



Rani serumski biomarkeri ishemijskog moždanog udara

Early serum biomarkers of ischemic stroke

Miroslava Živković*, Srdjan Ljubisavljević†

*Klinički centar Niš, Klinika za neurologiju, Niš, Srbija;

†Medicinski fakultet, Institut za patofiziologiju, Niš, Srbija

Ključne reči:

mozak, ishemija; cerebrovaskularni poremećaji; biološki pokazatelji; serum; senzitivnost i specifičnost; dijagnoza; prognoza.

Key words:

brain ischemia; cerebrovascular disorders; biological markers; serum; sensitivity and specificity; diagnosis; prognosis.

Uvod

Moždani udar je jedan od vodećih uzroka smrti i trajnog oštećenja zdravlja¹. S obzirom na brojnost etioloških faktora koji do njega mogu dovesti, rano identifikovanje specifičnog uzroka smatra se klinički izuzetno bitnim zbog prognoze, terapijskog tretmana, kao i prevencije eventualnih komplikacija.

Izraziti napredak u tretmanu ishemijskog mozga poslednjih godina doveo je do boljeg poznavanja patofiziološkog supstrata koji leži u osnovi bolesti – poremećaj cerebralnog krvotoka i metabolizma, uz saznanje da su prvi minuti ishemijske praćeni burnim, ali potencijalno reverzibilnim metaboličkim promenama. Razumevanje hemodinamskih, ćelijskih i molekularnih promena koje pokreće ishemija mozga, a još više mehanizama koji dovode do nepovratnog ishemijskog oštećenja tkiva mozga, od suštinskog je značaja za preduzimanje racionalne terapije².

Završna faza u ishemijskoj bolesti je infarkt koji se karakteriše nekrozom tkiva usled ireverzibilnog oštećenja neurona i glijne^{2,3}. Međutim, put do nekroze nije u potpunosti put bez povratka. Radi se o kaskadi promena od kojih su mnoge reverzibilne^{3,4}. Biohemijske promene koje nastaju u ishemijskoj ne predstavljaju zasebne entitete koji se menjaju nezavisno jedni od drugih, već skup blisko povezanih, orkestriranih reakcija koje izazivaju jedna drugu, modulišući se međusobno i, u vidu metaboličke kaskade, u jednom trenutku svoje propagacije dovode do iscrpljenja odbrambenih rezervi ćelija, njihovog oštećenja i smrti²⁻⁴.

Metaboličke promene u ranoj postishemijskoj ne predstavljaju uniformni proces već dinamski, sa mogućim uočavanjem faznog toka: aktivne faze ishemijske (prvi sati bolesti), koja je praćena burnim metaboličkim zbivanjima, i pasivne faze u kojoj uočene metaboličke promene pasivno slede prethodne^{4,5}.

Značaj ovako uočene faznosti potenciran je saznanjem da lekovi primenjeni u aktivnoj fazi (rana postishemijska) imaju efikasniji terapijski učinak nego u pasivnoj fazi ishemijske. Ova faza biohemijskih događaja predstavlja svojevrsan terapijski prozor ranog i adekvatnog tretmana. Terapijsko delovanje adekvatnog leka, skraćuje dejstva početne nokse i sprečavanje njene propagacije smanjuje intenzitet neuronskog oštećenja, odnosno može prekinuti kaskadni tok ishemijske⁶.

Patofiziološki aspekti ishemijskog moždanog udara

Izuzetne energetske potrebe mozga čine osnovu njegove osetljivosti prema ishemijskim promenama. Ključnu ulogu u patofiziološkim mehanizmima razvoja i ishoda ishemijske ima intenzitet nastalih hemodinamskih, ćelijskih i metaboličkih promena. Pad koncentracije ATP i energetska osiromašenje ćelija smatra se vodećom karikom u propagaciji ćelijske dezintegracije^{7,8}. Ćelijski edem i razgradnja citoskeleta u ognjištu ishemijskih promena posredovane su najpre oštećenjem električne aktivnosti (blaga ishemija), a potom i gubitkom jonske homeostaze (teška ishemija)^{6,7}. Razvoj lokalne acidoze i oslobađanje proinflammatoryh citokina (IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-8) uzimaju dalje učešće u razvoju neuronskih ishemijskih promena. Usled prekomernog stvaranja slobodnih kiseoničnih radikala (od strane mitohondrija, azot oksid sintaze i drugih prooksidantnih enzima) dolazi do favorizovanja njihovog toksičnog dejstva koje neselektivno zahvata ćelije mozga, pri čemu je endotel najotporniji na ishemijsku noksu⁷.

Unutar nekoliko minuta od početka bolesti dolazi do aktiviranja gena ranog odgovora kao i ekspresije proteina toplotnog stresa, koje se održava tokom četiri dana. U periodu od nekoliko sati od momenta nastanka ishemijske, dolazi do aktivacije i povećanja ekspresije gena koji kodiraju sintezu većeg broja inflamatornih citokina, adhezionih molekula i

enzima (TNF α , IL-1 β , IL-6, NGF, bFGF, PDGF, TGF β , APP, IGF2). U kasnijim fazama ishemije (nakon 24 sata) dolazi do ekspresije VEGF, PDGF, TGF β , a nakon nekoliko dana i do pokretanja procesa apoptoze ili nekroze svih ćelija infarciranog područja^{7,8}.

Biomarkeri ishemijskog moždanog udara su markeri glijalne aktivnosti (S 100 β , GFAP – glijalni fibrilarni kiseli protein), tromboze (vWF – von Willebrandov faktor, D dimer), ćelijskog i oksidativnog oštećenja (MBP – mijelin bazični protein, NSE – neuron specifična enolaza, MDA – malon dialdehid, nitrotirozin), apoptoze (BNP – moždani natriuretski peptid, kaspaza 3, citohrom c) i inflamatorni medijatori (C-reaktivni protein – CRP, interleukini – IL-1, IL-6, matriks metaloproteinaza – MMP – 9, MMP – 13)^{9,10} (tabela 1).

ca zahvatanja svih ćelija (neurona, glijalnih ćelija, vaskularnih ćelija). Stoga, neophodno je istovremeno praćenje promena koncentracije više različitih biomarkera u odnosu na očekivanu dinamiku ishemijskog oštećenja mozga. S obzirom na najveću vulnerabilnost neurona, najviši i najbrži porast serumske koncentracije neuron-specifičnih biomarkera očekivao bi se na početku bolesti, a potom i porast biomarkera glijalnog i endotelnog oštećenja.

Povećana permeabilnost KMB je ključni faktor u porastu serumske koncentracije biomarkera, u odnosu na vreme proteklo od početka ishemije. Prve promene KMB uzrokovane ishemijom praćene su dezorganizacijom citoskeleta, u osnovi čega stoji složena neurohemijska kaskada procesa, već tokom prvog sata od razvoja ishemije¹⁵. Nastale prome-

Tabela 1

Opis nekih od biomarkera ishemijskog moždanog udara

Biomarker	Opis
BNP	Hormon miokarda sekretovan u toku povećanja tonusa miokarda
BNGF	Faktor rasta značajan u procesu rasta i diferencijacije nervnih ćelija
CRP	Protein akutne faze inflamacije
D dimer	Produkt degradacije fibrina
GFAP	Filamentni protein, dominantno prisutan u astrocitima
MMP9, MMP 13	Kolagenaza uključena u proces razgradnje ekstracelularnog matriksa i ćelija
MBP	Glavna komponentna mijelinskog omotača
NSE	Dimerni neuronalni glikolitički enzim
NR2A/NR2B	Antitela na NMDA receptore
NDKA	Nukleozid difosfat kinaza
PARK 7	RNK vezujući protein, regulatorna subjedinica
S 100 β	Kiseli Ca ⁺⁺ -vezujući protein
VCAM	Superfamilija Ig uključena u procese inflamacije, imunog odgovora i intraćelijske signalizacije
vWF	Vezujući faktor stabilizacije faktora VIII koagulacije
sRAGE	Transmembranski receptor koji pripada superfamiliji Ig
MCP	Monocitni hemoatraktantni molekul
IL-6	Bioregulator uključen u procese inflamacije i imunskog odgovora

Profil idealnog biomarkera ishemije mozga

Imajući u vidu urgentnost prepoznavanja rane faze razvoja ishemije mozga načinjen je pokušaj identifikacije serumskih biomarkera neuronskog oštećenja, kao i korelisanje porasta njihove koncentracije u serumu sa etiološkom osnovom ishemije.

Jensen i sar.¹¹ 2008. godine definisali su profil idealnog biomarkera ishemije mozga koji: 1) beleži rani porast serumske koncentracije; 2) strogo je specifičan za mozak (S-100 β , NSE, MBP i GFAP); 3) ravnomerno je zastupljen u svim regionima mozga i njegov koeficijent prolaska kroz krvnomoždanu barijeru (KMB) je visok; 4) pokazatelj je i procesa tromboze i koagulacije, kao što su D dimer, fibrinogen, fibrinopeptidi.

Takođe, značajan je broj naučnih saopštenja vezan za identifikovanje ranih biomarkera ishemijskog moždanog udara koji bi mogli imati i prognostičku vrednost (hsCRP, TNF- α , Il-6, kao i D dimer i fibrinogen)¹²⁻¹⁴.

Biomarkeri ishemijskog moždanog udara

Teškoće u identifikovanju specifičnih biomarkera su posledice postojanja više različitih tipova ćelija u mozgu. Porast koncentracije idealnog biomarkera morao bi biti posledica

ne KMB najizraženije su od 2 do 8 sati od početka bolesti i njihovoj propagaciji i održanju doprinose patogenetski faktori same ishemije, što se reflektuje ranim porastom serumske koncentracije biomarkera^{16,17}.

Nakon postavljanja rane kliničke sumnje na postojanje ishemijskog moždanog udara, kada se raspoloživim metodama imidžing dijagnostike on ne može verifikovati, poseban dijagnostički značaj ima određivanje i praćenje promene serumskih koncentracija MMP-9, D dimera, S-100 β i BNP¹⁸. S-100 β je Ca⁺⁺-vezujući citozolni protein koji se sintetiše u ćelijama astroglije. On se, u korelaciji sa ostalim biomarkerima, može smatrati markerom ishemijskog oštećenja mozga, s obzirom na to da je porast njegove serumske koncentracije potvrđen u akutnoj fazi, i da promena koncentracije koreliše sa kliničkim nalazom, kao i volumenom infarciranog područja. Iako je porast serumske koncentracije S-100 β visoko specifičan za oštećenje mozga (više od 95%), on je relativno male senzitivnosti (oko 50%)¹⁹⁻²². Takođe, izolovani porast serumske koncentracije biomarkera neuronskog oštećenja, neuron specifične enolaze, beleži visoku specifičnost (preko 95%), dok je izuzetno promenljive senzitivnosti (10 do 60%)²¹⁻²³.

S druge strane, značajan porast serumske koncentracije biomarkera inflamacije MMP-9 potvrđen je brojnim ekspe-

rimentalnim i kliničkim studijama. Biomarker MMP-9 je Zn^{++} -vezujući proteolitički enzim uključen u procese razgradnje svih komponenti ekstracelularnog matriksa, kolagena IV, laminina i fibronektina. Izolovani porast koncentracije MMP-9 je nespecifičan, s obzirom na to da se sreće u različitim patološkim stanjima koja zahvataju i ostale organe i sisteme, kao što su ateroskleroza, multipla skleroza, metastaze različitih karcinoma, itd. Interesantno je da MMP-9, kao i S-100 β , beleži porast koncentracije u akutnoj fazi i da koreliše sa stepenom funkcionalnog deficita, kao i veličinom infarkta. MMP-9 je, takođe, i značajan prediktor hemoragijske transformacije infarcirane zone^{24,25}. Vazoaktivni peptidni hormon, BNP, ima natriuretsku, diuretsku i vazodilatatornu ulogu. On se smatra biomarkerom apoptoze i porast njegove koncentracije očekuje se u kasnijim fazama razvoja bolesti. U uslovima narušene intaktnosti KMB, BNP se oslobađa iz moždanog tkiva oštećenog ishemijskom u serum i na taj način dolazi do povećanja njegove koncentracije unutar 24 sata od nastanka ishemijske. Održavanje visokih vrednosti njegove koncentracije u serumu i nakon tog perioda, posledica je *de novo* sinteze od strane oštećenog tkiva mozga. Mnogim kliničkim studijama potvrđen je porast njegove serumske koncentracije u akutnoj fazi ishemijske bolesti, premda se on dominantno smatra značajnim prediktorom ishoda bolesti²⁶⁻²⁹. Pokazano je da BNP slabo koreliše sa stepenom neurološkog deficita, ali da je nezavisni prediktor etiološke osnovne ishe-

mijskog moždanog udara²⁶ (tabela 2). 100 β mogu smatrati visokospecifičnim i senzitivnim biomarkerima tokom prvih sati razvoja ishemijske (više od 95%), kada porast njihove serumske koncentracije prati porast serumske koncentracije CRP, nespecifičnog reaktanta akutne faze inflamacije. Nekoliko studija potvrdilo je da visoke serumske koncentracije CRP zajedno sa IL-6 predstavljaju prediktor lošeg ishoda ne samo ishemijskog, već i hemoragijskog moždanog udara³⁶. Izuzme li se CRP iz seta pomenutih biomarkera (BNP, D-dimer, MMP-9 i S 100 β i CRP), drastično se smanjuje njegova osetljivost i specifičnost^{37,38}.

Praćenjem seta MMP-9, S 100 β , vWF (faktora stabilizacije faktora VIII koagulacije, oslobođenog iz vaskularnog endotela i aktiviranih trombocita), MCP (monocitni hemoatraktantni protein) i BNGF (neuronski faktor rasta) Reynolds i sar.³⁹ ispitali su specifičnost i selektivnost njihovog biohemijjskog profila u funkciji vremena proteklog od početka bolesti, uz zaključak da tokom 6 sati paralelni porast koncentracije ovih biomarkera ima visoku specifičnost i senzitivnost (više od 95%), što se smanjuje u narednom periodu³⁹.

Visokospecifična i senzitivna (više od 95%) u ishemijskoj mozga može se smatrati i promena serumske koncentracije seta biomarkera inflamacije i tromboze, MMP-9, vWF, i VCAM (vaskularni adhezioni molekul) unutar 6 sati, kao i promena koncentracije seta S100 β , VCAM i vWF unutar 24 sata od momenta kliničke evaluacije ishemijskog moždanog udara²⁶ (tabela 2).

Tabela 2

Pregled predloženih setova biomarkera ishemijskog moždanog udara

Biomarker*	Laskowitz i sar. (2009) ¹⁸	Laskowitz i sar. (2005) ³⁵	Whiteley i sar. (2008) ⁴⁰	Losy i sar. (2001) ³⁸ , Reynolds i sar. (2003) ³⁹	Lynch i sar. (2004) ²⁶
MMP-9	+	+	+	+	+
D Dimer	+	+	+		
S 100 β	+	+	+	+	+
BNP	+	+	+		
CRP		+	+		
IL-6			+		
vWF				+	+
MCP				+	
BNG				+	
VCAM					+

* za objašnjenje vidi tabelu 1

mijskog moždanog udara imajući u vidu da se izraziti porast njegove serumske koncentracije evidentira kod kardioembolijskih moždanih udara²⁹⁻³².

Produkt degradacije fibrina, D dimer, marker hemostatskog disbalansa, bez obzira na promenu serumske koncentracije u različitim patološkim stanjima (sindrom diseminovane intravaskularne koagulacije – DIK, duboka venska tromboza), može se smatrati značajnim, ali ne i jedinim prediktorom rane kliničke progresije ishemijske bolesti. Istovremeno, određivanje i praćenje porasta njegove serumske koncentracije sa drugim biomarkerima i u korelaciji sa kliničkim nalazom, beleži visoku specifičnost i senzitivnost^{33,34}.

Uzimajući u obzir visoku specifičnost promene serumske koncentracije pomenutih biomarkera u ishemijskoj mozga, Laskowitz i sar.³⁵ sugerišu da se BNP, D dimer, MMP-9 i S

Iako je određivanje biohemijjskog profila biomarkera ishemijskog oštećenja mozga od daleko većeg dijagnostičkog značaja u odnosu na određivanje i praćenje promena serumske koncentracije samo pojedinih biomarkera, postoje studije u kojima su analizirane, izolovano, samo promene koncentracije nekih biomarkera. Biomarkeri visoke senzitivnosti (preko 90%) su NDKA (nukleozid difosfat kinaza A), PARK 7 (RNK vezujući protein, regulatorna subjedinicina), NMDA receptor, NR2A/2B (antitela za NMDA receptor)^{32,36}. Pokazano je, takođe, da visoku specifičnost imaju i albumin i beta globulin DNA modifikovani ishemijskom, kao i NR2 fragment^{38,40}. Takođe, serumska koncentracija biomarkera sRAGE, transmembranskog receptora koji pripada superfamiliji imunoglobulina i koji je visoko ekspresiran na neuronima, endotelnim i mononuklearnim ćelijama, povećava se kod kardioembolijskog is-

hemijskog moždanog udara. Promena serumske koncentracije himerina, koji spada u GAP familiju, neprotein kinaze C, čija se $\alpha 1$ izoforma sintetise u nervnim ćelijama i koji ima regulatornu ulogu u procesu aksonske repolimerizacije, mogla bi imati značaj, ali nije ispitana u kontekstu dijagnostičkog značaja za ishemijsku bolest mozga^{32, 36, 39, 40}.

Zbog različitog dizajna studija u kojima je vršena komparacija i procena ranog dijagnostičkog značaja promene serumske koncentracije pojedinih biomarkera, neophodna su dalja ispitivanja da bi se došlo do idealnog biohemijskog profila biomarkera koji bi imao diferencijalno-dijagnostičku i prediktivnu vrednost.

Zaključak

Rezultati gotovo svih dosadašnjih ispitivanja ukazuju da idealnog biohemijskog markera ishemijske mozga nema.

Istovremenim praćenjem grupe određenih biomarkera može se dijagnostikovati ishemijski moždani udar sa visokom senzitivnošću i specifičnošću tokom preporučenog vremena (prvi sati razvoja ishemijske).

Značajna korelacija sa veličinom, tokom i ishodom ishemijske lezije mozga aktuelno postoji za S 100 β , MMP (9 i 13), VCAM i vWF, pa se promene njihove serumske koncentracije mogu smatrati korisnim prognostičkim parametrom u ranoj postishemiji.

Od posebne bi koristi bilo dalje korelisanje promena serumske koncentracije ovih biomarkera u odnosu na etiopatogenezu i terapiju ishemijskog moždanog udara.

Zahvalnost

Rad je pomognut sredstvima projekta 145081 Ministarstva za nauku Republike Srbije.

L I T E R A T U R A

1. *World Health Organization*. The World health report 2002. Switzerland, Geneva: World Health Organization; 2002.
2. *Lahoz CH, Guisasaola LM, Salas-Puig X, Tuñón A, Mateos V, Vidal JA*. Prognostic factors of supratentorial cerebrovascular accidents. *Rev Neurol* 1995; 23(123): 1087–90. (Spanish)
3. *Mršulja BB*. Biochemistry of cerebral ischemia: Pathophysiological considerations. *Iugoslav Physiol Pharmacol Acta* 1989; 25(suppl 8): 89–105.
4. *Mršulja BB*. Neurobiology of cerebral circulation disorders. Beograd-Zagreb: Medicinska knjiga; 1986. (Serbian)
5. *Živković M*. The comparative study of cerebrospinal fluid biochemical findings and clinical findings in patients with ischemic stroke [thesis]. Nis: School of Medicine; 1990. (Serbian)
6. *Djuričić BM, Kostić VS, Mičić D, Mršulja BB*. The first 24 hours of stroke biochemistry of cerebrospinal fluid. In: *Meyer JS*, editor. Cerebral vascular disease. London-Amsterdam: Elsevier Sci Publ; 1987; p. 165–70.
7. *Živković M, Šternić N, Kostić V*. Ischemic brain disorder. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2000. (Serbian)
8. *Živković M, Kostić V*. Pathophysiology and classification of ischemic stroke. *Jugosl Med Biochem* 2005; 24(Suppl 4): 83–93. (Serbian).
9. *Zvezdanović L, Djordjević V, Živković M*. Lipid peroxides and antioxidative enzymes in patient with brain ischemia. *Jugosl Med Biochem* 2000; 19(2): 121–9.
10. *Živković M, Vojinović D, Veličković A, Mršulja BB*. Neurochemistry changes in ischemia – phases in ischaemic neuron injury development. *Srp Arh Celok Lek* 1992; 120(3): 136–8. (Serbian)
11. *Jensen MB, Chacon MR, Sattin JA, Aleu A, Lyden PD*. The promise and potential pitfalls of serum biomarkers for ischemic stroke and transient ischemic attack. *Neurologist* 2008; 14: 243–6.
12. *Rost NS, Wolf PA, Kase CS, Kelly-Hayes M, Silbershatz H, Massaro JM, et al*. Plasma concentration of C-reactive protein and risk of ischemic stroke and transient ischemic attack: the framingham study. *Stroke* 2001; 32: 2575–9.
13. *Dambinova SA, Kbounteen GA, Skoromets AA*. Multiple panel of biomarkers for TIA/stroke evaluation. *Stroke* 2002; 33: 1181–2.
14. *Montaner J, Perea-Gainza M, Delgado P, Ribó M, Chacón P, Rosell A, et al*. Etiologic diagnosis of ischemic stroke subtypes with plasma biomarkers. *Stroke* 2008; 39(8): 2280–7.
15. *Hicks K, O'Neil R, Dubinsky W, Brown R*. TRPC-mediated actin-myosin contraction is critical for BBB disruption following hypoxic stress. *Am J Physiol Cell Physiol* 2010; 298: C1583–93.
16. *Chen B, Friedman B, Cheng Q, Tsai P, Schim E, Kleinfeld D, et al*. Severe blood-brain barrier disruption and surrounding tissue injury. *Stroke* 2009; 40(12): e666–74.
17. *Kassner A, Roberts TP, Moran B, Silver FL, Mikulis DJ*. Recombinant tissue plasminogen activator increases blood-brain barrier disruption in acute ischemic stroke: an MR imaging permeability study. *Am J Neuroradiol* 2009; 30(10): 1864–9.
18. *Laskowitz DT, Kasner SE, Saver J, Rempel KS, Jauch EC*. Clinical usefulness of a biomarker-based diagnostic test for acute stroke: the Biomarker Rapid Assessment in Ischemic Injury. (BRAIN) study. *Stroke* 2009; 40(1): 77–85.
19. *Hill MD, Jackowski G, Bayer N, Lawrence M, Jaeschke R*. Biochemical markers in acute ischemic stroke. *CMAJ*. 2000; 162: 1139–40.
20. *Rainer TH, Wong KS, Lam W, Lam NYL, Graham CA, Lo YMD*. Comparison of plasma beta-globin DNA and S-100 protein concentrations in acute stroke. *Clinica Chimica Acta* 2007; 376(1–2): 190–6.
21. *Takabashi M, Chamczuk A, Hong Y, Jackowski G*. Rapid and sensitive immunoassay for the measurement of serum S100 β using isoform-specific monoclonal antibody. *Clin Chem* 1999; 45: 1307–11.
22. *Zimmermann-Ivol CG, Burkhard PR, Le Floch-Robr J, Allard L, Hochstrasser DF, Sanchez JC*. Fatty acid binding protein as a serum marker for the early diagnosis of stroke: a pilot study. *Mol Cell Proteomics* 2004; 3:66-72.
23. *Fassbender K, Schmidt R, Schreiner A, Fatar M, Muhlhauser F, Daffertshofer M, et al*. Leakage of brain-originated proteins in peripheral blood: temporal profile and diagnostic value in early ischemic stroke. *J Neurol Sci* 1997; 148: 101–5.
24. *Montaner J, Rovira A, Molina CA, Arenillas JF, Ribó M, Chacon P, et al*. Plasmatic level of neuroinflammatory ... image lesions in hyperacute stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003; 23: 1403–7.
25. *Romanic AM, White RF, Arleth AJ, Ohlstein EH, Barone FC*. Matrix metalloproteinase expression increases after cerebral focal ischemia in rats: inhibition of matrix metalloproteinase-9 reduces infarct size. *Stroke* 1998; 29(5): 1020–30.

26. Lynch JR, Blessing R, White WD, Grocott HP, Newman MF, Laskowitz DT. Novel diagnostic test for acute stroke. *Stroke* 2004; 35(1): 57–63.
 27. Ilumur K, Yavali A, Apak I, Ariturk Z, Toprak N. Elevated plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels in acute ischemic stroke. *Am Heart J* 2006; 151(5): 1115–22.
 28. Jensen JK, Micklely H, Bak S, Korsholm L, Kristensen SR. Serial measurements of N-terminal pro-brain natriuretic peptide after acute ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis* 2006; 22: 439–44.
 29. Mäkitallio AM, Mäkitallio TH, Korpelainen JT, Vuolteenaho O, Tapanainen JM, Ylitalo K, et al. Natriuretic peptides and mortality after stroke. *Stroke* 2005; 36: 1016–20.
 30. Levin ER, Gardner DG, Samson WK. Natriuretic peptides. *N Engl J Med* 1998; 339: 321–8.
 31. Brosnan MJ, Clark JS, Jeffs B, Negrin CD, Van Vooren P, Arribas SM, et al. Genes encoding atrial and brain natriuretic peptides as candidates for sensitivity to brain ischemia in stroke-prone hypertensive rats. *Hypertension* 1999; 33: 290–7.
 32. Montaner J, Perea-Gainza M, Delgado P, Pilar Chaco 'n M, Rossell A, Quintana M, et al. Etiologic diagnosis of ischemic stroke subtypes with plasma biomarkers. *Stroke* 2008; 39: 2280–7.
 33. Barber M, Langhorne P, Rumley A, Lowe GD, Stott DJ. Hemostatic function and progressing ischemic stroke: D-dimer predicts early clinical progression. *Stroke* 2004; 35: 1421–5.
 34. Kelly J, Rudd A, Lewis RR, Parmar K, Moody A, Hunt BJ. The relationship between acute ischemic stroke and plasma D-dimer levels in patients developing neither venous thromboembolism nor major intercurrent illness. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2003; 14: 639–45.
 35. Laskowitz DT, Blessing R, Floyd J, White WD, Lynch JR. Panel of biomarkers predicts stroke. *Ann NY Acad Sci* 2005; 1053: 30.
 36. Whiteley W, Chong WL, Sengupta A, Sandercock P. Blood markers for the prognosis of ischemic stroke: a systematic review. *Stroke* 2009; 40: 380–9.
 37. Rouanet F, Brouste Y, Meissner W, Orgogozo JM. Use of Triage Stroke Panel in a Neurological Emergency Service. *Cerebrovasc Dis* 2006; 21: 123.
 38. Losy J, Zaremba J. Monocyte chemoattractant protein-1 is increased in the cerebrospinal fluid of patients with ischemic stroke. *Stroke* 2001; 32: 2695–6.
 39. Reynolds MA, Kirchick HJ, Dablen JR, Anderberg JM, McPherson PH, Nakamura KK, et al. Early biomarkers of stroke. *Clin Chem* 2003; 49: 733–9.
 40. Whiteley W, Chiun Tseng M, Sandercock P. Blood biomarkers in the diagnosis of ischemic stroke: a systematic review. *Stroke* 2008; 39(10): 2902–9.
- Primljen 23. III 2010.
Revidiran 30. VI 2010.
Prihvaćen 14. VII 2010.