

# ANÁLISE DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DA PROTEÍNA GLIAL FIBRILAR ÁCIDA EM PACIENTES COM TRAUMATISMO CRÂNIO ENCEFÁLICO GRAVE

Débora Dreher Nabinger<sup>1</sup>  
Ritha de Cássia Cardoso Ferreira<sup>2</sup>  
Caroline Marcele Maciel Berger<sup>3</sup>  
Adilson Boes<sup>4</sup>  
Andrea Regner<sup>5</sup>  
Daniel Simon<sup>6</sup>

## RESUMO

A predição do prognóstico é um dos principais problemas associados ao traumatismo crânio encefálico (TCE) grave. Estudos tem demonstrado que biomarcadores podem auxiliar na obtenção desta informação. A proteína glial fibrilar ácida (GFAP) é um potencial biomarcador de lesão cerebral, presente em células da glia do sistema nervoso central. No presente trabalho, analisamos a associação dos níveis plasmáticos de GFAP e o desfecho primário dos pacientes (alta da unidade de terapia intensiva ou morte). Os níveis de GFAP observados não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos do desfecho primário (sobreviventes:  $9,3 \pm 5,1$  ng/ml; não sobreviventes:  $9,7 \pm 7,1$  ng/ml;  $p=0,883$ ), assim como na comparação entre o tipo de trauma (TCE isolado:  $10,1 \pm 5,7$  ng/ml; TCE associado à politrauma:  $10,1 \pm 5,7$  ng/ml;  $p=0,412$ ).

**Palavras-chave:** TCE grave, prognóstico, GFAP.

## ABSTRACT

Outcome prediction is one of the major problems related to severe traumatic brain injury (TBI). Several studies have shown that biomarkers can provide this information. Glial fibrillary acidic protein (GFAP) is a potential biomarker of cerebral injury, present in the glial cells of the central nervous system. In the present study, we analyzed the association of plasma GFAP levels and primary outcome of patients (discharge from the intensive care unit or death). According to GFAP levels, no statistically significant differences were observed between groups in the primary endpoint (survivors  $9.3 \pm 5.1$  ng/ml; nonsurvivors:  $9.7 \pm 7.1$  ng/ml,  $p=0.883$ ), as well as in the

<sup>1</sup> Aluna do Curso de Ciências Biológicas/ULBRA – Bolsista PROBIC/FAPERGS

<sup>2</sup> Aluna de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde/ULBRA

<sup>3</sup> Aluna do Curso de Medicina/ULBRA – Bolsista PROBIC/FAPERGS

<sup>4</sup> Aluno de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde/ULBRA.

<sup>5</sup> Professora do Curso de Medicina e do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde/ULBRA.

<sup>6</sup> Professor – Orientador dos Cursos de Ciências Biológicas e Medicina e do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde/ULBRA (daniel.simon@ulbra.br)

comparison between trauma types (TBI:  $10.1 \pm 5.7$  ng/ml; TBI multiple trauma:  $10.1 \pm 5.7$  ng/ml,  $p=0.412$ ).

**Keywords:** Severe TBI, prognosis, GFAP.

## INTRODUÇÃO

O traumatismo crânio encefálico (TCE) é uma agressão ao cérebro, causada por uma força física externa, que pode produzir um estado diminuído ou alterado de consciência, resultando em comprometimento das habilidades cognitivas ou do funcionamento físico do cérebro (MENON et al., 2010). TCE é um grande problema global que afeta aproximadamente 10 milhões de pessoas por ano. Sendo a principal causa de morte em indivíduos entre 1 e 45 anos, acometendo principalmente indivíduos do sexo masculino (GEAN; FISCHBEIN, 2010). No Brasil as causas externas estão em terceiro lugar das causas de morte, já na faixa etária entre 1 e 39 anos assumem o primeiro lugar (BRASIL, 2012).

A determinação exata do prognóstico neurológico após o TCE é de grande importância para a instituição do tratamento precoce. O parâmetro mais utilizado para avaliação e classificação dos pacientes com TCE é a escala de coma de Glasgow (ECG) (OLIVEIRA; IKUTA; REGNER, 2008). Esta escala fornece uma medida quantitativa do nível de consciência e resulta da soma de escores de avaliação de três parâmetros: abertura ocular, resposta verbal e resposta motora. Atribuídos os valores para a ECG, os indivíduos são classificados com TCE grave (3-8 pontos), TCE moderado (9-12) ou TCE leve (13-15) (TEASDALE; JENNET, 1974).

Muitas vezes há dificuldade na determinação do escore da ECG, devido à intubação ou sedação durante o atendimento pré-hospitalar (OLIVEIRA; IKUTA; REGNER, 2008). No diagnóstico clínico diferencial, biomarcadores podem fornecer informações para determinar a gravidade da lesão e o prognóstico, principalmente em pacientes com TCE grave (METTING et al., 2012). Por estas razões, nos últimos anos há um interesse crescente em biomarcadores para TCE, e um número cada vez maior de moléculas tem sido testado como potenciais biomarcadores para TCE (CZEITER et al., 2012).

A proteína glial fibrilar ácida (GFAP) é um potencial biomarcador de lesão cerebral, presente em células da glia do sistema nervoso central (SNC). A GFAP é uma proteína filamentar intermediária monomérica que representa a maior parte do citoesqueleto astrogliar e é um marcador altamente específico para patologias do SNC (WEBSTER et al., 2001; METTING et al., 2012; ŽUREK; FEDORA, 2012). A GFAP é liberada na circulação sanguínea periférica logo após o TCE, e estudos demonstram que os níveis séricos e plasmáticos relacionam-se com a gravidade do dano cerebral causado e com o seu desfecho (PELINKA et al., 2004a; VOS et al., 2010).

Este estudo teve como objetivo, investigar os níveis plasmáticos de GFAP em vítimas adultas de TCE grave e sua correlação com desfecho primário dos pacientes (alta da unidade de terapia intensiva ou morte).

## **MÉTODOS**

### **População de estudo**

Fazem parte do estudo 42 pacientes vítimas de TCE grave (ECG 3-8), provenientes do Hospital Cristo Redentor de Porto Alegre (HCR, do Grupo Hospitalar Conceição). As amostras de sangue foram obtidas de pacientes internados no período de março de 2008 a outubro de 2011. O termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) foi obtido dos parentes próximos das vítimas, devido ao estado de consciência dos pacientes. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Luterana do Brasil (protocolo CEP-ULBRA 2008-293H).

### **Quantificação de GFAP**

As amostras de sangue foram coletadas em EDTA e centrifugadas para obtenção de plasma. Alíquotas das amostras de plasma foram estocadas a  $-20^{\circ}\text{C}$ , até o momento do ensaio experimental. Os níveis plasmáticos de GFAP foram medidos utilizando ensaio imunoenzimático (ELISA) conforme instruções do fabricante do kit comercial (USCN Life Science, Wuhan, China).

### **Análise estatística**

Variáveis categóricas foram comparadas através do teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher, conforme recomendação. Variáveis contínuas foram comparadas entre os grupos usando o teste t de Student ou teste U de Mann-Whitney, conforme recomendação. Os dados foram analisados através do software SPSS 18.0. Todos os testes foram bicaudais. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

## **RESULTADOS**

As características clínicas e demográficas da amostra estudada encontram-se apresentadas na Tabela 1. A população de estudo é composta por 42 pacientes do sexo masculino vítimas de TCE grave, com média de idade de  $31,5 \pm 12,1$  anos. Do total de 42 indivíduos internados, 23,8% vieram a óbito. Os principais mecanismos de trauma foram atropelamento (17,1%) e ferimento com arma de fogo (17,1%), seguido de acidente automobilístico (14,6%).

Os pacientes que sobreviveram foram admitidos no hospital com escores médios de ECG maiores do que os pacientes que morreram na UTI ( $p=0,015$ ). O tempo entre o desfecho e o trauma também apresentou diferença estatisticamente significativa entre pacientes estratificados pelo desfecho primário ( $p=0,006$ ).

Os níveis observados de GFAP não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos do desfecho primário, assim como na comparação entre o tipo de trauma. A média de níveis de GFAP foi de  $9,3 \pm 5,1$  ng/ml para sobreviventes e  $9,7 \pm 7,1$  ng/ml para não sobreviventes ( $p=0,883$ ) (Figura 1). Entre o tipo de trauma, a média dos níveis de GFAP foi de  $10,1 \pm 5,7$  ng/ml para os pacientes com TCE isolado e de  $8,6 \pm 5,4$  ng/ml para pacientes com TCE associado à politrauma ( $p=0,412$ ) (Figura 2).

Analisando separadamente, pacientes com TCE isolado e pacientes com TCE associado à politrauma em relação ao desfecho primário, também não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos níveis de GFAP. Para pacientes com TCE isolado, observamos uma média entre os pacientes sobreviventes e não sobreviventes de  $9,7 \pm 5,7$  ng/ml e  $11,5 \pm 6,1$  ng/ml, respectivamente ( $p=0,591$ ). Na análise de pacientes com TCE associado à politrauma os níveis de GFAP observados foram de  $8,7 \pm 4,4$  ng/ml para os pacientes que sobreviveram e de  $8,4 \pm 7,9$  ng/ml para pacientes que faleceram ( $p=0,917$ ).

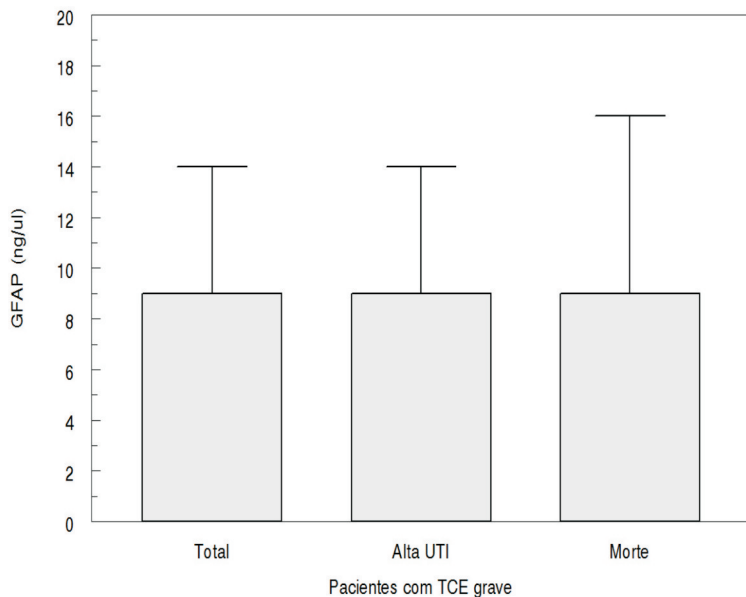
**Tabela 1.** Características dos pacientes com TCE estratificados de acordo com a medida de desfecho primário (sobreviventes/não sobreviventes).

	Total (n=42)	Sobreviventes (n=32)	Não sobreviventes (n=10)	<i>p</i>
Idade (anos)	$31,5 \pm 12,1$	$33,1 \pm 13,0$	$26,8 \pm 7,2$	0,153
Tipo de TCE, n (%)				0,369
TCE isolado	22 (52,4)	18 (56,3)	4 (40,0)	
TCE + politrauma	20 (47,6)	14 (43,8)	6 (60,0)	
Mecanismo de trauma, n (%) *				0,131
Acidente automobilístico	6 (14,6)	3 (9,4)	3 (33,3)	
Atropelamento	7 (17,1)	7 (21,9)	-	
Queda de altura	4 (9,8)	2 (6,3)	2 (22,2)	
Ferimento por arma de fogo	7 (17,1)	5 (15,6)	2 (22,2)	
Ferimento por arma branca	2 (4,9)	1 (3,1)	1 (11,1)	
Agressão	4 (9,8)	4 (12,5)	-	
Outros	11 (26,7)	10 (31,2)	1 (11,2)	
ECG na admissão da UTI	$5,1 \pm 2,1$	$5,6 \pm 2,1$	$3,8 \pm 1,4$	0,015
Pressão arterial sistólica (mmHg)	$139,3 \pm 32,5$	$138,9 \pm 30,3$	$140,7 \pm 41,8$	0,893
Pressão arterial diastólica (mmHg)	$86,0 \pm 27,7$	$87,5 \pm 29,8$	$81,1 \pm 20,0$	0,575
Craniotomia, n (%)	28 (73,7)	21 (72,4)	7 (77,8)	0,750
Tempo entre o trauma e o desfecho (dias)	$13,8 \pm 11,9$	$16,6 \pm 12,3$	$5,1 \pm 2,6$	0,006
Nível plasmático de GFAP (ng/mL)	$9,4 \pm 5,5$	$9,3 \pm 5,1$	$9,7 \pm 7,1$	0,883

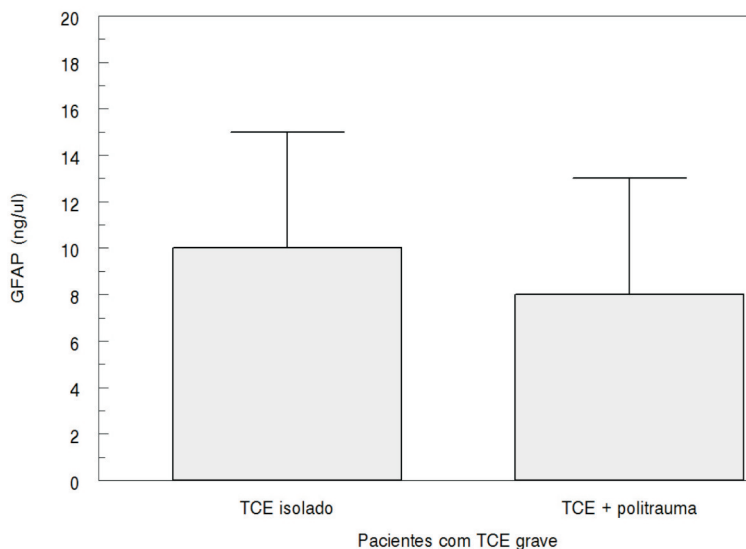
Os dados são mostrados como número de pacientes seguido de porcentagem entre parênteses, ou como média  $\pm$  desvio padrão.

\* Dados sobre mecanismo de trauma não disponível para um paciente.

**Figura 1:** Concentrações plasmáticas de GFAP em pacientes com traumatismo crânio-encefálico (TCE) grave estratificados pelo desfecho primário (alta da UTI ou morte). Os dados são mostrados como média  $\pm$  desvio padrão.



**Figura 2:** Concentrações plasmáticas de GFAP em pacientes com traumatismo crânio-encefálico (TCE) grave estratificados pelo tipo de trauma (TCE isolado ou TCE associado à politrauma). Os dados são mostrados como média  $\pm$  desvio padrão.



## DISCUSSÃO

Os desfechos clínicos dos pacientes vítimas de TCE grave são variáveis e as previsões prognósticas são incertas. No entanto, determinar o exato prognóstico após o trauma é de grande importância para o tratamento precoce (CZEITER et al., 2012). Além do uso de exames de imagem e da ECG, estudos têm demonstrado que biomarcadores podem fornecer informações para determinar a gravidade da lesão, bem como o prognóstico do paciente, principalmente em indivíduos com TCE grave (WEBSTER et al., 2001; CZEITER et al., 2012; METTING et al., 2012).

A proteína GFAP representa a maior parte do citoesqueleto astrogial não sendo encontrada fora do SNC, sendo, portanto, altamente específica para lesões do tecido cerebral e potencial biomarcador para TCE (ŽUREK; FEDORA, 2012). Esta proteína é liberada na corrente sanguínea logo após o trauma, não sendo liberada no politrauma sem TCE (OLIVEIRA; IKUTA; REGNER, 2008). Alguns estudos demonstram que os níveis de GFAP encontram-se aumentados quando lesões de massa, aumento de pressão intracranial e baixa perfusão cerebral estão presentes (PELINKA et al., 2004b; LUMPKINS et al., 2008). Além disso, os níveis plasmáticos relacionam-se com a gravidade do dano cerebral causado e o seu desfecho (PELINKA et al., 2004a; VOS et al., 2010).

A hipótese deste estudo era de que pacientes com níveis maiores de GFAP apresentariam um pior prognóstico após o TCE. Nossos resultados demonstraram uma média dos níveis de GFAP de 9,3 ng/mL para os sobreviventes e 9,7 ng/mL para não sobreviventes, não apresentando diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p=0,883$ ). Diferente dos nossos achados, um estudo realizado com população brasileira demonstrou níveis de GFAP significativamente maiores em pacientes adultos com TCE grave, não sobreviventes do que em controles. Os níveis também foram elevados em comparação aos pacientes que sobreviveram (BOHMER et al., 2011). Outros estudos com diferentes populações também encontraram associação dos níveis de GFAP com o desfecho dos pacientes (PELINKA et al., 2004b; LUMPKINS et al., 2008; HONDA et al., 2010; MONDELLO et al., 2011; ŽUREK et al., 2011; ŽUREK et al., 2012).

Quando comparados pacientes com trauma isolado e pacientes com politrauma associado, também não foram observadas diferenças significativas. A média dos níveis de GFAP foi de  $8,6 \pm 5,4$  para pacientes com TCE e politrauma, e  $10,1 \pm 5,7$  para os pacientes com TCE isolado ( $p=0,412$ ). Não sendo observadas diferenças quando comparados separadamente os pacientes com TCE isolado ( $p=0,591$ ) e pacientes com TCE associado à politrauma ( $p=0,917$ ) em relação ao desfecho primário.

Uma possível explicação para esta discrepância de resultados é devido ao tamanho amostral relativamente reduzido do presente estudo ou ao fato de ter sido analisado um grupo mais homogêneo, consistindo apenas de pacientes do sexo masculino e com TCE grave.

## CONCLUSÃO

De acordo com os dados preliminares, os nossos resultados não demonstraram associação dos níveis observados de GFAP e o desfecho primário dos pacientes com TCE grave. No entanto, trabalhos anteriores demonstraram tal associação, o que nos motiva a dar continuidade ao estudo. O andamento do projeto prevê o aumento do tamanho amostral.

## REFERÊNCIAS

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Linha de cuidado ao trauma na rede de atenção às urgências e emergências**. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/portaria\\_trauma\\_rue.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/portaria_trauma_rue.pdf)> Acesso em: 02/04/2014.

CZEITER, E. et al. Brain injury biomarkers may improve the predictive power of the IMPACT outcome calculator. **Journal of Neurotrauma**, v. 29, p. 1770-1778, 2012.

GEANAD, FISCHBEIN N. J. Head trauma. **Neuroimaging Clinics of North America**, v. 20, p. 527–556, 2010.

HONDA, M. et al. Serum glial fibrillary acidic protein is a highly specific biomarker for traumatic brain injury in humans compared with S100B and neuron-specific enolase. **The Journal of Trauma**, v. 69, p. 104-109, 2010.

LUMPKINS, K. M. et al. Glial fibrillary acidic protein is highly correlated with brain injury. **The Journal of Trauma**, v. 65, p. 778-782, 2008.

MENON, D. K. et al. Position statement: definition of traumatic brain injury. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 91, p. 1637–1640, 2010.

METTING, Z. et al. GFAP and S100B in the acute phase of mild traumatic brain injury. **Neurology**, v. 78, p. 1428-1433, 2012.

MONDELLO, S. et al. Neuronal and glial markers are differently associated with computed tomography findings and outcome in patients with severe traumatic brain injury: a case control study. **Critical Care Medicine**, v.15, p. R156, 2011.

OLIVEIRA, C. O.; IKUTA, N.; REGNER, A. Biomarcadores prognósticos no traumatismo crânio-encefálico grave. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 20, p. 411-421, 2008.

PELINKA, L. E. et al. Glial fibrillary acidic protein in serum after traumatic brain injury and multiple trauma. **The Journal of Trauma**, v. 57, p. 1006-1012, 2004a.

PELINKA, L. E. et al. GFAP versus S100B in serum after traumatic brain injury: relationship to brain damage and outcome. **Journal of Neurotrauma**, v. 21, p. 1553-1561, 2004b.

STEIN, D. M. et al. Use of Serum Biomarkers To Predict Cerebral Hypoxia after Severe Traumatic Brain Injury. **Journal of Neurotrauma**, v. 29, p. 1140-1149, 2012.

TEASDALE, G.; JENNETT, B. Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. **Lancet**, v. 2, p. 81-84, 1974.

VOS, P. E. et al. GFAP and S100B are biomarkers of traumatic brain injury. **Neurology**, v. 75, p. 1786-1793, 2010.

WEBSTER, M. J. et al. Immunohistochemical localization of phosphorylated glial fibrillary acidic protein in the prefrontal cortex and hippocampus from patients with schizophrenia, bipolar disorder, and depression. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 15, p. 388-400, 2001.

ŽUREK, J.; FEDORA, M. Dynamics of glial fibrillary acidic protein during traumatic brain injury in children. **Journal of Trauma**, v. 71, p. 854-859, 2011.

\_\_\_\_\_. The usefulness of S100B, NSE, GFAP, NF-H, secretagogin and Hsp70 as a predictive biomarker of outcome in children with traumatic brain injury. **Acta Neurochirurgica**, v. 154, p. 93-103, 2012.