

Papel do Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) como biomarcador de desfecho primário no TCE grave em adultos

GREIZY MODESTO GOMES¹

FABIANA DA SILVA CARVALHO²

FÁBIO ALVES DOS SANTOS KESPEERS²

ALAN KNOLSSEISEN CAMBRUSSI²

ÉDISON OLIVEIRA³

ANDREA PEREIRA REGNER⁴

RESUMO

Crescentes esforços em pesquisas buscam investigar biomarcadores com possíveis valores prognósticos em TCE grave, dentre estes está o BDNF. Buscamos investigar se o BDNF correlaciona-se com o desfecho primário (morte/sobrevida) em TCE grave. O presente estudo é uma coorte com n=45 homens, com TCE grave. Dezenove sofreram TCE isolado. Os pacientes entraram no CTI dentro de 24h pós-trauma. O sangue foi coletado até 24h após admissão no CTI. Análise estatística utilizou teste T e correlação de Spearman para dados não paramétricos. A concentração de BDNF foi significativamente maior no grupo que sofreu TCE isolado grave. No TCE isolado grave houve significativa correlação entre o aumento de BDNF e morte. Concluiu-se que o aumento de BDNF prediz desfecho fatal em TCE grave isolado.

Palavras-chave: BDNF, trauma cranioencefálico, biomarcadores.

¹Acadêmica do Curso de Medicina/ULBRA – Bolsista PROICT/ULBRA

²Acadêmico(a) do Curso de Medicina/ULBRA

³Médico Intensivista do Hospital Cristo Redentor – Aluno de Dou-

torado do PPG em Genética e Toxicologia Aplicada da ULBRA

⁴Professora/Orientadora do Curso de Medicina/ULBRA e do PPG em Diagnóstico Genético e Molecular/ULBRA (regner@uol.com.br)

ABSTRACT

Efforts have focused on the investigation of biomarkers with prognostic value following severe TBI. BDNF has been implied in some researches. Our objectives was determine whether BDNF serum correlate with primary outcome following severe TBI. A prospective study enrolled 45 male with severe TBI, either isolated severe TBI (n=19) or associated with extracranial lesions. The patients transferred to the ICU within 24 h of the head injury. Peripheral blood was collected at admission in the ICU. Statistical analysis: T-test and Spearman's Correlation. BDNF were significantly increased in the isolated severe TBI. In the isolated severe TBI, a significant correlation between higher BDNF and fatal outcome. Increased BDNF predicted fatal outcome in isolated severe TBI.

Keywords: Serum brain derived neurotrophic factor, brain injury, biomarkers.

INTRODUÇÃO

O trauma é a principal causa de morte na faixa de 1-45 anos, e a segunda causa de mortalidade de geral. No Brasil, aproximadamente 350 pessoas morrem diariamente em decorrência do trauma. Em pacientes portadores de traumas múltiplos graves, a cabeça é a parte do corpo mais freqüentemente traumatizada. O traumatismo crânio-encefálico (TCE) contribui significativamente em metade de todas as mortes por trauma. (KRAUS et al., 1996; GHAJAR, 2000; BRUNS JR e HAUSER, 2003; KIRKNESS et al, 2004).

O TCE é estratificado pela Escala de Coma de Glasgow (*Glasgow Coma Scale - GCS*) a qual fornece uma medida quantitativa do nível de consciência, e resulta da soma de escores de avaliação de três parâmetros a serem considerados: abertura ocular, resposta verbal e melhor resposta motora. Atribuídos os valores para a GCS, classifica-se em leve (GCS 14-15), moderado (GCS 9-13) e grave (GCS 3-8). (KRAUS et al., 1996; WILSON et al, 1998; GHAJAR, 2000; BRUNS JR e HAUSER, 2003). A determinação do escore da GCS é a medida clínica mais estudada e utilizada no

estabelecimento da gravidade e desfecho (previsão de mortalidade) no TCE.

Apesar do reconhecido valor prognóstico das medidas da GCS nas primeiras horas, alguns pacientes, com lesões aparentemente leves, podem deteriorar clinicamente, ressaltando-se a importância da observação dos pacientes vítimas de TCE. A tríade composta pela deterioração do nível de consciência, dilatação pupilar e hemiparesia é sugestiva de lesão com efeito de massa, causando herniação transtentorial. Outras causas para deterioração do nível de consciência no TCE são hipóxia/hipotensão; convulsões; hipoglicemia; e, intoxicação exógena (KRAUS et al., 1996; DUFF, 2003). Tendo em vista que o exame neurológico inicial, freqüentemente, é pouco confiável no TCE, utiliza-se a tomografia computadorizada de crânio (TCC), como exame de escolha, para auxílio diagnóstico (GHAJAR, 2000; BRUNS Jr e HAUSER, 2003).

A mortalidade do TCE grave varia entre 30-80%, conforme os centros e populações pesquisados. Em relação à morbidade associada ao TCE grave, sabe-se que 100% dos sobreviventes terão algum grau de seqüela. Alguns fatores prognósticos tem sido estabelecidos: o grau de coma inicial (estabelecido pela GCS) e a idade são os mais estudados.

A idade segue-se em importância à GCS: crianças menores de cinco anos apresentam mortalidade superior às de 5 a 19 anos. Jovens recuperam-se muito melhor que idosos. Pupilas fixas, ausência ou alteração grave dos movimentos oculares, padrões anormais de resposta motora também estão relacionados com piores prognósticos (KRAUS et al., 1996; GHAJAR, 2000; DUFF, 2003).

Desta forma, biomarcadores têm sido investigados como potenciais marcadores prognósticos no cenário de TCE grave. Entre estes marcadores estão: creatina-quinase-BB, proteína glial fibrilar ácida, enolase neuronal específica, proteína S100b e Hsp70 (RAABE et al, 2003; da ROCHA et al, 2005 e 2006; CAMPELO et al, 2007; CRESPO et al, 2007; de OLIVEIRA et al, 2007). Porém, há muitas controvérsias quanto ao poder preditivo destes marcadores na rotina médica. Atualmente, entre os biomarcadores mais promissores estão a proteína S100b e a enolase neuronal (RAABE et al, 2003). Aumento na concentração sérica de biomarcadores foram descritos em diferentes doenças neurológicas, na fase ativa de dano celular no SNC. Elevações no soro sugerem comprometimento da integridade da barreira hematoencefálica (BHE), razão pela qual, medidas de biomarcadores no soro podem ter utilidade clínica na avaliação de danos ao SNC (RAABE et al, 1998; INGEBRIGTSEN et al, 1999; ANDERSON et al, 2001; REGNER et al, 2001a; REGNER et al, 2001b; MUSSAK et al, 2002; PETZHOLD et al, 2002; JONSSON, 2003; da ROCHA et al, 2005).

O BDNF é uma neurotrofina descoberta em 1982, sendo esta, a segunda da família dos agentes neurotróficos (a primeira foi o Fator Neurotrófico do Nervo (NGF) (UNIVERSITE PARIS DESCARTES, 2006; CATTANEO e ZUCCATO, 2007). As neurotrofinas são moléculas que regulam a sobrevivência natural, a plasticidade do sistema ner-

voso e outras funções dos neurônios e células gliais, assim como de alguns tecidos não nervosos. As neurotrofinas ligam-se ao receptor p75, mas suas ações no p75, ao menos no cérebro adulto, não são bem compreendidas, assim como suas ações nos receptores trk, (que inclui subtipos de receptores trkA, trkB e trkC) (MORIS e VEGA, 2003 ; SCHARFMAN, 2005).

O BDNF é sintetizado predominantemente no SNC, por células gliais (ZAFRA et al., 1992; CATTANEO e ZUCCATO, 2007). Embora largamente expresso no SNC do mamífero adulto, é particularmente abundante no hipocampo e córtex cerebral (CATTANEO e ZUCCATO, 2007). Nota-se que sua expressão aumenta após injúrias e eventos isquêmicos. Entretanto, manipulações benignas, tais como exercícios físicos ou tratamentos a base de estrógenos também podem elevar seus níveis (SCHARFMAN, 2005).

Evidências mostram que o sistema nervoso central (SNC) adulto possui regeneração neuronal restrita, porém, tem sido sugerido que os fatores neurotróficos possam proteger os neurônios diante de determinadas situações patológicas como a morte por apoptose e o dano celular provocado por diversas agressões (MORIS e VEGA, 2003). Ainda, fatores neurotróficos têm sido implicados na etiopatogenia de algumas doenças neurodegenerativas, tais como: Alzheimer, Parkinson, neuropatias periféricas e esclerose lateral amiotrófica (MORIS e VEGA, 2003). Estudos específicos investigando o BDNF, sugerem que seus baixos níveis séricos estão relacionados como fator de risco para depressão e que variantes do gene do BDNF, aumentam o risco de esquizofrenia (AYDEMIR et al., 2006; QIAN et al., 2007). Em relação a doença de Huntington, acredita-se no envolvimento do BDNF na gênese da doença, e como sendo também, um potencial agente terapêutico (CATTANEO e ZUCCATO, 2007). Contudo, o

papel do BDNF ainda não foi investigado na lesão cerebral traumática no adulto.

Apesar da importância do TCE na saúde pública, pouco progresso tem sido alcançado em termos de manejo clínico/terapêutico nas últimas décadas. Até o momento, não existem marcadores prognósticos precisos ou alternativas farmacológicas efetivas para as vítimas de TCE grave. Assim, é de suma importância a pesquisa de marcadores de dano neural, que possam ter aplicação como marcadores prognósticos no TCE, estratificando-se os pacientes de maior risco e guiando o emprego de estratégias terapêuticas mais invasivas. Dessa forma, o presente estudo investigará o papel do BDNF como biomarcador no TCE grave.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi delineado como uma coorte prospectiva, teve aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital Municipal de Pronto Socorro de Porto Alegre, Hospital Cristo Redentor e Universidade Luterana do Brasil. Os pacientes incluídos na pesquisa estavam clinicamente inconscientes e por isso a assinatura do consentimento informado foi obtido através de parentes desses pacientes, após devido esclarecimento a respeito dos propósitos da coleta de amostras de sangue.

O estudo analisou 45 homens, com idade entre 16 e 77 anos, vítimas de TCE grave (GSC 3-8 na admissão na sala de emergência, sem história prévia de doenças neurológicas e psiquiátricas) e o grupo controle era composto por 5 pacientes do sexo masculino e hígidos. Dezenove pacientes apresentaram TCE isolado e vinte e seis pacientes tiveram TCE com trauma extracraniano adicional. Somente os pacientes transferidos para UTI

dentro de 24h após o TCE grave foram incluídos no estudo. As variáveis relacionadas ao desfecho dos pacientes com TCE grave consistiam em: sobrevivência, tempo transcorrido até a alta da UTI e avaliação neurológica através do emprego do GOS score no momento da alta da UTI. Na entrada do paciente no CTI, a condição circulatória e o GCS score eram monitorados e o Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II (APACHE II) score foram determinados também.

O score de APACHE II tem sido estudado como um preditor de gravidade funcional e de mortalidade em TCE. Todos os pacientes foram sedados e ventilados mecanicamente. Corticoesteróides não foram administrados.

Estudos prévios estabeleceram diferenças entre gêneros na patofisiologia e desfecho precoce após TCE ou trauma extracraniano. Menos susceptibilidade a isquemia pós-traumática após dano cerebral tem sido observado em mulheres. Assim, para evitar uma possível diferença gênero-dependente no desfecho pós-trauma, somente homens participaram do estudo.

Sangue periférico foi coletado após entrada do paciente na CTI (entrada no estudo). As amostras de sangue foram centrifugadas por 10 minutos, o plasma coletado e estocado em freezer a -20°C . Foi realizado acompanhamento clínico dos pacientes até o desfecho (alta da CTI ou óbito). O soro foi descongelado e posteriormente submetido à análise para dosagem de BDNF. A concentração sérica de BDNF foi medida pelo método de ELISA (Quantikine, # DBD00, R&D Systems, MN, USA). Os procedimentos experimentais foram realizados no laboratório do Centro de Pesquisa em Ciências Médicas da Universidade Luterana do Brasil.

A análise estatística empregou teste T para dados não paramétricos e correlação de Spearman.

RESULTADOS

A Tabela 1 caracteriza a população de TCE grave estudada, e estratifica a mesma pelo desfecho primário (sobreviventes/não sobreviventes). A mediana de idade no grupo de pacientes com TCE grave foi de 39 (16-77) anos. Não houve diferença significativa entre as médias de idade dos grupos de vítimas de TCE quando estratificados por desfecho ou tipo de TCE (isolado ou associado ao politrauma). O TCE grave foi associado a uma taxa de mortalidade de 55%. No grupo dos sobreviventes o tempo mediano entre o trauma e a alta do CTI foi de 13 dias (escala de 2-54). O tempo mediano entre o evento traumático e morte foi de 3 dias (escala de 0-85). Sessenta por cento dos pacientes sofreram politrauma. Houve diferença significativa quanto ao mecanismo de lesão entre os grupos de TCE isolado e TCE associado ao politrauma, havendo maior incidência de queda e agressão no grupo de vítimas de TCE isola-

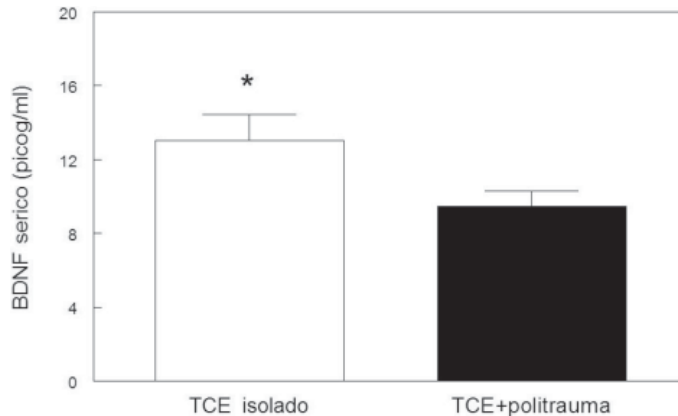
do ($p < 0,05$, teste-t não pareado). A concentração sérica de BDNF foi avaliada em todos os pacientes que entraram no estudo (Figuras 1 e 2). Os indivíduos com TCE foram agrupados em TCE isolado ($n=19$) e TCE associado ao politrauma ($n=26$). Após admissão na CTI (em média 10,5h após o trauma) a concentração sérica de BDNF foi significativamente maior nos pacientes vítimas de TCE isolado ($13,05 \pm 1,4$ $\mu\text{g/ml}$) quando comparados aos pacientes vítimas de TCE associado à politrauma ($9,48 \pm 0,8$ $\mu\text{g/ml}$; média \pm D.P), ($p=0,028$, teste T para dados não pareados) (Figura 1). Ainda, considerando o grupo com TCE grave isolado, o grupo com desfecho fatal apresentou aumento significativo de BDNF ($16,06 \pm 1,8$ $\mu\text{g/ml}$, média \pm DP) quando comparado ao grupo sobrevivente ($9,67 \pm 0,9$ $\mu\text{g/ml}$; média \pm DP), ($p=0,020$, teste T não pareado). No grupo com TCE grave isolado houve significativa correlação entre o aumento do BDNF e o desfecho fatal ($\rho=0.5292$, $p=0.028$) (Figura 2).

Tabela 1 - Características da população estudada com traumatismo crânio-encefálico (TCE) e estratificação da medida dos resultados primários (sobreviventes / não sobreviventes).

	TCE (n=45)	Sobreviventes	Não sobreviventes
Idade , mediana (escala), anos	39(16-77)	37,5 (18-64)	41,0 (16-77)
Tempo de coleta da primeira amostra pós-trauma, média (\pm DP), horas.	10,5 (7,3)	11,4 (7,4)	9,4(7,3)
ECG na sala de admissão na emergência, média (\pm DP)	5,6 (2,3)	6,4(2,9)	*5,0 (1,6)
ECG na entrada do estudo, média (\pm DP)	5,2 (1,8)	6,3 (1,5)	*4,5 (1,7)
APACHE II, média (\pm DP)	16,6 (1,8)	12,4 (2,9)	*19,6 (6,1)
Pressão arterial sistólica, média (\pm DP)	127,1 (6,1)	129,5 (27,4)	124,6 (33,6)
TCE isolado (%)	18 (40)	8 (40)	9 (36)
GOS na alta da CTI ,média (\pm DP)	-	3,2 (0,8)	-
Tempo entre o evento e alta da CTI, mediana (escala),dias	-	13 (2-54)	-
Mortalidade n(%)	25 (55)	-	25 (55)
Tempo entre evento e morte, mediana (escala), dias	-	-	3 (0-85)

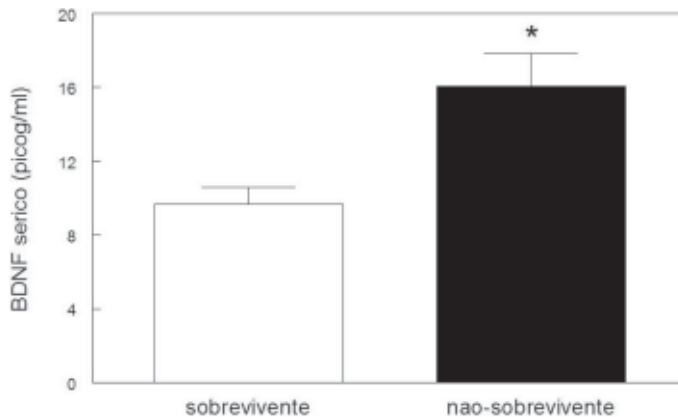
ECG: Escala de Coma de Glasgow; EEG Escala de Evolução de Glasgow.

* Diferença significativa do grupo de sobreviventes ($p < 0,05$, teste T não pareado).



* Diferença significativa do grupo TCE grave associado à politrauma ($p < 0,050$).

Figura 1 - Concentração sérica de BDNF em indivíduos com TCE grave. Os indivíduos com TCE foram agrupados em TCE isolado ($n=19$) e TCE associado à politrauma ($n=26$). Após admissão na CTI (em média 10,5h após o trauma) a concentração sérica de BDNF foi significativamente maior nos pacientes vítimas de TCE isolado ($13,05 \pm 1,4$ pg/ml) quando comparados aos pacientes vítimas de TCE associado à politrauma ($9,48 \pm 0,8$ pg/ml; média \pm D.P), ($p=0,028$, teste T para dados não pareados).



* Diferença significativa do grupo que teve desfecho fatal ($p = 0,020$, teste T não pareado).

Figura 2 - Níveis séricos médios de BDNF no TCE grave isolado, estratificados pelo desfecho primário (alta da CTI ou óbito). O grupo com TCE grave isolado fatal apresentou aumento significativo de BDNF ($16,06 \pm 1,8$ pg/ml, média \pm DP) quando comparado ao grupo sobrevivente ($9,67 \pm 0,9$ pg/ml; média \pm DP), ($p=0,020$, teste T não pareado), no grupo TCE grave isolado houve significativa correlação entre o aumento do BDNF e o desfecho fatal ($\rho = 0,5292$, $p=0,028$).

DISCUSSÃO

Neste estudo avaliamos o BDNF como marcador prognóstico de desfecho fatal em vítimas de TCE grave. Foram investigados 45 homens com idade entre 16 e 77 anos (mediana de 39 anos). Foi dosada a concentração sérica de BDNF em todos os pacientes com TCE grave. Foi demonstrado um aumento significativo dos níveis de BDNF nos pacientes que sofreram TCE grave isolado quando comparados às vítimas que sofreram TCE grave associado ao politrauma, sugerindo maior especificidade do BDNF sérico em lesões de caráter exclusivo do SNC. Ainda, neste grupo de vítimas de TCE isolado, foi verificada correlação entre níveis mais altos de BDNF e mortalidade.

Na literatura, o BDNF tem sido envolvido na patofisiologia de diversas doenças. No entanto, não encontramos estudos relacionando BDNF e TCE no adulto. Scharfman (2005) descreve que eventos isquêmicos e outras injúrias cerebrais podem elevar a expressão de BDNF, entretanto, o BDNF também pode elevar-se em situações benignas, como os exercícios físicos e tratamentos a base de estrógenos. Sua implicação na gênese de doenças neurodegenerativas e psiquiátricas, reforçam a importância de sua investigação nos mais diversos tipos de patologias, inclusive no TCE (MORIS e VEGA, 2003; AYDEMIR et al., 2006; QIAN et al., 2007).

Encontramos, neste estudo, uma taxa de mortalidade de 55% com o desfecho fatal ocorrendo majoritariamente no terceiro dia após o trauma. Cinquenta e sete por cento dos pacientes investigados com TCE apresentaram trauma associado, principalmente de extremidades e de tórax. Não pudemos deixar de observar em nossos resultados, que a mortalidade dos pacientes

que sofreram TCE vítimas de agressão foi de 100%, independente de ser TCE isolado ou associado ao politrauma, demonstrando assim, a gravidade das agressões, como mecanismo de lesão, em nosso meio.

Nossos resultados, demonstraram significativo aumento do BDNF sérico nas vítimas de TCE isolado que se correlacionaram com desfecho fatal. Desta maneira, o BDNF sérico é eficiente como marcador de desfecho primário no TCE grave isolado em adultos. Contudo, a dosagem sérica do BDNF apresenta especificidade para lesão neural, porém, com baixa sensibilidade, o que dificultaria seu uso como um marcador precoce na triagem de pacientes vítimas de traumatismo crânio-encefálico. Talvez, os níveis líquidos de BDNF apresentassem resultados mais expressivos como marcador prognóstico.

CONCLUSÃO

Em suma, o BDNF sérico está elevado no TCE isolado, sugerindo sua participação nos mecanismos patofisiológicos da lesão neural traumática. Ainda, as concentrações séricas desta neurotrofina apresentaram correlação significativa com o desfecho fatal no TCE grave isolado.

REFERÊNCIAS

AYDEMIR, C. et al. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) changes in the serum of depressed women. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, v.30, p.1256–1260, 2006.

BRUNS JR, J.; HAUSER, W.A. The

epidemiology of traumatic brain injury: a review. **Epilepsia**, v. 44, p. 2-10, 2003.

CAMPELLO, Y.V. et al. Role of plasma DNA as a predictive marker of fatal outcome following severe head injury in males. **Journal of Neurotrauma**, v. 24, n.7, p.1172-1181, 2007.

CATTANEO, E.; ZUCCATO, C. Role of brain-derived neurotrophic factor in Huntington's disease. **Progress in Neurobiology**, v. 81, p.294-330, 2007.

CRESPO, A.R. et al. A. Increased serum sFas and TNFalpha following isolated severe head injury in males. **Brain Injury**. v.21, n.4, p.441-447, 2007.

DUFF, D. Review Article: altered states of consciousness, theories of recovery and assessment following a severe traumatic brain injury. **Axone**, v. 23, n.1, p.18-23, 2003.

GHAJAR, J. Traumatic brain injury. **The Lancet**, v. 356, p.923-929, 2000.

INGEBRIGTSEN, T. et al. Traumatic Brain Damage in Minor Head Injury: Relation of Serum S-100 Protein Measurements to Magnetic Resonance Imaging and Neurobehavioral Outcome. **Neurosurgery**, v. 45, n.3, p.468-476, 1999.

JÖNSSON, H. et al. Elimination of S100B and renal function after cardiac surgery. **Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia**, v.14. n.6, p.698-701, 2003.

KIRKNESS, C.J. et al. Is there a sex difference in the course following traumatic brain injury? **Biological Research for Nursing**, v. 5, n.4, p.299-310, 2004.

KRAUS, J.F. et al. Epidemiology of brain injury. In: NARAYAN, R.K.; WILBERGER Jr., J.E. ; POVLISHOCK, J.T. (Eds). **Neurotrauma**. New York: McGraw Hill, cap.2, p.13-30, 1996.

MORIS, G.; VEGA J.A. Factores neurotróficos: fundamentos para su aplicación clínica. **Neurología**, v.18, n.1, p.18-28, 2003.

MUSSACK, T. et al. Serum S-100B and interleukin-8 as predictive markers for comparative neurologic outcome analysis of patients after cardiac arrest and severe traumatic brain injury. **Critical Care Medicine**, v.30, n.12, p.2669-2674, 2002.

OLIVEIRA, C.O. de. et al. Plasma von Willebrand factor levels correlate with clinical outcome of severe traumatic brain injury. **Journal of Neurotrauma**. v. 24, n. 8, 1331-1338, 2007.

PETZOLD, A. et. al. Role of serum S100B as an early predictor of high intracranial pressure and mortality in brain injury: A pilot study. **Critical Care Medicine**, v.30, n.12, p.2705-2710, 2002.

QIAN, L. et al. Brain-derived neurotrophic factor and risk of schizophrenia: An association study and meta-analysis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.353, p.738-743, 2007.

RAABE, A. et al. Correlation of computed tomography findings and serum brain damage markers following severe head injury. **Acta Neurochirurgica**, Wien, v.140, p.787-792, 1998.

RAABE, A. et al. Serum S100B protein as a molecular marker in severe traumatic brain

injury. **Restorative Neurology and Neuroscience**, v. 21, p.159-169, 2003.

REGNER, A. et al. Increased serum S100 β protein concentrations following severe head injury in humans: a biochemical marker of brain death? **NeuroReport**, v.12, n.4, p.691-694, 2001.

REGNER, A.R. et al. Neurochemical characterization of traumatic brain injury in humans. **Journal of Neurotrauma**, v.18, n.8, p.783-792, 2001.

ROCHA, A.B. da. et al. Serum Hsp70 as an early predictor of fatal outcome after severe traumatic brain injury in males. **Journal of Neurotrauma**, v.22, n.9, p.966-977, 2005.

ROCHA, A.B. da. et al. Role of serum S100 β as predictive marker of fatal outcome

following isolated severe head injury or multitrauma. **Clinical Chemistry Laboratory Medicine**, v. 44, n.10, p.1234-1242, 2006.

SCHARFMAN, H.E. Brain-derived neurotrophic factor and epilepsy – a missing link? **Epilepsy Currents**, v 5, n. 3, p. 83-89, 2005.

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES. Genatlas: gene database, 2006. Disponível em <http://www.dsi.univparis5.fr/genatlas/fiche1.php?symbol=BDNF>. Acesso em 08/2007.

WILSON, J.T.L.; PETTIGREW, L.E.L.; TEASDALE, G.M. Structured Interviews for the Glasgow Outcome Scale and the Extended Glasgow Outcome Scale: guidelines for their use. **Journal of Neurotrauma**, v.15, n.8, p.573-585, 1998.