



UNIVERSIDADE LUTERANA DO BRASIL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DIAGNÓSTICO GENÉTICO E MOLECULAR

**Análise do Fator von Willebrand em Pacientes com
Traumatismo Crânio-Encefálico**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Diagnóstico Genético e Molecular da Universidade Luterana do Brasil para obtenção do Grau de Mestre em Diagnóstico Genético e Molecular.

Clarissa Oliveira de Oliveira

Orientador: Dr. Daniel Simon

Co-orientadora: Dr^a. Andrea Pereira Regner

CANOAS

2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Dr. Daniel Simon, por tornar possível a realização deste trabalho.

Aos meus pais, por terem me ensinado desde muito cedo a importância da busca pelo conhecimento.

Ao meu esposo, Sami, pelo apoio e incentivo constantes, que tornaram o trabalho menos árduo.

Às crianças, Najla e Alina, pela compreensão nos momentos de ausência.

ÍNDICE

RESUMO	4
ABSTRACT	5
INTRODUÇÃO	6
1. TRAUMATISMO CRÂNIO-ENCEFÁLICO.....	6
1.1. Epidemiologia.....	6
1.2. Fisiopatologia.....	8
1.3. Quadro Clínico.....	8
1.4. Prevenção do TCE.....	11
2. BIOMARCADORES DE DANO CEREBRAL.....	12
2.1. Fator von Willebrand.....	13
2.1.1. Mecanismos de homeostase sangüínea.....	13
2.1.2. Fator von Willebrand como marcador de lesão endotelial.....	14
JUSTIFICATIVAS E OBJETIVOS	16
ARTIGO	17
Plasma von Willebrand factor as a biomarker in severe traumatic brain injury.....	17
ABSTRACT	18
INTRODUCTION	19
MATERIAL AND METHODS	20
Patients and control subjects.....	20
Blood sampling and biochemical measurements.....	21
Statistical Analysis.....	21
RESULTS	22
DISCUSSION	23
REFERENCES	25
Table 1. Characteristics of the traumatic brain injury study population (TBI) and stratified for the primary outcome measure (survivors/nonsurvivors).	27
Fig. 1. Outcome following severe traumatic brain injury (TBI), correlation between APACHE II scores and survival, and correlation between Marshall CT scores and survival.	28
Fig. 2. VWF concentrations in the plasma of control subjects and severe TBI patients.	29
Fig. 3. Correlation between plasma VWF levels 24h after admission at hospital and either Marshall CT scores or presence of associated injury or isolated TBI.....	30
Fig. 4. Receiver operator characteristics (ROC).....	31
CONCLUSÕES	32
PERSPECTIVAS	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

RESUMO

Traumatismo crânio-encefálico grave (TCE) está associado a um índice de mortalidade de 35-70%. Também tem uma morbidade alta, com seqüelas neurológicas permanentes, incapacidade para o trabalho e com elevados custos de internação, reabilitação e previdenciários. Marcadores bioquímicos de lesão celular estão sendo propostos para indicar prognóstico após TCE. O fator von Willebrand (VWF) é uma proteína adesiva que promove a iniciação e progressão da formação do trombo no local de lesão vascular. É um conhecido marcador de lesão endotelial. O objetivo do presente estudo é determinar se a concentração plasmática do VWF correlaciona-se com desfecho primário (sobrevida ou morte) e com os achados radiológicos. Foram avaliados 44 pacientes masculinos, vítimas de TCE grave (escala de coma de Glasgow entre 3-8). Variáveis clínicas para determinação de prognóstico em pacientes com trauma foram aplicadas (APACHE II) e avaliação neurológica na alta da UTI (Glasgow Outcome Scale - GOS). As tomografias computadorizadas de crânio dos pacientes foram analisadas de acordo com os critérios da classificação de Marshall. Três amostras consecutivas de sangue foram coletadas dos pacientes: a primeira amostra na chegada ao hospital (11.4 ± 5.2 horas após o trauma, média \pm DP), 24 horas e 7 dias após o trauma. A concentração plasmática média do VWF foi significativamente maior no grupo com TCE (273 U/dl) do que no grupo controle (107 U/dl) ($p < 0,001$). TCE grave esteve associado com uma mortalidade de 50%. O subgrupo de pacientes que foi a óbito apresentou pontuações significativamente mais altas no APACHE II do que os sobreviventes (média mortos: 18,8; média sobreviventes: 12,7) ($p < 0,001$), e também apresentaram pontuações mais altas na classificação das tomografias de crânio de Marshall (média mortos: 4,6; média sobreviventes: 2,7) ($p < 0,05$). Houve correlação positiva significativa entre os níveis plasmáticos do VWF na coleta de 24 horas e as pontuações da classificação de Marshall ($p < 0,05$). A sensibilidade dos níveis plasmáticos do VWF em prever mortalidade foi 64%, de acordo com o ponto *cut-off* estabelecido de 234 U/dl, com uma especificidade de 68%. Concluímos que o VWF encontra-se aumentado após o trauma e pode ser um potencial marcador de prognóstico em TCE.

ABSTRACT

Severe traumatic brain injury (TBI) is associated with a 35-70% mortality rate. TBI also has high morbidity, with permanent neurological sequelae, work disability and elevated hospital, rehabilitation and social security costs. Biochemical markers of cellular injury have been proposed to indicate outcome after head injury. von Willebrand factor (VWF) is an adhesive protein which promotes the formation of an occlusive platelet plug at the site of vascular damage. VWF is also a well known marker of endothelial injury. The aim of the present study was to determine whether plasma von Willebrand factor levels correlate with primary outcome (survival or death) and with radiological findings in severe traumatic brain injury (TBI). Forty four male patients, victims of severe TBI (Glasgow Coma Scale 3-8), were analyzed. Clinical outcome variables comprised survival (APACHE II) and neurological assessment using the Glasgow Outcome Scale (GOS) at the intensive care unit discharge. Computerized tomography (CT) scans were analyzed according to Marshall CT classification. Three consecutive venous blood samples were taken: first sample (11.4 ± 5.2 hours after trauma, mean \pm SD), 24 hours and 7 days later. Plasma VWF levels were measured by an enzyme-linked immunosorbent assay. The result of mean plasma VWF concentration was significantly higher in the TBI group (273 U/dL) than in the control group (107 U/dL) ($p < 0.001$). Severe TBI was associated with a 50% mortality rate. Nonsurvivors presented significantly higher APACHE II scores than survivors (nonsurvivors mean: 18.8; survivors mean: 12.7) ($p < 0.001$), and also presented higher scores in Marshall CT classification (nonsurvivors mean: 4.6; survivors mean: 2.7) ($p < 0.05$). There was a significant positive correlation between plasma levels at second plasma sampling and scores in Marshall CT classification ($p < 0.05$). The sensitivity of plasma VWF concentration predicting mortality according to the cut-off of 234 U/dL was 64%, with a specificity of 68%. Therefore, VWF increase after trauma and may be a potential prognostic marker for TBI outcome.

INTRODUÇÃO

1. TRAUMATISMO CRÂNIO-ENCEFÁLICO

Traumatismo crânio-encefálico (TCE) é definido como um golpe ou lesão por aceleração e desaceleração da cabeça que pode levar a disfunção do cérebro (CDC, 2004). É um dano não-degenerativo e não congênito do cérebro ocasionado por uma força externa, que pode deixar déficits cognitivos, físicos e psicossociais permanentes ou temporários, associado à diminuição do estado de consciência (Dawodu, 2003).

Aproximadamente 10% de todas as mortes nos Estados Unidos são causadas por trauma e cerca de metade destas ocorre por traumatismo crânio-encefálico (Rowland, 1995). Em adultos, a maioria dos casos é devido a acidentes automobilísticos e acidentes de trabalho, e em crianças estão relacionados a acidentes automobilísticos e quedas (Martuza & Coumans, 1999). O trauma é a principal causa de morte em pessoas de 1 a 44 anos, e o traumatismo craniano costuma estar presente em pacientes politraumatizados (CDC, 2002). Além de ser a principal causa de morte, o TCE também tem uma morbidade alta, levando a seqüelas neurológicas permanentes, incapacidade para o trabalho e gerando custos de internação, reabilitação e previdenciários muito elevados, considerando-se que a maioria dos acometidos são jovens. Estes dados evidenciam a importância da prevenção e intervenção precoce dos pacientes com TCE, a fim de se evitar o óbito e debilidade. O rápido diagnóstico e tratamento são imperativos para um desfecho favorável (Nolan, 2005).

1.1. Epidemiologia

A incidência anual de TCE nos Estados Unidos é de 200 casos para cada 100.000 habitantes. Calcula-se que um traumatismo craniano ocorre a cada 7 segundos e uma morte a cada 5 minutos (Rowland, 1995). O CDC (Center for Disease Control and Prevention) contabiliza 50.000 mortes por

ano secundárias ao TCE e, no mínimo, 5,3 milhões de pessoas com seqüelas destes traumas entre os americanos (Binder *et al.*, 2005).

Nos países desenvolvidos em geral, a incidência de TCE também é de 200 casos para cada 100.00 habitantes por ano, sendo a incidência de TCE grave em torno de 10% destes. Estas incidências referem-se apenas às internações hospitalares, não contabilizando os indivíduos sem atendimento médico, os que são atendidos em emergências e os que foram a óbito no local do acidente (Bruns & Hauser, 2003). Um estudo realizado na Alemanha, em 2005, evidenciou o óbito de indivíduos com TCE antes da admissão hospitalar em 68,4% (Steudel *et al.*, 2005). Bruns e Hauser (2003), em uma revisão, encontraram dado semelhante, onde aproximadamente 50% dos casos de óbito por TCE ocorreram no local do trauma, durante o transporte para atendimento ou durante o atendimento de emergência, antes da internação hospitalar.

No Brasil os estudos epidemiológicos são poucos e dispomos de poucos dados oficiais. Um estudo realizado em São Paulo, em 1997, constatou que 12% dos pacientes internados por causas externas (acidentes e envenenamentos) tinham TCE. A taxa de internação foi de 36 para 100.000 habitantes e mortalidade hospitalar foi de 10% (Koizumi *et al.*, 2000). Outro estudo, este realizado no Distrito Federal, em 2002, comparou os acidentes automobilísticos em dois momentos diferentes, em 1992 e 1997, após a adoção de medidas de segurança no trânsito (cinto de segurança, dispositivos de redução de velocidade e faixa de pedestre). Observou-se um aumento absoluto e relativo do número de casos de TCE devido a acidentes automobilísticos no período, contudo a morbimortalidade foi reduzida (Farage *et al.*, 2002). Estudo realizado em Salvador por Melo *et al.* (2004), revisou retrospectivamente os prontuários de pacientes com TCE no ano de 2001. Destes, 82,9% eram do sexo masculino, com predomínio de faixa etária entre 21 e 30 anos. A principal causa de TCE foi acidente automobilístico (40,7%), seguido das agressões com ou sem armas (25,4%) e quedas (24%). A taxa de morbidade foi de 24,9% e letalidade de 22,9%.

No Rio Grande do Sul os dados disponíveis são de um estudo prospectivo realizado na Unidade de Trauma do Hospital Municipal de Pronto Socorro de Porto Alegre, em 1995. Foram analisados 100 pacientes, sendo 72% do sexo masculino, com idade média de 29,5 anos e 75% tendo como causa trauma contuso, ocasionado principalmente por atropelamento, seguido de acidente automobilístico e queda de altura. O índice de mortalidade foi de 31% (Souza *et al.*, 1999).

Existem grupos de risco para o TCE. Estes incluem os homens e indivíduos vivendo em regiões de baixo nível socioeconômico (Bruns & Hauser, 2003). Também têm maior risco os indivíduos solteiros, os de minoria étnica, os com história de abuso de substâncias entorpecentes e com história prévia de TCE (Dawodu, 2003). Além destes, estudos identificaram a idade avançada como fator de risco para TCE (Tieves *et al.*, 2005; Zygun *et al.*, 2005)

1.2. Fisiopatologia

A lesão do SNC pelo trauma resulta de duas causas distintas. O dano do impacto (dano primário) que engloba contusões corticais, lacerações, fragmentação óssea e lesão axonal difusa. Já o dano secundário desenvolve-se em conseqüência ao dano do impacto. Inclui lesão por hematoma intracraniano, edema, hipoxemia e isquemia (secundária ao aumento da pressão intracraniana ou ao choque) (Greenberg, 1997).

O dano primário é ocasionado pelos três tipos básicos de lesão tecidual: a compressão, o alongamento e a distorção. O dano secundário é atribuído à promoção de perda celular por conseqüência do dano cerebral primário, desenvolvendo-se após um período de horas ou dias do trauma inicial e é mediado, entre outros, por mediadores neuroquímicos: aminoácidos excitatórios, incluindo o glutamato e aspartato, que estão com níveis elevados após o TCE e peptídeos opiáceos endógenos, que contribuem para a exarcebação das lesões neurológicas pela modulação da liberação pré-sináptica dos aminoácidos excitatórios (Dawodu, 2003). Esta auto-regulação cerebral que leva ao dano secundário pode produzir complicações mais severas que o próprio dano primário, como o edema cerebral maligno, por exemplo (Greenberg, 1997).

1.3. Quadro Clínico

Considerando-se a complexidade do Sistema Nervoso Central (SNC), cada lesão tem uma manifestação clínica diferente. Alguns sintomas podem aparecer imediatamente após o trauma, outros podem se manifestar somente após dias ou semanas (CDC, 1999).

Os principais tipos de lesão relacionados ao TCE são a concussão, contusão, lesão de contra-golpe e a lesão axonal difusa (Greenberg, 1997).

A concussão define-se por uma breve perda de consciência resultante de um trauma não penetrante do SNC, sem alteração estrutural do parênquima cerebral (Greenberg, 1997). Além da perda de consciência, os sintomas incluem alterações de consciência, como dificuldade de concentração ou de tomada de decisões, alterações de humor, alteração do padrão de sono, tontura, perda de equilíbrio, náusea, hipersensibilidade à luz e som, borramento visual, perda de sentidos como olfato e paladar (CDC, 1999). A concussão é uma entidade clínica bem conhecida, mas sua fisiopatologia ainda não está definida, pois como não há evidência de lesão estrutural, nem mesmo microscópica, supõe-se que seja provocada por alterações funcionais reversíveis (McCrorry & Berkovic, 2001).

Na contusão cerebral encontramos múltiplos focos hemorrágicos na tomografia de crânio, com pouco edema circunjacente. Estes focos podem ocorrer em áreas de desaceleração súbita, com impacto do cérebro nas proeminências ósseas, como nos lobos frontal, parietal e temporal (Greenberg, 1997).

Na lesão de contra-golpe, além da lesão direta provocada no local do impacto, a força imposta à cabeça pode fazer com que o cérebro seja lançado contra o crânio na direção oposta à do impacto, com focos hemorrágicos semelhantes aos descritos acima.

A lesão axonal difusa é uma lesão primária por trauma de aceleração e desaceleração rotacional do SNC. Em sua forma mais grave, pode ter focos hemorrágicos no corpo caloso e tronco cerebral e com evidência microscópica de lesão axonal difusa, como retração axonal e degeneração das fibras dos tratos da substância branca. A lesão axonal difusa é sempre uma hipótese em casos onde o paciente entra em coma imediatamente após o trauma e não temos alteração focal na tomografia (Greenberg, 1997).

Com o objetivo de obtermos uma rápida avaliação do grau de consciência, medidas iniciais de tratamento e prognóstico (desfecho) do paciente, foram criadas escalas que são utilizadas de forma rotineira, de fácil aplicabilidade e reproduzíveis. A escala mais largamente utilizada na avaliação de distúrbios de consciência é a Escala de Coma de Glasgow. Esta escala avalia três parâmetros, a abertura ocular, a resposta verbal e a resposta motora a determinados estímulos, pontuando cada um deles. A pontuação máxima é de 15 pontos, em indivíduos alertas, e a menor pontuação possível é de 3 pontos, em indivíduos que não apresentam resposta a nenhum dos estímulos realizados. Classifica-se como TCE leve uma pontuação na Escala de Coma de Glasgow maior ou igual a 14, TCE moderado tem pontuação entre 13 e 9 e TCE grave tem pontuação menor ou igual a 8 (Greenberg, 1997).

A conduta inicial no trauma pode ser decidida em função destes pontos. O paciente com TCE leve pode manter observação domiciliar nas primeiras 24 horas, com orientação de procurar atendimento médico se aparecerem sintomas sugestivos de lesão intracraniana, como alteração do nível de consciência, vômitos, alteração na fala, alteração das pupilas, entre outros. No TCE leve não é necessária investigação inicial com exames de imagem. O paciente com TCE moderado deve ser mantido em observação hospitalar nas primeiras horas após o trauma, podendo haver deterioração do quadro neurológico, nestes casos sendo necessária investigação com exame tomográfico. No paciente com TCE grave deve ser feito o atendimento emergencial inicial, a fim de estabilizá-lo clinicamente (manutenção de via aérea, respiração e circulação), com realização de tomografia de crânio assim que possível para avaliar a necessidade de intervenção cirúrgica, monitorização da pressão intracraniana e outras medidas que se façam necessárias (Greenberg, 1997).

Podemos, também, ter uma impressão inicial do prognóstico do paciente em função da pontuação obtido na Escala de Coma de Glasgow. Em torno de 80% dos casos de TCE são classificados como leves, 10% são moderados e 10% são graves (Bruns & Hauser, 2003). Cerca de 60% dos pacientes com TCE grave têm lesão de um ou mais órgãos associada, 25% têm lesão cirúrgica e há uma incidência de 4-5% de concomitância com fratura de coluna (Greenberg, 1997). A mortalidade do TCE grave varia entre 35 e 80% dos casos, conforme os centros e populações estudados. Em relação à morbidade associada ao TCE grave, sabe-se que 100% dos sobreviventes terão algum grau de seqüela (Ghajar, 2000). As seqüelas mais comuns incluem alterações cognitivas, de processos sensoriais (visão, audição, olfato), de linguagem (expressão e compreensão), alterações comportamentais e psiquiátricas (depressão, ansiedade, mudança de personalidade, agressividade, amnésia pós-traumática). Posteriormente, pode surgir cefaléia, vertigem, déficit de atenção, alteração do padrão de sono e seqüelas físicas, como hemiparesia, hemiplegia e também epilepsia secundária (NINDS, 2002).

Podemos encontrar alguns problemas ao utilizar esta forma de avaliação. Em pacientes graves, muitas vezes a intubação da via-aérea é realizada antes da chegada à emergência, dificultando a avaliação da resposta verbal. Traumas periorbitários produzem edema que dificulta a abertura ocular. Medicamentos sedativos utilizados em politraumatizados dificultam a resposta motora. Considerando-se estas possibilidades sugere-se a documentação das pontuações separadamente, para cada um dos três parâmetros (Valadka, 1999).

Para a avaliação do prognóstico de pacientes críticos, vítimas ou não de trauma, foi desenvolvida por Knaus, em 1981, a Escala de APACHE (Acute Physiology And Chronic Health Evaluation). Em 1985, após revisão foi denominada APACHE II. São utilizadas 12 variáveis clínicas, fisiológicas e laboratoriais, coletadas nas primeiras 24 horas da internação. O APACHE II é o método universalmente utilizado em pacientes em terapia intensiva, e é capaz de prever com acurácia a gravidade de pacientes críticos (Loss *et al.*, 1997).

Com a intenção de otimizar o atendimento ao TCE e de melhor prever o desfecho, Marshall e colaboradores, em 1991, criaram uma nova classificação de TCE baseada na tomografia computadorizada de crânio (Marshall *et al.*, 1991). Esta classificação divide-se em 6 categorias, sendo elas: lesão difusa I: tomografia sem lesão visível; lesão difusa II: cisternas presentes, desvio da linha de 0-5mm e/ou alteração de densidade presente, mas sem alteração de densidade grande ou mista maior que 25ml, pode incluir fragmentos ósseos e corpo estranho; lesão difusa III: cisternas comprimidas ou ausentes, com desvio da linha de 0-5mm, mas sem alteração de densidade grande ou mista maior que 25ml; lesão difusa IV: desvio da linha média maior que 5mm, mas sem alteração de densidade grande ou mista maior que 25ml; lesão com efeito de massa evacuada: qualquer lesão evacuada

cirurgicamente; lesão com efeito de massa não evacuada: alteração de densidade grande ou mista maior que 25ml, não evacuada cirurgicamente. O prognóstico é mais reservado quanto maior a pontuação.

Para o estudo das seqüelas do TCE grave, a escala de recuperação de Glasgow (GOS – Glasgow Outcome Scale) é a mais largamente utilizada para a investigação de seqüelas dos danos cerebrais (Spettel *et al.*, 1991). Esta escala tem cinco níveis de classificação: boa recuperação, moderadamente incapaz, muito incapaz, vegetativo e morte, sendo de fácil aplicação e aceita universalmente. A principal crítica a ela é que as categorias são demasiadamente amplas e não permitem discriminar importantes mudanças clínicas. Para diminuir as limitações da escala original, foi desenvolvida a escala de recuperação de Glasgow estendida (GOS-E), esta com oito níveis de classificação: morte, estado vegetativo, incapacidade grande inferior, incapacidade grande superior, incapacidade moderada inferior, incapacidade moderada superior, boa recuperação inferior e boa recuperação superior. Comparado com o GOS, o GOS-E tem se mostrado mais sensível para mudanças em TCE leve para moderado (Wilson *et al.*, 1998; Wilson *et al.*, 2000; Choi *et al.*, 2002).

1.4. Prevenção do TCE

O TCE é um problema de saúde pública e merece a atenção das comunidades voltadas para a saúde. A mortalidade é grande e a morbidade também, sendo que muitos ficam com seqüelas incapacitantes permanentes. Por esta razão, devem ser implantadas medidas de prevenção ao TCE, muitas delas já comprovadamente eficazes, como o uso do capacete para motocicletas, o suporte para cabeça dos automóveis, uso de equipamento de segurança no trabalho e esportes (WHO, 2005).

O CDC preconiza o uso do capacete, cinto de segurança, transporte adequado para crianças em automóveis (de acordo com a idade e peso), não dirigir sob efeito de álcool ou drogas de abuso, medidas de cuidados em casa, prática de exercício regular, avaliação oftalmológica regular, guardar armas de fogo descarregadas e trancadas. Muitos estados nos Estados Unidos têm leis que obrigam o uso de capacetes em menores de 16 ou 18 anos para andar de bicicleta, patinete ou cavalo (CDC, 2004).

A Organização Mundial da Saúde tem um programa voltado ao incentivo do uso do capacete (WHO Helmet Initiative) que mostra estudos onde houve redução de mortalidade por TCE entre 20 e 45% entre os motociclistas usuários deste equipamento.

A prevenção pela sociedade deve ser empreendida por três modalidades primárias, complementares entre si. São elas o constrangimento e legislação, a educação e mudança de comportamento e a engenharia e tecnologia. Faz-se necessário o envolvimento da comunidade, a

contribuição de profissionais da saúde, pesquisadores, legisladores, educadores, profissionais de segurança e especialistas em biomecânica em associação com a mídia e a publicidade (Maier & Nock, 1999).

2. BIOMARCADORES DE DANO CEREBRAL

A identificação de marcadores bioquímicos da lesão do SNC é de crucial importância no manejo do TCE e na redução da sua morbimortalidade. Estes marcadores devem ser acessíveis, fornecer informação específica sobre as alterações patológicas que estão ocorrendo no SNC e permitir melhor monitoramento da progressão do dano secundário. Ainda, estes devem ser capazes de prever a resposta do paciente ao tratamento e contribuir na determinação do prognóstico (Pineda *et al.*, 2004). Também se pode ter benefício em utilizar os marcadores para a detecção de encefalopatia, ou aumento de pressão intracraniana em doenças sistêmicas que acometem o SNC (Vos & Verbeek, 2002).

A maioria das pesquisas nesta área têm enfatizado a proteína S-100 e a enolase neurônio específica (NSE) (Pineda *et al.*, 2004). Ambas têm sido referidas como marcadores de dano celular do SNC humano (Raabe & Seifert, 2000; De Kruij *et al.*, 2002). No entanto não há estudos suficientes que comparem os níveis destes marcadores e sua relação como fatores prognóstico no desfecho do TCE.

A proteína S-100 beta é sintetizada por astrócitos e células de Schwann no SNC. É uma proteína de ligação ao cálcio, sendo 95% do total sob a isoforma S-100 beta e 5% sob a isoforma S-100 alfa. Após um trauma encefálico, os níveis séricos estão aumentados, tendo seu pico dentro das 6 horas após o trauma (De Kruij *et al.*, 2002). Dimopoulou *et al.* (2003) avaliaram níveis séricos da proteína S-100 beta em pacientes com morte encefálica induzida por TCE. Na admissão na emergência, os indivíduos que vieram a ter morte encefálica tinham níveis médios mais altos da proteína do que aqueles que não evoluíram para este desfecho. Woertgen *et al.* (1999) compararam a avaliação clínica, radiológica (pelos critérios de Marshall) e a S-100 beta como fatores prognósticos no TCE grave e concluíram que a proteína é um preditor adicional de desfecho. Regner *et al.* (2001) demonstraram que níveis séricos elevados de S-100 beta constituíram um marcador preditivo de desfecho desfavorável no TCE grave, independente da existência de lesões extracerebrais associadas. Pleines *et al.* (2001) demonstraram que a elevação dos níveis de S-100 beta no líquido depende da extensão do dano e deve ser utilizada como preditor do resultado do TCE.

A NSE, outro marcador bem estudado, é uma enzima glicolítica presente quase que exclusivamente em neurônios e células neuroendócrinas, mas também é encontrada em fibras musculares lisas, tecido adiposo e células tumorais (De Kruij *et al.*, 2002; Vos & Verbeek, 2002). Guan

et al. (2003) compararam os valores séricos de NSE com a gravidade do TCE, considerando a Escala de Coma de Glasgow. Observaram que os valores de NSE aumentavam conforme a gravidade do trauma. De Kruijk *et al.* (2001) referiram que a proteína S-100 beta é um marcador melhor de dano cerebral em TCE leve do que a NSE. Stalnacke *et al.* (2005) encontraram ambos marcadores aumentados na primeira coleta pós TCE, mas a proteína S-100 beta teve uma correlação mais forte com o desfecho, morbidade e tontura.

As proteínas heat shock (Hsp) têm um papel na formação de proteínas, como a translocação, formação dos complexos protéicos, entre outros. Com estas funções elas são capazes de proteger as células do dano por estresse ambiental. Da Rocha *et al.* (2005) investigaram o papel da proteína Hsp 70 como marcador preditivo de mortalidade no TCE grave em homens. Foi demonstrado que níveis séricos de Hsp 70 até 20 horas após o trauma se correlacionaram com desfecho fatal. O valor preditivo da Hsp 70 no TCE grave em homens apresentou uma sensibilidade de 70% e especificidade de 80%, sugerindo que a Hsp 70 sérica possa ser um promissor biomarcador no TCE grave.

Também já foram avaliados mediadores de inflamação, sugerindo uma predisposição pró-inflamatória do SNC (Maier *et al.*, 2005), e marcadores de apoptose, como o citocromo c, que se mostrou aumentado no líquido de crianças com TCE (Satchell *et al.*, 2005). Os hormônios relacionados à inflamação também são biomarcadores de traumatismos. Em um estudo com 20 crianças que apresentavam fratura de membro superior, observou-se aumento dos níveis plasmáticos de adrenalina, noradrenalina, cortisol e vasopressina (Rainer *et al.*, 1999). A aldosterona pode ser utilizada como um marcador bioquímico do estágio agudo do trauma craniano (Takahashi *et al.*, 1989).

2.1. Fator von Willebrand

O fator von Willebrand (VWF) é um conhecido marcador de lesão endotelial, sendo que a sua concentração aumenta em resposta a vários estímulos (Yokota *et al.*, 2002). Este fator é uma glicoproteína multimérica grande, produto do gene VWF, localizado no cromossomo 12 (Kessler, 2004). É uma proteína adesiva que promove a iniciação e progressão da formação do trombo no local de dano vascular, por interação com componentes da matriz extracelular e receptores de plaquetas (Mendolicchio & Ruggeri, 2005).

2.1.1. Mecanismos de homeostase sanguínea

Na camada íntima dos vasos encontra-se uma monocamada de células endoteliais com propriedades anticoagulantes que promovem a circulação sanguínea em situações normais. Em caso

de lesão da parede do vaso, estas células são ativadas e liberam-se da camada íntima para a subendotelial, com a formação do coágulo, que consiste de plaquetas e fibrina. A ativação das plaquetas e das fibrinas ocorrem simultaneamente e de forma independente. Após a formação do coágulo ocorre o reparo do vaso, com trombólise e recanalização. Na presença de endotélio intacto, as plaquetas são repelidas da parede e circulam livremente. Prostaciclina e óxido nítrico estão entre os potentes inativadores de plaquetas e vasodilatadores, e são produzidos pelas células endoteliais com a finalidade de promover a fluidez do sangue. Quando há lesão do vaso estas substâncias são perdidas e as plaquetas aderem no local. A adesão plaquetária (interação plaqueta-vaso) é mediada pelo fator von Willebrand, que ancora as plaquetas à parede do vaso pela ligação do receptor de plaquetas localizado na glicoproteína de membrana Ib. As plaquetas aderidas sofrem uma “reação de liberação”, na qual liberam adenosina difosfato (ADP) e sintetizam tromboxano A2 a partir do ácido aracdônico pela reação da ciclo-oxigenase. Estas substâncias agem em conjunto para recrutar e ativar mais plaquetas da circulação para o sítio do dano. As plaquetas ativadas expõem sítios de ligação para o fibrinogênio através da formação do complexo das glicoproteínas de membrana IIb-IIIa. No processo de agregação plaquetária (interação plaqueta-plaqueta), o fibrinogênio, ou o fator von Willebrand quando situação de fluxo aumentado, mediam a formação de um coágulo oclusivo (Schafer, 2004).

2.1.2. Fator von Willebrand como marcador de lesão endotelial

Estudos recentes têm sido feitos com intuito de correlacionar níveis plasmáticos de VWF com o prognóstico no trauma. Yokota *et al.* (2002) realizaram um estudo relacionando dois marcadores, a trombomodulina e o VWF, ao TCE grave. Concluíram que ambos são bons indicadores de dano cerebral e de ativação cerebral no trauma. Estudo com pacientes com trauma pulmonar grave encontrou correlação entre níveis mais altos de VWF e insuficiência respiratória aguda e morte, bem como correlação entre os níveis iniciais de VWF e as pontuações de ISS, APACHE II e LIS (escalas que avaliam parâmetros clínicos e laboratoriais para determinação de prognóstico) (Siemiatkowski *et al.*, 2000). Outro estudo, que avaliou a coagulação e fibrinólise em crianças pós-TCE, evidenciou aumento da hipercoagulabilidade nas primeiras 24 horas, com aumento significativo do VWF e fibrinogênio, com pico na segunda semana (Becker *et al.*, 1999).

Também tem sido pesquisada a interação do VWF com lesão endotelial não-traumática. Garcia-Fernandez *et al.* (2000) avaliaram distúrbios hemostáticos em pacientes com Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS) e insuficiência renal aguda e detectaram níveis significativamente mais altos do VWF em pacientes com SIRS, sugerindo um desequilíbrio da homeostasia nestas doenças. Outro estudo que buscava correlação do VWF com lesão endotelial,

identificou níveis altos do fator como sendo de alto risco para o desenvolvimento de doença vascular aterosclerótica e na maioria das vasculites, os níveis altos também são relacionados à doença mais grave e morte (Blann, 1993).

JUSTIFICATIVAS E OBJETIVOS

O trauma representa a principal causa de morte em pessoas de 1 a 44 anos de idade, e o traumatismo craniano costuma estar presente em pacientes politraumatizados (CDC, 2002). No Brasil, aproximadamente 300 pessoas morrem por dia em decorrência do trauma. Além de ser a principal causa de morte, o TCE também tem uma morbidade alta, levando a seqüelas neurológicas permanentes, incapacidade para o trabalho e gerando custos de internação, reabilitação e previdenciários muito elevados, considerando-se que a maioria dos acometidos são jovens. Apesar deste alto impacto do trauma na saúde pública, pouco progresso tem sido feito em termos de manejo clínico e terapêutico nas últimas décadas e pesquisa escassa tem sido direcionada para as vítimas de TCE. A investigação de marcadores bioquímicos poderá auxiliar na estratificação de pacientes de maior risco, guiando, assim, as estratégias terapêuticas e orientação às famílias.

Vários marcadores já foram estudados com esta finalidade, mas até o momento não há um consenso sobre o assunto, e mais opções continuam sendo investigadas. O fator von Willebrand (VWF) é um conhecido marcador de lesão endotelial. Alguns estudos foram feitos sugerindo que pode ser um biomarcador de prognóstico no trauma do SNC. Desta forma, o presente estudo tem como objetivo investigar o papel do fator von Willebrand como potencial marcador prognóstico em pacientes que sofreram TCE grave, comparando seus níveis plasmáticos com os critérios diagnósticos clínicos e de imagem e com o desfecho clínico dos pacientes: alta da Unidade de Tratamento Intensivo ou óbito.

ARTIGO

Plasma von Willebrand factor as a biomarker in severe traumatic brain injury

Este artigo refere-se ao estudo do fator von Willebrand como biomarcador prognóstico em pacientes que sofreram TCE grave e será submetido à revista *Journal of Neurotrauma*.

Plasma von Willebrand factor as a biomarker of severe traumatic brain injury

ABSTRACT

Biochemical markers of cellular stress/injury have been proposed to indicate outcome after head injury. The aim of the present study was to determine whether plasma von Willebrand factor (VWF) levels correlate with primary outcome and with radiological findings in severe traumatic brain injury (TBI). Forty four male patients, victims of severe TBI, were analyzed. Clinical outcome variables of severe TBI comprised survival and neurological assessment using the Glasgow Outcome Scale (GOS) at the intensive care unit discharge. Computerized tomography (CT) scans were analyzed according to Marshall CT classification. Three consecutive venous blood samples were taken: first sample (11.4 ± 5.2 hours after trauma, mean \pm SD), 24h and 7 days later. The result of mean plasma VWF concentration was significantly higher in the TBI group (273 U/dL) than in the control group (107 U/dL) ($p < 0.001$). Severe TBI was associated with a 50% mortality rate. Nonsurvivors presented significantly higher APACHE II scores than survivors (nonsurvivors mean: 18.8; survivors mean: 12.7) ($p < 0.001$), and also presented higher scores in Marshall CT classification (nonsurvivors mean: 4.6; survivors mean: 2.7) ($p < 0.05$). There was a significant positive correlation between plasma levels at second plasma sampling and scores in Marshall CT classification ($p < 0.05$). The sensitivity of plasma VWF concentration predicting mortality according to the cut-off of 234 U/dL was 64%, with a specificity of 68%. Therefore, VWF increase after trauma and may be a potential prognostic marker for TBI outcome.

Key words: biomarkers; von Willebrand factor; computerized tomography; outcome; traumatic brain injury

INTRODUCTION

Trauma is the leading cause of death in individuals between 1 and 44 years old. Brain injury contributes significantly to the outcome in approximately one-half of these deaths (Kraus et al., 1996). Severe traumatic brain injury (TBI) is associated with a 35-70% mortality rate, and as a rule, 100% of the survivors are, to a greater or lesser extent, permanently disabled. Reliable outcome prediction from severe TBI is still unresolved. At the emergency room there are clinical scores such as the Glasgow Coma Scale (GCS), and a radiologic measure, the Marshall computerized tomography (CT) classification, that are well established, but there are still some controversy about the prognostic efficiency of these tools (Woertgen et al., 1999). The Acute Physiology And Chronic Health Evaluation (APACHE II) is useful to predict outcome in critical patients, victims or not of trauma, at the intensive care unit (ICU). The Glasgow Outcome Scale (GOS) has become the most widely used scale for assessing outcome after head injury and non-traumatic acute brain insults (Wilson et al., 1998). However, the GOS is increasingly recognized as having important shortcomings (Wilson et al., 1998). Additionally, an early assessment of patients' brain damage may be quite difficult during stay at the ICU. And also, the rapid detection of brain injury is an important parameter in the management of cerebrovascular accidents (Pelsers and Glatz, 2005). Thus, biochemical markers may be able to assist in the detection of TBI (Berger et al., 2005) and provide information of the pathologic disruptions occurring in the central nervous system, allow improved monitoring of the progression of secondary damage and contribute to prediction of outcome (Pineda et al., 2004).

von Willebrand factor (VWF) is a known biomarker of endothelial injury, and the serum level of VWF increases in response to various stimuli (Yokota et al., 2002). VWF is a large multimeric glycoprotein product of the VWF gene, located on chromosome 12 (Kessler, 2004). This adhesive protein mediates the initiation and progression of thrombus formation at sites of vascular injury by means of specific interactions with extracellular matrix components and platelet receptors (Mendolicchio and Ruggeri, 2005). A recent study has proposed that an elevated serum level of VWF suggests endothelial activation in severe head injury (Yokota et al., 2002). Further, Siemiatkowski et al. (2000) observed significant correlations between VWF concentration and scores of APACHE II, injury severity scores (ISS) and lung injury scores (LIS), suggesting that increased concentrations of VWF in plasma are predictive of poor prognosis in patients following severe trauma. The correlation between VWF and non-traumatic injury has also been studied. Patients with systemic inflammatory response syndrome

(SIRS) presented significantly high values of VWF and other factors related to endothelial damage (Garcia-Fernandez et al., 2000). Indeed, high levels were found in all major risk factors of atherosclerosis and in most of the inflammatory vasculitides, and the highest levels were also associated with more severe disease and mortality risk (Blann, 1993).

In this sense, the aim of this study was to determine whether there is a positive correlation among plasma von Willebrand factor concentration and primary outcome, clinical and radiological measures following severe TBI in males.

MATERIAL AND METHODS

Patients and control subjects

Ethical approval of the study protocol was granted by the Medical Research Ethics Board of the Hospital Municipal de Pronto Socorro de Porto Alegre, Hospital Cristo Redentor and Universidade Luterana do Brasil. From August 2003 to March 2004, 44 consecutive male patients, victims of severe TBI (GCS 3-8 at emergency room admission), without previous history of neurological or psychiatric disease, were enrolled in this prospective study. Due to unconsciousness of the patients, informed consent was obtained from the patients' relatives who were instructed about the purpose of this study.

On admission to the trauma emergency room, patients were initially evaluated, resuscitated (with crystalloids) and underwent emergency surgery when necessary. Only the patients transferred to the trauma ICU within 24h of the head injury were included in the study. Clinical outcome variables of severe TBI comprised survival, time for ICU discharge and neurological assessment using the GOS at the ICU discharge. At admission in trauma ICU, APACHE II scores were determined and the circulatory function and GCS scores were monitored. All patients were sedated and mechanically ventilated. Corticosteroids were not administered. Previous studies established gender differences in the pathophysiology of and outcome after acute neurological injury (Roof and Hall, 2000) or systemic trauma (Jarrar *et al.*, 2000). Lesser susceptibility to postischemic and posttraumatic brain injury in females has been observed (Jarrar *et al.*, 2000; Roof and Hall, 2000). Thus, to avoid interference of possible sex-dependent differences in outcome following brain trauma, only male were enrolled in the study.

Brain CT scans were performed within 24h after the TBI and analyzed according to Marshall CT classification as described previously by Marshall *et al.* (1991): score I: no visible intracranial pathology seen on CT scan; score II: cisterns present with midline shift 0 to 5 mm, lesion densities present, but no high or mixed density lesion >25mL; score III: cisterns compressed or absent with midline shift 0 to 5

mm, lesion densities present, but no high or mixed density lesion >25mL; score IV: midline shift >5mm, no high or mixed density lesion >25mL; score V: any lesion surgically evacuated; and score VI: high or mixed density lesion > 25mL, not surgically evacuated.

To establish normal values of plasma VWF, a control group was included consisting of 17 healthy male volunteers without history of brain damage (median age 30 years; range 21-54). Blood sampling was achieved after obtaining informed consent.

Blood sampling and biochemical measurements

Venous blood samples were taken, always between 7 and 8 a.m., from the cubital vein at admission in the ICU (first sample); 24h later (if the patient was still in the ICU); and 7 days later (if the patient persisted in the ICU). Blood samples were collected with EDTA, centrifuged at 3000 rpm for 10 min at room temperature, and frozen in aliquots at -20°C until batch evaluation. Plasma VWF antigen (VWF:Ag) levels were measured by an in-house enzyme-linked immunosorbent assay. To avoid possible differences in hemodilution among the groups studied, total serum protein concentration of each sample was measured and biochemical data were normalized to a total serum protein concentration of 70mg/mL. Finally, the circulatory status and the kidney function were monitored to exclude impaired protein excretion.

Statistical Analysis

Group means values were compared using Mann-Withney U test. Frequencies were compared between groups using Fisher exact test or chi-square when indicated. The correlation between: (i) plasma VWF concentrations and severe TBI primary outcome (dead/alive); (ii) plasma VWF concentrations and APACHE II scores; and (iii) plasma VWF concentrations and multitrauma (present/not present) was assessed using Spearman's method for non-parametric data. The extent to which the VWF concentrations differed between individuals surviving or dying in the ICU after severe TBI was assessed using receiver operator characteristics (ROC) plots. The ROC plot is obtained by calculating the sensitivity and specificity for every distinct observed data value, and plotting sensitivity against 1 - specificity. The ROC curve was used to evaluate the optimal cut-off values measured in the first sampling for prediction of unfavorable outcome. A cut-off point on the curves was chosen to attain the best compromise between sensitivity and specificity for death in the ICU.

RESULTS

Table 1 shows characteristics of the TBI patients stratified according to primary outcome measure (survivors/nonsurvivors). The mean age was 30 (range 21 - 54) years in the control group and 34 (18 – 64) years in the severe TBI group. There were no significant differences concerning age, initial GCS, first blood sampling time or total serum protein between survivors and nonsurvivors (Table 1). Severe TBI was associated with a 50% mortality rate, and the median time between traumatic event and death was 3 days (range 1-15; Fig. 1A). In contrast, in the survivors subgroup, the median time between trauma and outcome was 11.5 days (range 2 - 39), and most patients (82%) were severely disabled (GOS <4) at ICU discharge. Nonsurvivors presented significantly higher APACHE II scores determined at admission in the trauma ICU (12.7 ± 3.9 and 18.8 ± 4.9 , mean \pm SD, for survivors and nonsurvivors, respectively) (Mann-Whitney U test, $p < 0.001$; Fig 1B). Nonsurvivors also presented higher scores (mean: 4.6) in Marshall CT classification than nonsurvivors (mean: 2.7) (Mann-Whitney U test, $p < 0.05$; Fig 1C). Sixty one percent of the patients presented associated injuries, especially chest and extremity injuries. Survivors had more associated injuries (77%) than nonsurvivors (45%), with significantly correlation between the presence of associated extracranial injuries and outcome ($p < 0.05$).

Plasma VWF concentration was measured for all patients at admission in the ICU. The mean time for first sampling was 11.4h (4.2 – 20h) after injury. The control group presented a mean VWF plasma concentration of 107 U/dL (Fig 2). In TBI patients, the mean plasma level in the first sample was 273 U/dL, presenting 230 U/dL in the survivors subgroup and 316 U/dL in the nonsurvivors subgroup. TBI group values were significantly higher when compared to control group, as well as for survivors and nonsurvivors subgroups in comparison to the control group ($p < 0.001$). The mean level remained high in the subsequent determinations in TBI patients, with the higher concentration in the last measure, at the seventh day (mean 326 U/dL). There was no correlation between initial plasma VWF concentrations and outcome in TBI group. There was a significant correlation between plasma VWF concentrations at the second sampling time and Marshall CT classification scores, with higher concentrations in patients with higher scores on CT scan (Spearman's $\rho = 0.564$, $p = 0.012$; Fig. 3A). There was no significant correlation plasma VWF concentrations and either APACHE II scores or the presence of associated extracranial injuries (Fig. 3B).

We plotted a ROC curve and searched for a cut-off point that would ensure detection of the highest proportion of individuals with potentially fatal outcome and the least compromise of specificity. Therefore, a cut-off point of 234.6 U/dL initial plasma VWF concentration was chosen. The sensitivity of

plasma VWF concentration predicting mortality according to the cut-off is 0.636, and specificity of 0.682 (Fig. 4). The area under the curve for initial plasma concentration is 0.634 ($p=0.074$).

DISCUSSION

In this study, we evaluated the potential role of plasma VWF as an early predictor marker of outcome. Moreover, we correlated plasma VWF with clinical and radiological measures in adult male patients with severe TBI. Biochemical markers of cellular stress/injury have been proposed to indicate outcome in the early phase after head injury. Early selection of patients at risk for deterioration after acute brain injury is crucial to improve current treatment strategies, since when deterioration becomes clinically evident, the patient may be out of the window of potential benefit. Unreliable clinical prognostic variables make early outcome predictions quite difficult.

We found an increased plasma VWF level in all severe TBI patients when compared to the control group ($p<0.001$). Our data are in accordance with a previous study suggesting that VWF could indicate evolving cerebral injury and endothelial activation in severe TBI (Yokota et al., 2002). We also found that the mean plasma level remained elevated in subsequent determinations among TBI patients, with the highest concentration being detected at the last measure (seventh day). Becker et al. (1999) studied the post-trauma hemostatic disturbances in children with severe TBI, and also found VWF significantly increased 24h after admission, with a peak of level within the second week.

As reported previously for countries in development (Lai et al., 1998), our study presented a 50% mortality rate in severe TBI patients, with death usually occurring within 3 days (Masson et al., 2003), and as consequence of cerebral injury. Also, Ghajar (2000) reported that most deaths from severe TBI occurring in the first week are caused by intracranial hypertension. Sixty one percent of the patients presented associated injuries. Nevertheless, survivors had more associated injuries (77%) than nonsurvivors (45%), with significant positive correlation between the presence of associated extracranial injuries and good change of surveillance. This could be explained by the fact that those associated injuries were predominantly of extremity, that do not increase mortality, and chest injuries. Noteworthy, Leone et al. (2003) reported that pulmonary contusion does not appear to increase the morbidity and mortality of multiple trauma patients with head trauma.

We can assume that, as VWF is a marker of endothelial injury, the higher prevalence of extracerebral injuries in survivors increased plasma VWF in these patients. Accordingly, Siemiatkowski et al. (2000) measured plasma VWF in posttraumatic acute lung injury and observed increased concentrations, with significant correlations between initial VWF concentration and APACHE II and

injury severity score (ISS). We further recognize that the contamination of plasma VWF by multitrauma compromised the value of this factor to predict outcome in severe TBI in this study.

As expected, initial APACHE II scores and Marshall CT classification scores were significantly correlated to fatal outcome (Marshall et al., 1991; Zagara et al., 1992; Lai et al., 1998). There was a trend of positive correlation between plasma VWF concentrations and Marshall CT classification scores ($p=0.054$). Yokota et al. (2002) evaluated the degree of cerebral endothelial activation or injury based on type of head injury, and observed values of VWF in focal brain injury significantly higher than those in diffuse axonal injury. Considering that focal brain injuries usually have higher scores on Marshall CT classification than diffuse axonal injury, we are able to presume that these data are in agreement.

Initial plasma VWF concentrations above 234.6 U/dL (cut-off value) predicted mortality with a sensitivity of 64%, and specificity of 68%. The cut-off value to determine an abnormal plasma VWF concentration was not predefined, thus, the value that would detect the highest proportion of individuals with potentially fatal outcome and the least compromise of specificity was chosen. The most promising markers in the literature are neuron-specific enolase (NSE) and protein S100b. Evidence has shown the clinical value of early increases of serum S100b in predicting mortality following acute brain injuries (Regner et al., 2001; Mussack et al., 2002; Petzold et al., 2002). Reported predictive values for protein S100b ranges from 70-90% of sensitivity and 80-98% of specificity, within 48h of severe TBI (Raabe et al., 2003). Additionally, we previously reported initial Hsp70 serum level after severe TBI, and a sensitivity of 70% and specificity of 80% were found, suggesting that increased serum level of Hsp70 is a predictor of unfavorable outcome (Da Rocha et al., 2005).

In conclusion, this study suggests that plasma VWF is a biomarker of severe TBI. Studies in which isolated TBI and multitrauma were analyzed separately may elucidate this question. Increased plasma VWF may constitute a marker of focal brain injury in severe TBI. Further studies will elucidate if plasma VWF is a reliable biomarker of secondary neurologic injury following severe TBI.

Acknowledgments

We acknowledge the Scientific Committee of the Hospital Municipal de Pronto Socorro Porto Alegre and Hospital Cristo Redentor de Porto Alegre, and the financial support of CNPq. We also thank Dr. Antônio Marques Pereira, Dr. Edson Rodrigues Filho, Sizette T. Longaray, Janete M. Bitsch, and Rodrigo C. Sulbach for technical assistance.

REFERENCES

- BECKER, S., SCHNEIDER, W., KREUZ, W., JACOBI, G., SCHARRER, I., and NOWAK-GOTTL, U. (1999). Post-trauma coagulation and fibrinolysis in children suffering from severe cerebro-cranial trauma. *Eur. J. Pediatr.* **158**, S197-202.
- BERGER, R.P., ADELSON, P.D., PIERCE, M.C., DULANI, T., CASSIDY, L.D., and KOCHANNEK, P.M. (2005). Serum neuron-specific enolase, S100B, and myelin basic protein concentrations after inflicted and noninflicted traumatic brain injury in children. *J. Neurosurg.* **103**, 61-68.
- BLANN, A.D. (1993). Is raised von Willebrand factor a marker of endothelial cell damage? *Med. Hypotheses* **41**, 419-424.
- DA ROCHA, A.B., ZANONI, C., FREITAS, G.R., et al. (2005). Serum Hsp70 as an early predictor of fatal outcome after severe brain injury in males. *J. Neurotrauma* **22**, 966-977.
- GARCIA-FERNANDEZ, N., MONTES, R., PURROY, A., and ROCHA, E. (2000). Hemostatic disturbances in patients with systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and associated acute renal failure (ARF). *Thromb. Res.* **100**, 19-25.
- GHAJAR, J. (2000) Traumatic brain injury. *Lancet* **356**, 923-929.
- JARRAR, D., WANG, P., CIOFFI, W.G., BLAND, K.I., and CHAUDRY, I.H. (2000). The female reproductive cycle is an important variable in the response to trauma-hemorrhage. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **279**, H1015-1021.
- KESSLER, C.M. (2004). Hemorrhagic disorders: Coagulation factor deficiencies. In: GOLDMAN, L., AUSIELLO, D. editores. *CECIL Textbook of Medicine*. 22nd edition. Philadelphia: Saunders, p. 1069-1078.
- KRAUS, J.F., MACARTHUR, D.L., SILVERMAN, T.A., et al. (1996). Epidemiology of brain injury, in: *Neurotrauma*. R.K. Narayan, J.E. Wilberger, Jr., and J.T. Povlishock (eds), Mc-Graw-Hill: New York, pps. 13–30.
- LAI, Y.C., CHEN, F.G., GOH, M.H., and KOH, K.F. (1998). Predictors of long-term outcome in severe head injury. *Ann. Acad. Med. Singapore* **27**, 326–331.
- LEONE, M., ALBANASE, J., ROUSSEAU, S., et al. (2003). Pulmonary contusion in severe head trauma patient: impact on gas exchange and outcome. *Chest* **124**, 2261–2266.
- MARSHALL, L.F., MARSHALL, S.B., KLAUBER, M.R., et al. (1991). A new classification of head injury based on computerized tomography. *J. Neurosurg.* **75**, S14-20.
- MASSON, F., THICOIPE, M., MOKUI, T., AYE, P., ERNY, P., and DABADIE, P. (2003). Epidemiology of traumatic comas: a prospective population-based study. *Brain Inj.* **17**, 279–293.

- MENDOLICCHIO, G.L., and RUGGERI, Z.M. (2005). New perspectives on von Willebrand factor functions in hemostasis and thrombosis. *Semin. Hematol.* **42**, 5-14.
- MUSSACK, T., BIBERTHALER, P., KANZ, K., et al. (2002). Serum S-100B and interleukin-8 as predictive markers for comparative neurologic outcome analysis of patients after cardiac arrest and severe traumatic brain injury. *Crit. Care Med.* **30**, 2669–2674.
- PELSERS, M.M., and GLATZ JF. (2005). Detection of brain injury by fatty acid-binding proteins. *Clin. Chem. Lab. Med.* **43**: 802-809.
- PETZOLD, A., GREEN, A.J.E., KEIR, G., et al. (2002). Role of serum S100B as an early predictor of high intracranial pressure and mortality in brain injury: a pilot study. *Crit. Care Med.* **30**, 2705–2710.
- PINEDA, J.A., WANG, K.K., and HAYES, R.L. (2004). Biomarkers of proteolytic damage following traumatic brain injury. *Brain Pathol.* **14**, 202-209.
- RAABE, A., KOPETSCH, O., WOSZCZYK, A., LANG, J., and GERLACH, R. (2003). Serum S100B protein as a molecular marker in severe traumatic brain injury. *Restor. Neurol. Neurosci.* **21**, 159–169.
- REGNER, A., KAUFMAN, M., FRIEDMAN, G., and CHEMALE, I. (2001). Increased serum S100_β protein concentrations following severe head injury in humans: a biochemical marker of brain death? *NeuroReport* **12**, 691–694.
- ROOF, R.L., and HALL, E.D. (2000). Gender differences in acute CNS trauma and stroke: neuroprotective effects of estrogen and progesterone. *J. Neurotrauma* **17**, 367–388.
- SIEMIATKOWSKI, A., KLOCZKO, J., GALAR, M., and CZABAN, S. (2000). von Willebrand factor antigen as a prognostic marker in posttraumatic acute lung injury. *Haemostasis* **30**, 189-195.
- WILSON, J.T.L., PETTIGREW, L.E.L., and TEASDALE, G.M. (1998). Structured interviews for the Glasgow Outcome Scale and the Extended Glasgow Outcome Scale: guidelines for their use. *J. Neurotrauma* **15**, 573–585.
- WOERTGEN, C., ROTHOERL, R.D., METZ, C., and BRAWANSKI, A. (1999). Comparison of clinical, radiologic, and serum marker as prognostic factors after severe head injury. *J. Trauma* **47**, 1126-1130.
- YOKOTA, H., NAOE, Y., NAKABAYASHI, M., et al. (2002). Cerebral endothelial injury in severe head injury: the significance of measurements of serum thrombomodulin and the von Willebrand factor. *J. Neurotrauma* **19**, 1007-1015.
- ZAGARA, G., SCARAVILLI, P., MASTORGIO, P., and SEVESO, M. (1992). Validation of a prognostic system in severe brain-injured patients. *J. Neurosurg. Sci.* **35**, 77–81.

Table 1. Characteristics of the traumatic brain injury study population (TBI) and stratified for the primary outcome measure (survivors/nonsurvivors).

	All patients mean (range)	Survivors mean \pm SD	Nonsurvivors mean \pm SD
Number of patients	44	22	22
Age, years	34 (18-64)	36 \pm 11.7	38 \pm 12.8
First sampling time following injury (ICU admission), hours	11.4 (4.2-20)	12.8 \pm 5.6	10.1 \pm 4.5
Total serum protein (mg/mL)	52.1 (30-80)	53.4 \pm 9.2	50.8 \pm 12.2
GCS at hospital admission	5.7 (3-8)	5.9 \pm 2.5	5.5 \pm 1.6
Systolic blood pressure	127 (71-198)	134 \pm 21	123 \pm 33
APACHE II scores*	15.7 (7-28)	12.7 \pm 3.5	18.8 \pm 4.8
Marshall CT classification scores **	3.6 (1-6)	2.7 \pm 0.5	4.6 \pm 0.2
Mechanism of injury (%)			
Motor vehicle accident	50%	45,4%	54,5%
Auto-pedestrian	22,7%	27,2%	18,1%
Fall	18,1%	18,1%	18,1%
Assault	9%	9%	9%
Craniotomy, n (%)	15 (34%)	5 (22.7%)	10 (45.4%)
Time between trauma and outcome, days	8.5 (1-22)	13.2 \pm 9.5	3.8 \pm 3.8
GOS at discharge from ICU	1.9 (1-4)	2.9 \pm 0.7	1 \pm 0.0
Associated injuries, n (%) **	27 (61.3%)	17 (77%)	10 (45.4%)

* Significant differences between survivors and nonsurvivors ($p < 0.001$)

** Significant differences between survivors and nonsurvivors ($p < 0.05$)

Fig. 1. Outcome following severe traumatic brain injury (TBI) (A), correlation between APACHE II scores and survival (B), and correlation between Marshall CT scores and survival (C). TBI individuals were grouped according to outcome: ICU discharge (n = 22) or death (n = 22). There was significant correlation between APACHE II scores and survival ($p < 0.001$) and significant correlation between Marshall CT classification scores and outcome ($p < 0.05$).

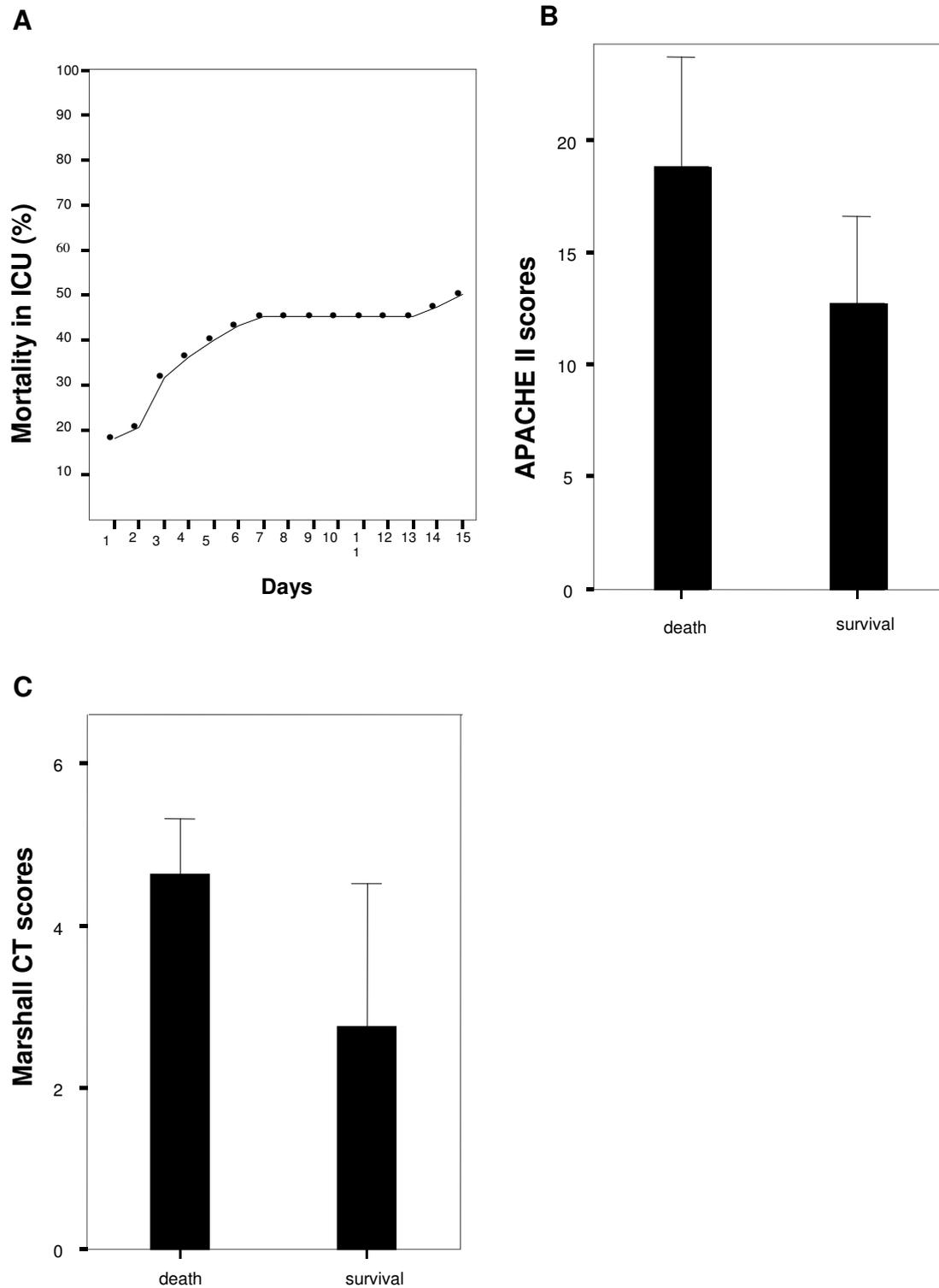


Fig. 2. VWF concentrations in the plasma of control subjects and severe TBI patients. Plasma VWF concentrations were determined at admission at ICU, 24h later and 7 days later in the TBI group. TBI patients were evaluated as the whole group (total) and according to outcome (survivors and death).
*All significantly different from control group ($p < 0,001$).

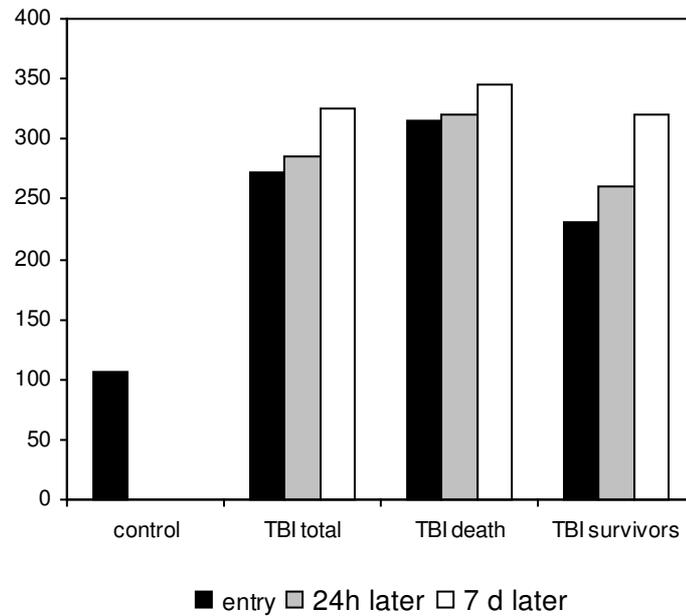


Fig. 3. Correlation between plasma VWF levels 24h after admission at hospital and either Marshall CT scores (A) or presence of associated injury or isolated TBI (B). There was a significant correlation between Marshall CT scores and plasma VWF levels ($p < 0.05$). There was no significant correlation between the presence of associated injury and plasma VWF levels

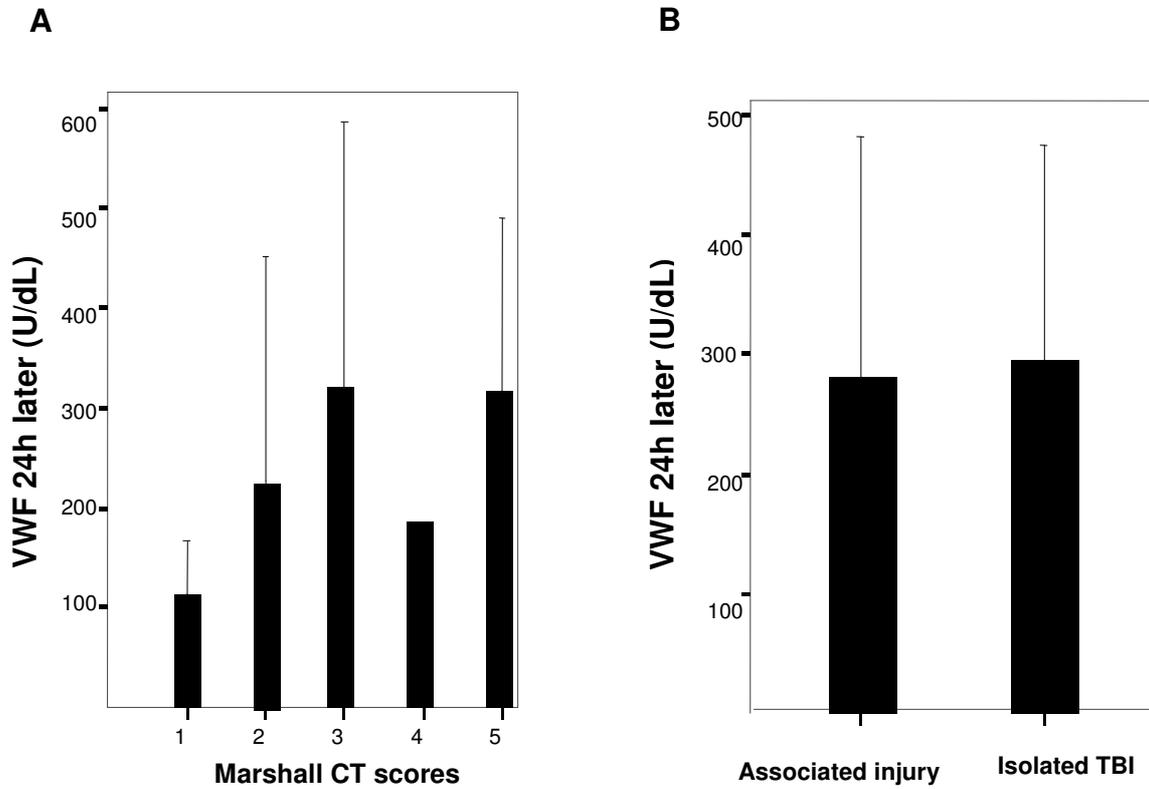
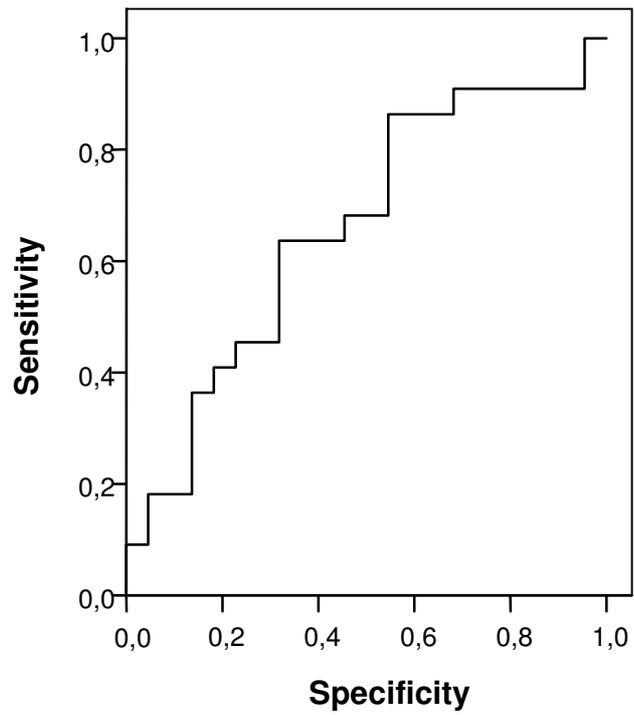


Fig. 4. Receiver operator characteristics (ROC) curves of VWF levels for predicting fatal outcome following severe traumatic brain injury. Plasma VWF levels at admission in the ICU. The most appropriate cutoff for sensitivity and specificity is indicate and equals 234.6%.



CONCLUSÕES

1. Este estudo mostrou que os níveis plasmáticos do VWF aumentaram significativamente em indivíduos que sofreram TCE grave.
2. O VWF não se demonstrou um bom marcador de desfecho, considerando que não houve diferença significativa entre os subgrupos de indivíduos com TCE grave, separados como alta da UTI ou óbito.
3. O subgrupo de pacientes com TCE grave com desfecho favorável (alta da UTI) teve significativamente mais politrauma associado do que o subgrupo de pacientes que foi a óbito. Como o VWF é marcador de lesão endotelial, as lesões associadas podem ter elevado os níveis de VWF nestes pacientes, gerando um fator de confusão na amostra. Novos estudos devem ser realizados, avaliando separadamente pacientes com TCE isolado e politrauma para poder determinar o valor do VWF como preditor de prognóstico.
4. Níveis plasmáticos aumentados do VWF podem sugerir lesão focal cerebral no TCE grave, de acordo com a correlação existente entre os níveis de VWF e as pontuações da classificação de Marshall.

PERSPECTIVAS

A busca por um marcador biológico que, juntamente com os já consagrados métodos de determinação de prognóstico como a escala de coma de Glasgow e a classificação de Marshall dos estudos de imagem, possa aumentar a sensibilidade e a especificidade destes no momento do atendimento do paciente com TCE, continua. Até o momento, os marcadores que se mostraram mais promissores foram a proteína S-100 beta e a enzima NSE. Ambas acessíveis e com rápida resposta, podendo fornecer informações adicionais sobre o desfecho nas horas iniciais após o trauma, com valores de sensibilidade para prever o desfecho entre 70-90% e especificidade de 80-98%, mas ainda não estão consagrados como definitivos. Novos marcadores têm sido identificados e também se mostram promissores, como a proteína Hsp 70, que em um estudo atingiu níveis de especificidade e sensibilidade semelhantes aos dos marcadores acima (Da Rocha *et al.*, 2005).

Quanto ao VWF, mais pesquisas devem ser feitas. O presente estudo evidenciou a importância da diferenciação entre grupos com TCE isolado e com politrauma. Além disso, demonstrou que os níveis de VWF estão correlacionados com a extensão da lesão, avaliada através dos escores da classificação de Marshall.

Linhas de pesquisa diversas têm sido realizadas sobre o tema, incluindo alterações genotípicas, associação de diferentes técnicas, como dosar biomarcadores por PET scan, e estudos de proteômica.

Um estudo identificou alterações genotípicas da proteína p53 influenciando o desfecho dos pacientes. O genótipo Arg/Arg (Arg72Pro de p53) é de mau prognóstico em pacientes com TCE grave, já que pacientes com este genótipo tiveram um risco relativo 2,9 vezes maior de evoluir com pior prognóstico, isto é, mais seqüelas neurológicas na alta da UTI (neste estudo o desfecho foi a pontuação na escala GOS na alta da UTI e não óbito) (Martinez-Lucas *et al.*, 2005).

Na tentativa de aumentar a sensibilidade de marcadores, como a proteína S100 beta, para prever o desfecho de pacientes com TCE grave, alguns autores associaram exames de imagem capazes de medir a proteína no SNC (Ressonância Magnética do encéfalo com espectroscopia de

prótons), considerando que sua concentração e tempo de elevação são maiores neste do que no soro (Kleindienst, 2005). Estudos foram, e continuam sendo, realizados com diferentes substâncias, como glutamato, glutamina, colina, N-acetilaspártato, com objetivo de identificar melhores marcadores (Shutter *et al.*, 2004; Belli *et al.*, 2006).

Outra linha de pesquisa que se desenvolve rapidamente é a proteômica, visando a busca de biomarcadores protéicos até então desconhecidos e a tentativa de complementar os conhecimentos obtidos através das técnicas tradicionais (Wang *et al.*, 2005). A neuroproteômica pode ser a estrutura para pesquisa protéica em grande escala no neurotrauma, podendo ser aplicada para a identificação de biomarcadores e no entendimento de como o cérebro responde ao trauma (Ottens *et al.*, 2006). Em um estudo que comparou ratos com e sem TCE, a análise proteômica foi capaz de identificar mais de 300 proteínas, sendo 74 delas presentes somente em ratos que sofreram TCE, sugerindo que estas são potenciais biomarcadores de TCE. O estudo também identificou alguns biomarcadores já conhecidos, como a NSE, o que mostra confiança na técnica (Haskins *et al.*, 2005).

O TCE permanece como a maior causa de morte em jovens e com altos índices de morbidade entre os sobreviventes. Vários trabalhos têm sido publicados com a intenção de definir bons marcadores de prognóstico, que auxiliem na rápida intervenção e melhor evolução dos acometidos, muitos com resultados promissores. Espera-se que em breve esta questão seja definida, com redução da morbimortalidade e dos enormes custos gerados ao sistema de saúde e previdência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BECKER, S., SCHNEIDER, W., KREUZ, W., JACOBI, G., SCHARRER, I., NOWAK-GOTTTL, U. Post-trauma coagulation and fibrinolysis in children suffering from severe cerebro-cranial trauma. *Eur J Pediatr*, v.158, p.197-202, 1999.
- BELLI, A., SEN, J., PETZOLD, A., RUSSO, S., KITCHEN, N., SMITH, M., TAVAZZI, B., VAGNOZZI, R., SIGNORETTI, S., AMORINI, A.M., BELLIA, F., LAZZARINO, G. Extracellular N-acetylaspartate depletion in traumatic brain injury. *J Neurochem*, v. 96, p. 861-869, 2006.
- BINDER, S., CORRIGAN, J.D., LANGLOIS, J.A. The public health approach to traumatic brain injury: an overview of CDC's research and programs. *J Head Trauma Rehabil*, v. 20, p.189-195, 2005.
- BLANN A.D. Is raised von Willebrand factor a marker of endothelial cell damage? *Med Hypotheses*, v. 41, p.419-424, 1993.
- BRUNS, J.JR., HAUSER, W.A. The epidemiology of traumatic brain injury: a review. *Epilepsia*, v. 44, p. 2-10, 2003.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. 10 Leading Causes of Death, United States, 2002. Disponível em <http://www.cdc.gov/ncipc/osp/charts.htm>. Acesso em 17/04/2006.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Traumatic brain injury (TBI): Causes & Characteristics. 1999. Disponível em <http://www.cdc.gov/ncipc/tbi/Causes.htm> . Acesso em 16/10/2005.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Traumatic brain injury (TBI): Prevention, Control & Elimination. 2004. Disponível em <http://www.cdc.gov/ncpic/tbi/Prevention.htm> . Acesso em 16/10/2005.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Traumatic brain injury (TBI): Topic Home. 2004. Disponível em <http://www.cdc.gov/ncipc/tbi/TBI.htm> . Acesso em 16/10/2005.
- CHOI, S., CLIFTON, G.L, MARMAROU, A., MILLER, E.R. Misclassification and treatment effect on primary outcome measures in clinical trials of severe neurotrauma. *J Neurotrauma*, v. 19, p. 17-22, 2002.
- DA ROCHA, A.B., ZANONI, C., FREITAS, G.R., ANDRÉ, C., HIMELFARB, S., SCHNEIDER, R.F., GRIVICICH, I., BORGES, L., SCHWARTSMANN, G., KAUFMANN, M., REGNER, A. Serum Hsp70 as an Early Predictor of Fatal Outcome after Sever Brain Injury in Males. *J Neurotrauma*, v. 22, p. 966-975. 2005.
- DAWODU, S.T. Traumatic brain injury: definition, epidemiology, pathophysiology. Disponível em <http://www.emedicine.com/pmr/topic212.htm>. Acesso em: 20/04/2006.
- DE KRUIJK, J.R., LEFFERS, P., MENHEERE, P.P.C.A., MEERHOFF, S., RUTTEN, J., TWIJNSTRA, A. Prediction of post-traumatic complaints after mild traumatic brain injury: early symptoms and biochemical markers. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, v. 73, p. 727-732, 2002.
- DE KRUIJK, J.R., LEFFERS, P., MENHEERE, P.P.C.A., MEERHOFF, S., TWIJNSTRA, A. S-100B and neuron-specific enolase in serum of mild traumatic brain injury patients. A comparison with health controls. *Acta Neurolo Scand*, v. 103, p. 175-179, 2001.
- DIMOPOULOU I, KORFIAS S, DAFNI U, ANTHI A, PSACHOULIA C, JULLIEN G, SAKAS DE, ROUSSOS C. Protein S-100b serum levels in trauma-induced brain death. *Neurology*, v. 60, p. 947-951, 2003.

- FARAGE, L., COLARES, V.S., CAPP NETO, M., MORAES, M.C., BARBOSA, M.C., BRANCO JR, J.A.B. As medidas de segurança no trânsito e a morbimortalidade intra-hospitalar por traumatismo crânio-encefálico no Distrito Federal. *Rev Assoc Med Bras*, v. 48, p. 163-166, 2002.
- GARCIA-FERNANDEZ N, MONTES R, PURROY A, ROCHA E. Hemostatic disturbances in patients with systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and associated acute renal failure (ARF). *Thromb Res*, v. 100, p. 19-25, 2000.
- GHAJAR, J. Traumatic brain injury. *The Lancet*, v. 356, p. 923-929. 2000.
- GREENBERG, M.S., Head Trauma. In: GREENBERG, M.S. *Handbook of neurosurgery*. Fourth edition. Florida: Greenberg Graphics, Inc, p. 690-697. 1997.
- GUAN, W., YANG, Y.L., XIA, W.M., LI, L., GONG, D.S. Significance of serum neuro-specific enolase in patients with acute traumatic brain injury. *Chin J Traumat*, v. 6, p. 218-221, 2003.
- HASKINS, W.E., KOBEISSY, F.H., WOLPER, R.A., OTTENS, A.K., KITLEN, J.W., MCCLUNG, S.H., O'STEEN, B.E., CHOW, M.M., PINEDA, J.A., DENSLOW, N.D., HAYES, R.L., WANG, K.K. Rapid discovery of putative protein biomarkers of traumatic brain injury by SDS-PAGE-capillary liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Neurotrauma*, v. 22, p. 629-644, 2005.
- KESSLER, C.M. Hemorrhagic disorders: Coagulation factor deficiencies. In: GOLDMAN, L., AUSIELLO, D. editores. *CECIL Textbook of Medicine*. 22nd edition. Philadelphia: Saunders, p. 1069-1078, 2004.
- KLEINDIENST, A., TOLIAS, C.M., CORWIN, F.D., MULLER, C., MARMAROU, A., FATOUROS, P., BULLOCK, M.R. Assessment of cerebral S100B levels by proton magnetic resonance spectroscopy after lateral fluid-percussion injury in the rat. *J Neurosurg*, v. 102, p. 1115-1121, 2005.
- KOIZUMI, M.S., LEBRÃO, M.L., MELLO-JORGE, M.H.P., PRIMERANO, V. Morbimortalidade por traumatismo crânio-encefálico no município de São Paulo. *Arq Neuropsiquiatr*, v. 58, p. 81-89, 2000.
- LOSS, S.H., BARBOSA, E., ALVES, F.C. Índices Prognósticos. In: CASAGRANDE, E.L., SILVA, N.B., TORRES JR, H., LOSS, S.H., *Manual de Rotinas Médicas em Terapia Intensiva*. Porto Alegre: Ed. Hospital Moinhos de Vento, p. 23-31, 1997.
- MAIER, B., LAURER, H.L., ROSE, S., BURMAN, W.A., MARZI, I. Physiological levels of pro- and anti-inflammatory mediators in cerebrospinal fluid and plasma: a normative study. *J Neurotrauma*, v. 22, p. 822-835, 2005.
- MAIER, R. V., NOCK, C. Injury Prevention. In: MATTOX, K., FELICIANO, D., MOORE, E., *Trauma*. Fourth edition. New York: McGraw-Hill, p. 41-54, 1999.
- MARSHALL LF, MARSHALL SB, KLAUBER MR, VAN BERKUM CLARK M, EISENBERG H, JANE JA, LUERSSEN TG, MARMAROU A, FOULKES MA. A new classification of head injury based on computerized tomography. *J Neurosurg*, v. 75, p. 14-20, 1991.
- MARTINEZ-LUCAS, P., MORENO-CUESTA, J., GARCIA-OLMO, D.C., SANCHEZ-SANCHEZ, F., ESCRIBANO-MARTINEZ, J., DEL POZO, A.C., LIZAN-GARCIA, M., GARCIA-OLMO, D. Relationship between the Arg72Pro polymorphism of p53 and outcome for patients with traumatic brain injury. *Intensive Care Med*, v. 31, p. 1168-1173, 2005.
- MARTUZA, R.L., COUMANS JV.C.E. Trauma: Severe Head, Spinal Cord Injury. In: SAMUELS, M.A. editor. *Manual of Neurologic Therapeutics*. Sixth edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 285-314, 1999.
- McCRORY P.R. AND BERKOVIC S.F. Concussion: The history of clinical and pathophysiological concepts and misconceptions *Neurology*, v. 57, p. 2283 – 2289, 2001.

- MELO, J.R.T., SILVA, R.A.S., MOREIRA JR, E.D. Características dos pacientes com trauma cranioencefálico na cidade do Salvador, Bahia, Brasil. *Arq. Neuro-Psiquiatr*, vol. 62, p.711-715, 2004.
- MENDOLICCHIO, G.L., RUGGERI, Z.M. New perspectives on von Willebrand factor functions in hemostasis and thrombosis. *Semin Hematol*, v. 42, p.5-14, 2005.
- NATIONAL INSTITUTE OF NEUROLOGICAL DISEASES AND STROKE - NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH. Traumatic Brain Injury: Hope Through Research, 2002. Disponível em <http://www.ninds.nih.gov/disorders/tbi/tbi-htr.pdf>. Acesso em: 17/12/2004.
- NOLAN, S. Traumatic brain injury: a review. *Crit Care Nurs Q*, v. 28, p. 188-194, 2005.
- OTTENS, A.K., KOBEISSY, F.H., GOLDEN, E.C., ZHANG, Z., HASKINS, W.E., CHEN, S.S., HAYES, R.L., WANG, K.K., DENSLOW, N.D. Neuroproteomics in neurotrauma. *Mass Spectrom Ver*, v. 25, p. 380-408, 2006.
- PINEDA, J.A., WANG, K.K., HAYES, R.L. Biomarkers of proteolytic damage following traumatic brain injury. *Brain Pathol*, v. 14, p. 202-209, 2004.
- PLEINES, U.E., MORGANTI-KOSSMANN, M.C., 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*, v.18, p.491-498, 2001.
- RAABE, A., SEIFERT, V. Protein S-100B as a serum marker of brain damage in severe head injury: preliminary results. *Neurosurg Ver*, v. 23, p. 136-138, 2000.
- RAINER TH, BEATTIE T, CROFTON P, SEDOWOFIA K, STEPHEN R, BARCLAY C, MCINTOSH N. Systemic hormonal, electrolyte, and substrate changes after non-thermal limb injury in children. *J Accid Emerg Med*, v. 16, p. 104-107, 1999.
- REGNER, A., KALFMAN, M., FRIEDMDN, G.,CHEMALE, I. Increased serum S100b proteins concentration following severe had injury in humans: a biochemical marker of brain death? *NeuroReport*, v. 12, p. 691-694, 2001.
- ROWLAND, L.P. Head Injury. In: ROWLAND, L.P., editor. *Merrit's Textbook of Neurology*. Ninth edition. Philadelphia: Williams & Wilkins, p.417-440, 1995.
- SATCHELL, M.A., LAI, Y., KOCHANNEK, P.M., WISNIEWSKI, S.R., FINK, E.L., SIEDBERG, N.A., BERGER, R.P., DEKOSKY, S.T., ADELSON, P.D., CLARK, R.S. Cytochrome c, a biomarker of apoptosis, is increased in cerebrospinal fluid from infants with inflicted brain injury from child abuse. *J Cereb Blood Flow Metab*, v. 25, p. 919-927, 2005.
- SCHAFER, A.I. Approach to the patients with bleeding and thrombosis. In: GOLDMAN, L., AUSIELLO, D. editores. *CECIL Textbook of Medicine*. 22nd edition. Philadelphia: Saunders, p. 975-979, 2004.
- SHUTTER, L., TONG, K.A., HOLSHOUSER, B.A. Proton MRS in acute traumatic brain injury: role for glutamate/glutamine and choline for outcome prediction. *J Neurotrauma*, v. 21, p. 1693-1705, 2004.
- SIEMIATKOWSKI, A., KLOCZKO, J., GALAR, M., CZABAN, S. von Willebrand factor antigen as a prognostic marker in posttraumatic acute lung injury. *Haemostasis*, v. 30, p.189-195, 2000.
- SOUZA, H.P., MELLO, L.F.S., EIFLER, L.E. Perfil da Unidade de Trauma do Hospital Municipal de Pronto Socorro de Porto Alegre. 1999. Disponível em <http://www.medstudents.com.br/original/original/uti/uti.htm>. Acesso em 20/04/2006.

- SPETTEL, C.M., ELLIS, D.W., ROSS, S.E., SANDEL, M.E., O'MALLEY, K.F., STEIN, S.C., SPIVACK, G., HURLEY, K.E. Time of rehabilitation admission and severity of trauma: effect on brain outcome. *Arch Phys Med Rehabil*, v. 72, p. 320-325, 1991.
- STALNACKE, B.M., BJORNSTIG, U., KARLSSON, K., SOJKA, P. One-year follow-up of mild traumatic brain injury: post-concussion symptoms, disabilities and life satisfaction in relation to serum levels of S-100B and neurone-specific enolase in acute phase. *J Rehabil Med*, v. 37, p. 300-305, 2005.
- STEUDEL, W.I., CORTBUS, F., SCHWERDTFEGGER, K. Epidemiology and prevention of fatal head injuries in Germany - trends and the impact of the reunification. *Acta Neurochir*, v. 147, p.231-242, 2005.
- TAKAHASHI, H., SATO, H., TSUJI, Y. Biochemical markers in the acute stage of head injury - aldosterone and CK-BB. *Neurol Med Chi*, v. 29, p. 192-195, 1989.
- TIEVES, K.S., YANG, H., LAYDE, P.M. The epidemiology of traumatic brain injury in Wisconsin, 2001. *WMJ*, v. 104, p. 22-25, 2005.
- VALADKA, A.B. Injury to the Cranium. In: MATTOX, K., FELICIANO, D., MOORE, E, editors. *Trauma*. Fourth edition. New York: McGraw-Hill, p. 377-399, 1999.
- VOS, P.E., VERBEEK, M.M. Brain specific proteins in serum: do they reliably reflect brain damage?. *Shock*, v. 18, p. 481-482, 2002.
- WANG, K.K., OTTENS, A.K., LIU, M.C., LEWIS, S.B., MEEGAN, C., OLI, M.W., TORTELLA, F.C., HAYES, R.L. Proteomic identification of biomarkers of traumatic brain injury. *Expert Rev Proteomics*, v. 2, p. 603-614, 2005.
- WILSON, J.T., PETTIGREW, L.E., TEASDALE, G.M. Structured interviews for the Glasgow Outcome Scale and the extended Glasgow Outcome Scale: guidelines for the use. *J Neurotrauma*, v. 15, p. 573-585, 1998.
- WILSON, J.T.L., PETTIGREW, L.E., TEASDALE, G.M. Emotional and cognitive consequences of head injury in relation to the Glasgow outcome scale. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, v. 69, p. 204-209, 2000.
- WOERTGEN, C., ROTHOERL, R.D., METZ, C., BRAWANSKI, A. Comparison of clinical, radiologic, and serum marker as prognostic factors after severe head injury. *J Trauma*, v. 47, p. 1126-1130, 1999.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Injuries and Trauma Prevention: Neurotrauma. 2005. Disponível em http://www.who.int/violence_injury_prevention/en/. Acesso em 19/10/2005.
- YOKOTA, H., NAOE, Y., NAKABAYASHI, M., UNEMOTO, K., KUSHIMOTO, S., KUROKAWA, A., NODE, Y., YAMAMOTO, Y. Cerebral endothelial injury in severe head injury: the significance of measurements of serum thrombomodulin and the von Willebrand factor. *J Neurotrauma*, v.19, p. 1007-1015, 2002.
- ZYGUN, D.A., LAUPLAND, K.B., HADER, W.J., KORTBEEK, J.B., FINDLAY, C., DOIG, C.J., HAMEED, S.M.. Severe traumatic brain injury in a large Canadian health region. *Can J Neurol Sci*, v.32, p. 87-92, 2005.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)