymienionych czterech biomarkerów oblicza się tak zwany *Multimarker Index* (MMX), którego wartości mogą wynosić 0–10. Punkt odcięcia równy 1,3 pozwala na uzyskanie optymalnej czułości w różnicowaniu udaru z imitującymi go chorobami, wynoszącej 94% (specyficzność dla tej wartości wynosi 24%), zaś punkt odcięcia równy 5,9 pozwala na uzyskanie optymalnej specyficzności równej 90% (czułość 36%) [33–35]. Wstępne badanie sugeruje również przydatność tego testu w różnicowaniu w fazie ostrej udarów płatowych, lakunarnych i TIA [35].

Badania biochemiczne nie pozwalają na pewne zróżnicowanie udarów niedokrwiennych i krwotocznych, dlatego w każdym przypadku podejrzenia udaru trzeba wykonać badania neuroobrazowe. Istnieją przesłanki wskazujące, że w różnicowaniu udaru niedokrwiennego i krwotocznego może być przydatny pomiar stężeń GFAP i MMP-9 we krwi [36].

Wnioski

Przytoczone dane wskazują, że można opracować test biochemiczny użyteczny w diagnostyce udaru mózgu. Przykładem jest dostępny już w Europie *Triage Stroke Panel*. Wadą większości dotychczasowych badań biomarkerów w udarze jest stosunkowo mała liczebność badanych grup, co prawdopodobnie wynika z wysokich kosztów analiz biochemicznych. Ponadto wydaje się istotne, by wyizolowane markery biochemiczne udaru zostały następnie zweryfikowane w sposób prospektywny w dużych grupach pacjentów w rutynowej praktyce, kiedy udar jest rozpoznawany przez lekarzy ogólnych lub ratowników medycznych. Stężenia wybranych markerów ocenianych we krwi pobranej optymalnie w ciągu pierwszych 3 godzin od wystąpienia objawów udaru mózgu powinny zostać skonfrontowane z ostatecznym rozpoznaniem i wielkością ogniska naczyniopochodnego w badaniu neuroobrazowym. Część ocenianej grupy powinna stanowić pacjenci ze schorzeniami imitującymi udar mózgu, co pozwoli na rzetelną ocenę czułości i specyficzności testu. Należy pamiętać, że opracowanie panelu badań diagnostycznych wymaga również ustalenia ich norm dla płci, wieku oraz wpływu na ich stężenia stylu życia, stosowanych leków czy też cech genetycznych.

Badanie markerów biochemicznych jest ważnym kierunkiem w diagnostyce udaru mózgu. Szybki test diagnostyczny może być szczególnie przydatny w ratownictwie medycznym i podejmowaniu decyzji dotyczącej dalszego postępowania z pacjentem.

Piśmiennictwo

- Kidwell C.S., Chalela J.A., Saver J.L. i wsp.: Comparison of MRI and CT for detection of acute intracerebral hemorrhage. *JAMA* 2004, 292, 1823–1830.
- Libman R.B., Wirkowski E., Alvir J., Rao T.H.: Conditions that mimic stroke in the emergency department. Implications for acute stroke trials. *Arch. Neurol.* 1995, 52, 1119–1122.
- Weir N.U., Buchan A.M.: A study of the workload and effectiveness of a comprehensive acute stroke service. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 2005, 76, 863–865.
- Marchi N., Cavaglia M., Fazio V., Bhudia S., Hallene K., Janigro D.: Peripheral markers of blood-brain barrier damage. *Clin. Chim. Acta* 2004, 342, 1–12.
- Węglewski A., Ryglewicz D., Mular A., Juryńczyk J.: Zmiany stężenia białka S100B w surowicy krwi w udarze niedokrwiennym i krwotocznym mózgu w zależności od wielkości ogniska udarowego. *Neurol. Neurochir. Pol.* 2005, 39, 310–317.
- Biomarkers Definitions Working Group: Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2001, 69, 89–95.
- Allard L., Burkhard P.R., Lescuyer P. i wsp.: PARK7 and nucleoside diphosphate kinase A as plasma markers for the early diagnosis of stroke. *Clin. Chem.* 2005, 51, 2043–2051.
- Hill M.D., Buchan A.M.: Thrombolysis for acute ischemic stroke: results of the Canadian Alteplase for Stroke Effectiveness study. *Can. Med. Assoc. J.* 2005, 172, 1307–1312.
- Hill M.D.: Diagnostic biomarkers for stroke: a stroke neurologist's perspective. *Clin. Chem.* 2005, 51, 2001–2002.
- Abraham H.D., Butterworth R.J., Bath P.M.W., Wassif W.S., Garthwaite J., Sherwood R.A.: Serum S-100 protein, relationship to clinical outcome in acute stroke. *Ann. Clin. Biochem.* 1997, 34, 366–370.
- Missler U., Wiesmann M., Friedrich C., Kaps M.: S-100 protein and neuron-specific enolase concentrations in blood as indicators of infarction volume and prognosis in acute ischemic stroke. *Stroke* 1997, 28, 1956–1960.
- Selakovic V., Raicevic R., Radenovic L.: The increase of neuron-specific enolase in cerebrospinal fluid and plasma as a marker of neuronal damage in patients with acute brain infarction. *J. Clin. Neurosci.* 2005, 12, 542–547.
- Anand N., Stead L.G.: Neuron-specific enolase as a marker for acute ischemic stroke: a systematic review. *Cerebrovasc. Dis.* 2005, 20, 213–219.
- Büttner T., Weyers S., Postert T., Sprengelmeyer R., Kuhn W.: S-100 protein: serum marker of focal brain damage after ischemic territorial MCA infarction. *Stroke* 1997, 28, 1961–1965.
- Wunderlich M.T., Ebert A.D., Kratz T., Goertler M., Jost S., Herrmann M.: Early neurobehavioral outcome after stroke is related to release of neurobiochemical markers of brain damage. *Stroke* 1999, 30, 1190–1195.
- Foerch C., Otto B., Singer O.C. i wsp.: Serum S100B predicts a malignant course of infarction in patients with acute middle cerebral artery occlusion. *Stroke* 2004, 35, 2160–2164.
- Shirasaki Y., Edo N., Sato T.: Serum S-100b protein as a biomarker for the assessment of neuroprotectants. *Brain Res.* 2004, 24, 159–166.
- Mussack T., Hauser C., Klauss V. i wsp.: Serum S-100B protein levels during and after successful carotid artery stenting or carotid endarterectomy. *J. Endovasc. Ther.* 2006, 13, 39–46.
- Foerch C., Wunderlich M.T., Dvorak F. i wsp.: Elevated serum S100B levels indicate a higher risk of hemorrhagic transformation after thrombolytic therapy in acute stroke. *Stroke* 2007, 38, 2491–2495.
- Lam N.Y., Rainer T.H., Wong L.K., Lam W., Lo Y.M.: Plasma DNA as a prognostic marker for stroke patients with negative neuroimaging within the first 24 h of symptom onset. *Resuscitation* 2006, 68, 71–78.
- Tomitori H., Usui T., Saeki N. i wsp.: Polyamine oxidase and acrolein as novel biochemical markers for diagnosis of cerebral stroke. *Stroke* 2005, 36, 2609–2613.
- Laterza O.F., Modur V.R., Crimmins D.L. i wsp.: Identification of novel brain biomarkers. *Clin. Chem.* 2006, 52, 1713–1721.
- Serena J., Leira R., Castillo J., Pumar J.M., Castellanos M., Dávalos A.: Neurological deterioration in acute lacunar infarctions: the role of excitatory and inhibitory neurotransmitters. *Stroke* 2001, 32, 1154–1161.
- Dambinova S.A., Khounteev G.A., Skoromets A.A.: Multiple panel of biomarkers for TIA/stroke evaluation. *Stroke* 2002, 33, 1181–1182.

25. Dambinova S.A., Khounteev G.A., Izykenova G.A., Zavolokov I.G., Ilyukhina A.Y., Skoromets A.A.: Blood test detecting autoantibodies to N-methyl-D-aspartate neuroreceptors for evaluation of patients with transient ischemic attack and stroke. *Clin. Chem.* 2003, 49, 1752–1762.
26. Bokesch P.M., Izykenova G.A., Justice J.B., Easley K.A., Dambinova S.A.: NMDA receptor antibodies predict adverse neurological outcome after cardiac surgery in high-risk patients. *Stroke* 2006, 37, 1432–1436.
27. Castellanos M., Leira R., Serena J. i wsp.: Plasma cellular-fibronectin concentration predicts hemorrhagic transformation after thrombolytic therapy in acute ischemic stroke. *Stroke* 2004, 35, 1671–1676.
28. Castellanos M., Sobrino T., Millán M. i wsp.: Serum cellular fibronectin and matrix metalloproteinase-9 as screening biomarkers for the prediction of parenchymal hematoma after thrombolytic therapy in acute ischemic stroke: a multicenter confirmatory study. *Stroke* 2007, 38, 1855–1859.
29. Marcovina S.M., Crea F., Davignon J. i wsp.: Biochemical and bioimaging markers for risk assessment and diagnosis in major cardiovascular diseases: a road to integration of complementary diagnostic tools. *J. Int. Med.* 2007, 261, 214–234.
30. Reynolds M.A., Kirchick H.J., Dahlen J.R. i wsp.: Early biomarkers of stroke. *Clin. Chem.* 2003, 49, 1733–1739.
31. Lynch J.R., Blessing R., White W.D., Grocott H.P., Newman M.F., Laskowitz D.T.: Novel diagnostic test for acute stroke. *Stroke* 2004, 35, 57–63.
32. Montaner J.: Biochemical diagnosis of acute stroke using a panel of plasma biomarkers. ESC, May 25, 2005.
33. Triage Stroke Panel Product Insert, Biosite Inc., 2005.
34. Rouanet F., Brouste Y., Meissner W., Orgogozo J.: Use of triage stroke panel in neurological emergency service. European Stroke Conference, 16–19 May 2006, Brussels, Belgium (www.esc-archive.eu/brussels06/br_s5_poster.asp).
35. Brouns R., Sheorajpanday R., De Deyn P.P.: Lacunar and non-lacunar stroke or TIA can be differentiated in the acute phase using the Triage® Stroke Panel. 1st World Congress on Controversies in Neurology, Berlin 5–10.09.2007. Abstract Book, A42.
36. Foerch C., Curdt I., Yan B. i wsp.: Serum glial fibrillary acidic protein as a biomarker for intracerebral haemorrhage in patients with acute stroke. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 2006, 77, 181–184.