

Markery biochemiczne udaru niedokrwiennego mózgu

Biochemical markers of ischemic stroke

Joanna Bielewicz ¹, Jacek Kurzepa ²,
Zbigniew Stelmasiak ¹, Halina Bartosik-Psujek ¹

¹ Klinika Neurologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

² Katedra i Zakład Biochemii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Streszczenie

Ograniczenia obecnie stosowanych metod diagnostycznych (badanie kliniczne, badanie neuroobrazujące) skłoniły do poszukiwań innych rodzajów badań przydatnych podczas diagnozowania i planowania leczenia u pacjentów z udarem niedokrwinnym (UNM). W ostatniej dekadzie rozpoczęto poszukiwania biochemicznych markerów UNM. Obiektem zainteresowania są substancje, które uczestniczą w procesach patofizjologicznych lub uwalniają się z uszkodzonych komórek tkanki nerwowej podczas niedokrwienia. Wyłonienie spośród nich tych związków chemicznych, których oznaczanie w surowicy pacjentów z UNM mogłoby stanowić alternatywę lub uzupełnienie dotychczas stosowanych badań stworzyłoby nowe możliwości diagnostyczne, terapeutyczne i prognostyczne. W niniejszej pracy poglądowej zwrócono uwagę na markery biorące udział w różnych procesach biochemicznych zachodzących w ognisku niedokrwinnym: stresie oksydacyjnym, zapaleniu, apoptozie oraz ekscytotoksyczności. Omówiono markery uszkodzenia śródbłonna naczyń, białka biorące udział w koagulacji i fibrynolizie, czynniki wzrostu, oraz białka strukturalne uwolnione do krwioobiegu z uszkodzonego niedokrwieniem ogniska zawałowego.

Słowa kluczowe: biomarkery, udar niedokrwienno mózgu

Abstract

Because of limitations of currently available diagnostic methods (physical examination, brain imaging) the other valid and objective tests are needed for diagnosis and management of ischemic stroke (IS). In the past decade many studies have investigated biochemical markers of IS. The aim of that studies were mediators of pathophysiological processes or the compounds released from damaged tissue during ischemia.

Identification of group of substances which can be measured in blood as a complimentary test would create a new diagnostic, therapeutic and prognostic opportunities in management of IS. Current review is focused on biochemical markers involved in numerous pathological processes that occur within ischemic brain tissue; oxidative stress, inflammation, apoptosis, excitotoxicity. In addition compounds involved in clotting, fibrinolysis, markers of blood-brain barrier damage as well as structural components of brain tissue that can be useful in the diagnosis of IS were discussed.

Keywords: biomarkers, ischemic stroke

Wstęp

W ostatniej dekadzie obserwuje się wzrost publikowanych prac na temat biomarkerów udaru niedokrwiennego mózgu (UNM). Początek zainteresowania biomarkerami UNM związany jest z wprowadzeniem leczenia trombolitycznego. Może być ono skutecznie zastosowane w ciągu pierwszych godzin od początku zachorowania. Dlatego tak ważne jest przeprowadzenie u chorego z podejrzeniem UNM szybkiej diagnostyki, co dałoby możliwość jego kwalifikacji do trombolizy. Obecnie stosowana diagnoza UNM opiera się na badaniu klinicznym uzupełnionym przez badania neuroobrazujące. Łatwy do przeprowadzenia, szeroko dostępny test laboratoryjny, wysoce czuły i specyficzny, byłby bardzo użyteczny w szybkim potwierdzeniu wstępnego rozpoznania [1].

Charakterystyka biomarkerów udaru niedokrwiennego

Według definicji Narodowego Instytutu Zdrowia (National Institute of Health, NIH), marker biologiczny to substancja posiadająca charakterystyczne cechy biologiczne, które mogą być obiektywnie zmierzone. Może być wskaźnikiem procesów fizjologicznych, patologicznych lub odpowiedzi farmakologicznej na interwencję terapeutyczną [2]. Idealny biomarker powinien być specyficzny, czuły i łatwo oznaczalny. Uzyskanie materiału do badań powinno być nieinwazyjne, a otrzymane wyniki muszą być powtarzalne.

Inspiracją do badań nad biomarkerami UNM jest zastosowanie badań laboratoryjnych w diagnostyce zawału serca np. oznaczanie kinazy kreatynowej, mioglobiny, troponiny, lub w diagnostyce zastoinowej niewydolności krążenia, np. oznaczenie peptydu natriuretycznego typu B

(brain natiuretic factor, BDNF) [3]. Mimo szeroko zakrojonych badań nad biomarkerami UNM nadal nie udało się wyodrębnić pojedynczej substancji, która idealnie służyłaby skonstruowaniu prostego, diagnostycznego i prognostycznego testu dla UNM [1]. Zbadano kilkadziesiąt substancji, które korelują z przebiegiem UNM, ale żadna z nich nie charakteryzuje się wystarczającą swoistością i czułością [1]. Idealnym markerem dla UNM, tak diagnostycznym, jak prognostycznym, byłaby pojedyncza substancja uwalniana z uszkodzonych komórek tkanki nerwowej, o budowie molekularnej umożliwiającej przeniknięcie przez barierę krew-mózg i szybkie pojawienie się we krwi [4]. Trudności w wyłonieniu „idealnego” markera UNM wynikają z tego, że mózg nie ma homogennej, jednorodnej budowy, a złożony jest z wielu typów komórek nerwowych i glejowych. Zarówno ich rozprzestrzenienie w obrębie centralnego układu nerwowego, jak ich podatność na niedokrwienie jest zróżnicowana [5]. Również UNM jest jednostką niejednorodną. Udary różnią się charakterem, lokalizacją, nasileniem i czasem trwania niedokrwienia [5].

Istotną różnicą pomiędzy zawałem serca, a zawałem mózgu jest istnienie w przypadku tego drugiego bariery krew-mózg. Mimo jej uszkodzenia i zmiany przepuszczalności podczas procesu niedokrwienia, nadal jest przeszkodą dla pojawiania się wielu związków biochemicznych w surowicy krwi [5]. Dlatego stężenie markerów w obrębie ośrodkowego układu nerwowego nie zawsze koreluje z ich stężeniem we krwi. Poszukuje się biomarkerów UNM wśród związków uaktywnianych w kolejnych procesach niedokrwienia tj. ekscytotoksikozy, stresu oksydacyjnego, zapalenia i wśród substancji uwalnianych się z komórek tkanki nerwowej po jej uszkodzeniu [6]. Uwalnianie i pojawianie się w surowicy białek strukturalnych, takich jak Tau wymaga całkowitej degradacji komórek nerwowych. Markery zlokalizowane w cytoplazmie uwalniane są nie tylko po śmierci komórek, ale też podczas odwracalnego procesu niedokrwienia. Pojawiają się one wcześniej, ale są mniej specyficzne dla tkanki nerwowej np. neuronalnie specyficzna enolaza (neuronal specific enolaze, NSE) czy białko S100B. Markery strukturalne pojawiają się w surowicy później, ale są one bardziej specyficzne dla neuronalnego i glejowego uszkodzenia [5].

Możliwości zastosowania biomarkerów w diagnostyce i prognozowaniu przebiegu udaru niedokrwinnego

Obiektywizacja i szybkość diagnostyki udaru niedokrwinnego

Obecnie wczesna diagnostyka UNM jest prowadzona na zasadzie wykluczania. W pierwszym etapie opiera się na wywiadzie, badaniu neurologicznym i badaniach dodatkowych, z których najważniejsze to badania neuroobrazujące – tomografia komputerowa (TK) i rezonans

magnetyczny (RM) [7]. Takie postępowanie ma na celu różnicowanie UNM z udarem krwotocznym oraz wykluczenie innych sytuacji klinicznych, które objawami mogą naśladować UNM. Należą do nich: przemijające niedokrwienie mózgu (transient ischemic attack, TIA), zaburzenia metaboliczne (np. hipoglikemia), guzy mózgu, schorzenia zapalne mózgu, porażenie Todd'a po napadzie padaczkowym, migrena złożona [8]. Według niektórych autorów, sytuacje kliniczne naśladujące UNM to ok. 20-25% przypadków wstępnie ocenianych jako UNM [9]. Badania neuroobrazujące tj. TK i RM głowy są obecnie niezastąpionymi narzędziami pomocniczymi w diagnostyce udarów mózgu, mają jednak swoje ograniczenia. Za pomocą TK głowy możemy od razu wykluczyć krwotok śródmózgowy, jako przyczynę deficytu neurologicznego. Jednak w ciągu pierwszych 3 godzin od zachorowania, wciąż mniej niż 33% pacjentów demonstruje w tym badaniu zmiany potwierdzające UNM [10]. TK głowy jest mało czuła w wykrywaniu „małych” UNM, które klinicznie manifestują się jako TIA (objawy kliniczne, czyli deficyt neurologiczny, ustępuje w ciągu 24 godzin). Z technologiami opartymi na RM – dyfuzyjno-perfuzyjny RM, angiografia RM i standardowe obrazy T1- i T2-zależne, wiąże się duże oczekiwanie w zakresie diagnostyki „ostrego” UNM. Można przy ich pomocy nie tylko uwidocznąć „małe” UNM, wykluczyć krwawienie śródmózgowe czy guzy, ale też określić obszar tkanek mózgowia zagrożony nieodwracalnym niedokrwieniem – penumbra. Nie można jednak wykluczyć niektórych, innych przyczyn deficytu neurologicznego, np. zaburzeń metabolicznych, porażenia Todd'a po napadzie padaczkowym czy migreny złożonej. Ponadto wykonanie badań RM wciąż jest czasochłonne (kilkadziesiąt min.) [11] oraz obarczone licznymi przeciwwskazaniami, które dyskwalifikują z jego wykonania około 30% potencjalnych pacjentów [4]. Dostępność do RM jest często limitowana, ponieważ aparaty są zazwyczaj tylko w wyspecjalizowanych centrach medycznych. W niektórych krajach (głównie anglosaskich) również dostępność do specjalisty neurologa jest ograniczona. Pacjent najpierw badany jest przez lekarza rezydenta lub pielęgniarkę, dla których ustalenie rozpoznania na podstawie klinicznej, nie musi być tak proste, jak dla specjalisty i często opóźnia dalszą diagnostykę i postępowanie [11].

Obecnie stosowane leczenie trombolityczne UNM może być wdrożone tylko w ciągu pierwszych 4.5 godzin od zachorowania [12]. Dlatego jak najszybsza diagnostyka przeprowadzona przez paramedyków pogotowia ratunkowego, umożliwiłaby przewiezienie pacjenta do ośrodka, w którym jest stosowane takie leczenie.

Określenie ostatecznej objętości ogniska udarowego (nieodwracalnej martwicy)

Markery mogą pomóc przy ustaleniu wielkości nieodwracalnie zniszczonej tkanki nerwowej [13]. Istnieją doniesienia naukowe o tym, że podwyższony poziom

kwasu glutaminowego [13], interleukiny(IL)-6 [14], metalloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (matrix metalloproteinase, MMP)-9 [15], S100B [16], kaspazy-3 [17] badany w surowicy krwi u pacjentów z UNM przy ich przyjęciu do szpitala koreluje dodatnio z ostatecznym rozmiarem uszkodzenia niedokrwiennego.

Określenie obszaru penumbry

W wielu badaniach próbuje się za pomocą wyznaczników laboratoryjnych określić obszar penumbry [13]. Dotychczasowe badania nad biomarkerami penumbry wykonane były na modelach zwierzęcych. Za ich pomocą ustalono, że poziom glukozy mierzonej zewnątrzkomórkowo, może pomóc w rozróżnieniu całkowicie i częściowo niedokrwionej tkanki mózgowej [18]. W obszarze penumbry, również na modelach zwierzęcych obserwuje się spadek poziomu kwasu glutaminowego [19] i wzrost ekspresji niektórych białek szoku cieplnego (heat shock protein, HSP) tj. HSP-27, HSP-70, HSP-72 [20]. Jednak dotychczas nie znaleziono parametrów, których oznaczanie w surowicy byłoby użyteczne przy różnicowaniu penumbry i nieodwracalnie uszkodzonej tkanki nerwowej („core”) [13].

Prognozowanie przebiegu udaru niedokrwinnego

We wczesnej fazie UNM ważnym markerem prognostycznym pozwalającym przewidzieć **udar postępujący, związany z wczesną neurologiczną deterioracją i powiększeniem objętości ogniska niedokrwinnego** jest kwas glutaminowy. Jego podwyższone stężenie, nie tylko w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR), ale też w surowicy, mierzone w ciągu 48 godzin od przyjęcia do szpitala, jest niezależnym czynnikiem udaru postępującego [21]. Rola kwasu glutaminowego w powiększaniu objętości ogniska udarowego związana jest z jego udziałem w powstawaniu i rozprzestrzenianiu się okołozawałowej depolaryzacji. Podwyższenie w surowicy krwi pacjentów z udarem lakunarnym stężenia IL-6 [13,22] oraz czynnika martwicy nowotworu- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) i wewnątrznaczyniowej cząstki adhezyjnej (intracellular adhesion molecule, ICAM-1) [13] jest związane z powiększeniem ogniska udarowego. Również markery uszkodzenia śródbłonna naczyniowego (MMP-9, MMP-13), których podwyższone stężenie w surowicy krwi stwierdzano we wczesnej fazie UNM są prognostykami wystąpienia udaru postępującego [15].

Markerami prognostycznymi przebiegu UNM, które mogą pomóc ustalić **rokowanie długoterminowe, czyli stopień utrzymywania się deficytu neurologicznego w perspektywie kilku miesięcy** jest białko S100B [23] i białko Tau [24]. Ich obecność i podwyższone stężenie w surowicy, badane u pacjentów we wczesnej fazie UNM koreluje dodatnio ze stopniem niepełnosprawności pou-

darowej po 3 miesiącach. Niektóre kliniczne badania wskazują na związek wysokiego stężenia MMP-9 mierzonego w surowicy, a tendencją do **spontanicznego ukrwotoczenia ogniska udarowego** [13,25].

Obrzęk złośliwy towarzyszący niektórym UNM z zamknięcia tętnicy środkowej mózgu jest powikłaniem zagrażającym życiu pacjenta. Przewidzenie tej komplikacji, umożliwiłoby zaplanowanie i wczesne podjęcie agresywnego leczenia (hipotermia, hemikraniektomia), które dają szansę pacjentowi na przeżycie. Markerami, które mogą być przydatne w prognozowaniu tej sytuacji klinicznej jest białko S100B [13,16], a także markery związane z funkcją endotelium, tj. MMP-9 czy c-Fn [13,26].

Monitorowanie przebiegu leczenia udaru niedokrwinnego

Leczenie trombolityczne powoduje rekanalizację niedrożnej tętnicy u mniej niż połowy pacjentów z UNM [13]. Istotną rolę w efektywności rozpuszczania zakrzepu bądź zatoru odgrywa aktywność układu krzepnięcia i fibrynolizy. Markery związane z tymi układami były badane w odniesieniu do kwalifikowania pacjentów do trombolizy i jej monitorowania. Znacząco niskie stężenie markera fibrynolizy - inhibitora aktywatora plazminogenu (plasminogen activator inhibitor, PAI), stwierdzano u chorych „opornych” na leczenie trombolityczne (brak rekanalizacji po podaniu rekombinowanego tkankowego aktywatora plazminogenu, recombinant tissue plasminogen activator, r-tPA,) [13]. Podwyższone stężenie MMP-9, c-Fn czy endogennych inhibitorów fibrynolizy (PAI i TAFI – Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor, aktywowany przez trombinę inhibitor fibrynolizy) prognozuje transformację krwotoczną ogniska niedokrwinnego podczas leczenia trombolitycznego [13,22,27].

Panele markerów

Ze względu na w/w trudności w znalezieniu pojedynczego biomarkera UNM, spowodowane głównie złożonym patomechanizmem niedokrwienia i heterogennością tkanki mózgowej, duże nadzieje upatruje się w konstruowaniu „panelu biomarkerów” [6]. Pozwalałby on na równoczesne oznaczanie substancji, które związane są z poszczególnymi procesami złożonego patomechanizmu niedokrwienia (zapalenie, proces zakrzepowy, apoptoza), aktywacją gleju i nieodwracalnym uszkodzeniem komórek tkanki nerwowej.

Dotychczas przeprowadzono już kilka badań z użyciem panelu różnych biomarkerów. Prawdopodobnie najszerzej przebadanym panelem do celów diagnostycznych jest test oparty na czterech biomarkerach; MMP-9, BNP, S100B, D-dimery. Jego wprowadzenie na rynek amerykański, jako testu komercyjnego – Triage Stroke Panel (produkcja Biosite Diagnostics, San Diego, CA) nie

zostało zaakceptowane przez FDA (Food and Drugs Administration). Jednak nadal trwają badania nad zastosowaniem praktycznym tego testu [28].

Przegląd potencjalnych biomarkerów udaru niedokrwiennego

Poniżej przedstawiono przegląd niektórych z około pięćdziesięciu [1] substancji, które badano jako hipotetyczne biomarkery diagnostyczne i/lub prognostyczne UNM.

Biomarkery biorące udział w procesie eksocytotoksykozy

Kwas glutaminowy: aminokwas endogeny; najobficiej występujący w mózgu ssaków neurotransmitter pobudzający. **Przydatność:** wzrost stężenia w surowicy prognozuje wczesną deteriorację neurologiczną, powiększenie ogniska uszkodzenia naczyniowego i koreluje dodatnio z ostateczną objętością ogniska udarowego [13,29].

Kwas gamma-aminomasłowy, GABA: aminokwas działający jako neurotransmitter hamujący. **Przydatność:** spadek stężenia w surowicy koreluje z wczesną neurologiczną deterioracją. Obliczanie tzw. ekscytotoksycznego wskaźnika, czyli stosunku stężenia w surowicy kwasu glutaminowego do GABA, może być pomocne w prognozowaniu pogorszenia neurologicznego u pacjentów z udarem lakunarnym (wskaźnik >106) [13,29].

Substancje biorące udział w stresie oksydacyjnym

Tlenek azotu, NO: wolny rodnik azotowy powstający w procesie stresu oksydacyjnego. **Przydatność:** wzrost poziomu jego metabolitów w płynie mózgowo-rdzeniowym (cerebrospinal fluid CSF) jest wyższy u pacjentów z udarem postępującym [13,30].

Biomarkery biorące udział w procesie zapalnym

IL-6: prozapalna cytokina uwalniana przez limfocyty T i makrofagi, stymulująca układ odpornościowy w odpowiedzi na infekcję, uraz, niedokrwienie. **Przydatność:** wzrost jej stężenia w CSF i surowicy prognozuje wczesne neurologiczne pogorszenie i koreluje z objętością ostatecznego ogniska niedokrwiennego [13,14].

TNF- α : cytokina biorąca udział m.in. w procesach zapalnych i apoptozie. **przydatność:** wzrost stężenia w surowicy prognozuje wczesne neurologiczne pogorszenie w udarach lakunarnych [13,19].

ICAM-1: immunoglobulina zlokalizowana na powierzchni śródbłónka, biorąca udział w procesie adhezji. **Przydatność:** wzrost jej stężenia w surowicy krwi prognozuje wczesną neurologiczną deteriorację i większy deficyt neurologiczny po 3 miesiącach w udarach lakunarnych [13,31].

Naczyniowa molekula adhezyjna, VCAM-1: immunoglobulina zlokalizowana na powierzchni śródbłónka, biorąca udział w procesie adhezji leukocytów. **Przydatność:** diagnostyka UNM w panelu razem z innymi markerami [10,11,13].

Monocytna chemotaktyczna proteina-1, Monocyte chemotactic protein-1, MCP-1: cytokina biorąca udział w procesie zapalnym, rekrutująca monocyty do ogniska uszkodzenia. **Przydatność:** diagnostyka UNM w panelu razem z innymi markerami [10,13].

Biomarkery uszkodzenia śródbłónka naczyń

MMP-9: enzym proteolityczny, biorący m.in. udział w degradacji białek macierzy zewnątrzkomórkowej. **Przydatność:** diagnostyka UNM w panelu razem z innymi markerami [10,13]; prognozowanie wtórnego ukrwotoczenia ogniska niedokrwiennego w wyniku spontanicznej krwotocznej transformacji [24,31] lub po leczeniu trombolitycznym [26].

MMP-13: enzym proteolityczny, biorący m.in. udział w degradacji białek macierzy zewnątrzkomórkowej. **Przydatność:** prognostyk powiększenia objętości ogniska udarowego [14].

Komórkowa fibronektyna (cellular fibronectin) c-Fn: glikoproteina wytwarzana przez hepatocyty, razem z integrzynami wiąże się z komponentami macierzy zewnątrzkomórkowej, takimi jak: kolagen, fibryna i siarczany heparanu. **Przydatność:** wzrost stężenia w surowicy krwi prognozuje obrzęk złośliwy w przebiegu UNM w rejonie tętnicy środkowej mózgu [25] i transformację krwotoczną ogniska niedokrwiennego po leczeniu trombolitycznym [13].

Biomarkery biorące udział w procesach koagulacji i fibrynolizy

Czynnik von Willebranda, von Willebrand factor, vWF: glikoproteina związana z hemostazą; ułatwia adhezję płytek do endotelium ściany naczyniowej. **Przydatność:** diagnostyka UNM w panelu z innymi markerami [10,11,13].

PAI-1: endogeny inhibitor tkankowego aktywatora plazminogenu. **Przydatność:** spadek stężenia w surowicy prognozuje transformację krwotoczną ogniska udarowego po leczeniu trombolitycznym [13].

TAFI: karboksypeptydaza hamująca fibrynolizę. **Przydatność:** spadek stężenia w surowicy prognozuje transformację krwotoczną ogniska udarowego po leczeniu trombolitycznym [13].

D-dimery: produkt degradacji fibryny. **Przydatność:** diagnostyka UNM w panelu razem z innymi markerami [10]; prognostyczna: wzrost stężenia w surowicy razem z innymi markerami homeostazy we wczesnej fazie UNM wiąże się ze zwiększonym ryzykiem śmierci,

niezależnie od ciężkości i typu UNM [33,34,35]; w udarze krwotocznym wzrost stężenia w surowicy krwi związany jest z wczesną neurologiczną deterioracją i gorszym rokowaniem [36,37].

Czynniki wzrostu

Neurotroficzny czynnik mózgowy (brain-derived neurotrophic factor) BDNF: oddziałuje na neurony wspomagając ich przeżycie, stymuluje wzrost i różnicowanie nowych neuronów. **Przydatność:** diagnostyka UNM w panelu razem z innymi markerami [10,13]. Istnieją również doniesienia, że jego stężenie w surowicy nie wzrasta istotnie podczas UNM [38].

Biomarkery uwolnione z uszkodzonej komórki nerwowej

Białko S100B: zidentyfikowane, jako pierwsze białko specyficzne dla mózgu; występuje w komórkach glejowych; bierze udział w licznych procesach wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych tj.: komunikacja międzykomórkowa, transkrypcja i regulacja cyklu komórkowego, fosforylacja białek [39,40,41]. **Przydatność:** diagnostyka UNM [13,42,43]; prognostyczna: wzrost stężenia w surowicy krwi związana jest z większym deficytem neurologicznym [23,44], obrzękiem złośliwym w przebiegu UNM z rejonu tętnicy środkowej mózgu [16] i spontanicznym ukrwotoczeniem ogniska udarowego [45].

Białko Tau: białko strukturalne związane z mikrotubulami neuronów. **Przydatność:** prognostyczna: stężenie w surowicy koreluje z objętością ogniska udarowego i stopniem deficytu neurologicznego [24].

Neuronalnie specyficzna enolaza (neuron specific enolase) NSE: enzym glikolityczny obecny w cytoplazmie neuronów, komórek pochodzenia neuroendokrynnego i w mniejszym stężeniu w erytrocytach i płytkach krwi. Duża molekula o wielkości 78kD, z trudem przechodząca przez barierę krew-mózg. **Przydatność:** diagnostyka UNM w panelu razem z innymi markerami [46]; marker efektywności leków neuroprotektoryjnych w badaniach na modelach zwierzęcych ogniskowego niedokrwienia mózgu.

Kwas N-acetyloasparaginowy (N-acetyloaspartate) NAA: drugi po kwasie glutaminowym najobficiej występujący wolny aminokwas w mózgach ssaków, prawie wyłącznie obecny w neuronach. Jest małą molekulą, która łatwo przechodzi przez barierę krew mózg i jest wczesnie uwalniana w procesie niedokrwienia; pojawia się szybko we krwi i znika w ciągu kilku dni. **Przydatność:** wczesna diagnostyka UNM; rekomenduje się równoczesne oznaczanie NAA i NSE; współczynnik NAA/NSE może być wskaźnikiem nieodwracalności uszkodzenia tkanki nerwowej [4].

Ludzka surowicza karnozynaza (human serum carnosinase): enzym hydrolizujący karnozynę, serynę, homokarnozynę, występujący w neuronach. **Przydat-**

ność: wczesna diagnostyka UNM. Spadek jego stężenia w surowicy zachodzi wraz ze wzrostem stężenia NAA [4].

Kwaśne włóknikowe białko glejowe (glial fibrillary acidic protein) GFAP: występuje wyłącznie w astrocytach, jako składnik szkieletu komórkowego. **Przydatność:** prognostyczna- wzrost stężenia w surowicy krwi koreluje z wielkością ogniska niedokrwienego i wielkością następczego deficytu neurologicznego, a także brakiem poprawy po leczeniu trombolitycznym [47,48]; diagnostyczna – może być bardziej czułym markerem „małych” udarów, bądź udarów lakunarnych, w porównaniu z białkiem S100B [47].

Białko podstawne mieliny (myelin basic protein) MBP: proteolipid błony komórkowej. **Przydatność:** diagnostyka UNM w panelu razem z innymi markerami [46].

Biomarkery apoptozy

Kaspaza-3: enzym biorący udział w procesie apoptozy. **Przydatność:** prognostycznie – jej stężenie wzrasta w surowicy krwi proporcjonalnie do czasu niedokrwienia. Jest markerem objętości nieodwracalnie uszkodzonej tkanki nerwowej, co może być użyteczne przy kwalifikacji pacjenta do trombolizy [11].

Podsumowanie

Pomimo wielu badań wciąż nie udało się wyłonić wystarczająco specyficznego i czułego biomarkera lub panelu biomarkerów UNM. Trudności wynikają z heterogenności tkanki mózgowej, istnienia barier krew-mózg oraz ze złożoności procesów zachodzących podczas niedokrwienia. Kontynuacja dotychczasowych badań niesie jednak nadzieję na opracowanie w przyszłości testów laboratoryjnych, które byłyby pomocne w szybkiej diagnostyce, monitorowaniu leczenia i prognozowaniu wyników UNM.

References

- Whiteley W., Tseng MC., Sandercock P. Blood Biomarkers in the Diagnosis of Ischemic Stroke. *Stroke*, 2008; 39: 2902-2909.
- Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2001; 69: 89-95.
- Kumar K. Overview: use of biomarkers for early diagnosis of ischemic stroke. *Curr. Opin. Investig. Drugs*, 2005; 6: 2-4.
- Parhan S. New biomarkers could deliver a strike at stroke. *Cap. Today*. 2004, Nov, www.cap.org
- Jauch E.C. Biomarker advances in acute ischemic stroke. *Cardiovascular and Neurovascular Emergencies*. 2005, 57-63.
- Laskowitz D.T., Grocott H., Hsia A., Copeland K.R. Serum markers of cerebral ischemia. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.*, 1998; 7: 234-41.
- Goldstein L.B., Simel D.L. Is this patient having a stroke? *Jama*, 2005; 293: 239-402.
- Nor A.M., Ford G.A. Misdiagnosis of stroke. *Expert. Rev. Neurother.*, 2007; 7: 989-1001.

9. Hill M.D. Diagnostic Biomarkers for Stroke: A Stroke Neurologist's Perspective. *Clin. Chem.*, 2005; 51: 2001-2002.
10. Reynolds M.A., Kirchick H.J., Dahlen J.R., Anderberg J.M., McPherson P.H., Nakamura K.K., Laskowitz D.T., Valkirs G.E., Buechler K.F. Early biomarkers of stroke. *Clin. Chem.*, 2003; 49: 1733-1739.
11. 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.
12. European Stroke Organisation. Postępowanie w udarze niedokrwiennym mózgu i przemijającym napadzie niedokrwienia mózgu. *Medycyna Praktyczna*, Wydanie specjalne, 2009; 1-64.
13. Castellanos M., Serena J. Applicability of biomarkers in ischemic stroke. *Cerebrovasc. Dis.*, 2007; Suppl 1: 7-15.
14. Vila N., Castillo J., Dávalos A., Chamorro A. Proinflammatory cytokines and early neurological worsening in ischemic stroke. *Stroke*, 2000; 31: 2325-2329.
15. Rosell A., Alvarez-Sabín J., Arenillas J.F., Rovira A., Delgado P., Fernández-Cadenas I., Penalba A., Molina C.A., Montaner J. A matrix metalloproteinase protein array reveals a strong relation between MMP-9 and MMP-13 with diffusion-weighted image lesion increase in human stroke. *Stroke*, 2005; 36: 1415-1420.
16. Foerch C., Otto B., Singer O.C., Neumann-Haefelin T., Yan B., Berkefeld J., Steinmetz H., Sitzer M. Serum S100B predicts a malignant course of infarction in patients with acute middle cerebral artery occlusion. *Stroke*, 2004; 35: 2160-2164.
17. Rosell A., Cuadrado E., Alvarez-Sabín J., Hernández-Guillamon M., Delgado P., Penalba A., Mendiros M., Rovira A., Fernández-Cadenas I., Ribó M., Molina C.A., Montaner J. Caspase-3 is related to infarct growth after human ischemic stroke. *Neurosci. Lett.*, 2008; 430: 1-6.
18. Frykholm P., Hillered L., Långström B., Persson L., Valtysson J., Enblad P. Relationship between cerebral blood flow and oxygen metabolism, and extracellular glucose and lactate concentrations during middle cerebral artery occlusion and reperfusion: a microdialysis and positron emission tomography study in nonhuman primates. *J. Neurosurg.*, 2005; 102: 1076-1084.
19. Bruhn T., Christensen T., Diemer N.H. Uptake of glutamate is impaired in the cortical penumbra of the rat following middle cerebral artery occlusion: an in vivo microdialysis extraction study. *J. Neurosci. Res.*, 2003; 71: 551-558.
20. Weinstein P.R., Hong S., Sharp F.R. Molecular identification of ischemic penumbra. *Stroke*, 2004; 35: suppl. 2666-2670.
21. Castillo J., Dávalos A., Noya M. progression of ischaemic stroke and excitotoxic aminoacids. *Lancet*, 1997; 349: 79-83.
22. Castillo J., Rodriguez I. Biochemical changes and inflammatory response as markers for brain ischaemia : molecular markers of diagnostic utility and prognosis in human clinical practise. *Cerebrovasc. Dis.*, 2004; 17 Suppl 1: 7-18.
23. Wunderlich M.T., Wallesch C.W., Goertler M. Release of neurobiochemical markers of brain damage is related to the neurovascular status on admission and the site of arterial occlusion in acute ischemic stroke. *J. Neurol. Sci.*, 2004; 227: 49-53.
24. Bitsch A., Horn C., Kemmling Y., Seipelt M., Hellenbrand U., Stiefel M., Ciesielczyk B., Cepek L., Bahn E., Ratzka P., Prange H., Otto M. Serum tau protein level as a marker of axonal damage in acute ischemic stroke. *Eur. Neurol.*, 2002; 47: 45-51.
25. Montaner J., Alvarez-Sabín J., Molina C.A. Matrix metalloproteinase expression is related to hemorrhagic transformation after cardioembolic stroke. *Stroke*, 2001; 32: 2762-2767.
26. Serena J., Blanco M., Castellanos M., Silva Y., Vivancos J., Moro M.A., Leira R., Lizasoain I., Castillo J., Dávalos A. The prediction of malignant cerebral infarction by molecular brain barrier disruption markers. *Stroke*, 2005; 36: 1921-1926.
27. Montaner J., Molina C.A., Monasterio J. Matrix metalloproteinase-9 pretreatment level predicts intracranial hemorrhagic complications after thrombolysis in human stroke. *Circulation*, 2003; 107: 598-603.
28. Laskowitz D.T., Kasner S.E., Saver J., Remmel K.S., Jauch E.C. BRAIN Study Group. Clinical usefulness of a biomarker-based diagnostic test for acute stroke: the Biomarker Rapid Assessment in Ischemic Injury (BRAIN) study. *Stroke*, 2009; 40: 77-85.
29. 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.
30. Castillo J., Rama R., Dávalos A. Nitric oxide-related brain damage in acute ischemic stroke. *Stroke*, 2000; 31: 852-857.
31. Castellanos M., Castillo J., García M.M., Leira R., Serena J., Chamorro A., Dávalos A. Inflammation-mediated damage in progressing lacunar infarctions: a potential therapeutic target. *Stroke*, 2002; 33: 982-987.
32. Laterza O.F., Modur V.R., Crimmins D.L., Olander J.V., Landt Y., Lee J.M., Ladenson J.H. Identification of novel brain biomarkers. *Clin. Chem.*, 2006; 52: 1713-1721.
33. Barber M., Langhorne P., Rumley A., Lowe G.D., Stott D.J. D-dimer predicts early clinical progression in ischemic stroke: confirmation using routine clinical assays. *Stroke*, 2006; 37: 1113-1115.
34. Feinberg W.M., Erickson L.P., Bruck D., Kittelson J. Hemostatic markers in acute ischemic stroke. Association with stroke type, severity, and outcome. *Stroke*, 1996; 27: 1296-1300.
35. Jauch E.C., Laskowitz D.T. Can D-dimer levels identify patients at risk for early neurological deterioration in acute ischemic stroke. *Nat. Clin. Pract. Neurol.*, 2006; 2: 590-591.
36. Delgado P., Alvarez-Sabín J., Abilleira S., Santamarina E., Purroy F., Arenillas J.F., Molina C.A., Fernández-Cadenas I., Rosell A., Montaner J. Plasma d-dimer predicts poor outcome after acute intracerebral hemorrhage. *Neurology*, 2006; 67: 94-98.
37. Sienkiewicz-Jarosz H., Gałecka-Wolska M., Bidziński A., Turczyńska D., Sobolewska A., Lipska B., Płażnik A., Ryglewicz D. Predictive value of selected biochemical markers of brain damage for functional outcome in ischaemic stroke patients. *Neurol. Neurochir. Pol.* 2009; 43: 126-133.
38. Di Lazzaro V., Profice P., Pilato F., Dileone M., Florio L., Tonali P.A., Angelucci F. BDNF plasma levels in acute stroke. *Neurosci. Lett.*, 2007; 422: 128-130.
39. Donato R. Functional roles of S100 proteins, calcium - binding proteins of the EF-hand type. *Biochim. Biophys. Acta*, 1999; 1450: 191-231.
40. Santamaria-Kisiel L., Rintala-Dempsey A.C., Shaw G.S. Calcium-dependent and -independent interactions of the S100 protein family. *Biochem. J.*, 2006; 396: 201-214.
41. Zimmer D.B., Chaplin J., Baldwin J., Rast M. S100-mediated signal transduction in the nervous system and neurological diseases. *Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-grand)*, 2005; 51: 201-214.
42. Abrahams H.D., Butterworth R.J., Bath P.M., Wassif W.S., Garthwaite J., Sherwood R.A. Serum S-100 protein, relationship to clinical outcome in acute stroke. *Ann. Clin. Biochem.*, 1997; 34: 546-550.
43. 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.
44. Kaca-Oryńska M., Tomasiuk R., Friedman A. Neuronal enolaza I białko S100B jako czynniki prognostyczne w udarze niedokrwiennym mózgu. *Neurol. Neurochir. Pol.*, 2010; 44: 459-463.
45. Foerch C., Wunderlich M.T., Dvorak F., Humpich M., Kahles T., Goertler M., Alvarez-Sabín J., Wallesch C.W., Molina C.A., Steinmetz H., Sitzer M., Montaner J. Elevated serum S100B levels indicate a higher risk of hemorrhagic transformation after thrombolytic therapy in acute stroke. *Stroke*, 2007; 38: 2491-2495.

46. Jauch E.C., Lindsell C., Broderick J., Fagan S.C., Tilley B.C., Levine S.R. NINDS rt-PA Stroke Study Group. Association of serial biochemical markers with acute ischemic stroke: the National Institute of Neurological Disorders and Stroke recombinant tissue plasminogen activator Stroke Study. *Stroke*, 2006; 37: 2508-2513.
47. Herrmann M., Vos P., Wunderlich M.T., de Bruijn C.H., Lamers K.J. Release of glial tissue-specific proteins after acute stroke: A comparative analysis of serum concentrations of protein S-100B and glial fibrillary acidic protein. *Stroke*, 2000; 31 : 2670-2677.
48. Wunderlich M.T., Wallesch C.W., Goertler M. Release of glial fibrillary acidic protein is related to the neurovascular status in acute ischemic stroke. *Eur. J. Neurol*, 2006; 13: 1118-1123.

Correspondence address

dr med. Joanna Bielewicz,
Klinika Neurologii,
Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny nr 4 w Lublinie,
ul.Jaczewskiego 8,
20-954 Lublin
tel. 81-7244-720, Fax. 81-7244-540
e-mail: j.bielewicz@op.pl