

SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET

Ivan Kraljević, dr. med

**ULOGA SERUMSKIH BIOMARKERA UCH-L1 I GFAP KAO
KOMPLEMENT RADIOLOŠKIM METODAMA U DIJAGNOSTICI
AKUTNOG ISHEMIJSKOG MOŽDANOG UDARA**

Doktorski rad

U Splitu, 2026. godine

SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET

Ivan Kraljević, dr. med.

**ULOGA SERUMSKIH BIOMARKERA UCH-L1 I GFAP KAO
KOMPLEMENT RADIOLOŠKIM METODAMA U DIJAGNOSTICI
AKUTNOG ISHEMIJSKOG MOŽDANOG UDARA**

Doktorski rad

Akadska godina: 2025./2026.

Mentor:

izv. prof. dr. sc. Sanja Lovrić Kojundžić, dr. med.

U Splitu, 2026. godine

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Moždani udar	2
1.2. Ishemijski moždani udar.....	3
1.3. Dijagnoza moždanog udara	7
1.3.1. Biomarkeri moždanog udara	8
1.3.2. Radiološka dijagnostika moždanog udara.....	11
1.4. Terapija ishemijskog moždanog udara.....	14
2. PROBLEMATIKA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA	17
2.1. Problematika istraživanja	18
2.2. Ciljevi rada.....	18
3. HIPOTEZE	20
4. ISPITANICI I POSTUPCI.....	22
4.1. Dizajn studije i ispitanici	23
4.2. Prikupljanje i obrada uzoraka krvi	24
4.3. Radiološki slikovni podaci i analiza	24
4.4. Statistička raščlamba	27
4.5. Etička načela	28
5. REZULTATI	29
6. RASPRAVA.....	38
7. ZAKLJUČCI	47
8. LITERATURA	49
9. SAŽETAK.....	61
10. LAIČKI SAŽETAK NA HRVATSKOM JEZIKU	63
11. SAŽETAK NA ENGLESKOM JEZIKU	65
12. LAIČKI SAŽETAK NA ENGLESKOM JEZIKU.....	67
13. ŽIVOTOPIS.....	69
14. DODATAK	72
Prilog 1. Odobrenje Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra Split	73
Prilog 2. Dopuna odobrenja Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra Split	74

POPIS OZNAKA I KRATICA

MU	- moždani udar
IMU	- ishemijski moždani udar
HMU	- hemoragijski moždani udar
TIA	- tranzitorna ishemijska ataka
EVT	- endovaskularna terapija
IVT	- intravenska tromboliza
MT	- mehanička trombektomija
TOAST	- kliničko ispitivanje Org 10172 u akutnom moždanom udaru (<i>eng. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment</i>)
LVO	- okluzija velike krvne žile (<i>eng. large vessel occlusion</i>)
SVO	- okluzija male krvne žile (<i>eng. small vessel occlusion</i>)
ICA	- unutarnja karotidna arterija (<i>eng. internal carotid artery</i>)
ACA	- prednja moždana arterija (<i>eng. anterior cerebral artery</i>)
MCA	- srednja moždana arterija (<i>eng. middle cerebral artery</i>)
BA	- bazilarna arterija
VA	- vertebralna arterija
PICA	- stražnja donja cerebelarna arterija (<i>eng. posterior inferior cerebellar artery</i>)
AICA	- prednja donja cerebelarna arterija (<i>eng. anterior inferior cerebellar artery</i>)
SCA	- gornja cerebelarna arterija (<i>eng. superior cerebellar artery</i>)
PCA	- stražnja moždana arterija (<i>eng. posterior cerebral artery</i>)
NIHSS	- ljestvica moždanog udara Nacionalnog instituta za zdravlje (<i>eng. National Institutes of Health Stroke Scale</i>)
mRS	- prilagođena Rankinova ljestvica (<i>eng. modified Rankin Scale</i>)
DM	- diabetes mellitus
S100B	- serumski kalcij vezujući protein
NSE	- neuron specifična enolaza

GFAP	- glijalni fibrilarni kiseli protein (<i>eng. glial fibrillary acidic protein</i>)
UCH- L1	- ubikvitin karboksi terminalna hidrolaza L1 (<i>eng. ubiquitin carboxy terminal hydrolase L1</i>)
MR	- magnetska rezonancija
DWI	- difuzijsko snimanje (<i>eng. diffusion weighted imaging</i>)
CT	- kompjuterizirana tomografija (<i>eng. computed tomography</i>)
HAS	- znak hiperdenzne arterije (<i>eng. hyperdense artery sign</i>)
CTA	- kompjuterizirana tomografijska angiografija (<i>eng. computed tomography angiography</i>)
CBS	- razina opterećenja ugruškom (<i>eng. clot burden score</i>)
CS	- razina kolateralna (<i>eng. collateral score</i>)
CTP	- kompjuterizirana tomografijska perfuzija (<i>eng. computed tomography perfusion</i>)
CBV	- volumen krvi mozga (<i>eng. cerebral blood volume</i>)
CBF	- protok krvi kroz mozak (<i>eng. cerebral blood flow</i>)
MTT	- srednje vrijeme prolaska (<i>eng. mean transit time</i>)
TTD	- vrijeme otplavlivanja krvi (<i>eng. time to drain</i>)
WUS	- moždani udar pri buđenju (<i>eng. wake up stroke</i>)
mTICI	- ljestvica modificiranog liječenja cerebralnog infarkta (<i>eng. modified treatment in cerebral infarction</i>)
CSC	- sekundarni centar za moždani udar (<i>eng. comprehensive stroke center</i>)
KBC	- klinički bolnički centar
BIS	- bolnički informatički sustav
VOI	- volumen regije interesa (<i>eng. volume of interest</i>)
ROI	- regija interesa (<i>eng. region of interest</i>)
GM	- geometrijska sredina (<i>eng. geometric mean</i>)
GSDM	- geometrijski faktor standardne devijacije (<i>eng. geometric standard deviation factor</i>)
PV	- protrombinsko vrijeme

Prije svega zahvaljujem svojoj mentorici na strpljenju, vodstvu i prijateljstvu od prvog dana, kako u svakodnevnom radu na odjelu, u osobnim poteškoćama, tako i u akademskim uspjesima koje smo zajedno dijelili. Bez njezine predanosti, ovaj put bi bio mnogo duži i teži.

Hvala i svim prijateljima koji bili uz mene cijelim putem, slušali moje žalopojke o svim problemima, ali unatoč tome me uporno usmjeravali ka završetku ovog mukotrpnog rada.

Također hvala mojoj obitelji, posebice Kreši, na vječnoj potpori.

Hvala svima.

1.1. Moždani udar

Moždani udar (MU) je širok pojam koji se općenito definira kao stanje u kojem je oslabljen protok krvi u jedan dio mozga [1]. Točnija definicija pojma bi opisala MU kao neurološki deficit cerebrovaskularnog uzroka koji traje dulje od 24 sata ili je prekinut smrću unutar 24 sata [2]. S obzirom na uzrok nastanka, MU možemo podijeliti na ishemijski moždani udar (IMU) kod kojeg dolazi do smanjenog dotoka krvi u određenu moždanu regiju zbog začepljenja krvne žile i na hemoragijski moždani udar (HMU) kod kojeg dolazi do rupture krvne žile te se krv nakuplja u međustaničnim prostorima gdje nije moguća razmjena kisika iz krvi sa stanicama [3]. Ranije navedena vremenska granica od 24 sata dijeli općenito MU od tranzitorne ishemijske atake (TIA) koja predstavlja sličan skup simptoma koji se potpuno povlače unutar 24 sata te nije potrebna terapija [4]. Oboje se može prezentirati vrlo šarolikom simptomatologijom, ovisno o zahvaćenoj regiji mozga zaduženoj za određenu funkciju - pad usnog kuta, nemogućnost hodanja ili kretanja, gubitak osjećaja na jednoj strani tijela, problemi s razumijevanjem ili govorom, vrtoglavica ili gubitak vida [5]. U manjem broju slučajeva se MU, odnosno HMU, može prezentirati gubitkom svijesti, glavoboljom i povraćanjem [6].

Međutim, ponekad je prezentacija simptoma nejasna ili se pojedini simptomi preklapaju ovisno o zahvaćaju više od jedne regije mozga ili se pak simptomi javljaju naizmjenično. Stoga prepoznavanje MU ne mora uvijek biti jednostavno, a time se produljuje vrijeme do primjene moguće terapije i, u konačnici, dovodi do povećanja stope mortaliteta i morbiditeta. Moždani udar i dalje predstavlja drugi vodeći uzrok smrti u svijetu i jedan je od glavnih uzroka invalidnosti [3]. Najbolji način javnozdravstvenog djelovanja je edukacija populacije o rizičnim čimbenicima i njihova prevencija. Glavni rizični čimbenik je visoki krvni tlak koji sam po sebi predstavlja poseban medicinski izazov, dok ostali čimbenici uključuju visoke razine kolesterola u krvi, pušenje duhana, pretilost, dijabetes melitus, terminalnu bubrežnu bolest i fibrilaciju atrijsa [7]. Svaki navedeni parametar ima svoj način kontroliranja, a većinom se radi o kombinaciji lijekova i promjena životnih navika na koje ljudi često nisu spremni. Ako prevencija zakaže, postoje metode liječenja koje se mogu pravovremeno primijeniti kako bi se umanjile posljedice MU. Iako se simptomi IMU i HMU mogu preklapati, potrebno je klinički diferencirati ova dva entiteta zbog značajno različitih mogućnosti liječenja. Važno je istaknuti da kod IMU imamo ograničeni vremenski prozor za primjenu endovaskularne terapije (EVT), koja uključuje intravensku trombolizu (IVT) primjenjivu unutar 4,5 sata od nastanka simptoma, ili mehaničku trombektomiju (MT) unutar 6 do 24 sata ovisno od zahvaćenoj krvnoj žili [8-10].

1.2. Ishemijski moždani udar

Ishemijski moždani udar se mnogo češće javlja od HMU, u približnom omjeru od 9:1 [11]. Nastaje zbog zastoja u protoku krvi kroz krvnu žilu te nedostatka kisika, odnosno ishemije u opskrbnom području pripadajuće krvne žile mozga. Posljedično dolazi do aktivacije ishemijske kaskade - moždane stanice prelaze na anaerobni metabolizam, aktivno se troši glukoza koja se ne može nadomjestiti i ne stvaraju se visoko energetski fosfatni spojevi poput adenozin trifosfata (ATP) nužnih za normalno funkcioniranje stanice i membranske ionske pumpe. Prestanak rada ionske pumpe dovodi do disbalansa elektrolita unutar stanice, dolazi do gubitka kalijevih iona u zamjenu za natrijeve, kloridne i kalcijeve. Povećane razine natrijevih iona unutar stanice uzrokuju nakupljanje vode što dovodi do citotoksičnog edema. Ishemijske promjene također dovode do oslobađanja ekscitacijskih neurotransmitera glutamata i aspartata. Nekontrolirano oslobađanje glutamata pospješuje ekscitotoksični sinaptički prijenos putem aktivacije N-metil-D-aspartatnih (NMDA), amino-3-hidroksi-5-metil-4-propionatnih (AMPA) ili kainitnih receptora što dodatno omogućuje dotok natrijevih i kalcijevih iona. To ima poguban učinak na neuronsku membranu, kao i samu stanicu zbog navlačenja još veće količine vode i izraženijeg edema, korištenje već iscrpljenog ATP-a u održavanju ravnoteže kalcija te uzrokuje poremećenu aktivaciju brojnih enzimskih sustava (proteaze, lipaze i nukleaze) čiji metabolički produkti, poput slobodnih radikala kisika, oštećuju stanične membrane, genetski materijal i strukturne proteine u neuronima. Svi navedeni mehanizmi u konačnici dovode do jedinstvenog cilja - nekroze ili apoptoze stanice [12-14].

Brzina razvoja oštećenja i količina zahvaćenih stanica ovisi o vrsti stanice koja je aficirana. Glijalne stanice su mnogo brojnije, ali i otpornije na ishemiju dok su neuroni vrlo osjetljivi zbog potrebe za preciznim ionskim gradijentima svoje membrane za prijenos impulsa [12]. Tako se procjenjuje da svakom minutom ishemije dolazi do uništenja 1,9 milijuna neurona, 14 milijardi sinapsi i 12 km mijeliniziranih vlakana [15]. Međutim, organizam posjeduje određene zaštitne mehanizme kako bi pokušao minimalizirati ili usporiti potencijalnu štetu. Pri tome je najznačajnija kolateralna mreža okolnih krvnih žila koje rubno opskrbljuju zahvaćeno ishemijsko područje. Tako se ishemija dijeli na dvije regije - jezgru infarkta koja označava centralne, nepovratno oštećene stanice opskrbljene isključivo začepljenom krvnom žilom, i zonu penumbre koja označava područje sa smanjenim dotokom kisika iz okolnih kolateralnih u kojem se nalaze stanice koje se još uvijek mogu spasiti [16]. Upravo je zona penumbre glavni cilj terapijskih postupaka.

Za odabir terapijskog postupka potrebno je poznavati moguće uzroke i etiopatogenezu nastanka ishemije. U tu svrhu je nastala jedna od najčešće klinički korištenih klasifikacija „Kliničko

ispitivanje Org 10172 u akutnom moždanom udaru“ (*eng. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment, TOAST*) koja dijeli uzroke u pet skupina: ateroskleroza velike krvne žile, kardioembolija, okluzija male krvne žile, IMU kao posljedica drugih uzroka te IMU nepoznatog uzroka [17]. Za posljednje dvije navedene skupine nije moguća ciljana akutna primjena terapije zbog nepoznatog, odnosno nerazjašnjenog uzroka. Ipak, i dalje je nužno postavljanje njihove dijagnoze zbog potrage za podležućim stanjem te mogućom prevencijom ponovljenih ishemijskih incidenata, kako u mozgu, tako i u drugim organima. Dok su ateroskleroza velike krvne žile i okluzija male krvne žile po samom imenu značajno različite, kardioembolija kao uzrok, ovisno o veličini ugruška, može zatvoriti i veliku i malu krvnu žilu. S obzirom na razvoj ciljane endovaskularne terapije od velikog je značaja točna definicija lokacije ugruška, odnosno veličine okludirane krvne žile i posljedičan volumen moždanog parenhima u ishemiji. U tu svrhu postoji pojednostavljena podjela uzroka IMU na okluziju velike krvne žile (*eng. large vessel occlusion, LVO*) i okluziju male krvne žile (*eng. small vessel occlusion, SVO*).

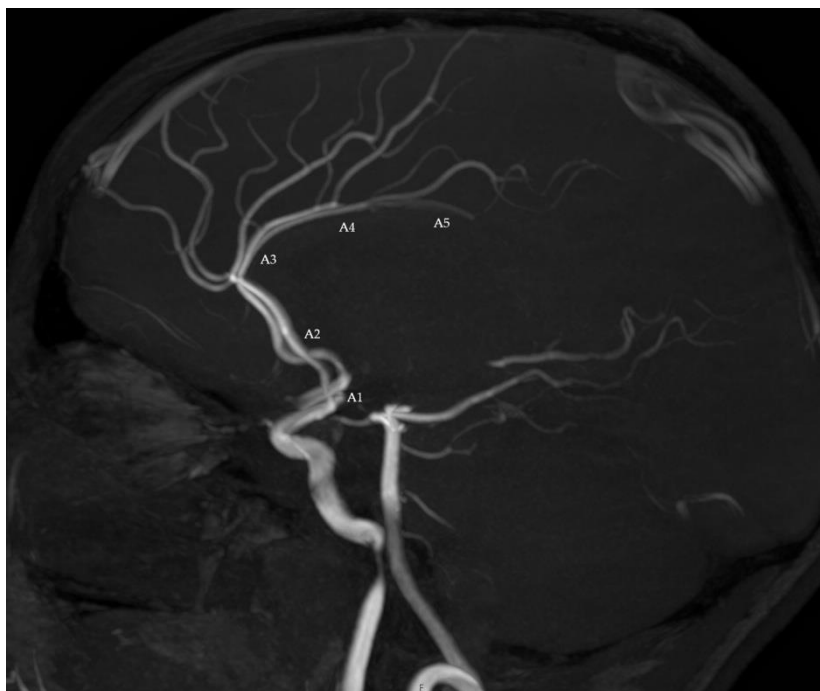
Iako u literaturi ne postoji standardizirana definicija LVO, odnosno što se smatra velikom, a što malom krvnom žilom, anatomske i kliničke se dogovorno uzimaju određeni segmenti intrakranijalnih arterija. Intrakranijalni segment unutarnje karotidne arterije (*eng. internal carotid artery, ICA*), proksimalni segment prednje moždane arterije (*eng. anterior cerebral artery, ACA*), proksimalni segment srednje moždane arterije (*eng. middle cerebral artery, MCA*), bazilarna arterija (BA) ili kombinacija navedenih, smatraju se velikim krvnim žilama jer opskrbljuju velika, klinički značajna područja te njihova okluzija dovodi do katastrofalnih posljedica [18].

Za točniju definiciju lokacije ugruška unutar opisivanih arterija te razdiobu okluzije velike i male krvne žile, svaka arterija se anatomske i radiološke dijeli na numerirane segmente. Tako se ICA dijeli na 7 segmenata; C1 vratni segment, C2 petrozni segment, C3 segment foramina lacerum, C4 kavernozni segment, C5 klinoidni segment, C6 oftalmički segment te C7 terminalni segment od kojih se samo C1 segment nalazi ekstrakranijalno (Slika 1) [19]. Na sličan način se ACA dijeli na 5 segmenata; A1 prekomunikantni segment, A2, postkomunikantni ili infrakalozalni segment, A3 prekalozalni segment, A4 suprakalozalni segment te A5 postkalozalni segment (Slika 2) [20-22]. Samo se okluzija u A1 segmentu smatra LVO [18]. Podjela MCA dijeli arteriju na 4 segmenta; M1 sfenoidalni segment, M2 inzularni segment, M3 operkularni segment te M4 kortikalni segment (Slika 3) [23]. U slučaju ACM koja opskrbljuje najveći dio moždane hemisfere, okluzija u M1 i početnom dijelu M2 segmenta se smatra LVO. Kao iznimku treba izdvojiti BA koja se ne dijeli na segmente. Okluzija u bilo kojem dijelu može dovesti do fatalnih ishoda zbog prestanka irigacije moždanog debla koje je ključno za održavanje vitalnih funkcija. U tom smislu podjela na segmente

gubi kliničku svrhu. Osim navedenih segmenata, ugrušak se može pozicionirati na račvištu pojedinih arterija ili s vremenom propagirati iz jedne u drugu krvnu žilu te se takve kombinacije također smatraju LVO. Najčešće kombinacije su T-okluzija gdje se ugrušak nalazi na bifurkaciji ICA (C7 segment) sa širenjem u A1 i M1 segmente tvoreći oblik slova T, te tandem okluzija gdje se u C1 segmentu ICA nalazi subtotalna ili totalna stenoza s istovremenim ugruškom distalno u A1 ili M1 segmentima [18,24].



Slika 1. Segmentalna podjela unutarnje karotidne arterije prikazano na digitalnoj substrakcijskog angiografiji. (Izvor: PACS arhiva Kliničkog bolničkog centra Split, uz autorski dodane oznake segmenata C1–C7.)



Slika 2. Segmentalna podjela prednje moždane arterije prikazano na magnetnoj rezonancijskoj angiografiji. (Izvor: PACS arhiva Kliničkog bolničkog centra Split, uz autorski dodane oznake segmenata A1–A5.)



Slika 3. Segmentalna podjela srednje moždane arterije prikazano na magnetnoj rezonancijskoj angiografiji. (Izvor: PACS arhiva Kliničkog bolničkog centra Split, uz autorski dodane oznake segmenata M1–M4.)

S druge strane, SVO uključuje sve distalnije segmente gore navedenih krvnih žila uz distalne ogranke vertebralnih arterija (VA) i BA poput stražnje donje cerebelarne arterije (*eng. posterior inferior cerebellar artery, PICA*), prednje donje cerebelarne arterije (*eng. anterior inferior cerebellar artery, AICA*), gornje cerebelarne arterije (*eng. superior cerebellar artery, SCA*) te stražnje moždane arterije (*eng. posterior cerebral artery, PCA*). Distinkcija pojmova LVO i SVO je od izrazite kliničke važnosti zbog različitih mogućnosti i pristupa terapiji. Za obje skupine je IVT moguća terapija koja sa sobom nosi rizike i nuspojave, dok samo za LVO postoji mogućnost MT [25]. Kako bi se mogla odrediti adekvatna terapija, potrebno je postaviti točnu i nedvojbenu dijagnozu.

1.3. Dijagnoza moždanog udara

Svaki MU se početno prezentira jednim od ranije navedenih simptoma. U samom nastanku simptomi mogu biti nejasni ili odbačeni kao prolazna smetnja. Zbog potrebe za što ranijom primjenom terapije, potrebno je i pravovremeno postavljanje dijagnoze. Stoga je svaki korak u cijelom nizu postupaka jednako važan. Prvi korak je jasno prepoznavanje znakova MU od strane pacijenta ili bliskih osoba. Kako bi se ubrzao prvi korak, kroz razne javnozdravstvene akcije se pokušava podići razina svijesti opće populacije u vidu prepoznavanja simptoma i mogućnosti žurnog reagiranja. Jedan od već uspostavljenih jednostavnih metoda je korištenje akronima i mnemotehnike za jednostavno upamćivanje osnovnih simptoma. Tako se u svijetu već duže vrijeme koristi kratica F.A.S.T. (*eng. fast* = brzo) dok se u Hrvatskoj u novije vrijeme koristi kratica G.R.O.M. gdje svako slovo označava jedan pojam [26,27]. G za govor kod nejasnog govora, R za ruku kod slabosti ruke, O za oduzetost kod oduzetosti strane lica te M za minute u vidu potrebe za žurnom reakcijom.

Ako pacijent samostalno pravovremeno reagira, potrebno mu je što žurnije pružiti adekvatnu liječničku pomoć. Ona započinje uzimanjem anamneze i kliničkim, odnosno neurološkim pregledom kako bi se odredili točni simptomi, njihovo vrijeme nastanka i izraženost, te procjena radi li se uopće o mogućem MU ili jednom od brojnih drugih neuroloških stanja koja se mogu ispoljiti na sličan način. Jedan od načina za objektivizirati i kvantificirati težinu kliničkog stanja pacijenta je korištenje „Ljestvice moždanog udara Nacionalnog instituta za zdravlje“ (*eng. National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS*) [28]. Navedena ljestvica obuhvaća 11 različitih neuroloških parametara s pridruženim simptomima; stupanj stanja svijesti, horizontalni ekstraokularni pokreti, vidno polje, paraliza lica, motorika ruke, motorika noge, ataksija, osjet,

afazija, dizartrija te zanemarivanje (*eng. „neglect“*). Svakom simptomu se pridodaje vrijednost od 0 do 2, 3 ili 4, ovisno o parametru, te se zbrajaju do maksimalnog ukupnog broja od 42. Prema ukupnom zbroju bodova se određuje težina kliničke slike. Pacijenti s NIHSS zbrojem od 1-4 spadaju u skupinu blagog MU, zbrojem od 5-15 u skupinu umjerenog MU, zbrojem od 16-20 u skupinu umjerenog do teškog MU te zbrojem od 21-42 u skupinu teškog MU.

Osim navedenog se često koristi i prilagođena Rankinova ljestvica (*eng. modified Rankin Scale - mRS*) [29]. Za razliku od NIHSS bodovanja koje je fokusirano na težinu simptoma u datom trenutku, mRS se koristi kao klinička mjera stupnja invaliditeta, odnosno mjera stupnja ovisnosti u odrađivanju svakodnevnih aktivnosti [30]. Određuje se pri prijemu pacijenta, te pri otpustu i, idealno, nakon 3 mjeseca kao pokazatelj oporavka ili pogoršanja nakon primijenjene ciljane te suportivne terapije [31]. Ljestvica ima 6, odnosno 7 stupnjeva; 0 - odsutnost simptoma, 1 - nema značajnog invaliditeta, pacijent je sposoban obavljati sve uobičajene aktivnosti, unatoč nekim simptomima, 2 - blagi invaliditet, pacijent se može brinuti o vlastitim radnjama bez pomoći, ali ne u punom opsegu kao ranije, 3 - umjereni invaliditet, pacijentu je potrebna određena pomoć, ali je sposoban hodati bez pomoći, 4 - umjereno teški invaliditet, pacijent nije u stanju brinuti se o vlastitim tjelesnim potrebama, kao ni hodati bez pomoći, 5 - teški invaliditet, pacijent je vezan za krevet, inkontinentan, zahtijeva stalnu medicinsku njegu, 6 - smrt [29].

Uz klinički pregled i navedene ljestvice kvantificiranja težine MU i invaliditeta svakom pacijentu se radi analiza krvi koja također pomaže pri određivanju konačne dijagnoze. Uz samu krvnu sliku određuju se razni laboratorijski parametri u serumu poput glukoze ili elektrolita čiji disbalans može uzrokovati kliničku sliku MU-a [32,33]. Međutim, svi parametri koji se redovno analiziraju iz krvi su odraz generalnog stanja organizma te na temelju njihovih vrijednosti nije moguće precizno odrediti uzrok neuroloških simptoma. Stoga je cilj brojnih istraživanja odrediti specifične metabolite čije bi vrijednosti nedvojbeno ukazivale na jednu dijagnozu. Takve metabolite nazivamo biomarkerima.

1.3.1. Biomarkeri moždanog udara

Pojam biomarkera u svom najširem značenju označava neki objektivni pokazatelj medicinskog stanja koji je opažen izvan pacijenta te se može točno i ponovljivo mjeriti. Definicija biomarkera dijelom se preklapa s pojmom medicinskog znaka koji također označava objektivni pokazatelj, ali nekada ne mora biti točno i precizno mjerljiv te može varirati između osoba koje opažaju, tj. testiraju - npr. puls ili krvni tlak. Međutim, biomarker treba označavati točno

kvantificiranu veličinu koja se uvijek može ponoviti i provjeriti. Nasuprot tome stoji pojam simptoma koji označava subjektivni doživljaj osobe, odnosno pacijenta te ga je teško kvantificirati, mjeriti i reproducirati [34].

Kako bi se što više nadvladao subjektivni doživljaj same bolesti, ubrzala dijagnostika te time olakšalo liječenje, ljudi su još od davnina tražili specifične biomarkere za razna stanja. Jedno od glavnih interesnih područja je bila krv. Iz nje je moguće analizirati bazične metabolite od aminokiselina i šećera koji mogu dati uvid u osnovne funkcije tijela, do specifičnih složenih spojeva poput određenih hormona koji daju detaljan uvid u funkciju određenog organa, odnosno žlijezde. Tako su neke pretrage već postale dio rutinskih laboratorijskih pretraga. Funkciju štitnjače analiziramo razinom tiroidnog stimulirajućeg hormona (TSH) kojeg luči hipofiza po mehanizmu negativne povratne sprege i posljedično regulira tiroidne hormone u krvi [35]. Glikozilirani hemoglobin ili ukratko HbA1c je pokazatelj prosječne vrijednosti glukoze u krvi u posljednja 3 mjeseca te je dobar indikator dugoročne kontrole diabetesa mellitusa (DM) u pacijenta [36]. Nadalje razinu hiperfunkcije, hipertrofije, ili pak maligniteta prostate možemo vidjeti kroz aktivnost prostate-specifičnog antigena (PSA) čije povišene vrijednosti mogu biti alarmantne te je potrebna ciljana daljnja obrada [37]. Svi navedeni primjeri su od iznimne važnosti za dugoročnu regulaciju zdravlja jer su odraz dugotrajnih procesa u tijelu koji zahtijevaju redovite kontrole i regulaciju.

Međutim, osim kod kroničnih stanja ili kao metoda probira za karcinome, specifični biomarkeri su pronašli svoju korisnost i kod akutnih hitnih stanja. Štoviše, kada je riječ o stanjima gdje svaka minuta znači potencijalnu životnu ugrozu, njihova uloga je još važnija kako bi se nedvojbeno postavila točna dijagnoza i pristupilo pravovremenom primjerenom liječenju. Jedan od najboljih primjera koji se redovno koristi u svakodnevnoj praksi je troponin. Troponin, sa svojim podvrstama troponin C, troponin I, i troponin T, čini proteinski kompleks koji se nalazi u poprečno-prugastim i srčanim mišićima, od kojih se podvrste T i I nalaze samo u srčanom mišiću [38]. Kod ishemijske ozljede u akutnom koronarnom sindromu (AKS) dolazi do povišenja razina navedenih proteina u krvi koje se mogu registrirati sada redovitim laboratorijskim pretragama [39]. Štoviše, s vremenom su razvijeni brzi-troponin testovi koji omogućuju brzu i jednostavnu analizu specifično troponina I u vanlaboratorijskim uvjetima što značajno olakšava situaciju postavljanja dijagnoze na terenu, izvan bolnice [40].

Želja za sličnim specifičnim biomarkerima i brzim testovima potiče istraživanja i u drugim hitnim stanjima osim AKS-a. Tako se kod MU-a traga za proteinima, odnosno metabolitima koji se otpuste se u krv u mjerljivoj razini, a nalaze se samo u neuronima ili glijalnim stanicama koje se oštete kod ishemije. Brojna istraživanja su iznjedrila nekoliko spojeva s visokim potencijalom za

konkretnu kliničku aplikaciju. Serumski kalcij-vezujući protein (S100B), mijelinski bazični protein (MBP), neuron-specifična enolaza (NSE), anti-N-metil-D-aspartat (anti-NMDA) receptorska antitijela su samo od nekih detaljnije istraživanih biomarkera, bilo u svrhu razlikovanja MU od TIA-e i drugih sličnih stanja, bilo kod razlikovanja IMU od HMU [41]. Međutim, svi navedeni su pokazali ili slabu senzitivnosti ili slabu specifičnost za kliničku aplikaciju [42].

S druge strane, dva biomarkera specifična za moždano tkivo, glijalni fibrilarni kiseli protein (*eng. glial fibrillary acidic protein*, GFAP) i ubikvitin karboksi-terminalna hidrolaza L1 (*eng. ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1*, UCH-L1) su u kombinaciji pokazala dovoljnu senzitivnost i specifičnost za primjenu i izvan teoretskih okvira. Međutim, trenutačno se koriste samo kao markeri u slučajevima akutne traume kao pokazatelj opsežnosti oštećenja [43]. S obzirom na dokazanu dijagnostičku vrijednost navedenih biomarkera kod akutne moždane traume, postavila se sumnja na moguću upotrebu istih i u slučaju MU-a. Iako je mehanizam nastanka znatno različit u ovim kliničkim stanjima, patofiziološki mehanizam uništenja moždanih stanica, tj. sama posljedica je vrlo slična. UCH-L1 je protein koji se nalazi primarno u neuronima i neuroendokrinim stanicama. U mozgu čini otprilike 1-5% svih moždanih proteina te su mu glavne funkcije održavanje integriteta aksona i održavanje mehanizama samoobnavljanja stanice [44]. U vrlo malim tragovima se može pronaći u drugim tkivima, dok mu se ekspresija može povećati čak i u nekim malignim stanicama koje potječu od tkiva koje ga inače ne sadrže kao kod karcinoma gušterače, dojke ili kolona [45-47]. Za razliku od UCH-L1, GFAP je protein koji se prvenstveno nalazi u astrocitima [48]. Astroцити su potporne stanice moždanog tkiva zadužene za održavanje koncentracije izvanstaničnih iona i neurotransmitera, modulaciju funkcije sinapsi i stvaranje krvno-moždane barijere. Kod oštećenja moždanog tkiva, astroцити reagiraju procesom glioze koja označava proliferaciju dodatnih astrocita, manju ili veću hipertrofiju istih te, u konačnici, stvaranja glijalnog ožiljka [49]. U procesu glioze dolazi do brze sinteze i značajne ekspresije GFAP-a dok su koncentracije u krvi kod zdravih osoba vrlo niske s obzirom na to da se ne oslobađa u fiziološkim uvjetima [48].

Bazirano na činjenici da su navedeni proteini specifični za moždano tkivo te da se dokazano oslobađaju kod oštećenja istog, provedena su brojna istraživanja o GFAP-u, te u mnogo manjoj mjeri i UCH-L1 kod pacijenata s MU-om. Tako se pokazalo kako razine oba biomarkera mogu jasno razlikovati MU od zdrave populacije [50]. Također je dokazano kako povišene razine GFAP-a u ranom periodu nastanka simptoma mogu razgraničiti HMU od IMU-a što je od ključne važnosti kod terapijskog pristupa zbog različitih metoda liječenja [51]. Iako istraživanja pokazuju obećavajuće rezultate, i dalje svakodnevna klinička primjena ovih biomarkera nije moguća. Za sada

jedina definitivna mogućnost dokazivanja MU-a, odnosno HMU-a i IMU-a leži u radiološkoj dijagnostici.

1.3.2. Radiološka dijagnostika moždanog udara

Kada je riječ o radiološkoj dijagnostici onda govorimo o svim metodama oslikavanja tijela s mogućnošću prikaza unutarnjih struktura ili organa. Pored samog slikovnog prikaza, potrebno je analizirati podatke te ih postaviti u klinički kontekst.

Najnovija tehnika se zasniva na principu magnetske rezonancije (MR) vodikovih atoma unutar stanica. To označava ekscitaciju vodikovih atoma pri postavljanju u jako magnetsko polje koji se potom ubacuju i izbacuju iz faze koristeći različite radiofrekventne valove. Različite dobivene frekvencije atoma pri ponovnoj ekscitaciji označavaju količinu atoma vodika u određenom području, tj. tkivu ili organu. S obzirom na to da se vodik najvećim dijelom unutar tijela nalazi u molekulama vode, ovom metodom dobivamo „vodu mapu“ organa [52]. Princip analize dobivenih slika se temelji na različitoj količini vode unutar tkiva u odnosu na zdravo, te usporedba razlike između to dvoje. Tako će kod edema tkiva količina vode biti znatno povećana, a difuzija molekula zbog njihovog povećanog broja, ograničena. Ovisno o različitoj registraciji frekvencija atoma pri ekscitaciji i precipitaciji, odnosno vremenu relaksacije, dobivamo različite sekvence za analizu navedenih fenomena. Tako nam je u slučaju akutnog, ili čak hiperakutnog IMU-a najkorisnija sekvenca za mjerenje difuzija (*eng. diffusion weighted imaging*, DWI) koja pokazuje promjene već kroz prvih 30 minuta od nastanka simptoma [53]. Međutim, upotreba ove tehnologije za koju je potrebna skupa oprema ograničena je samo na specijalizirane bolnice s dežurnim neuroradiolozima. Nadalje, vrijeme snimanja je znatno duže u odnosu na druge modalitete što je pogubno iz više razloga. Prvo, pacijenti sa simptomima IMU-a su nerijetko agitirani i nemirni što zbog duljeg vremena snimanja stvara artefakte te time znatno otežava analizu dobivenih snimki. Drugo, sama duljina trajanja snimanja u suprotnosti je s temeljnim načelom liječenja „vrijeme je mozak“, prema kojem se sa svakom proteklom minutom gubi dio moždanog parenhima koji se potencijalno mogao spasiti.

Najčešće korištena tehnika, ujedno i temelj radiologije, je korištenje rendgenskih ili X zraka. Ona se bazira na principu prolaska X zraka kroz tijelo. Kako je tijelo sastavljeno od različitih organa koji su različite gustoće tako se X zrake pri prolasku kroz njih drugačije apsorbiraju. Dio zraka se apsorbira u tijelu dok dio prolazi kroz tijelo do detektora. Na kraju na detektoru dobijemo sliku koja predstavlja različite razine apsorpcije X zraka u skeniranom dijelu tijela [54]. U početku

smo na ovaj način mogli dobiti samo jednu rendgensku sliku, ili uzastopnim slikavanjem pod različitim kutevima, više slojeva, tj. tomogram. Razvojem kompjuterske tehnologije, kao i boljim detektorima, nastala je kompjuterizirana tomografija (*eng. computed tomography*, CT) koja je omogućila skeniranje dijela tijela tijekom nekoliko sekunda, te kompjuterskom obradom dobivenih detektiranih signala, višeslojnu i multidimenzionalnu sliku na ekranu.

S obzirom na gotovo uniformnu gustoću moždanog parenhima, CT slabo razlikuje diskretne promjene određenih lezija poput akutnog IMU-a te je analiza ograničena u odnosu na MR. Međutim, glavna prednost CT-a je brza akvizicija slikovnog materijala koja može kompenzirati pacijentov nemir i posljedične artefakte, te brza analiza i dijagnostika. Nadalje, prisutnost krvi kao kod HMU-a je jasno vidljiva zbog kontrastnosti hiperdenznog prikaza krvi u odnosu na moždani parenhim [55]. S druge strane, prikaz hipodenznog areala unutar mozga upućuje na prisutnost veće količine unutarstanične ili izvanstanične tekućine što može označavati već poodmakli, subakutni moždani udar ili neku drugu etiologiju [56]. Osim navedenog, u određenom broju slučajeva kod akutnog i hiperakutnog moždanog udara, postoje znakovi koji su vidljivi na CT-u, a mogu uputiti prema točnoj dijagnozi.

Jedan od najbolje istraženih znakova je znak hiperdenzne arterije (*eng. hyperdense artery sign*, HAS), poznat kao i „znak medije“ zbog najčešćeg javljanja u MCA, iako se može vidjeti i u drugim moždanim žilama. On označava svijetli prikaz arterije (koja se inače prikazuje denzitetima kao i ostatak mozga - izodenžno) zbog prisutnosti ugruška unutar lumena žile te se javlja unutar 90 minuta od nastanka simptoma [57]. Iako se HAS javlja rano što može ubrzati dijagnozu i liječenje, istraživanja su pokazala njegovu povezanost s lošijim kliničkim ishodima [58]. Ako je HAS prisutan, moguće je izmjeriti i izračunati proširenost tromba unutar žile, tj. njegovu duljinu i volumen, te denzitete tromba. Svi ovi podaci su također pokazali svoju korisnost kod predviđanja uspješnosti terapije te oporavka pacijenta. Što je tromb dulji, veći, odnosno denzniji, to su ishodi lošiji [59,60]. Iako se HAS u određenom broju slučajeva ne javi, to ne isključuje mogućnost prisutnosti ugruška unutar arterije.

Kako bi bolje prikazali krvnu žilu, intravenski se aplicira jedno kontrastno sredstvo. Ono je gušće, tj. denznije od unutarnjih organa te je mnogo svjetlije na CT snimci [61]. Nakon što kontrastno sredstvo venskim putem dođe do srca, dalje se distribuira kroz tijelo, prvenstveno kroz arterije, zatim ponovno kroz vene, a dio kontrasta se zadržava u međustaničnom prostoru. Ovisno o vremenu snimanja, tj. vremenskom odmaku od aplikacije kontrasta dobivamo različite faze za analizu. Tako za prikaz arterija snimamo ranu fazu te snimku nazivamo CT angiografijom (CTA), dok za lakše sporazumijevanje CT snimku bez kontrasta zovemo nativnom snimkom. Na CTA

snimci nedvojbeno vidimo prisutnost tromba u vidu ispada kontrastnog punjenja dijela krvne žile gdje se on nalazi. Žila može biti u potpunosti okludirana, bez daljnjeg punjenja distalno od samog tromba, ali je moguća i rubna kanaliziranost te se žila sa svojim ograncima prikaže znatno slabije ili sporije, ili se pak irigacija distalnog parenhima zaobilazi s razvijenim kolateralnim putevima.

Na temelju navedenih varijacija razvijena su dva parametra na CTA za mjerenje okluzije i perfundiranosti parenhima kao prediktori uspješnog rezultata liječenja - razina opterećenja ugruškom (*eng. clot burden score, CBS*) i razina kolaterala (*eng. collateral score, CS*) [62,63]. U svojoj osnovi CBS kvantificira razinu okludiranosti prednje cirkulacije koja uključuje ICA, ACA i MCA. Ona se računa tako da ICA, ACA i MCA dobiju ukupno 10 bodova za prisutnost opacifikacije kontrasta te se oduzimaju bodovi za odsutnost kontrasta u određenom dijelu navedenih žila. Dva boda se oduzimaju za dio proksimalnog M1 segmenta, distalnog M1 segmenta ili supraklinoidnog ICA, a jedan bod za M2 grane, A1 segment i infraklinoidnu ICA. Rezultat od 10 označava odsutnost vidljive okluzije, dok rezultat od 0 označava okluziju svih glavnih arterija prednje cirkulacije [62]. Za razliku od CBS, CS ne mjeri razinu okludiranosti već razvijenost distalnih kortikalnih kolaterala za irigaciju hipoperfundiranog dijela mozga. Prilikom računanja CS-a koristi se ljestvica od 0 do 3. Ocjena 0 označava odsutnost kolateralne opskrbe, ocjena 1 kolateralnu cirkulaciju od 0 do 50% područja hemisfere koju irigira okludirana MCA, ocjena 2 od 50 do 100%, a ocjena 3 za 100% opskrbe kolateralnom cirkulacijom [63]. Iz navedenog proizlazi kako su niže vrijednosti CBS-a i CS-a povezane s lošijim ishodom i obrnuto.

Prilikom prolaska kontrastnog sredstva kroz krvne žile mozga, osim CTA snimke i prikaza samog mjesta okluzije, moguće je mjeriti perfundiranost parenhima te dobivamo snimku koju zovemo CT perfuzija (CTP) sa svim popratnim informacijama. U ovom se postupku daje injekcija kontrastnog sredstva te se zatim mjere promjene gustoće, odnosno denziteta tkiva s dolaskom i prolaskom krvi s kontrastom [64]. Područje bez promjene gustoće označava područje u koje ne dolazi krv s kisikom te se naziva jezgrom infarkta - nepovratno oštećeno tkivo. Okolno tkivo će pokazivati blaže promjene denziteta što označava djelomični prolazak krvi kroz okludirani dio ili pak okolnim kolateralnim putem. To područje nazivamo penumbrom i ono označava hipoperfundirani dio moždanog tkiva koji se može spasiti. Za oba područja, i jezgru infarkta i penumbro, kompjuterski se dobije izračun volumena zahvaćenog moždanog tkiva i njihov omjer koji interventni radiolozi ponekad koriste pri odluci o opravdanosti endovaskularnog liječenja [65].

Osim navedenih parametara, CTP snimka nam daje izračunate mape za volumen krvi mozga (*eng. cerebral blood volume, CBV*), protok krvi kroz mozak (*eng. cerebral blood flow, CBF*), srednje vrijeme prolaska (*eng. mean transit time, MTT*) te vrijeme otplavlivanja krvi (*eng. time-to-*

drain, TTD). Kod jezgre infarkta vidimo područje s produljenim MTT, značajno smanjenim CBF i značajno smanjenim CBV. Kod penumbre također vidimo područje s produljenim MTT, ali samo umjereno smanjen CBF te gotovo normalan ili čak povećan CBV (zbog autoregulacijske vazodilatacije) [66]. Međutim, vizualno nam mape za MTT i CBF ponekad nisu od koristi zbog velikih preklapanja između tkiva koje možemo i onoga koje ne možemo spasiti. Nadalje, u nekim situacijama može doći do iskrivljenih perfuzijskih mapa kao kod bolesnika sa slabim srčanim minutnim volumenom, atrijskom fibrilacijom ili značajnom proksimalnom arterijskom stenozom te smanjeni dotok krvi može dovesti do precijenjenog MTT-a i podcijenjenog CBF-a. Osim navedenog, ako se CTP snimi unutar 3 sata od nastanka simptoma, može nastati „prividna“ jezgra infarkta [67]. To označava precijenjen volumen i područje jezgre infarkta u odnosu na realnu veličinu same ishemije što može biti pogubno ako utječe na odluku za terapiju. Stoga je potrebno analizirati sve CTP podatke i staviti ih u kontekst vremena nastanka simptoma i zahvaćenih regija te korelirati s kliničkom slikom i ostalim dijagnostičkim testovima. Unatoč naprednim mogućnostima kompjutorskih izračuna i dalje je potrebna ljudska pronicljivost za detaljnu analizu i procjenu dobivenih podataka.

1.4. Terapija ishemijskog moždanog udara

Kako opsežno istražena i razvijena dijagnostika ne bi bila sama sebi svrha, te, bitnije, kako bi ju mogli primijeniti za pomoć pacijentima, s vremenom su se razvile razne terapijske mogućnosti. Međutim, kako se dijagnostičke mogućnosti kontinuirano razvijaju, tako i tehničke mogućnosti endovaskularnog liječenja postaju sve bolje, a klinički rezultati sve uspješniji. Unatoč razvoju novih tehnika, postoje parametri na koje ne možemo utjecati, a važni su za odabir metode liječenja. Jedan od takvih parametara je vrijeme reagiranja pacijenata. U tom smislu najveći problem leži kod takozvanih moždanih udara pri buđenju (*eng. wake-up stroke*, WUS) [68]. Ovaj pojam označava nastanak IMU-a nekada tijekom sna pacijenta te se simptomi ispoljavaju tek pri buđenju. U tom slučaju nije moguće jasno odrediti vrijeme nastanka simptoma. Pravovremena i točna dijagnostika igra ključnu ulogu pri odluci o mogućnostima pravovremene terapije.

Prva metoda liječenja, koja je prvi put primijenjena za liječenje IMU-a još prije 68 godina, je ranije spomenuta IVT [69]. Iako se cijela današnja metodologija primjene lijeka, od indikacija i kontraindikacija, do načina aplikacije znatno razlikuje od prvih pokušaja, premisa je u osnovi ista - otopiti tromb i time odčepiti krvnu žilu. Najčešće korišteni lijek za IVT je alteplaza, biosintetski oblik ljudskog tkivnog aktivatora plazminogena. Alteplaza djeluje tako da se veže na fibrin u

krvnom ugrušku i aktivira plazminogen koji je vezan za ugrušak. Aktivacijom plazminogena on se pretvara u plazmin koji aktivno razgrađuje molekule fibrina - proteina koji svojevrsno zadržava trombocite na okupu i formira trombotski čep [70]. Unatoč jasnom mehanizmu djelovanja lijeka, dosadašnja upotreba IVT se pokazala tek djelomično uspješnom. Postotak uspješne rekanalizacije okludiranih arterija ovom metodom se kreće oko 30% [71]. Osim niskog postotka uspješnosti ove terapije, problem je sustavna primjena lijeka koja sa sobom može nositi teške nuspojave poput krvarenja.

Druga, novija metoda liječenja IMU-a je također ranije spomenuta MT. Za razliku od IVT koja neselektivno djeluje na razini cijelog organizma, MT djeluje isključivo na okludiranu krvnu žilu. Metodologija izvedbe i uspješnost ovog zahvata je potvrđena prvom velikom kliničkom studijom nakon nešto više od pola stoljeća od početka upotrebe IVT [72]. Osim što je opravdana klinička primjena MT-a, također je pokazana jasna superiornost u odnosu na samu IVT, što zbog veće efikasnosti, što zbog manje nuspojava.

U svojoj osnovi MT predstavlja jednostavan koncept - pristupom kroz preponu, ruku, ili vrlo rijetko direktno kroz vrat, pristupiti arteriji kroz koju se dovede intervencijski materijal - žice i kateteri - sve do okludirane arterije u mozgu te se mehaničkom silom izvuče ugrušak [73]. Dvije su različite metode primjene mehaničke sile; aspiracija i korištenje stenta za izvlačenje tromba (*eng. „stent-retrievera“*). Kod aspiracije se koristi aspiracijski kateter koji se dovede do ugruška na koji se nasloni. Potom se uz pomoć šprice ili pumpe stvori negativni tlak na jednom kraju katetera koji „uhvati“ ugrušak na drugom kraju te ga se tako zajedno s kateterom izvuče iz tijela. S druge strane „stent-retriever“ predstavlja stent koji se praktički nagura uz pomoć mikrožice pored ugruška. Kada se stent otvori on natisne ugrušak oko svoje mrežice i pri povlačenju „stent-retrievera“ van tijela sa sobom povuče i ugrušak.

Iako je koncept MT jednostavan, način izvođenja zahvata može se značajno razlikovati od pacijenta do pacijenta. Već na početku zahvata, izbor mjesta pristupa može znatno otežati ili olakšati postupak. Kako se pri radiološkom snimanju pacijenta s IMU-om snimaju samo glava i vrat, stanje drugih arterija, posebno na udovima, je nepoznato. Time se pri takoreći „slijepom“ ulasku u arterije udova može naići na izražene aterosklerotske promjene koje otežavaju prolazak kroz znatna suženja lumena te se gubi dragocjeno vrijeme. Nadalje, pri dolasku do željenog mjesta okluzije potrebno je izvući tromb. Broj pokušaja ekstrakcije ugruška utječe na konačni oporavak pacijenta - što je veći broj, to je klinički ishod lošiji te se uvijek teži uspjehu isprve [74]. Sama tehnika izvedbe MT može dovesti do različitih rezultata, što zbog brzine izvođenja, što zbog efikasnije mogućnosti „hvatanja“ ugruška. Meta analize su pokazale kako je pri samo aspiraciji

znatno kraće vrijeme od početka zahvata do uspješne reperfuzije u odnosu na korištenje „stent-retrievera“. S druge strane, korištenje „stent-retrievera“ je u znatno većem broju slučajeva dovelo do uspješne reperfuzije iz prvog pokušaja za razliku od aspiracije [75]. U svakom slučaju je najbitnija razina postignute reperfuzije u okludiranoj krvnoj žili. Za odrediti mjeru uspješnosti iste određena je ljestvica modificiranog liječenja cerebralnog infarkta (*eng. modified treatment in cerebral infarction*, mTICI) [76]. Ona se rangira od 0 do 3, gdje 0 označava neuspješnu reperfuziju, 1 djelomično, rubno punjenje arterije iza mjesta okluzije uz ograničen prikaz distalnih ogranaka, 2a reperfuziju manje od polovice okludirane arterije, 2b više od polovice okludirane arterije, 2c gotovo potpunu reperfuziju arterije uz nešto sporiji protok ili uz distalne emboluse u manjim kortikalnim ograncima, te 3 označava potpunu reperfuziju okludirane arterije. Rezultati mTICI od 2b do 3 se smatraju uspješnom rekanalizacijom dok se niži rezultati smatraju neuspješnom [77].

Primjena bilo kojeg oblika EVT nije moguća svugdje stoga je adekvatna organizacija zdravstvenog sustava potrebna kako bi što više pacijenata imalo dostupne sve mogućnosti terapije. Dok je primjena IVT moguća u primarnim centrima za moždani udar koji se nalaze u manjim gradovima, samo specijalizirani centri u većim gradovima imaju mogućnost provedbe MT u sekundarnim centrima za moždani udar (*eng. comprehensive stroke center*, CSC). Prema navedenom postoje dva modela zbrinjavanja - takozvani „mothership“ model i „drip-and-ship“ model [78]. Prvi model označava izravni transport pacijenta s mjesta stanovanja ili općenito nastanka simptoma u CSC za istovremenu primjenu IVT i MT, dok drugi model označava transport pacijenta u najbliži primarni centar za primjenu IVT, te naknadni transport u CSC za primjenu MT. Iako je pokazano kako „mothership“ model ima bolje dugotrajne rezultate za liječenje pacijenata, treba uzeti obzir sve mogućnosti javnog zdravstvenog sustava, organizacije hitne medicinske pomoći, dostupnosti transporta među lokalnim jedinicama samouprave ili između bolnica te potencijalnog opterećenja CSC-a lažno pozitivnim slučajevima.

Sagledavši sve parametre od nastanka simptoma, reagiranja pacijenata do postavljanja točne dijagnoze, pravovremene primjene terapije i dostupnosti iste na što većem području i za što veću populaciju, postaje jasno kako postoji mjesta za napredak u svakom koraku. Kada bi postojao brzi probirni test za IMU baziran na biomarkerima iz krvi, primjenjiv izvan bolničkih ustanova koji bi dao nedvojbenu dijagnozu, te dijelom nadopunio radiološku dijagnostiku, ubrzao bi se proces liječenja, smanjio posljedični morbiditet te dijelom rasteretio cijeli zdravstveni sustav.

2. PROBLEMATIKA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

2.1. Problematika istraživanja

Unatoč sve većem broju istraživanja o ulozi serumskih biomarkera u akutnom IMU, njihova klinička primjena još uvijek nije jasno definirana. Za GFAP i UCH-L1 dokazana je neuralna specifičnost i primjena kod ozljede mozga te potencijalna vrijednost u razlikovanju IMU od HMU. Međutim, dosadašnja istraživanja uglavnom su bila usmjerena na usporedbu različitih tipova MU ili na praćenje vremenskih promjena koncentracija ovih biomarkera nakon nastanka moždanog udara. Istodobno, postoji nedostatak podataka o njihovoj sposobnosti razlikovanja LVO od SVO iako takva podjela ima izravan utjecaj na odabir terapijskog pristupa, osobito mogućnost provođenja MT. Stoga je potrebno istražiti mogu li serumske koncentracije GFAP-a i UCH-L1 doprinijeti ranom prepoznavanju bolesnika s LVO te time ubrzati trijažu i donošenje terapijskih odluka u akutnoj fazi bolesti.

2.2. Ciljevi rada

Glavni ciljevi su:

- istražiti dijagnostičku vrijednost kombiniranog testa biomarkera GFAP-a i UCH-L1 za razlikovanje LVO od SVO u kontekstu akutnog IMU-a
- ispitati mogućnost određivanja graničnih vrijednosti GFAP-a i UCH-L1 za svaku od skupina koja bi služila kao prediktivni dijagnostički test unutar ranog vremenskog intervala pri inicijalnom dolasku pacijenata na Hitni neurološki prijem

Sporedni ciljevi su:

- istražiti povezanost razine biomarkera u krvi s HAS-om na nativnom CT-u
- istražiti moguću korelaciju svih prediktivnih čimbenika dobivenih CT snimanjem kod LVO pacijenata (nativni CT, CTA i CTP) s razinom biomarkera u krvi, a time i potencijalnu prediktivnu vrijednost samih biomarkera
- istražiti povezanost razine biomarkera u krvi s neurološkim stanjem pacijenta na Hitnom prijemu mjereno NIHSS rezultatom

- istražiti povezanost razine biomarkera u krvi s intravaskularnom pozicijom ugruška u smislu zahvaćanja samo jedne krvne žile ili širenja ugruška u više krvnih žila
- istražiti razlike u razinama biomarkera u krvi između svih LVO pacijenata s dobrim i lošim kliničkim oporavkom
- istražiti razlike u razinama biomarkera u krvi između pacijenata s dobrim i lošim kliničkim oporavkom nakon uspješne EVT
- istražiti razlike u razinama biomarkera u krvi između LVO pacijenata s poznatim vremenom nastanka simptoma unutar 6 sati i pacijenata s WUS-om

3. HIPOTEZE

U istraživanju smo testirali sljedeće hipoteze:

1. Serumske razine biomarkera GFAP-a i UCH-L1 se razlikuju među pacijentima s LVO i SVO.
2. Moguće je odrediti granične vrijednosti razine biomarkera u krvi između skupina.
3. Postoji korelacija razine biomarkera u krvi s prediktivnim CT parametrima
4. Postoji korelacija razine biomarkera u krvi s prediktivnim kliničkim parametrima
5. Postoji korelacija razine biomarkera u krvi s kliničkim ishodom IMU pacijenata

4. ISPITANICI I POSTUPCI

4.1. Dizajn studije i ispitanici

Istraživanje je provedeno kao opservacijska presječna studija u Kliničkom bolničkom centru (KBC) Split tijekom razdoblja od ožujka do srpnja 2023. godine.

Bolesnici koji su se javili na Hitni prijem KBC-a Split s nekim od simptoma akutnog IMU-a (prisutnost hemipareze pri prijemu u bolnicu, odnosno jednostrane pareze ruke i noge, i/ili prisutnost barem jednog kliničkog znaka zahvaćenosti moždane hemisfere, kao što su afazija, zanemarivanje jedne strane prostora, homonimna hemianopsija, devijacija pogleda prema strani suprotnoj od hemipareze ili snižena razina svijesti) podvrgnuti su standardnoj medicinskoj obradi te procjeni neurološkog statusa uz pomoć NIHSS ljestvice koju je proveo nadležni neurolog. Pri prijemu su uzeti uzorci krvi za rutinsku laboratorijsku obradu te dodatni uzorci za određivanje koncentracija GFAP-a i UCH-L1. Ako su simptomi započeli unutar posljednjih šest sati ili se radilo o WUS-u, proveden je hitni neuroradiološki protokol za IMU. Standardni protokol u našoj ustanovi uključuje nativni CT mozga, CTA glave i vrata te CTP mozga. Dijagnozu su potvrđivali ili isključivali iskusni radiolozi i intervencijski radiolozi.

Na temelju kliničkih i slikovnih podataka kriteriji uključivanja bili su: prijem unutar šest sati od početka simptoma ili WUS te radiološki potvrđen akutni IMU uzrokovan okluzijom velike ili male krvne žile. Kriteriji isključivanja bili su: druga stanja koja mogu uzrokovati simptome slične akutnom IMU-u, uključujući TIA-u, traumatsku ozljedu glave, HMU, intrakranijske tumore i teški cerebralni edem, jasno ograničene lezije na CT-u koje odgovaraju prethodno preboljelom moždanom udaru te anamneza o postojanju intrakranijalnog tumora.

U razdoblju od ožujka do srpnja 2023. godine kriterije uključivanja zadovoljilo je ukupno 69 bolesnika. Kontrolnu skupinu činila su 22 dobrovoljca bez žarišnih neuroloških ispada i bez prethodno poznatih bolesti središnjeg živčanog sustava. Kontrolna skupina nije bila uparena s bolesnicima prema dobi i spolu zbog već postojećih značajnih razlika između LVO i SVO skupina na koje nismo mogli utjecati, ali je imala sličan udio istih komorbiditeta. Iz bolničkog informacijskog sustava (BIS) prikupljeni su demografski podaci (dob, spol, čimbenici rizika, komorbiditeti i prethodna terapija), klinički podaci (NIHSS pri prijemu), radiološki podaci (lokacija moždanog udara, prisutnost HAS-a) te rezultati rutinskih laboratorijskih pretraga.

Istraživanje je nadalje, u razdoblju do studenoga 2023. godine, nadopunjeno samo pacijentima s LVO zbog boljih mogućnosti radiološke obrade i analize kliničkih ishoda. Svi pacijenti su prošli jednaku proceduru od dolaska na Hitni prijem, preko pregleda, analize krvi i radiološkog oslikavanja do postavljanja dijagnoze. Kriteriji uključivanja i isključivanja su također

bili jednaki osim isključivanja pacijenata sa SVO. Pedeset i dva bolesnika su ispunila takve kriterije te su za njih također prikupljeni podaci iz BIS-a: demografski i anamnestički podaci (dob, spol, čimbenici rizika i komorbiditeti), klinički podaci (NIHSS pri prijemu i mTICI rezultat), radiološki podaci (prisutnost HAS-a, gustoća, duljina i volumen tromba, CBS, CS te karakteristike CTP mozga) i rezultati rutinskih laboratorijskih pretraga. Funkcionalni oporavak ovih bolesnika pri otpustu mjeren je mRS-om, pri čemu su rezultati od 0 do 2 smatrani povoljnim kliničkim ishodom. Rezultati od 3 do 6 smatrani nepovoljnim kliničkim ishodom, a vrijednost 6 označavala je smrtni ishod bolesnika.

4.2. Prikupljanje i obrada uzoraka krvi

Po prijemu u bolnicu, u sklopu standardne dijagnostičke obrade, svim su bolesnicima uzeti uzorci krvi, a dodatno su prikupljeni i uzorci za određivanje koncentracija GFAP-a i UCH-L1. Epruvete s uzorcima krvi dostavljene su u bolnički laboratorij te centrifugirane pri $1500\times g$ tijekom 10 minuta unutar 60 minuta od uzimanja krvi. Nakon centrifugiranja serum je podijeljen u alikvotne volumene 0,5 mL i pohranjen na temperaturi od $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Nakon identifikacije bolesnika s akutnim IMU koji ispunjavaju kriterije uključivanja, uzorci krvi preuzeti su iz pohrane. Uzorci bolesnika koji nisu zadovoljavali kriterije uključivanja nisu analizirani. Uzorcima seruma rukovali su ovlašteni laboratorijski tehničari koji nisu imali uvid u kliničke podatke ispitanika.

Za određivanje koncentracija UCH-L1 i GFAP u serumu korišten je komercijalni Abbottov testni komplet (04W1720; Abbott, Sligo, Irska). Sva mjerenja provedena su u načinu pune kalibracije. Sukladno definicijama iz smjernica CLSI EP34, 1. izdanje, rasponi mjerljivih vrijednosti unutar kojih se rezultati mogu pouzdano prijavljivati, a koji se temelje na reprezentativnim podacima za granicu kvantifikacije i granicu detekcije, iznosili su 6,1–42 000 pg/mL za GFAP te 26,3–25 000 pg/mL za UCH-L1 [79].

4.3. Radiološki slikovni podaci i analiza

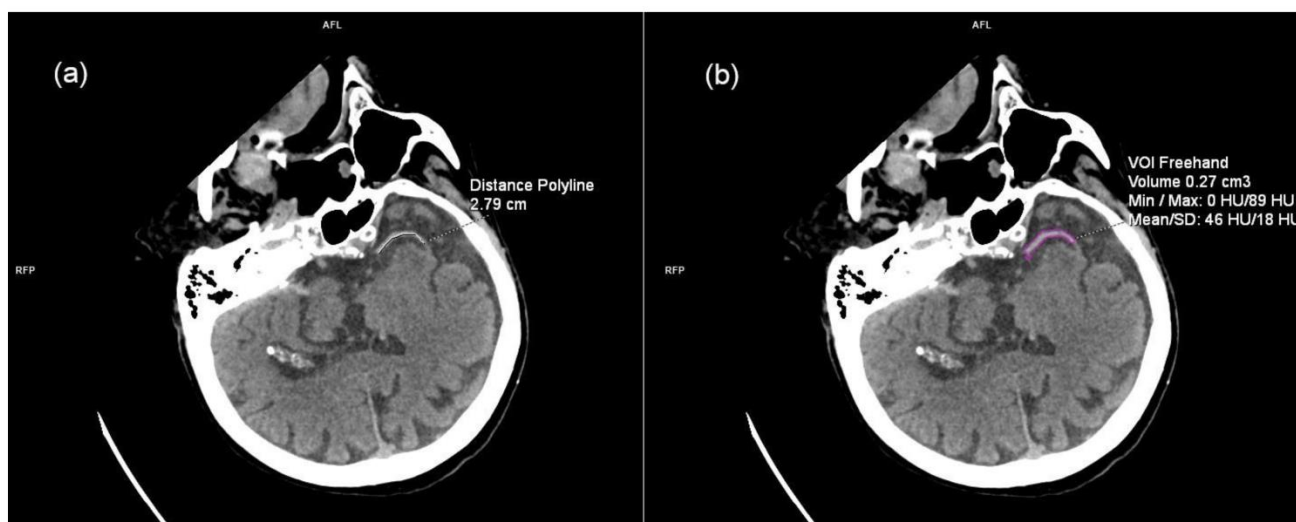
Korištenjem 128-slojnog CT uređaja Siemens Somatom (Siemens Healthineers, Erlangen, Njemačka), svi su bolesnici podvrgnuti standardiziranom neuroradiološkom protokolu za akutni IMU. Slikovni podaci analizirani su pomoću programskog paketa Syngo.via (verzija VB60A,

Hofix05; Siemens Healthineers, Erlangen, Njemačka). Dva iskusna radiologa, uključujući jednog intervencijskog radiologa, analizirali su nalaze nativnog CT-a mozga, CTA glave i vrata te CTP mozga tražeći znakove akutnog IMU-a. Na temelju navedenih slikovnih podataka procijenjeno je postojanje indikacije za MT.

Prema rezultatima neuroradiološke obrade bolesnici su podijeljeni u dvije skupine: skupina pacijenata s LVO i skupina pacijenata sa SVO. Okluzija velikih krvnih žila definirana je kao okluzija ICA, zatim M1 i M2 segmenata ACM, A1 segmenta ACA, BA ili neka od kombinacija okluzije navedenih krvnih žila, poput T-okluzije (distalna ICA, M1 i A1) ili tandemске okluzije (distalna ICA i M1). Okluzija malih krvnih žila definirana je kao okluzija distalnih segmenata ACA i ACM te svih segmenata ACP, kao i svih cerebelarnih arterija.

Također su prikupljeni dodatni radiološki podaci samo kod pacijenata s LVO čiji su uzorci seruma bili uključeni u analizu. Radiolozi koji su naknadno analizirali te slikovne podatke nisu imali uvid u kliničke informacije o bolesnicima.

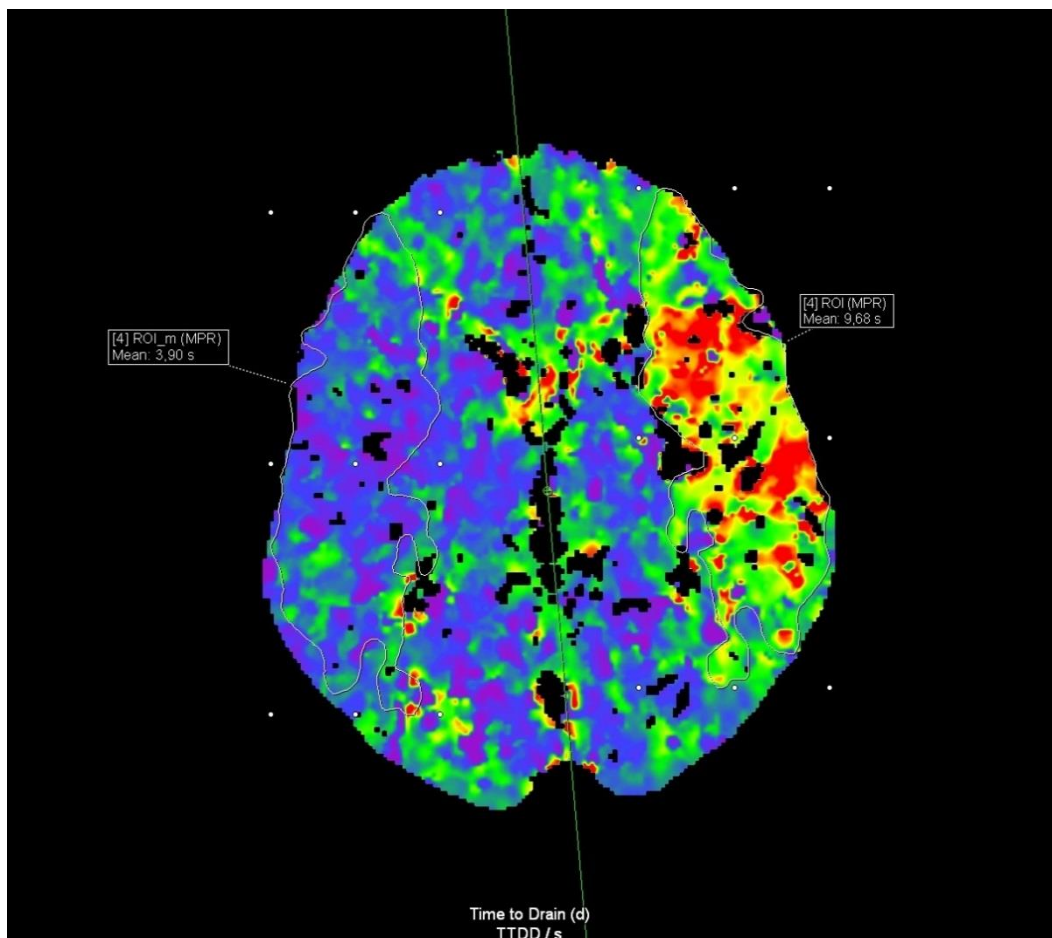
Na nativnom CT-u procjenjivana je prisutnost HAS-a u okludiranoj krvnoj žili. Ako je uočena hiperdenznost odgovarala izostanku punjenja kontrastnim sredstvom iste krvne žile na CTA, nalaz se smatrao pozitivnim HAS-om. Kod bolesnika s pozitivnim HAS-om bilo je moguće izmjeriti duljinu tromba. Nakon multiplanarne rekonstrukcije kojom se prikazivao cijeli opseg hiperdenziteta, duljina tromba mjerena je metodom „Distance Polyline“. Za određivanje volumena tromba korištena je metoda „freehand“ mjerenja volumena regije interesa (*eng. volume of interest, VOI*). Hiperdenzno područje unutar krvne žile označeno je na svakom presjeku, nakon čega je računalni program automatski izračunao volumen tromba na temelju označenih područja (Slika 4). Tijekom određivanja VOI-a automatski se izračuna i gustoća/denzitet tromba.



Slika 4. Slika 1. Karakteristike tromba mjerene na nativnom CT-u mozga nakon multiplanarnog pozicioniranja radi prikaza cjelokupnog opsega hiperdenziteta. (a) Duljina tromba mjerena metodom „Distance Polyline“. (b) Volumen i gustoća tromba određeni metodom „free-hand“ mjerenja volumena regije interesa („free-hand“ VOI). VOI = volumen interesa (*eng. volume of interest, VOI*); HU = Hounsfieldove jedinice; SD = standardna devijacija. (Izvor: preuzeto iz Kraljević i sur., Can Serum GFAP and UCH-L1 Replace CT in Assessing Acute Ischemic Stroke Severity? Life. 2025;15(3):495. doi:10.3390/life15030495.)

Na CTA snimkama analizirana je moguća zahvaćenost više krvnih žila, te CBS i CS za prednju moždanu cirkulaciju prema prethodno objavljenim radovima [62,63]. Pitanje zahvaćenosti jedne ili više krvnih žila procjenjivano je samo u prednjoj cirkulaciji zbog otežane procjene širenja tromba iz BA prema manjim granama koje pokazuju značajne anatomske varijacije. Pri izračunu CBS-a svaka ICA zajedno sa svojim glavnim ograncima, MCA i ACA, dobivala je 10 bodova ako je bila uredno opacificirana kontrastnim sredstvom. Oduzimala su se po dva boda za odsutnost kontrasta u proksimalnom M1 segmentu, distalnom M1 segmentu ili supraklinoidnom dijelu ICA-e te po jedan bod za zahvaćenost M2 grana, A1 segmenta te infraklinoidnog dijela ICA-e. Rezultat 10 označava odsutnost vidljive okluzije na CTA, dok rezultat 0 označava okluziju svih glavnih arterija prednje moždane cirkulacije. Za procjenu CS-a korištena je ljestvica od 0 do 3. Rezultat 0 označavao je potpun izostanak kolateralne opskrbe područja zahvaćenog okluzijom srednje moždane arterije, rezultat 1 kolateralnu opskrbu 0–50% zahvaćenog područja, rezultat 2 opskrbu 50–100%, dok je rezultat 3 označavao potpunu kolateralnu opskrbu zahvaćenog teritorija.

Iz CTP snimaka prikupljeni su računalno generirani podaci o volumenu jezgre infarkta i volumenu penumbre. Također su analizirani CBF, CBV, MTT i TTD. Svaki je parametar mjeran metodom „freehand“ mjerenja regije interesa (*eng. region of interest, ROI*) u području lezije, pri čemu je računalni program automatski generirao simetrično područje na zdravoj kontralateralnoj strani mozga (Slika 5). Nakon toga izračunata je razlika navedenih parametara između zahvaćene i zdrave strane mozga.



Slika 5. Parametar „time-to-drain“ (TTD) na CTP koji prikazuje povišene vrijednosti u zahvaćenoj lijevoj hemisferi te uredne vrijednosti u simetričnom području zdrave desne hemisfere, određeno metodom „frechand“ mjerenja regije interesa („frechand“ ROI). ROI = regija interesa (*eng. region of interest*, ROI). (Izvor: preuzeto iz Kraljević i sur., Can Serum GFAP and UCH-L1 Replace CT in Assessing Acute Ischemic Stroke Severity? Life. 2025;15(3):495. doi:10.3390/life15030495.)

4.4. Statistička raščlamba

Kontinuirane varijable prikazane su kao geometrijska sredina i geometrijski faktor standardne devijacije ili kao medijan i interkvartilni raspon, ovisno o distribuciji podataka, dok su diskretne varijable prikazane kao apsolutni brojevi i postoci. Budući da je većina kontinuiranih varijabli slijedila log-normalnu distribuciju, prema potrebi je prije statističke analize provedena logaritamska transformacija podataka. Za usporedbu kontinuiranih varijabli između skupina korišten je t-test za nezavisne uzorke, uz primjenu Welchove korekcije kada pretpostavka homogenosti varijanci nije bila zadovoljena. U analizama koje su uključivale uređene kategorije primarno je korišten linearni test trenda. Razlike u kategorijskim varijablama ispitivane su hi-kvadrat testom.

Povezanost između varijabli procjenjivana je Pearsonovim koeficijentom korelacije za kontinuirane varijable te Spearmanovim koeficijentom korelacije za rangirane varijable i bodovne ljestvice. Kao mjere statističke značajnosti korištene su p-vrijednosti te odgovarajući koeficijenti korelacije i koeficijenti determinacije (R^2 odnosno η^2).

Dijagnostička vrijednost biomarkera procijenjena je logističkom regresijskom analizom. Granična vrijednost („cut-off“) određena je kao vrijednost koja postiže najveću ukupnu točnost klasifikacije. Uz standardne pokazatelje dijagnostičke uspješnosti prikazani su Tjurov koeficijent determinacije (Tjur's R^2) te p-vrijednost testa omjera vjerojatnosti, pri čemu je nul-hipoteza pretpostavljala model koji sadrži samo odsječak. Vrijednosti $p < 0,05$ smatrane su statistički značajnima.

4.5. Etička načela

Istraživanje je provedeno u skladu sa svim načelima Helsinške deklaracije. Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra Split je dalo svoje odobrenje (broj protokola: 2181-147/01/06/LJ.Z.-23-02) dana 27. siječnja 2023. godine. Pismeni informirani pristanak dobiven je od svih ispitanika ili njihovih zakonskih zastupnika/srodnika na dan prijema u bolnicu.

U istraživanje je početno uključen 91 ispitanik: 69 bolesnika s IMU i 22 ispitanika u kontrolnoj skupini. Bolesnici s IMU su dodatno podijeljeni u skupinu bolesnika sa SVO koja je obuhvaćala 29 ispitanika, te skupinu bolesnika s LVO koja je obuhvaćala 40 ispitanika. Njihove osnovne karakteristike prikazane su u Tablici 1, dok su rezultati rutinskih laboratorijskih nalaza za IMU bolesnike prikazani u Tablici 2.

Tablica 1. Osnovna obilježja ispitivane populacije. Podaci su prikazani kao geometrijska sredina s geometrijskim faktorom standardne devijacije ili kao broj i postotak.

	Kontrolna skupina (n=22)	SVO (n=29)	LVO (n=40)	p vrijednost
Dob, godine (GM, GSDF)	66.77, 1.09	72.03, 1.16	77.6, 1.15	<0.0001*
Ženski spol (n, %)	10 (45.45%)	9 (31.03%)	29 (72.5%)	0.002 [#]
Arterijska hipertenzija (n, %)	18 (81.82%)	21 (72.41%)	29 (72.5%)	0.722 [#]
Diabetes mellitus (n, %)	5 (22.73%)	5 (17.24%)	7 (17.5%)	0.867 [#]
Fibrilacija atrijsa (n, %)	9 (40.91%)	10 (34.48%)	15 (37.5%)	0.89 [#]

*Test linearnog trenda; [#]Hi-kvadrat test; SVO = okluzija malih krvnih žila (*eng. small vessel occlusion*); LVO = okluzija velikih krvnih žila (*eng. large vessel occlusion*); GM = geometrijska sredina (*eng. geometric mean*); GSDF = geometrijski faktor standardne devijacije (*eng. geometric standard deviation factor*).

Tablica 2. Rutinski laboratorijski nalazi u različitim skupinama bolesnika s IMU (SVO i LVO). Podaci su prikazani kao geometrijska sredina s geometrijskim faktorom standardne devijacije.

	SVO (n=29)		LVO (n=40)		p vrijednost*	R ² vrijednost*
	GM	GSDF	GM	GSDF		
Leukociti (broj × 10 ⁹)	8.243	1.42	8.944	1.387	0.332	1.45%
Neutrofili (%)	67.53	1.193	72.54	1.197	0.079	4.68%
Limfociti (%)	18.39	1.834	15.61	1.665	0.154	3.1%
Na ⁺ (mmol/L)	140.7	1.02	140.8	1.028	0.852	0.05%
K ⁺ (mmol/L)	4.117	1.102	3.94	1.14	0.142	3.4%
LDH (mmol/L)	178.8	1.66	211.8	1.292	0.212	3.16%
CRP (mg/L)	3.335	3.507	5.347	3.914	0.154	3.1%
PV (s)	1.141	1.178	0.927	1.408	0.0019	15.13%

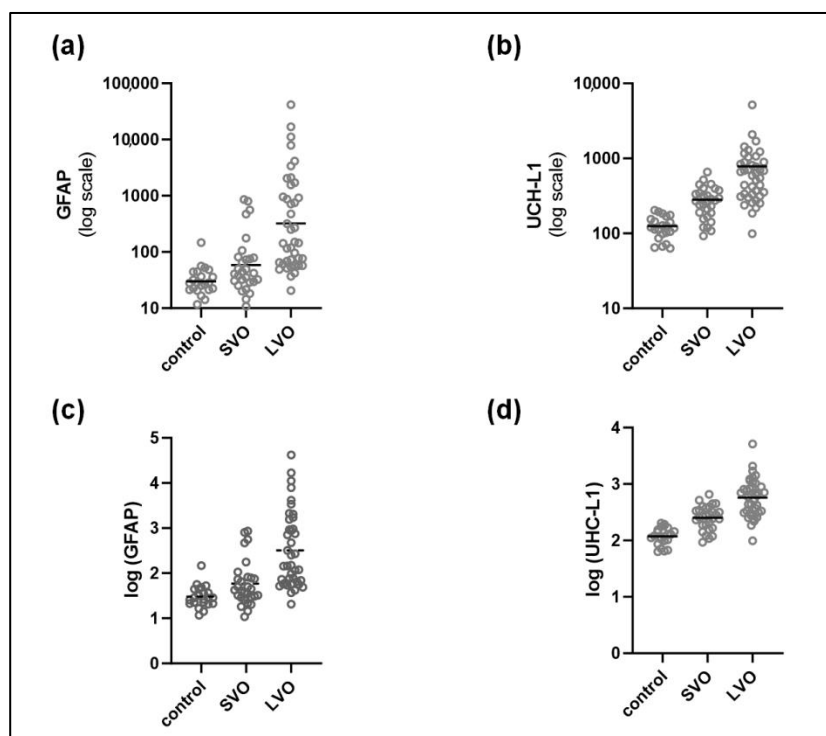
*t-test za nezavisne uzorke; SVO = okluzija malih krvnih žila (*eng. small vessel occlusion*); LVO = okluzija velikih krvnih žila (*eng. large vessel occlusion*); GM = geometrijska sredina (*eng. geometric mean*); GSDF = geometrijski faktor standardne devijacije (*eng. geometric standard deviation factor*); Na⁺ = natrij; K⁺ = kalij; LDH = laktat dehidrogenaza; CRP = C-reaktivni protein; PV = protrombinsko vrijeme.

Serumske koncentracije GFAP-a i UCH-L1 značajno su se razlikovale između svih ispitivanih skupina. Najniže vrijednosti zabilježene su u kontrolnoj skupini (geometrijska sredina: 30,19 pg/mL za GFAP i 117,7 pg/mL za UCH-L1), više vrijednosti u SVO skupini (geometrijska sredina: 58,6 pg/mL za GFAP i 251,8 pg/mL za UCH-L1), dok su najviše koncentracije utvrđene u LVO skupini (geometrijska sredina: 321,3 pg/mL za GFAP i 573,1 pg/mL za UCH-L1). Utvrđen je pozitivan linearni trend porasta koncentracija biomarkera između skupina ($p < 0,0001$) (Tablica 3 i Slika 6).

Tablica 3. Serumske koncentracije GFAP-a i UCH-L1 u IMU bolesnika (SVO i LVO) i u kontrolnoj skupini. Podaci su prikazani kao geometrijska sredina s geometrijskim faktorom standardne devijacije.

	Kontrolna skupina (n=22)		SVO (n=29)		LVO (n=40)		<i>p</i> vrijednost*	<i>R</i> ² vrijednost*
	GM	GSDF	GM	GSDF	GM	GSDF		
GFAP (pg/mL)	30.19	1.72	58.6	3.172	321.3	6.93	$p < 0.0001$	31.32%
UCH-L1 (pg/mL)	117.7	1.429	251.8	1.637	573.1	2.129		53.74%

*Test linearnog trenda; SVO = okluzija malih krvnih žila (*eng. small vessel occlusion*); LVO = okluzija velikih krvnih žila (*eng. large vessel occlusion*); GM = geometrijska sredina (*eng. geometric mean*); GSDF = geometrijski faktor standardne devijacije (*eng. geometric standard deviation factor*); GFAP = glijalni fibrilarni kiseli protein (*eng. glial fibrillary acidic protein*); UCH-L1 = ubikvitin karboksi-terminalna hidrolaza L1 (*eng. ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1*).



Slika 6. Odnos između koncentracija GFAP-a i UCH-L1 te veličine okludirane krvne žile. (a, b) Podaci nisu logaritamski transformirani, ali su prikazani na logaritamskoj skali, dok su srednje vrijednosti prikazane kao geometrijske sredine. (c, d) Podaci su logaritamski transformirani, a srednje vrijednosti prikazane su kao aritmetičke sredine. GFAP = glijalni fibrilarni kiseli protein (*eng. glial fibrillary acidic protein*); UCH-L1 = ubikvitin karboksi-terminalna hidrolaza L1 (*eng. ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1*); SVO = okluzija malih krvnih žila (*eng. small vessel occlusion*); LVO = okluzija velikih krvnih žila (*eng. large vessel occlusion*).

Dijagnostička točnost GFAP-a kao biomarkera u razlikovanju LVO i SVO iznosila je 77%, uz graničnu („cut-off“) vrijednost od 200,53 pg/mL. U razlikovanju bolesnika s LVO od kontrolne skupine postignuta je dijagnostička točnost od 89%, uz „cut-off“ vrijednost od 63,74 pg/mL. Biomarker UCH-L1 pokazao je približno 70% dijagnostičke točnosti u razlikovanju LVO i SVO, uz „cut-off“ vrijednost od 498,89 pg/mL, dok je u razlikovanju LVO bolesnika od kontrolne skupine postignuta točnost od 95%, uz „cut-off“ vrijednost od 288,09 pg/mL (Tablica 4).

Tablica 4. Dijagnostičke karakteristike GFAP-a i UCH-L1

Ishod	GFAP		UCH-L1	
	LVO vs. SVO*	LVO vs. Kontrolna skupina [#]	LVO vs. SVO [†]	LVO vs. Kontrolna skupina [‡]
AUC	0.7996	0.9403	0.8159	0.9795
specifičnost (%)	62.07	81.82	62.07	95.45
senzitivnost (%)	85.5	92.5	75	95
preciznost (%)	76.81	88.71	69.57	95.16
„cut-off“ vrijednost (pg/mL)	200.53	63.74	498.89	288.09

*Jednadžba za predviđanje logaritma omjera izgleda („log odds“) za LVO u odnosu na SVO: $\text{logit (LVO)} = 1,775 \times \log (\gamma(\text{GFAP})) - 3,332$. Kao prag vjerojatnosti („cut-off“) za klasifikaciju korištena je vrijednost 0,43 (43%). Tjurov koeficijent determinacije („Tjur's R²“) iznosio je 0,2273, uz $p < 0,0001$. [#]Jednadžba za predviđanje logaritma omjera izgleda za LVO u odnosu na kontrolnu skupinu: $\text{logit (LVO)} = 7,007 \times \log (\gamma(\text{GFAP})) - 11,77$. Kao prag vjerojatnosti za klasifikaciju korištena je vrijednost 0,50 (50%). Tjurov koeficijent determinacije iznosio je 0,577, uz $p < 0,0001$.

[†]Jednadžba za predviđanje logaritma omjera izgleda za LVO u odnosu na SVO: $\text{logit (LVO)} = 5,063 \times \log (\gamma(\text{UCH-L1})) - 12,66$. Kao prag vjerojatnosti za klasifikaciju korištena je vrijednost 0,50 (50%). Tjurov koeficijent determinacije iznosio je 0,3033, uz $p < 0,0001$. [‡]Jednadžba za predviđanje logaritma omjera izgleda za LVO u odnosu na kontrolnu skupinu: $\text{logit (LVO)} = 14,8 \times \log (\gamma(\text{UCH-L1})) - 33,9$. Kao prag vjerojatnosti za klasifikaciju korištena je vrijednost 0,50 (50%). Tjurov koeficijent determinacije iznosio je 0,8023, uz $p < 0,0001$. . GFAP = glijalni fibrilarni kiseli protein (*eng. glial fibrillary acidic protein*); UCH-L1 = ubikvitin karboksi-terminalna hidrolaza L1 (*eng. ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1*); AUC = površina ispod ROC krivulje (*eng. area under the curve*).

Istražena je i povezanost serumskih koncentracija biomarkera s NIHSS rezultatom u bolesnika s LVO. Bolesnici su podijeljeni u dvije skupine: one s povoljnim NIHSS rezultatom (0–

15) i one s nepovoljnim NIHSS rezultatom (16–42). Nije utvrđena povezanost koncentracija GFAP-a ni UCH-L1 s težinom neurološkog deficita izraženom NIHSS rezultatom. Također je analizirano razlikuju li se koncentracije biomarkera između bolesnika s pozitivnim i negativnim HAS-om. Nisu pronađene značajne razlike u serumskim koncentracijama GFAP-a i UCH-L1 između navedenih skupina. Dodatno je analizirana lokalizacija tromba u prednjoj moždanoj cirkulaciji, odnosno zahvaća li okluzija jednu krvnu žilu ili više njih (T-okluzija ili tandemaska okluzija). Okluzije stražnje moždane cirkulacije nisu uključene u ovu analizu. Ni u ovom slučaju nisu utvrđene značajne razlike u koncentracijama GFAP-a i UCH-L1 između bolesnika s okluzijom jedne krvne žile i onih s višestrukim okluzijama (Tablica 5).

Tablica 5. Povezanost pokazatelja težine MU (NIHSS, HAS i višestruka okluzija krvnih žila) sa serumskim koncentracijama GFAP-a i UCH-L1 u bolesnika s LVO. Podaci su prikazani kao geometrijska sredina s geometrijskim faktorom standardne devijacije.

		GFAP (pg/mL)	UCH-L1 (pg/mL)
Povoljni NIHSS (<i>n</i> =16)	GM	300.9	497.8
	GSDF	7.82	2.51
Nepovoljni NIHSS (<i>n</i> =13)	GM	298.2	565.7
	GSDF	4.595	1.997
<i>p</i> vrijednost*		0.395	0.682
R ² vrijednost*		2.7%	0.63%
Pozitivan HAS (<i>n</i> =23)	GM	286.8	525.4
	GSDF	4.9	1.73
Negativan HAS (<i>n</i> =17)	GM	480.4	644.6
	GSDF	10	2.655
<i>p</i> vrijednost*		0.934	0.405
R ² vrijednost*		0.02%	1.8%
Okluzija više krvnih žila (<i>n</i> =13)	GM	242.6	524.3
	GSDF	8.81	2.21
Okluzija jedne krvne žile (<i>n</i> =25)	GM	369.6	608.4
	GSDF	6.758	2.1
<i>p</i> vrijednost*		0.526	0.57
R ² vrijednost*		1.1%	0.9%

*Test linearnog trenda; GFAP = glijalni fibrilarni kiseli protein (*eng. glial fibrillary acidic protein*); UCH-L1 = ubikvitin karboksi-terminalna hidrolaza L1 (*eng. ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1*); NIHSS = ljestvica moždanog udara Nacionalnog instituta za zdravlje (*eng. National Institutes of Health Stroke Scale*); HAS = znak hiperdenzne arterije (*eng. hyperdense artery sign*); GM = geometrijska sredina (*eng. geometric mean*); GSDF = geometrijski faktor standardne devijacije (*eng. geometric standard deviation factor*). **Napomena:** Dio bolesnika u LVO skupini nije imao potpunu medicinsku dokumentaciju, zbog čega njihovi NIHSS rezultati nisu bili dostupni za statističku analizu.

U nastavku istraživanja uključeno je još 12 IMU pacijenata s LVO te su istraženi specifični radiološki i klinički parametri samo za ovu skupinu koja je sada brojala ukupno 52 ispitanika. Kod njih je analizirana povezanost serumskih koncentracija GFAP-a i UCH-L1 s različitim prediktivnim

slikovnim parametrima dobivenim nativnim CT-om mozga, CT angiografijom glave i vrata te CT perfuzijom mozga. Analizirani su sljedeći parametri: duljina, volumen i gustoća tromba, CBS i CS), volumen jezgre infarkta, volumen penumbre te razlike između perfuzijskih parametara CBF, CBV, MTT i TTD između zdrave i zahvaćene moždane hemisfere. Nije utvrđena statistički značajna povezanost niti jednog od navedenih parametara s razinama biomarkera u krvi (Tablica 6).

Tablica 6. Povezanost različitih MSCT parametara u procjeni težine akutnog ishemijskog moždanog udara sa serumskim koncentracijama GFAP-a i UCH-L1.

	CT parametar	p vrijednost	R vrijednost
GFAP (n=51)	duljina tromba*	0.586	0.077
	volumen tromba*	0.834	0.029
	gustoća tromba*	0.428	0.112
	CBS [#]	0.157	-0.199
	CS [#]	0.489	-0.098
	volumen jezgre infarkta*	0.177	0.190
	volumen penumbre*	0.428	0.112
	CBF*	0.789	-0.038
	CBV*	0.536	0.088
	MTT*	0.310	-0.144
	TTD*	0.742	-0.047
UCH-L1 (n=52)	duljina tromba*	0.999	<0.001
	volumen tromba*	0.866	-0.024
	gustoća tromba*	0.710	-0.053
	CBS [#]	0.291	-0.149
	CS [#]	0.318	-0.141
	volumen jezgre infarkta*	0.679	0.059
	volumen penumbre*	0.708	-0.053
	CBF*	0.296	-0.148
	CBV*	0.907	-0.017
	MTT*	0.130	-0.213
	TTD*	0.341	-0.135

*Pearsonov koeficijent korelacije; [#]Spearmanov koeficijent korelacije; CT = kompjuterizirana tomografija (eng. *computed tomography*); GFAP = glijalni fibrilarni kiseli protein (eng. *glial fibrillary acidic protein*); UCH-L1 = ubikvitin karboksi-terminalna hidrolaza L1 (eng. *ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1*); CBS = razina opterećenja ugruškom (eng. *clot burden score*); CS = razina kolateralna (eng. *collateral score*); CBF = protok krvi kroz mozak (eng. *cerebral blood flow*); CBV = volumen krvi mozga (eng. *cerebral blood volume*); MTT = srednje vrijeme prolaska (eng. *mean transit time*); TTD = vrijeme otplavlivanja krvi (eng. *time-to-drain*). **Napomena:** Za jednog bolesnika nije bila dostupna vrijednost serumske koncentracije GFAP-a zbog tehničkih razloga, stoga je taj podatak označen kao nedostupan i nije uključen u statističku analizu.

Zatim su uspoređene koncentracije biomarkera između bolesnika s povoljnim kliničkim ishodom (medijan: 129,7 pg/mL za GFAP i 288,2 pg/mL za UCH-L1) i bolesnika s nepovoljnim kliničkim ishodom (medijan: 493 pg/mL za GFAP i 591,1 pg/mL za UCH-L1), pri čemu je ishod procijenjen mRS ljestvicom pri otpustu iz bolnice, neovisno o tome je li provedena MT. Utvrđene su statistički značajne razlike za oba biomarkera (GFAP: $p=0,005$; UCH-L1: $p=0,001$). Mehanička trombektomija provedena je kod 37 bolesnika, dok je 15 bolesnika procijenjeno neprikladnima za

zahvat od strane intervencijskog radiologa, a razlozi su prikazani u Tablici 7. Nakon toga analizirani su samo bolesnici kod kojih je postignuta uspješna rekanalizacija ($mTICI > 2a$). U ovoj skupini su također pronađene statistički značajne razlike u koncentracijama GFAP-a ($p=0,007$) i UCH-L1 ($p=0,004$) između bolesnika s povoljnim kliničkim ishodom (medijan: 104,6 pg/mL za GFAP i 312,8 pg/mL za UCH-L1) i bolesnika s nepovoljnim kliničkim ishodom (medijan: 943,9 pg/mL za GFAP i 692,3 pg/mL za UCH-L1) (Tablica 8).

Tablica 7. Broj pacijenata koji nisu bili podvrgnuti MT-u uz odgovarajuća obrazloženja

Broj pacijenata neprikladan za MT	Razlog
5	nepovoljan omjer penumbre i jezgre infarkta
3	ekstremno tortuozna vaskularna anatomija za manipulaciju kateterom
2	opsežna tromboza karotidne arterije
1	potpuna rekanalizacije okluzije nakon primjene IVT
1	prenizak NIHSS (3)
1	značajni kalcifikati arterija na mjestu punkcije
1	nedostatak intervencijskog materijala za zahvat
1	nema podataka

MT = mehanička trombektomija; IVT = intravenska tromboliza; NIHSS = ljestvica moždanog udara Nacionalnog instituta za zdravlje (*eng. National Institutes of Health Stroke Scale*).

Tablica 8. Serumske koncentracije GFAP-a i UCH-L1 u svih IMU bolesnika s LVO, neovisno o stupnju rekanalizacije, s povoljnim i nepovoljnim kliničkim oporavkom te u bolesnika nakon uspješne rekanalizacije. Podaci su prikazani kao medijan i interkvartilni raspon.

		GFAP (pg/mL) (median, IQR)	<i>p</i> vrijednost	UCH-L1 (pg/mL) (median, IQR)	<i>p</i> vrijednost
svi pacijenti	povoljan mRS (<i>n</i> =12)	129.7 (59.48-252.4)	0.005*	288.2 (191-413.5)	0.001*
	nepovoljan mRS (<i>n</i> =39)	493 (73.1-2046)		591.1 (309.7-889.4)	
uspješna rekanalizacija	povoljan mRS (<i>n</i> =10)	104.6 (56.2-203.8)	0.007*	312.8 (183.8-481.6)	0.004 [#]
	nepovoljan mRS (<i>n</i> =22)	943.9 (137.8-3599)		692.3 (328.4-1179)	

*t-test za nezavisne uzorke uz Welchovu korekciju; [#]t-test za nezavisne uzorke; GFAP = glijalni fibrilarni kiseli protein (*eng. glial fibrillary acidic protein*); UCH-L1 = ubikvitin karboksi-terminalna hidrolaza L1 (*eng. ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1*); IQR = interkvartilni raspon (*eng. interquartile range*); mRS = prilagođena Rankinova ljestvica (*eng. modified Rankin Scale*).

Dodatno su svi prethodno analizirani prediktivni slikovni parametri dobiveni na nativnom CT-u mozga, CT angiografiji glave i vrata te CT perfuziji mozga uspoređeni s koncentracijama biomarkera u skupinama bolesnika formiranim prema kliničkom ishodu temeljenom na mRS rezultatu. U skupini bolesnika s povoljnim ishodom samo su duljina tromba i volumen tromba pokazali povezanost s koncentracijom GFAP-a ($p=0,011$ odnosno $p=0,042$), dok je UCH-L1 pokazao povezanost s volumenom jezgre infarkta ($p=0,007$). Niti jedan drugi slikovni parametar nije pokazao statistički značajnu povezanost s koncentracijama biomarkera ni u skupini s povoljnim ni u skupini s nepovoljnim kliničkim ishodom (Tablica 9).

Tablica 9. Povezanost različitih CT parametara sa serumskim koncentracijama GFAP-a i UCH-L1 u skupinama bolesnika s različitim kliničkim ishodima.

		GFAP		UCH-L1	
	CT parametar	<i>p</i> vrijednost	<i>R</i> vrijednost	<i>p</i> vrijednost	<i>R</i> vrijednost
povoljan mRS (<i>n</i> =12)	duljina tromba*	0.011	0.705	0.992	0.003
	volumen tromba*	0.042	0.593	0.899	-0.041
	gustoća tromba*	0.636	0.153	0.955	-0.018
	CBS [#]	0.372	-0.282	0.899	-0.042
	CS [#]	0.713	-0.122	0.766	-0.099
	volumen jezgre infarkta*	0.773	-0.093	0.007	0.727
	volumen penumbre*	0.347	-0.298	0.849	-0.061
	CBF*	0.581	-0.178	0.812	-0.078
	CBV*	0.573	0.181	0.979	-0.008
	MTT*	0.271	-0.346	0.599	-0.169
	TTD*	0.978	0.009	0.486	0.223
nepovoljan mRS (<i>n</i> =39)	duljina tromba*	0.762	0.050	0.793	-0.044
	volumen tromba*	0.979	-0.004	0.654	-0.074
	gustoća tromba*	0.415	0.134	0.724	-0.059
	CBS [#]	0.158	-0.230	0.304	0.169
	CS [#]	0.818	-0.038	0.617	-0.083
	volumen jezgre infarkta*	0.349	0.154	0.782	-0.046
	volumen penumbre*	0.467	0.119	0.689	-0.066
	CBF*	0.826	-0.036	0.328	-0.161
	CBV*	0.812	0.039	0.512	-0.108
	MTT*	0.699	-0.064	0.573	-0.093
	TTD*	0.973	0.006	0.569	-0.094

*Pearsonov koeficijent korelacije; [#]Spearmanov koeficijent korelacije; CT = kompjuterizirana tomografija (eng. *computed tomography*); GFAP = glijalni fibrilarni kiseli protein (eng. *glial fibrillary acidic protein*); UCH-L1 = ubikvitin karboksi-terminalna hidrolaza L1 (eng. *ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1*); mRS = prilagođena Rankinova ljestvica (eng. *modified Rankin scale*); CBS = razina opterećenja ugruškom (eng. *clot burden score*); CS = razina kolateralna (eng. *collateral score*); CBF = protok krvi kroz mozak (eng. *cerebral blood flow*); CBV = volumen krvi mozga (eng. *cerebral blood volume*); MTT = srednje vrijeme prolaska (eng. *mean transit time*); TTD = vrijeme otplavlivanja krvi (eng. *time-to-drain*).

Na kraju su analizirani i pojedini demografski i klinički čimbenici koji bi mogli utjecati na različite koncentracije biomarkera u serumu. Nisu pronađene statistički značajne razlike u koncentracijama GFAP-a i UCH-L1 između muškaraca i žena (GFAP: $p=0,871$; UCH-L1:

$p=0,345$). Također, nije utvrđena razlika između bolesnika s jasnim vremenom nastanka simptoma IMU-a unutar prvih 6 sati i pacijenata s WUS-om (GFAP: $p=0,708$; UCH-L1: $p=0,08$). Naposljetku, nisu pronađene značajne razlike u serumskim koncentracijama biomarkera između bolesnika s povoljnim NIHSS rezultatom (0–15) i onih s nepovoljnim NIHSS rezultatom (16–42) (GFAP: $p=0,102$; UCH-L1: $p=0,194$) (Tablica 10).

Tablica 10. Povezanost različitih kliničkih parametara (spol, vrijeme nastanka simptoma i NIHSS rezultat) sa serumskim koncentracijama GFAP-a i UCH-L1. Podaci su prikazani kao medijan i interkvartilni raspon.

		GFAP (pg/mL) (Median, IQR)	p vrijednost	UCH-L1 (pg/mL) (Median, IQR)	p vrijednost
spol	muški ($n=34$)	147.7 (71.1–1602)	0.871*	569.1 (296.1–849.9)	0.345*
	ženski ($n=18$)	250.7 (61.1–1064)		395.3 (283.5–628.1)	
vrijeme nastanka simptoma	WUS ($n = 10$)	132.3 (72.9–810.8)	0.708 [#]	709.1 (253.8–1276)	0.080*
	unutar 6 sati ($n = 42$)	189.4 (66.9–1602)		429.7 (291.7–701.2)	
NIHSS	povoljan ($n = 14$)	207.9 (92.2–2175)	0.102*	551.6 (290.6–977.2)	0.194*
	nepovoljan ($n = 19$)	92.8 (57.4–319.8)		354.3 (273.4–698.5)	

* t-test za nezavisne uzorke; [#]t-test za nezavisne uzorke uz Welchovu korekciju; GFAP = glijalni fibrilarni kiseli protein (eng. *glial fibrillary acidic protein*); UCH-L1 = ubikvitin karboksi-terminalna hidrolaza L1 (eng. *ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1*); IQR = interkvartilni raspon (eng. *interquartile range*); WUS = moždani udar pri buđenju (eng. *wake-up stroke*); NIHSS = Ljestvica moždanog udara Nacionalnog instituta za zdravlje (eng. *National Institutes of Health Stroke Scale*). Napomena: Dio bolesnika nije imao potpunu medicinsku dokumentaciju, zbog čega njihovi NIHSS rezultati nisu bili dostupni za statističku analizu.

Naše istraživanje je pokazalo kako su serumske koncentracije GFAP-a i UCH-L1 značajno povišene u bolesnika s akutnim IMU u usporedbi s neurološki zdravim ispitanicima. Također je utvrđeno postojanje razlika u koncentracijama ovih biomarkera između bolesnika s LVO i bolesnika sa SVO. Štoviše, izračunate su granične vrijednosti za oba biomarkera između zdravih ispitanika i svake skupine IMU bolesnika; granične vrijednosti za razlikovanje LVO od SVO su pokazale zadovoljavajuću osjetljivost i specifičnost dok su vrijednosti za razlikovanje IMU pacijenata od zdravih ispitanika pokazale vrlo visoku osjetljivost i specifičnost. Nadalje, istraživanje je također pokazalo kako su LVO bolesnici s nepovoljnim kliničkim ishodom imali više serumske koncentracije GFAP-a i UCH-L1 u usporedbi s bolesnicima s povoljnim kliničkim ishodom, neovisno o uspješnosti EVT, tj. rekanalizaciji okluzije.

Ujedno, nijedan od brojnih prediktivnih slikovnih parametara korištenih u procjeni težine IMU uzrokovanog LVO-om (pozitivan HAS, duljina, volumen i gustoća tromba, zahvaćenost više od jedne krvne žile, CBS, CS, volumen jezgre infarkta, volumen penumbre, razlike između zdrave i zahvaćene hemisfere u perfuzijskim parametrima CBF, CBV, MTT i TTD) nije pokazao povezanost sa serumskim koncentracijama biomarkera. Kada su isti slikovni parametri analizirani u skupinama bolesnika podijeljenima prema kliničkom ishodu, bolesnici s povoljnim oporavkom pokazali su povezanost samo nekoliko pojedinih varijabli s koncentracijama GFAP-a ili UCH-L1. Nasuprot tome, u skupini bolesnika s nepovoljnim kliničkim ishodom nije utvrđena povezanost niti jednog analiziranog slikovnog parametra sa serumskim koncentracijama biomarkera. Također klinički parametri poput spola, nepoznatog vremena nastanka IMU-a u vidu WUS-a te NIHSS rezultata, nisu pokazali povezanost sa serumskim koncentracijama biomarkera.

Kako je već ranije spomenuto, biomarker UCH-L1 je moždano-specifični protein koji je prisutan u neuronima gdje čini do 5% svih moždanih proteina [80]. U stanjima izrazitog staničnog stresa, poput ishemije, sposobnost UCH-L1 da obavlja svoju funkciju u održavanju integriteta aksona postaje nedostatna, što dovodi do smrti neurona i njegovog oslobađanja u cerebrospinalnu tekućinu i krvni serum [81,82]. Slično tome, GFAP je također moždano-specifični protein, ali on se nalazi u astrocitima, najbrojnim stanicama središnjeg živčanog sustava čovjeka koje služe za, između ostalog, stabilizaciju i regulaciju krvno-moždane barijere [48,83]. U neurološkim poremećajima, poput traume i ishemije, astrociti reagiraju procesom glioze, koja predstavlja pokušaj popravka oštećenog moždanog tkiva proliferacijom i ograničavanjem područja lezije, a u težim slučajevima dovodi do stvaranja glijalnog ožiljka i time sprječavanja daljnjeg širenja oštećenja [84]. Tijekom tog procesa reaktivni astrociti pokazuju promijenjenu ekspresiju brojnih gena, prvenstveno pojačanu ekspresiju GFAP-a, koji se potom može detektirati i u serumu [85].

S obzirom na njihovu staničnu specifičnost, očekuje se da oštećenje neurona i astrocita tijekom akutnog moždanog oštećenja dovodi do oslobađanja UCH-L1 i GFAP u krvotok, gdje njihove koncentracije postaju mjerljive [86,87]. Budući da navedeni biomarkeri odražavaju različite patofiziološke aspekte oštećenja moždanog tkiva, njihova istodobna primjena može pružiti cjelovitiji uvid u opseg i karakter ozljede. Slijedom toga, može se pretpostaviti da je veći stupanj oštećenja moždanog parenhima povezan s višim serumskim koncentracijama GFAP-a i UCH-L1. Takvu pretpostavku podupiru brojna istraživanja koja su pokazala porast koncentracija ovih biomarkera u različitim stanjima akutnog neuronalnog oštećenja i stanične smrti [50,88-91].

Diaz-Arrastia i suradnici pokazali su da GFAP i UCH-L1, pojedinačno i u kombinaciji, imaju visoku osjetljivost u razlikovanju bolesnika s traumatskom ozljedom mozga od zdravih ispitanika [88]. Yigit i suradnici utvrdili su značajno više koncentracije UCH-L1 u bolesnika s akutnim IMU i HMU u usporedbi sa zdravim kontrolama, pri čemu nije pronađena razlika između vrsta MU u vidu ishemije ili hemoragije [89]. Nasuprot tome, Ren i suradnici pokazali su da bi serumske koncentracije GFAP-a mogle predstavljati koristan alat za rano razlikovanje akutnog IMU od HMU [50]. Nadalje, Wu i suradnici su utvrdili kako su oba biomarkera povišena u encefalopatiji povezanoj sa sepsom te njihovu poveznicu s lošijom prognozom i nižom kvalitetom života bolesnika [91]. Osim toga, Papa i suradnici pokazali su da se također oba biomarkera u serumu bolesnika s blagom i umjereno teškom traumatskom ozljedom mozga mogu detektirati već unutar jednog sata od ozljede te da su povezani s pokazateljima težine ozljede, poput Glasgow Coma Scale rezultata i nalaza lezija na CT-u [82,92]. To pokazuje kako i relativno mali volumen oštećenja neurona može dovesti do dovoljnog porasta serumskih koncentracija biomarkera, što je u skladu s rezultatima našeg istraživanja koje je pokazalo kako se čak i bolesnici sa SVO mogu razlikovati od zdravih ispitanika.

Iako je većina istraživanja o GFAP-u bila usmjerena na razlikovanje akutnog IMU-a od HMU-a, pojedina istraživanja proučavala su isključivo vremenski ovisne promjene koncentracija GFAP-a tijekom IMU-a [93]. Aurell i suradnici utvrdili su da privremeno oslobađanje proteina iz astrocita, uključujući GFAP, u cerebrospinalnu tekućinu može ukazivati na lokalizirano ishemijsko oštećenje te, u kasnijim fazama, na degeneraciju astrocita u području penumbre [94]. Nadalje, Herrmann i suradnici analizirali su obrasce postishemijskog oslobađanja GFAP-a i proteina S-100B u serumu te pokazali njihovu povezanost s kliničkim i morfološkim ishodima akutnog IMU-a [95]. S druge strane, za UCH-L1 postoji vrlo ograničen broj kliničkih istraživanja kod bolesnika s akutnim IMU koja bi procjenjivala njegovu povezanost s težinom neurološkog deficita. Liu i suradnici su u eksperimentalnom istraživanju na štakorima pokazali povišene koncentracije UCH-

L1 u serumu i cerebrospinalnoj tekućini već nakon 30 minuta te nakon 2 sata od izazivanja ishemije, no slični rezultati još uvijek nisu potvrđeni u kliničkim istraživanjima na ljudima [96]. Nadalje, nedavno istraživanje Florijna i suradnika pokazalo je da GFAP može razlikovati podtipove MU-a te da u kombinaciji s UCH-L1 dodatno poboljšava osjetljivost i specifičnost dijagnostičkog testa [97].

Međutim, samo je jedno istraživanje, koje su proveli Hu i suradnici, uspoređivalo serumske koncentracije i GFAP-a i UCH-L1 kod bolesnika s akutnim IMU-om i zdravih ispitanika. Utvrdili su povišene vrijednosti oba biomarkera u ranoj fazi moždanog udara, uz određenu povezanost s težinom moždanog infarkta, što je u skladu s rezultatima našeg istraživanja [98]. Međutim, iako su autori podijelili bolesnike prema težini moždanog udara na tešku, srednje tešku te blagu skupinu, takva podjela prvenstveno odražava posljedicu okluzije, odnosno volumen zahvaćenog moždanog tkiva, bez razmatranja osnovnog uzroka - vrste odnosno veličine okludirane krvne žile. Glavna prednost našeg istraživanja leži upravo u razlikovanju dviju vrsta vaskularnih okluzija kao uzroka ishemije te njihovoj povezanosti sa serumskim koncentracijama GFAP-a i UCH-L1. Takvo razlikovanje ima značajne kliničke implikacije jer zahtijeva različite terapijske pristupe. Rano prepoznavanje LVO i brže upućivanje bolesnika na potencijalnu EVT, osobito onih koji se nalaze udaljeno od CSC-a može biti od presudne važnosti za ishod liječenja. Randomizirano kontrolirano istraživanje provedeno u sklopu multicentrične studije MR CLEAN pokazalo je da se korist EVT-a smanjuje sa svakim satom odgode postizanja reperfuzije te da se apsolutna razlika u vjerojatnosti povoljnog ishoda smanjuje za približno 6% svakim satom kašnjenja [99]. Stoga svaki postupak koji može ubrzati postavljanje točne dijagnoze IMU-a, osobito u prehospitalnim uvjetima, ima potencijal povećati preživljenje bolesnika i smanjiti stupanj trajne onesposobljenosti.

Kako je pokazano, težina kliničke slike je razmjerna povišenim razinama GFAP-a i UCH-L1 u krvi što su nadalje utvrdili Herrmann i suradnici te dodatno pokazali povezanost koncentracija GFAP-a i S-100B s volumenom moždanih lezija određenim na nativnim CT snimkama mozga, pri čemu su volumeni izračunavani na temelju jasno ograničenih područja infarkta [95]. Uzimajući u obzir ova istraživanja, kao i ranije navedena biološka svojstva GFAP-a i UCH-L1 u vidu oslobađanja u krvotok koje je razmjerno opsegu oštećenja moždanog tkiva, neočekivano je da u našem istraživanju nije utvrđena povezanost njihovih serumskih koncentracija s volumenom jezgre infarkta. Jedno od mogućih objašnjenja leži u istraživanju koje su proveli d’Esterre i suradnici. Oni su pokazali da CTP parametri, tj. izračuni prvenstveno odražavaju trenutačno perfuzijsko stanje moždanog tkiva, ali ne pružaju izravan uvid u količinu tkiva koje je pretrpjelo nepovratno oštećenje [100].

Dodatno, kod bolesnika koji se podvrgavaju hitnoj neuroradiološkoj obradi u hiperakutnoj fazi MU-a, unutar prvog sata od pojave simptoma, za pouzdano određivanje volumena jezgre infarkta na CTP-u potrebno je koristiti strože pragove za CBF [101]. Međutim, u hitnim kliničkim situacijama prilagođavanje pragova za svakog pojedinog bolesnika može dovesti do neželjenog gubitka dragocjenog vremena, a često nije ni poznato točno vrijeme nastanka simptoma. Zbog toga rezultati CTP-a u akutnoj fazi MU-a mogu biti varljivi, dok bi MR snimanje u određenim slučajevima moglo pružiti preciznije informacije o opsegu oštećenja moždanog tkiva, ali ta pretraga sa sobom nosi druge aspekte tehničkih poteškoća [102]. S druge strane, nismo očekivali povezanost volumena penumbre sa serumskim koncentracijama biomarkera, budući da penumbra predstavlja područje hipoperfuzije u kojem još nije nastupila stanična smrt. Isto se može reći i za ostale perfuzijske parametre, koji odražavaju trenutačno zahvaćeno moždano tkivo, neovisno o tome radi li se o manjem ili većem volumenu. Takvo objašnjenje je u skladu s rezultatima našeg istraživanja.

Kao i svi CTP parametri, tako i pozitivan HAS - parametar nativnog CT-a koji upućuje na teži klinički ishod, u smislu češće prisutnosti poremećaja vida, motoričkog deficita gornjih i donjih ekstremiteta, dizatrije ili disfazije, nije pokazao korelaciju sa serumskim razinama biomarkera [103]. Jedno od mogućih objašnjenja jest da pozitivan HAS prvenstveno upućuje na veći ili gušći tromb, koji je teže liječiti uz pomoć IVT ili MT. Posljedično, teži klinički ishod više ovisi o uspješnosti provedenog liječenja nego o samoj veličini zahvaćenog moždanog tkiva. Nakon što dođe do okluzije krvne žile, obilježja tromba više nisu presudna za neurone koji se nalaze distalno od mjesta okluzije i izloženi su hipoperfuziji. Stoga se ne očekuje da koncentracije biomarkera ovise o gustoći tromba, koja se na CT-u očituje kao povećana atenuacija. Slično tome, ni činjenica je li bila okludirana jedna velika krvna žila ili njihova kombinacija nije pokazala utjecaj na serumske koncentracije GFAP-a i UCH-L1. Takav nalaz može se objasniti sličnim mehanizmom. Opisane kombinacije okluzija, poput T-okluzije i tandemске okluzije, najčešće započinju u proksimalnom dijelu krvne žile te se šire distalno [104]. Nakon nastanka početne okluzije i razvoja distalne ishemije, dodatne okluzije u distalnim ograncima ne uzrokuju dodatno oštećenje moždanog tkiva te stoga ne bi trebale imati dodatni utjecaj na serumske koncentracije biomarkera.

Nadalje, niti jedno od dalje analiziranih obilježja tromba nije pokazalo povezanost sa serumskim koncentracijama GFAP-a i UCH-L1. Iako su brojna istraživanja pokazala da duljina, volumen i gustoća tromba mogu biti povezani s boljim ili lošijim kliničkim ishodom, rezultati našeg istraživanja upućuju na to da opseg zahvaćenog moždanog tkiva ostaje neovisan o tim karakteristikama [105,106]. Isti rezultati su pokazani i kod korelacije CBS-a s razinama biomarkera. Kod svih navedenih parametara vezanih za karakteristiku samog tromba se možemo voditi istim

objašnjenjem. Iako razni parametri odražavaju opseg utjecaja tromba na krvožilje, odnosno na širenja tromba unutar same žile, ključnu ulogu ima početno proksimalno mjesto okluzije koje djeluje po principu „sve ili ništa“, dok naknadno distalno širenje tromba nema dodatni utjecaj na opseg ishemijskog oštećenja [104].

S druge strane, CS predstavlja pokazatelj sposobnosti mozga da očuva ugroženo tkivo putem kolateralne cirkulacije. Stoga izostanak povezanosti između CS-a i serumskih koncentracija biomarkera nije neočekivan nalaz. Iako teoretski postoji mogućnost da dobro razvijena leptomeningealna kolateralna mreža omogući reperfuziju područja jezgre infarkta, u našem istraživanju takva povezanost nije potvrđena. Kolateralna cirkulacija može prvenstveno usporiti prijelaz potencijalno spasivog tkiva penumbre u nepovratno oštećeno moždano tkivo, čime posredno utječe na klinički ishod bolesnika [63]. Međutim, prema našim rezultatima, njezin utjecaj nije bio povezan sa serumskim koncentracijama GFAP-a i UCH-L1.

Osim slikovnih karakteristika IMU pacijenata, analizirali smo i neke, moguće značajne, kliničke parametre poput poznatog vremena nastanka simptoma. Kao što je prethodno navedeno, točno vrijeme nastanka simptoma nam nije uvijek poznato - nekada pacijenti budu pronađeni u stanju neurološkog deficita ili bez svijesti, a nekada pri buđenju sami zamijete neke od simptoma. To može predstavljati problem jer su pojedina istraživanja pokazala kako je oslobađanje GFAP-a i UCH-L1 vremenski ovisan proces [96,107]. U naše istraživanje bilo je uključeno 10 WUS bolesnika, pri čemu nisu utvrđene razlike u serumskim koncentracijama biomarkera u odnosu na bolesnike s poznatim vremenom nastanka simptoma. Moguće objašnjenje za takve rezultate može se pronaći u istraživanju Chenga i suradnika, provedenog u sklopu velike studije WAKE-UP [108]. Koristeći MR, autori su istraživali vrijeme nastanka noćnih moždanih udara uzimajući u obzir vrijeme kada je bolesnik posljednji put viđen bez simptoma i vrijeme kada su simptomi prvi put primijećeni. Zaključili su da se akutni IMU najčešće događa tijekom ranih jutarnjih sati, odnosno znatno bliže trenutku prvog uočavanja simptoma nego vremenu kada je bolesnik posljednji put bio bez simptoma. Stoga, ako se WUS događa relativno blizu trenutku prepoznavanja simptoma, takvi se bolesnici mogu promatrati kao bolesnici s „uobičajenim“ akutnim IMU-om. U tom slučaju ne očekuju se značajne razlike u vremenski ovisnom oslobađanju biomarkera, što je u skladu s rezultatima našeg istraživanja.

Nadalje smo istražili NIHSS rezultat koji predstavlja procjenu neurološkog statusa bolesnika pri prijemu te se smatra jednim od važnih pokazatelja težine IMU-a i prediktor je kliničkog ishoda kod LVO pacijenata [109]. Pojedina istraživanja pokazala su pozitivnu povezanost između serumskih koncentracija GFAP-a i NIHSS rezultata, pri čemu su više koncentracije GFAP-a bile

povezane s višim NIHSS vrijednostima [110,111]. Takvi rezultati nisu u skladu s našim nalazima, budući da u našem istraživanju nije utvrđena razlika između skupina s povoljnim i nepovoljnim NIHSS rezultatom. Međutim, navedena istraživanja nisu koristila jedinstven način podjele bolesnika prema NIHSS rezultatu te su se razlikovala i prema vremenu uzimanja uzoraka krvi, koje je u nekim slučajevima iznosilo i do 72 sata od početka simptoma. S druge strane, istraživanje Yigita i suradnika nije pokazalo povezanost između UCH-L1 i NIHSS rezultata, što je u skladu s našim nalazima [89]. U našem istraživanju podjela prema NIHSS rezultatu temeljila se na kategorizaciji IMU-a na blagi, umjereni, umjereno teški i teški oblik, pri čemu su blagi i umjereni moždani udari smatrani povoljnima, a umjereno teški i teški nepovoljnima. Međutim, takva podjela temelji se isključivo na kliničkoj slici bolesnika u trenutku pojave simptoma kada opsežno neuronalno oštećenje još uvijek nije nužno nastupilo. Hipoperfuzija potencijalno spasivog moždanog tkiva u području penumbre može uzrokovati izražene neurološke simptome bez istodobnog porasta serumskih koncentracija biomarkera u trenutku testiranja.

Osim kliničkih prediktornih parametara, istražili smo i kliničke ishode IMU pacijenata određene prema mRS rezultatu pri otpustu. Naši rezultati su pokazali da su više koncentracije GFAP-a i UCH-L1 u krvi povezane s lošijim kliničkim ishodom. Budući da ovi biomarkeri odražavaju količinu već oštećenog moždanog tkiva, takav je nalaz očekivan te je za GFAP u skladu s nedavno objavljenim preglednim radom Anogianakisa i suradnika, dok za UCH-L1 ne postoje usporedivi podaci iz literature [112]. Na rezultate nije značajno utjecalo je li bolesnik primio neki oblik EVT-a ili ne, budući da je oštećenje moždanog tkiva već bilo nastupilo prije provedene intervencije. Tako su rezultati pokazali istu povezanost povišenih vrijednosti biomarkera s lošijim ishodom kada smo analizirali samo pacijente s uspješnom rekanalizacijom okluzije, bilo uz pomoć IVT-a ili MT. S ciljem opsežnije analize kod pacijenata i s dobrim i s lošim ishodom smo proučili sve ranije obrađene slikovne parametre kako bismo procijenili njihov prognostički potencijal. Utvrdili smo da su u skupini bolesnika s povoljnim kliničkim ishodom koncentracije GFAP-a bile povezane s duljinom i volumenom tromba, dok je UCH-L1 pokazao povezanost s volumenom jezgre infarkta. U skupini bolesnika s nepovoljnim kliničkim ishodom nije pronađena povezanost niti jednog analiziranog parametra s koncentracijama biomarkera. Za navedene pojedinačne parametre nismo uspjeli pronaći zadovoljavajuće biološko ili patofiziološko objašnjenje povezanosti te je vjerojatnije da odražavaju ograničenu statističku snagu analiziranih skupina.

Dodatno smo usporedili rezultate rutinskih laboratorijskih pretraga pacijenata pri prijemu između skupina bolesnika sa SVO i LVO. Jedina statistički značajna razlika utvrđena je za protrombinsko vrijeme (PV), koje je bilo nešto niže u LVO skupini. Budući da su analizirane samo

vrijednosti PV-a, a ne i pojedini čimbenici koagulacije koji se rutinski ne određuju, teško je donijeti pouzdane zaključke o značenju ovog nalaza. Brojni biomarkeri povezani s koagulacijom i upalnim procesima dovedeni su u vezu s akutnim ishemijskim moždanim udarom, no još uvijek nisu pokazali sposobnost pouzdanog predviđanja ishoda liječenja, težine MU-a u akutnoj fazi niti identifikacije bolesnika s povećanim rizikom [113]. Također, nijedan od općih pokazatelja oštećenja tkiva, poput laktat dehidrogenaze i C-reaktivnog proteina, nije pokazao razliku između analiziranih skupina [114,115]. Iako je broj oštećenih stanica kod bolesnika s LVO znatno veći nego kod bolesnika sa SVO, serumske koncentracije ovih biljega nisu se razlikovale.

Završno smo istražili demografske parametre, dob i spol te njihov potencijalni utjecaj na razine biomarkera. U našoj studiji je postojala razlika u spolnoj raspodjeli između svih skupina; zdravih, SVO i LVO. U skupini s LVO prevladavale su žene, dok su u skupini sa SVO bili zastupljeniji muškarci. Naše istraživanje nije pronašlo razlike između muškaraca i žena u razinama biomarkera kod LVO pacijenata. Međutim, jedno istraživanje je pokazalo više koncentracije UCH-L1 kod muškaraca u odnosu na žene, bez značajnog utjecaja na dijagnostičku točnost biomarkera dok za GFAP nisu pronađene razlike između spolova [116]. Moguće je da su takve razlike izražene u fiziološkim uvjetima, dok akutni MU uzrokuje toliko značajan porast koncentracija biomarkera da razlike među spolovima postaju teško uočljive.

Također je postojala dobna razlika između naših ispitivanih skupina. Međutim, dosadašnja literatura donosi proturječne rezultate o utjecaju dobi na serumske koncentracije GFAP-a i UCH-L1. Dok neka istraživanja nisu pronašla razlike među dobnim skupinama, druga su pokazala porast koncentracija biomarkera sa starenjem [89,117]. Unatoč dobnim i spolnim razlikama između naših skupina, njihova raspodjela odražava epidemiološka obilježja populacije oboljele od MU, pri čemu su viša životna dob i ženski spol povezani s većim opterećenjem mortalitetom i invaliditetom uzrokovanim MU-om [118].

Jedno od ograničenja, osim dobne i spolne razlike ispitivanih skupina je relativno mali broj bolesnika uključenih u istraživanje. Veći uzorak mogao bi produbiti spoznaje o GFAP-u i UCH-L1 općenito, ali u vidu potencijalne primjene u bolesnika s akutnim IMU-om. Također bi se omogućila podjela svih bolesnika liječenih MT-om u manje skupine prema korištenoj tehnici zahvata i broju pokušaja ekstrakcije tromba potrebnih za postizanje reperfuzije. Konačno, suradnja s drugim centrima za liječenje moždanog udara omogućila bi uključivanje većeg broja bolesnika te pružila uvid u moguće razlike u donošenju terapijskih odluka i organizaciji skrbi, budući da su rezultati ovog istraživanja ograničeni na iskustvo jednog centra.

Dodatno ograničenje našeg istraživanja predstavlja nedostatak podataka o mRS rezultatima nakon 90 dana za LVO pacijente. U analizi smo koristili mRS pri otpustu iz bolnice, dok su podaci nakon 90 dana bili dostupni za samo devet bolesnika, ne uključujući 12 bolesnika koji su preminuli tijekom početnog bolničkog liječenja. Za preostalog 31 bolesnika podaci nisu bili dostupni jer se ili nisu odazvali kontrolnom pregledu ili su nastavili liječenje u drugim zdravstvenim ustanovama. Takva situacija nije neuobičajena, budući da dio naših bolesnika tijekom ljetne sezone čine turisti koji se nakon početnog liječenja odlučuju za nastavak zdravstvene skrbi u svojoj matičnoj zemlji.

Glavna prednost našeg istraživanja jest potvrda postojanja razlika u serumskim koncentracijama GFAP-a i UCH-L1 između bolesnika sa SVO i LVO, kao i doprinos boljem razumijevanju uloge slabije istraženog biomarkera UCH-L1 u akutnom IMU, budući da povišene koncentracije upućuju na nepovoljniju kliničku prognozu. Mogućnost određivanja graničnih vrijednosti biomarkera za prepoznavanje LVO uz relativno visoku osjetljivost i specifičnost predstavlja obećavajući temelj za buduća istraživanja. U konačnici bi to moglo omogućiti razvoj brzih biomarker testova koji bi služili kao dodatni alat za rano, prehospitalno prepoznavanje IMU-a, slično ulozi brzog određivanja troponina u dijagnostici infarkta miokarda [119].

Nadalje, istraživanje je pokazalo ograničenu pouzdanost CT perfuzije (CTP) kada se primjenjuje unutar prvih šest sati od nastanka simptoma te nije utvrdilo povezanost biomarkera s brojnim CT i CTA parametrima. Ovi rezultati naglašavaju potrebu za multidisciplinarnim pristupom u zbrinjavanju bolesnika s IMU-om, uzimajući u obzir postojeće izazove u brzom dijagnostici bolesti. Također ističu potrebu za dodatnim oprezom i kritičkim pristupom intervencijskih radiologa pri donošenju odluke o provođenju MT, osobito u složenim kliničkim situacijama u kojima nije jednoznačno procijeniti potencijalnu korist zahvata.

U državama u kojima manji dio stanovništva živi u gradovima koji imaju CSC, bolesnici ovise o pravodobnom prepoznavanju simptoma od strane samih bolesnika, hitne medicinske službe ili liječnika hitne medicine, odgovarajućoj dijagnostičkoj obradi, početnom neuroradiološkom snimanju (ako je dostupno), prijenosu slikovnih podataka putem teleradiologije u CSC te naposljetku o učinkovitom transportnom sustavu. Tijekom tog dugotrajnog procesa gubi se dragocjeno vrijeme. Stoga očekujemo da će buduća istraživanja na većem broju bolesnika omogućiti donošenje stabilnijih zaključaka i preciznijih smjernica o ulozi laboratorijskih biomarkera u obradi bolesnika prije slikovne dijagnostike ili, u određenim situacijama, kao njezine dopune.

7. ZAKLJUČCI

1. Serumske koncentracije GFAP-a i UCH-L1 bile su značajno povišene u bolesnika s akutnim IMU u odnosu na zdrave ispitanike te su pokazivale postupni porast od kontrolne skupine, preko bolesnika sa SVO do bolesnika s LVO.
2. Oba biomarkera pokazala su zadovoljavajuću dijagnostičku točnost u razlikovanju bolesnika s LVO od bolesnika sa SVO te vrlo visoku točnost u razlikovanju bolesnika s LVO od zdravih ispitanika.
3. Serumske koncentracije GFAP-a i UCH-L1 nisu pokazale značajnu povezanost s većinom analiziranih neuroradioloških parametara, uključujući sve analizirane karakteristike tromba, CBS, CS te sve CT perfuzijske parametre.
4. Povišene serumske koncentracije GFAP-a i UCH-L1 bile su povezane s nepovoljnijim funkcionalnim ishodom, dok su niže koncentracije bile povezane s povoljnim ishodom.
5. Nije utvrđena povezanost koncentracija GFAP-a i UCH-L1 s NIHSS rezultatom, prisutnošću HAS-a, kao ni opsegom zahvaćenosti krvnih žila kod bolesnika s LVO.
6. Nisu utvrđene značajne razlike u koncentracijama GFAP-a i UCH-L1 s obzirom na spol ni prisutnost moždanog udara nepoznatog vremena nastanka u smislu WUS-a.

8. LITERATURA

1. National Heart, Lung, and Blood Institute. What is a stroke? [Internet]. 2014 Mar 26 [cited 2015 Feb 26]. Available from: <https://www.nhlbi.nih.gov/health/health-topics/topics/stroke>.
2. World Health Organization. Cerebrovascular disorders (Offset Publications). Geneva: World Health Organization; 1978.
3. George MG, Fischer LS, Koroshetz WJ, Bushnell CD, Frankel M, Foltz J, Thorpe PG. CDC Grand Rounds: Public Health Strategies to Prevent and Treat Strokes. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2017;66(18):479–481. doi:10.15585/mmwr.mm6618a5. PMID: 28493856.
4. Donnan GA, Fisher M, Macleod M, Davis SM. Stroke. *Lancet*. 2008;371(9624):1612–1623. doi:10.1016/S0140-6736(08)60694-7. PMID: 18468545.
5. National Heart, Lung, and Blood Institute. What are the signs and symptoms of a stroke? [Internet]. 2014 Mar 26 [cited 2015 Feb 27]. Available from: <https://www.nhlbi.nih.gov/health/health-topics/topics/stroke/signs.html>.
6. Unnithan AK, Das JM. Hemorrhagic stroke. [Updated 2025 Dec 13]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559173/>.
7. National Heart, Lung, and Blood Institute. Who is at risk for a stroke? [Internet]. 2014 Mar 26 [cited 2015 Feb 27]. Available from: <https://www.nhlbi.nih.gov/health/health-topics/topics/stroke/atrisk>.
8. Chugh C. Acute ischemic stroke: management approach. *Indian J Crit Care Med*. 2019;23(Suppl 2):S140–S146. doi:10.5005/jp-journals-10071-23192.
9. Hacke W, Kaste M, Bluhmki E, Brozman M, Dávalos A, et al. Thrombolysis with alteplase 3 to 4.5 hours after acute ischemic stroke. *N Engl J Med*. 2008;359(13):1317–1329. doi:10.1056/NEJMoa0804656.
10. Turc G, Bhogal P, Fischer U, Khatri P, Lobotesis K, Mazighi M, et al. European Stroke Organisation (ESO)–European Society for Minimally Invasive Neurological Therapy (ESMINT) guidelines on mechanical thrombectomy in acute ischemic stroke. *J Neurointerv Surg*. 2023;15:e8. doi:10.1136/neurintsurg-2018-014569.
11. Pacific Neuroscience Institute. What is the difference between hemorrhagic and ischemic stroke? [Internet]. 2023 Mar 3 [cited 2023 Nov 1]. Available from: <https://www.pacificneuroscienceinstitute.org/blog/stroke/what-is-the-difference-between-hemorrhagic-and-ischemic-stroke/>.
12. Karaszewski B, Wardlaw JM, Marshall I, Cvorovic V, Wartolowska K, Haga K, et al. Early brain temperature elevation and anaerobic metabolism in human acute ischaemic stroke. *Brain*. 2009;132(Pt 4):955–964. doi:10.1093/brain/awp010. PMID: 19346327.

13. Nakanishi N, Tu S, Shin Y, Cui J, Kurokawa T, Zhang D, et al. Neuroprotection by the NR3A subunit of the NMDA receptor. *J Neurosci.* 2009;29(16):5260–5265. doi:10.1523/JNEUROSCI.1067-09.2009.
14. Brouns R, De Deyn PP. The complexity of neurobiological processes in acute ischemic stroke. *Clin Neurol Neurosurg.* 2009;111(6):483–495. doi:10.1016/j.clineuro.2009.04.001. PMID: 19446389.
15. Saver JL. Time is brain—quantified. *Stroke.* 2006;37(1):263–266. doi:10.1161/01.STR.0000196957.55928.ab. PMID: 16339467.
16. Heuschmann PU, Berger K, Misselwitz B, Hermanek P, Leffmann C, et al. Frequency of thrombolytic therapy in patients with acute ischemic stroke and the risk of in-hospital mortality: the German Stroke Registers Study Group. *Stroke.* 2003;34(5):1106–1113. doi:10.1161/01.STR.0000065198.80347.C5. PMID: 12663875.
17. Adams HP Jr, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST (Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment). *Stroke.* 1993;24(1):35–41. doi:10.1161/01.STR.24.1.35. PMID: 7678184.
18. Lakomkin N, Dhamoon M, Carroll K, Singh IP, Tuhim S, Lee J, Fifi JT, Mocco J. Prevalence of large vessel occlusion in patients presenting with acute ischemic stroke: a 10-year systematic review of the literature. *J Neurointerv Surg.* 2019;11(3):241–245. doi:10.1136/neurintsurg-2018-014239. PMID: 30415226.
19. Bouthillier A, van Loveren H, Keller J. Segments of the internal carotid artery: a new classification. *Neurosurgery.* 1996;38(3):425–432; discussion 432–433. doi:10.1097/00006123-199603000-00001.
20. Quiñones-Hinojosa A, editor. Schmidek and Sweet: Operative Neurosurgical Techniques. 6th ed. Philadelphia (PA): Elsevier/Saunders; 2012. ISBN: 9781416068396.
21. Perlmutter D, Rhoton A. Microsurgical anatomy of the distal anterior cerebral artery. *J Neurosurg.* 1978;49(2):204–228. doi:10.3171/jns.1978.49.2.0204.
22. Kakou M, Destrieux C, Velut S. Microanatomy of the pericallosal arterial complex. *J Neurosurg.* 2000;93(4):667–675. doi:10.3171/jns.2000.93.4.0667.
23. Gibo H, Carver CC, Rhoton AL Jr, Lenkey C, Mitchell RJ. Microsurgical anatomy of the middle cerebral artery. *J Neurosurg.* 1981;54(2):151–169. doi:10.3171/jns.1981.54.2.0151. PMID: 7452329.

24. Poppe AY, Jacquin G, Roy D, Stapf C, Derex L. Tandem carotid lesions in acute ischemic stroke: mechanisms, therapeutic challenges, and future directions. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2020;41(7):1142–1148. doi:10.3174/ajnr.A6582.
25. Morotti A, Paciaroni M, Zini A, Silvestrelli G, Del Zotto E, et al. Risk profile of symptomatic lacunar stroke versus nonlobar intracerebral hemorrhage. *Stroke*. 2016;47(8):2141–2143. doi:10.1161/STROKEAHA.116.013722.
26. American Stroke Association. Stroke warning signs and symptoms [Internet]. 2018 [cited 2017 Jan 3]. Available from: <https://www.strokeassociation.org/en/about-stroke/stroke-symptoms>.
27. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Svjetski dan moždanog udara 2022 – Sačuvaj #dragocjenovrijeme [Internet]. 2022 Oct 28 [cited 2024 Jan 17]. Available from: <https://www.hzjz.hr/aktualnosti/svjetski-dan-mozdanog-udara-2022-sacuvaj-dragocjenovrijeme/>.
28. National Institute of Neurological Disorders and Stroke. NIH Stroke Scale [Internet]. 2024 [cited 2024 Jan 17]. Available from: <https://www.ninds.nih.gov/health-information/public-education/know-stroke/health-professionals/nih-stroke-scale>.
29. Wilson JL, Hareendran A, Grant M, Baird T, Schulz UG, Muir KW, et al. Improving the assessment of outcomes in stroke: use of a structured interview to assign grades on the modified Rankin Scale. *Stroke*. 2002;33(9):2243–2246. doi:10.1161/01.STR.0000027437.22450.BD. PMID: 12215594.
30. Saver JL, Filip B, Hamilton S, Yanes A, Dodds J, Alger JR, et al. Improving the reliability of stroke disability grading in clinical trials and clinical practice: the Rankin Focused Assessment (RFA). *Stroke*. 2010;41(5):992–995. doi:10.1161/STROKEAHA.109.571364. PMCID: PMC2930146. PMID: 20360551.
31. Thompson MP, Reeves MJ. Abstract 168: Assessing the utility of the modified Rankin Scale (mRS) at discharge to predict day 90 outcomes in acute stroke registries. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2012;5(Suppl 1):A168. doi:10.1161/CIRCOUTCOMES.5.suppl_1.A168.
32. Rodriguez-Hernandez A, Babici D, Campbell M, Carranza-Reneteria O, Hammond T. Hypoglycemic hemineglect: a stroke mimic. *eNeurologicalSci*. 2023;30:100444. doi:10.1016/j.ensci.2023.100444. PMID: 36698773.
33. Tiwet PD, Kuigwa IT, Mendeuka RS, Gazagnes MD. Hyponatremia and stroke mimic: a case report. *Pan Afr Med J*. 2022;43:39. doi:10.11604/pamj.2022.43.39.36701. PMID: 36505020.

34. Biomarkers Definition Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 2001;69(3):89–95. doi:10.1067/mcp.2001.113989.
35. Pirahanchi Y, Toro F, Jialal I. Physiology, thyroid stimulating hormone. [Updated 2023 May 1]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499850/>.
36. Eyth E, Zubair M, Naik R. Hemoglobin A1C. [Updated 2025 Jun 2]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549816/>.
37. David MK, Leslie SW. Prostate-specific antigen. [Updated 2024 Sep 10]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557495/>.
38. Takeda S, Yamashita A, Maeda K, Maéda Y. Structure of the core domain of human cardiac troponin in the Ca(2+)-saturated form. *Nature.* 2003;424(6944):35–41. doi:10.1038/nature01780. PMID: 12840750.
39. Mirkin J, Radecki R, Spiegel R. Deriving peace of mind: in search of a fifth-generation troponin testing threshold to safely rule out acute myocardial infarction (March 2019 Annals of Emergency Medicine Journal Club). *Ann Emerg Med.* 2019;73(3):317–319. doi:10.1016/j.annemergmed.2019.01.029. PMID: 30797301.
40. Hsieh YF, Lin KJ. Rapid-test kit for cardiac troponin I: a reliable enzyme-linked-immuno-substrate-assay-based biosensor for daily-use naked-eye detection and pharmacokinetic studies for myocardial infarction in cardiovascular disease. *ACS Pharmacol Transl Sci.* 2024;7(8):2369–2378. doi:10.1021/acsptsci.4c00218. PMID: 39144556.
41. Kamtchum-Tatuene J, Jickling GC. Blood biomarkers for stroke diagnosis and management. *Neuromolecular Med.* 2019;21(4):344–368. doi:10.1007/s12017-019-08530-0. PMID: 30830566.
42. Whiteley W, Tseng MC, Sandercock P. Blood biomarkers in the diagnosis of ischemic stroke: a systematic review. *Stroke.* 2008;39(10):2902–2909. doi:10.1161/STROKEAHA.107.511261. PMID: 18658039.
43. U.S. Food and Drug Administration. FDA authorizes marketing of first blood test to aid in the evaluation of concussion in adults [Press release]. 2018 Feb 14 [cited 2023 Nov 1]. Available from: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-authorizes-marketing-first-blood-test-aid-evaluation-concussion-adults>.

44. Bishop P, Rocca D, Henley JM. Ubiquitin C-terminal hydrolase L1 (UCH-L1): structure, distribution and roles in brain function and dysfunction. *Biochem J.* 2016;473(16):2453–2462. doi:10.1042/BCJ20160082.
45. Tezel E, Hibi K, Nagasaka T, Nakao A. PGP9.5 as a prognostic factor in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res.* 2000;6(12):4764–4767. PMID: 11156232.
46. Yamazaki T, Hibi K, Takase T, Tezel E, Nakayama H, Kasai Y, et al. PGP9.5 as a marker for invasive colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 2002;8(1):192–195. PMID: 11801558.
47. Miyoshi Y, Nakayama S, Torikoshi Y, Tanaka S, Ishihara H, Taguchi T, Tamaki Y, Noguchi S. High expression of ubiquitin carboxy-terminal hydrolase-L1 and -L3 mRNA predicts early recurrence in patients with invasive breast cancer. *Cancer Sci.* 2006;97(6):523–529. doi:10.1111/j.1349-7006.2006.00202.x. PMID: 16734731.
48. Eng LF, Ghirnikar RS, Lee YL. Glial fibrillary acidic protein: GFAP—thirty-one years (1969–2000). *Neurochem Res.* 2000;25(9–10):1439–1451. doi:10.1023/A:1007677003387.
49. Rivera-Zengotita M, Yachnis AT. Gliosis versus glioma? *Adv Anat Pathol.* 2012;19(4):239–249. doi:10.1097/PAP.0b013e31825c6a04. PMID: 22692287.
50. Ren C, Kobeissy F, Alawieh A, Li N, Li N, Zibara K, et al. Assessment of serum UCH-L1 and GFAP in acute stroke patients. *Sci Rep.* 2016;6:24588.
51. Perry LA, Lucarelli T, Penny-Dimri JC, McInnes MD, Mondello S, Bustamante A, et al. Glial fibrillary acidic protein for the early diagnosis of intracerebral hemorrhage: systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy. *Int J Stroke.* 2019;14(4):390–399.
52. Lugauer F, Wetzl J. Magnetic resonance imaging. In: Maier A, Steidl S, Christlein V, editors. *Medical Imaging Systems: An Introductory Guide.* Cham: Springer; 2018. Chapter 6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK546152/>. doi:10.1007/978-3-319-96520-8_6.
53. Jauch EC, Saver JL, Adams HP Jr, Bruno A, Connors JJ, Demaerschalk BM, et al. Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke.* 2013;44(3):870–947.
54. Berger M, Yang Q, Maier A. X-ray imaging. In: Maier A, Steidl S, Christlein V, editors. *Medical Imaging Systems: An Introductory Guide.* Cham: Springer; 2018. Chapter 7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK546155/>. doi:10.1007/978-3-319-96520-8_7.
55. Heit JJ, Iv M, Wintermark M. Imaging of intracranial hemorrhage. *J Stroke.* 2017;19(1):11–27.

56. Tomandl B, Klotz E, Handschu R, Stemper B, Reinhardt F, Huk WJ, et al. Comprehensive imaging of ischemic stroke with multisection CT. *Radiographics*. 2003;23(3):565-592.
57. Tomsick T, Brott T, Barsan W, Broderick J, Haley EC Jr, Spilker J, et al. Prognostic value of the hyperdense middle cerebral artery sign and stroke scale score before ultraearly thrombolytic therapy. *AJNR Am J Neuroradiol*. 1996;17(1):79-85.
58. Tomsick T, Brott T, Barsan W, Broderick J, Haley EC Jr, Spilker J, et al. Prognostic value of the hyperdense middle cerebral artery sign and stroke scale score before ultraearly thrombolytic therapy. *AJNR Am J Neuroradiol*. 1996;17(1):79-85.
59. Rossi R, Fitzgerald S, Gil SM, Mereuta OM, Douglas A, Pandit A, et al. Correlation between acute ischaemic stroke clot length before mechanical thrombectomy and extracted clot area: impact of thrombus size on number of passes for clot removal and final recanalization. *Eur Stroke J*. 2021;6(3):254-261.
60. Riedel CH, Zimmermann P, Jensen-Kondering U, Stingele R, Deuschl G, Jansen O. The importance of size: successful recanalization by intravenous thrombolysis in acute anterior stroke depends on thrombus length. *Stroke*. 2011;42(6):1775-1777.
61. Rogers DC, Tadi P. Intravenous contrast. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557794/>.
62. Puetz V, Dzialowski I, Hill MD, Subramaniam S, Sylaja PN, Krol A, et al. Intracranial thrombus extent predicts clinical outcome, final infarct size and hemorrhagic transformation in ischemic stroke: the clot burden score. *Int J Stroke*. 2008;3(4):230-236.
63. Tan IYL, Demchuk AM, Hopyan J, Zhang L, Gladstone D, Wong K, et al. CT angiography clot burden score and collateral score: correlation with clinical and radiologic outcomes in acute middle cerebral artery infarct. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2009;30(3):525-531.
64. Saremi F. *Perfusion Imaging in Clinical Practice: A Multimodality Approach to Tissue Perfusion Analysis*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2015.
65. de Lucas EM, Sánchez E, Gutiérrez A, Mandly AG, Ruiz E, Flórez AF, et al. CT protocol for acute stroke: tips and tricks for general radiologists. *Radiographics*. 2008;28(6):1673-1687.
66. Srinivasan A, Goyal M, Al Azri F, Lum C. State-of-the-art imaging of acute stroke. *Radiographics*. 2006;26 Suppl 1:S75-S95.
67. Boned S, Padroni M, Rubiera M, Tomasello A, Coscojuela P, Romero N, et al. Admission CT perfusion may overestimate initial infarct core: the ghost infarct core concept. *J Neurointerv Surg*. 2017;9(1):66-69.

68. Fink JN, Kumar S, Horkan C, Linfante I, Selim MH, Caplan LR, et al. The stroke patient who woke up: clinical and radiological features, including diffusion and perfusion MRI. *Stroke*. 2002;33(4):988-993.
69. Sussman BJ, Fitch TS. Thrombolysis with fibrinolysin in cerebral arterial occlusion. *J Am Med Assoc*. 1958;167:1705-1709.
70. Jilani TN, Siddiqui AH. Tissue plasminogen activator. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020.
71. Menon BK, Al-Ajlan FS, Najm M, Puig J, Castellanos M, Dowlatshahi D, et al. Association of clinical, imaging, and thrombus characteristics with recanalization of visible intracranial occlusion in patients with acute ischemic stroke. *JAMA*. 2018;320(10):1017-1026.
72. Fransen PSS, Beumer D, Berkhemer OA, van den Berg LA, Lingsma HF, van der Lugt A, et al. MR CLEAN, a multicenter randomized clinical trial of endovascular treatment for acute ischemic stroke in the Netherlands: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2014;15:343.
73. Mathews S, De Jesus O. Thrombectomy. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562154/>.
74. Ringheanu VM, Tekle WG, Preston L, Sarraj A, Hassan AE. Higher number of stent-retriever thrombectomy passes significantly increases risk of mass effect, poor functional outcome, and mortality. *Interv Neuroradiol*. 2023;29(6):674-682.
75. Tsang COA, Cheung IHW, Lau KK, Brinjikji W, Kallmes DF, Krings T. Outcomes of stent retriever versus aspiration-first thrombectomy in ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2018;39(11):2070-2076.
76. Chamorro Á, Blasco J, López A, Amaro S, Román LS, Llull L, et al. Complete reperfusion is required for maximal benefits of mechanical thrombectomy in stroke patients. *Sci Rep*. 2017;7(1):11636.
77. Winkelmeier L, Faizy TD, Brekenfeld C, Heitkamp C, Broocks G, Bechstein M, et al. Comparison of thrombolysis in cerebral infarction (TICI) 2b and TICI 3 reperfusion in endovascular therapy for large ischemic anterior circulation strokes. *J Neurointerv Surg*. 2024;16(11):1076-1082.
78. Ismail M, Armoiry X, Tau N, Zhu F, Sadeh-Gonik U, Piotin M, et al. Mothership versus drip and ship for thrombectomy in patients who had an acute stroke: a systematic review and meta-analysis. *J Neurointerv Surg*. 2019;11(1):14-19.

79. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Establishing and verifying an extended measuring interval through specimen dilution and spiking. CLSI guideline EP34. 1st ed. Berwyn (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018. p. 1-11.
80. Day IN, Thompson RJ. UCHL1 (PGP 9.5): neuronal biomarker and ubiquitin system protein. *Prog Neurobiol*. 2010;90:327-62.
81. Papa L, Akinyi L, Liu MC, Pineda JA, Tepas JJ 3rd, Oli MW, et al. Ubiquitin C-terminal hydrolase is a novel biomarker in humans for severe traumatic brain injury. *Crit Care Med*. 2010;38:138-44.
82. Papa L, Lewis LM, Silvestri S, Falk JL, Giordano P, Brophy GM, et al. Serum levels of ubiquitin C-terminal hydrolase distinguish mild traumatic brain injury from trauma controls and are elevated in mild and moderate traumatic brain injury patients with intracranial lesions and neurosurgical intervention. *J Trauma Acute Care Surg*. 2012;72:1335-44.
83. Vasile F, Dossi E, Rouach N. Human astrocytes: structure and functions in the healthy brain. *Brain Struct Funct*. 2017;222:2017-29.
84. Fawcett JW, Asher RA. The glial scar and central nervous system repair. *Brain Res Bull*. 1999;49:377-91.
85. Wilhelmsson U, Bushong EA, Price DL, Smarr BL, Phung V, Terada M, et al. Redefining the concept of reactive astrocytes as cells that remain within their unique domains upon reaction to injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:17513-8.
86. Gong B, Leznik E. The role of ubiquitin C-terminal hydrolase L1 in neurodegenerative disorders. *Drug News Perspect*. 2007;20:365-70.
87. Yang Z, Wang KK. Glial fibrillary acidic protein: from intermediate filament assembly and gliosis to neurobiomarker. *Trends Neurosci*. 2015;38:364-74.
88. Diaz-Arrastia R, Wang KK, Papa L, Sorani MD, Yue JK, Puccio AM, et al. Acute biomarkers of traumatic brain injury: relationship between plasma levels of ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 and glial fibrillary acidic protein. *J Neurotrauma*. 2014;31:19-25.
89. Yigit I, Atescelik M, Yilmaz M, Goktekin MC, Gurger M, Ilhan N. Investigation of UCH-L1 levels in ischemic stroke, intracranial hemorrhage and metabolic disorder induced impaired consciousness. *Am J Emerg Med*. 2017;35:1895-8.
90. Ebner F, Moseby-Knappe M, Mattsson-Carlgren N, Lilja G, Dragancea I, Undén J, et al. Serum GFAP and UCH-L1 for the prediction of neurological outcome in comatose cardiac arrest patients. *Resuscitation*. 2020;154:61-8.

91. Wu L, Ai ML, Feng Q, Deng S, Liu ZY, Zhang LN, et al. Serum glial fibrillary acidic protein and ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 for diagnosis of sepsis-associated encephalopathy and outcome prognostication. *J Crit Care*. 2019;52:172-9.
92. Papa L, Lewis LM, Falk JL, Zhang Z, Silvestri S, Giordano P, et al. Elevated levels of serum glial fibrillary acidic protein breakdown products in mild and moderate traumatic brain injury are associated with intracranial lesions and neurosurgical intervention. *Ann Emerg Med*. 2012;59:471-83.
93. Kumar A, Misra S, Yadav AK, Sagar R, Verma B, Grover A, et al. Role of glial fibrillary acidic protein as a biomarker in differentiating intracerebral haemorrhage from ischaemic stroke and stroke mimics: a meta-analysis. *Biomarkers*. 2020;25:1-8.
94. 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*. 1991;22:1254-8.
95. 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*. 2000;31:2670-7.
96. Liu MC, Akinyi L, Scharf D, Mo J, Larner SF, Muller U, et al. Ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 as a biomarker for ischemic and traumatic brain injury in rats. *Eur J Neurosci*. 2010;31:722-32.
97. Florijn BW, van der Bent L, Nguyen TMT, Quax PHA, Wermer MJH, Nossent AY, et al. Non-coding RNAs versus protein biomarkers to diagnose and differentiate acute stroke: systematic review and meta-analysis. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2023;32:107388.
98. Hu C, Yang X, Mao D, Lou S, Dai Q, Chen J, et al. Expression levels of ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 and serum glial fibrillary acidic protein and its clinical significance in patients with acute cerebral infarction. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2017;42:284-90.
99. Fransen PS, Berkhemer OA, Lingsma HF, Beumer D, van den Berg LA, Yoo AJ, et al. Time to reperfusion and treatment effect for acute ischemic stroke: a randomized clinical trial. *JAMA Neurol*. 2016;73:190-6.
100. d'Esterre CD, Boesen ME, Ahn SH, Pordeli P, Najm M, Minhas P, et al. Time-dependent computed tomographic perfusion thresholds for patients with acute ischemic stroke. *Stroke*. 2015;46:3390-7.

101. Najm M, Al-Ajlan FS, Boesen ME, Hur L, Kim CK, Fainardi E, et al. Defining CT perfusion thresholds for infarction in the golden hour and with ultra-early reperfusion. *Can J Neurol Sci.* 2018;45:339-42.
102. Chemmanam T, Campbell BC, Christensen S, Nagakane Y, Desmond PM, Bladin CF, et al. Ischemic diffusion lesion reversal is uncommon and rarely alters perfusion-diffusion mismatch. *Neurology.* 2010;75:1040-7.
103. Somford DM, Nederkoorn PJ, Rutgers DR, Kappelle LJ, Mali WP, van der Grond J. Proximal and distal hyperattenuating middle cerebral artery signs at CT: different prognostic implications. *Radiology.* 2002;223:667-71.
104. Di Donna A, Muto G, Giordano F, Muto M, Guarnieri G, Servillo G, et al. Diagnosis and management of tandem occlusion in acute ischemic stroke. *Eur J Radiol Open.* 2023;11:100513.
105. Rossi R, Fitzgerald S, Gil SM, Mereuta OM, Douglas A, Pandit A, et al. Correlation between acute ischaemic stroke clot length before mechanical thrombectomy and extracted clot area: impact of thrombus size on number of passes for clot removal and final recanalization. *Eur Stroke J.* 2021;6:254-61.
106. Moftakhar P, English JD, Cooke DL, Kim WT, Stout C, Smith WS, et al. Density of thrombus on admission CT predicts revascularization efficacy in large vessel occlusion acute ischemic stroke. *Stroke.* 2013;44:243-5.
107. Dvorak F, Haberer I, Sitzler M, Foerch C. Characterisation of the diagnostic window of serum glial fibrillary acidic protein for the differentiation of intracerebral haemorrhage and ischaemic stroke. *Cerebrovasc Dis.* 2009;27:37-41.
108. Cheng B, Pinnschmidt H, Königsberg A, Schlemm E, Boutitie F, Ebinger M, et al. Estimating nocturnal stroke onset times by magnetic resonance imaging in the WAKE-UP trial. *Int J Stroke.* 2022;17:323-30.
109. Pego-Pérez ER, Fernández-Rodríguez I, Pumar-Cebreiro JM. National Institutes of Health Stroke Scale, modified Rankin Scale, and modified Thrombolysis in Cerebral Infarction as autonomy predictive tools for stroke patients. *Rev Neurosci.* 2019;30:701-8.
110. Amalia L. Glial fibrillary acidic protein (GFAP): neuroinflammation biomarker in acute ischemic stroke. *J Inflamm Res.* 2021;14:7501-6.
111. Surjawan Y, As'ad S, Ranakusuma TAS, Wijaya A. GFAP and S100B protein are associated with discharged NIHSS of anterior circulation ischemic stroke. *Indones Biomed J.* 2012;4:107-12.

112. Anogianakis G, Daios S, Topouzis N, Barmpagiannos K, Kaiafa G, Myrou A, et al. Current trends in stroke biomarkers: the prognostic role of S100 calcium-binding protein B and glial fibrillary acidic protein. *Life (Basel)*. 2024;14:1247.
113. Barakzie A, Jansen AJG, Ten Cate H, de Maat MPM. Coagulation biomarkers for ischemic stroke. *Res Pract Thromb Haemost*. 2023;7:100160.
114. Brancaccio P, Lippi G, Maffulli N. Biochemical markers of muscular damage. *Clin Chem Lab Med*. 2010;48:757-67.
115. Pritchett JW. C-reactive protein levels determine the severity of soft-tissue injuries. *Am J Orthop*. 1996;25:759-61.
116. Papa L, Brophy GM, Alvarez W, Hirschl R, Cress M, Weber K, et al. Sex differences in time course and diagnostic accuracy of GFAP and UCH-L1 in trauma patients with mild traumatic brain injury. *Sci Rep*. 2023;13:11833.
117. Nichols NR, Day JR, Laping NJ, Johnson SA, Finch CE. GFAP mRNA increases with age in rat and human brain. *Neurobiol Aging*. 1993;14:421-9.
118. Rexrode KM, Madsen TE, Yu AYX, Carcel C, Lichtman JH, Miller EC. The impact of sex and gender on stroke. *Circ Res*. 2022;130:512-28.
119. Foerch C, Montaner J, Furie KL, Ning MM, Lo EH. Invited article: searching for oracles? Blood biomarkers in acute stroke. *Neurology*. 2009;73:393-9.

9. SAŽETAK

Uvod: Akutni ishemijski moždani udar (IMU) jedan je od vodećih uzroka smrtnosti i trajnog invaliditeta u svijetu. Pravodobno prepoznavanje bolesnika s okluzijom velike krvne žile (LVO) od ključne je važnosti zbog mogućnosti primjene mehaničke trombektomije, no dijagnostika se danas primarno oslanja na neuroradiološke metode. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati dijagnostičku i prognostičku vrijednost serumskih biomarkera glijalnog fibrilarnog kiselog proteina (GFAP) i ubikvitin C-terminalne hidrolaze-L1 (UCH-L1) u bolesnika s akutnim ishemijskim moždanim udarom te procijeniti njihovu povezanost s neuroradiološkim i kliničkim parametrima.

Metode: Istraživanje je provedeno kao opservacijska presječna studija u Kliničkom bolničkom centru Split. Uključeno je 69 bolesnika s akutnim ishemijskim moždanim udarom, podijeljenih na skupinu s okluzijom male krvne žile (SVO) i skupinu s okluzijom velike krvne žile (LVO), te 22 zdrava ispitanika u kontrolnoj skupini. Svim ispitanicima određene su serumske koncentracije GFAP-a i UCH-L1, a bolesnici su podvrgnuti standardnoj neuroradiološkoj obradi koja je uključivala nativni CT mozga, CT angiografiju i CT perfuziju.

Rezultati: Rezultati su pokazali statistički značajno više serumske koncentracije GFAP-a i UCH-L1 u bolesnika s LVO u odnosu na bolesnike sa SVO i kontrolnu skupinu. Oba biomarkera pokazala su zadovoljavajuću dijagnostičku točnost u razlikovanju LVO od SVO te vrlo visoku točnost u razlikovanju LVO od zdravih ispitanika. Nije utvrđena značajna povezanost između koncentracija biomarkera i većine analiziranih neuroradioloških parametara. Međutim, više vrijednosti GFAP-a i UCH-L1 bile su povezane s lošijim kliničkim ishodom mjerenim modificiranom Rankinovom ljestvicom.

Zaključak: Zaključno, GFAP i UCH-L1 predstavljaju obećavajuće serumske biomarkere za rano prepoznavanje bolesnika s okluzijom velike krvne žile te procjenu prognoze akutnog ishemijskog moždanog udara. Njihova primjena mogla bi nadopuniti postojeće neuroradiološke metode i pridonijeti bržem prepoznavanju bolesnika koji zahtijevaju hitno endovaskularno liječenje.

Ključne riječi: akutni ishemijski moždani udar, GFAP, UCH-L1, okluzija velike krvne žile, okluzija male krvne žile, mehanička trombektomija, biomarkeri, neuroradiologija

10. LAIČKI SAŽETAK NA HRVATSKOM JEZIKU

Moždani udar jedan je od najčešćih uzroka smrti i trajnog invaliditeta. Nastaje kada dio mozga ostane bez dovoljne količine krvi i kisika zbog začepljenja krvne žile. U takvim situacijama izuzetno je važno što prije postaviti dijagnozu i započeti liječenje jer svaka minuta može utjecati na oporavak bolesnika. Danas se moždani udar najčešće dijagnosticira pomoću radioloških pretraga, poput CT-a mozga. Međutim, takve pretrage nisu uvijek odmah dostupne, osobito u manjim bolnicama ili udaljenim područjima. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati mogu li dvije tvari koje se nakon oštećenja mozga oslobađaju u krv, GFAP i UCH-L1, pomoći liječnicima u procjeni težine moždanog udara. Ako bi se pokazale dovoljno pouzdanim, njihovo određivanje iz uzorka krvi moglo bi ubrzati prepoznavanje bolesnika kojima je potrebno hitno liječenje. U istraživanje su uključeni bolesnici liječeni zbog akutnog ishemijskog moždanog udara u Kliničkom bolničkom centru Split. Analizirane su koncentracije GFAP-a i UCH-L1 u krvi te su uspoređene s nalazima radioloških pretraga i ishodom liječenja. Rezultati su pokazali da su bolesnici s težim oblicima moždanog udara imali više vrijednosti oba biomarkera u krvi. Također, više vrijednosti bile su povezane s lošijim oporavkom bolesnika. Dobiveni rezultati upućuju na to da bi GFAP i UCH-L1 u budućnosti mogli pomoći liječnicima u ranijem prepoznavanju težih oblika moždanog udara i bržem odabiru odgovarajućeg liječenja. Iako su potrebna dodatna istraživanja na većem broju bolesnika, ovo istraživanje pokazuje da bi jednostavna analiza krvi jednog dana mogla postati vrijedan dodatak postojećim metodama dijagnostike moždanog udara te pridonijeti bržem liječenju i boljem oporavku bolesnika.

11. SAŽETAK NA ENGLESKOM JEZIKU

Introduction: Acute ischemic stroke (AIS) is one of the leading causes of mortality and long-term disability worldwide. Timely identification of patients with large vessel occlusion (LVO) is crucial due to the possibility of mechanical thrombectomy; however, current diagnostics primarily rely on neuroradiological imaging methods. The aim of this study was to evaluate the diagnostic and prognostic value of the serum biomarkers glial fibrillary acidic protein (GFAP) and ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 (UCH-L1) in patients with acute ischemic stroke and to assess their association with neuroradiological and clinical parameters.

Methods: This observational cross-sectional study was conducted at the University Hospital of Split. A total of 69 patients with acute ischemic stroke were included and divided into a small vessel occlusion (SVO) group and a large vessel occlusion (LVO) group, while 22 healthy volunteers served as controls. Serum concentrations of GFAP and UCH-L1 were measured in all participants. Stroke patients underwent a standard neuroradiological workup consisting of non-contrast brain computed tomography (CT), CT angiography (CTA), and CT perfusion (CTP).

Results: The results demonstrated significantly higher serum concentrations of GFAP and UCH-L1 in patients with LVO compared with patients with SVO and healthy controls. Both biomarkers showed satisfactory diagnostic accuracy in differentiating LVO from SVO and very high accuracy in distinguishing LVO patients from healthy individuals. No significant correlation was observed between biomarker levels and the majority of the analyzed neuroradiological parameters. However, elevated GFAP and UCH-L1 concentrations were associated with poorer clinical outcomes as assessed by the modified Rankin Scale (mRS).

Conclusions: In conclusion, GFAP and UCH-L1 represent promising serum biomarkers for the early identification of patients with large vessel occlusion and for prognostic assessment in acute ischemic stroke. Their application may complement existing neuroradiological methods and contribute to the more rapid recognition of patients who require urgent endovascular treatment.

Keywords: acute ischemic stroke, GFAP, UCH-L1, large vessel occlusion, small vessel occlusion, mechanical thrombectomy, biomarkers, neuroradiology

12. LAIČKI SAŽETAK NA ENGLESKOM JEZIKU

Stroke is one of the leading causes of death and long-term disability worldwide. It occurs when part of the brain is deprived of an adequate blood supply and oxygen due to a blocked blood vessel. In such situations, rapid diagnosis and treatment are essential, as every minute can influence the patient's recovery. Today, stroke is most commonly diagnosed using imaging techniques such as computed tomography (CT) of the brain. However, these examinations are not always immediately available, especially in smaller hospitals or remote areas. The aim of this study was to investigate whether two substances released into the bloodstream after brain injury, GFAP and UCH-L1, could help physicians assess stroke severity. If proven reliable, measuring these biomarkers in a blood sample could facilitate the early identification of patients who require urgent treatment. The study included patients treated for acute ischemic stroke at the University Hospital of Split. Blood levels of GFAP and UCH-L1 were measured and compared with imaging findings and treatment outcomes. The results showed that patients with more severe forms of stroke had higher levels of both biomarkers in their blood. Higher biomarker levels were also associated with poorer recovery. These findings suggest that GFAP and UCH-L1 may help physicians identify severe strokes at an earlier stage and select the most appropriate treatment more rapidly. Although further studies involving larger numbers of patients are needed, this research indicates that a simple blood test could one day become a valuable complement to current stroke diagnostic methods, contributing to faster treatment and improved patient outcomes.

OSOBNİ PODACI

Ime i prezime: Ivan Kraljević

Adresa: Domovinskog Rata 17

Telefon: 0981853969

Elektronička pošta: ivan.kraljevic93@gmail.com

Državljanstvo: Hrvatsko

Datum i mjesto rođenja: 24.10.1993. Split

IZOBRAZBA

2000. - 2008. godine - Osnovna škola „Manuš“, Split

2008. - 2012. godine - III. Gimnazija, Split

2012. - 2018. godine - Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, studijski program medicine

2018. - 2019. godine - pripravnički staž doktora medicine

2020. - 2025. godine - specijalizacija iz Kliničke radiologije pri Kliničkom zavodu za dijagnostičku i intervencijsku radiologiju KBC a Split

2021. - 2024. godine - Doktorski studij „Klinička medicina utemeljena na dokazima“

MATERINSKI JEZIK

- Hrvatski jezik

OSTALI JEZICI

- Engleski jezik
- Talijanski jezik
- Švedski jezik
- Njemački jezik

OSTALE AKTIVNOSTI

2014. - 2018. godine - demonstrator na Katedri za neuroznanost Medicinskog fakulteta u Splitu
2018. godine - demonstrator na Katedri za medicinsku propedeutiku Medicinskog fakulteta u Splitu
2021. - 2026. godine - međunarodne radionice za edukaciju iz raznih neurointervencijskih zahvata
2024. godine - OMI Salzburg Weill Cornell Seminar iz radiološke dijagnostike – certifikat za akademsku izvrsnost
2024. i 2025. godine - 9. i 10. Simpozij povodom Svjetskog dana moždanog udara u organizaciji Hrvatskog društva za prevenciju moždanog udara
2022. godine - danas - član Europskog neuroradiološkog društva

Prilog 1. Odobrenje Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra Split



KLINIČKI BOLNIČKI CENTAR SPLIT
ETIČKO POVJERENSTVO

Klasa: 500-03/23-01/13
Ur.broj: 2181-147/01/06/LJ.Z.-23-02

Split, 27.01.2023

IZVOD IZ ZAPISNIKA SJEDNICE ETIČKOG POVJERENSTVA KBC SPLIT 1/2023

14.

Doc.dr.sc. Maja Marinović Guić, dr.med. iz Zavoda za dijagnostičku i intervencijsku radiologiju KBC-a Split uputila je Etičkom povjerenstvu zamolbu za odobrenje provedbe istraživanja

" Uloga ubikvitina (UCH-L1) u akutnom moždanom udaru "

Istraživanje za potrebe objave znanstvene publikacije će se provesti u Klinici za neurologiju, zavodu za dijagnostičku i intervencijsku radiologiju i Zavodu za medicinsko-laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Split od 01.02. do 01.09.2023. godine.

Suradnici u istraživanju su: doc.dr.sc. Sanja Lovrić Kojundžić, dr.med., dr.sc. Danijela Budimir Mršić, dr.med., izv.prof.dr.sc. Krešimir Dolić, dr.med., Sara Sablić, dr.med., Ivan Kraljević, dr.med., doc.dr.sc. Krešimir Čaljković, dr.med., doc.dr.sc. Vana Košta, dr.med., doc.dr.sc. Daniela Šupe Domic, dr.med..

Nakon razmatranja zamolbe, donesen je sljedeći

Z a k l j u č a k

Iz priložene dokumentacije razvidno je da je Plan istraživanja usklađen s odredbama o zaštiti prava i osobnih podataka ispitanika iz Zakona o zaštiti prava pacijenata (NN169/04, 37/08) i Zakona o provedbi Opće uredbe o zaštiti podataka (NN 42/18), te odredbama Kodeksa liječničke etike i deontologije (NN55/08, 139/15) i pravilima Helsinške deklaracije WMA 1964-2013 na koje upućuje Kodeks.

Etičko povjerenstvo je suglasno i odobrava provođenje istraživanja.

PREDSEDNIK ETIČKOG POVJERENSTVA
KLINIČKOG BOLNIČKOG CENTRA SPLIT
IZV. PROF. DR. SC. ZNAOR
KLINIČKI BOLNIČKI CENTAR SPLIT
ODJEL ZA ZNANOST

Prilog 2. Dopuna odobrenja Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra Split



KLINIČKI BOLNIČKI CENTAR SPLIT
ETIČKO POVJERENSTVO

Klasa: 520-03/23-01/13

Ur.broj: 2181-147/01-06/LJ.Z.-26-04

Split, 29.06.2026.

Doc.dr.sc. Maja Marinović Guić, dr.med., iz Zavoda za dijagnostičku i intervencijsku radiologiju KBC-a Split je uputila Etičkom povjerenstvu zamolbu za dopunu odobrenja istraživanja odobrenog na sjednici 27.01.2023.:

Uloga ubikvitina (UCH-L1) u akutnom moždanom udaru

Dopuna istraživanja uključuje korištenje radioloških slikovnih prikaza iz PACS arhive KBC-a Split za potrebe pisanja izrade doktorske disertacije Ivana Kraljevića, dr.med. Ostali elementi rada ostaju nepromijenjeni. Svi podaci u istraživanju će biti anonimizirani, identitet ispitanika će biti poznat jedino voditelju istraživanja.

Etičko povjerenstvo KBC-a Split odobrava i suglasno je s navedenom izmjenom.

PREDSJEDNIK ETIČKOG POVJERENSTVA
KLINIČKOG BOLNIČKOG CENTRA SPLIT
IZV.PROF. DR. SC. LJUBO ZNAOR, DR.MED.