

Hodnocení závažnosti otřesu mozku a poruchy zdraví pomocí monitorování hladin neuron specifické enolázy a proteinu S-100b v séru

Vajtr D.^{1,2}, Průša R.², Kukačka J.², Houšťava L.³, Šámal F.³, Pelichovská M.⁴, Strejc P.¹, Toupalík P.⁵

¹Ústav soudního lékařství a toxikologie UK 1. LF a VFN, Praha

²Ústav klinické biochemie a patobiochemie UK 2. LF a FN Motol, Praha

³Klinika neurochirurgie UK 3. LF a FN Královské Vinohrady, Praha

⁴Klinika anesteziologie a resuscitace UK 2. LF a FN Motol, Praha

⁵Ústav soudního lékařství 2. LF UK, Praha

Souhrn

Úvod: Proteiny uvolňující se z poškozených gangliových (neuron specifická enoláza, NSE) a gliových buněk (protein S-100b) do cirkulace mohou být využívány v diagnostice poranění mozku u případů s negativním nálezem na CT (komoce) nebo u pacientů, kde závažný klinický stav neodpovídá minimálnímu nálezem na CT (difúzní axonální poranění, DAI). Klasifikace axonálního poranění podle Gennarelliho uvádí komoce jako nižší stupeň DAI. Materiál a metody: Celkový soubor 15 pacientů s poraněním hlavy byl rozdělen na skupinu I s komocí lehkého stupně ($n = 3$) s 1denní hospitalizací, skupinu II s komocí závažného stupně s 3denní hospitalizací ($n = 4$) a skupinu III pacientů s DAI ($n = 8$). Ve vzorcích krve u těchto pacientů byla imunochemicky stanovena NSE a protein S-100b (Elecsys 2010, Roche). Výsledky: Hodnoty proteinu NSE ($16,30 \pm 2,33$ vs. $110,48 \pm 34,99$ vs. $24,07 \pm 6,29$ $\mu\text{g/l}$) a S-100b ($0,207 \pm 0,03$ vs. $0,945 \pm 0,69$ vs. $0,736 \pm 0,36$ $\mu\text{g/l}$), přesahují referenční interval u skupiny I, II a III. Diskutujeme biomechaniku poranění a poškození hematoencefalické bariéry ve vztahu k hodnotám NSE a proteinu S-100b. Závěr: Prokázali jsme statisticky významně vyšší hodnoty NSE u skupiny závažného otřesu mozku oproti skupině pacientů s DAI. Potvrdili jsme, že komoce v některých případech vede k poruše zdraví.

Klíčová slova: komoce – difúzní axonální poranění – neuron specifická enoláza – protein S100B – porucha zdraví

Summary

Evaluation of Relevance in Concussion and Damage of Health by Monitoring of Neuron Specific Enolase and S-100b Protein

Introduction: Proteins released to the circulation from affected glial (neuron specific enolase, NSE) or ganglial cells (S-100b protein) during traumatic brain injury might be used in diagnosis of traumatic brain injury in cases with negative finding on computer tomography scan (concussion) or in patients where the serious clinical status does not correspond with mild changes on CT scan (diffuse axonal injury, DAI). Classification of DAI according Gennarelli considered the concussion as lower degree of DAI. Materials and method: 15 patients were divided into group I of mild concussion ($n=3$) with 1-day duration of hospitalisation, group II of serious concussion ($n=4$) with more days duration of hospitalisation with negative findings on CT scan and group III of patients with diagnosis of DAI ($n=8$). Blood samples were investigated by immunoanalysis for NSE and protein S-100b (Elecsys 2010, Roche). Results: Values of NSE (16.30 ± 2.33 vs. 110.48 ± 34.99 vs. 24.07 ± 6.29 $\mu\text{g/l}$), and protein S-100b (0.207 ± 0.03 vs. 0.945 ± 0.69 vs. 0.736 ± 0.36 $\mu\text{g/l}$) overdraw the reference value in cases of group I, II, and III. We discuss the biomechanics of trauma and the blood brain barrier damage in comparison with values of NSE and S-100b protein. Conclusion: We proved the significantly higher values of the NSE in group of serious concussion compared to group of DAI. We demonstrated that concussions in some cases lead to serious damage of health.

Key words: concussion – diffuse axonal injury - neuron specific enolase – S-100b protein – damage of health

Soud. Lék., 52, 2007, No. 3, p. 43–46

Úvod

Otřes mozku (komoce) je klinickou jednotkou, které odpovídá lehké difuzní axonální poranění (1, 2). Při bezvědomí delším než 30 minut nelze stav hodnotit jako mozkovou komoci, ale předpokládá se hrubší porušení axonů. Klasifikace axonálního poranění podle Gennarelliho (3) uvádí komoce jako nižší stupeň DAI (2, 4). Ztráta vědomí bezprostředně po úrazu je způsobena náhlým vyražením retikulární formace mozkového kmen, které je spojeno s krátkou zástavou dýchání, se srdeční synkopou a s okamžitou ztrátou všech reflexů (1). Klinicky se zjišťuje pretraumatická nebo často i postraumatická amnesie. Zvláštní forma je tzv. postraumatický mráкотný stav navazující na úraz, často s agresivními projevy. Postkomoční syndrom zahrnuje přetrvávající obtíže po úrazu, bolesti hlavy, únavnost, poruchy soustředění, poruchy spánku a další (5). U některých jedinců může úraz vyvolat i reaktivní neurastenický syndrom, jehož projevy – bolest hlavy (6), nesoustředěnost, nespavost, podrážděnost, mohou prodlužovat pracovní neschopnost.

K hodnocení závažnosti otřesu mozku a postkomočního syndromu pro soudně lékařské účely mohou sloužit proteiny, které se při poranění mozku uvolňují do cirkulace (neuron specifická enoláza- NSE, protein S-100b). Tyto proteiny patří mezi sérové ukazatele (5, 6, 7, 8) poškození gangliových (NSE) a gliových buněk (protein S100b) i v případech, kdy je negativní nález na CT (komoce) nebo závažný klinický stav neodpovídá minimálnímu nálezu na CT (difuzní axonální poranění, DAI). Hodnotit objektivně příznaky otřesu mozku (trvání bezvědomí, amnesie, postraumatický mráкотný stav, postkomoční syndrom, reaktivní neurastenický syndrom) je obtížné. Zobrazovací metody (CT, NMR) ani klinická vyšetření (fyzikální vyšetření, EKG, Schellongův test s měřením krevního tlaku) většinou nediodagnostikují žádné objektivní známky poškození mozku. Zvýšené hodnoty proteinu S-100b jsou v některých studiích dávány do korelace s postkomočními příznaky způsobené otřesem mozku (5, 6, 9).

Za poškození důležitého orgánu se jednoznačně považuje takové porušení orgánu, při němž vzniká nebezpečí pro život nebo jiný závažný déletrvající nebo trvalý následek (10, 11). Otřes mozku bude za těchto podmínek poškozením důležitého orgánu, jestliže bezvědomí trvalo delší dobu (alespoň 1 hodinu) (12). Vážná porucha zdraví je dána ohrožením života nebo poškozením zdraví s trvalým či delší dobu trvajícím morfologickým nebo funkčním následkem (13, 14).

Cílem této práce bylo poukázat na význam biochemických metod, které mohou objektivně prokazovat a kvantifikovat otřes mozku, který má pouze klinické funkční projevy bez morfologického poškození prokazatelného dostupnými zobrazovacími metodami. V současné době není dosud

toto biochemické vyšetření dostatečně používáno jako diagnostický a prognostický marker na klinických pracovištích ošetřujících pacienty s otřesem mozku. Ve zdravotnické dokumentaci často nejsou objektivně hodnotitelné známky komoce mozku, které by bylo možné použít i pro případy odborného vyjádření v trestním řízení.

Materiál a metody

Soubor pacientů s měřením hladin NSE, proteinu S-100B a metody:

Soubor (n= 15) pacientů s poraněním hlavy, z toho 7 pacientů s diagnózou S 06.0 otřes (komoce) mozku. V souboru 7 pacientů s komocí mozku byli 3 pacienti s komocí lehkého stupně s 1denní hospitalizací (skupina I) a 4 pacienti s vícedenní hospitalizací (skupina II), hodnocení podle Gennarelliho 2. až 3. stupeň. 8 pacientů (skupina III) bylo diagnostikováno jako S 06.2 difuzní axonální poranění (DAI). Studie a informovaný souhlas pacienta byly schváleny etickou komisí.

Vzorky krve byly schromážděny od pacientů v průběhu hospitalizace, po centrifugaci bylo sérum zamrazeno při -70 °C pro další analýzu, v případě hemolýzy krve nebylo měření ze séra provedeno. Sérové koncentrace NSE (izoenzym $\gamma\gamma$) a proteinu S100b byly měřeny imunoanalyticou metodou ECLIA diagnostickými soupravami Roche na přístroji Elecsys 2010.

Z archivu Ústavu klinické biochemie a patobiochemie byla dále získána data u souboru (n = 15) pacientů s diagnózou S 06.0 otřes (komoce) mozku hospitalizovaných v roce 2006. Byly sledovány změny koncentrací C-reaktivního proteinu (CRP), draselných iontů, glukózy, troponinu I, enzymu CK-MB mass, myoglobinu, celkové bílkoviny a hodnoty ethanolu v krvi.

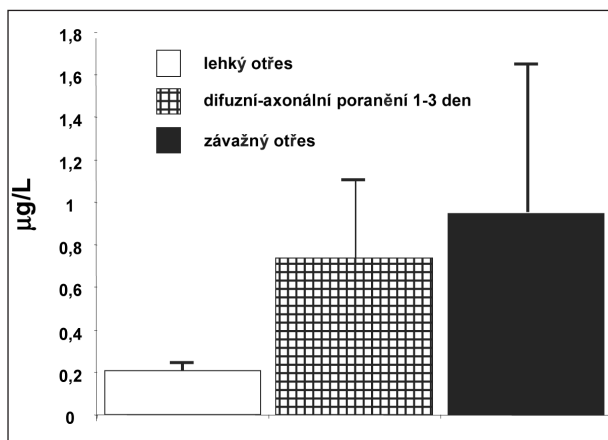
Výsledky

Biochemické výsledky

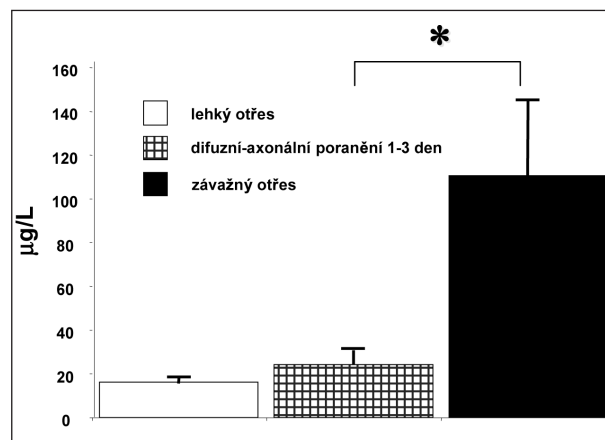
U všech pacientů s poraněním hlavy (diagnóza S 06.2 difuzní poranění mozku a S 06.0 otřes mozku) byly zjištěny hodnoty NSE a proteinu S100b na horní hranici referenčního rozmezí (pro NSE 15,2 $\mu\text{g/l}$ a pro protein S-100b 0,105 $\mu\text{g/l}$) a vyšší. Hodnoty NSE (16,30 $\pm$ 2,33 vs. 110,48 $\pm$ 34,99 vs. 24,07 $\pm$ 6,29 $\mu\text{g/l}$), proteinu S-100b (0,207 $\pm$ 0,03 vs. 0,945 $\pm$ 0,69 vs. 0,736 $\pm$ 0,36 $\mu\text{g/l}$) v jednotlivých skupinách pacientů. Srovnání průměrných hodnot NSE a proteinu S-100b (viz graf 1) mezi skupinami I, II, III ukázalo statisticky významný rozdíl mezi skupinou II a skupinou III v hodnotách NSE (viz graf 2).

Zobrazovací metody

Radiodiagnostické vyšetřovací metody prokázaly u všech pacientů s DAI abnormální signál



Graf 1. Srovnání průměrných hodnot proteinu S-100b mezi skupinami I (bílá), II (černá), III (šrafovaná). Referenční rozmezí hodnot proteinu S-100b je do 0,105 µg/L.



Graf 2. Srovnání průměrných hodnot neuron specifické enolázy (NSE) mezi skupinami I, II, III. Referenční rozmezí hodnot NSE je do 15,5 µg/L. Statisticky významné rozdíly $p < 0,05$ (*).

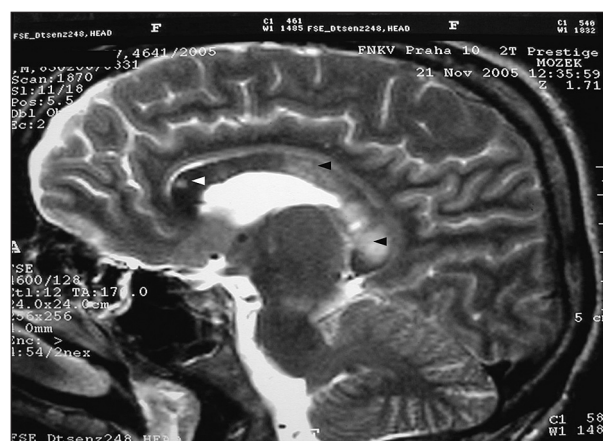
v corpus callosum (viz. obr. 1). Na CT snímcích byly u diagnózy komoce mozku negativní nálezy, vyloučen byl i traumatický edém mozku (S06.1).

Hodnocení dalších biochemických markerů u otřesu mozku

U souboru ($n = 15$) pacientů hospitalizovaných v průběhu roku 2006 s diagnózou S 06.0 otřes (komoce) mozku byly sledovány hodnoty u vybraných biochemických markerů. Průměrný věk v souboru byl 40,5 let. Vyšší hodnoty C-reaktivního proteinu byly zjištěny u 4 pacientů ($27,11 \pm 49,5$ mg/l). U jednoho pacienta byl nárůst CRP až na hodnoty 169 mg/l. Glykémie byla zvýšená nad horní referenční mez u 9 pacientů ($8,33 \pm 3,36$ mmol/l). Myoglobin v séru byl zvýšený celkem u 8 pacientů ($417,6 \pm 415$ µg/l) a CK-MB mass u 4 pacientů ($5,46 \pm 4,3$ µg/l). Koncentrace iontů draslíku v séru nižší než referenční rozmezí byly zjištěny u 3 pacientů, u jednoho pacienta byla koncentrace draslíku při příjmu 2,7 mmol/l. Troponin I byl u všech pacientů v referenčním rozmezí fyziologických hodnot. Celková bílkovina byla u 4 pacientů nižší než referenční rozmezí. Opilost byla zjištěna u 2 pacientů.

Diskuse

Srovnáním hodnot biochemických markerů (NSE a proteinu S-100b) u difuzních poranění mozku bylo zjištěno, že NSE u závažných komocí je signifikantně vyšší ve srovnání s DAI. Nebyly nalezeny rozdíly mezi hodnotami NSE mezi skupinou lehkých komocí a DAI. Z našich výsledků vyplývá, že komoce postihuje zejména gangliové buňky vyplavující NSE. Protein S-100b (protein lokalizovaný v astroglia, která tvoří součást hematoencefalické bariéry) nemá významně rozdílné hladiny mezi skupinou DAI a komocí mozku. Toto pozorování by odpovídalo skutečnosti, že hematoencefalická bariéra není u komoce mozku primárně porušena. Hodnoty proteinu S-100b



Obr. 1. Abnormální signál (černá šipka) v corpus callosum v zobrazení magnetickou rezonancí (NMR) u pacienta s diagnózou DAI

jsou řadou autorů považovány za jeden z významných faktorů, který umožňuje predikovat i post-komoční obtíže (9). Změny hodnot biochemických ukazatelů by mohly sloužit jako cenné informace o závažnosti primárního poranění u mozkové komoce (5), zejména v případech, kde anamnesa a další vyšetření jsou negativní. Amnestický údaj o době trvání bezvědomí obvykle nelze nijak verifikovat.

Hodnocení poruchy zdraví je určeno nejenom závažností primárního poranění a sekundárními procesy hojení (délka hojení, komplikace a následky), ale rovněž závažností a dobou lékařského ošetření, omezením v obvyklém způsobu života (10, 11, 12) a změnou zdravotního stavu (14). U pacientů se závažným otřesem mozku lze podle hodnot kraniocerebrálních markerů usuzovat, že poškození neuronů, uvolňujících enzym NSE do cirkulace, je srovnatelné jako při DAI. Sekundární procesy hojení (rozvoj tkáňové i humorální reakce na poranění (15)) ovlivňují i zdravotní stav. Podle definice je změna zdravotního stavu charakterizována poruchou jednotlivých orgánů nebo jejich funkce. Ta může nastat

kupř. ztrátou krve, horečkami, déle trvajícím zvracením, imobilizací apod. (14). Změnu celkového zdravotního stavu tedy lze monitorovat stanovením např. markerů akutní fáze (C-reaktivní protein), koncentrací glukosy, celkové bílkoviny, draselných iontů a dalšími vyšetřeními. V našem souboru 15 pacientů s mozkovou komocí bylo u více než 1/4 pacientů nalezeny zvýšené hodnoty CRP, glukosy a nižší hodnoty celkové bílkoviny. Hladiny některých dalších markerů, např. myoglobinu, enzymu CK-MB mass budou korelovat s mechanismem úrazového děje, kdy při tupém poranění svalstva dochází k vyplavování myoglobinu do krve, případně mohou tyto markery souviset s otřesem či pohmožděním srdečního svalu (kardiální troponin I). V našem souboru jsme vyšší hodnoty myoglobinu zjistili u 8 pacientů a zvýšení CK-MB mass u 4 pacientů.

Na základě výsledků ze zdravotnické dokumentace, změn koncentrací NSE a proteinu S-100b, lze u komocí mozku v prvních dnech po poranění prokazovat mikrotraumatické poškození mozku, které nemá korelát v dostupných zobrazovacích metodách (CT). Rozvoj sekundární reakce organismu (nárůst C-reaktivního proteinu) na poranění ukazuje na závažnost primárního inzultu. Vážná porucha zdraví je dána ohrožením života nebo poškozením zdraví s trvalým či delší dobu trvajícím morfoloogickým nebo funkčním následkem (13) a u otřesu mozku by ohrožení života mohlo nastat v případě závažných srdečních arytmií při poklesu draselných iontů, při vdechnutí žaludečního obsahu v bezvědomí apod.

Závěr

Srovnání hodnot biochemických markerů poranění mozku (NSE a proteinu S-100b) u difuzních poranění mozku ukazuje, že NSE u závažných komocí je statisticky vyšší ve srovnání s DAI. Kraniocerebrální a další biochemické ukazatele mohou sloužit k hodnocení poruchy zdraví u pacientů s negativními nálezy v dalších klinických vyšetřeních a v zobrazovacích metodách.

Práce je podporována grantem IGA MZ, reg.č. NR/8793-3/2006.

Literatura

1. **Nebudová J.:** Kraniocerebrální úrazy. Triton, 1998: 55–59.
2. **Ommaya AK, Gennarelli TA:** Cerebral concussion and traumatic unconsciousness. Correlation of experimental and clinical observations of blunt head injuries. Brain. 1974 Dec; 97(4): 633–654.
3. **Gennarelli TA.:** Cerebral concussion and diffuse brain injuries. In: Cooper PP, editor. Head injury. Baltimore: Williams and Wilkins, 1982: 83–97.
4. **Gennarelli TA, Spielman GM, Langfitt TW, Gildenberg PL, Harrington T, Jane JA et al.:** Influence of the type of intracranial lesion on outcome from severe head injury. J Neurosurg. 1982 Jan;56(1): 26–32.
5. **Begaz T, Kyriacou DN, Segal J, Bazarian JJ.:** Serum biochemical markers for post-concussion syndrome in patients with mild traumatic brain injury. 2006 Aug;23(8): 1201–1210.
6. **Bazarian JJ, Beck C, Blyth B, von Ahsen N, Hasselblatt M** Impact of creatine kinase correction on the predictive value of S-100B after mild traumatic brain injury. 2006;24(3): 163–72.
7. **Woertgen C, Rothoerl RD, Brawanski A.** Time profile of neuron specific enolase serum levels after experimental brain injury in rat. 2000;76: 371–3.
8. **Vajtr D., Průša R., Houšťava L., Šámal F., Kukačka J., Páchl J.:** Biochemical and immunohistochemical markers of brain injury, Soud Lek, 2006, 51, No. 3, p. 36–41.
9. **Ingebrigtsen T, Romner B, Marup-Jensen S, Dons M, Lundqvist C, Bellner J et al.:** The clinical value of serum S-100 protein measurements in minor head injury: a Scandinavian multicentre study. 2000 Dec;14(12): 1047–55.
10. **Strejc, P.:** Soudní lékařství pro právníky, I. Vydání, C.H. Beck, Praha 2000: 25–26.
11. **Strejc, P.:** Soudní lékařství pro právníky, Univerzita Karlova, Praha 1991: 42–43
12. **Jelínek, J.-Sovák, Z.:** Trestní zákon a trestní řád. Praha, Linde 1995.
13. Kolektiv autorů, Soudní lékařství, Grada, 1999: 559.
14. **Typovský K.:** Traumatologie pohybového ústrojí. Díl druhý. Avicenum, 1972: 981–986.
15. **Kukačka, J., Vajtr, D., Huska, D., Prusa, R., Houstava, L., Samal, F., Diopan, V., Kotaska, K., Kizek, R.:** Blood metallothionein, neuron specific enolase, and protein S100B in patients with traumatic brain injury, Neuro Endocrinol Lett., 2006, 27 (Suppl 2): 116–120.

MUDr. David Vajtr
Ústav soudního lékařství a toxikologie
UK 1. LF a VFN, Praha
Studničkova 4
Praha 2, 128 01
Tel.: 603961347,
e-mail: vajtr777@seznam.cz