

Mecanismos e Funções da Proteína S100B Durante a Hipóxia: Uma Revisão de Literatura

Mechanisms And Functions of Protein S100B During Hypoxia: A Literature Review

Diego Chaves Aragão Costa¹, Larissa Rodrigues dos Santos Silva¹,
Marcelo Coertjens²

RESUMO

Introdução. A S100B é uma proteína ligante de cálcio que possui funções intracelulares e extracelulares como a regulação do metabolismo energético, comunicação, crescimento, divisão celular e manutenção da homeostase do cálcio. Clinicamente ela tem sido estudada como um marcador bioquímico de lesão cerebral em diversas patologias, incluindo aquelas que cursam com a morte de células neurais por hipóxia. **Objetivo.** Este trabalho tem como objetivo revisar a relação da S100B com eventos associados à hipóxia cerebral. **Método.** Trata-se de uma revisão narrativa resultante de buscas feitas no portal PubMed e no Portal Periódicos da Capes com as seguintes palavras-chaves: S100, S100B, function of S100B, S100 hypoxia, S100B hypoxia, S100B apnea, apnea, hypoxia. **Resultados.** A elevação dos níveis da proteína no sangue pode ser observada na lesão provocada pela isquemia cerebral, após infarto agudo do miocárdio, na hipóxia neonatal, em estudos in vitro, no mergulho em apneia e na síndrome da apneia do sono. **Conclusão.** Vários estudos relacionam o envolvimento da proteína S100B em diferentes tipos de tecidos a eventos associados à hipóxia, independente, da ocorrência ou não de lesão. Futuras pesquisas serão necessárias para delinear a relevância e especificidade dos níveis da proteína S100B em resposta a eventos hipóxicos.

Unitermos. Proteínas S100, Hipóxia, Apneia, Traumatismos Encefálicos.

Citação. Costa DCA, Silva LRS, Coertjens M. Mecanismos e Funções da Proteína S100B Durante a Hipóxia: Uma Revisão de Literatura.

ABSTRACT

Introduction. The S100B is a calcium-binding which has intracellular and extracellular functions such as energy metabolism regulation, cell trafficking, growth, division and maintenance of calcium homeostasis. It has been associated as a marker of brain injury, especially under conditions that cause cell death by hypoxia. **Objective.** This study aims to review the relationship between S100B with events associated with hypoxia. **Method.** It is a narrative review of the resulting searches done in the PubMed and Capes website with the following keywords: S100, S100B, S100B function, S100 hypoxia, S100B hypoxia, S100B apnea, apnea, hypoxia. **Results.** Increased levels of the protein can be observed in the lesion caused by ischemia, after myocardial infarction, in neonatal hypoxia, in vitro studies, in apnea diving and sleep apnea syndrome. **Conclusion.** Several studies implicated the involvement of S100B protein in different tissue types to events associated with hypoxia, independent of the occurrence of injury. Future research will needed to delineate the relevance and specificity of S100B protein levels in response to hypoxic events.

Keywords. S100 Proteins, Hypoxia, Apnea, Brain Injuries.

Citation. Costa DCA, Silva LRS, Coertjens M. Mechanisms And Functions of Protein S100B During Hypoxia: A Literature Review.

Trabalho realizado no Campus Universitário de Parnaíba da UFPI, Parnaíba-PI, Brasil.

1.Biomédicos UFPI, Parnaíba-PI, Brasil.

2.Educador Físico, Mestre em Ciências do Movimento Humano pela UFRGS, professor Assistente do Curso de Fisioterapia da UFPI, Parnaíba-PI, Brasil.

Endereço para correspondência:

Marcelo Coertjens

Universidade Federal do Piauí – Campus Universitário de Parnaíba

Av. São Sebastião, 2819 – N^a Sr^a de Fátima

CEP 64202-020, Parnaíba-PI, Brasil.

E-mail: coertjens@hotmail.com

Revisão

Recebido em: 21/02/12

Aceito em: 10/06/13

Conflito de interesses: não

INTRODUÇÃO

A S100B é componente de uma família de proteínas denominadas S100, composta por cerca de 20 proteínas de baixo peso molecular possuindo cerca de 20-80% de homologia em suas sequências de aminoácidos. Recebem este nome por serem parcialmente solúveis em sulfato de amônia 100% saturado em pH neutro. Os membros desta família são proteínas multifuncionais que possuem uma função reguladora em vários processos celulares através da ligação a íons (Zn^{2+} , Cu^{2+} e, principalmente, o Ca^{2+}) em domínios do tipo “EF-hand”^{1,2}. Esses domínios protéicos se caracterizam por duas estruturas α -hélices conectadas por um *loop*, cuja topologia se assemelha a uma mão¹.

Pode ser encontrada nos astrócitos³, nas células de Schwann⁴, em algumas populações de neurônios⁵, em condrócitos, melanócitos, células de Langerhans^{6,7}, adipócitos⁸, músculo esquelético⁹ e cardíaco¹⁰. Esta proteína pode ser observada, também, solúvel no citoplasma, associada à membrana plasmática, a outras membranas intracelulares e ao citoesqueleto¹¹.

Entretanto muitos estudos apontam que a S100B é encontrada, predominantemente, no citoplasma dos astrócitos, onde é ativamente secretada, podendo exercer funções tanto intra quanto extracelulares¹². Possui atividades intracelulares como a regulação do metabolismo energético, crescimento e divisão celular, comunicação celular e manutenção da homeostase do cálcio^{9,13}. No espaço extracelular ela pode exercer efeitos tróficos ou tóxicos, dependendo da sua concentração. Níveis na ordem de nanomolar exercem efeitos neurotróficos, como a estimulação da proliferação de células neurais induzindo o crescimento de neuritos e o desenvolvimento de neurônios, aumentando a plasticidade sináptica¹⁴. Estes efeitos tróficos sobre as células nervosas podem ser comprovados pelo fato da S100B se apresentar em altas concentrações durante as fases iniciais do desenvolvimento cerebral em roedores e também em humanos^{13,15}. Já em concentrações micromolares a proteína apresenta efeitos neurotóxicos por meio da indução da liberação de citocinas pró-inflamatórias¹⁶ e estimulação da liberação de óxido nítrico por astrócitos e microglia¹⁷.

Historicamente, a fração beta da proteína S100 (S100B) tem sido utilizada como marcador sérico de lesão

cerebral, por melhor refletir a extensão do dano tecidual, ter valor prognóstico e também estar associado com a resposta a intervenções terapêuticas^{18,19}. Embora o mecanismo de liberação da S100B ainda não tenha sido completamente compreendido, a literatura vem observando aumento dos níveis séricos da proteína após algumas situações tais como lesão traumática no cérebro e Acidente Vascular Cerebral, sendo seus níveis proporcionais ao grau da lesão¹⁶. A prática de esportes tais como o futebol, o boxe, o basquete, a natação e corridas de longa distância, também, tem servido como estímulo para a avaliação dos níveis séricos dessa proteína²⁰⁻²². A diminuição do fluxo de oxigênio para o cérebro tem sido atribuída como uma das possíveis causas associadas ao aumento da liberação dessa proteína pelos astrócitos²³⁻²⁷. Neste sentido, o objetivo deste trabalho é realizar uma revisão de literatura a fim de investigar a relação entre os níveis da proteína S100B com eventos associados à hipóxia cerebral.

MÉTODO

Este estudo trata-se de uma revisão de literatura, na qual foram incluídos artigos científicos publicados no período de 1983 a 2011, resultantes de buscas feitas no portal de bases de dados do PubMed e no portal Periódicos da Capes com as seguintes palavras-chaves: S100, S100B, S100B function, S100 hypoxia, S100B hypoxia, S100B apnea, apnea, hypoxia.

RESULTADOS

Foram encontrados cento e setenta e dois artigos relacionados ao tema em estudo sendo, deste total, cento e quarenta e seis artigos originais, vinte e três revisões de literatura, dois estudos de caso e um editorial. Os artigos abordavam temas relacionados à bioquímica básica, imunologia, fisiologia aplicada, pesquisas *in vivo* e *in vitro*. Para este trabalho foram selecionados oitenta e seis que se enquadravam como relevantes para o tema desta revisão.

DISCUSSÃO

Um grande número de situações tem sido associado ao aumento dos níveis séricos da proteína S100B, como por exemplo, o trauma crânio-encefálico, o infarto agudo do miocárdio com lesão cerebral, a hipóxia neonatal, a prática esportiva, a síndrome da apneia obstrutiva

do sono (SAOS), e o mergulho em apneia. Diante do observado as suas funções passaram a ser extensivamente pesquisadas. Apesar de ainda não terem sido totalmente compreendidas, estas funções podem ser agrupadas em intracelulares e extracelulares. A maioria dessas atividades funcionais é dependente da ligação ao íon Ca^{2+} .

Mecanismos e Funções Intracelulares Dependentes de Cálcio

A proteína S100B possui diversas proteínas alvos. Por meio da interação com estas proteínas, a S100B pode gerar diferentes respostas fisiológicas. Nas interações intracelulares, em presença de baixas concentrações de Ca^{2+} , as proteínas S100B permanecem em seu estado normal (apo), entretanto com o aumento do influxo de Ca^{2+} as proteínas S100 ligam-se ao íon sofrendo alterações conformacionais, as quais permitirão a interação com as suas proteínas-alvo²⁸. Outro íon com capacidade de ligação à S100B é o Zn^{2+} , que ao se ligar a proteína aumenta a afinidade da mesma pelo Ca^{2+} , favorecendo a ativação das funções cálcio dependentes²⁹.

Dentre as funções intracelulares podemos destacar a regulação do metabolismo energético, como a regulação da fosforilação mediada por proteínas quinases e a promoção da homeostase do Ca^{2+} , a dinâmica do citoesqueleto, como a manutenção da arquitetura e da motilidade celular⁹. Acredita-se que a participação da S100B no metabolismo energético ocorra por estimular a atividade da fosfoglicomutase, a qual possui importante função na glicogenólise. Existem relatos na literatura de correlação positiva entre S100B e lactato, o qual é utilizado como parâmetro para medir a gravidade da asfixia perinatal²⁵. Foi verificado, também, que a S100B estimula a biossíntese de ácidos graxos, aumentando a demanda por NADPH³⁰. O lactato tem sido relacionado a um aumento do alfa-glicerofosfato, forma ativada do glicerol necessária para a produção de triglicerídeos³¹. Este mecanismo bioquímico tem sentido, visto que o lactato atua inibindo o catabolismo dos ácidos graxos, favorecendo assim, a ativação do metabolismo anaeróbico para permitir que as células resistam à privação de oxigênio por mais tempo durante a hipóxia³¹.

Sua função sobre os componentes do citoesqueleto se dá pela inibição da polimerização dos microtúbulos e

dos filamentos intermediários, sugerindo que a proteína regula a morfologia celular e a dinâmica do citoesqueleto⁷. Uma das funções mais importantes do citoesqueleto é participar do processo de divisão celular, orientando o deslocamento dos cromossomos e formando as fibras do fuso e do áster. A S100B atua indiretamente neste processo por exercer um efeito inibitório sobre proteínas do citoesqueleto como vimentina e a proteína glial fibrilar ácida (GFAP).

Estudos observaram que S100B inibe a fosforilação da GFAP e da vimentina, como um possível mecanismo regulador do ciclo polimerização/despolimerização dos filamentos intermediários³². Foi observado, também, o efeito inibitório da S100B sobre a GFAP em frações do citoesqueleto de cultura de astrócitos de roedores³³. Neste estudo foi demonstrado que este efeito inibitório é dependente de cálcio ou zinco, pois a ligação da S100B a um desses íons provoca alterações na estrutura tridimensional da proteína tornando-a ativa, permitindo a sua ligação ao sítio específico da GFAP, inibindo a sua fosforilação. O fato da S100B se ligar a vimentina e GFAP, as quais estão localizadas nos astrócitos, sugere que a S100B desempenha um importante papel na regulação da fosforilação das proteínas dos filamentos intermediários da glia, mantendo a integridade do citoesqueleto dessas células.

Mecanismos e Funções Extracelulares Dependentes e Independentes de Cálcio

Nas interações extracelulares Ca^{2+} dependentes, a proteína S100B se liga ao receptor para produtos finais de glicação avançada (*Receptor for Advanced Glycation End Products* - RAGE)^{2,34}. A ligação da S100B a esse receptor promove a ativação de duas vias a Ras-Rac1-NF- κ B e a Cd42-Rac1-JNK-AP-1. Após a ligação S100B/RAGE as guanosinatrifosfatases (GTPases) Ras e Cdc42 ativam outra GTPase chamada Rac1, a qual pode ativar os fatores de transcrição NF- κ B (factor nuclear Kappa B) e a AP-1 (ativador protein-1), sendo este último por meio da ativação da proteína JNK (Janus Kinase)³⁴. Ambos os fatores de transcrição promoverão a ativação de genes específicos, resultando na liberação de ciclo-oxigenase 2 (COX-2), interleucina 1 β (IL-1 β) e fator de necrose tumoral α (TNF- α)³⁵. Portanto, devido ao papel crucial destas moléculas no desencadeamento da inflamação,

acredita-se que S100B possa ter um papel importante na ativação da microglia em resposta à lesão cerebral³⁵⁻⁴¹.

Embora a maioria das interações entre a S100B e seus alvos celulares seja cálcio dependente, a proteína pode exercer suas funções por meio de uma via independente de cálcio, através da formação de dímeros. Estes dímeros podem ser compostos por dois monômeros da mesma fração, como por exemplo, dois monômeros da fração beta, formando um homodímero ou por dois monômeros de frações diferentes, citando como exemplo, um monômero da fração alfa e outro da beta, formando um heterodímero. Esta propriedade permite a interação da S100B com seus alvos mesmo na ausência de cálcio²⁸.

As principais funções extracelulares da S100B são a de estimular a proliferação de células neurais e modular a plasticidade sináptica de forma a modificar a capacidade dos neurônios em mudar suas respostas com relação a determinados estímulos como durante o neurodesenvolvimento, em resposta a danos cerebrais e no processo de aprendizagem. Em um estudo sobre as funções da S100B no sistema nervoso, foi observado que ratos que não possuíam o gene da S100B apresentaram desenvolvimento normal e não apresentaram anormalidades detectáveis na arquitetura celular do cérebro⁴². Porém, estes ratos tiveram a plasticidade sináptica aumentada quando receberam infusão de S100B exógena no seu hipocampo, sugerindo que a S100B é uma proteína glial que modula a plasticidade sináptica neuronal. Entretanto, suas funções extracelulares estão diretamente relacionadas à sua concentração, podendo desencadear ações tróficas ou tóxicas sobre o tecido no qual é secretada.

As concentrações pico e nanomolares exercem efeitos neurotróficos, favorecendo a sobrevivência dos neurônios⁴³ e estimulando a proliferação de astrócitos⁴⁴, enquanto as concentrações micromolares exercem efeitos neurotóxicos e induzem a apoptose em células neuronais³⁹. Existem duas hipóteses que tentam explicar o mecanismo pelo qual a proteína exerce o seu efeito neurotóxico, sendo o primeiro através da ativação da enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e o segundo por meio do aumento do influxo de cálcio citosólico. A S100B é capaz de estimular a iNOS, levando a uma posterior geração de óxido nítrico (NO), o que provocaria a morte celular tanto dos neurônios quanto dos astrócitos

por apoptose⁴⁵⁻⁴⁷. Da mesma forma, o aumento do influxo de cálcio citosólico e a diminuição de suas reservas intracelulares, induzida pela S100B, também levaria à morte celular dos neurônios por meio da apoptose⁴⁸. Neste sentido, nas condições que desencadeiam morte celular, a S100B apresenta níveis séricos aumentados. Por essa razão ela tem sido frequentemente citada na literatura como um marcador bioquímico de lesão cerebral⁴⁹.

S100B e Lesão Cerebral

Aumentos nos níveis da proteína S100B têm sido observados em casos de trauma crânio-encefálico e em pós-operatório de cirurgia cardíaca com complicações neurológicas⁵⁰⁻⁵⁴. Outro evento que provoca destruição das células nervosas e tem sido relacionado em diversas pesquisas com um aumento dos níveis de S100B é a isquemia. Estas pesquisas mencionam o acidente vascular cerebral isquêmico como uma situação que provoca liberação de S100B, levando a um aumento significativo na concentração da proteína no líquido e no sangue⁵⁴⁻⁵⁶.

Um estudo realizado com pacientes internados no Hospital Universitário de Sahlgrenska, Suécia, que sofreram traumatismo craniano acompanhou os níveis séricos de S100B durante a evolução clínica dos mesmos. Os níveis encontrados estavam acima do valor de referência em todos os pacientes, sendo mais elevado nos primeiros dias. Os pacientes com o quadro clínico mais grave apresentaram níveis mais elevados de S100B quando comparados aos pacientes com prognóstico mais favorável. Aqueles que necessitaram de mais intervenções neurocirúrgicas, bem como a inserção de cateter intracraniano apresentaram níveis séricos mais altos em relação aos demais. Estes dados confirmam que os níveis séricos de S100B estão associados à gravidade e à evolução em longo prazo das lesões cerebrais, evidenciando a importância desta proteína no acompanhamento de casos de trauma crânio-encefálico⁵⁷.

Estudos relacionam isquemia decorrente de parada cardíaca e injúria cerebral com aumento dos níveis de S100B no sangue. Um estudo foi realizado para avaliar se a proteína S100B poderia ser utilizada como um marcador sensível e precoce de hipóxia cerebral em indivíduos que sofreram parada cardíaca⁵⁸. A amostra em estudo foi dividida em quatro grupos: 1- pacientes sem lesão

cerebral, 2- pacientes com lesão cerebral documentada, 3- pacientes com restauração espontânea da circulação e 4- pacientes que morreram após restauração espontânea da circulação antes da avaliação dos danos cerebrais. Os resultados encontrados demonstraram que os pacientes com dano cerebral após parada cardíaca apresentaram níveis séricos elevados de S100B comparados aos pacientes pós-parada cardíaca que não desenvolveram um quadro de lesão cerebral. Os indivíduos que não apresentaram restauração espontânea da circulação também tiveram níveis aumentados da S100B, sugerindo que a duração da parada cardíaca e isquemia cerebral nestes pacientes deve ter sido maior do que naqueles sem lesão cerebral. Estes dados reforçam a tese que esta proteína é um marcador sensível de lesão cerebral e que o aumento nos seus níveis séricos está relacionado não só à gravidade da lesão, mas também ao tempo de duração da isquemia.

Assim como no exemplo anterior, um outro experimento ajuda a compreender como a isquemia está relacionada ao aumento da S100B, além de demonstrar os efeitos neuroprotetores da S100B em pequenas concentrações⁵⁹. Neste estudo foi simulada uma isquemia cerebral unilateral em ratos. Esta isquemia induziu a privação de oxigênio e glicose. Após a isquemia os ratos foram sacrificados e foram preparadas culturas de neurônios retirados do córtex cerebral dos animais que foram então tratadas com S100B (01 – 200nM). As culturas tratadas com a proteína apresentaram maior proteção contra os danos provocados pelo estresse isquêmico do que as não tratadas. Entretanto, as culturas que receberam concentrações superiores da proteína não apresentaram qualquer efeito neuroprotetor. Foi constatado que este efeito protetor é mediado por RAGE, sendo comprovado neste mesmo estudo através da utilização de anticorpos neutralizantes específicos para RAGE. Uma segunda isquemia foi induzida e as culturas foram novamente tratadas com S100B e anticorpos específicos para RAGE. Nesta ocasião, a neuroproteção não ocorreu, o que indica que a neutralização de RAGE por anticorpos específicos bloqueou a ação da S100B.

Estudos com modelo animal demonstraram resultados semelhantes ao da pesquisa anterior⁶⁰. Foram provocadas isquemia e reperfusão cardíaca em ratos por oclusão proximal (infarto grave) ou distal (infarto leve)

e comparados ao grupo controle. Os níveis de S100B e seu receptor RAGE foram analisados nos três grupos e como resultado obteve-se níveis séricos de ambos maiores no grupo com infarto grave comparados aos que tiveram infarto leve e grupo controle. Dessa forma podemos concluir que o aumento da expressão de S100B está intimamente relacionado à gravidade do infarto do miocárdio ou a hipóxia associada ao infarto.

A S100b e Pesquisas *in vitro*

Alguns estudos que simularam uma isquemia *in vitro* ajudam a compreender o papel da proteína S100B durante a privação de oxigênio^{24,61,62}. Um experimento foi realizado com o objetivo de associar a privação de oxigênio e glicose e o processo de reoxigenação com a elevação dos níveis da S100B em fatias do córtex cerebral de ratos⁶². O tecido cortical quando privado de oxigênio e glicose apresentou aumento na liberação da S100B, entretanto, este aumento foi ainda mais significativo durante o processo de reoxigenação. A elevação da proteína durante a reoxigenação pode estar relacionada à formação de espécies reativas de oxigênio (EROs). As EROs podem provocar a morte das células neurais, que em consequência poderiam liberar mais S100B que estava contida no interior do seu citoplasma.

Outro estudo semelhante submeteu culturas de astrócitos a condições de privação de glicose e oxigênio por seis, doze, vinte e quatro e quarenta e oito horas⁶¹. Em comparação com as culturas controle, as culturas de astrócitos submetidas ao estresse metabólico apresentaram uma rápida secreção de S100B durante as seis primeiras horas. A liberação de S100B teve seu pico após vinte e quatro horas de privação de oxigênio e glicose, então, começou a cair drasticamente. Durante o estudo foram medidos, também, os níveis do mRNA da S100B. Foi observado a diminuição da transcrição de mRNA vinte e quatro horas após a privação de oxigênio e glicose. Estes resultados explicam a diminuição da secreção da S100B após vinte e quatro horas de estresse metabólico induzidos pela hipóxia e pela redução de nutrientes, através de um mecanismo de *downregulation* da proteína sobre a transcrição de mRNA.

Resultados semelhantes foram encontrados em experimentos que desenvolveram modelos de isquemia *in*

vitro com células do córtex e do hipocampo de ratos^{24,63}. Nestes experimentos também foram observadas elevações nos níveis da proteína S100B. Assim, a secreção dessa proteína parece ser sensível as flutuações dos níveis de oxigênio celular.

A S100B e a Hipóxia Neonatal

A proteína S100B também tem sido apontada pela literatura como um excelente marcador de hipóxia neonatal^{64,65}. Esta proteína apresenta uma sensibilidade de 86,7% e uma especificidade de 88% para a detecção de hipóxia neonatal moderada ou grave através da análise do sangue retirado do cordão umbilical de recém-nascidos *a termo* (idade gestacional 37-42 semanas)⁶⁴.

Um estudo avaliou simultaneamente a proteína S100B, o lactato, creatina quinase (CK), creatina quinase isoforma MB (CK_MB), aspartato amino transferase (AST) e alanina amino transferase (ALT) em crianças que sofreram hipóxia neonatal. As coletas foram feitas no primeiro e no quarto dia de vida dos bebês²⁵. Foi observada uma correlação positiva entre a S100B e o lactato no primeiro dia de coleta. Estes dados reforçam a hipótese de que a S100B possui um papel ativo em condições de anaerobiose, uma vez que o lactato é um produto da glicólise em situação de privação de oxigênio, fazendo da S100B um promissor marcador para avaliar a hipóxia em neonatos.

A proteína S100B também pode ser detectada em níveis elevados na urina de recém-nascidos com quadro de hipóxia neonatal. Em um estudo foi medido a concentração de S100B na urina de neonatos que sofreram hipóxia em intervalos de tempo predeterminados (a primeira micção, doze, vinte e quatro e setenta e duas horas após o nascimento)⁶⁶. Os níveis da proteína foram significativamente elevados em todas as amostras coletadas nos recém-nascidos que apresentaram algum problema neurológico quando comparado ao grupo controle. A sensibilidade e a especificidade das medidas obtidas entre doze e setenta e duas horas foram de até 100% e 98,2%, respectivamente, demonstrando que a medida da concentração da S100B na urina de bebês com hipóxia neonatal é uma ferramenta útil para identificar o risco de sequelas neurológicas.

Resultados semelhantes foram encontrados por

outros estudos⁶⁷. Em uma pesquisa foram avaliadas setenta e oito crianças que sofrera hipóxia neonatal e vinte e cinco crianças controle. Os níveis de S100B e a razão lactato/creatinina foram analisados na urina dos recém-nascidos durante os três primeiros dias de vida. Os valores encontrados no primeiro dia foram significativamente maiores nos pacientes e ambos os índices mostraram-se positivamente relacionados à hipóxia neonatal. A proteína S100B apresentou sensibilidade de 92% e especificidade de 90% e os indicadores lactato/creatinina juntos apresentaram sensibilidade e especificidade de 99% e 97%, respectivamente.

Pesquisas comprovaram a presença de S100B em níveis elevados no líquido amniótico de mulheres com alto risco de hipóxia neonatal⁶⁵. A eritropoetina foi utilizada como parâmetro para avaliar a diminuição de oxigênio. Os níveis da S100B apresentaram-se maiores quando os níveis de eritropoetina estavam elevados. Esses resultados indicam que a S100B foi sensível e proporcional ao grau da hipóxia, apresentando especificidade de 94% e sensibilidade de 83% para detecção de hipóxia em líquido amniótico.

Outros estudos corroboram com estes resultados^{68,69}. Nestas pesquisas a proteína foi estudada como marcadora em neonatos tanto em situação de hipóxia, como para avaliar a gravidade das lesões intracranianas. Os valores de S100B mais uma vez mostram-se ótimos marcadores de hipóxia neonatal, sendo proporcionais ao grau da lesão e oclusão do cordão umbilical.

Uma revisão de literatura traz uma nova perspectiva de estudo da proteína S100B na medicina perinatal, pois, até então, as pesquisas estavam voltadas para a detecção da proteína em fluidos biológicos como o líquido cefalorraquidiano, a urina, o sangue e o líquido amniótico⁷⁰. Segundo os autores é possível, também, avaliar a S100B no leite materno⁷¹ e na saliva^{72,73}. Outro estudo conseguiu correlacionar os níveis de S100B na saliva com a idade gestacional, onde foram observados níveis mais elevados da proteína em recém-nascidos pré-termo e uma progressiva diminuição à medida que o nascimento se aproximava da trigésima sétima semana de gestação⁷².

Outro experimento comprovou por meio de técnicas como Western blot e RT-PCR (Reação em Cadeia da Polimerase com Transcrição Reversa) a presença da pro-

teína S100B e do seu mRNA no leite humano⁷¹. Outro dado bastante interessante é que os níveis de S100B no leite materno aumentam durante a maturação do leite, sendo baixa no colostro, intermediária no leite de transição (sete a quatorze dias) e alta no leite maduro (trinta dias)⁷⁴. Acredita-se que as altas concentrações da S100B no leite materno possam estar relacionadas ao papel neurotrófico da proteína, de forma que a amamentação poderia exercer um efeito estimulante sobre a maturação do cérebro do bebê⁷⁵.

A S100B e a Prática Esportiva

Situações que poderiam provocar lesão cerebral são reproduzidas diariamente, mas com menor intensidade, como por exemplo, durante a prática de esportes. Um estudo demonstrou que o aumento dos níveis séricos de S100B em praticantes de boxe estava relacionado com o número e intensidade dos socos e, também, com o uso ou não de protetor de cabeça²⁰. Os autores consideraram que o aumento da S100B poderia ser provocado durante situações que gerassem vibração axial do cérebro. Esse fator poderia justificar, igualmente, os aumentos da proteína encontrados durante a prática do basquete²² e no futebol, especialmente, por causa do impacto na cabeça causado pela bola⁷⁶.

Os valores da proteína S100B sérica foram medidas em jogadores de futebol de elite antes e após um jogo competitivo⁷⁶. A concentração da proteína estava aumentada após o jogo. Foi encontrada uma correlação positiva entre o número de cabeçadas na bola e eventos traumáticos com a elevação da S100B. Os autores acreditam que o aumento da proteína está diretamente relacionado com o número de cabeçadas e outros eventos traumáticos, entretanto, a possibilidade de fontes extras cerebrais provocarem este aumento não foram excluídas.

Estudos propõem que elevações nos níveis da S100B após o exercício físico poderiam estar relacionadas à secreção por adipócitos e músculos lesados. Esta hipótese serviria perfeitamente para explicar como modalidades esportivas com baixo impacto ao cérebro, como a natação pode aumentar os níveis séricos da S100B^{9,21}. Estudos têm demonstrado que os adipócitos secretam S100B em resposta à adrenalina³. Em um estudo com maratonistas foi observada uma forte correlação entre a elevação da

S100B e a enzima creatinaquinase (CK), utilizada como um marcador de lesão muscular⁷⁷. Estes achados podem indicar que o aumento na concentração da proteína está relacionado ao extravasamento da S100B do interior das células musculares lesadas. É importante ressaltar, no entanto, que os maiores valores da proteína têm sido verificados associados, principalmente, com algum tipo de trauma ou lesão cerebral.

A S100B e a Apneia

Uma situação de hipóxia muito comum é a apneia, onde o indivíduo interrompe voluntária ou involuntariamente a respiração. Essa interrupção da respiração pode acontecer em situações involuntárias como a apneia do sono. Níveis elevados da proteína S100B foram encontrados em indivíduos com SAOS (síndrome da apneia obstrutiva do sono)²⁶. Os pacientes que eram portadores da síndrome apresentavam valores de S100B mais elevados que os do grupo controle, indicando que a S100B poderia ser utilizada como uma marcadora periférica para avaliar os danos cerebrais nos portadores da SAOS.

Um estudo com modelo animal foi realizado simulando condições de apneia em câmaras normobáricas⁷⁸. Os animais foram divididos em dois grupos: teste e controle. Os ratos do grupo teste foram colocados em câmara normobárica e sofreram variação de concentração do oxigênio de 21 a 10% em tempos controlados intermitentemente durante 1,8h por dia durante 10 dias. Este ambiente visava simular as condições de um indivíduo que sofre de apneia do sono. A biópsia demonstrou hiperplasia e hipertrofia dos astrócitos no córtex cerebral e no hipocampo dos animais. Nessas regiões foram, também, encontrados valores aumentados de S100B e RAGE. A hiperplasia e hipertrofia astrocitária fazem parte de um evento que ocorre durante situações neuropatológicas agudas chamadas de “gliose reativa”. Este evento pode ser definido como uma ativação astrocitária vigorosa, caracterizada por alterações na morfologia dos astrócitos (hipertrofia e emissão de ramificações), bem como pelo aumento da sua proliferação^{47,79,80}. Esses resultados demonstram que a hiperplasia e hipertrofia astrocitária, juntamente com a elevação da S100B-RAGE fizeram parte da resposta das células neurais à hipóxia intermitente.

Resultados semelhantes foram encontrados em

medições de sangue em indivíduos com diagnóstico de apneia obstrutiva do sono^{81,82}. Análises da S100B foram feitas antes e depois do sono. Os níveis de S100B apresentaram-se aumentadas após os indivíduos despertarem, em comparação com seus níveis antes do sono. De acordo com os autores isso sugere uma reação dos astrócitos diante da hipoxemia cerebral sofrida por portadores da síndrome da apneia do sono.

Além da apneia do sono, outras atividades de privação temporária de oxigênio como a apneia voluntária, imersão de face e mergulho poderiam desencadear aumentos consideráveis nos níveis de S100B. Em um experimento foram avaliados mergulhadores treinados que realizaram apneia estática com imersão da face e um grupo não treinado com o objetivo de avaliar os níveis séricos da S100B, bem como acompanhar as respostas cardiorrespiratórias do organismo a esta atividade²⁷. Os participantes foram submetidos à apneias máximas, com média de permanência maior que cinco minutos. Nesse espaço de tempo, amostras de sangue arterial para a análise da S100B foram coletadas. Observou-se uma variação da S100B de até 167% dez minutos após a apneia máxima e sua diminuição após duas horas, retornando aos valores pré-apneia. Foi sugerido pelos autores que este aumento tenha sido causado pela asfixia provocada pela hipóxia ou um breve aumento na permeabilidade da barreira hemato-encefálica. Valores significativamente maiores foram encontrados nos mergulhadores, enquanto o grupo controle não apresentou aumentos acima dos níveis basais. Apesar dos autores não apresentarem uma justificativa para explicar o motivo dessa diferença, acreditamos que os valores mais elevados encontrados no grupo de mergulhadores poderiam ser atribuídos ao fato da duração da apneia ter sido maior no grupo de mergulhadores e, portanto, a repercussão fisiológica nesse grupo acabou sendo maior. Esses resultados demonstram, além disso, que um episódio isolado de apneia pode não ser suficiente para gerar adaptações neurais crônicas, ao contrário de eventos repetitivos, como é o caso de mergulhadores de apneia e portadores da síndrome da apneia obstrutiva do sono.

Baseado em dados da literatura, acreditamos que o aumento verificado na S100B em indivíduos treinados seria provocado em função da alteração da sensibilidade dos quimiorreceptores periféricos à hipoxemia ou a hi-

percapnia. É possível que os treinados tenham desenvolvido algum tipo de mecanismo adaptativo em seus quimiorreceptores em resposta ao treinamento, permitindo a eles permanecerem por mais tempo em apneia e, dessa forma, estarem mais suscetíveis a lesão cerebral por hipóxia. Atualmente a hipoxemia é considerada um fator importante para induzir a “fome de ar”, pois interrompe a apneia através do estímulo reflexo a inspiração⁸³, de forma semelhante à induzida pela hipercapnia⁸⁴. Sabe-se que mergulhadores de apneia toleram níveis tão elevados de PaCO₂ a ponto de induzir uma hipoxemia. Pesquisas com mergulhadores de elite observaram que a PaO₂ em treinados baixou de 130 para menos de 30 mmHg e que a PaCO₂ passou de 30 pra 50 mmHg⁸⁵.

Estes dados reforçam a hipótese de que sensibilidade dos quimiorreceptores à hipoxemia possa ser diminuída nos mergulhadores devido à repetição de apneias levando-se em conta a frequência dos treinos e competições. Esta adaptação acabaria tornando-os mais suscetíveis a lesões no tecido neural, por conseguirem permanecer mais tempo privados de oxigênio e a hipercapnia. Provavelmente, os níveis da proteína encontrados em estudos anteriores²⁷ foram maiores nos indivíduos treinados porque eles permaneceram mais tempo em apneia, enquanto os indivíduos controles permaneceram menos tempo prendendo a respiração, devido à maior sensibilidade de seus quimiorreceptores periféricos, obrigando-os a respirar antes que os baixos níveis de oxigênio favorecessem a ocorrência de lesão cerebral.

Outros pesquisadores realizaram um experimento com mergulhadores para avaliar os efeitos de lesões cerebrais cumulativas provocados pelo mergulho realizado para fins profissionais ou recreativos⁸⁶. Cinco mergulhadores do sexo masculino participaram do estudo. Eles realizaram três mergulhos recreativos consecutivos com um intervalo de doze horas entre cada sessão. Os mergulhos foram realizados com SCUBA (*Self Contained Underwater Breathing Apparatus*), a profundidade máxima alcançada foi de quinze metros e o tempo de mergulho foi em torno de cinquenta e seis minutos. Apesar de ter sido observado um pequeno aumento da S100B sérica após cada mergulho, este aumento não atingiu significância estatística. Não foi registrado nenhum valor anormal da proteína nos mergulhadores e nenhuma mudança

significativa nos níveis de S100B após os três mergulhos consecutivos. Estes resultados sugerem que nas condições experimentais testadas o mergulho provavelmente não proporcionou impacto considerável sobre a integridade do SNC. Entretanto, os autores destacam que as várias modalidades de prática do mergulho, bem como, a suscetibilidade individual de dano ao tecido neural em mergulhadores assintomáticos, podem alterar esses resultados de modo que os efeitos cumulativos do mergulho sobre o SNC ainda não foram estabelecidos.

Mesmo com os avanços nas pesquisas ainda não se conhece os mecanismos precisos envolvidos na liberação da proteína S100B durante a hipóxia. Vários estudos têm demonstrado elevação dos níveis séricos da proteína quando o cérebro é submetido a uma diminuição no fornecimento de oxigênio, sem demonstrar alguma consequência fisiológica importante a curto prazo²⁷. Visto que os aumentos agudos da S100B decorrentes da apneia não caracterizam, necessariamente, dano neural significativo, acreditamos ser necessário novos estudos para avaliar quais seriam os efeitos crônicos da constante prática do mergulho para o SNC.

CONCLUSÃO

Podemos verificar que existe uma estreita relação da S100B com o trauma crânio-encefálico, o infarto agudo do miocárdio com lesão cerebral, a hipóxia neonatal, a prática esportiva, a síndrome da apneia obstrutiva do sono e o mergulho em apneia, independente, da ocorrência ou não de lesão. A proteína S100B tem um papel muito importante como indicadora de estresse, especialmente, do sistema nervoso central e mostra-se uma excelente marcadora dessa condição em diferentes situações, seja ela associada ou não a lesões, a distúrbios pré-natais, a disfunções fisiológicas ou como resultado de diferentes situações que promovam estresse. No entanto, há muito a se elucidar sobre o papel desta proteína, especialmente, no que se refere à resposta ao estresse por hipóxia e traumas, bem como, seu papel no diagnóstico de lesões. Neste sentido, futuras pesquisas serão de grande importância para delinear a relevância e especificidade dos níveis da proteína S100B em resposta a eventos hipóxicos.

REFERÊNCIAS

1. Zimmer D, Cornwall EH, Iandar A, Song W. The S100 protein family: history, function, and expression. *Brain Res Bull* 1995;37:417-29. [http://dx.doi.org/10.1016/0361-9230\(95\)00040-2](http://dx.doi.org/10.1016/0361-9230(95)00040-2)
2. Sedaghat F, Notopoulos A. S100 protein family and its application in clinical practice. *Hippokratia* 2008;12:198-204.
3. Netto CBO, Conte S, Leite MC, Pires C, Martins TL, Vidal P, et al. Serum S100B protein is increased in fasting rats. *Arch Med Res* 2006;37:683-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arcmed.2005.11.005>
4. Rambotti MG, Spreca A, Leoncini P, Estenoz M, Costantino-Cecarini E, Giambanco I, et al. Detection of S-100B protein in Triton cytoskeletons: an immunocytochemical study on cultured Schwann cells. *J Histochem Cytochem* 1990;38:1583-9. <http://dx.doi.org/10.1177/38.11.2212618>
5. Rickmann M, Wolff JR. S100 protein expression in subpopulations of neurons of rat brain. *Neuroscience* 1995;67:977-91. [http://dx.doi.org/10.1016/0306-4522\(94\)00615-C](http://dx.doi.org/10.1016/0306-4522(94)00615-C)
6. Donato R. Perspectives in S-100 protein biology: Review article. *Cell Calcium* 1991;12:713-26. [http://dx.doi.org/10.1016/0143-4160\(91\)90040-L](http://dx.doi.org/10.1016/0143-4160(91)90040-L)
7. Donato R. Functional roles of S100 proteins, calcium-binding proteins of the EF-hand type. *Biochim Biophys Acta* 1999;1450:191-231. [http://dx.doi.org/10.1016/S0167-4889\(99\)00058-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-4889(99)00058-0)
8. Gonçalves CA, Leite MC, Guerra MC. Adipocytes as an important source of serum S100B and possible roles of this protein in adipose tissue. *Cardiovasc Psychiatry Neurol* 2010;2010:1-7. <http://dx.doi.org/10.1155/2010/790431>
9. Stocchero CMA, Muller AP, Oliveira AR, Portela LV. A Proteína S100B e o exercício físico. *Rev Bras Ciantropom Desempenho Hum* 2010;12:77-81.
10. Mazzini GS, Schaf DV, Oliveira AR, Gonçalves CA, Belló-Klein A, Bordignon S, et al. The ischemic rat heart releases S100B. *Life Sci* 2005;77:882-9.
11. Sorci G, Agnietti AL, Bianchi R, Donato R. Association of S100B with intermediate filaments and microtubules in glial cells. *Biochim Biophys Acta* 1998;1448:1583-9.
12. Donato R, Sorci G, Riuzzi F, Arcuri C, Bianchi R, Brozzi F, et al. S100B's double life: intracellular regulator and extracellular signal. *Biochim Biophys Acta* 2009;1793:1008-22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamcr.2008.11.009>
13. Tramontina F, Conte S, Gonçalves D, Gottfried C, Portela LV, Vinade L, et al. Developmental changes in S100B content in brain tissue, cerebrospinal fluid, and astrocyte cultures of rats. *Cell Mol Neurobiol* 2002;22:373-8. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1020732304591>
14. Tramontina AC, Tramontina F, Bobermin LD, Zanotto C, Souza DF, Leite MC, et al. Secretion of S100B, an astrocyte-derived neurotrophic protein, is stimulated by fluoxetine via a mechanism independent of serotonin. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008;32:1580-3. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2008.06.001>
15. Portela LV, Tort AB, Schaf DV, Ribeiro L, Nora DB, Walz R, et al. The serum S100B concentration is age dependent. *Clin Chem* 2002;48:950-2.
16. Van Eldik L, Wainwright MS. The janus face of glial-derived S100B: beneficial and detrimental functions in the brain. *Restor Neurol Neurosci* 2003;21:97-108.
17. Donato R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. *Int J Biochem Cell Biol* 2001;33:637-68. [http://dx.doi.org/10.1016/S1357-2725\(01\)00046-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1357-2725(01)00046-2)

- 18.Filipek A, Jastrzebska B, Nowotny M, Kuznicki J. CacyBP/SIP, a calyculin and Siah-1-interacting protein, binds EF-hand proteins of the SB100 family. *J Biol Chem* 2002;277:28848-52.
<http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M203602200>
- 19.Kessler FHP, Woody G, Portela LVC, Tort ABL, De Boni R, Peuker ACWB, et al. Brain injury markers (S100B and NSE) in chronic cocaine dependents. *Rev Bras Psiquiatr* 2007;29:134-9.
<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-44462006005000029>
- 20.Otto M, Holthusen S, Bahn E, Söhnchen N, Wiltfang J, Geese R, et al. Boxing and running lead to a rise in serum levels of S-100B protein. *Int J Sports Med* 2000;21:551-5.
<http://dx.doi.org/10.1055/s-2000-8480>
- 21.Dietrich MO, Tort AB, Schaf DV, Farina M, Gonçalves CA, Souza DO, et al. Increase in serum S100B protein level after a swimming race. *Can J Appl Physiol* 2003;28:710-6.
<http://dx.doi.org/10.1139/h03-054>
- 22.Schulpis KH, Moukas M, Parthimos T, Tsakiris T, Parthimos N, Tsakiris S. The effect of α -Tocopherol supplementation on training-induced elevation of S100B protein in sera of basketball players. *Clin Biochem* 2007;40:900-6.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2007.04.010>
- 23.Snyder-Ramos SA, Gruhlke T, Bauer H, Bauer M, Luntz AP, Motsch J, et al. Cerebral and extracerebral release of protein S100B in cardiac surgical patients. *Anaesthesia* 2004;59:344-9.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2044.2004.03663.x>
- 24.Fontella FU, Cimarosti H, Crema LM, Thomazi AP, Leite MC, Salbego C, et al. Acute and repeated restraint stress influences cellular damage in rat hippocampal slices exposed to oxygen and glucose deprivation. *Brain Res Bull* 2005;65:443-50.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.brainresbull.2005.02.026>
- 25.Martins RO, Rotta NT, Portela LV, Souza DO. S100b Protein related neonatal hypoxia. *Arq Neuropsiquiatr* 2006;64:24-9.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0004-282X2006000100006>
- 26.Braga CW, Martinez D, Wofchuk S, Portela LV, Souza DO. S100B and NSE serum levels in obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep Med* 2006;7:431-5.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.sleep.2005.12.012>
- 27.Andersson JB, Linér MH, Jönsson H. Increased serum levels of the brain damage marker S100B after apnea in trained breath-hold divers: a study including respiratory and cardiovascular observations. *J Appl Physiol* 2009;107:809-15.
<http://dx.doi.org/10.1152/jappphysiol.91434.2008>
- 28.Santamaria-Kisiel L, Rintala-Dempsey AC, Shaw GS. Calcium-dependent and -independent interactions of the S100 protein family. *Biochem J* 2006;396:201-14.
<http://dx.doi.org/10.1042/BJ20060195>
- 29.Baudier J, Gerard D. Ions binding to S100 proteins: structural changes induced by calcium and zinc on S100a and S100b proteins. *Biochemistry* 1983;22:3360-9.
<http://dx.doi.org/10.1021/bi00283a009>
- 30.Landar A, Caddell G, Chessher J, Zimmer DB. Identification of an S100A1/S100B target protein: phosphoglucomutase. *Cell Calcium* 1996;20:279-85.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0143-4160\(96\)90033-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0143-4160(96)90033-0)
- 31.Issekutz BJ, Miller HI. Plasma free fatty acids during exercise and the effect of lactic acid. *Proc Soc Exp Biol Med* 1962;16:237-9.
- 32.Ziegler DR, Innocente CE, Leal RB, Rodnight R, Gonçalves CA. The S100B protein inhibits phosphorylation of GFAP and vimentin in a cytoskeletal fraction from immature rat hippocampus. *Neurochem Res* 1998;23:1259-63.
<http://dx.doi.org/10.1023/A:1020740115790>
- 33.Frizzo JK, Tramontina F, Bortoli E, Gottfried C, Leal RB, Lengyel I, et al. S100B-mediated inhibition of the phosphorylation of GFAP is prevented by TRTK-12. *Neurochem Res* 2004;29:735-40.
<http://dx.doi.org/10.1023/B:NERE.0000018844.51009.40>
- 34.Bianchi R, Adami C, Giambanco I, Donato R. S100B binding to RAGE in microglia stimulates COX-2 expression. *J Leukoc Biol* 2007;81:108-18.
<http://dx.doi.org/10.1189/jlb.0306198>
- 35.Bianchi R, Giambanco I, Donato R. S100B/RAGE-dependent activation of microglia via NF kappaB and AP-1 Co-regulation of COX-2 expression by S100B, IL-1beta and TNF-alpha. *Bone* 2008;43:72-83.
- 36.Perrone L, G Peluso, MA Melone. RAGE recycles at the plasma membrane in S100B secretory vesicles and promotes Schwann cells morphological changes. *J Cell Physiol* 2008;217:60-71.
<http://dx.doi.org/10.1002/jcp.21474>
- 37.Pelinka LE, Kroepfl A, Leixnering M, Buchinger W, Raabe A, Redl H. GFAP versus S100B in serum after traumatic brain injury: relationship to brain damage and outcome. *J Neurotrauma* 2004;21:1553-61.
<http://dx.doi.org/10.1089/neu.2004.21.1553>
- 38.Kleindienst A, Bullock MR. A critical analysis of the role of the neurotrophic protein S100B in acute brain injury. *J Neurotrauma* 2006;23:1185-1200.
<http://dx.doi.org/10.1089/neu.2006.23.1185>
- 39.Gonçalves CA, Leite MC, Nardin P. Biological and methodological features of the measurement of S100B, a putative marker of brain injury. *Clin Biochem* 2008;41:755-63.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2008.04.003>
- 40.Bellander BM, Olafsson IH, Ghatan PH, Bro Skejo HP, Hansson LO, Wanecek M, et al. Secondary insults following traumatic brain injury enhance complement activation in the human brain and release of the tissue damage marker S100B. *Acta Neurochir (Wien)* 2011;153:90-100.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00701-010-0737-z>
- 41.Wiesmann M, Steinmeier E, Magerkurth O, Linn J, Gottmann D, Missler U. Outcome prediction in traumatic brain injury: comparison of neurological status, CT findings, and blood levels of S100B and GFAP. *Acta Neurol Scand* 2010;121:178-85.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0404.2009.01196.x>
- 42.Nishiyama H, Knopfel T, Endo S, Itohara S. Glial protein S100B modulates long-term neuronal synaptic plasticity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:4037-42.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.052020999>
- 43.Van Eldik LJ, Christie-Pope B, Bolin LM, Shooter EM, Whetsell JWO. Neurotrophic activity of S100B in cultured dorsal root ganglia from embryonic chick and fetal rat. *Brain Res* 1991;542:280-5.
[http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993\(91\)91579-P](http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993(91)91579-P)
- 44.Selinfreund RH, Barger SW, Pledger WJ, Van Eldik LJ. Neurotrophic protein S100 β stimulates glial cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci* 1991;88:3554-8.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.88.9.3554>
- 45.Jingru HU, Van Eldik LJ. S100 β induces apoptotic cell death in cultured astrocytes via a nitric oxide-dependent pathway. *Biochim Biophys Acta* 1996;1313:239-45.
[http://dx.doi.org/10.1016/0167-4889\(96\)00095-X](http://dx.doi.org/10.1016/0167-4889(96)00095-X)
- 46.Jingru HU, Ferreira A, Van Eldik LJ. S100 beta induces neuronal cell death through nitric oxide release from astrocytes. *J Neurochem* 1997;69:2294-2301.
- 47.Adami C, Sorci G, Blasi E, Agnelli AL, Bistoni F, Donato R. S100B expression in and effects on microglia. *Glia* 2001;33:131-42.
[http://dx.doi.org/10.1002/1098-1136\(200102\)33:2<131::AID-GLIA1012>3.0.CO;2-D](http://dx.doi.org/10.1002/1098-1136(200102)33:2<131::AID-GLIA1012>3.0.CO;2-D)
[http://dx.doi.org/10.1002/1098-1136\(200102\)33:2<131::AID-GLIA1012>3.3.CO;2-4](http://dx.doi.org/10.1002/1098-1136(200102)33:2<131::AID-GLIA1012>3.3.CO;2-4)
- 48.Mariggió MA, Fulle S, Calissano P, Nicoletti IFG. The brain protein S100ab induces apoptosis in PC12 cells. *Neurosci* 1997;60:29-35.
[http://dx.doi.org/10.1016/0306-4522\(94\)90201-1](http://dx.doi.org/10.1016/0306-4522(94)90201-1)

49. Kleindienst A, Ross Bullock M. A critical analysis of the role of the neurotrophic protein S100B in acute brain injury. *J Neurotrauma* 2006;23:1185-1200.
<http://dx.doi.org/10.1089/neu.2006.23.1185>
50. Raabe A, Seifert V. Fatal secondary increase in serum S-100B protein after severe head injury. Report of three cases. *J Neurosurg* 1999;91:875-7.
<http://dx.doi.org/10.3171/jns.1999.91.5.0875>
51. Godet G, Watremez C, Beaudeau JL, Meerschaert K, Koskas F, Coriat P. S-100beta protein levels do not correlate with stroke in patients undergoing carotid endarterectomy under general anesthesia. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2001;15:25-8.
<http://dx.doi.org/10.1053/jcan.2001.20213>
52. Mussack T, Biberthaler P, Kanz KG, Wiedemann E, Gippner-Steppert C, Jochum M. S-100B, sE-selectin, and sP-selectin for evaluation of hypoxic brain damage in patients after cardiopulmonary resuscitation: pilot study. *World J Surg* 2001;25:539-43.
<http://dx.doi.org/10.1007/s002680020082>
53. Bellander BM, Olafsson IH, Ghatan PH, Bro Skejo HP, Hansson LO, Wanecek M, et al. Secondary insults following traumatic brain injury enhance complement activation in the human brain and release of the tissue damage marker S100B. *Acta Neurochir (Wien)* 2011;153:90-100.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00701-010-0737-z>
54. Kim JS, Yoon SS, Kim YH, Ryu JS. Serial measurement of interleukin-6, transforming growth factor-beta, and S-100 protein in patients with acute stroke. *Stroke* 1996;27:1553-7.
<http://dx.doi.org/10.1161/01.STR.27.9.1553>
55. Foerch C, Otto B, Singer OC, Neumann-Haefelin T, Yan B, Berkefeld J, et al. Serum S100B predicts a malignant course of infarction in patients with acute middle cerebral artery occlusion. *Stroke* 2004;35:2160-4.
<http://dx.doi.org/10.1161/01.STR.0000138730.03264.ac>
56. Worthmann H, Tryc AB, Deb M, Goldbecker A, Ma YT, Tountopoulou A, et al. Linking infection and inflammation in acute ischemic stroke. *Ann N Y Acad Sci* 2010;1207:116-22.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05738.x>
57. Nylén K, Ost M, Csajbok LZ, Nilsson I, Hall C, Blennow K, et al. Serum levels of S100B, S100A1B and S100BB are all related to outcome after severe traumatic brain injury. *Acta Neurochir (Wien)* 2008;150:221-7.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00701-007-1489-2>
58. Böttiger BW, Möbes S, Glätzer R, Bauer H, Gries A, Bärtsch P, et al. Astroglial protein S-100 is an early and sensitive marker of hypoxic brain damage and outcome after cardiac arrest in humans. *Circulation* 2001;103:2694-8.
<http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.103.22.2694>
59. Pichiule P, Chavez JC, Schmidt AM, Vannucci SJ. Hypoxia-inducible factor-1 mediates neuronal expression of the receptor for advanced glycation end products following hypoxia/ischemia. *J Biol Chem* 2007;282:36330-40.
<http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M706407200>
60. Cai X, Lu L, Wang Y, Jin C, Zhang R, Zhang Q, et al. Association of increased S100B, S100A6 and S100P in serum levels with acute coronary syndrome and also with the severity of myocardial infarction in cardiac tissue of rat models with ischemia-reperfusion injury. *Atherosclerosis* 2011;217:536-42.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2011.05.023>
61. Gerlach R, Demel G, König HG, Gross U, Prehn JH, Raabe A, et al. Active secretion of S100B from astrocytes during metabolic stress. *Neuroscience* 2006;141:1697-1701.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.05.008>
62. Gürsoy M, Büyükuysal RL. Mechanism of S100b release from rat cortical slices determined under basal and stimulated conditions. *Neurochem Res* 2010;35:429-36.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11064-009-0075-9>
63. Vicente E, Degerone D, Bohn L, Scornavaca F, Pimentel A, Leite MC, et al. Astroglial and cognitive effects of chronic cerebral hypoperfusion in the rat. *Brain Res* 2009;1251:204-12.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2008.11.032>
64. Qian J, Zhou D, Wang Y. Umbilical artery blood S100 protein: a tool for the early identification of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Eur J Pediatr* 2009;168:71-7.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00431-008-0711-4>
65. Loukovaara M, Teramo K, Alfthan H, Hämäläinen E, Stefanovic V, Andersson S. Amniotic fluid S100B protein and erythropoietin in pregnancies at risk for fetal hypoxia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009;142:115-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2008.10.008>
66. Gazzolo D, Marinoni E, Di Iorio R, Bruschettini M, Kornacka M, Lituania M, et al. Measurement of urinary S100B protein concentrations for the early identification of brain damage in asphyxiated full-term infants. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2003;157:1163-8.
<http://dx.doi.org/10.1001/archpedi.157.12.1163>
67. Liu L, Zheng C, Peng S, Zhou H, Su Z, He L, et al. Evaluation of urinary S100B protein level and lactate/creatinine ratio for early diagnosis and prognostic prediction of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Neonatology* 2010;97:41-4.
<http://dx.doi.org/10.1159/000227292>
68. Guorong L, Shaozheng H, Zhenghua W, Boyi L, Qiuyue C, Peng J, et al. Tei index for prenatal diagnosis of acute fetal hypoxia due to intermittent umbilical cord occlusion in an animal model. *Prenat Diagn* 2007;27:817-23.
<http://dx.doi.org/10.1002/pd.1781>
69. Murabayashi M, Minato M, Okuhata Y, Makimoto M, Hosono S, Masakata N, et al. Kinetics of serum S100B in newborns with intracranial lesions. *Pediatr Int* 2008;50:17-22.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1442-200X.2007.02506.x>
70. Gazzolo D, Michetti F. Perinatal S100B protein assessment in human unconventional biological fluids: a minireview and new perspectives. *Cardiovasc Psychiatry Neurol* 2010;2010:1-5.
<http://dx.doi.org/10.1155/2010/703563>
71. Gazzolo D, Monego G, Corvino V, Bruschettini M, Bruschettini P, Zelano G, et al. Human milk contains S100B protein. *Biochim Biophys Acta* 2003;20:209-12.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4165\(02\)00499-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4165(02)00499-3)
72. Gazzolo D, Lituania M, Bruschettini M, Ciotti S, Sacchi R, Serra G, et al. S100B protein levels in saliva: correlation with gestational age in normal term and preterm newborns. *Clin Biochem* 2005;38:229-33.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2004.12.006>
73. Lee S, Kim E, Chi J, Hashimura K, Mori M. Immunohistochemical detection of S-100, S-100 alpha, S-100 beta proteins, glial fibrillary acidic protein, and neuron specific enolase in the prenatal and adult human salivary glands. *Pathol Res Pract* 1993;189:1036-43.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0344-0338\(11\)80677-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0344-0338(11)80677-1)
74. Gazzolo D, Bruschettini M, Lituania M, Serra G, Santini P, Michetti F. Levels of S100B protein are higher in mature human milk than in colostrum and milk-formulae milks. *Clin Nutr* 2004;23:23-6.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0261-5614\(03\)00084-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0261-5614(03)00084-0)
75. Amin S, Merle K, Orlando M, Dalzell L, Guillet R. Brainstem maturation in premature infants as a function of enteral feeding type. *Pediatrics* 2000;106:318-22.
<http://dx.doi.org/10.1542/peds.106.2.318>
76. Staltnacke BM, Ohlsson A, Tegner Y, Sojka P. Serum concentrations of two biochemical markers of brain tissue damage S-100B and neuron specific eno-

- lase are increased in elite female soccer players after a competitive game. *Br J Sports Med* 2006;40:313-6.
<http://dx.doi.org/10.1136/bjsm.2005.021584>
- 77.Hasselblatt M, Mooren FC, von Ahsen N, Keyvani K, Fromme A, Schwarze-Eicker K, et al. Serum S100beta increases in marathon runners reflect extracranial release rather than glial damage. *Neurology* 2004;62:1634-6.
<http://dx.doi.org/10.1212/01.WNL.0000123092.97047.B1>
- 78.Aviles-Reyes RX, Angelo ME, Villarreal A, Rios H, Lazarowski A, Ramos AJ. Intermittent hypoxia during sleep induces reactive gliosis and limited neuronal death in rats: implications for sleep apnea. *J Neurochem* 2010;112:854-69.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06535.x>
- 79.Ciccarelli R, Ballerini P, Sabatino G, Rathbone MP, D'Onofrio M, Caciagli F, et al. Involvement of astrocytes in purine-mediated reparative processes in the brain. *Int J Dev Neurosci* 2001;19:395-414.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0736-5748\(00\)00084-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0736-5748(00)00084-8)
- 80.Nolte C, Matyash M, Pivneva T, Schipke CG, Ohlemeyer C, Hanisch UK, et al. GFAP promoter-controlled EGFP-expressing transgenic mice: a tool to visualize astrocytes and astrogliosis in living brain tissue. *Glia* 2001;33:72-86.
[http://dx.doi.org/10.1002/1098-1136\(20010101\)33:1<72::AID-GLIA1007>3.0.CO;2-A](http://dx.doi.org/10.1002/1098-1136(20010101)33:1<72::AID-GLIA1007>3.0.CO;2-A)
[http://dx.doi.org/10.1002/1098-1136\(20010101\)33:1<72::AID-GLIA1007>3.3.CO;2-1](http://dx.doi.org/10.1002/1098-1136(20010101)33:1<72::AID-GLIA1007>3.3.CO;2-1)
- 81.Sonka K, Kelemen J, Kemlink D, Volná J, Pretl M, Zima T, et al. Evening and morning plasma levels of protein S100B in patients with obstructive sleep apnea. *Neuro Endocrinol Lett* 2007;28:575-9.
- 82.Silva LG, Mottin CC, Souza DO, Portela LV, Braga CW, Vargas CB, et al. Serum S100B but not NSE levels are increased in morbidly obese individuals affected by obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome. *Obes Surg* 2008;18:993-9.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11695-007-9386-6>
- 83.Feiner JR, Bickler PE, Severinghaus JW. Hypoxic ventilatory response predicts the extent of maximal breath-holds in man. *Respir Physiol* 1995;100:213-22.
[http://dx.doi.org/10.1016/0034-5687\(94\)00132-J](http://dx.doi.org/10.1016/0034-5687(94)00132-J)
- 84.Moosavi SH, Golestanian E, Binks AP, Lansing RW, Brown R, Banzett RB. Hypoxic and hypercapnic drives to breathe generate equivalent levels of air hunger in humans. *J Appl Physiol* 2003;94:141-54.
- 85.Ferretti G, Costa M, Ferrigno M, Grassi B, Marconi C, Lundgren CE, et al. Alveolar gas composition and exchange during deep breath-hold diving and dry breath holds in elite divers. *J Appl Physiol* 1991;70:794-802.
- 86.Stavrinou L, Kalamatianos T, Stavrinou P, Papasilekas T, Psachoulia C, Tzavaras C, et al. Serum levels of S-100B after recreational scuba diving. *Int J Sports Med* 2011;32:912-5.
<http://dx.doi.org/10.1055/s-0031-1284341>