

Aus dem Institut für Neuroradiologie
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. med. D. Petersen

**Plasma- und Serumspiegel von S-100B
und GFAP nach Schädelhirntrauma:
Aussagekraft in der Akutdiagnostik und
möglicher prognostischer Wert**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- Aus der medizinischen Fakultät -

vorgelegt von
Elke Steinmeier
aus Braunschweig

Lübeck, 2006

Erster Berichterstatter

Priv. Doz. Dr. med. Ulrich Missler

Zweiter Berichterstatter/ Berichterstatterin

Priv. Doz. Dr. med. Jan Gliemroth

Tag der mündlichen Prüfung

03.05.2007

Zum Druck genehmigt

Lübeck, den 03.05.07

gez. Prof. Dr. med. Werner Solbach

Dekan der Medizinischen Fakultät

Inhalt

<i>Inhalt</i>	3
1. Grundlagen	5
1.1 Einleitung und Fragestellung	5
1.2 Schädelhirntrauma	8
1.3 Zerebrale Strukturproteine	12
1.4 Das S-100 Protein	13
1.4.1 Vorkommen der S-100 Monomere	14
1.4.2 Funktion der S-100 Proteine	15
1.5 Das saure gliale Faserprotein (GFAP)	16
1.5.1 Vorkommen des GFAP im menschlichen Körper	16
1.5.2 Funktion des GFAP Proteins	16
2. Patienten, Material und Methoden	18
2.1 Auswahl von Patienten und Kontrollpersonen	18
2.2 Probengewinnung und Verarbeitung	18
2.3 Material	19
2.3.1 Antikörper	19
2.3.2 Chemikalien und verwendete Pufferlösungen	19
2.3.2.1 Herstellung der Enhancement-Lösung	19
2.3.2.2 Herstellung des Waschpuffers	20
2.3.2.3 Herstellung des TRIS/HCl/NaCl-Puffers	20
2.4 Immunfluoreszenzassay zur Bestimmung des S-100B Proteins	20
2.5 Immunfluoreszenzassay zur Bestimmung des GFAP Proteins	22
2.6 Neurologische Beurteilungsskalen	23
2.6.1 Glasgow Coma Skala	23
2.6.2 Glasgow Outcome Skala	25
2.6.3 CCT-Skala	25
2.7 Statistische Methoden	26
3. Ergebnisse	27
3.1 Neurologischer Status bei Aufnahme	27
3.2 CCT Befunde bei Aufnahme	28
3.3 Klinische Erholung	28
3.4 S-100B-Plasmaspiegel	30
3.5 GFAP- Serumspiegel	31
3.6 Vorhersagewert für die klinische Erholung	35
4. Diskussion	38
4.1 Messmethoden	38
4.2 S-100-Messungen in der Literatur	38

4.3 Messmethoden zur Quantifizierung des S-100 Proteins	40
4.4 GFAP-Messungen in der Literatur	41
4.5 Meßmethoden zur Quantifizierung des GFAP Proteins	42
4.6 Klinisch-neurologischer Status	42
4.7 Alter	43
4.8 Bewertung der initialen Computertomographie	43
4.9 S-100B und GFAP als Marker für das Ausmaß eines Schädelhirntraumas	44
4.10 Resümee und Ausblick	46
5. Zusammenfassung	48
6. Literaturverzeichnis	50
7. Anhang	62
8. Tabellenverzeichnis	65
9. Abbildungsverzeichnis	66
10. Danksagung	67
11. Lebenslauf	68

1. Grundlagen

1.1 Einleitung und Fragestellung

Die Diagnostik und Therapieüberwachung neurologisch-neurochirurgischer Krankheitsbilder stützt sich im Wesentlichen auf drei Pfeiler:

a) Die klinisch-neurologische Untersuchung: Sie bildet nach wie vor das Fundament der Diagnostik in Neurologie und Neurochirurgie. Sie ist jedoch bei bewusstlosen bzw. bewusstseinsgetrübten Patienten nicht oder nur sehr beschränkt aussagefähig.

b) Die bildgebenden Untersuchungsverfahren: Dabei nehmen die Schnittbildverfahren (CT/MRT) vor der Ultraschalldiagnostik (Dopplersonographie, B- Mode, Duplex, Powerdoppler) und den konventionellen Röntgenverfahren die wichtigste Rolle ein.

Die Computertomographie (CT) wurde im Jahre 1973 erstmals von G. Hounsfield und J. Ambrose beschrieben (5,46). Sie machte es erstmals möglich, nicht invasiv intrakranielle Strukturen zu differenzieren und brachte dadurch erhebliche Fortschritte in der neurologischen Diagnostik. Dieser standen bis dahin nur invasive Methoden, wie beispielsweise Pneumenzephalographie, Ventrikulographie und Zisternographie zur Beurteilung der intrakraniellen Strukturen zur Verfügung.

Die Computertomographie spielt in der Notfallmedizin nach wie vor eine große Rolle und ist häufig die wichtigste bildgebende Methode. Besondere Bedeutung hat sie in der Neurotraumatologie. Insbesondere die Primärdiagnostik der Schädel-Hirn-Verletzten wird computertomographisch durchgeführt, da die CT bei guter räumlicher Auflösung nicht nur eine klare Darstellung knöcherner Strukturen zeigt, sondern vor allem den sicheren Nachweis frischer intrakranieller Blutungen erlaubt. Daneben benötigt die CT nur eine kurze Untersuchungszeit und steht in den meisten Akutkrankenhäusern rund um die Uhr zur Verfügung.

Allerdings ist ein engmaschiges Monitoring mit bildgebenden Methoden bei diesen Patienten in der Regel nicht praktikabel. Dies liegt weniger an der Strahlenbelastung, sondern mehr am erforderlichen Transport zur CT, der für Intensivpatienten eine nicht unerhebliche Belastung darstellt. Insbesondere für Patienten mit erhöhtem intrakraniellen Druck bedeutet jeder Transport eine Gefährdung, da unter anderem die optimale 30 Grad-Oberkörperhochlagerung

während des Transportes und der Untersuchung im Computer- oder Kernspintomographen nicht immer zu gewährleisten ist.

Ergänzend zu den oben genannten diagnostischen Verfahren werden auch nuklearmedizinische Methoden zur Diagnostik neurologischer Krankheitsbilder herangezogen. Unter den nuklearmedizinischen Verfahren stellt die Positronenemissionstomographie (PET) derzeit die wichtigste Methode dar. Sie ermöglicht die semiquantitative Bestimmung des zerebralen Metabolismus. So ist z.B. mit der PET eine Differenzierung zwischen einer Strahlennekrose und dem Rezidiv eines hirneigenen Tumors möglich.

c) Laborchemische Diagnostik (Liquor- und Serumdiagnostik): Die Liquordiagnostik hat eine zentrale Stellung in der neurologischen Labordiagnostik. Regelmäßig durchgeführt wird die Bestimmung des Gesamteiweißes und der Zellzahl im Liquor. Über 80% des Liquoreiweißes stammen aus dem Serum. Die wichtigsten Liquorproteine, die in die Bestimmung des Gesamteiweißes mit eingehen, sind das Albumin, das Saure α_1 -Glycoprotein, das α_1 -Antitrypsin, das Hämopexin, das α_2 -HS-Glycoprotein und das Transferrin. Die obere Grenze des Referenzbereiches des Liquorgesamteiweißes liegt bei etwa 4,5 g/l (laborabhängig). Die drei wesentlichen Liquorproteine aus lokaler Produktion sind das β -trace-Protein, das Praealbumin und das τ -Globulin, deren Konzentrationen im mg/l-Bereich liegen. Mit der Agargelelektrophorese kann eine autochtone IgG- (ImmunglobulinG) Produktion im Liquor (oligoclonale Banden) erfasst werden.

In der Routinediagnostik werden keine weiteren Proteine bestimmt. Zellen, die normalerweise im Liquor vorkommen, sind Lymphozyten und Monozyten (bis zu 15/3 Zellen/ μ l). Pathologische Zellen wie Tumorzellen können zytochemisch erfasst werden. Weitere Laborparameter, die zur Routinediagnostik des Liquors gehören, sind das Lactat und die Glucose. Zusammengenommen können diese Liquorparameter zur Differenzierung entzündlicher, tumoröser und immunologischer Erkrankungen herangezogen werden.

Insbesondere für eine effektive Intensivtherapie ist die klinische Chemie mit der Bestimmung einer Vielzahl von Serumparametern unerlässlich. Jedoch ist diese wenig hilfreich für die Beurteilung intrakranieller Pathologien.

Trotz der Vielzahl der oben genannten diagnostischen Modalitäten ist es vor allem bei komatösen und anästhesierten Patienten schwierig, frühzeitig Komplikationen

zu erkennen, um dann rechtzeitig eine adäquate Therapie einleiten zu können. Für ein engmaschiges Monitoring sind die bildgebenden Verfahren aufgrund des notwendigen Transports nur bedingt geeignet. Auch elektrophysiologische Methoden (EEG, evozierte Potentiale) werden heute vielfach zur Beurteilung bewusstloser Patienten herangezogen. Aber auch mit ihnen ist ein zuverlässiges Monitoring nicht immer möglich. Die wichtigste Art der Überwachung, die klinisch-neurologische Untersuchung, ist bei diesen Patienten nicht oder nur sehr eingeschränkt möglich.

Ergänzende diagnostische Parameter zur Beurteilung des Ausmaßes einer Hirnschädigung wären daher wünschenswert.

Neuronale Strukturproteine wie S-100, NSE (neuronenspezifische Enolase), saures Gliafaserprotein (GFAP: glial fibrillary acidic protein) und Kreatinkinase BB (CK-BB) kommen im gesamten Nervensystem entweder im Zytoplasma oder als Bestandteil der Zellmembranen vor. Zahlreiche Studien haben gezeigt, dass es nach einer Schädigung des Zentralnervensystems (ZNS) zu einem Anstieg dieser Proteine im Liquor kommt (7,39,63,64,66,72,74,77,81,85,97,98,100).

Ebenfalls wurde nachgewiesen, dass es sekundär auch zu einem Konzentrationsanstieg der Strukturproteine im Blut kommt (60,68,104). Zwischen der Höhe des Konzentrationsunterschiedes der Strukturproteine und dem Ausmaß eines ZNS-Schadens konnte ein semiquantitativer Zusammenhang gezeigt werden (7,38,56,66,97). Damit eignen sich diese Marker potentiell zur initialen Abschätzung des Ausmaßes einer ZNS-Schädigung und, da diese ohne weiteres seriell bestimmbar sind, auch zur Überwachung des Patienten im weiteren Verlauf. Da die Gewinnung von Liquor bei Patienten mit Schädelhirntrauma praktisch unmöglich ist, würde die Bestimmung im Blut die Handhabung wesentlich erleichtern, keine zusätzliche Belastung für den Patienten darstellen und damit von erheblichem Nutzen sein.

Ziel der hier dargestellten Studie war die Klärung der Frage, inwieweit ein Schädelhirntrauma zur Erhöhung von S-100B und GFAP Plasma- bzw. Serumwerten führt und ob eine Korrelation zwischen den Konzentrationen, dem klinischen Schweregrad der Verletzung (Glasgow Coma Scale), der klinischen Erholung nach einem Schädelhirntrauma (Glasgow Outcome Scale, Prognose)

und dem in der CT nachweisbaren Ausmaß des Traumas besteht. Außerdem sollte die Frage beantwortet werden, welcher Faktor in der Akutphase den höchsten Vorhersagewert für die neurologische Erholung des Patienten besitzt.

1.2 Schädelhirntrauma

In den USA sind Traumen die häufigste Todesursache bei Menschen unter 44 Jahren und die dritthäufigste Todesursache allgemein. Über die Hälfte der Trauma bedingten Todesfälle sind durch eine Kopfverletzung verursacht. Etwa sieben Millionen Schädelhirntraumen treten jedes Jahr in den USA auf, und mehr als eine halbe Million der Opfer bedürfen einer Krankenhausbehandlung. Die Zahl der Patienten, bei denen eine stationäre Behandlung erforderlich ist, liegt bei etwa 300 auf 100 000 Einwohner. Fast 100 000 der jährlichen Opfer eines Schädelhirntraumas behalten lebenslange Defizite, fünftausend entwickeln posttraumatisch eine Epilepsie und 2000 überleben nur in einem persistierenden vegetativen Stadium (37).

In der Literatur wird für Deutschland die Häufigkeit von Schädelhirntraumen aller Schweregrade, die eine stationäre Behandlung erfordern, jährlich mit 200 bis 300 pro 100 000 Einwohner angegeben. Männer sind doppelt so häufig betroffen wie Frauen. Kinder unter 15 Jahren haben dabei einen Anteil von etwa 27%. Exakte epidemiologische Daten über Schwere, Häufigkeit und Art von Schädel-Hirn-Verletzungen gibt es in Deutschland allerdings nicht. Nach den Erhebungen des Bundesamtes für Statistik starben 1994 in Deutschland insgesamt etwa 10 000 Patienten an den Folgen eines Schädelhirntraumas. Über die Häufigkeit leichter und mittelschwerer Schädelhirntraumen existieren keine gesicherten Daten. Schwere Hirnverletzungen mit einer Bewusstlosigkeit von mindestens sechs Stunden erleiden in 81% der Fälle Männer (40).

In der Diagnostik des Schädelhirntraumas nimmt derzeit, neben der Anamnese und der klinisch neurologischen Untersuchung, die kraniale Computertomographie (CCT) eine zentrale Stellung ein. Mit ihr sind intrakranielle, extrazerebrale (epidurale, subdurale) und intrazerebrale Blutungen (Kontusionsblutungen) in aller Regel sofort und sicher zu erkennen und zu lokalisieren. Das volle Ausmaß

Kontusions bedingter Hirnparenchymschäden stellt sich computertomographisch allerdings meist erst nach zwölf bis 24 Stunden dar.

Bei der langfristigen Beurteilung von Traumafolgen spielt die Kernspintomographie zunehmend eine wichtigere Rolle. In der Akutphase des Schädelhirntraumas scheint jedoch vorerst die CCT das bildgebende Verfahren der Wahl zu bleiben.

Kopfverletzungen lassen sich unterteilen in Verletzungen des knöchernen Schädels und solche des Gehirns und seiner Hüllen. Für die Beurteilung von Schädelhirnverletzungen ist nur die Schwere des Hirntraumas relevant, eine eventuell vorhandene Schädelfraktur kann lediglich indirekter Hinweis auf das Ausmaß der Gewalteinwirkung sein.

Bei den Schädelfrakturen unterscheidet man zwischen Frakturen des Schädeldaches und der Basis. Die Schädeldachfrakturen lassen sich in Biegungsbrüche mit möglicher Impressionsfraktur oder Berstungsbrüche einteilen. Die Schädelbasisfrakturen entstehen oft indirekt durch Gewalteinwirkung auf das Schädeldach.

Bei den Schädelhirnverletzungen wurde nach der früher gebräuchlichen Einteilung in *Commotio cerebri*, *Contusio cerebri* und *Compressio cerebri* eine pathologisch-anatomische Beschreibung vorgenommen. Für eine klinische Einteilung nahmen Tönnis und Loew 1953 die Dauer der Rückbildungszeit der Symptome als klinischen Anhaltspunkt und teilten das Schädelhirntrauma in drei Schweregrade ein.

- Das Schädelhirntrauma 1. Grades, definiert durch eine Bewusstlosigkeit bis zu 15 Minuten und einen Dämmerzustand bis zu einer Stunde, beschreibt eine kurz dauernde Funktionsstörung des Gehirns mit letztlich vollständiger Rückbildung der Symptome (Kopfschmerzen, Schwindel, Übelkeit, Erbrechen) und nur gering gradigen neurologischen Störungen innerhalb von vier Tagen.
- Schädelhirnverletzte 2. Grades haben oftmals das Bewusstsein bei Krankenseinlieferung noch nicht wiedererlangt. Die Rückbildung neurologischer Ausfälle ist spätestens nach einem Monat zu erwarten.
- Das Schädelhirntrauma 3. Grades ist durch eine länger als eine Stunde bestehende Bewusstlosigkeit und einen möglichen Dämmerzustand über mehr als 24 Stunden gekennzeichnet.

In den letzten Jahren wird überwiegend die Glasgow Coma Skala (GCS) verwendet. Diese hat sich als wichtiges prognostisches Kriterium bewährt. Es wird dabei mit relativ einfach durchzuführenden Untersuchungen ein Punktwert ermittelt, der die Komatiefe beschreibt und eine Verschlechterung der neurologischen Ausgangssituation relativ zuverlässig anzeigt (Tabelle 2).

Bei den Schädelhirnverletzungen muss hinsichtlich der Prognose und Behandlung zwischen offenen und geschlossenen Verletzungen unterschieden werden. Von einer offenen Schädelhirnverletzung wird dann gesprochen, wenn die Dura verletzt ist und so eine direkte Kommunikation zwischen dem intrakraniellen Raum und der Außenwelt besteht. Bei offenen Schädelhirntraumen besteht eine hohe Infektionsgefahr mit der möglichen Ausbildung einer Meningitis, Enzephalitis oder eines Hirnabzesses.

Patienten mit einem Schädelhirntrauma sind vor allem durch eine Zunahme des intrakraniellen Volumens innerhalb des nicht nachgebenden knöchernen Schädels gefährdet. Nach Aufbrauchen der so genannten Reserveräume, vor allem der Subarachnoidalräume und hier insbesondere der basalen Zisternen, kommt es zu einer raschen Zunahme des intrakraniellen Druckes. Übersteigt dieser den arteriellen Mitteldruck, folgt daraus ein Zirkulationsstillstand mit Sistieren der zerebralen Durchblutung.

Auch ohne das Vorliegen einer intrakraniellen Blutung entsteht bei schweren Schädelhirntraumen regelmäßig ein Hirnödem mit konsekutiver Volumenzunahme des Gehirns. Ein interstitielles Hirnödem bezeichnet eine Flüssigkeitsvermehrung außerhalb der Hirnzellen; dieses vasogene Hirnödem beschreibt den noch nicht vollständig geklärten Umstand der erhöhten Durchlässigkeit der Blutkapillaren für eine eiweißarme Flüssigkeit. Es entsteht eine Störung der Blut-Hirn-Schranke.

Die zweite Form des Hirnödems wird durch Sauerstoffmangel hervorgerufen, der zu einer generalisierten oder umschriebenen Ischämie führt. Dadurch entsteht ein zytotoxisches oder intrazelluläres Hirnödem mit Flüssigkeitseinstrom in die Hirnzellen, das damit zu einer weiteren Hirnvolumenvermehrung führt. Das vasogene Hirnödem, die Mangeldurchblutung durch Drucksteigerung und das zytotoxische Hirnödem führen letztlich gemeinsam zu einer Volumenzunahme des Hirns und einer weiteren intrakraniellen Drucksteigerung, bis hin zur transtentoriellen Herniation und zerebralem Perfusionsstillstand.

Weitere Ursachen für eine intrakranielle Volumenvermehrung sind die intrakraniellen Hämatomate. Bei diesen unterscheidet man zwischen epiduralen, subduralen und intrazerebralen Blutungen. Diese sind im Gegensatz zum Hirnödem einer operativen Therapie zugänglich. Deshalb ist eine rasche Diagnose und Operation von entscheidender Bedeutung für die Prognose des Patienten.

Kommt es bei einem Schädelhirntrauma zum Einreißen von Blutgefäßen in der weichen Hirnhaut, können flächenhafte Blutungen in den Liquor haltigen Subarachnoidalraum entstehen. Dies bezeichnet man als traumatische Subarachnoidalblutung. Traumatische Subarachnoidalblutungen sind in der Regel nicht Raumfordernd. Ihre klinische Bedeutung besteht in der toxischen Wirkung auf die im Subarachnoidalraum verlaufenden arteriellen Blutgefäße.

Zu den typischen Traumafolgen zählen der posttraumatische Hydrozephalus und das posttraumatische Anfallsleiden. Bei Kleinkindern wird in der älteren Literatur die wachsende Schädelfraktur beschrieben.

Die Genese des posttraumatischen Hydrozephalus ist noch nicht vollständig geklärt. Die Verlegung des Liquorweges durch Blutung oder Hirnödeme und funktionelle Störungen der Liquorproduktion und -resorption werden als Ursache angenommen.

Das posttraumatische Anfallsleiden ist mit 5-10% die häufigste Komplikation nach einem Schädelhirntrauma. Je schwerer das Trauma ist, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, eine Epilepsie zu entwickeln. Von einer Frühepilepsie spricht man bei Auftreten bis einen Monat nach dem Trauma. Es handelt sich dabei meist um fokale Anfälle. Bei der später auftretenden Spätepilepsie kommt es vor allem zu generalisierten Krampfanfällen.

Die wachsende Schädelfraktur wurde von Pia und Tönnis 1953 im Zusammenhang mit kindlichen Schädelknochenverletzungen mit Duraverletzung beschrieben. Es handelt sich dabei um eine ausgestülpte Hirn-Dura-Narbe.

Durch ihren Verlauf an der und durch die Schädelbasis sind die Hirnnerven bei Schädelbasisfrakturen dem Risiko einer Verletzung ausgesetzt. Am häufigsten ist dabei der N. olfactorius an der Siebbeinplatte betroffen, gefolgt vom N. abducens, N. facialis und N. vestibulocochlearis. Auch der N. opticus und die weiteren Augenmuskelnerven können betroffen sein.

Die Prognose bei Schädelhirntraumen ist abhängig von dem Schweregrad, der Art der Verletzung und dem Lebensalter des Patienten. Die nach einem

Schädelhirntrauma auftretenden Störungen können sehr unterschiedlich sein. Neben psychischen Veränderungen und Lähmungen bleiben häufig vegetative Störungen zurück. Etwa 36% der schweren gedeckten Schädelhirnverletzungen werden nicht überlebt. Dabei beträgt die Sterblichkeit bei einem Glasgow- Coma-Score von drei 76%, bei einem Score von sechs bis acht sinkt die Letalität auf 18%. Von den 64 Prozent, die ein schweres Schädelhirntrauma überleben, wird etwa die Hälfte wieder arbeitsfähig, die andere Hälfte dauernd pflegebedürftig. Ausschlaggebend für das Spätergebnis eines Schädelhirntraumas sind rechtzeitige und richtige Diagnosestellung, Dauer der initialen Bewusstlosigkeit, Lebensalter des Patienten und eine adäquate neurochirurgische Versorgung und Intensivtherapie (94).

1.3 Zerebrale Strukturproteine

Ein Teil der Proteine, die im peripheren und zentralen Nervensystem vorkommen, sind ubiquitär im gesamten Körper vorhanden, andere sind spezifisch für das ZNS. Die im Liquor nachweisbaren Proteine entstammen größtenteils dem Blut und liegen meistens in kleinerer oder gleich großer Konzentration im Vergleich zum Blut vor. Dabei ist das Verhältnis zwischen Liquor- und Blutkonzentration abhängig von der Serumkonzentration und Molekülgröße des jeweiligen Proteins. Nur wenn sie neben der Diffusion noch über andere Transportmöglichkeiten, wie zum Beispiel Pinozytose verfügen, kann ihre Konzentration im Liquor die Serumkonzentration übersteigen. Innerhalb der Liquorräume variiert die Konzentration der verschiedenen Proteine. Sie nimmt von cranial nach caudal zu, was auf den trägeren Membranaustausch der Proteine im Bereich des spinalen Subarachnoidalraumes zurückgeführt wird (17).

Dass das Verhältnis der Blut- Liquorkonzentration der Proteine relativ konstant ist, kann man zu diagnostischen Zwecken nutzen, da sich bei einigen Erkrankungen die Menge der Proteine im Liquor erhöht. Diese Konzentrationszunahme beruht in der Regel auf einer erhöhten pathologischen Vasopermeabilität. Wobei in Einzelfällen auch ein verminderter Abtransport diskutiert wird, zum Beispiel bei spinalem Passagestopp (17). Diese Abweichung ist aber nicht spezifisch.

Man versucht seit Jahrzehnten ZNS-spezifische Proteine oder Peptide zu definieren, deren Konzentrationsveränderungen im Liquor und / oder Blut eine diagnostische Aussage über den Zustand des ZNS bzw. über den Untergang von

Gehirn- und Rückenmarksgewebe zulässt. Dabei wurden das S-100B Protein, die Neuronenspezifische Enolase (NSE), das gliale saure Faserprotein (GFAP) und das basische Myeloprotein (MBP) besonders intensiv untersucht (7,39,41,42,63,71,81,84,105).

1.4 Das S-100 Protein

Der Name S-100 bezeichnet eine Familie heterogener Proteine. Dieses wurde 1965 erstmals von Moore aus dem ZNS isoliert. Das von ihm isolierte Protein war nur in 100-prozentigem Ammoniumsulfat bei neutralem pH löslich (soluble), daher stammt der Name S-100 Protein. Heute weiß man, dass es sich um eine Proteinfamilie handelt, die aus einer Gruppe von Kalzium bindenden Proteinen besteht. Diese enthalten jeweils zwei EF- Hand Domänen (9,10). Als EF- Hand-Typ bezeichnet man jeweils zwei α -Helices („E“ und „F“), die durch eine Kalzium bindende Schleife verbunden sind.

Die Nomenklaturen für die Beschreibung der S-100 Proteine sind uneinheitlich.

In der älteren Literatur werden das S-100a, das S-100b und das S-100 a₀ unterschieden, von denen das S-100a und S-100b vorwiegend im ZNS, das S-100a₀ extrazerebral vorkommen. Diese drei Proteine sind jeweils aus zwei Untereinheiten (Monomeren) aufgebaut, einer α - und eine β -Kette, jeweils circa 10,5 kD groß. Die möglichen Kombinationen der Ketten (Dimere) ergeben das S-100a ($\alpha\beta$), S-100b ($\beta\beta$) und S-100a₀ ($\alpha\alpha$). In der überwiegenden Zahl der veröffentlichten Arbeiten werden mit S-100a und S-100b die Dimere bezeichnet. Diese stellen die biologisch aktive Form des Moleküls dar. S-100a ($\alpha\beta$) kommt in Gliazellen und Melanozyten, S-100b ($\beta\beta$) in Astrozyten und Schwann-Zellen des zentralen und peripheren Nervensystems, sowie in den Zellen der Adenohypophyse und den Langerhanszellen des Pankreas vor. S-100a₀ erscheint vorwiegend extrazerebral in Herz, Niere und glattem Muskelgewebe (11,52,93,118).

1995 führten Heizmann et al. eine Einteilung ein, die neben dieser bisherigen Einteilung in S-100a, S-100b und S-100a₀ die gesamte S-100 Protein-Familie erfasst. Diese Einteilung beruht auf der Erkenntnis, dass die S-100 Proteine einen Gencluster auf dem kurzen Arm des Chromosoms 21 bilden (86). Die S-100-Familie besteht aus insgesamt 19 Proteinen, die eine unterschiedliche zell- und

gewebsspezifische Expression, sowie unterschiedliche intrazelluläre Lokalisationen, posttranslationale Modifikationen, Kalzium-, Zink- und Kupferbindung zeigen (118) und von Heizmann et al. mit Großbuchstaben (z.B. A1, A2) bezeichnet werden (Tabelle 1).

Es wird über ca. 40 verschiedene Zielproteine berichtet. Allein für S-100A1 existieren 15 Zielproteine (43). Die molekulare Struktur der gebildeten S-100 Proteine ist ähnlich, obwohl sie sehr unterschiedliche Funktionen haben (21,22,43,65,119,121,123,124). In den letzten Jahren wurde die dreidimensionale Struktur von S-100 A6, A7, A8, A9 und S-100B aufgeklärt (24,25,55,80,86,92). Die S-100 Proteine besitzen als gemeinsame Grundstruktur eine zentrale „Hinge region“ sowie zwei laterale α -Helices. Die zentrale Domäne ändert ihre dreidimensionale Struktur unter Einfluss einer Metallionenbindung nicht, während die lateralen α -Helices bei Kalziumbindung nach außen „umklappen“. Im Bereich der zwei hydrophoben Regionen erfolgt die Bindung an Zielproteine vor den paarigen EF- Hand Domänen.

1.4.1 Vorkommen der S-100 Monomere

S-100A1 und S-100B-mRNA kommen in vielen Organen des menschlichen Körpers vor. Damit sind die S-100 Proteine nicht ZNS- spezifisch (120). Die Messenger-RNA von S-100A1 wurde in Gehirn, Aorta, Blase, Fettgewebe, Kolon, Herz, Niere, Dünndarm, Pankreas, Skelettmuskel, Milz, Hoden, Uterus und in der Haut nachgewiesen (118). Das S-100B wies man in Gehirn, Aorta, Blase, Fettgewebe, Kolon, Dünndarm, Pankreas, Skelettmuskel, Hoden, Fettgewebe, Haut und peripheren Nerven (118).

1.4.2 Funktion der S-100 Proteine

Die physiologische Funktion der S-100 Proteine ist bis heute nur unvollständig geklärt (vgl. auch Tabelle 1). Daneben wird ihnen eine funktionelle Rolle bei verschiedensten Pathologien wie neurodegenerativen Erkrankungen, malignen Tumoren, Kardiomyopathien, entzündlichen Erkrankungen, Diabetes mellitus und Allergien zugeschrieben (21,22,43,118).

Es wurde eine ganze Reihe von Zielproteinen für das S-100A1 und S-100B identifiziert (36,43,58,95,117). Die S-100 Proteine zeigen unterschiedliche Wirkungen auf die Zielproteine, die vom Enzymbesatz der Zielzellen abhängig sind. Der modulierende Effekt kann dabei hemmend oder stimulierend sein. Dieselbe Funktion kann durch S-100A1 und S-100B und Calmodulin synergistisch oder antagonistisch beeinflusst werden. S-100A1 und S-100B kommen überwiegend intrazellulär vor und beeinflussen vielfältige intrazelluläre Funktionen wie die Zell-Zellkommunikation, die Zellstruktur, das Zellwachstum, den Energiestoffwechsel, die Zellkontraktion und die intrazelluläre Signaltransduktion (118).

Neben den intrazellulären Funktionen konnten auch extrazelluläre Funktionen nachgewiesen werden (21,22). S-100B fungiert als Mitogen und stimuliert die Gliazellproliferation (95).

Bei der Beeinflussung des Zellwachstums können sowohl gesunde als auch pathologische Zellen betroffen sein. Man findet beispielsweise in Melanomzellen erhöhte Konzentrationen von S-100A1 und S-100B (61). S-100A1 und S-100B haben Einfluss auf den zellulären Energiestoffwechsel (33,119,122). Sie wirken regulierend auf die Polymerisation bzw. Depolymerisation von Mikrotubuli und Intermediärfilamenten. Sie binden an das Microtubule Associated Protein 2 (MAP2) und GFAP, inhibieren pH- und Kalzium abhängig die Polymerisation bei einem pH von 6.5, bewirken hingegen bei einem pH von 7.5 die Depolymerisation von Mikrotubuli und Intermediärfilamenten (12,20). Weiterhin wirken sie regulierend bei der intrazellulären Signaltransduktion. S-100B stimuliert Kalzium abhängig die Aktivität der Adenylatcyclase (34) und ist Gegenspieler des Calmodulins (12).

1.5 Das saure gliale Faserprotein (GFAP)

Das saure gliale Faserprotein ist, im Gegensatz zur NSE und zum S-100 Protein, ein monomeres Molekül und besteht aus einer Polypeptidkette. Es ist wesentlicher Bestandteil des Zytoskelettes der Gliazellen des ZNS als 8-9 nm langes Intermediärfilament in den Astrozyten und wurde 1971 erstmals von Eng et al. isoliert (31). De Armond gibt ein Molekulargewicht von 48 kDa bei intaktem, d.h. nicht degradiertem GFAP mit einem isoelektrischen Punkt zwischen 5.8 und 6.4 an (18). Die Schwierigkeit der Untersuchung des GFAP liegt in der Unlöslichkeit in wässrigen Lösungen, der Tendenz zur Aggregation oder Polymerisation und der Anfälligkeit für neutrale Proteasen (29).

1.5.1 Vorkommen des GFAP im menschlichen Körper

In einer Vielzahl von Studien mit unterschiedlichen Markierungsmethoden wurde nachgewiesen, dass das GFAP nur in den Astrozyten des ZNS vorkommt (16,19,30). Es fungiert als wesentlicher Baustein der Fibrillen des Zytoskelettes der fibrillären Astrozyten. Der immunhistochemische Nachweis des GFAP in Gewebeschnitten ist heute eine Routinemethode in der Neuropathologie.

1.5.2 Funktion des GFAP Proteins

Es wird inzwischen davon ausgegangen, dass das GFAP wichtig ist für die Modulation der Astrozytenform und -motilität sowie zur Sicherung der strukturellen Stabilität bei astrozytären Prozessen (27). Im ZNS aller höheren Vertebraten zeigen Astrozyten nach einer Verletzung, unabhängig von der Ursache, die z.B. ein Trauma, eine ischämische oder genetische Störung sein kann, eine typische uniforme Reaktion: die Astrogliose. Diese ist charakterisiert durch eine rasche GFAP- Synthese und zeigt sich in einem ansteigenden Proteingehalt oder durch immunhistochemischen Nachweis von GFAP- Antikörpern. Liedtke (59) konnte mit Mausmutanten zeigen, dass Null- Mäuse anfälliger für autoimmune Enzephalitiden

sind und diese Defizite in der Myelinisierung in fortgeschrittenem Alter zeigen. Liedtke et al. konnten damit die Rolle des GFAP in der normalen Architektur der weißen Substanz und der Integrität der Blut-Hirn-Schranke zeigen. Die Abwesenheit von GFAP führte zeitlich verzögert zu einer Demyelinisierung. Studien von Nawashiro et al. zeigen, dass Mäuse mit fehlendem GFAP überempfindlich auf cervikale Rückenmarksverletzungen durch plötzliche Beschleunigung des Kopfes reagieren (79).

2. Patienten, Material und Methoden

2.1 Auswahl von Patienten und Kontrollpersonen

Nach Genehmigung durch die Ethikkommission der Medizinischen Universität zu Lübeck (Aktenzeichen 9/95 143Pu,16.02.1995) wurden 60 Patienten untersucht. Die Gruppe setzte sich aus 45 Männern und 15 Frauen zusammen. Das Alter lag zwischen 16 und 88 Jahren, im Durchschnitt bei $43,8 \pm 8,9$ (MW \pm s) Jahren. Sechsvierzig Patienten erlitten ausschließlich ein Schädelhirntrauma. Die übrigen Patienten erlitten zusätzlich Verletzungen des Thorax und / oder Abdomens oder der Extremitäten.

Die Patienten wurden $12,8 \pm 8,9$ (MW \pm s) Stunden nach Trauma aufgenommen (im Mittel zwischen zwei und 24 Stunden). Ausgeschlossen wurden Patienten mit einem vorangegangenen Trauma sowie einer vorbestehenden anderen Erkrankung des ZNS.

Zur Ermittlung eines Vergleichswertes des S-100 Plasmaspiegels wurde Plasma von 120 gesunden Kontrollpersonen, 60 Frauen und 60 Männern im Alter von 18 bis 65 Jahren, im Mittel $40,1 \pm 13,6$ (MW \pm s) Jahre, gewonnen. Bei den Kontrollpersonen handelte es sich um Blutspender des Institutes für Immunologie und Transfusionsmedizin der Medizinischen Universität zu Lübeck.

Zur Ermittlung eines Vergleichswertes des GFAP Serumspiegels wurde Serum von 70 gesunden Kontrollpersonen, 35 Frauen, 35 Männern im Alter von 20 bis 65 Jahren, im Mittel $38,6 \pm 13,2$ (MW \pm s) Jahre, gewonnen. Bei den Kontrollpersonen handelte es sich um Blutspender des Institutes für Klinische Chemie der Ludwig-Maximilians- Universität München.

2.2 Probengewinnung und Verarbeitung

Heparinplasma und Serum wurde aus liegenden arteriellen oder zentralvenösen Zugängen im Rahmen der Routinediagnostik gewonnen. Die Proben wurden im Kühlschrank gesammelt, innerhalb von 12 Stunden nach Abnahme zentrifugiert (10 Minuten bei 4°C und 4000 U/min) und der Überstand in Portionen von 500 μl bei einer Temperatur von -70°C bis zur späteren Analyse gelagert.

Heparinplasma und Serum wurden bei Aufnahme und 24 Stunden nach dem Trauma untersucht.

2.3 Material

2.3.1 Antikörper

Die verwendeten Monovetten stammten von der Firma Sarstedt. Bei den verwendeten Zentrifugen handelte es sich um den Typ Eppendorf 143 und BHG Hermle Z 360 K. Alle verwendeten Chemikalien stammten von der Firma Merck, Darmstadt, BRD, soweit sie nicht anders ausgewiesen werden. Zur Überprüfung der S-100 Subtypen-Spezifität und zur Kalibrierung wurde gereinigtes S-100a, S-100b und S-100a₀ Protein von Sigma (Deisenhofen, BRD) verwendet. Zur Probenverdünnung wurde für den S-100B-Assay Pferdeserum (Gibco, Eggenstein, BRD) und für den GFAP- Assay humanes Plasma (aus der Kühlkette gefallene fresh frozen plasma Konserven) verwendet. Gamma- Globulin vom Rind wurde von der Firma Sigma (Deisenhofen, BRD) bezogen.

Als Festphasenantikörper wurde ein monoklonaler Maus anti S-100 β -Kette Antikörper von Sigma (Deisenhofen, BRD) Art. Nr. S2657 verwendet. Die polyklonalen Nachweis-Antikörper (DAKO, Hamburg) wurden aus Kaninchen gewonnen. Als Antigen zur Immunisierung der Kaninchen zur Herstellung des polyklonalen Antikörpers für den S-100B Assay diente zerebrales S-100 Protein von Rindern, das nach der von Moore (75) beschriebenen Methode gereinigt worden war.

Für die GFAP- Bestimmung diente als Antigen ein monoklonaler Maus anti-GFAP Antikörper von Sigma (Deisenhofen, BRD). Als Nachweisantikörper diente auch hier ein polyklonaler Kaninchen Antikörper von Dako (Hamburg).

Die Nachweis-Antikörper wurden nach einer von Missler et al. beschriebenen Methode biotinyliert (68).

2.3.2 Chemikalien und verwendete Pufferlösungen

2.3.2.1 Herstellung der Enhancement-Lösung

Auf einen Liter aqua bidest wurden gegeben:

6,25 ml konzentrierte Essigsäure (Merck), 38 mg Tris-n-octylphosphinoxid (Merck), zusammen mit 222 mg Thenoyltrifluoroacetone (Sigma) in 2 ml Ethanol 100 Prozent (Merck) gelöst, 1,3 g Kaliumphthalat (Sigma), und 2 ml Triton X-100 (Sigma).

Die Lösung war unter Lichtabschluss bei Raumtemperatur über mehr als ein Jahr stabil.

2.3.2.2 Herstellung des Waschpuffers

Zunächst wurde ein Konzentrat des Waschpuffers hergestellt, aus dem durch 1:50 Verdünnung die fertige Waschlösung hergestellt wurde.

Auf einen Liter aqua bidest wurden 15 g TRIS (Merck), 225 g NaCl (Merck) und 50 ml Tween 20 (Sigma) gegeben und anschließend mit HCl auf einen pH von 7,5 eingestellt.

2.3.2.3 Herstellung des TRIS/HCl/NaCl-Puffers

6 g/l TRIS, 9 g/l NaCl, 1 g/l NaN_3 , 0,1 ml Tween 20, 80 mg/l DTPA (diethylen-triamin-pentaacetat) (Sigma), 10 g/l bovines Serumalbumin (Sigma) und 0,5 g/l bovines γ -Globulin (Sigma) wurden in einem Liter Aqua bidest gelöst. Der Puffer für den S-100B Assay enthielt kein DTPA.

2.4 Immunfluoreszenzassay zur Bestimmung des S-100B Proteins

Zur Anwendung kam ein Dissociation Enhanced Lanthanide Fluorescence Immuno Assay (DELFI[®]) der Firma Pharmacia (Uppsala, Schweden) (68).

Zunächst wurden Mikrotiterplatten (Nunc Maxisorp[®], Roskilde, Dänemark) mit je 96 Messnöpfchen mit 400 ng/Napf Anti-S-100-Antikörper (Sigma) in 200 μ l Phosphatpuffer (0,05 mol/l, pH 8,6) beschichtet und über Nacht bei 4°C inkubiert. Danach wurden die Platten zweimal mit 5 ml/Napf Waschpufferlösung (Tris 0,05 mol/l, NaCl 0,15 mol/l, Tween 20 0,1 ml/l, pH 7,5) unter Verwendung eines Mikrotiterwaschgerätes (Wallac, Turku, Finnland) gewaschen und für 15 min mit 300 μ l einer 10 g/l Albumin aus Rinderserum enthaltenden Karbonatpufferlösung (0,05 mol/l, pH 9,6) inkubiert und nochmals mit Waschpufferlösung gewaschen. Die Platten wurden entweder frisch verwendet oder bei 4°C mit 200 μ l Puffer pro

Napf bedeckt und mit Mikrotiterplattenfolie (ICN, Eschwege, BRD) versiegelt gelagert. Die Platten konnten auf diese Weise bis zu 12 Wochen ohne Verlust ihrer Immunreaktivität gelagert werden.

Alle Messungen wurden als Doppelwertbestimmung bei Zimmertemperatur vorgenommen. Die Inkubationen wurden auf Mikrotiterplattenschüttlern (Heidolph, Kehlheim, BRD) bei 200 U/min durchgeführt. Die Heparinplasmaproben wurden unverdünnt gemessen. S-100 Proteinkalibrator, Kontrollen oder Proben (200 µl) und zusätzlich 50 µl Pferdeserum mit 25 mmol/l CaCl₂ wurden zu jedem Napf hinzugefügt und für zwei Stunden inkubiert. Für Kalibrierung und Kontrollen wurde gereinigtes S-100 a/b Protein (Sigma) (Volumen 1:2) in Pferdeserum verwendet.

Nach zwei Stunden wurden die Platten zweimal mit Waschpufferlösung gewaschen und 200 µl Biotin markierter Anti-S-100 Antikörper (DAKO), in einem Tris-Puffer (Tris 0,05 mol/L, NaCl 0,15 mol/l, CaCl₂ 10 mmol/l Na₃N 0,15 mmol/l) und Pferdeserum (GIBCO) (Volumen 1:2) auf eine Endkonzentration von 2 µg/l verdünnt, hinzugefügt und für eine Stunde inkubiert. Die Platten wurden erneut zweimal mit Waschpufferlösung gewaschen. Danach wurden 200 µl/l einer Streptavidin-Europium-Lösung zu jedem Napf hinzugefügt und für 30 min inkubiert.

Streptavidin (Biomol, Hamburg, BRD) wurde, wie von Pharmacia (Uppsala, Schweden) vorgeschrieben, unter Verwendung des Europium-Labeling-Reagent[®] von Pharmacia markiert und dann mit Tris/ HCl/ NaCl-Puffer auf eine Konzentration von 25 µg/l verdünnt.

Die Platten wurden daraufhin erneut zweimal mit Waschpufferlösung gewaschen. Die „Enhancement“-Lösung (200 µl/ Napf) wurde mindestens 20 min lang inkubiert.

Die nun resultierende Fluoreszenz wurde mit einem DELFIA 1234 Fluorometer (Wallac, Turku, Finnland) gemessen. Die Kalibrierungskurve wurde durch die FIA-Calc[®]-Software des DELFIA 1234 Systems errechnet.

Der S-100 Assay wies überwiegend S-100B (β-β-Dimer) nach (S-100β-β : S-100α-β = 14:1). S-100α-α wird zu weniger als 0,5 % erfasst. Die Intraassay Varianz betrug 3,2 % bei S-100 Werten von 0,51 µg/l; 2,1 % bei 5,97 µg/l und 2,3 % bei 11,4 µg/l (n=20).

Die Interassay Varianz betrug 11,5 % bei 0,45 µg/l, 7,9 % bei 4,79 µg/l und 7,8 % bei 15,45 µg/l (n=21).

S-100 Protein war in Heparin Plasma bei 20°C über 24 Stunden stabil (Verlust 10%), bei 4°C ohne Verlust über drei Tage und bei -20°C über mindestens sechs Monate. Auch mehrfaches Auftauen und Einfrieren beeinflusste die S-100 Proteinkonzentration in Heparin Plasma nicht. Die untere Nachweisgrenze des Assays für S-100B lag bei 0,015 µg/l. Die Eigenschaften des Assays wurden von Missler et al. im Detail beschrieben (68).

2.5 Immunfluoreszenzassay zur Bestimmung des GFAP Proteins

Auch der Assay zur Messung des GFAP arbeitet nach dem Prinzip der Zeit verzögerten Immunfluoreszenz (68). Für die Messung des GFAP wurden die gleichen Mikrotiterplatten (Nunc Maxisorp®) verwendet.

Diese wurden zunächst mit einem Antigen-affinitätsgereinigten Ziege-anti Maus Immunglobulin Antikörper (400 ng/ Napf, Medac, Hamburg, BRD) in Karbonatpufferlösung (0,05 mol/l, pH 9,6, 200 µl/Napf) beschichtet und danach mit einem monoklonalen Maus anti-GFAP Antikörper (600 ng/ Napf, Sigma) in 200 µl 0,05 mol/l Tris/ HCl/ NaCl Puffer über Nacht bei 4° C inkubiert.

Anschließend wurden die Platten zweimal mit 5 ml/Napf Waschpufferlösung unter Verwendung eines Mikrotiterwaschgerätes (Wallac) gewaschen und für mindestens 15 min mit 300 µl einer 10 g/l Rinder-Albumin enthaltenden Karbonatpufferlösung (0,05 mol/l, pH 9,6) inkubiert und nochmals mit Waschpufferlösung gewaschen.

Die Platten wurden entweder frisch verwendet oder bei 4°C mit 200 µl Puffer pro Napf bedeckt und mit Mikrotiterplattenfolie (ICN, Eschwege) versiegelt gelagert. Die Platten konnten auf diese Weise bis zu 12 Wochen ohne Verlust ihrer Immunoreaktivität gelagert werden.

Ein Biotin markierter polyklonaler Kaninchen anti-GFAP Antikörper (DAKO) kam als Nachweisantikörper zur Anwendung.

Die Serumproben wurden unverdünnt als Doppelbestimmung bei Zimmertemperatur gemessen. GFAP Proteinkalibrator, Kontrollen oder Proben (200 µl) wurden zu jedem Napf hinzugefügt und für zwei Stunden inkubiert. Für Kalibrierung und Kontrollen wurde gereinigtes, in humanem Plasma verdünntes GFAP (Progen, Heidelberg, BRD) verwendet.

Nach zwei Stunden wurden die Platten zweimal mit Waschpufferlösung gewaschen, 200 µl Biotin- markierter anti-GFAP-Antikörper, der in Tris/ HCl/ NaCl Puffer und 500 ml/l Kälberserum (GIBCO) auf eine Endkonzentration von 20 µg/l verdünnt wurde, hinzugefügt und für eine Stunde inkubiert.

Die Platten wurden erneut zweimal mit Waschpufferlösung gewaschen. Danach wurden 200 µl/l Streptavidin- Europium- Lösung zu jedem Napf hinzugefügt und für 30 min inkubiert.

Die Platten wurden daraufhin erneut zweimal mit Waschpufferlösung gewaschen und mit „Enhancement“-Lösung inkubiert wie beim S-100B Assay. Die resultierende Fluoreszenz wurde ebenfalls mit dem DELFIA 1234 Fluorometer (Wallac) gemessen und die Kalibrierungskurve durch die FIA-Calc[®]-Software des DELFIA 1234 Systems errechnet.

Die Wiederfindungsrate von GFAP, zugesetzt zu 10 Serumproben, betrug 68-102% (Mittel 88 %, n=10) bei einer erwarteten Konzentration von 0,475 µg/l und 60-95% (Mittel 77 %, n=10) bei einer erwarteten Konzentration von 4,75 µg/l.

Die Interassayvarianz betrug 4,7 % bei durchschnittlichen Konzentrationen von 0,2 µg/l (n=33), 4,2 % bei 1,96 µg/l (n=24) und 3,5 % bei 9,6 µg/l (n=32).

Um die Stabilität von GFAP in Serumproben zu überprüfen, wurden gemessene Anteile von GFAP zu fünf Proben hinzugemischt und sofort, nach ein, zwei und drei Tagen gemessen. Unterschiede in der Konzentration der GFAP Messungen erreichten keine statistische Signifikanz. Auch mehrfaches Auftauen und Einfrieren beeinflusste die GFAP Proteinkonzentration im Serum nicht. Die untere Nachweisgrenze des Assays für GFAP lag bei < 0,01 µg/l (70).

2.6 Neurologische Beurteilungsskalen

2.6.1 Glasgow Coma Skala

Die Patienten wurden bei der Aufnahme in die Klinik für Neurochirurgie des Universitätsklinikums Lübeck durch den Dienst habenden Neurochirurgen/in klinisch untersucht, und ihr neurologischer Zustand wurde anhand der Glasgow Coma Skala (GCS) erfasst (101). Der dabei erreichte Zahlenwert (GCS) reichte von 3-15 und drückte die Tiefe der Bewusstseinsstörung aus.

Mit Hilfe des GCS hat man die Möglichkeit, eine Bewusstseinstörung rasch zu quantifizieren und die klinische Entwicklung übersichtlich und vergleichbar darzustellen.

Dabei werden drei verschiedene Reaktionen des Patienten (Augenöffnen, verbale und motorische Aktivität) überprüft und mit den jeweils angegebenen Punktzahlen bewertet. Die Summe ergibt dann einen Zahlenwert als Richtwert für die Bewusstseinslage (s. Tabelle 2). Die Schwere eines Schädelhirntraumas wird mit Hilfe der GCS unter klinischen Gesichtspunkten in leicht, mittelschwer und schwer eingeteilt. Dabei entspricht ein leichtes Schädelhirntrauma einem Zahlenwert von 13-15. Ein mittelschweres Schädelhirntrauma entspricht einem Zahlenwert der GCS von 9-12, ein schweres Schädelhirntrauma ist charakterisiert durch 3-8 Punkte. Diese Einteilung wurde auch in der vorliegenden Arbeit verwendet.

Tabelle 2: Kriterien der Glasgow Coma Scale (GCS)

1. Augen öffnen	
Spontan	4
Nach Ansprache	3
Nach Schmerzreiz	2
Fehlend	1
2. Beste motorische Reaktion	
Folgt Aufforderungen	6
Gezielte Reaktion auf Schmerzreiz	5
Normale Beugereaktion	4
Atypische Beugereaktionen	3
Streckmechanismen	2
Fehlend	1
3. Beste verbale Reaktion	
Orientiert	5
Konfuse Antwort	4
Inadäquate Worte	3
Unverständliche Laute	2
Fehlend	1

2.6.2 Glasgow Outcome Skala

Um die Erholung der Patienten nach dem Schädelhirntrauma evaluieren zu können, wurde die Glasgow Outcome Skala (GOS) benutzt (50), (s. Tabelle 3). Die dazu notwendigen Daten wurden durch die Befragung von nach betreuenden Kliniken und Ärzten, Angehörigen und, wenn möglich, den Betroffenen selbst ermittelt.

Tabelle 3: Glasgow Outcome Scale (GOS) zur Beurteilung des klinischen Resultates

GOS 1	Tod
GOS 2	Vegetatives Stadium (apallisches Syndrom)
GOS 3	Schwere Behinderung, ständige Hilfe notwendig
GOS 4	Leichte Behinderung
GOS 5	Gute Erholung

2.6.3 CCT-Skala

Die in der CCT gefundenen Befunde wurden nach der Marshall Computed Tomography Classification (MCTC) evaluiert (62), (s. Tabelle 4). Dabei beschreiben die Grade 1-4 einen linearen Zusammenhang im Sinne einer Zunahme eines diffusen Hirnschadens. Die Grade fünf und sechs hingegen beschreiben keinen linearen Zusammenhang, sondern eine im CT zu erkennende Raumforderung z.B. als Blutung, die zum Zeitpunkt des CT's operativ entlastet war oder nicht.

Tabelle 4: Marshall Computed Tomography Classification (MCTC)

MCTC 1 Diffuse Hirnschädigung I	keine sichtbare intrakranielle Pathologie
MCTC 2 Diffuse Hirnschädigung II	Zisternen regelrecht mit einer Mittellinienverlagerung von 0-5 mm, keine Raumforderung mit hoher oder gemischter Dichte >25 ml
MCTC 3 Diffuse Hirnschädigung III	Zisternen komprimiert oder fehlend mit Mittellinienverlagerung von 0-5 mm, keine Raumforderung mit hoher oder gemischter Dichte >25 ml
MCTC 4 Diffuse Hirnschädigung IV	Mittellinienverlagerung > 5 mm, keine Raumforderung mit hoher oder gemischter Dichte >25 ml
MCTC 5 Operierte Raumforderung	jede chirurgisch entlastete Raumforderung
MCTC 6 Nicht operierte Raumforderung	Raumforderung mit hoher oder gemischter Dichte >25 ml, nicht operativ behandelt

2.7 Statistische Methoden

Alle Ergebnisse sind als Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben. Unterschiede zwischen einzelnen Kollektiven wurden mittels Mann-Whitney-U-Test auf Signifikanz überprüft. Die Korrelation zwischen den einzelnen Variablen wurde nach dem Spearman- Rank-Verfahren berechnet.

3. Ergebnisse

3.1 Neurologischer Status bei Aufnahme

Die mittleren GCS Werte lagen bei $7,7 \pm 4,1$ (zwischen drei und 15). Achtunddreißig Patienten erlitten ein schweres Schädelhirntrauma (GCS Werte zwischen drei und acht). Zwölf Patienten erlitten ein mittelschweres Schädelhirntrauma (GCS Werte zwischen neun und 12). Zehn Patienten erlitten ein leichtes Schädelhirntrauma (GCS Werte zwischen 13 und 15). Den neurologischen Status bei Aufnahme (anhand der Glasgow Coma Skala [GCS]) in Relation zur klinischen Erholung zeigt Tabelle 5.

Tabelle 5: Klinische Erholung (Glasgow Outcome Scale, GOS) nach Schädelhirntrauma in Relation zum neurologischen Status bei Aufnahme (Glasgow Coma Scale, GCS)

GCS Wert	Patienten (n)	GOS 1	GOS 2	GOS 3	GOS 4	GOS 5
3	14	8	1	3	0	2
4	3	2	0	1	0	0
5	3	1	0	1	0	1
6	10	4	0	3	3	0
7	5	1	0	3	0	1
8	3	2	0	0	0	1
9	1	1	0	0	0	0
10	2	0	0	2	0	0
11	4	0	0	1	1	2
12	5	1	0	2	1	1
13	2	0	0	0	1	1
14	4	1	0	0	0	3
15	4	0	0	0	1	3

Tabelle 5: Die GCS- Werte sind als einzelne Gesamtpunktzahlen angegeben. Die GOS ist wie folgt definiert: GOS 1: Tod, GOS 2: vegetatives Stadium, GOS 3:

schwere Behinderung, ständige Hilfe notwendig, GOS 4: leichte Behinderung, GOS 5: gute Erholung

3.2 CCT Befunde bei Aufnahme

Die initialen CT Befunde in Zusammenhang mit der klinischen Erholung (GOS) werden in Tabelle 6a gezeigt. In vier Fällen zeigten sich keine sichtbaren intrakraniellen Pathologien. Diffuse Hirnschädigungen wurden in 30 Fällen gesehen. Raumforderungen wurden in 26 Fällen gefunden. In drei Fällen lag eine Hirnstammläsion vor. Zwei von diesen drei Patienten starben in den folgenden sechs Monaten, einer blieb schwer behindert (GOS Wert von drei). Aufgrund der kleinen Anzahl von Hirnstammläsionen wurde dieses Kriterium nicht auf seinen Vorhersagewert für die neurologische Erholung nach einem Schädelhirntrauma analysiert. In Tabelle 6b ist die klinische Erholung bei Zusammenfassung in drei Schweregrade anhand der Glasgow Outcome Scale (GOS 1/2, GOS 3, GOS 4/5) in Bezug zum initialen CT-Befund aufgeführt.

3.3 Klinische Erholung

Nach sechs Monaten waren 21 Patienten verstorben (GOS 1). Ein Patient blieb im vegetativen Stadium (GOS 2). Sechzehn Patienten behielten eine schwere Behinderung, die ständige Hilfe erforderlich machte (GOS 3). Sieben Patienten blieben leicht behindert (GOS 4) und 15 Patienten zeigten eine gute Erholung (GOS 5). Infolgedessen können die Patienten in drei Kategorien eingeteilt werden:

- Zweiundzwanzig Patienten mit einem sehr schlechten Outcome (GOS 1 und 2)
- Sechzehn Patienten mit einem schlechten Outcome (GOS 3)
- Zweiundzwanzig Patienten mit einem guten Outcome (GOS 4 und 5)

Tabelle 6a: Klinische Erholung (Glasgow Outcome Scale, GOS) nach Schädelhirntrauma in Relation zum CT-Befund bei Aufnahme (Marshall Computed Tomographic Classification, MCTC)

Kategorie des initialen CT-Befundes (MCTC)	Zahl der Pat.	GOS 1	GOS 2	GOS 3	GOS 4	GOS 5
1	4	1	0	0	1	2
2	22	1	0	8	3	10
3	8	4	0	3	1	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	26	15	1	5	2	3
Summe	60	21	1	16	7	15

Tabelle 6a: Die MCTC Kriterien sind wie folgt definiert: *Diffuse Schädigung I:* keine sichtbare intrakranielle Pathologie; *Diffuse Schädigung II:* Zisternen regelrecht mit einer Mittellinienverlagerung von 0-5 mm und / oder keine Raumforderung mit hoher oder gemischter Dichte >25 ml; *Diffuse Schädigung III:* Zisternen komprimiert oder fehlend mit Mittellinienverlagerung von 0-5 mm, keine Raumforderung mit hoher oder gemischter Dichte >25 ml; *Diffuse Schädigung IV:* Mittellinienverlagerung > 5 mm, keine Raumforderung mit hoher oder gemischter Dichte >25 ml; *Operativ entlastete Raumforderung:* jede chirurgisch entlastete Raumforderung; *Nicht operativ entlastete Raumforderung:* Raumforderung mit hoher oder gemischter Dichte >25 ml, nicht operativ behandelt. Die GOS ist wie folgt definiert: GOS 1: Tod, GOS 2: vegetatives Stadium, GOS 3: schwere Behinderung, ständige Hilfe notwendig, GOS 4: leichte Behinderung, GOS 5: gute Erholung

Tabelle 6b: Klinische Erholung (Glasgow Outcome Scale, GOS) in drei Schweregrade eingeteilt nach Schädelhirntrauma in Relation zum CT-Befund bei Aufnahme (Marshall Computed Tomographic Classification, MCTC)

Kategorie des initialen CT-Befundes (MCTC)	GOS 1/2	GOS 3	GOS 4/5
1	1	0	3
2	1	8	13
3	4	3	1
4	0	0	0
5	0	0	0
6	16	5	5
Summe	22	16	22

Tabelle 6b: Die MCTC Kriterien sind wie in Tabelle 6a definiert. Die Darstellung der klinischen Erholung ist wie folgt definiert: GOS1/2: Tod oder vegetatives Stadium, GOS 3: schwere Behinderung, GOS4/5: leichte Behinderung oder gute Erholung

3.4 S-100B-Plasmaspiegel

Bei Aufnahme lagen die S-100B Plasmaspiegel bei $1,32 \pm 1,68 \mu\text{g/l}$ (Minimum $0,03 \mu\text{g/l}$, Maximum $7,81 \mu\text{g/l}$). Vierundzwanzig Stunden nach Trauma lag der S-100B Plasmawert bei $1,59 \pm 2,41 \mu\text{g/l}$ (Minimum $0,02 \mu\text{g/l}$, Maximum $9,60 \mu\text{g/l}$). Die durchschnittliche S-100B Konzentration der Blutspender als Vergleichswert betrug $0,050 \pm 0,081 \mu\text{g/l}$.

Die S-100B Plasmawerte nach Trauma waren signifikant erhöht im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen ($p < 0,001$). Die S-100B Plasmaspiegel in Bezug zur klinischen Erholung sind in Abb.1 dargestellt.

Für weitere Analysen wurden die Patienten nach ihrer klinischen Erholung (GOS) in drei Gruppen eingeteilt: GOS 1/2: Tod oder vegetatives Stadium, GOS 3: schwer behindert, GOS 4/5: leicht behindert oder gute Erholung. Alle Gruppen der Schädelhirntrauma-Patienten zeigten erhöhte S-100B Plasmaspiegel im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p < 0,001$). Erhöhte S-100B Plasmaspiegel gingen mit einer schlechten klinischen Erholung einher. Die S-100B Plasmaspiegel der verstorbenen Patienten und der Patienten, die im vegetativen Stadium blieben (GOS 1/2), unterschieden sich signifikant von den Patienten mit einer schweren Behinderung (GOS 3; bei Aufnahme $p < 0,01$; 24 Stunden nach Trauma $p < 0,001$) und von den Patienten, die nur leicht behindert blieben oder sich komplett erholten (GOS 4/5; bei Aufnahme $p < 0,0001$; 24 Stunden nach Trauma $p < 0,0001$). Wenn die Proben in den ersten 24 Stunden nach Trauma gewonnen wurden, korrelierte die Höhe der S-100B Plasmawerte bei Aufnahme nicht mit der Zeit, die seit dem Trauma vergangen war ($r = 0,17$, $p = 0,18$).

3.5 GFAP- Serumspiegel

GFAP- Messungen waren bei 53 von 60 Patienten verfügbar. GFAP war in zehn von 70 Serumproben der gesunden Blutspender nachweisbar (gemessener Bereich von 0-0,049 $\mu\text{g/l}$, Median 0,004 $\mu\text{g/l}$, Mittelwert 0,033 $\mu\text{g/l}$).

Bei Aufnahme lagen die durchschnittlichen GFAP-Serumspiegel der Schädelhirntrauma-Patienten bei $0,06 \pm 0,13 \mu\text{g/l}$ (gemessener Bereich von 0 bis 0,73 $\mu\text{g/l}$). 24 Stunden nach Trauma lagen die GFAP-Serumspiegel bei $0,02 \pm 0,04 \mu\text{g/l}$ (gemessener Bereich von 0 bis 0,21 $\mu\text{g/l}$). Die bei Aufnahme gemessenen GFAP- Serumspiegel der Schädelhirntrauma-Patienten waren im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen signifikant erhöht ($p < 0,05$). Die GFAP-Serumspiegel 24 Stunden nach Trauma unterschieden sich dagegen nicht signifikant von denen der gesunden Kontrollpersonen ($p > 0,05$). Die Ergebnisse der Messung der GFAP- Serumwerte im Hinblick auf die klinische Erholung zeigt die Abb. 2.

GFAP- Werte über der Nachweisgrenze ($> 0,01 \mu\text{g/l}$) wurden bei Aufnahme bei 24 von 53 Patienten (45,3 %) gemessen, nach 24 Stunden dagegen nur noch bei 13 von 53 Patienten (24,5 %).

Die bei Aufnahme untersuchten GFAP-Werte waren bei Patienten Stadium GOS 1 und 2 signifikant erhöht im Vergleich zu Patienten mit GOS 3 ($p < 0,05$), Patienten GOS 4 und 5 ($p < 0,05$) und den gesunden Kontrollpersonen ($p < 0,001$). Die GFAP-Serumwerte 24 Stunden nach Trauma zeigten keinen signifikanten Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen ($p > 0,05$).

Es zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen den gemessenen GFAP-Serumspiegeln bei Aufnahme und der Zeit, die seit dem Trauma vergangen war ($r = 0,52$, $p = 0,0002$). Bei den Patienten, die bis sechs Stunden nach dem Trauma untersucht wurden, fanden sich GFAP-Serumspiegel von $0,12 \pm 0,19 \mu\text{g/l}$ (gemessener Bereich von $0,01$ bis $0,73 \mu\text{g/l}$). Im Vergleich zeigten sich GFAP-Serumspiegel von $0,015 \pm 0,038 \mu\text{g/l}$ (gemessener Bereich von $0,01$ bis $0,18 \mu\text{g/l}$) bei Patienten, die sieben bis 24 Stunden nach Trauma untersucht wurden. Die Gruppen unterschieden sich jedoch nicht signifikant in ihrer klinischen Erholung (GOS).

Die in den ersten sechs Stunden nach Trauma gemessenen GFAP-Werte zeigten eine signifikante Korrelation zur GOS ($r = 0,47$; $p = 0,04$). Wurden die GFAP-Werte sieben bis 24 Stunden nach Trauma bestimmt, war die Korrelation zwischen dem GFAP-Serumspiegel und der klinischen Erholung statistisch nicht mehr signifikant ($r = 0,34$; $p = 0,06$).

Abb.1: S-100B Plasmaspiegel bei Patienten mit Schädelhirntrauma und gesunden Kontrollen im Verhältnis zur klinischen Erholung (Glasgow Outcome Scale, GOS)

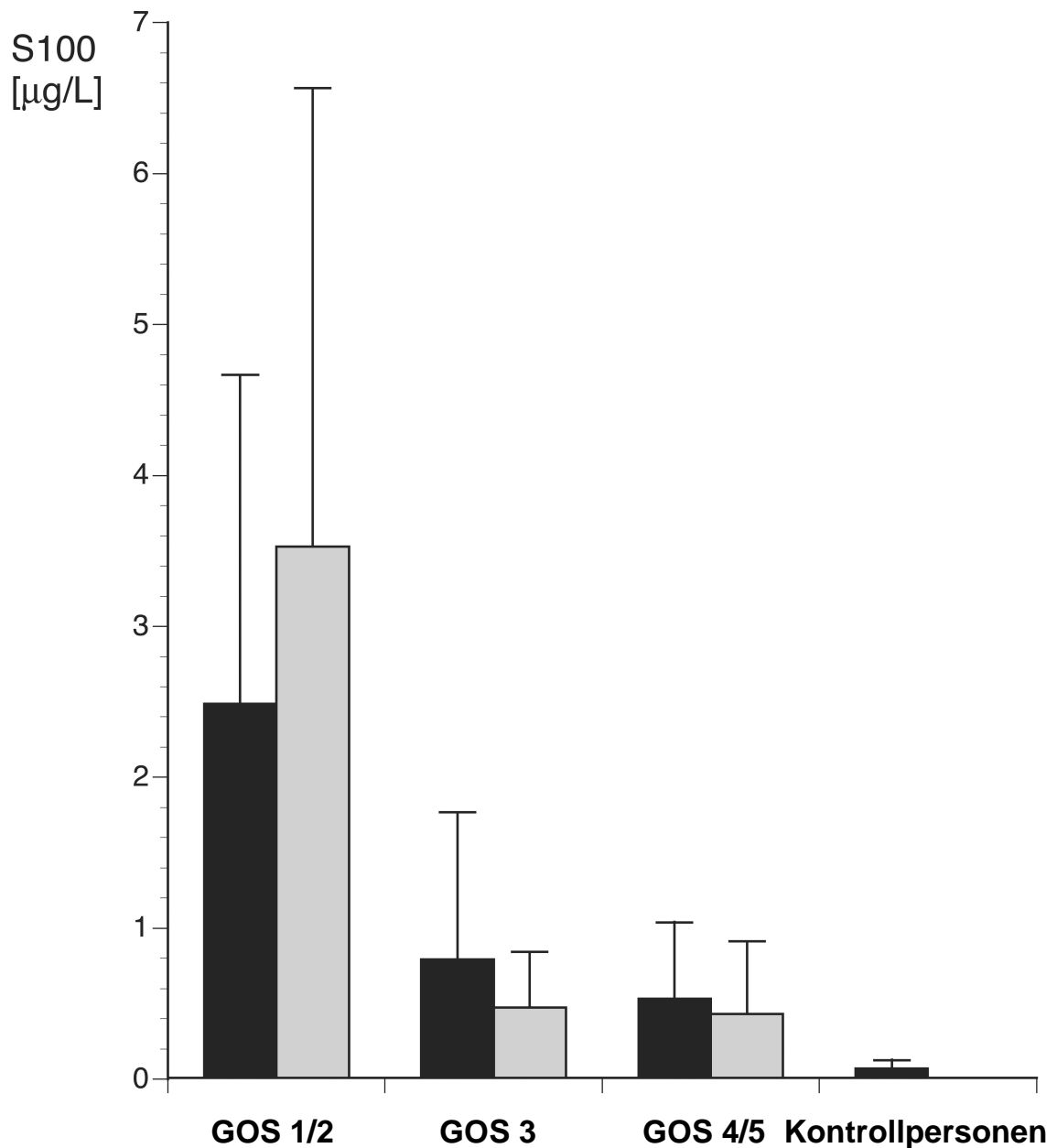


Abb. 1: Darstellung der S-100B Plasmaspiegel in Relation zur klinischen Erholung. Schwarz dargestellt sind die S-100B Plasmawerte bei Aufnahme, grau gekennzeichnet die S-100B Plasmawerte 24 Stunden nach Trauma, jeweils als Mittelwerte mit Standardabweichung.

Abb.2: GFAP- Serumspiegel bei Patienten mit Schädelhirntrauma und gesunden Kontrollen im Verhältnis zur klinischen Erholung (Glasgow Outcome Scale, GOS)

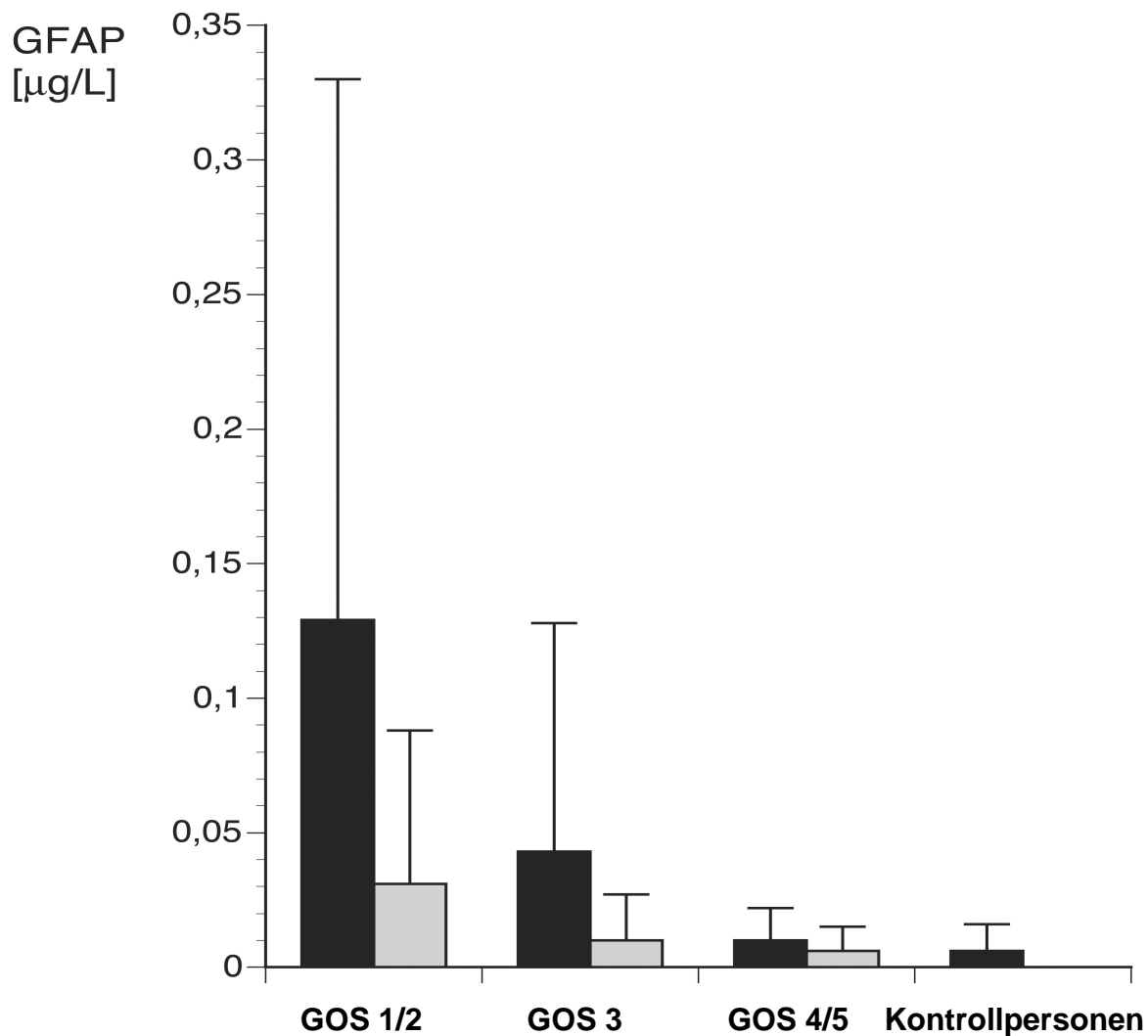


Abb. 2: Darstellung der GFAP Serumspiegel in Relation zur klinischen Erholung. Schwarz dargestellt sind die GFAP- Serumwerte bei Aufnahme, grau kennzeichnet die GFAP- Serumwerte 24 Stunden nach Trauma, jeweils als Mittelwerte mit Standardabweichung.

3.6 Vorhersagewert für die klinische Erholung

Die statistische Korrelation zwischen dem neurologischen Status bei Aufnahme (GCS), der CCT (MCTC 1-4) bei Aufnahme, den S-100B- Plasmawerten und den GFAP- Serumwerten mit der klinischen Erholung zeigt die Tabelle 7. Es wurden nur die MCTC Grade 1-4 für die Berechnung der Korrelation herangezogen, da diese eine lineare Funktion als Zunahme einer diffusen Hirnschädigung aufweisen. Die Grade MCTC 5 und 6 sind gesondert berechnet und aufgeführt (s.u. und Tabelle 8).

Es fand sich kein Unterschied in der klinischen Erholung zwischen männlichen und weiblichen Patienten ($p > 0,05$). Im untersuchten Patientenkollektiv bestand keine signifikante Korrelation zwischen dem Alter und der klinischen Erholung ($r = 0,023$; $p = 0,86$).

Die S-100B- Plasmawerte 24 Stunden nach Trauma zeigten die beste Korrelation mit der klinischen Erholung, gefolgt von den S-100B-Plasmawerten bei Aufnahme, dem neurologischen Status bei Aufnahme, den CCT Befunden bei Aufnahme (MCTC 1-4), den GFAP- Serumwerten bei Aufnahme und den GFAP- Serumwerten 24 Stunden nach Trauma.

Fast zwei Drittel (61,5%) der Patienten mit einer zum Zeitpunkt der ersten Computertomographie nicht operativ entlasteten Raumforderung >25 ml verstarben oder bleiben im Vegetativstadium (GOS 1,2); 19,2% zeigten eine gute Erholung (GOS 4/5). Schwer behindert (GOS 3) blieben ebenfalls 19,2% dieser Patienten.

Um zu untersuchen, welcher Parameter in der Lage ist, die klinische Erholung bei Patienten mit einer zum Zeitpunkt der ersten CCT nicht operativ entlasteten Raumforderung (MCTC 6) vorherzusagen, wurde diese Gruppe gesondert untersucht. Die statistische Korrelation des neurologischen Status bei Aufnahme (GCS), S-100B- Plasmawerten und GFAP- Serumwerten mit der klinischen Erholung zeigt die Tabelle 8. In dieser Patientengruppe zeigt der S-100B Plasmaspiegel 24 Stunden nach Trauma die beste Korrelation mit der klinischen Erholung, gefolgt von den S-100B-Plasmawerten bei Aufnahme. Die Korrelation des neurologischen Status bei Aufnahme (GCS) und der GFAP-Serumwerte mit der klinischen Erholung waren statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$).

Tabelle 7: Untersuchungsbefunde der Patienten mit diffuser Hirnschädigung in Korrelation zum klinischen Ergebnis

	Korrelation mit GOS	Signifikanzniveau
Neurologischer Aufnahmezustand (GCS)	r= 0,49	p= 0,001
CCT bei Aufnahme (MCTC 1-4)	r= 0,45	p= 0,01
S100B bei Aufnahme	r= 0,58	p= 0,0001
S100B 24 Stunden nach Trauma	r= 0,70	p= 0,0001
GFAP bei Aufnahme	r= 0,40	p= 0,01
GFAP 24 Stunden nach Trauma	r= 0,33	p= 0,05

Tabelle 7: Die Korrelation zwischen den CCT Befunden und der klinischen Erholung wurde nur bei Patienten untersucht, die eine diffuse Hirnschädigung (MCTC 1-4) zeigten (n=34). Korrelationskoeffizienten [r] und Signifikanzniveau [p] wurden nach dem Spearman rank Korrelationstest berechnet.

Tabelle 8: Untersuchungsbefunde der Patienten mit intrakranieller Raumforderung in Korrelation zum klinischen Ergebnis

	Korrelation mit GOS	Signifikanzniveau
Neurologischer Aufnahmezustand (GCS)	r= 0,19	p= 0,35 (n.s.)
S100B bei Aufnahme	r= 0,54	p= 0,01
S100B 24 Stunden nach Trauma	r= 0,79	p= 0,0001
GFAP bei Aufnahme	r= 0,30	p= 0,17 (n.s.)
GFAP 24 Stunden nach Trauma	r= 0,22	p= 0,41 (n.s.)

Tabelle 8: Korrelationskoeffizienten [r] und Signifikanzlevel [p] wurden nach dem Spearman rank Korrelationstest berechnet, n.s. entspricht „nicht signifikant“

4. Diskussion

4.1 Messmethoden

In dieser Studie kamen die von Missler et al. für S100B und GFAP entwickelten Immunoassays zum Einsatz, die sich des DELFIA[®]-(Dissociation Enhanced Lanthanide Fluorescence Immuno Assay) Systems der Firma Pharmacia[®] bedienen. Es handelt sich bei diesen Methoden um nicht-isotopische Assays. Dies erleichtert die Handhabung, macht sie in jedem Labor durchführbar und kostengünstig.

Die Assays weisen S-100B Protein und GFAP mit hoher Sensitivität und Spezifität in humanem Liquor und Serum nach.

Die von Heizmann et al. 1995 vorgeschlagene und heute in der Literatur überwiegend verwendete genetisch orientierte Klassifikation der S-100 Proteine beschreibt ausschließlich Monomere. Beim S-100 Protein ist jedoch schon lange bekannt, dass die biologisch aktiven Moleküle Dimere sind. Das S-100 β - β Dimer (früher S-100b) ist das „ZNS- spezifische“ Protein, während das S-100 α - β Dimer (früher S-100a) auch in anderen Organsystemen, hier vornehmlich in Herz und quer gestreifter Muskulatur, vorkommt. Das S-100 α - α Dimer (früher S-100a₀) kommt ausschließlich extrazerebral vor. Da die heute verwendeten Assay-Systeme zur Messung des S-100B Antikörper nutzen, die spezifisch für die β -Kette des S-100 Proteins sind, erfassen alle diese Methoden nicht nur S-100B (S-100 β -Kette), sondern immer auch S-100A1 (S-100 α -Kette), da sie naturgemäß neben dem S-100 β - β Dimer auch das S-100 α - β Dimer an seiner β -Kette erkennen. Dies schränkt die ZNS- Spezifität aller dieser Methoden ein (67).

4.2 S-100-Messungen in der Literatur

In der Literatur der letzten Jahre findet sich eine Vielzahl von Untersuchungen über Erhöhungen der S-100B Konzentration im Liquor bei Schädigung des Zentralnervensystems durch unterschiedliche Erkrankungen.

Anfang der 80er Jahre berichteten Michetti, Kato und Sindic über erhöhte S-100B Liquorwerte bei unterschiedlichen Erkrankungen. Michetti fand 1980 erhöhte S-

100- Liquorkonzentrationen bei akuten Schüben der Multiplen Sklerose, bei Demenz, amyotropher Lateralsklerose, akuter Enzephalitis, Rückenmarkskompression und intrakraniellen Tumoren (66). Im Jahre 1982 berichtete Kato über erhöhte S-100-Liquorspiegel bei Patienten mit Glioblastomen und Hydrozephalus (54), 1983 über erhöhte S-100B Spiegel im Blut von Ratten nach Katecholamingabe (53). Sindic stellte eine deutliche Erhöhung der S-100 Liquorspiegel bei Patienten mit Rückenmarkskompression, ischämischen Hirnerkrankungen, Subarachnoidalblutungen und bei viralen Enzephalitiden fest (97).

Noppe fand erhöhte Werte für S-100 im Liquor bei Patienten mit zerebrovaskulären Erkrankungen, Epilepsie, Multipler Sklerose, Meningitiden, bei der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit sowie bei Tumoren des ZNS (81).

Persson berichtete erstmals über Messungen des S-100b Proteins im Blut, allerdings wurden nur drei Messungen bei einem Schlaganfallpatienten beschrieben. Er fand ebenfalls erhöhte Werte für S-100 im Liquor bei Patienten mit Schlaganfällen, Subarachnoidalblutungen, intrazerebralen Hämatomen sowie Schädel-Hirn-Traumen (85).

Fagnart und Sindic legten 1988 einen Bericht über nachweisbare bzw. erhöhte Konzentrationen des S-100 im Blut von Patienten mit unterschiedlichen Hirntumoren, Schlaganfällen, intrazerebralen Blutungen und Subarachnoidalblutungen vor (32). Im Blut gesunder Probanden konnte in beiden Fällen kein S-100 nachgewiesen werden.

Die erste systematische Untersuchung des S-100 veröffentlichte 1989 Hårdemark. Er untersuchte 32 Patienten mit einer aneurysmatischen Subarachnoidalblutung und konnte eine positive Korrelation der gefundenen S100 Liquorspiegel mit der klinischen Erholung der Patienten finden (38). Dieselbe Arbeitsgruppe publizierte 1989 eine systematische Untersuchung über den zeitlichen Verlauf des Anstieges der S-100- und NSE-Werte im Liquor bei experimenteller traumatischer und fokaler ischämischer Schädigung des Gehirns von Ratten (39).

Aurell publizierte 1991 eine systematische Untersuchung über den Liquorspiegelverlauf von S-100 und GFAP bei Patienten mit ischämischem Infarkt. Erstmals wurde von Aurell über eine Korrelation zwischen Infarktvolumen, funktionellem Endergebnis und S-100- Werten berichtet (7). In den folgenden Jahren erschienen einige Arbeiten, in denen systematisch der Zusammenhang

zwischen S-100-Konzentrationen im Liquor und einzelnen neurologischen Krankheitsbildern untersucht wurde, z.B. bei Patienten mit Guillain-Barré-Syndrom (73) und chronisch entzündlicher demyelinisierender Polyneuropathie (CIDP) (78), sowie bei Patienten mit Herzoperationen bzw. nach Herzstillstand (51,96,99,103). Im Jahre 1996 berichtete Westaby über die Messung des S-100 im Serum nach Operationen mit extrakorporalem Kreislauf (110). Abraha, Fassbender und Büttner berichteten über die positive Korrelation von Infarktgröße und klinischem Ergebnis mit dem S-100-Serumspiegel nach ischämischen zerebralem Infarkt (1,15,35). Woertgen, Ingebrigtsen und Waterloo untersuchten den Zusammenhang zwischen leichtem bzw. schwerem Schädel-Hirn-Trauma (49,108,114). Missler berichtete 1997 ebenfalls über die Korrelation von Infarktgröße, klinischem Ergebnis und S-100-Werten im Plasma nach ischämischem Infarkt. Er verwendete im Gegensatz zu den vorher Genannten nicht den kommerziellen LIA- Mat Sangtec 100[®] Assay, sondern eine eigene, 1995 publizierte Meßmethode (68).

Mit dieser Methode gelang es auch, eine Korrelation von S-100- Plasmaspiegeln mit der klinischen Schwere der Subarachnoidalblutung nach der Einteilung von Hunt und Hess (Hunt et al., 1968) und der neurologischen Erholung im weiteren Verlauf nachzuweisen (111). Mit einer weiteren kommerziellen Meßmethode von der Firma Medisera (einem Enzymimmunoassay) bestimmten Otto und Mitarbeiter 1997 die S-100- Konzentrationen im Liquor von Patienten mit Creutzfeldt-Jakob Krankheit (83).

4.3 Messmethoden zur Quantifizierung des S-100 Proteins

Moore beschrieb als Erster die Bestimmung des S-100-Proteins mit der Komplementfixationsmethode (75). Kato berichtete 1982 über einen Enzymimmunoassay (54). Etwa zur gleichen Zeit publizierte Sindic seinen „Particle Counting Immunoassay“ (PACIA) (97), mit dem er auch S-100-Messungen im Blut vornahm (32). 1987 berichtete Persson über die Messung des S-100-Proteins und der NSE in Liquor und Blut mit Radioimmunoassays (85). Hårdemark, aus der gleichen Arbeitsgruppe, berichtete 1989 über S-100-Konzentrationen im Liquor nach Subarachnoidalblutungen (38). Diese wurden ebenfalls mit dem von Persson beschriebenen RIA gemessen.

Im selben Jahr berichtete Hårdemark über S-100- und NSE- Konzentrationen im Liquor nach experimentellem Hirntrauma und fokaler Ischämie (39). Hier wurde das S-100-Protein mit einem Sandwich Enzymimmunoassay gemessen, der zwei monoklonale Antikörper gegen die β -Untereinheit des S-100 Proteins nutzte. Ebenfalls 1989 berichtete Ann Aurell über einen kompetitiven Enzymimmunoassay (8). Missler beschrieb 1995 den in dieser Arbeit verwendeten immunometrischen Assay, der auf dem System der zeitverzögerten Immunfluoreszenz (Dissociation Enhanced Lanthanide Fluorescent Immuno Assay, DELFIA[®]) aufgebaut ist (68). Ab 1996 war ein radioimmunometrischer Assay (Immuno Radiometric Assay, IRMA) der Firma Sangtec[®] kommerziell verfügbar. Als Festphase dienten hier Polystyrolkugeln, die mit zwei verschiedenen, gegen die β -Kette des S-100 Proteins gerichteten monoklonalen Antikörpern beschichtet waren. Nach Inkubation mit der Probe wurde ein dritter monoklonaler Antikörper zugesetzt, der radioaktiv markiert war. Dieser Assay wurde mittlerweile auf eine nicht isotopische Methode (Chemilumineszenz mit beschichteten Röhrchen als Festphase und Arylhydrazid-markierten zweiten Antikörpern) umgestellt.

Seit Ende 1995 gibt es eine Reihe von Berichten in der Literatur über die Messung des S-100 im Serum bei unterschiedlichen Erkrankungen des ZNS (1,15,35,47,51,91,108,110,112). In allen diesen Arbeiten wurde der o. g. Assay von der Firma Sangtec[®] verwendet (z.T. als immunoradiometrischer Assay, z.T. als immunoluminometrischer Assay).

4.4 GFAP-Messungen in der Literatur

GFAP wurde erstmals in Lipidstudien von Gehirnen bei Multipler Sklerose entdeckt. Zur Untersuchung der wasserunlöslichen Myelinmembranproteine entwickelten Eng et al. eine Polyacrylamidgelelektrophoresekammer (28).

Es existieren eine Reihe von Berichten über die quantitative Messung des GFAP im Liquor bei Hirninfarkten (7), bei der hypoxisch-ischämischen zerebralen Schädigung des Neugeborenen (13,14), bei Kindern mit infantilem Autismus (89), bei Patienten mit Multipler Sklerose (2,90), bei Patienten mit Demenz (2,107), bei Kindern mit juvenilen Enzephalopathien (26) und bei Patienten mit Lyme-

Borreliose (23). In all diesen Studien führte eine ZNS- Schädigung zum Anstieg der GFAP- Liquorspiegel.

Albrechtsen berichtete 1985 über Versuche, mit einem Sandwichimmunoassay GFAP nicht nur im Liquor, sondern auch im Blut zu messen. Dies gelang jedoch aufgrund unklarer Interferenzen nicht (3).

Missler berichtete 1999 erstmals über den Nachweis von GFAP im Blut (70). Es folgten quantitative Untersuchungen des GFAP im Blut. Herrmann et al. berichtete über den Zusammenhang von GFAP, S100 und dem Ausmaß eines Hirnschadens nach Schlaganfall (45). Lamers berichtete über den Nachweis von ZNS- Proteinen im Liquor und im Blut, auch von GFAP, bei akuten oder chronisch progressiven neurologischen Störungen mit Hirnschäden (57). Vos et al. untersuchte den Zusammenhang zwischen GFAP im Blut und der klinischen Erholung nach Schädelhirntrauma (106).

4.5 Meßmethoden zur Quantifizierung des GFAP Proteins

Zur Messung des GFAP im Liquor sind unterschiedliche Messverfahren publiziert worden. Mori berichtete bereits 1975 über einen Radioimmunoassay (76). Noppe berichtete 1979 über einen immunoradiometrischen Assay (82). Albrechtsen wendete diese Technik 1985 in modifizierter Form auf die Messung des GFAP im Liquor an (4). In diesem Assay kommen sowohl polyklonale als auch monoklonale Antikörper zur Anwendung. Aurell beschreibt 1991 einen kompetitiven Enzymimmunoassay, der sich eines polyklonalen Antikörpers bediente (7). 1992 wurde von der Arbeitsgruppe um Albrechtsen eine neue Version eines Enzymimmunoassays publiziert, die inzwischen als Sandwichassay mit zwei unterschiedlichen polyklonalen Antikörpern arbeitete (26,89).

Missler berichtete 1999 über den Nachweis von S100 und GFAP im Blut mit einem DELFIA[®] Assay (70), der auch in der vorliegenden Arbeit verwendet wird.

4.6 Klinisch-neurologischer Status

Die initiale Einschätzung der Schwere eines Schädelhirntraumas und die Einleitung therapeutischer Maßnahmen basieren normalerweise auf einer Kombination zwischen klinisch-neurologischer Untersuchung und den Befunden

der initialen Computertomographie. Zur Bewertung des neurologischen Status bei Schädelhirntrauma-Patienten wird in den meisten Krankenhäusern die Glasgow Coma Scale (GCS) verwendet, die motorische und verbale Antworten und das Augenöffnen bewertet. Viele Studien haben eine gute Korrelation zwischen der initialen GCS und der frühen Letalität sowie der Langzeit-Morbidität nach Schädelhirntrauma gezeigt (69,109,116). Mittlerweile werden diese Ergebnisse jedoch kritisch beurteilt, denn traumatisierte Patienten sind heute zum Zeitpunkt der Aufnahme oft bereits intubiert und beatmet. Dies erschwert eine neurologische Untersuchung oder macht sie unmöglich.

In dieser Arbeit führten schwere Schädelhirntraumen (GCS 3-8) in 31,7% der Fälle zum Tod oder einer bleibenden schweren Behinderung, mittelschwere Traumen (GCS 9-12) in 3,3%, leichte Schädelhirntraumen (GCS 13-15) dagegen nur in 1,7% der Fälle. Des Weiteren korrelierte der GCS auch statistisch signifikant mit der klinischen Erholung.

4.7 Alter

Das Alter der Patienten hatte in den meisten Studien einen Einfluss auf die klinische Erholung nach einem Schädelhirntrauma. Patienten, die älter als 65 Jahre sind, tragen ein deutlich erhöhtes Risiko. In dieser Untersuchung war die Korrelation zwischen der klinischen Erholung und dem Alter nicht signifikant. Das ist am ehesten darauf zurückzuführen, dass die meisten Patienten in unserer Untersuchung jünger als 65 Jahre waren.

4.8 Bewertung der initialen Computertomographie

Die kraniale Computertomographie ist allgemein anerkannt als ein wertvolles diagnostisches Instrument bei der initialen Beurteilung von Schädelhirntrauma-Patienten. Raumfordernde Läsionen wie epidurale oder subdurale Hämatoome werden durch die CT verlässlich nachgewiesen. Dagegen sind diffuse axonale Schädigungen (Scherverletzungen) oder Hirnstammläsionen in der CT nur inkomplett oder häufig überhaupt nicht erkennbar.

Einige in der CT nachweisbare Läsionen gehen mit einer schlechten Prognose einher: Das Verstreichen der basalen Zisternen nach Trauma beispielsweise verdreifacht die Letalitätsrate (6,102).

Alle CT-Befunde in einem einzigen prognostischen Faktor zusammenzufassen, ist jedoch schwierig. Es wurden verschiedene Einteilungen vorgeschlagen. Die am meisten verbreitete diesbezügliche Skala ist der MCTC, der auch in der vorliegenden Untersuchung verwendet wurde. Der Nachteil dieser Einteilung ist, dass seine Skalierung den Schweregrad der Verletzung nicht linear abbildet. Die MCTC-Grade 1-4 beschreiben diffuse Hirnschädigungen mit zunehmender Schwere von leicht bis schwer. Ein MCTC von vier entspricht einer diffusen Schädigung mit Mittellinienverlagerung über fünf Millimeter. MCTC 5 und 6 werden für Raumfordernde Läsionen > 25 ml benutzt. Dabei ist offensichtlich, dass ein Epiduralhämatom (MCTC 5 oder 6), wenn es rechtzeitig entlastet wird, mit einer besseren Prognose einhergeht als ein schwerer diffuser Hirnschaden, wenn die basalen Zisternen verstrichen sind (MCTC 3).

Aus diesem Grund wurden die Patienten mit einer diffusen Pathologie (MCTC 1-4) in der vorliegenden Untersuchung getrennt von den Patienten mit einer Raumfordernden Läsion (MCTC 5-6) untersucht. Durch diese Trennung zeigte sich für die diffusen Hirnschädigungen eine signifikante Korrelation des CT-Befundes mit der neurologischen Prognose.

Das Vorliegen einer Raumfordernden Läsion ging in 81% der Fälle mit einer schlechten Prognose (GOS 1-3) einher. Innerhalb der Gruppe der Patienten mit einer Raumfordernden Läsion ist mittels des MCTC jedoch keine weitere Vorhersage der individuellen Prognose mehr möglich.

4.9 S-100B und GFAP als Marker für das Ausmaß eines Schädelhirntraumas

Die Untersuchung der beiden Proteine S100 und GFAP nach Schädelhirntrauma zeigte einen signifikanten Anstieg im Blut im Vergleich zu den Kontrollgruppen. Damit kommen sie als potentielle Marker für eine klinische Anwendung im Rahmen eines Schädelhirntraumas in Frage. In dieser Untersuchung fand sich eine gute Korrelation der Blutspiegel der beiden Neuroproteine mit dem GCS. Ein Zusammenhang mit der klinischen Erholung (GOS) konnte ebenfalls nachgewiesen werden. Dabei zeigte der S100B-Plasmawert 24 Stunden nach

Trauma bezüglich der klinischen Erholung eine bessere Korrelation als die klinische Einschätzung mit dem GCS und die MCTC 1-4. Auch in unserer Untersuchung konnte ein statistischer Zusammenhang zwischen der Graduierung der CT- Befunde und der Konzentration der Neuroproteine im Blut (44,48,87,88,115) gezeigt werden.

Dabei zeigten sich aber Unterschiede in den Konzentrationsprofilen von GFAP und S-100B Protein im zeitlichen Verlauf nach Schädelhirntrauma.

Zum einen unterschieden sich die absoluten Mengen der beiden Proteine, die ins Blut abgegeben wurden. Die erreichte Konzentration für das GFAP war zehnfach kleiner als beim S-100B. Ein möglicher Erklärungsversuch wäre das Molekulargewicht des GFAP Proteins (40-53 kDa), welches doppelt so hoch im Vergleich zum S-100B Protein ist. Dies könnte dazu führen, dass das S-100B die Blut- Hirschanke leichter passieren kann. Dagegen spricht jedoch die Tatsache, dass die neuronenspezifische Enolase (NSE) trotz eines höheren Molekulargewichtes von 78 kDa (nahezu das Zweifache des GFAP) in höheren Konzentrationen im Blut wieder zu finden ist. Ein anderer möglicher Erklärungsversuch wäre eine rasche enzymatische Degradierung des GFAP im Blut.

Zum anderen unterschieden sich die GFAP- und S-100B- Konzentrationen nach Schädelhirntrauma in ihrem zeitlichen Verlauf. S-100B war bereits initial nach einem Trauma erhöht und stieg nach 24 Stunden sogar noch weiter an (Aufnahmewert $1,32 \pm 1,68 \mu\text{g/l}$, 24-Stunden-Wert: $1,59 \pm 2,41 \mu\text{g/l}$). GFAP war dagegen bei Aufnahme bei 45,3 % der Patienten nachweisbar, nach 24 Stunden nur noch bei 24,5 %.

Dies könnte bedeuten, dass beide Proteine direkt nach Trauma in das Blut abgegeben werden, es beim GFAP dann aber zu einem raschen Konzentrationsabfall im Blut kommt. Ob dies durch Elimination oder durch enzymatische Degradation bedingt ist, ist derzeit noch nicht bekannt.

Somit scheint das GFAP wie das S-100B einen zeitlich frühen und sensitiven Nachweis einer ZNS- Schädigung zu ermöglichen, allerdings nur in einem engen diagnostischen Zeitfenster. Dies macht eine GFAP- Bestimmung aus klinischer Sicht jedoch nicht wertlos, da das GFAP nach dem derzeitigen Kenntnisstand anders als S-100B oder andere verwendete Neuromarker ausschließlich in ZNS-

Gewebe nachweisbar ist. Damit kann es im Gegensatz zu S-100B oder NSE als streng spezifischer Marker eines ZNS- Schadens gelten.

Das S-100B Protein ist als quantitativer Indikator für den Grad eines ZNS-Schadens bei Ischämie, Subarachnoidalblutung und Schädelhirntrauma beschrieben (113,114). Durch die hier vorgestellte Untersuchung wird dies bestätigt. Nach unseren Ergebnissen gilt dies auch für GFAP, sofern eine Bestimmung in den ersten Stunden nach einem Schädelhirntrauma erfolgt.

Wie oben beschrieben, haben Patienten mit einer intrakraniellen Raumforderung >25 ml zwar eine grundsätzlich schlechte Prognose, eine individuelle prognostische Beurteilung dieser Patientengruppe auf der Basis des CT-Befundes ist mittels des MCTC jedoch nicht möglich. Eine Bestimmung des S-100B Blutspiegels könnte nach unseren Ergebnissen auch bei Patienten mit einer Raumfordernden Blutung noch eine weitergehende prognostische Einschätzung erlauben.

In der vorliegenden Untersuchung zeigte sich für S-100B eine signifikante Korrelation zum MCTC 5 und 6 Grading. Für GFAP zeigte sich hier zwar ein gleichsinniger Trend, der jedoch statistisch nicht signifikant war.

Als Erklärung für diesen diskrepanten Befund kommt nach unserer Ansicht am ehesten der enge Zeitrahmen des GFAP- Nachweises, das heißt die rasche Abnahme der GFAP- Konzentration im Blut nach einem Trauma, in Frage.

Der grundsätzliche Vorteil der beiden Parameter liegt in der geringen Invasivität der Methode und der damit verbundenen leichten Einsetzbarkeit im klinischen Alltag.

4.10 Resümee und Ausblick

Im Liquor nachweisbare ZNS-Marker sind seit Jahrzehnten bekannt. Mit der Verbesserung der Nachweismethoden konnten zahlreiche neue Erkenntnisse gewonnen werden. Inzwischen ist auch der weniger invasive Nachweis im Blut möglich. Das S-100B Protein und das GFAP sind wichtige Vertreter dieser Gruppe. S-100B wurde in vielen Studien untersucht und scheint aus physiologischer Sicht eine fundamentale Rolle in der Zellentwicklung und dem Signaltransfer zu spielen. GFAP scheint wichtig für die Modulierung der Astrozytenmotilität und Form zu sein. Ihre Bedeutung als Neuromarker ergibt sich

daraus, dass beide Proteine nach einem Trauma rasch aus geschädigten Zellen des ZNS freigesetzt werden und in das Blut übertreten. Im Gegensatz zum S-100B, das auch außerhalb des ZNS nachgewiesen wurde, scheint das GFAP ein streng spezifischer Marker für das ZNS zu sein.

Ein Schädelhirntrauma stellt ein einschneidendes Ereignis im Leben des Patienten und seiner Angehörigen dar. Eine bessere initiale Aussage zur Prognose mittels der Neuroproteine S-100B und GFAP wäre für alle Beteiligten hilfreich und könnte auch zur Optimierung der Therapieplanung dienen.

Gegenstand zukünftiger Studien muss die genauere Untersuchung der zeitlichen Verläufe des S-100B und GFAP und deren möglicher klinischer Nutzen sein.

Weiterhin sollte zukünftig die Untersuchung der beiden hier dargestellten Proteine auch bei anderen neurologischen Krankheitsbildern erfolgen.

Zusätzlich wäre es sinnvoll, die untere Nachweisgrenze des GFAP - Assays zu verbessern. Dadurch ließe sich ggf. auch das diagnostisch nutzbare Zeitfenster nach einem Schädelhirntrauma verlängern.

Die serielle Bestimmung von S-100B und GFAP im Therapieverlauf nach einem Schädelhirntrauma kann eventuell auch die frühzeitige Erkennung von Komplikationen ermöglichen. Dies muss allerdings erst noch anhand eines geeigneten Patientenkollektivs evaluiert werden.

5. Zusammenfassung

Bei Erkrankungen, die zu einer Schädigung des zentralen Nervensystems führen, sind in Liquor und Blut erhöhte Spiegel der Neuroproteine S-100 und GFAP nachweisbar. Ziel dieser Studie war die Klärung der Frage, ob ein Schädelhirntrauma zum Anstieg der Plasma- bzw. Serumspiegel von S-100B und GFAP führt, und ob eine Korrelation zwischen dem Anstieg dieser Neuroproteine und der Schwere des Schädelhirntraumas, der im CT gefundenen Pathologien sowie der klinischen Erholung besteht. Es wurden 60 (S-100B) bzw. 53 (GFAP) Patienten mit Schädelhirntrauma untersucht. Die S-100B- und GFAP- Plasma- bzw. Serumspiegel wurden bei Aufnahme und 24 Stunden nach Trauma bestimmt. Der klinische Schweregrad des Schädelhirntraumas wurde anhand der Glasgow Coma Scale (GCS) bei Aufnahme klassifiziert. Die Beurteilung der klinischen Erholung erfolgte sechs Monate nach Trauma durch die Glasgow Outcome Scale (GOS). Die Schwere der in der kraniellen Computertomographie bei Aufnahme sichtbaren intrakraniellen Traumafolgen wurde anhand der Marshall Computed Tomography Classification (MCTC) - Skala klassifiziert.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass sowohl die Höhe des S-100B als auch des GFAP- Anstieges im Blut mit der initialen Schwere des Schädelhirntraumas und der späteren klinischen Erholung korrelieren. Weiterhin konnte ein Zusammenhang der Schwere der in der CCT nachweisbaren diffusen traumatischen Hirnschädigung (MCTC 1-4) mit der Höhe des S-100B Wertes gezeigt werden. Bei Patienten mit einer intrakraniellen Raumforderung (MCTC 5-6) fand sich eine Korrelation der S-100B-Werte mit der späteren klinischen Erholung. Die Korrelation der GFAP-Werte mit den computertomographisch nachweisbaren Veränderungen war dagegen statistisch nicht signifikant.

Nach unseren Ergebnissen handelt es sich sowohl bei S-100B als auch bei GFAP um potentielle sensitive Marker für einen traumatisch bedingten Hirnschaden, die nicht spezifisch für bestimmte Verletzungsmechanismen oder Hirngewebstypen sind. Während ein S-100B Anstieg gelegentlich auch durch Schädigung von Gewebe außerhalb des ZNS verursacht werden kann, wurde GFAP bislang außerhalb des ZNS noch nicht nachgewiesen und kann daher als spezifischer Indikator für ZNS- Schäden gelten. Beide Neuroproteine können als Marker für den Schweregrad eines Schädelhirntrauma eingesetzt werden und als Ergänzung

der übrigen Befunde, im Besonderen der klinisch-neurologischen Untersuchung und der CCT zur prognostischen Einschätzung dienen.

6. Literaturverzeichnis

1. Abraha HD, Butterworth RJ, Bath PM, Wassif WS, Garthwaite J, Sherwood RA: Serum S-100 protein, relationship to clinical outcome in acute stroke. *Ann Clin Biochem* 34 (Pt 4), 366-370 (1997)
2. Albrechtsen M, Bock E: Quantification of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in human body fluids by means of ELISA employing a monoclonal antibody. *J Neuroimmunol* 8, 301-309 (1985)
3. Albrechtsen M, Massaro A, Bock E.: Enzyme-linked immunosorbent assay for the human glial fibrillary acidic protein using a mouse monoclonal antibody. *J Neurochem*, 560-566 (1985)
4. Albrechtsen M, Sorensen PS, Gjerris F, Bock E: High cerebrospinal fluid concentration of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in patients with normal pressure hydrocephalus. *J Neurol Sci* 70, 269-274 (1985)
5. Ambrose J, Hounsfield G: Computerized transverse axial tomography. *Br J Radiol* 46, 148-149 (1973)
6. Athiappan S, Muthukumar N, Srinivasan US: Influence of basal cisterns, midline shift and pathology on outcome in head injury. *Ann Acad Med Singapore* 22, 452-455 (1993)
7. Aurell A, Rosengren LE, Karlsson B, Olsson JE, Zbornikova V, Haglid KG: Determination of S-100 and glial fibrillary acidic protein concentrations in cerebrospinal fluid after brain infarction. *Stroke* 22, 1254-1258 (1991)
8. Aurell A, Rosengren LE, Wikkelso C, Nordberg G, Haglid KG: The S-100 protein in cerebrospinal fluid: a simple ELISA method. *J Neurol Sci* 89, 157-164 (1989)
9. Baudier J, Gerard D: Ions binding to S100 proteins. II. Conformational studies and calcium-induced conformational changes in S100 alpha alpha protein: the effect of acidic pH and calcium incubation on subunit exchange in S100a (alpha beta) protein. *J Biol Chem* 261, 8204-8212 (1986)
10. Baudier J, Glasser N, Duportail G: Bimane- and acrylodan-labeled S100 proteins. Role of cysteines-85 alpha and -84 beta in the conformation and

- calcium binding properties of S100 alpha alpha and S100b (beta beta) proteins. *Biochemistry* 25, 6934-6941 (1986)
11. Baudier J, Glasser N, Gerard D: Ions binding to S100 proteins. I. Calcium- and zinc-binding properties of bovine brain S100 alpha alpha, S100a (alpha beta), and S100b (beta beta) protein: Zn²⁺ regulates Ca²⁺ binding on S100b protein. *J Biol Chem* 261, 8192-8203 (1986)
 12. Bianchi R, Giambanco I, Donato R: S-100 protein, but not calmodulin, binds to the glial fibrillary acidic protein and inhibits its polymerization in a Ca(2+)-dependent manner. *J Biol Chem* 268, 12669-12674 (1993)
 13. Blennow M, Hagberg H, Rosengren L: Glial fibrillary acidic protein in the cerebrospinal fluid: a possible indicator of prognosis in full-term asphyxiated newborn infants? *Pediatr Res* 37, 260-264 (1995)
 14. Blennow M, Rosengren L, Jonsson S, Forssberg H, Katz-Salamon M, Hagberg H, Hesser U, Lagercrantz H: Glial fibrillary acidic protein is increased in the cerebrospinal fluid of preterm infants with abnormal neurological findings. *Acta Paediatr* 85, 485-489 (1996)
 15. Buttner T, Weyers S, Postert T, Sprengelmeyer R, Kuhn W: S-100 protein: serum marker of focal brain damage after ischemic territorial MCA infarction. *Stroke* 28, 1961-1965 (1997)
 16. Conley FK: The immunocytochemical localization of GFA protein in experimental murine CNS tumors. *Acta Neuropathol (Berl)* 45, 9-16 (1979)
 17. Cutler R: The cerebrospinal fluid. Swash M, Kennard C London, 1985.
 18. DeArmond SJ, Fajardo M, Naughton SA, Eng LF: Degradation of glial fibrillary acidic protein by a calcium dependent proteinase: an electroblot study. *Brain Res* 262, 275-282 (1983)
 19. Delpech B, Delpech A, Vidard MN, Girard N, Tayot J, Clement JC, Creissard P: Glial fibrillary acidic protein in tumours of the nervous system. *Br J Cancer* 37, 33-40 (1978)
 20. Donato R: Perspectives in S-100 protein biology. Review article. *Cell Calcium* 12, 713-726 (1991)
 21. Donato R: Functional roles of S100 proteins, calcium-binding proteins of the EF-hand type. *Biochim Biophys Acta* 1450, 191-231 (1999)
 22. Donato R: Intracellular and extracellular roles of S100 proteins. *Microsc Res Tech* 60, 540-551 (2003)

23. Dotevall L, Rosengren LE, Hagberg L: Increased cerebrospinal fluid levels of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in Lyme neuroborreliosis. *Infection* 24, 125-129 (1996)
24. Drohat AC, Amburgey JC, Abildgaard F, Starich MR, Baldisseri D, Weber DJ: Solution structure of rat apo-S100B(beta beta) as determined by NMR spectroscopy. *Biochemistry* 35, 11577-11588 (1996)
25. Drohat AC, Baldisseri DM, Rustandi RR, Weber DJ: Solution structure of calcium-bound rat S100B(betabeta) as determined by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Biochemistry* 37, 2729-2740 (1998)
26. Ehlers S, Kyllerman M, Rosengren L: Analysis of glial fibrillary acidic protein in the cerebrospinal fluid of children investigated for encephalopathy. *Neuropediatrics* 25, 129-133 (1994)
27. Eng LF: Glial fibrillary acidic protein (GFAP): the major protein of glial intermediate filaments in differentiated astrocytes. *J Neuroimmunol* 8, 203-214 (1985)
28. Eng LF, Gerstl B, and Vanderhaghen, J.J.: A study of proteins in old multiple sclerosis plaques. *Trans. Am. Soc. Neurochem.*, 42 (1970)
29. Eng LF, Ghirnikar RS, Lee YL: Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969-2000). *Neurochem Res* 25, 1439-1451 (2000)
30. Eng LF, Rubinstein LJ: Contribution of immunohistochemistry to diagnostic problems of human cerebral tumors. *J Histochem Cytochem* 26, 513-522 (1978)
31. Eng LF, Vanderhaeghen JJ, Bignami A, Gerstl B: An acidic protein isolated from fibrous astrocytes. *Brain Res* 28, 351-354 (1971)
32. Fagnart OC, Sindic CJ, Laterre C: Particle counting immunoassay of S100 protein in serum. Possible relevance in tumors and ischemic disorders of the central nervous system. *Clin Chem* 34, 1387-1391 (1988)
33. Fano G, Biocca S, Fulle S, Mariggio MA, Belia S, Calissano P: The S-100: a protein family in search of a function. *Prog Neurobiol* 46, 71-82 (1995)
34. Fano G, Fulle S, Della Torre G, Giambanco I, Aisa MC, Donato R, Calissano P: S-100b protein regulates the activity of skeletal muscle adenylate cyclase in vitro. *FEBS Lett* 240, 177-180 (1988)
35. Fassbender K, Schmidt R, Schreiner A, Fatar M, Muhlhauser F, Daffertshofer M, Hennerici M: Leakage of brain-originated proteins in

- peripheral blood: temporal profile and diagnostic value in early ischemic stroke. *J Neurol Sci* 148, 101-105 (1997)
36. Garbuglia M, Verzini M, Hofmann A, Huber R, Donato R: S100A1 and S100B interactions with annexins. *Biochim Biophys Acta* 1498, 192-206 (2000)
 37. Gean AD: *Imaging of Head Trauma*. Raven Press, 1994.
 38. Hardemark HG, Almqvist O, Johansson T, Pahlman S, Persson L: S-100 protein in cerebrospinal fluid after aneurysmal subarachnoid haemorrhage: relation to functional outcome, late CT and SPECT changes, and signs of higher cortical dysfunction. *Acta Neurochir (Wien)* 99, 135-144 (1989)
 39. Hardemark HG, Ericsson N, Kotwica Z, Rundstrom G, Mendel-Hartvig I, Olsson Y, Pahlman S, Persson L: S-100 protein and neuron-specific enolase in CSF after experimental traumatic or focal ischemic brain damage. *J Neurosurg* 71, 727-731 (1989)
 40. Hass T WO, Bartels P, Meier U: Schwere Schädel-Hirn-Traumen nach Arbeits- und Freizeitunfällen. *Trauma Berufskrankh*, 32-40 (2001)
 41. Heizmann CW: Intracellular calcium-binding proteins: structure and possible functions. *J Cardiovasc Pharmacol* 8 Suppl 8, S7-12 (1986)
 42. Heizmann CW: Calcium-binding proteins: basic concepts and clinical implications. *Gen Physiol Biophys* 11, 411-425 (1992)
 43. Heizmann CW, Cox JA: New perspectives on S100 proteins: a multi-functional Ca(2+)-, Zn(2+)- and Cu(2+)-binding protein family. *Biometals* 11, 383-397 (1998)
 44. Herrmann M, Jost S, Kutz S, Ebert AD, Kratz T, Wunderlich MT, Synowitz H: Temporal profile of release of neurobiochemical markers of brain damage after traumatic brain injury is associated with intracranial pathology as demonstrated in cranial computerized tomography. *J Neurotrauma* 17, 113-122 (2000)
 45. Herrmann M, Vos P, Wunderlich MT, de Bruijn CH, Lamers KJ: Release of glial tissue-specific proteins after acute stroke: A comparative analysis of serum concentrations of protein S-100B and glial fibrillary acidic protein. *Stroke* 31, 2670-2677 (2000)
 46. Hounsfield GN: Computerized transverse axial scanning (tomography). 1. Description of system. *Br J Radiol* 46, 1016-1022 (1973)

47. Ingebrigtsen T, Romner B: Serial S-100 protein serum measurements related to early magnetic resonance imaging after minor head injury. Case report. *J Neurosurg* 85, 945-948 (1996)
48. Ingebrigtsen T, Romner B, Marup-Jensen S, Dons M, Lundqvist C, Bellner J, Alling C, Borgesen SE: The clinical value of serum S-100 protein measurements in minor head injury: a Scandinavian multicentre study. *Brain Inj* 14, 1047-1055 (2000)
49. Ingebrigtsen T, Waterloo K, Jacobsen EA, Langbakk B, Romner B: Traumatic brain damage in minor head injury: relation of serum S-100 protein measurements to magnetic resonance imaging and neurobehavioral outcome. *Neurosurgery* 45, 468-475; discussion 475-466 (1999)
50. Jennett B, Bond M: Assessment of outcome after severe brain damage. *Lancet* 1, 480-484 (1975)
51. Johnsson P, Lundqvist C, Lindgren A, Ferencz I, Alling C, Stahl E: Cerebral complications after cardiac surgery assessed by S-100 and NSE levels in blood. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 9, 694-699 (1995)
52. Kato K, Kimura S: S100 $\alpha\alpha$ (alpha alpha) protein is mainly located in the heart and striated muscles. *Biochim Biophys Acta* 842, 146-150 (1985)
53. Kato K, Kimura S, Semba R, Suzuki F, Nakajima T: Increase in S-100 protein levels in blood plasma by epinephrine. *J Biochem (Tokyo)* 94, 1009-1011 (1983)
54. Kato K, Nakajima T, Ishiguro Y, Matsutani T: Sensitive immunoassay for S-100 protein: determination in human cerebrospinal fluid. *Biomed Res*, 24-28 (1982)
55. Kilby PM, Van Eldik LJ, Roberts GC: The solution structure of the bovine S100B protein dimer in the calcium-free state. *Structure* 4, 1041-1052 (1996)
56. Kotwica Z, Persson L, Hardemark HG, Pahlman S: [Nerve tissue protein S 100 level in the cerebrospinal fluid as an indicator of the extent of brain damage in cerebral ischemic stroke. Experimental study of a rat model of stroke]. *Neurol Neurochir Pol* 23, 203-207 (1989)
57. Lamers KJ, Vos P, Verbeek MM, Rosmalen F, van Geel WJ, van Engelen BG: Protein S-100B, neuron-specific enolase (NSE), myelin basic protein

- (MBP) and glial fibrillary acidic protein (GFAP) in cerebrospinal fluid (CSF) and blood of neurological patients. *Brain Res Bull* 61, 261-264 (2003)
58. Landar A, Caddell G, Chessher J, Zimmer DB: Identification of an S100A1/S100B target protein: phosphoglucomutase. *Cell Calcium* 20, 279-285 (1996)
 59. Liedtke W, Edelmann W, Bieri PL, Chiu FC, Cowan NJ, Kucherlapati R, Raine CS: GFAP is necessary for the integrity of CNS white matter architecture and long-term maintenance of myelination. *Neuron* 17, 607-615 (1996)
 60. Lindberg L, Olsson AK, Anderson K, Jogi P: Serum S-100 protein levels after pediatric cardiac operations: a possible new marker for postperfusion cerebral injury. *J Thorac Cardiovasc Surg* 116, 281-285 (1998)
 61. Marks A, Petsche D, O'Hanlon D, Kwong PC, Stead R, Dunn R, Baumal R, Liao SK: S100 protein expression in human melanoma cells: comparison of levels of expression among different cell lines and individual cells in different phases of the cell cycle. *Exp Cell Res* 187, 59-64 (1990)
 62. Marshall LF, Marshall SB, Klauber MR, Van Berkum Clark M, Eisenberg H, Jane JA, Luerssen TG, Marmarou A, Foulkes MA: The diagnosis of head injury requires a classification based on computed axial tomography. *J Neurotrauma* 9 Suppl 1, S287-292 (1992)
 63. Massaro AR, Michetti F, Laudisio A, Bergonzi P: Myelin basic protein and S-100 antigen in cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis in the acute phase. *Ital J Neurol Sci* 6, 53-56 (1985)
 64. Massaro AR, Scivoletto G, Tonali P: Cerebrospinal fluid markers in neurological disorders. *Ital J Neurol Sci* 11, 537-547 (1990)
 65. McClintock KA, Shaw GS: A novel S100 target conformation is revealed by the solution structure of the Ca²⁺-S100B-TRTK-12 complex. *J Biol Chem* 278, 6251-6257 (2003)
 66. Michetti F, Massaro A, Russo G, Rigon G: The S-100 antigen in cerebrospinal fluid as a possible index of cell injury in the nervous system. *J Neurol Sci* 44, 259-263 (1980)
 67. Missler U, Orłowski N, Notzold A, Dibbelt L, Steinmeier E, Wiesmann M: Early elevation of S-100B protein in blood after cardiac surgery is not a predictor of ischemic cerebral injury. *Clin Chim Acta* 321, 29-33 (2002)

68. Missler U, Wiesmann M: Measurement of S-100 protein in human blood and cerebrospinal fluid: analytical method and preliminary clinical results. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 33, 743-748 (1995)
69. Missler U, Wiesmann M, Friedrich C, Kaps M: S-100 protein and neuron-specific enolase concentrations in blood as indicators of infarction volume and prognosis in acute ischemic stroke. *Stroke* 28, 1956-1960 (1997)
70. Missler U, Wiesmann M, Wittmann G, Magerkurth O, Hagenstrom H: Measurement of glial fibrillary acidic protein in human blood: analytical method and preliminary clinical results. *Clin Chem* 45, 138-141 (1999)
71. Mokuno K, Kato K, Kawai K, Matsuoka Y, Sobue I: [Neuron-specific enolase and S-100 protein levels in the cerebrospinal fluid of the patients with neurological diseases]. *Rinsho Shinkeigaku* 23, 397-403 (1983)
72. Mokuno K, Kato K, Kawai K, Matsuoka Y, Yanagi T, Sobue I: Neuron-specific enolase and S-100 protein levels in cerebrospinal fluid of patients with various neurological diseases. *J Neurol Sci* 60, 443-451 (1983)
73. Mokuno K, Kiyosawa K, Sugimura K, Yasuda T, Riku S, Murayama T, Yanagi T, Takahashi A, Kato K: Prognostic value of cerebrospinal fluid neuron-specific enolase and S-100b protein in Guillain-Barre syndrome. *Acta Neurol Scand* 89, 27-30 (1994)
74. Mokuno K, Matsuoka Y, Yanagi T, Sobue I, Kato K: [Neuron-specific enolase and S-100 protein levels in the cerebrospinal fluid of patients with encephalitis and meningitis]. *Rinsho Shinkeigaku* 24, 1143-1148 (1984)
75. Moore B: A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochem Biophys Res Commun*, 739-744 (1965)
76. Mori T, Morimoto K, Ushio Y, Hayakawa T, Mogami H: Radioimmunoassay of astroprotein (an astrocyte-specific cerebroprotein) in cerebrospinal fluid from patients with glioma. A preliminary study. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 15 pt 1, 23-25 (1975)
77. Murayama T, Matsuoka Y, Takahashi A, Kato K, Yanagi T: [Cerebrospinal fluid level of aldolase C in patients with various neurological disorders: comparison with neuron-specific enolase, S-100b protein and creatine kinase BB isoenzyme]. *Rinsho Shinkeigaku* 29, 568-573 (1989)
78. Nagamatsu M, Mokuno K, Sugimura K, Kiyosawa K, Aoki S, Takahashi A, Kato K: Cerebrospinal fluid levels of S-100b protein and neuron-specific

- enolase in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Acta Neurol Scand* 91, 483-487 (1995)
79. Nawashiro H, Messing A, Azzam N, Brenner M: Mice lacking GFAP are hypersensitive to traumatic cerebrospinal injury. *Neuroreport* 9, 1691-1696 (1998)
 80. Nonato MC, Garratt RC, Schleicher CH, Santome JA, Oliva G: Crystallization and preliminary crystallographic studies of calgranulin C, an S100-like calcium-binding protein from pig granulocytes. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 53, 200-202 (1997)
 81. Noppe M, Crols R, Andries D, Lowenthal A: Determination in human cerebrospinal fluid of glial fibrillary acidic protein, S-100 and myelin basic protein as indices of non-specific or specific central nervous tissue pathology. *Clin Chim Acta* 155, 143-150 (1986)
 82. Noppe M, Lowenthal A, Gheuens J, Karcher D: Alpha-albumin (GFA) dosage and localization in human nervous tissue and cerebrospinal fluid. *Cell Mol Biol Incl Cyto Enzymol* 25, 415-420 (1979)
 83. Otto M, Stein H, Szudra A, Zerr I, Bodemer M, Gefeller O, Poser S, Kretzschmar HA, Mader M, Weber T: S-100 protein concentration in the cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol* 244, 566-570 (1997)
 84. Persson L, Hardemark H, Edner G, Ronne E, Mendel-Hartvig I, Pahlman S: S-100 protein in cerebrospinal fluid of patients with subarachnoid haemorrhage: a potential marker of brain damage. *Acta Neurochir (Wien)* 93, 116-122 (1988)
 85. Persson L, Hardemark HG, Gustafsson J, Rundstrom G, Mendel-Hartvig I, Esscher T, Pahlman S: S-100 protein and neuron-specific enolase in cerebrospinal fluid and serum: markers of cell damage in human central nervous system. *Stroke* 18, 911-918 (1987)
 86. Potts BC, Smith J, Akke M, Macke TJ, Okazaki K, Hidaka H, Case DA, Chazin WJ: The structure of calyculin reveals a novel homodimeric fold for S100 Ca(2+)-binding proteins. *Nat Struct Biol* 2, 790-796 (1995)
 87. Raabe A, Grolms C, Keller M, Dohnert J, Sorge O, Seifert V: Correlation of computed tomography findings and serum brain damage markers following

- severe head injury. *Acta Neurochir (Wien)* 140, 787-791; discussion 791-782 (1998)
88. Romner B, Ingebrigtsen T, Kongstad P, Borgesen SE: Traumatic brain damage: serum S-100 protein measurements related to neuroradiological findings. *J Neurotrauma* 17, 641-647 (2000)
 89. Rosengren LE, Ahlsen G, Belfrage M, Gillberg C, Haglid KG, Hamberger A: A sensitive ELISA for glial fibrillary acidic protein: application in CSF of children. *J Neurosci Methods* 44, 113-119 (1992)
 90. Rosengren LE, Lycke J, Andersen O: Glial fibrillary acidic protein in CSF of multiple sclerosis patients: relation to neurological deficit. *J Neurol Sci* 133, 61-65 (1995)
 91. Rotherl RD, Woertgen C, Holzschuh M, Metz C, Brawanski A: S-100 serum levels after minor and major head injury. *J Trauma* 45, 765-767 (1998)
 92. Sastry M, Ketchum RR, Crescenzi O, Weber C, Lubinski MJ, Hidaka H, Chazin WJ: The three-dimensional structure of Ca(2+)-bound calyculin: implications for Ca(2+)-signal transduction by S100 proteins. *Structure* 6, 223-231 (1998)
 93. Schafer BW, Wicki R, Engelkamp D, Mattei MG, Heizmann CW: Isolation of a YAC clone covering a cluster of nine S100 genes on human chromosome 1q21: rationale for a new nomenclature of the S100 calcium-binding protein family. *Genomics* 25, 638-643 (1995)
 94. Schirmer M: *Neurochirurgie. Eine Einführung*. 9 ed. Urban und Schwarzenberg München, 1998.
 95. Selinfreund RH, Barger SW, Pledger WJ, Van Eldik LJ: Neurotrophic protein S100 beta stimulates glial cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88, 3554-3558 (1991)
 96. Sellman M, Ivert T, Ronquist G, Caesarini K, Persson L, Semb BK: Central nervous system damage during cardiac surgery assessed by 3 different biochemical markers in cerebrospinal fluid. *Scand J Thorac Cardiovasc Surg* 26, 39-45 (1992)
 97. Sindic CJ, Chalon MP, Cambiaso CL, Laterre EC, Masson PL: Assessment of damage to the central nervous system by determination of S-100 protein

- in the cerebrospinal fluid. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 45, 1130-1135 (1982)
98. Sindic CJ, Kevers L, Chalon MP, Laterre EC, Masson PL: Monitoring and tentative diagnosis of herpetic encephalitis by protein analysis of cerebrospinal fluid. Particular relevance of the assays of ferritin and S-100. *J Neurol Sci* 67, 359-369 (1985)
 99. Taggart DP, Mazel JW, Bhattacharya K, Meston N, Standing SJ, Kay JD, Pillai R, Johnsson P, Westaby S: Comparison of serum S-100 beta levels during CABG and intracardiac operations. *Ann Thorac Surg* 63, 492-496 (1997)
 100. Takayasu M, Shibuya M, Kanamori M, Suzuki Y, Ogura K, Kageyama N, Umekawa H, Hidaka H: S-100 protein and calmodulin levels in cerebrospinal fluid after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 63, 417-420 (1985)
 101. Teasdale G, Jennett B: Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. *Lancet* 2, 81-84 (1974)
 102. Toutant SM, Klauber MR, Marshall LF, Toole BM, Bowers SA, Seelig JM, Varnell JB: Absent or compressed basal cisterns on first CT scan: ominous predictors of outcome in severe head injury. *J Neurosurg* 61, 691-694 (1984)
 103. Usui A, Kato K, Abe T, Murase M, Tanaka M, Takeuchi E: S-100 protein in blood and urine during open-heart surgery. *Clin Chem* 35, 1942-1944 (1989)
 104. Usui A, Kato K, Murase M, Hotta T, Tanaka M, Takeuchi E, Abe T: Neural tissue-related proteins (NSE, G0 alpha, 28-kDa calbindin-D, S100b and CK-BB) in serum and cerebrospinal fluid after cardiac arrest. *J Neurol Sci* 123, 134-139 (1994)
 105. Vermuyten K: Determination of glial fibrillary acidic protein, S100, myelin basic protein and neuron specific enolase in cerebrospinal fluid from patients suffering from dementia. *Acta Neurol Belg* 89, 318 (1989)
 106. Vos PE, Lamers KJ, Hendriks JC, van Haaren M, Beems T, Zimmerman C, van Geel W, de Reus H, Biert J, Verbeek MM: Glial and neuronal proteins in serum predict outcome after severe traumatic brain injury. *Neurology* 62, 1303-1310 (2004)

107. Wallin A, Blennow K, Rosengren LE: Glial fibrillary acidic protein in the cerebrospinal fluid of patients with dementia. *Dementia* 7, 267-272 (1996)
108. Waterloo K, Ingebrigtsen T, Romner B: Neuropsychological function in patients with increased serum levels of protein S-100 after minor head injury. *Acta Neurochir (Wien)* 139, 26-31; discussion 31-22 (1997)
109. Wedekind C, Fischbach R, Pakos P, Terhaag D, Klug N: Comparative use of magnetic resonance imaging and electrophysiologic investigation for the prognosis of head injury. *J Trauma* 47, 44-49 (1999)
110. Westaby S, Johnsson P, Parry AJ, Blomqvist S, Solem JO, Alling C, Pillai R, Taggart DP, Grebenik C, Stahl E: Serum S100 protein: a potential marker for cerebral events during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 61, 88-92 (1996)
111. Wiesmann M, Missler U, Hagenstrom H, Gottmann D: S-100 protein plasma levels after aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Acta Neurochir (Wien)* 139, 1155-1160 (1997)
112. Woertgen C, Rothoerl RD: Serum S-100B protein in severe head injury. *Neurosurgery* 46, 1026-1027 (2000)
113. Woertgen C, Rothoerl RD, Brawanski A: Early S-100B serum level correlates to quality of life in patients after severe head injury. *Brain Inj* 16, 807-816 (2002)
114. Woertgen C, Rothoerl RD, Holzschuh M, Metz C, Brawanski A: Comparison of serial S-100 and NSE serum measurements after severe head injury. *Acta Neurochir (Wien)* 139, 1161-1164; discussion 1165 (1997)
115. Woertgen C, Rothoerl RD, Metz C, Brawanski A: Comparison of clinical, radiologic, and serum marker as prognostic factors after severe head injury. *J Trauma* 47, 1126-1130 (1999)
116. Yamaura A, Nakamura T, Ono J, Ariga N, Horie T, Shinohara Y, Isobe K, Kokubo Y, Makino H: Prognostic value of CT in head injuries. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 21, 685-696 (1981)
117. Zimmer DB, Chessher J, Wilson GL, Zimmer WE: S100A1 and S100B expression and target proteins in type I diabetes. *Endocrinology* 138, 5176-5183 (1997)
118. Zimmer DB, Cornwall EH, Landar A, Song W: The S100 protein family: history, function, and expression. *Brain Res Bull* 37, 417-429 (1995)

119. Zimmer DB, Dubuisson JG: Identification of an S100 target protein: glycogen phosphorylase. *Cell Calcium* 14, 323-332 (1993)
120. Zimmer DB, Song W, Zimmer WE: Isolation of a rat S100 alpha cDNA and distribution of its mRNA in rat tissues. *Brain Res Bull* 27, 157-162 (1991)
121. Zimmer DB, Van Eldik LJ: Identification of a molecular target for the calcium-modulated protein S100. Fructose-1,6-bisphosphate aldolase. *J Biol Chem* 261, 11424-11428 (1986)
122. Zimmer DB, Van Eldik LJ: Tissue distribution of rat S100 alpha and S100 beta and S100-binding proteins. *Am J Physiol* 252, C285-289 (1987)
123. Zimmer DB, Van Eldik LJ: Analysis of the calcium-modulated proteins, S100 and calmodulin, and their target proteins during C6 glioma cell differentiation. *J Cell Biol* 108, 141-151 (1989)
124. Zimmer DB, Wright Sadosky P, Weber DJ: Molecular mechanisms of S100-target protein interactions. *Microsc Res Tech* 60, 552-559 (2003)

7. Anhang

Tabelle 1: Mitglieder der S-100 Protein-Familie, ihre Zielproteine und angenommene Funktion (21)

Protein	Zielprotein	Funktion
S-100A1	CapZ α , Desmin,GFAP,p53,Annexin V und VI, Tubulin, ζ Proteine, Myo D,E12, Fructose-1,6-Bisphosphate Aldolase, Glykogen Phosphorylase, Phosphoglucomutase, Twitchin Kinase, Ndr, Adenylatcyclase, Membranbindende Guanylatcyclase, Ryanodine Receptor, F-Aktin	inhibiert Typ III Intermediär Filamente und Mikrotubulinverbände, inhibiert Protein Phosphorylasen, inhibiert Glykogen Phosphorylasen und Phosphoglucomutase Aktivitäten und stimuliert Aldolase, Adenylatcyclase, Guanylatcyclase, Twitchin Kinase und Ndr Kinase Aktivitäten, stimuliert Ca ²⁺ - induzierte Ca ²⁺ - Freisetzung, reguliert Transkriptionsfaktoren
S-100A2	Tropomyosin, F-Aktin	reguliert F- Aktin-Tropomyosin Interaktionen, supprimiert Tumorprogression, bei Freisetzung werden Eosinophile chemotaktisch angezogen
S-100A3 S-100A4	Myosin, F-Aktin, Tropomyosin	inhibiert Myosin Phosphorylation, verleiht Ca ²⁺ Sensitivität für Tropomyosin, Regulation von Aktomyosin ATPase Aktivität, spielt eine Rolle in metastatischer Invasivität
S-100A5 S-100A6	Tropomyosin, Annexin II und XI, Glycerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase, Caldesmon	blockiert die Caldesmon abhängige Inhibition von Aktomyosin ATPase Aktivität, reguliert Zellzyklusprogression
S-100A7		bei Freisetzung chemotaktische Anziehung von CD4+ Lymphozyten
S-100A8	Mikrotubulinprotein, Vimentin, Keratin	inhibiert Caseinkinase II Aktivität, reguliert Myeloidzellentwicklung und -funktion, trägt zur Makrophagenaktivität bei, bindet in Form eines S100 A8/S100 A9 Komplexes ungesättigte Fettsäuren, wahrscheinlich zur Modulierung der proinflammatorischen Aktivität, bei Freisetzung und in Form eines S100 A8/S100 A9 Komplexes zeigten sich zytostatische und antimikrobielle Aktivitäten, inhibiert Makrophagenaktivität und Immunglobulinsynthese von Lymphozyten
S-100A8-ähnlich, CP-10 Protein		bei Freisetzung chemotaktische Wirkung auf Leukozyten

S-100A9	Mikrotubuläres Protein, Vimentin, Keratin	inhibiert Kaseinkinase Aktivität, reguliert Myeloidzellentwicklung und -funktion, trägt bei zur Makrophagenaktivierung, bindet in Form eines S100 A8/S100 A9 Komplexes ungesättigte Fettsäuren, wahrscheinlich zur Modulierung der proinflammatorischen Aktivität, bei Freisetzung und in Form eines S100 A8/S100 A9 Komplexes zeigten sich zytostatische und antimikrobielle Aktivitäten, inhibiert Makrophagenaktivität und Immunglobulinsynthese von Lymphozyten
S-100A10	Annexin II, 85 kDa Phospholipase A2, nicht identifiziertes Protein des „cornified envelope“, Plasminogen	leitet Annexin II zu Membranen und F-Aktin, in Form des Annexin II2-S-100 A10 2 kreuzüberbrückenden Komplexes für F-Aktin zu Zellmembranen, inhibiert Annexin II Phosphorylierung, stimuliert F- Aktin Bindungen, erhöht den stimulierenden Effekt von Annexin II auf GFAP Ansammlung, inhibiert 85 kDa Phospholipase A2 Aktivität, reguliert Exostose und Endozytose, trägt zur Formation des cornified envelope in epidermalen Keratinozyten bei, stimuliert t-PA Plasminogen Aktivierung
S-100A11	Annexin I, Proteine des „cornified envelope“ wahrscheinlich Annexin I einschließend	inhibiert Annexin I Phosphorylierung, trägt zur Formation des cornified envelope in epidermalen Keratinozyten bei wahrscheinlich in Form eines Annexin I2- S100 A11 2 Heterotetramers, in Form des Annexin I2-S100 A11 2 Heterotetramers hat es eine Rolle in der Endozytose
S-100A12 S-100A13	Fibroblasten Wachstumsfaktor/ Synaptotagmin Aggregat	Teilnahme in der Fibroblasten Wachstumsfaktor-1 Freisetzung
S-100B	Tubulin, GFAP, Vimentin, CapZa, Retinales Phosphoprotein p80, Desmin, p53, Neuromodulin(GAP-43), Neurogranin, MARCKS, Annexin V und II, ζ Protein, Caldesmon, Myo D, E12, Fructose-1,6-Bisphosphate Aldolase, Phosphoglucomutase, Twitchin Kinase, Ndr, Adenylatcyclase, Membranbindende Guanylatcyclase, Calponin	inhibiert Protein Phosphorylation, inhibiert Typ III Intermediärfilamente und Mikrotubuliansammlungen, reguliert Zellzyklus Progression wahrscheinlich via Interaktion mit Transkriptionsfaktoren, blockiert Caldesmon und Calponin abhängige Actinomyosin ATPase Aktivität, inhibiert die Expression von fetalem Protein (α-Aktin und β-Myosin) in gestreiften Muskelzellen, stimuliert Aldolase, Phosphoglucomutase, Ndr-Kinase, Adenylatcyclase, Guanylatecyclase Aktivitäten, bei Freisetzung Stimulation von Neuritenwachstum und Astrozytenproliferation durch verstärkten Ca ²⁺ Einstrom (bei nM Konzentrationen) oder ist toxisch für Neurone und Astrozyten (bei μM Konzentrationen), beteiligt in der Pathophysiologie neurodegenerativer Störungen und Erinnerungsprozessen, inhibiert zytotoxische Lymphozytenproliferation und IFN-γ-Sekretion
S- 100P Calbindin 3		puffert zytosolisches Ca ²⁺

Profilagrin	Keratine	reguliert laterale Assoziation von Keratin-Intermediär-Filamenten
Trychohyalin	Keratine	reguliert laterale Assoziation von Keratin-Intermediär-Filamenten
Repetin	Keratine	reguliert laterale Assoziation von Keratin-Intermediär-Filamenten

8. Tabellenverzeichnis

Tabelle 2: Kriterien der Glasgow Coma Scale (GCS)	24
Tabelle 3: Glasgow Outcome Scale (GOS) zur Beurteilung des klinischen Resultates	25
Tabelle 4: Marshall Computed Tomography Classification (MCTC)	26
Tabelle 5: Klinische Erholung (Glasgow Outcome Scale, GOS) nach Schädelhirntrauma in Relation zum neurologischen Status bei Aufnahme (Glasgow Coma Scale, GCS)	27
Tabelle 6a: Klinische Erholung (Glasgow Outcome Scale, GOS) nach Schädelhirntrauma in Relation zum CT-Befund bei Aufnahme (Marshall Computed Tomographic Classification, MCTC)	29
Tabelle 6b: Klinische Erholung (Glasgow Outcome Scale, GOS) in drei Schweregrade eingeteilt nach Schädelhirntrauma in Relation zum CT-Befund bei Aufnahme (Marshall Computed Tomographic Classification, MCTC)	30
Tabelle 7: Untersuchungsbefunde der Patienten mit diffuser Hirnschädigung in Korrelation zum klinischen Ergebnis	36
Tabelle 8: Untersuchungsbefunde der Patienten mit intrakranieller Raumforderung in Korrelation zum klinischen Ergebnis	37
Tabelle 1: Mitglieder der S-100 Protein-Familie, ihre Zielproteine und angenommene Funktion (21)	62

9. Abbildungsverzeichnis

Abb.1: S-100B Plasmaspiegel bei Patienten mit Schädelhirntrauma und gesunden Kontrollen im Verhältnis zur klinischen Erholung (Glasgow Outcome Scale, GOS) 33

Abb.2: GFAP- Serumspiegel bei Patienten mit Schädelhirntrauma und gesunden Kontrollen im Verhältnis zur klinischen Erholung (Glasgow Outcome Scale, GOS) 34

10. Danksagung

Priv. Doz. Dr. med. Ulrich Missler für die Überlassung des Themas und die Übernahme des Referates sowie die geduldige und kompetente Unterstützung

Priv. Doz. Dr. med. Martin Wiesmann für die geduldige und unterstützende Betreuung und Förderung der Arbeit

Dem gesamten Team des Klinischen Labors der Medizinischen Klinik I des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck für die gute Zusammenarbeit und bereitwillige Hilfe

Dem Team der Schwestern und Pfleger sowie den Ärzten der Klinik für Neurochirurgie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck für die Unterstützung

Allen Patienten und Kontrollpersonen für die bereitwillige Teilnahme an dieser Studie

Meiner Familie für das immer dargebrachte Verständnis

11. Lebenslauf

Name: Elke Steinmeier
geb. 31. März 1974 Braunschweig

Adresse: Brinkstr. 33
17489 Greifswald

Familie: Wilhelm Steinmeier, Landwirt
Rosemarie Steinmeier, Fremdsprachensekretärin/
Hausfrau
Susanne Steinmeier, Sonderschulpädagogin
Ulrich Steinmeier, Landwirt

Schule: 1980-84 Grundschule Jerxheim
1984-86 Orientierungsstufe Eichendorfschule
1986-93 Gymnasium Anna- Sophianeum,
mit Abschluss der Allgemeinen Hochschulreife
7-9/1993 Au-pair in Washington D.C., USA

Studium: 1994-2001 Studium an der Medizinischen Universität
zu Lübeck mit Abschluss des Studiums mit dem 3.
Staatsexamen

Ärztliche Tätigkeit: 6/01- 11/02 Ärztin im Praktikum (ÄiP) an der HNO-Klinik
der Universität zu Lübeck, Leitung Prof. Dr. Dr. H.
Weerda und unter kommissarischer Leitung Prof. Dr. S.
Remmert
Seit 01.01.2003 Assistenzärztin in der HNO-Klinik der
Ernst-Moritz-Arndt Universität Greifswald, Leitung Prof.
Dr. W. Hosemann