

Subaraknoidalblødning med kun spektrofotometrisk påvist bilirubin i spinalvæsken

Sammendrag

Ved utredning av personer med akutt innsettende hodepine der det er mistanke om subaraknoidalblødning, skal cerebral CT utføres umiddelbart etter innkommst. Dersom CT-undersøkelsen er negativ, skal det gjøres spinalpunksjon. Dette bør tidligst skje 12 timer etter symptomdebut – for at man skal være sikker på at det er blitt dannet påvisbare mengder bilirubin etter en eventuell subaraknoidalblødning. Bilirubin gir spinalvæsken en karakteristisk gul farge, og stoffet kan påvises i minst to uker etter en subaraknoidalblødning. Visuell bedømming av spinalvæsken krever erfaring, og metoden er ikke så sensitiv som spektrofotometrisk undersøkelse.

Vi presenterer en kasuistikk der påvisning av bilirubin i spinalvæsken ved spektrofotometri var eneste patologiske funn blant de supplerende undersøkelser av en pasient med akutt innsettende hodepine. Dette funnet førte til påvisning av aneurisme på intrakranial arterie, med påfølgende livreddende behandling i form av coiling av aneurismet.

Undersøkelse av spinalvæske med spektrofotometri er en enkel, lite tidkrevende og billig undersøkelse med høy sensitivitet i forhold til visuell bedømming av spinalvæske. Den bør kunne utføres ved de fleste klinisk-kjemiske laboratorier. Vi presenterer vår undersøkelsesmetode for spektrofotometri av spinalvæske, og kommer med praktiske råd for etablering av denne analysen.

Engelsk sammendrag finnes i artikkelen på www.tidsskriftet.no

Oppgitte interessekonflikter: Ingen

Siri Hylleraas Bø
s-hill-b@online.no
Ellen Katrine Rud
Neurologisk avdeling

Gunnhild S. Kravdal
Avdeling for klinisk kjemi og nukleærmedisin
Akershus universitetssykehus
1474 Nordbyhagen

Akutt hodepine definerer vi som en uvanlig intens hodepine som når maksimal intensitet innen 30 minutter. Personer som oppsøker helsevesenet pga. akutt hodepine, vil ofte beskrive den aktuelle hodepinen som den verste de har opplevd, og ulik tidligere hodepine. Det kan være ledsagende symptomer, f.eks. kvalme og oppkast, men den aktuelle episoden kan også oppleves som lite dramatisk. Legen bør være var for pasientens beskrivelse av hendelsesforløpet og stille nødvendige supplerende spørsmål.

Cerebral CT skal gjøres så raskt som mulig etter innkommst. CT-undersøkelse har en sensitivitet på 95 % når den utføres innen 24 timer, men sensitiviteten avtar med tiden som er gått fra hodepinen startet (1). Dersom den initiale CT-undersøkelsen er negativ, skal det gjøres spinalpunksjon. Erytrocytene som tilføres spinalvæsken i forbindelse med en subaraknoidalblødning, vil raskt hemolyseres og fagocytteres. Dermed frigis oksyhemoglobin, som etter hvert nedbrytes enzymatisk til bilirubin. Nedbrytningsprosessene starter umiddelbart, men det tar tid før det dannes tilstrekkelige mengder påvisbart bilirubin. Det er derfor anbefalt at man skal vente minst 12 timer etter symptomdebut for å være sikker på at det, i tilfelle subaraknoidalblødning, er blitt dannet tilstrekkelige mengder (2). Av de ulike fargepigmentene er det bare bilirubin som kun dannes in vivo (3). Oksyhemoglobin kan dannes både in vivo og in vitro etter stikkblødning.

Mens sensitiviteten for en CT-undersøkelse avtar med tiden fra symptomdebut, vil bilirubin være til stede i spinalvæsken i minst to uker, av og til i opptil seks uker etter en subaraknoidalblødning. Derfor kan man gjøre diagnostisk lumbalpunksjon med sikkerhet i opptil to uker etter et hodepineanfall (2, 3–5). Bilirubin vil farge spinalvæsken gul, såkalt xantokromi. Tilstedeværelse av bilirubin kan bedømmes både visuelt og spektrofotometrisk, men spektrofotometrisk undersøkelse har høyere sensitivitet (2, 3, 4).

Målet vårt er å presentere metoden og å illustrere hvor viktig en slik undersøkelse kan være i det kliniske arbeid.

Pasienten. En tidligere frisk, 50 år gammel mann. Han ble innlagt i vår avdeling 13 dager etter hodepinestart. Like etter en treningsøkt med løping hadde han fått en akutt innsettende hodepine, som han beskrev som en eksplosjon i hodet. Han hadde tidligere vært lite plaget av hodepine, og hadde aldri opplevd så intens hodesmerter. Hodepinen var de påfølgende dager i gradvis bedring, og ved innkommst satt den som et bånd over pannen. Utover i forløpet opplevde pasienten smerter som bredte seg fra øvre del av torakalcolumna og ned mot lumbaldelen av ryggen, og de siste dagene før innkommst til vår avdeling hadde han hatt smerteutstråling til venstre bein.

Ved undersøkelse var han våken, klar og orientert, afebril og med normal somatisk status. Han var ikke nakkestiv, og ved neurologisk status var det positiv Lasègues prøve på venstre side, men ellers helt normale funn.

Cerebral CT ble tatt umiddelbart etter klinisk undersøkelse, og ble beskrevet som normal. Deretter ble det gjort spinalpunksjon av pasienten, med ukomplisert innstikk, og spinalvæsken ble vurdert som klar og fargeløs både av legen som utførte prosedyren, en erfaren kliniker, og av bioingeniøren som gjorde de første analyser av spinalvæsken. Det var 30 hvite blodceller i spinalvæsken, beskrevet som bare mononukleære celler, og normal mengde protein og glukose.

Dagen etter innkommst (som var på kveldstid) ble det gjort spektrofotometri av spinalvæsken, og denne viste tilstedeværelse av bilirubin.

Pasienten ble da umiddelbart overflyttet til nevrokirurgisk avdeling, der utredning med cerebral angiografi viste et aneurisme på a. communicans anterior og et på toppen av høyre a. carotis. Da man var usikker på hvilket av de to aneurismene som hadde

! Hovedbudskap

- Ved akutt hodepine med negativ cerebral CT må spinalvæsken undersøkes
- Spektrofotometrisk påvisning av bilirubin er mer sensitiv enn visuell inspeksjon

blødd, ble begge behandlet med endovaskulær coiling i to seanser med 11 dagers mellomrom.

Metode

Vi har hatt spektrofotometriundersøkelse av spinalvæske på analyserepertoaret siden mars 1999. Spektrofotometer er vanlig utstyr ved avdelinger for medisinsk biokjemi. Det er minimale kostnader forbundet med selve analyseringen. Det mest ressurskrevende har vært opplæring av bioingeniører og leger. Selve analyseringen på spektrofotometeret er ikke spesielt komplisert teknisk, men den påfølgende beregning og tolkning krever øvelse og erfaring. Derfor har vi valgt å la et begrenset antall personer utføre analysen, og av den grunn inngår den heller ikke i vaktrepertoaret. Undersøkelsen utføres og besvares som hovedregel bare på dagtid på hverdager.

Spinalvæsken bør sentrifugeres og avpipetteres snarest mulig etter tapping, senest innen en time. Supernatanten trenger ikke analyseres spektrofotometrisk med én gang, da det ikke skjer noen in vitro-omdanning fra oksyhemoglobin til bilirubin. Prøven må oppbevares mørkt, helst i kjøleskap, i påvente av spektrofotometriundersøkelsen.

Spinalvæsken skannes i et spektrofotometer. Vi bruker et av typen Shimadzu UV – 1601. I spektrofotometeret sendes lys gjennom en kyvette fylt med spinalvæske, og man måler lyset som har passert gjennom væsken i bølgelengdeområdet 350–600 nanometer (nm), som er det synlige spekteret. Destillert vann brukes som referanse. Vanlig spinalvæske er blank og absorberer lite lys (fig 1a). Ulike pigmenter i spinalvæsken vil absorbere lys etter karakteristiske mønstre, såkalte absorpsjonsspektre. Høyden på absorpsjonstoppene, absorpsjonen, er et mål på mengden av stoffet. Spektrofotometeret lager absorpsjonskurver med bølgelengden langs x-aksen og absorpsjonen langs y-aksen.

Spektrofotometrikurver

Oksyhemoglobin og bilirubin har forskjellige og karakteristiske absorpsjonsspektre. Oksyhemoglobin (fig 1b) har et smalt og kraftig absorpsjonsmaksimum på mellom 410 nm og 418 nm. I tillegg ses svakere toppe ved 540 nm og 576 nm. Bilirubin (fig 1c) har en bred topp, med absorpsjonsmaksimum ved 455 nm. Methemoglobin har en bredere absorpsjonstopp enn oksyhemoglobin, med maksimum på mellom 403 nm og 410 nm. Methemoglobin er et svært uvanlig funn i spinalvæske, og vi har hittil ikke påvist dette.

Dersom både oksyhemoglobin og bilirubin er til stede i spinalvæsken, vil bilirubin vise seg som en «skulder» ved siden av den kraftigste absorpsjonstoppen til oksyhemoglobin (fig 1d). I slike tilfeller vil oksyhemoglobin bidra til den målte absorpsjonen ved

bølgelengde 455 nm. For å finne ut hvor stort bidraget fra bilirubin alene ved denne bølgelengden er, såkalt netto bilirubinabsorbans, er det publisert beregningsmetoder som vi har anvendt ved vårt laboratorium (6, 7). Det er publisert nasjonale retningslinjer for Storbritannia (3), og vi er i ferd med å ta i bruk disse.

De færreste spinalvæskene vi får til undersøkelse inneholder bilirubin. De har flat spektrofotometrikurve med svært lav absorbans, og noen inneholder små mengder oksyhemoglobin. Disse kurvene byr på små tolkningsproblemer. Det er forholdsvis få spinalvæsker som har spektrofotometrikurver som med sikkerhet viser tilstedeværelse av bilirubin. Bilirubin ses oftest sammen med oksyhemoglobin. Dersom det går lengre tid mellom symptomdebut og lumbalpunksjon, er det større sannsynlighet for kun å påvise bilirubin.

I et fåtall tilfeller har vi kurvemønstre som er ukarakteristiske og vanskelige å bedømme. Dette kan blant annet skyldes store mengder oksyhemoglobin eller absorpsjonsøkning på grunn av økt mengde spinalprotein. I disse forholdsvis sjeldne tilfellene angir vi usikkerhet i svaret, da vi anser det som et større problem å komme med falskt negative svar enn mulig falskt positive.

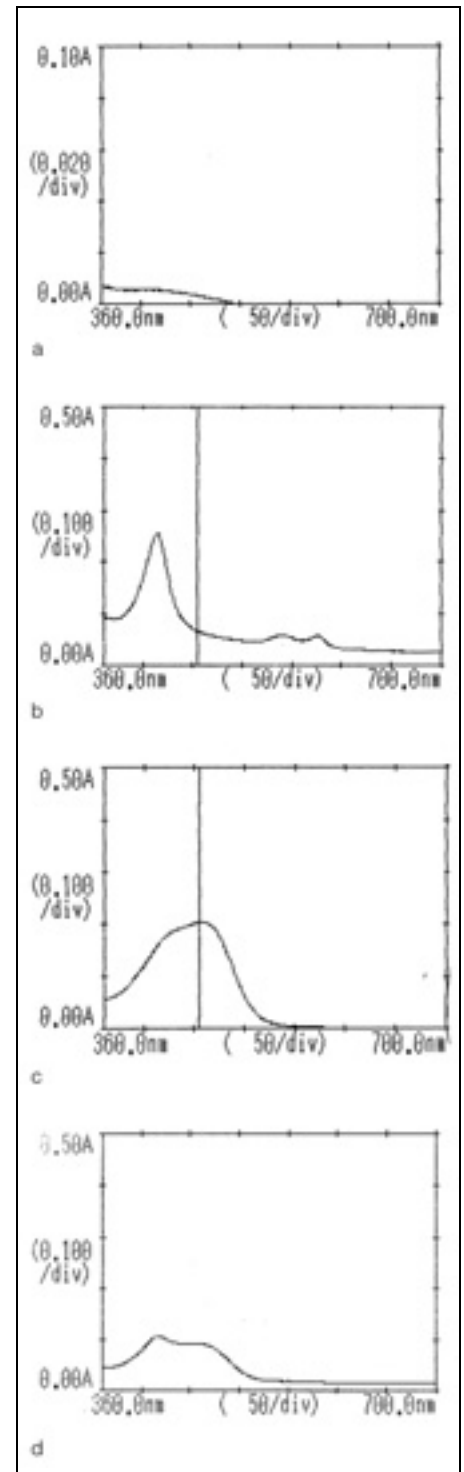
Feilkilder

Dersom prøven er tatt tidligere enn 12 timer etter symptomdebut, kan det være dannet så små mengder bilirubin at prøven tolkes som negativ, selv om pasienten har hatt en subaraknoidalblødning. Dersom prøven er tatt mer enn to uker etter en blødning, kan man også risikere falskt negativ prøve, fordi alt bilirubin kan ha blitt resorbert. Lys bryter ned bilirubin, og det er derfor risiko for falskt negativt svar dersom prøven er oppbevart i vanlig rombelysning.

Prøven blir vanskeligere å tolke, og iblant inkonklusiv, dersom den er blodtilblandet. Derfor bør man bruke spinalvæske fra det glasset som ble tappet sist, da det ofte har lavest antall erythrocytter. Det er også viktig å sentrifugere og avpipettere prøven snarest mulig, for å unngå hemolyse in vitro, med dannelse av oksyhemoglobin. Forhøyet serum-bilirubin vil medføre forhøyet bilirubinivå i spinalvæsken, fordi det er en viss passasje av bilirubin over blod-hjernebarrieren. Mengden bilirubin i spinalvæsken er proporsjonal med serum-bilirubin. Det er utarbeidet algoritmer for å korrigere for økt serum-bilirubin (3).

Diskusjon

Ved mistanke om subaraknoidalblødning pga. akutt hodepine er undersøkelse av spinalvæsken obligat når cerebral CT er negativ. Det er innlysende at undersøkelsen er av avgjørende betydning, siden resultatet kan føre til at man kan påvise en subaraknoidalblødning, diagnostisere og behandle aneurismet, og dermed forhindre en reblødning, med høy morbiditet og mortalitet.



Figur 1 Ulike spektrofotometrikurver for spinalvæsker. a) Blank spinalvæske med svært lav absorbans. b) Spinalvæske som inneholder oksyhemoglobin. c) Spinalvæske som inneholder bilirubin. d) Spinalvæske som inneholder oksyhemoglobin og bilirubin

I bedømming av spinalvæske ved mistanke om subaraknoidalblødning har man tradisjonelt lagt vekt på om væsken er blodtilblandet. Tilstedeværelse av blod i spinalvæsken er imidlertid til begrenset nytte diagnostisk. Det er blitt gjort forsøk på å sette opp kriterier for å skille mellom den blodtilblandede spinalvæsken man kan få

ved subaraknoidalblødning og den man kan få ved stikkblødning i forbindelse med punksjonen. Ett av kriteriene for stikkblødning har vært at antall erythrocytter skal falle fra det første tappeglasset til dem som tappes senere. Det har vist seg at disse kriteriene er beheftet med usikkerhet, og i mange tilfeller er det ikke mulig å skille mellom en blødning og traumatisk punksjon (2).

Mange steder påvises bilirubin kun ved visuell bedømmelse av spinalvæsken. Den visuelle vurderingen kan imidlertid være vanskelig, og det krever erfaring å kunne se at spinalvæske er svakt guldfarget. Dessuten er oksyhemoglobin ofte til stede samtidig, og vil farge spinalvæsken rosa eller rosa-oransje. Det kan da være vanskelig å skille svake sjatteringer av disse fargene fra den guldfargen som bilirubin gir, såkalt ekte xantokromi.

Enkelte bruker xantokromibetegnelsen om all fargeforandring av spinalvæsken, uansett om den er forårsaket av bilirubin, oksyhemoglobin, andre erythrocyttnedbrytningsprodukter eller proteiner (4, 8, 9). For eksempel definerer enkelte xantokromi som en lett absorpsjonsøkning ved 415 nm (9), altså ved bølgelengden for den høyeste oksyhemoglobintoppen, og med denne definisjonen vil stikkblødninger bli tolket som subaraknoidalblødning. På grunn av denne begrepsklarheten kan man finne varierende anbefalinger i litteraturen om nytten av spinalpunksjon tidligst 12 timer etter symptomdebut og påfølgende spektrofotometri av spinalvæsken.

I tillegg til nytteverdien av en *positiv* prøve er vår erfaring at en *negativ* spektrofotometriundersøkelse også er klinisk nyttig, idet man unngår unødvendige invasive undersøkelser. Så langt vi vet, har vi i disse seks årene ikke oversett én subaraknoidalblødning ved å godta et negativt spektrofotometrisvar. Dersom det ikke påvises bilirubin i spinalvæsken ved spektrofotometri og lumbalpunksjon er utført mellom 12 timer og to uker etter start av hodepine, er det meget liten sannsynlighet for at pasienten har hatt subaraknoidalblødning. Enkelte mener imidlertid at man ikke helt kan utelukke blødning (4). Andre (5) mener undersøkelsen har høy negativ prediktiv verdi, tilstrekkelig til å være klinisk nyttig.

Det er viktig å være klar over at andre typer hjerneblødning også kan gi blod og dermed bilirubin i spinalvæsken. I tillegg vil mange tilstander som nedsetter blod-hjernebarrieren eller gir økt proteinnivå i spinalvæsken, som meningitt, malign tumor og hjerneinfarkt, kunne gi tilstedeværelse av bilirubin i spinalvæsken – uten at dette betyr at det har funnet sted en subaraknoidalblødning. Det er kun problemstillingen påvisning eller utelukkning av subaraknoidalblødning som er indikasjon for å undersøke på tilstedeværelse av bilirubin i spinalvæske med spektrofotometri.

Konklusjon

Spektrofotometrisk påvisning av bilirubin i spinalvæske er en billig og relativt lite res-

surskrevende analyse med høy sensitivitet. Undersøkelsen er nyttig i utredningen der det er spørsmål om subaraknoidalblødning, når den initiale CT-undersøkelsen er negativ.

Vi takker Anders Skinningsrud og Tone Cappelen for gjennomlesing og kommentarer til manuskriptet, og Wenche Halvorsen for hjelp til fremskaffing av spektrofotometrikurver.

Litteratur

1. Berstad AE, Bø SH, Sortland O. Cerebral computertomografi ved subaraknoidalblødning. Tidsskr Nor Lægeforen 2002; 122: 267–71.
2. Vermeulen M, van Gijn J. The diagnosis of subarachnoid haemorrhage. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1990; 53: 365–72.
3. UK National External Quality Assessment Scheme for Immunochemistry Working Group. National guidelines for analysis of cerebrospinal fluid for bilirubin in suspected subarachnoid haemorrhage. Ann Clin Biochem 2003; 40: 481–8.
4. Beetham R, Fahie-Wilson MN, Park D. What is the role of CSF spectrophotometry in the diagnosis of subarachnoid haemorrhage? Ann Clin Biochem 1998; 35: 1–4.
5. Evans K. CSF spectrophotometry and subarachnoid haemorrhage. Ann Clin Biochem 1998; 35: 684.
6. Chalmers AH, Kiley M. Detection of xanthochromia in cerebrospinal fluid. Clin Chem 1998; 44: 1740–2.
7. Chalmers AH. Cerebrospinal fluid xanthochromia testing simplified. Clin Chem 2001; 47: 147–8.
8. Edlow JA et al. Xanthochromia. A survey of laboratory methodology and its clinical implications. Arch Pathol Lab Med 2002; 126: 413–5.
9. Graves P, Sidman R. Xanthochromia is not pathognomonic for subarachnoid hemorrhage. Acad Emerg Med 2004; 11: 131–5.