3/06 zlom 21.7.2006 10:46 Stránka 158
proLékaře.cz | 16.11.2026

# Biochemické a imunohistochemické markery poškození mozku

**Vajtr D.[1,3], Průša R.[1], Houšťava L.[2], Šámal F.[2], Kukačka J.[1], Pachl J.[4]**

[1] Ústav klinické biochemie a patobiochemie UK 2. LF a FN Motol
[2] Neurochirurgická klinika UK 3.LF a FNKV
[3] Oddělení soudního lékařství, Nemocnice Sokolov
[4] Klinika anesteziologie a resuscitace UK 3. LF a FNKV

## Souhrn

**Při primárním nebo sekundárním poranění mozku se uvolňují do cirkulace proteiny z poškozených tkání, které mohou sloužit jako sérové markery poškození gangliových a gliových buněk (neuron specifická enoláza a protein S-100B). Další markery poranění jsou detekované jako specifické ukazatele difuzního axonálního poškození imunohistochemicky (amyloid prekurzor protein, neuron specifická enoláza, gliální kyselý fibrilární protein a povrchový antigen receptor CD 68). Některé markery korelují s poškozením hemato-encefalické bariéry, např. matrixové metaloproteinázy (MMP-2, 9) a enzym syntetizující oxid dusnatý (iNOS).**
**Zaměřili jsme se na studium biomechaniky vzniku poranění, primární a sekundární typ poškození mozku a nejčastěji používané markery kraniocerebrálního poranění v klinické a autoptické diagnostice.**

**Klíčová slova : kontuze – difuzní axonální poškození – neuron specifická enoláza – protein S-100B.**

## Summary

## Biochemical and Immunohistochemical Markers of Brain Injury

**Proteins released to circulation from affected tissues during primary or secondary trauma brain injury might be used as serum markers of glial or ganglial cells damage (neuron specific enolasis and S100 B protein). Other markers of trauma can be proved as relatively specific of diffuse axonal injury by immunohistochemical detectoin (amyloid prekurzor protein, neuron specific enolasis, glial fibrilar acidic protein and superficial antigen receptor CD 68). Some markers are associated with blood brain barrier damage (matrix metaloproteinases (MMP-2, MMP-9) and synthase of nitric oxide (iNOS)).**
**We aimed in our short communication on biomechanics of developed of trauma, primary or secondary kinds of trauma brain injury and use of trauma brain injury markers for clinical diagnostics and management of patients.**

**Key words: contusion – diffuse axonal injury – neuron specific enolasis – S-100B protein.**

*Soud Lék., 51, 2006, No. 3, p. 36–41*

## Biomechanika vzniku difuzních a ložiskových poranění mozku

Kraniocerebrální poranění jsou spojená zejména s tupým poraněním hlavy. Většina poranění hlavy je způsobena kontaktním mechanismem při nárazu pohybujícího se předmětu do hlavy nebo pohybující se hlavy na pevný předmět (kontaktní mechanismus) nebo mechanismem akcelerace a decelerace při prudkém pohybu hlavy (inerciální poranění). Někteří autoři nalezli signifikantní fokální léze (např. kontuze, akutní subdurální hematomy) při CT vyšetření u 56 % těžce zraněných (Glasgow coma score < 8). U 44 % zraněných bez fokální léze zranění klasifikovali jako difuzní zranění mozku. U 42 pacientů v perzistujícím vegetativním stavu NMR proklázalo u 48 % kortikální kontuzi. Čelní a spánkové laloky byly velmi často postiženy. U všech bylo prokázáno difuzní axonální poranění (DAI) v corpus callosum. Autoři Imajo a Kazee popisují kazuistiku pádu v opilosti u 62letého muže na chodníku, u kterého byly popsány rozdílné nálezy na CT (computer tomography) snímcích při příjmu v porovnání s nálezem po provedené pitvě. V průběhu hospitalizace se dobarvily kontuze v obou čelních

3/06 zlom 21.7.2006 10:46 Stránka 159
proLékaře.cz | 16.11.2026

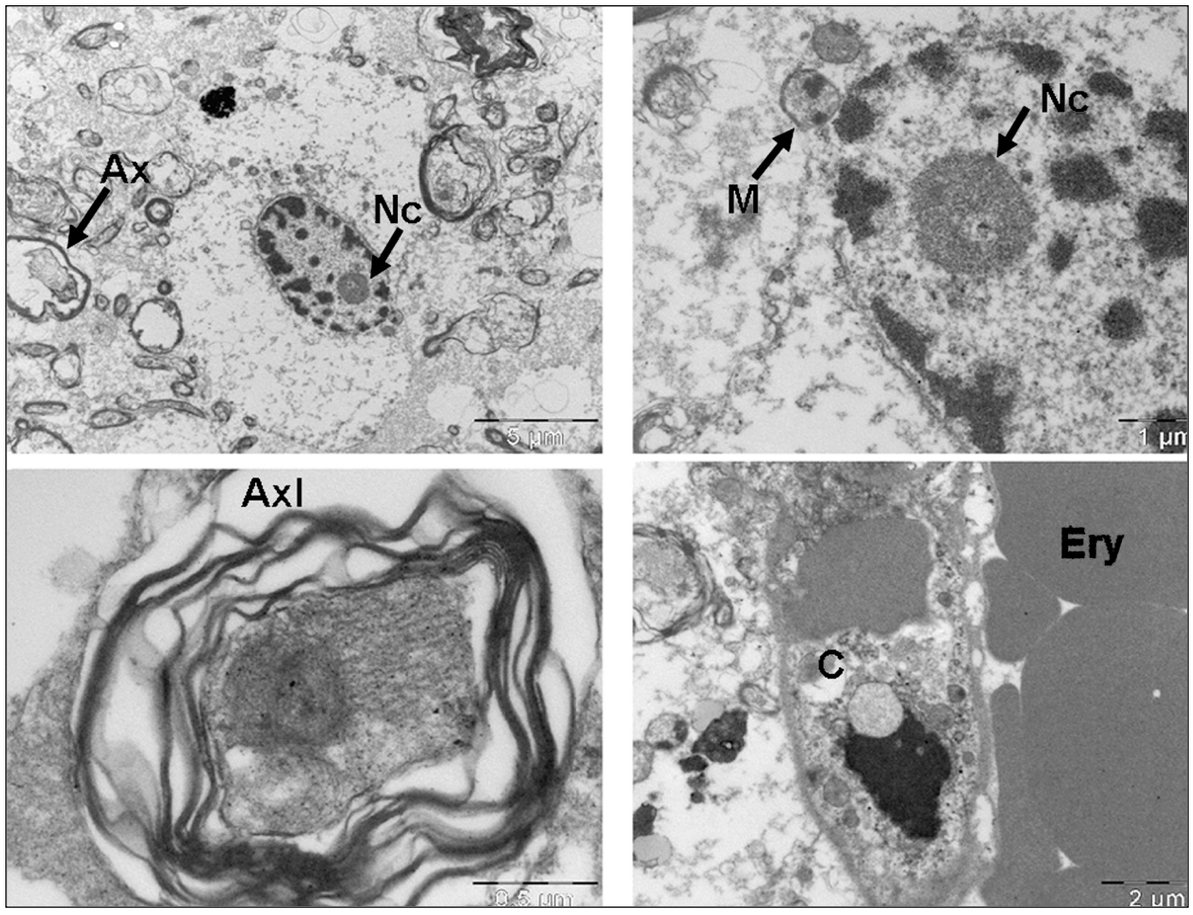
lalocích. Sekundární poškození axonů vzniká jako rozvíjející se komplikace různých typů primárního poranění, kdy dochází k bezprostřednímu selhání intrakraniální cévní autoregulace.

**Primární a sekundární poškození mozku**

Primární poranění hlavy vznikají jako výsledek působení mechanických sil vedoucích k deformaci mozkové tkáně v okamžiku úrazu. Přitom může dojít k přímému fokálnímu, multifokálnímu nebo difuznímu poranění cév, axonů, neuronů a glie (obr. 1). Sekundární poškození vznikají jako rozvíjející se komplikace různých typů primárního poranění, kdy dochází k bezprostřednímu selhání intrakraniální cévní autoregulace (2). Vzniká ischemicko-hypoxické poškození (maximální extrakční frakce a metabolická spotřeba kyslíku a glukózy při prodloužení doby průtoku ložiskem v rámci lokální hemodynamické reakce vyústí až k ireverzibilní neuronální lézi). Dále vzniká zduření mozku, projeví se následky zvýšeného nitrolebního tlaku, sekundární hydrocefalus, infekce a sekundární poškození axonů. Edém u primární traumatické léze je extracelulární vazogenní. Při současném rozvoji ložiskové ischemie je komplikován edémem intracelulárním-cytotoxickým. Konečným výsledkem kraniocerebrálního poranění je destrukce buněčné membrány se ztrátou funkce a integrity neuronu až do nejzávažnější vývojové fáze poranění tzv. traumatického apalického syndromu.

**Poškození hematoencefalické bariéry**

Porušení hematoencefalické bariéry (BBB) je způsobeno mozkovou ischemií, vedoucí k drobným tečkovitým krvácením, která jsou pozorovatelné po 48–72 hodinách, s patrnou reparací po 6 dnech. Otevření interendotelových junkcí tight junctions nebylo spojeno s kompletní změnou v lokalizaci proteinů – klaudinu, okludinu, betakateninu. Po experimentálním poranění je BBB poškozena po 1 hodině a její funkce je upravena o 6 hodin později. Vyšší nabalování bílých krvinek po dobu 6 hodin na stěnu kapilár není spojeno s narušením BBB (7). Ve stěně cév prokazují někteří autoři časový průběh cévní reakce u 104



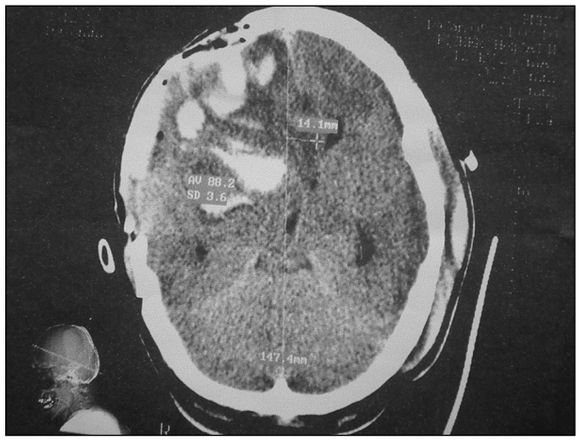

**Obr. 1. Elektronmikroskopické vyšetření kortikální biopsie (u pacienta z našeho souboru) prokazuje poškození gliových buněk, axonů a stav hematoencefalické bariéry v okrajovém ložisku kontuze. Pooperační hodnoty NSE 26,7 ng/ml a S-100B proteinu 0,344 µg/l (referenční interval NSE do 15,2 ng/ml, S100B do 0,105 µg/l). Zvětšení 20 tis. – 65 tis. Ax-axon, Axl – rozvláknění axolemy, Nc- zachované jadérko, M-mitochondrie s granulacemi, C – lumen kapiláry, Ery – erytrocyty v ložisku perivaskulárního krvácení**

3/06 zlom 21.7.2006 10:46 Stránka 160
proLékaře.cz | 16.11.2026

osob postižených traumatickým poškozením mozku (8). Zvýšení exprese faktorů (faktor VIII, tenascinu a trombomodulinu) v cévách může být prokazatelné v mozkové kontuzi pro faktor VIII po 3 hodinách, tenascin po 1,6 dnu nebo trombomodulinu po 6,8 dnech. U skupiny 11 pacientů s traumatickou kontuzí, podrobených operačnímu zákroku, byly vyšetřeny bioptické vzorky. Ultrastrukturální vyšetření endotelií prokázala známky intracelulárního edému, těsná spojení byla nepoškozená. Pinocytická aktivita byla zvýšená, bylo prokázáno zduření (swelling) astrocytárních výběžků a objemné lysozomy v makrofázích.

**Neuron Specifická Enoláza, protein S100B, GFAP jako biochemické markery mozkového poškození**

Neuron Specifická Enoláza (NSE) je glycolytický enzym lokalizovaný primárně v cytoplazmě neuronů (2-fosfo-D-glycerid hydroláza, molekulární hmotnost 80 kDa, referenční rozmezí fyziologických hodnot v séru do 15,2 ng/ml). NSE je popisována jako senzitivní marker pro odhad prognózy pacientů s poraněním hlavy (obr. 2). Sérové hladiny NSE byly signifikantně vyšší u pacientů, kteří zemřeli (průměrně 51 ng/ml) oproti přeživším (17,6 ng/ml). Skupina pacientů u kterých se sledovalo uzdravení (outcome) s dobrým klinickým průběhem měla hodnoty NSE 26,9 ng/ml v porovnáním s pacienty se špatným průběhem 38 ng/ml. Časový profil hladin NSE v séru v experimentálním poranění mozku ukazují nejvyšší hladiny 6 hodin po úraze a zdá se, že odráží neuronální poškození při pohmoždění mozkové kory v časově závislém způsobu.




**Obr. 2. Nález expanzní kontuze v CT obraze s přetlačením středočarových struktur-stav po dekompresní kraniotomii. Vyšetření sérové NSE po operaci (118 ng/ml) prokazuje několikanásobné zvýšení oproti normálním hodnotám. (Horní referenční mez NSE v séru do 15,2 ng/ml)**

S-100 beta protein (S-100B) je vápník vázající protein (molekularní hmotnost 21 kDa, referenční rozmezí fyziologických hodnot v séru do 0,105 μg/l) lokalizovaný v astroglii. Sérové hladiny S-100B jsou porovnány s klinickými měřeními závažnosti poranění, neuroradiologickým vyšetřením a výsledkem léčby u mírného poranění hlavy. Koncentrace S-100B vzrůstá např. před vznikem mozkové herniace po kraniocerebrálním poranění.

Herrmann a kol. analyzovali NSE a S-100B u 66 pacientů ve venózní krvi odebírané po třech dnech po poranění. Pacienti s těžkým a středně těžkým poraněním (GCS méně než 12) vykazují vyšší množství sérového NSE a S-100B proteinu v porovnání s pacienty s lehčím traumatem (GCS méně než 12). Uvolňované množství v séru diferencuje mezi skupinami s primární korovou kontuzí, difuzním axonálním poraněním (DAI) a skupinou s příznaky mozkového edému bez ložiskové leze. Se skorem závažnosti poranění (ISS) a CT-nálezy prokazatelně korelují serové hladiny S-100B, NSE a GFAP (gliální kyselý fibrilární protein je součástí cytoskeletu astroglie, tvoří intermediální filamenta astrocytů).

**Hormony štítné žlázy a matrixové metaloproteinázy**

Hormony štítné žlázy (fT3, T3, fT4), TBG a TSH: S hladinami NSE a S-100B byly porovnávány další biochemické markery rutinně používané v klinické biochemii. V korelaci s hladinami NSE a S-100B je syndrom nízkého fT3 u komatózních pacientů. U pacientů s kontuzemi, krvácením nad a pod tvrdou plenu mozku byly zjištěny hladiny fT3 a fT4 kontinuálně klesající až do 4.-6. dne po nástupu komatu. Významně snížené hladiny TSH byly nalezeny u pacientů s mozkovým krvácením. Jeden den před nástupem komatu byly v analyzovaných vzorcích prokázány snížené hladiny TSH, TBG, fT3.

Matrixové metaloproteinázy jsou zinek dependentní enzymy degradující složky extracelulární matrix. V současné době je jich známo více než 24, některé z nich již našly uplatnění v klinicko-biochemické diagnostice, zejména MMP-2 (molekulová hmotnost 72 kDa) a MMP-9 (molekulová hmotnost 92 kDa), tzv. želatinázy. Během hemorhagického mozkového poranění se uvádí endogenní produkce 92-kDa typu IV. kolagenázy (želatináza B). Gen pro želatinázu B obsahuje forbol ester region (TRE), který váže AP-1 protein (zahrnující c-Fos/c-Jun dimer). U diagnózy neúrazového krvácení do mozku se maximum produkce MMP-9 udává mezi 16 a 24 hodinou po vzniku krvácení. U ischemického lokálního inzultu se zvyšuje aktivita MMP-9 produkovaná buňkami BBB mikroprostředí. MMP-9 aktivita byla pozorována po 12 hodinách od hypoxického inzul-

3/06 zlom 21.7.2006 10:46 Stránka 161
proLékaře.cz | 16.11.2026

tu, maximum bylo po 24 hodinách, perzistující hladiny po dobu 5 dnů a k bazálním hodnotám se vrací po 15 dnech. V zóně infarktu je aktivita MMP-2 přítomná v makrofázích, sérové hladiny MMP-2 jsou nižší než u MMP-9. Hemorhagická transformace ložiska ischemické ataky podle některých prací nemá souvislost s naputováním neutrofilních polymorfonukleárů (Neu) do poškozeného ložiska. Deplece Neu v experimentu nemá žádný vliv na indikátory ischemického poškození zahrnující edém, hemorhagie a rozměr infarktu. Asahu a spol. (22) publikovali, že místo exprese MMP-9 v cévních prostorách je shodné s výskytem značených Neu. U 50 pacientů s embolickým infarktem mozku byly sledovány hladiny MMP-2,9,3 a jejich tkáňových inhibitorů TIMP-2. Hladiny MMP-9 v séru se zvyšují několikanásobně po 1 dni a zůstávají elevované 12 dnů. MMP-9 hladiny mají tendenci být vyšší u pacientů léčených trombolýzou, středně vysoké u léčených heparinem a nejnižší u pacientů léčených řízenou hypotermií.

BBB protektivní kaskáda zahrnuje NO-zprostředkované uvolňování IL-6 z glie. IL-6 startuje produkci MMP-inhibitorů jako např. $\alpha_2$- makroglobulinu perivaskulárními astrocyty. Ve vzorcích séra byl prokázán významný nárůst hladin $\alpha_2$-makroglobulinu po 4 hodinách po porušení BBB.

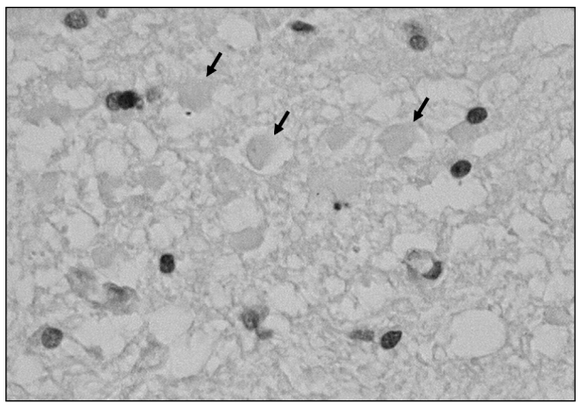
**Immunohistochemické markery kraniocerebrálního poranění (markery difuzního axonálního poranění, GluR, NOS, VEGF)**

V souvislosti s poraněním axonů patří mezi nejčastěji vyšetřované markery difuzního axonálního poranění bAPP (beta amyloid prekurzor protein), CD68, NSE, GFAP a NF (neurofilamenta) v autoptickém materiálu. Pozitivita bAPP a NSE imunohistochemickými metodami je popsaná u pacientů přežívajících déle než 2 až 3 hodiny po úrazu (obr. 3–4). Poškození axonů nevzniká pouze úrazovým mechanismem, ale bylo prokázáno i sekundárně vlivem ischemie.

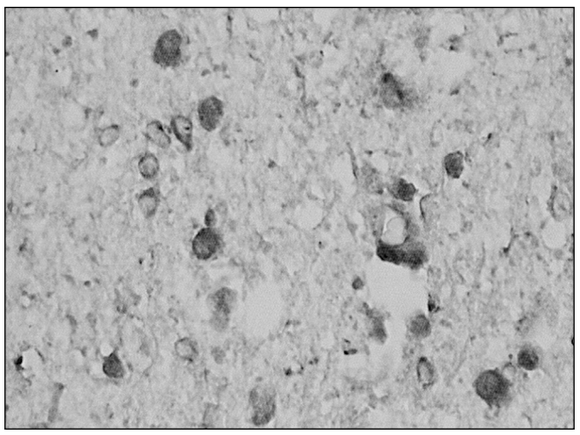
Gliální proteiny (GFAP a vimentin): Astrocyty se stávají aktivní při různých typech poranění mozku, která navozují aktivaci astrocytů. Aktivované astrocyty jsou charakterizovány hypertrofií, proliferací a expresí GFAP. Intermedialní filamenta obsahující GFAP, určující mechanickou stabilitu astrocytu. U experimentálních kontuzí u zvířat byla časově závislým způsobem regulovaná exprese GFAP a vimentinu ve dvou dnech po poranění.

Glutamátové receptory (GluR). Glutamát patří mezi excitační aminokyseliny uvolňované do mozkomíšního moku při poranění mozku, stimuluje dva typy receptorů – ionotropní a metabotropní Glu R. AMPA/Kainat receptor je hlavním typem GluR exprimovaných podél astrocytárních výběžků. Astrocyty vychytávají a metabolizují neurotransmitery a tlumí iontové extracelulární změny. Aktivace glutamatových receptorů na povrchu astroglie se účastní formování cytotoxického edému. Aktivace metabotropního Glu receptoru agonistou injikovaným do mozku indukuje edém, ale nezvyšuje propustnost BBB. Elektronmikroskopická studie prokázala markantní zduření astrocytarních výběžků v okolí kapilár po 6 hodinách po injekci Glu agonisty. Mechanické poranění vede k usnadněné expresi mGluR v aktivovaných astrocytech v blízkosti poraněné oblasti. Po ischemickém infarktu zjištěny autoprotilátky glutamátových receptorů NMDA.

NO-syntáza (enzym produkující oxid dusnatý (NO) z L-argininu, existuje ve více izoformách jako endoteliální eNOS, mozková bNOS, indukovatelná iNOS. Oxid dusnatý (NO) působí jako aktivator guanylát cyklázy (obsahuje hem jako re-



**Obr. 3. Epikríza: 49letý muž, přivezen v bezvědomí po pádu, přežití 3 dny, autoptický nález subdurálního hematomu nad levým temenním lalokem. Histologický nález potvrzuje sferoidní dystrofii axonů (označeno šipkou) barvením H-E, 400krát**



**Obr. 4. Imunohistochemické barvení anti-NSE fy.Immunotech (stejný případ jako obr. 2). NSE-pozitivita v corpus callosum v gliových buňkách i dystroficky zduřených axonech**

3/06 zlom 21.7.2006 10:46 Stránka 162
proLékaře.cz | 16.11.2026

ceptor vázající NO), je univerzální mediátor biologických účinků v mozku a experimentální studie ukazovaly poúrazovou regulaci NO syntázy. INOS pozitivní buňky byly detekované 6 hodin po úrazu, s maximem od 8 do 23 hodin u 8 pacientů s chirurgickou léčbou poúrazového pohmoždění mozku. Exprese iNOS byla zjištěna na neuronech, makrofázích, neutrofilech, astrocytech a oligodenroglii. NO je potenciální činitel poškozující buňky při TBI navozeném hypertermií. NO působí jako vazodilatátor a inhibitor agregace destiček, inhibuje vápníkový influx prostřednictvím NMDA receptoru. Zvýšená permeabilita BBB je usnadněna syntézou a uvolněním NO a postupnou aktivací solubilní guanylát cyklázy.

Růstový endoteliální faktor (VEGF) je endoteliální cévní růstový faktor (dimerický glykoprotein, aktivátor receptorových tyrozin kináz), který je regulovaný transkripčním faktorem HIF indukovaným hypoxií. Biochemické stanovení VEGF je v klinické praxi využíváno k monitoraci pacientů s mnohočetným myelomem a leukémií. U kraniocerebrálních poranění je využívána imunohistochemická detekce VEGF v endoteliích. Exprese VEGF je zvýšená při poranění mozku a přispívá k porušení BBB během traumatu. Lokální aplikace VEGF v experimentu mění propustnost BBB u zvířat a zvyšuje rozšíření piálních arteriol. Mechanismy efektu VEGF na cévní propustnost jsou způsobeny zvýšením vápníkového influxu v endoteliích, syntézou a uvolněním NO, zvýšením syntézy faktoru aktivujícího destičky. VEGF je významný faktor regulující cévní propustnost v periferní cirkulaci. Antagonista NO syntázy inhiboval VEGF faktorem navozenou dilataci arteriol a propustnost BBB. VEGF hraje významnou roli v porušení BBB a angiogenezi po poranění mozku. Indukuje proliferaci endotelií, migraci a cévní propustnost při mozkovém vazogenním edému. VEGF se uplatňuje u hypoxií indukovaného vazogenního edému. TBI zvyšuje imunoreaktivitu VEGF v pialních cévách po 6 hodinách a přetrvává 14 dní. Arterioly vykazovaly VEGF imunoreaktivitu po 36 hodin.

## Závěr

Kraniocerebrální markery (zejména NSE a S-100B) mají patřit, vzhledem k možnosti rutinního stanovení v séru, k základním biochemickým vyšetřením v diferenciální diagnostice bezvědomí, k objasnění úrazové a neúrazové etiologie. Další klinické využití je v možnosti stanovení prognózy poškození mozku u pacientů a odhadu závažnosti poškození gliových a gangliových buněk. Další markery (MMP-9) najdou uplatnění u pacientů, u kterých sekundární poškození mozku vede k rozvoji ischemických ložisek, komplikujících primární kontuze.

**Práce vznikla za podpory grantu IGA MZ ČR, NR/8793-3.**

## Literatura

1. **Kampfl A, Franz G, Aichner F, Pfausler B, Haring HP, Felber S, et al**. The persistent vegetative state after closed head injury: clinical and magnetic resonance imaging findings in 42 patients. J Neurosurg 1998;88(5):809–816. – 2. **Imajo T, Kazee AM.** Diffuse axonal injury by simple fall. Am J Forensic Med Pathol 1992;13(2):169–172. – 3. **Oehmichen M, Meissner C, Schmidt V, Pedal I, Konig HG.** Pontine axonal injury after brain trauma and nontraumatic hypoxic-ischemic brain damage. Int J Legal Med 1999;112(4):261–267. – 4. **Willis CL, Nolan CC, Reith SN, Lister T, Prior MJ, Guerin CJ, et al.** Focal astrocyte loss is followed by microvascular damage, with subsequent repair of the blood-brain barrier in the apparent absence of direct astrocytic contact. Glia 2004;45(4):325–337. – 5. **Hayashi K, Nakao S, Nakaoke R, Nakagawa S, Kitagawa N, Niwa M.** Effects of hypoxia on endothelial/pericytic co-culture model of the blood-brain barrier. Regul Pept 2004;123(1-3):77–83. – 6. **Hamm S, Dehouck B, Kraus J, Wolburg-Buchholz K, Wolburg H, Risau W, et al.** Astrocyte mediated modulation of blood-brain barrier permeability does not correlate with a loss of tight junction proteins from the cellular contacts. Cell Tissue Res 2004;315(2):157-166. – 7. **Hartl R, Medary M, Ruge M, Arfors KE, Ghajar J.** Blood-brain barrier breakdown occurs early after traumatic brain injury and is not related to white blood cell adherence. Acta Neurochir Suppl 1997;70:240–242. – 8. **Hausmann R, Betz P.** The time course of the vascular response to human brain injury--an immunohistochemical study. Int J Legal Med 2000;113(5):288–292. – 9. **Vaz R, Sarmento A, Borges N, Cruz C, Azevedo I**. Ultrastructural study of brain microvessels in patients with traumatic cerebral contusions. Acta Neurochir (Wien) 1997; 139(3):215–220. – 10. **Yamazaki Y, Yada K, Morii S, Kitahara T, Ohwada T.** Diagnostic significance of serum neuron-specific enolase and myelin basic protein assay in patients with acute head injury. Surg Neurol 1995;43(3):267-270; discussion 270–261. – 11. **Pleines UE, Morganti-Kossmann MC, Rancan M, Joller H, Trentz O, Kossmann T**. S-100 beta reflects the extent of injury and outcome, whereas neuronal specific enolase is a better indicator of neuroinflammation in patients with severe traumatic brain injury. J Neurotrauma 2001;18(5):491–498. – 12. **Woertgen C, Rothoerl RD, Holzschuh M, Metz C, Brawanski A**. Comparison of serial S-100 and NSE serum measurements after severe head injury. Acta Neurochir (Wien) 1997;139(12):1161-1164; discussion 1165. – 13. **Woertgen C, Rothoerl RD, Brawanski A.** Time profile of neuron specific enolase serum levels after experimental brain injury in rat. Acta Neurochir Suppl 2000;76:371–373. – 14. **Unden J, Bellner J, Reinstrup P, Romner B.** Serial S100B levels before, during and after cerebral herniation. Br J Neurosurg 2004;18(3):277–280. – 15. **Herrmann M, Jost S, Kutz S, Ebert AD, Kratz T, Wunderlich MT, et al**. Temporal profile of release of neurobiochemical markers of brain damage after traumatic brain injury is associated with intracranial pathology as demonstrated in cranial computerized tomography. J Neurotrauma 2000;17(2):113-122. – 16. **Vos PE, Lamers KJ, Hendriks JC, van Haaren M, Beems T, Zimmerman C, et al.** Glial and neuronal proteins in serum predict outcome after severe traumatic brain injury.

3/06 zlom 21.7.2006 10:46 Stránka 163
proLékaře.cz | 16.11.2026

Neurology 2004;62(8):1303–1310. – 17. **Tenedieva VD, Potapov AA, Gaitur EI, Amcheslavski VG, Micrikova LV, Tenedieva ND, et al.** Thyroid hormones in comatose patients with traumatic brain injury. Acta Neurochir Suppl 2000;76:385-391. – 18. **Kukacka J, Prusa R, Kotaska K, Pelouch V.** Matrix metalloproteinases and their function in myocardium. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub 2005;149(2):225–236. – 19. **Rosenberg GA.** Matrix metalloproteinases in brain injury. J Neurotrauma 1995;12(5):833–842. – 20. **Romanic AM, White RF, Arleth AJ, Ohlstein EH, Barone FC.** Matrix metalloproteinase expression increases after cerebral focal ischemia in rats: inhibition of matrix metalloproteinase-9 reduces infarct size. Stroke 1998;29(5):1020–1030. – 21. **Harris AK, Ergul A, Kozak A, Machado LS, Johnson MH, Fagan SC.** Effect of neutrophil depletion on gelatinase expression, edema formation and hemorrhagic transformation after focal ischemic stroke. BMC Neurosci 2005;6:49. – 22. **Horstmann S, Kalb P, Koziol J, Gardner H, Wagner S.** Profiles of matrix metalloproteinases, their inhibitors, and laminin in stroke patients: influence of different therapies. Stroke 2003; 34(9):2165–2170. – 23. **Cucullo L, Marchi N, Marroni M, Fazio V, Namura S, Janigro D.** Blood-brain barrier damage induces release of alpha2-macroglobulin. Mol Cell Proteomics 2003;2(4):234–241. – 24. **Gennarelli TA.** Mechanisms of brain injury. J Emerg Med 1993;11 Suppl 1:5–11. – 25. **Ferraguti F, Corti C, Valerio E, Mion S, Xuereb J**. Activated astrocytes in areas of kainate-induced neuronal injury upregulate the expression of the metabotropic glutamate receptors 2/3 and 5. Exp Brain Res 2001;137(1):1–11. – 26. **Eng LF, Vanderhaeghen JJ, Bignami A, Gerstl B.** An acidic protein isolated from fibrous astrocytes. Brain Res 1971;28(2):351-354. – 27. **Eng LF.** Glial fibrillary acidic protein (GFAP): the major protein of glial intermediate filaments in differentiated astrocytes. J Neuroimmunol 1985;8(4-6):203–214. – 28. **Bignami A, Eng LF, Dahl D, Uyeda CT.** Localization of the glial fibrillary acidic protein in astrocytes by immunofluorescence. Brain Res 1972;43(2):429–435. – 29. **Prat A, Biernacki K, Wosik K, Antel JP.** Glial cell influence on the human blood-brain barrier. Glia 2001; 36(2):145–155. – 30. **Baldwin SA, Scheff SW.** Intermediate filament change in astrocytes following mild cortical contusion. Glia 1996;16(3):266–275. – 31. **Zhang H, Zhang X, Zhang T, Chen L.** Excitatory amino acids in cerebrospinal fluid of patients with acute head injuries. Clin Chem 2001;47(8):1458–1462. – 32. **Matute C, Gutierrez-Igarza K, Rio C, Miledi R.** Glutamate receptors in astrocytic end-feet. Neuroreport 1994;5(10):1205–1208. – 33. **Gebremedhin D, Yamaura K, Zhang C, Bylund J, Koehler RC, Harder DR**. Metabotropic glutamate receptor activation enhances the activities of two types of Ca2+-activated k+ channels in rat hippocampal astrocytes. J Neurosci 2003; 23(5): 1678–1687. – 34. **Yuan F, Wang T, Luo L, Sun Y, Zhang L, Qu B.** Development of cytotoxic cerebral edema in rats following intracaudatum injection of tACPD, an agonist of metabotropic glutamate receptors. Chin Med J (Engl) 2000; 113(8):728–732. – 35. **Dambinova SA, Khounteev GA, Izykenova GA, Zavolokov IG, Ilyukhina AY, Skoromets AA.** Blood test detecting autoantibodies to N-methyl-D-aspartate neuroreceptors for evaluation of patients with transient ischemic attack and stroke. Clin Chem 2003; 49(10):1752–1762. – 36. **Gahm C, Holmin S, Mathiesen T**. Nitric oxide synthase expression after human brain contusion. Neurosurgery 2002;50(6):1319–1326. – 37. **Sharma HS, Drieu K, Alm P, Westman J.** Role of nitric oxide in blood-brain barrier permeability, brain edema and cell damage following hyperthermic brain injury. An experimental study using EGB-761 and Gingkolide B pretreatment in the rat. Acta Neurochir Suppl 2000;76:81–86. – 38. **Kermer P, Klocker N, Bahr M.** Neuronal death after brain injury. Models, mechanisms, and therapeutic strategies in vivo. Cell Tissue Res 1999;298(3):383–395. – 39. **Mayhan WG**. VEGF increases permeability of the blood-brain barrier via a nitric oxide synthase/cGMP-dependent pathway. Am J Physiol 1999;276(5 Pt 1):C1148–1153. – 40. **Nag S, Eskandarian MR, Davis J, Eubanks JH.** Differential expression of vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) and VEGF-B after brain injury. J Neuropathol Exp Neurol 2002; 61 (9): 778–788. – 41. **Lafuente JV, Bulnes S, Mitre B, Riese HH.** Role of VEGF in an experimental model of cortical micronecrosis. Amino Acids 2002;23(1-3):241–245. – 42. **Fischer S, Wobben M, Kleinstuck J, Renz D, Schaper W.** Effect of astroglial cells on hypoxia-induced permeability in PBMEC cells. Am J Physiol Cell Physiol 2000;279(4):C935–944. – 43. **Nag S, Takahashi JL, Kilty DW.** Role of vascular endothelial growth factor in blood-brain barrier breakdown and angiogenesis in brain trauma. J Neuropathol Exp Neurol 1997; 56(8):912–921. – 44. **Toupalik P, Bouska I.** Diagnosis of traumatical and hypoxial changes of the CNS--immunohistochemical study. Soud Lek. 2005 Jul;50(3):42–44.

*MUDr. David Vajtr*
*Ústav klinické biochemie a patobiochemie UK 2.LF a FN Motol*
*V Úvalu 84*
*150 06 Praha 5-Motol,*
*Tel.: 603961347, Fax: 224435320*