

Stanovení proteinu S 100B

u novorozenců

Úvod

Protein S 100B patří do skupiny nízkomolekulárních bílkovin vázících vápník. První člen této rodiny byl identifikován v roce 1965 a pojmenování dostal podle své rozpustnosti ve 100% nasyceném síranu amonném. S 100 byl izolován z hovězího mozku a definován jako pro mozek specifický. Až později bylo zjištěno, že hovězí mozková bílkovina se skládá ze dvou příbuzných bílkovin 100A a 100B. Do dnešní doby bylo nalezeno 19 dalších bílkovin S 100 o různém aminokyselinovém složení.

Bílkovina S 100B je přítomna v buňkách jako homodimer nebo může spolu s S 100A vytvářet heterodimer. Významné množství S 100B je vázáno na buněčnou membránu. Intracelulárně se bílkovina S 100B účastní na transdukci signálu prostřednictvím inhibice fosforylace bílkovin, na regulaci enzymové aktivity a na homeostáze vápníku.

Vylučovaný protein S 100B vykazuje v závislosti na koncentraci jak tropní tak toxický efekt. V nanomolárních koncentra-

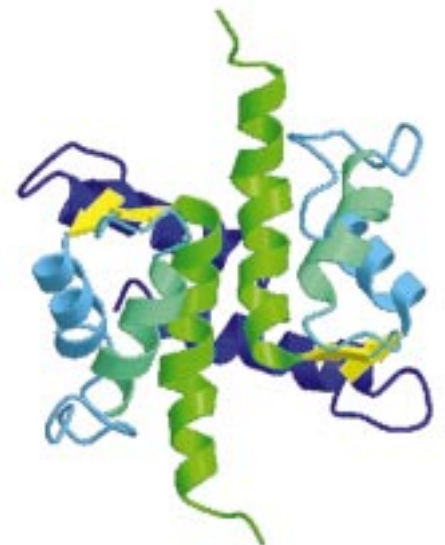
cích má neurotropní efekt, tj. stimuluje růst neuronů, zvyšuje přežití neuronů během vývoje a po poranění. Mikromolární koncentrace S 100B mohou indukovat apoptickou smrt neuronových buněk.

Klinicky je protein S 100B využíván zejména v neurologické a neurochirurgické diagnostice (primární poškození buněk mozku při vážném poranění hlavy, sekundární poškození buněk mozku při mozkové hypoxii, arteriální hypotenzi, vzrůstu intrakraniálního tlaku, systémové hypoxii, apod.) a v diagnostice a monitorování vývoje maligního melanomu.

Novorozenecká encefalopatie

Hypoxicko-ischemická encefalopatie zůstává přes značné pokroky současné perinatální medicíny závažnou příčinou morbidity a mortality donošených novorozenců. Důležitým prostředkem k snížení jejího výskytu je především prevence perinatální asfyxie. Léčebné prostředky směřují zejména ke stabilizaci novorozence a ochranně před sekundárním poškozením centrálního nervového systému (neuroprotektivní farmaka, „selective head cooling“ atd.). Doposud není k dispozici dostatečně spolehlivá metoda k časnému stanovení prognózy a závažnosti proběhlé asfyxie. Diagnostika se opírá o kombinaci klinického vyšetření, zobrazovacích metod (UZ, Dopplerometrie, MRI), elektrofyziologického (EEG, aEEG) a laboratorního vyšetření: pH a ostatních parametrů acidobazické rovnováhy a laktátu z pupěčnickové krve, případně i stanovení dalších, specifitějších markerů poškození CNS (CK-BB, NSE aj.).

Dle některých studií je hladina proteinu S 100B v cerebrospinálním moku,



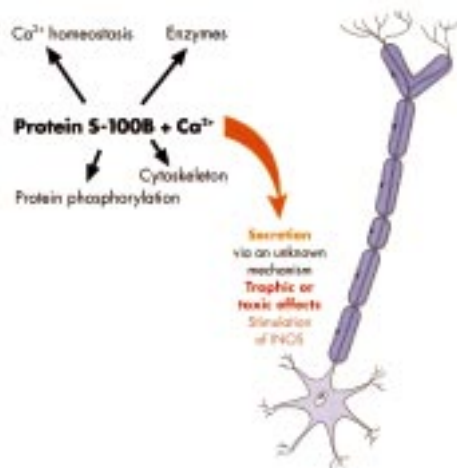
Obr. 2: Prostorové uspořádání molekuly proteinu S 100B

v séru (7, 8, 11) i v moči (5) donošených novorozenců cenným indikátorem poškození mozku při perinatální asfyxii. V ojedinělé studii (11) byla také prokázána korelace sérových hladin proteinu s mortalitou a s výskytem pozdního neurologického postižení dětí.

Vlastní výsledky

Fyziologické hodnoty koncentrace proteinu S 100B v séru jsou závislé na věku. U novorozenců jsou výrazně vyšší ve srovnání s dospělými, konkrétní hodnoty uváděné v literatuře se však liší (4, 10). Tato situace poněkud ztěžuje interpretaci výsledků stanovení S 100B, zvláště v tak citlivé oblasti, jakou je perinatální asfyxie. Tyto důvody nás vedly k ověření rozsahu hodnot koncentrace proteinu S 100B v séru zdravých donošených novorozenců. Zde uvádíme první výsledky této studie.

Vyšetřovaný soubor tvořili novorozenci narození v termínu a splňující vstup-



Obr. 1: Fyziologické působení proteinu S 100B v CNS

ni kritéria, u nichž byl z diagnostických důvodů prováděn v prvních 3 dnech života odběr periferní krve. Ke stanovení hladiny proteinu bylo použita diagnostická imunosouprava S 100B a vzorky byly vyšetřovány na analyzátoch Elecsys 2010 a Modular Analytics E170 (vše Roche Diagnostics).

Celkem bylo vyšetřeno 42 novorozenců, z nichž 30 splňovalo vstupní kritéria. Základní charakteristika souboru: průměrná hmotnost 3634 g (2940 až 4800 g), délka 50,67 cm (48 až 54 cm), gestační věk 39,53 týdne (37 až 41). Doba odběru 34 hodin (2 až 66 hodin). Hodnota parametrů zjištěných z pupečnickové krve: pH 7,249 (7,16 až 7,35), laktát 5,05 mmol/l (2,1 až 10,8). Sérová hodnota proteinu S 100B byla 0,460 μmol/l (0,148 až 0,897). Nebyla zjištěna statisticky významná závislost hladin na pohlaví, době odběru, pH ani laktátu z pupečnickové krve.

Dle našeho předpokladu se hodnoty sérových hladin proteinu S 100B u novorozenců významně liší od hodnot dospělých. Závislost hladin na věku vyšetřovaných byla opakovaně prokázána (4, 10), její příčina není doposud vyjasněna. Jedna z hypotéz uvádí úlohu proteinu při vývoji nervového systému. Námi zjištěné hodnoty jsou nižší než hodnoty udávané v literatuře (0,1 - 0,9 μmol/l). Tato odlišnost by mohla souviset s poměrně malými počty vyšetřovaných, odlišnými vstupními kritérii a odlišnou metodikou odběru a zpracování vzorků (graf 1).

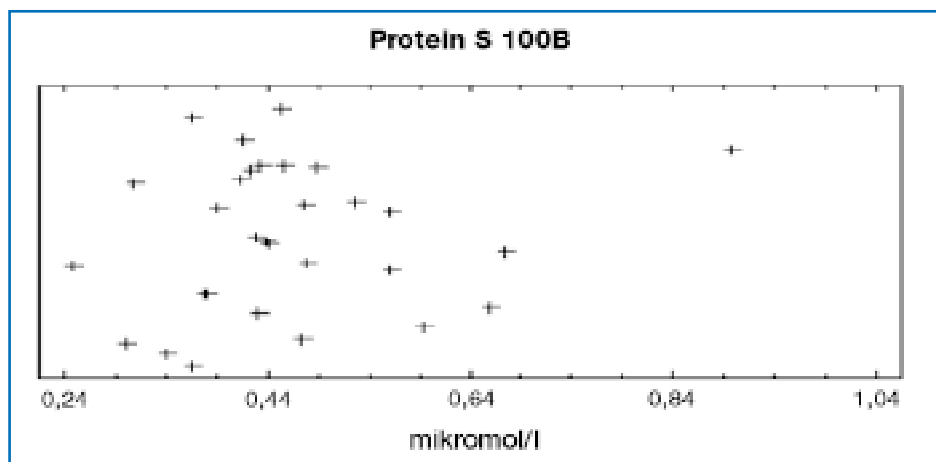
Dle literárních údajů i našich prvních zkušeností hodnoty proteinu S 100B, které významně překračují námi zjištěné hodnoty, svědčí pro závažné poškození mozku (11). Stanovení sérové hladiny proteinu S 100B se jeví jako perspektivní metoda pro diagnostiku hypoxicko-ischemické encefalopatie donošených novorozenců. Práce na dalším zhodnocení markeru S 100B pokračují.

Kazuistika: Spontánní porod ve 40. týdnu těhotenství, dítě plně kojeno, pro hyperbilirubinémii indikace fototerapie. Pátého dne dítě bledé, dechové potíže,

nedostatečná akce srdeční. Zahájena resuscitace, plicní ventilace vakem, nepřímá srdeční masáž. Převoz na resuscitační neonatologickou jednotku. Bez známek infekce, laboratorní vyšetření ukazuje těžkou metabolickou acidózu a výrazně zvý-

šené transaminázy. Sérová hladina proteinu S 100B je 9,8 μmol/l! UZ vyšetření mozku zobrazilo edém mozku, neurologické vyšetření - komatózní stav.

Závěr: postižení mozku s edémem a destrukcí tkáně.



Graf 1: Sérové hladiny proteinu S 100B, n=30

Literatura:

- 1) Gazzolo D., Vinesi P., Marinoni E., DiIorio R., Marras M.: S 100B Protein concentrations in cord blood: correlations with gestational age in term and preterm deliveries, *Clinical Chemistry* 46, No. 7, 2000
- 2) Gazzolo D., Bruschetti M., Lituania M., Serra G., Bonacci W., Michetti F.: Increased urinary S 100B Protein as an early indicator of intraventricular hemorrhage in preterm infants: Correlation with the grade of hemorrhage, *Clinical Chemistry*, 47, No. 10, 2001
- 3) Gazzolo D., Marinoni E., DiIorio R., Lituania M., Bruschetti P.L., Michetti F.: Circulating S 100B Protein is increased in intrauterine growth-retarded fetuses, *PedResearch*, Vol. 51, No. 2, 2002
- 4) Gazzolo D., Michetti F., Bruschetti M., Marchese N., Lituania M.: Pediatric concentration of S 100B in blood: age- and sex-related changes, *Clinical Chemistry* 49, No. 6, 2003
- 5) Gazzolo D., Marinoni E., DiIorio R., Bruschetti M., Kornacka M., Lituania M.: Urinary S 100B protein measurements: A tool for the early identification of hypoxic-ischemic encephalopathy in asphyxiated full-term infants, *Crit. Care Med* 2004, Vol. 32, No. 1
- 6) Heizmann CW, Fritz G., Schafer BW: S 100 proteins: structure, functions and pathology, *Frontiers in Bioscience* 7, d1356-1368, May 1, 2002
- 7) Michetti F., Gazzolo D.: S 100B Protein in biological fluids: A tool for perinatal medicine, *Clinical Chemistry* 48: No. 12, 2097-2104, 2002
- 8) Nagdyman N., Komen W., Ko Hae Kyung, Muller Ch., Obladen M.: Early biochemical indicators of hypoxic-ischemic encephalopathy after birth asphyxia, *PedResearch*, Vol. 49, No. 4, 2001
- 9) Nagdyman N., Grimmer I., Scholz T., Muller Ch., Obladen M.: Predictive value of brain-specific proteins in serum for neurodevelopmental outcome after birth asphyxia, *PedResearch*, Vol. 54, No. 2, 2003
- 10) Portela VC, Tort ABL, Schaf DV, Ribeiro L.: The serum S100B concentration is age dependent, *Clinical Chemistry* 48, No. 6, 2002
- 11) Thorngren-Jerneck K., Alling Ch., Herbst A., Amer-Wahlin I., Marsal K.: S 100B Protein in serum as a prognostic marker for cerebral injury in term newborn infants with hypoxic ischemic encephalopathy, *PedResearch*, Vol 55, No. 3, 2004