

# The usefulness of assessing the serum levels of S-100 protein in patients with ischemic stroke

## Przydatność oznaczeń białka S-100 w surowicy krwi chorych z potwierdzonym udarem niedokrwiennym mózgu

Danuta Kokocińska<sup>1</sup>, Paweł Gruenpeter<sup>1</sup>, Przemysław Jałowiecki<sup>2</sup>, Robert Partyka<sup>1</sup>, Piotr Wieczorek<sup>1</sup>, Łukasz Michalecki<sup>1</sup>, Izabela Chanek<sup>2</sup>, Jerzy Jarzab<sup>3</sup>, Lech Cierpka<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Clinical Immunodiagnosics, Department of General and Colorectal Surgery, Medical University of Silesia, Katowice, Poland (Samodzielna Pracownia Immunodiagnostyki Klinicznej, Katedra i Kliniczny Oddział Chirurgii Ogólnej i Koloproktologicznej Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach)

<sup>2</sup>Department of Anaesthesiology, Intensive Care and Emergency, Medical University of Silesia, Katowice, Poland (Katedra Anestezjologii, Intensywnej Terapii i Medycyny Ratunkowej Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach)

<sup>3</sup>Department of Internal Medicine and Dermatology, Medical University of Silesia, Zabrze, Poland (Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewnętrznych i Dermatologii Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrzu)

<sup>4</sup>Department of General and Vascular Surgery, Transplantology, Medical University of Silesia, Katowice, Poland (Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej, Naczyniowej i Transplantacyjnej Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach)

### Abstract

**Background.** It is important to identify new biochemical markers of strokes to monitor and predict the neurological outcome, as well as to elucidate the multiple molecular mechanisms after ischemic brain infarction. Recently, an elevation of S-100 protein in serum were reported in strokes, but still, different biochemical techniques must be developed as soon as possible in order to help us to improve effective treatment. Modern neuroradiological techniques help to predict the outcome; however, repeating neuroradiological imaging is impractical.

The aim of the study was to evaluate the serum levels of S-100 protein after brain infarction in correlation with clinical data and prognosis.

**Material and methods.** S-100 protein serum levels were determined in 47 patients with an acute ischemic brain infarction in the first day (within 12 hours after the onset of symptoms) and sex and age matched control subjects. The clinical status was documented using the Scandinavian Stroke Scale. The functional deficit 4 weeks after stroke onset was scored with the Barthel Index. A cranial computed tomography (CCT) was performed after 2 days.

**Results.** Elevated concentrations of S-100 protein were observed in patients with strokes. The S-100 concentrations in serum were significantly higher in patients with severe neurological deficits at the time of admission and correlated with the functional prognosis.

**Conclusions.** The measurement of S-100 protein in serum is useful to diagnose and predict the outcome in patients after brain infarction.

**Keywords:** brain infarction, S-100 protein

### Address for correspondence (Adres do korespondencji):

Dr hab. med. Danuta Kokocińska, Samodzielna Pracownia Immunodiagnostyki Klinicznej,  
Katedra i Kliniczny Oddział Chirurgii Ogólnej i Koloproktologicznej Śl. AM  
Wojewódzki Szpital Specjalistyczny Nr 5 im. Świętej Barbary  
Plac Medyków 1, 41–200 Sosnowiec  
Tel: (+48 32) 368 27 39, fax: (+48 32) 368 20 38  
e-mail: piotrwie@mp.pl

## Streszczenie

**Wstęp.** W ostatnim okresie opublikowano wiele prac podkreślających konieczność poszukiwania nowych biochemicznych czynników, które obok badania klinicznego oraz badań neuroobrazujących mogłyby pomóc w określeniu stopnia ciężkości udaru niedokrwiennego mózgu, a w konsekwencji w prowadzonym leczeniu i określaniu rokowania. Od kilku lat w związku z nowymi możliwościami terapeutycznymi przy zastosowaniu leczenia neuroprotektynowego oraz fibrynolitycznego podkreśla się znaczenie oceny stopnia uszkodzenia mózgu już w pierwszych godzinach wystąpienia choroby. Celem pracy jest ocena stężenia białka S-100 w surowicy krwi u chorych z udarem niedokrwiennym mózgu w zależności od stopnia ciężkości udaru oraz ustalenie wartości diagnostycznej takiej oceny.

**Material i metody.** Badaniem objęto 47 chorych z udarem niedokrwiennym mózgu. Rozpoznanie ustalono na podstawie badania klinicznego i tomografii komputerowej wykonywanej po 2. dobie od wystąpienia udaru. Stężenie białka S-100 w surowicy oznaczano w 1. dobie od zachorowania. Stan chorych przy przyjęciu do szpitala oraz po 30 dniach oceniano, stosując Skandynawską Neurologiczną Skalę Udarową, a oceny powrotu funkcji neurologicznych dokonywano, używając wskaźnika Barthel w 14. i 30. dobie po zachorowaniu. Grupę kontrolną stanowiło 10 zdrowych ochotników dobranych pod względem płci i wieku. Oznaczenia wykonano za pomocą metod enzymoimmunologicznych, stosując zestawy komercyjne.

**Wyniki.** W grupie badanej stwierdzono znamienne statystycznie wyższe stężenia białka S-100 niż w grupie kontrolnej.

**Wniosek.** Białko S-100 jest parametrem o istotnej wartości diagnostycznej.

**Słowa kluczowe:** udar niedokrwienny mózgu, białko S-100

## Introduction

Cerebrovascular diseases pose a challenge for aging societies, while an additional problem for states, irrespective their level of development, has been the fact that strokes ever more often affect young people; that is professionally active people. Increased financial means have been devoted to the development of techniques that enable monitoring and prognosis, as well as the planning of treatment. The main stress was put on imaging techniques, such as: computer tomography (CT), magnetic resonance imaging (MRI) and Doppler ultrasonography. These methods appear to be of much help in defining the location and extent of brain injury, as well as causes of disease, however the repeated imaging procedures are very costly, and are thus difficult to carry out. For this reason, research is continuing with the aim of finding an early and sensitive brain injury marker, easily determinable in blood serum and repeatable, which would have prognostic value as regards the course of stroke, and which could even determine the stroke high-risk group within the human population.

The determination of markers testifying to lesion of nervous tissues in the course of ischemic cerebral strokes appeared to be of little importance until recently. This may be indicated by the insignificant number of papers devoted to it in Polish and international professional literature.

S-100 protein is a calcium-binding protein, synthesized by astroglia cells, in all parts of the central nervous

## Wstęp

Choroby naczyniowe mózgu są problemem dla starzejących się społeczeństw, a dodatkowym obciążeniem państw (niezależnie od ich stopnia rozwoju) stał się fakt, że udar dotyczy coraz częściej ludzi młodych, czyli czynnych zawodowo. Coraz więcej środków finansowych przeznaczają się na rozwój technik umożliwiających monitorowanie i określenie rokowania, a także planowanie leczenia. Główny nacisk położono na techniki obrazowania, takie jak: tomografia komputerowa (CT), rezonans magnetyczny (MRI), ultrasonografia dopplerowska. Metody te są bardzo pomocne przy ustalaniu lokalizacji i rozległości uszkodzenia mózgu oraz przyczyn choroby, jednakże powtarzanie badań obrazowych jest bardzo kosztowne. Dlatego nadal poszukuje się wczesnego i czułego czynnika uszkodzenia mózgu — łatwo oznaczanego w surowicy krwi, powtarzalnego, który miałby wartość rokowniczą dotyczącą przebiegu udaru lub wręcz umożliwiłby wyłonienie z populacji ludzi należących do grupy wysokiego ryzyka wystąpienia udaru.

Do niedawna nie przywiązywano dużej wagi do oznaczania wskaźników świadczących o uszkodzeniu tkanki nerwowej w przebiegu udaru niedokrwiennego mózgu, na co wskazuje mała liczba doniesień w piśmiennictwie krajowym i zagranicznym.

Białko S-100 wiąże wapń i jest syntetyzowane przez komórki astrogleju we wszystkich częściach ośrodkowego układu nerwowego. Składa się z dwóch podjednostek  $\alpha$  i  $\beta$  tworzących różne możliwości dimerycz-

system. It consists of two sub-units,  $\alpha$  and  $\beta$ , which give the possibility of the existence of various dimeric forms:  $\alpha$ - $\alpha$ ,  $\alpha$ - $\beta$  and  $\beta$ - $\beta$ . The protein, in particular the form  $100\beta$ , appears in high concentrations in astrocytes and Schwann cells. The S-100 protein has two places of binding calcium: alkaline or acidic ones. Genes of most proteins from the S-100 family are located on chromosome 1. In normal conditions, the presence of this protein in blood serum is not found, whereas in the case of lesions to the central nervous system, it is secreted both to blood and cerebrospinal fluid, while its presence testifies not only to injuries of brain cells but also about damage to the blood-brain barrier [1, 2].

In brain infarctions affecting the vascularization of the middle cerebral artery (MCA), the course of which comprises substantial cerebral oedema, elevated concentrations of protein S-100 in blood serum has been noted. The continuous increase of this protein's concentration is correlated with the extensiveness of the infarct, confirmed by CT of the head, and may indicate unfavourable prognosis [3–6].

Elevated concentrations of S-100 protein have been noted in other diseases involving damage to the nervous system. These are: trisomy 21, Alzheimer's disease, Creutzfeldt – Jakob's disease, multiple sclerosis (MS) and head injuries. The usefulness of the determination of this protein has been confirmed in neuro-surgery for the assessment of vasospasm threat, and in the prediction of regaining consciousness in case of unconscious patients after craniocerebral injuries, as well as in angi-surgery and cardiosurgery, for the assessment of the condition of nervous tissue during surgical procedures requiring temporary circulatory arrest [7, 8].

The purpose of the study is to evaluate the presence of protein S-100  $\beta$  in blood serum of patients during the first 24 hours of ischemic cerebral stroke, determining its concentrations in the serum depending upon the severity of stroke, as well as the predictive value of concentrations of the anti-gene.

### Material and methods

The study comprised 47 patients, 27 female and 20 male, age range between 52 and 89 years (average: 70.3), admitted to the Neurological Ward of the Town Hospital SPZZOZ in Czeladź, in the years 1998–2001, due to ischemic cerebral stroke confirmed by clinical examination and brain CT performed on the second day after the stroke.

The study group included patients with known history concerning the occurrence of the disease. In 35, arterial hypertension or atrial fibrillation were detected and in 24, coronary heart disease was observed.

nych postaci;  $\alpha$ - $\alpha$ ,  $\alpha$ - $\beta$ ,  $\beta$ - $\beta$ . Białko to, a zwłaszcza postać  $100\beta$ , występuje w wysokim stężeniu w astrocytach i komórkach Schwanna. Białko S-100 posiada dwa miejsca wiązania wapnia: zasadowe lub kwaśne. Geny większości z rodziny białek S-100 są zlokalizowane na chromosomie 1. W prawidłowych warunkach nie stwierdza się obecności tego białka w surowicy krwi, natomiast w przypadku uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego jest ono wydzielane zarówno do krwi, jak i płynu mózgowo-rdzeniowego, a jego obecność świadczy nie tylko o uszkodzeniu komórek mózgu, lecz także o uszkodzeniu bariery krew–mózg [1, 2].

W zawałach mózgu, z zakresu unaczynienia tętnicy środkowej, przebiegających z dużym obrzękiem mózgu obserwowano podwyższone stężenie białka S-100 w surowicy krwi. Stały wzrost stężenia tego białka koreluje z rozległością strefy zawałowej potwierdzonej w CT głowy i może wskazywać na niepomyślne rokowanie [3–6].

Podwyższone stężenie białka S-100 stwierdzono też w innych schorzeniach przebiegających z uszkodzeniem układu nerwowego, takich jak: trisomia 21, choroba Alzheimera, choroba Creutzfeldta-Jakoba, stwardnienie rozsiane, urazy głowy. Oznaczenia tego białka wykonuje się w neurochirurgii w celu oceny zagrożenia skurczem naczyniowym i w rokowaniu powrotu świadomości u chorych nieprzytomnych po urazach czaszkowo-mózgowych, a także w chirurgii naczyniowej oraz kardiochirurgii w celu oceny stanu tkanki nerwowej w czasie zabiegów operacyjnych wymagających czasowego zatrzymania krążenia [7, 8].

Celem pracy była ocena obecności białka S-100  $\beta$  w surowicy krwi chorych w pierwszej dobie udaru niedokrwiennego mózgu, określenie surowiczych stężeń w zależności od stopnia ciężkości udaru, a także wartości rokowniczej stężeń tego antygenu.

### Material i metody

Badaniem objęto 47 chorych, w tym 27 kobiet i 20 mężczyzn w wieku 52–89 lat (średnia wieku 70,3 roku), przyjętych na Oddział Neurologii Szpitala Miejskiego SPZZOZ w Czeladzi w latach 1998–2001 z powodu udaru niedokrwiennego mózgu, potwierdzonego w badaniu klinicznym oraz na podstawie CT mózgu wykonanej po 2. dobie od wystąpienia udaru.

Do grupy badanej włączono pacjentów z wywiadem dotyczącym okoliczności zachorowania. U 35 chorych stwierdzono nadciśnienie tętnicze lub migotanie przedsionków oraz dodatkowo u 24 osób — chorobę wieńcową. Pacjentów z przebytymi w ostatnich 3 miesiącach: urazem głowy, udarem mózgu, infekcją ośrodkowego układu nerwowego oraz z guzem mózgu lub in-

Patients who, in the preceding three months, suffered from head injury, cerebral stroke, infection of the CNS, brain tumour or other neoplastic disease were excluded from the study. The control group consisted of 10 healthy volunteers, whose sex and age matched those of the subjects in the study group. The project was approved by the bioethical committee of the Medical University of Silesia (Śląska Akademia Medyczna) in Katowice, Poland.

The patients' condition was assessed in accordance with the Scandinavian Neurological Stroke Scale (SNSS). This allowed the determination of a group of 15 patients with severe stroke below 20 points, with quantitative disturbances of consciousness, and a group of light strokes, scoring over 20 points in SNSS, comprising 32 without signs of disturbed consciousness. The assessment was repeated on the 30<sup>th</sup> day.

For the assessment of restoration of neurological functions after the acute phase of the disease, the Barthel index was employed (the most frequently used method of assessing the restoration of functionality in everyday activities for stroke patients), determined on the 14<sup>th</sup> and 30<sup>th</sup> days. Blood for testing was collected from the ulnar vein, to the amount of 5 ml, in dry test tubes. Then, after centrifugation, the concentrations of protein S-100 were assessed, up to 12 hours after the stroke occurred.

The assessment was made using the luminometric method, applying commercially available kits by Byk Sangtec. The average concentration of S-100  $\beta$  protein in healthy humans should not exceed 0.2 ng/ml.

For statistical analysis of the results, the *t*-Student test was used for comparison of arithmetic mean pairs, Wilcoxon's test of pair order as a non-parametric alternative to the *t*-Student test for assessing the significance of differences between two dependent measurements (related variables) and the Kolmogorov-Smirnov test for the assessment of two samples revealing a distribution different from normal. The second and third tests are commonly used for groups with small numbers of members.

The analysis of multiple regression was used to assess the correlation of numerous independent variables with a dependent variable. The results are given in the form of arithmetic means, the accepted level of statistical significance was  $p < 0.05$ . The study group and control were homogeneous as regards age.

## Results

The study group comprised 47 patients (27 females and 20 males, age range between 52 and 89 years, average age 70.3 years) with ischemic cerebral stroke

nymi chorobami nowotworowymi wykluczono z badania. Grupę kontrolną stanowiło 10 zdrowych ochotników dobranych pod względem wieku i płci. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Biotycznej Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach.

Stan chorych oceniano według Skandynawskiej Neurologicznej Skali Udarowej (SNSS). Na jej podstawie wyodrębniono 15 osób z udarem ciężkim ( $< 20$  pkt), z ilościowymi zaburzeniami świadomości oraz grupę 32 pacjentów bez zaburzeń świadomości z udarem lekkim ( $> 20$  pkt). Ocenę powtarzano w 30. dobie.

Do określenia stopnia powrotu funkcji neurologicznych po ostrym okresie choroby zastosowano (w 14. i 30. dobie) wskaźnik Barthel (najczęstszy sposób oceny funkcjonalnej powrotu do aktywności życia codziennego u chorych z udarem). Krew do badań w ilości 5 ml pobierano z żyły łokciowej do suchych probówek, a następnie po odwirowaniu oznaczano stężenia białka S-100 do 12 godzin po wystąpieniu udaru.

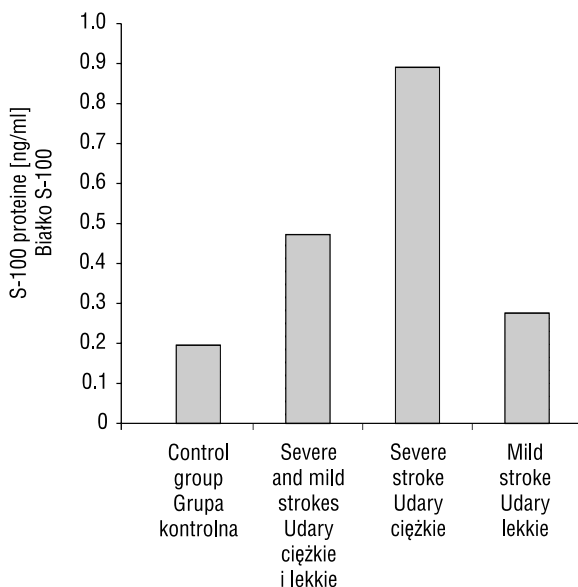
Badania wykonywano metodą luminometryczną, stosując zestawy komercyjne firmy Byk Sangtec. Średnie stężenie białka S-100  $\beta$  u osób zdrowych nie powinno przekraczać 0,2 ng/ml.

Do analizy statystycznej wyników zastosowano test *t*-Studenta w celu porównania par średnich arytmetycznych, test kolejności par Wilcozona jako nieparametryczną alternatywę testu *t*-Studenta do oceny istotności różnic między dwoma zależnymi pomiarami (zmiennymi powiązany) oraz test Kołmogorowa-Smirnowa, aby ocenić dwie próby cechujące się rozkładem innym niż normalny. Testy 2 i 3 są powszechnie stosowane w grupach o małej liczebności.

Analizę regresji wielokrotnej zastosowano w celu oceny korelacji wielu zmiennych niezależnych ze zmienną zależną. Wyniki podano jako średnie arytmetyczne. Za poziom istotności statystycznej przyjęto  $p < 0,05$ . Grupa badana i kontrolna były jednorodne w zakresie wieku.

## Wyniki

Badaną grupę stanowiło 47 chorych (27 kobiet i 20 mężczyzn w wieku 52–89 lat, średnia wieku 70,3 roku) z udarem niedokrwiennym mózgu, potwierdzonym za pomocą CT, leczonych w latach 1998–2001. Czas wystąpienia udaru określono na podstawie dokładnego wywiadu zebranego od rodziny. W grupie badanej czas ten nie przekraczał 12 godzin od zachorowania. Pacjenci, u których początek choroby był trudny do ustalenia, nie zostali włączeni do tej grupy. Stan neurologiczny chorych w dniu przyjęcia do szpitala oceniano według SNSS i na jej pod-



**Figure 1.** S-100 protein concentrations within the first day after stroke in patients divided according to severity grade

**Rycina 1.** Stężenie białka S-100 [ng/ml] w 1. dobie po wystąpieniu udaru w poszczególnych grupach chorych w zależności od stopnia ciężkości udaru

confirmed by computer tomography, treated in the years 1998 to 2001. The time of stroke occurrence was determined by taking detailed history from the patient's family; in the study group, it did not exceed 12 from the stroke incident. Patients for whom it was difficult to determine the onset of the disease were not included in the study group. The neurological condition of patients on the day of admission was determined in accordance with the Scandinavian Neurological Stroke Scale (SNSS), on its basis, the group was divided into those with severe strokes below 21 points (15 patients) and the group of light strokes, scoring over 22 points (32 patients). The patients were subsequently assessed on the 30<sup>th</sup> day after stroke, using SNSS and Barthel index on the 14<sup>th</sup> and 30<sup>th</sup> days. Five patients died before the 7<sup>th</sup> day of observation, one more before the 14<sup>th</sup> day, which excluded their further assessment. Seven other patients were excluded before subsequent assessment phases, due to acute infection and internal complications. The study and control groups were homogeneous as regards age. The results of S-100 protein assessment on day one after stroke, bearing in mind the stroke severity grade, are presented in Figure 1 and in Table 1.

The analysis of the entire study group, in relation to control, revealed elevated concentrations of S-100 protein. The highest concentrations were noted in the subgroup of severe strokes, lower, yet still statistically significant ones, in comparison with the control group — in the subgroup with light strokes.

**Table 1.** S-100 protein concentrations on the first day after the stroke in all groups of patients and in the control population

**Tabela 1.** Stężenie białka S-100 [ng/ml] w pierwszej dobie po wystąpieniu udaru u chorych z podziałem w zależności od stopnia ciężkości

Group name Nazwa grupy	S-100 proteine Białko S-100 [ng/ml]	n	p
Severe strokes Udary ciężkie	0.89 ± 0.55	15	< 0.001
Mild strokes Udary lekkie	0.27 ± 0.15	32	< 0.01
Severe and mild strokes Udary ciężkie i lekkie	0.47 ± 0.44	47	< 0.001
Control group Grupa kontrolna	0.19 ± 0.03	10	

stawie dokonano podziału na dwie grupy: pacjenci z udarem ciężkim — 15 osób (< 21 pkt) oraz chorzy z udarem lekkim — 32 osoby (> 22 pkt). Następnie pacjentów oceniano w 30. dobie, stosując skalę SNSS oraz w 14. i 30. dobie, wykorzystując wskaźnik Barthel. Pięciu chorych zmarło przed 7. dobą obserwacji, a 1 przed 14., co uniemożliwiło ich dalszą ocenę. Z powodu wystąpienia ostrej infekcji oraz powikłań internistycznych z kolejnych etapów badania wyłączono 7 pacjentów. Grupa badana i grupa kontrolna były jednorodnie pod względem wieku (także pod względem płci). Wyniki oznaczania stężenia białka S-100 w pierwszej dobie z uwzględnieniem podziału na stopień ciężkości udarów przedstawiono na rycinie 1 i w tabeli 1.

W analizie całej grupy badanej i kontrolnej wykazano podwyższone wartości białka S-100. Największe stężenia uzyskano w grupie pacjentów z udarami ciężkimi, natomiast niższe, ale nadal znamienne statystycznie w stosunku do grupy kontrolnej — w grupie osób z udarami lekkimi.

Na podstawie analizy statystycznej stwierdzono, że stężenie białka S-100 wyższe od 0.6 ng/ml występuje wyłącznie u pacjentów z udarem ciężkim. Jest to stężenie, powyżej którego należy liczyć się z niekorzystnym przebiegiem choroby, co ilustrują ryciny 2–4.

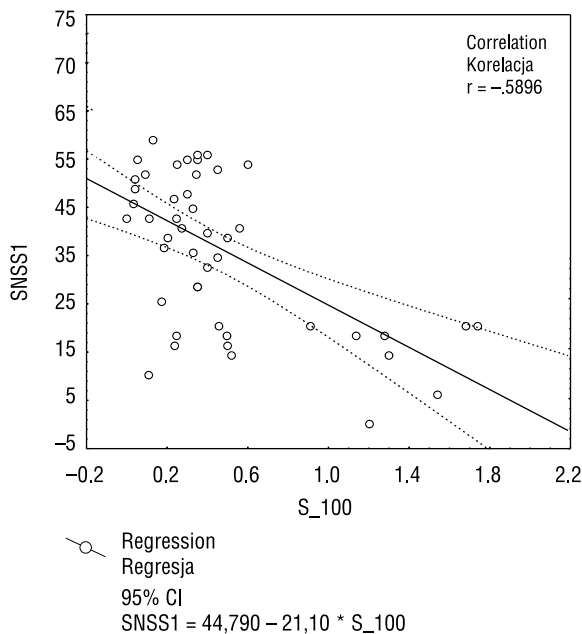
## Dyskusja

Wzrost zachorowań na udar niedokrwienny mózgu — jedną z trzech głównych przyczyn zgonów i kalektwa zarówno na świecie, jak i w Polsce — spowodował, że większą uwagę zaczęto poświęcać rozwojowi technik służących do oceny stanu neurologicznego chorych. Podstawowe neurologiczne badanie podmiotowe i przedmiotowe jest przydatne w przypadkach średnio

Statistical analysis revealed that the concentration of S-100 protein was higher than 0.6 ng/ml only in patients after severe stroke. This is a concentration above which an unfavourable course of the disease has to be expected, which is illustrated in Figures 2–4.

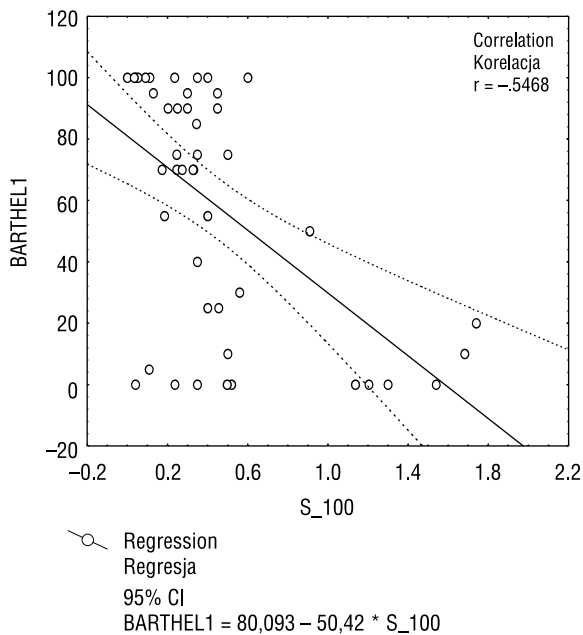
### Discussion

Increased incidence of ischemic cerebral strokes — one of the three main causes of death and invalidism both world-wide and in Poland — has resulted in enormous progress in the development of techniques applied for the assessment of the neurological condition of patients. The basic objective and subjective neurological examination is useful in cases of not too severe or mild strokes, when the patient’s awareness is not disturbed. The assessment of the brain function in patients with severely disturbed awareness requires the introduction of new diagnostic methods. Thus, modern ways of brain imaging have been introduced and developed, such as computer tomography, magnetic resonance (MR), evoked potentials and Doppler ultrasonography, which assist in the identification of the size and type of lesion focus, affecting the decision about more or less aggressive therapy. However, the



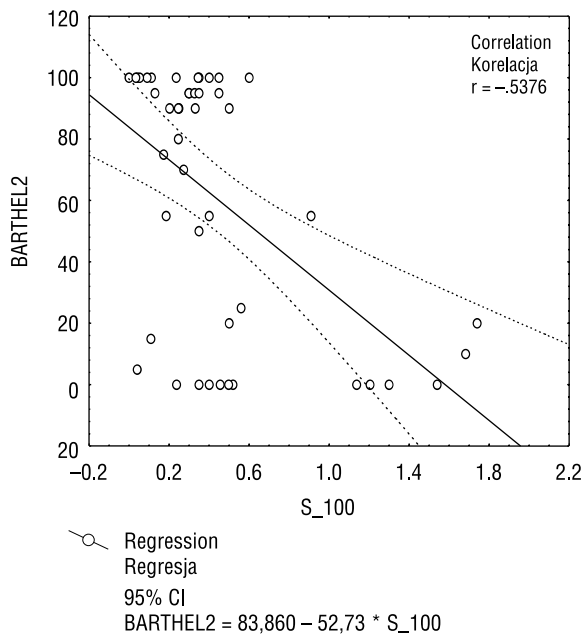
**Figure 2.** Results of correlation between S-100 protein blood serum concentrations in the first day and SNSS score in the first day after stroke (SNSS 1) in all examined patients ( $p < 0.00005$ )

**Rycina 2.** Wyniki korelacji pomiędzy stężeniem białka S-100 w surowicy krwi w 1. dobie a Skandynawską Neurologiczną Skalą Udarową (SNSS) w 1. dobie po wystąpieniu udaru (SNSS 1) u wszystkich badanych ( $p < 0,00005$ )



**Figure 3.** Results of correlation between S-100 protein blood serum concentrations on the first day and Barthel Index on 14<sup>th</sup> day after stroke (BARTHEL 1) in all examined patients ( $p < 0.0001$ )

**Rycina 3.** Wyniki korelacji pomiędzy stężeniem białka S-100 w surowicy krwi w 1. dobie a wskaźnikiem Barthel w 14. dobie po wystąpieniu udaru (Barthel 1) u wszystkich badanych ( $p < 0,0001$ )



**Figure 4.** Results of correlation between S-100 protein blood serum concentrations on the first day and Barthel Index on 30<sup>th</sup> day after stroke (BARTHEL 2) in all examined patients ( $p < 0.0002$ )

**Rycina 4.** Wyniki korelacji pomiędzy stężeniem białka S-100 w surowicy krwi w 1. dobie a wskaźnikiem Barthel w 30. dobie po wystąpieniu udaru (Barthel 2) u wszystkich badanych ( $p < 0,0002$ )

imaging techniques available in hospital conditions on the first day after stroke do not assess the damage at molecular level [5, 9].

A review of professional literature indicates increased interest of researchers in quantitative assessment of the concentration of brain damage indicators secreted to blood, such as: NSE, GAP, S-100 protein, alkaline myelin protein, etc.

So far, there is no clear indication which of them is the most crucial one, highly sensitive to nervous tissue injuries, and is quickly released to body fluids, at the same time being independent of such parameters as age or sex [4, 5, 10, 11]. Most of the studies carried out so far have involved animal models, in the case of ischemic cerebral stroke the parameters have been assessed mainly in the cerebrospinal fluid [6, 12]. Only in recent years, due to limited indications for lumbar puncture in ischemic cerebral stroke and the development of novel diagnostic methods, have reports appeared about the assessment of S-100 protein, GFAP, and NSE in blood serum.

One of the new indicators, followed with much hope by neurologists and neurosurgeons is the S-100 protein [4, 5, 13, 10].

In 1994, Niebrój-Dobosz and Rafałowska et al [14], when studying the concentration of S-100 protein in cerebrospinal fluid and blood serum of seven patients suffering from ischemic cerebral stroke, came up with a hypothesis about the usefulness of this parameter in monitoring or establishing prognoses in cerebral stroke cases.

Persson et al [6], on the basis of their observations, found elevated concentrations of S-100 protein in cerebrospinal fluid to occur between 18 hours and 4 four days after a heavy incident of brain infarction, while no increase of concentration was observed after transient ischemic fits and mild strokes. Those authors were also the first ones to determine the concentration of S-100 protein in the blood serum of patients with cerebral strokes, and who found its increased concentration in 2 patients. The methods used at that time differed substantially in their accuracy from those of the present-day, which was proven in subsequent studies [5, 15]. On the basis of their research, Büttner et al [15] found that in ischemic cerebral stroke involving MCA infarction, some 80% of the patients had significantly elevated concentrations of S-100 protein in blood serum in at least one sample taken over a ten-day post-stroke period of observation. In the published results of research, the most profound increase in the concentration concerned patients with extensive brain oedema and displaced cerebral midline in CT of the head. Uninterrupted increase of the S-100 protein concentration indicated poor survival prognosis or high risk of invalidism.

ciężkich i lekkich udarów, gdy stan świadomości chorego nie jest zaburzony. Ocena funkcji mózgu u osób z głębokimi zaburzeniami świadomości wymaga wprowadzania nowych metod diagnostycznych. Powstają zatem i rozwijają się nowoczesne sposoby obrazowania mózgu, takie jak tomografia komputerowa, rezonans magnetyczny, potencjały wywołane, ultrasonografia dopplerowska, które umożliwiają identyfikację wielkości i rodzaju ogniska uszkodzenia, wpływając na decyzję o podjęciu mniej lub bardziej intensywnej terapii. Jednak badania obrazowe dostępne w warunkach szpitalnych w pierwszej dobie udaru nie pozwalają na określenie stopnia uszkodzenia na poziomie molekularnym [5, 9].

Przegląd piśmiennictwa wskazuje na coraz większe zainteresowanie badaczy ilościowym oznaczaniem stężenia wskaźników uszkodzenia mózgu uwalnianych do krwi, takich jak: NSE, GAP, białko S-100, zasadowe białko mieliny itd.

Nadal brak jednoznacznej oceny, który z tych parametrów jest najistotniejszy, posiada wysoką czułość dla uszkodzenia tkanki nerwowej oraz cechuje się szybkim uwalnianiem do płynów ustrojowych, a jednocześnie nie zależy od wieku i płci [4, 5, 11, 10]. Większość dotychczasowych badań przeprowadzono na modelach zwierzęcych, a w przypadkach udaru niedokrwiennego mózgu u ludzi parametry oznaczano głównie w płynie mózgowo-rdzeniowym [6, 12]. Ponieważ wskazania do nakłucia lędźwiowego u chorych z udarem niedokrwiennym mózgu są ograniczone, ale wciąż rozwijają się nowe metody diagnostyczne, w ostatnich latach pojawiły się doniesienia dotyczące oznaczania białka S-100, GFAP i NSE w surowicy krwi.

Jednym z nowych wskaźników, który budzi ogromne nadzieje neurologów i neurochirurgów, jest białko S-100 [4, 5, 10, 13].

W 1994 roku Niebrój-Dobosz i wsp. [14], badając stężenie białka S-100 w płynie mózgowo-rdzeniowym oraz w surowicy krwi 7 chorych z udarem niedokrwiennym mózgu, sformułowali hipotezę o przydatności oznaczeń tego parametru w monitorowaniu lub prognozowaniu rokowania w przypadku tego schorzenia.

Persson i wsp. [6] na podstawie swoich obserwacji stwierdzili podwyższone stężenie białka S-100 w płynie mózgowo-rdzeniowym od 18 godzin do 4 dni po ciężkim zawale mózgu, natomiast nie zanotowali wzrostu po przemijających atakach niedokrwiennych i lekkich udarach. Autorzy ci byli zarazem pierwszymi, którzy oznaczali białko S-100 w surowicy krwi u chorych z udarem mózgu, stwierdzając wzrost stężenia tego parametru u 2 osób. Metody wówczas stosowane odbiegały znacznie dokładnością od wykorzystywanych obecnie, co udowodniono w późniejszych badaniach [5, 15].

Bearing in mind the results of the studies presented above, the concentrations of S-100 protein in blood serum was assessed in our own clinical material on the first day after ischemic cerebral stroke. The patients in the study group were divided into two sub-groups on the basis of stroke severity. In patients with severe stroke, elevated concentrations of S-100 protein were observed in all cases, while in patients with mild stroke elevated concentrations were observed in 15 people, that is some 50% of the sub-group. The values in the control group did not exceed 0.2 ng/ml, which is in line with literature [5, 11, 16].

The average concentration in the sub-group with severe strokes amounted to 0.89 ng/ml and was statistically significantly different both from the value for mild strokes and from the value in the control group. Most of the patients with S-100 protein concentrations confirmed as below 0.6 ng/ml had good prognoses. Above that limit, irreversible brain injury may occur.

Review of professional literature concerning the assessed values of S-100 protein concentrations in various neurological illnesses indicates a substantial prognostic value of that parameter. Most authors agree that elevated concentration of S-100 protein predicts badly [4, 5, 13, 15, 17].

Our results appear quite similar to those of Martens et al [4], who assessed the concentration of S-100 protein as a predictive factor for regaining consciousness after cerebral ischemia. They pointed out the value of 0.7 ng/ml as critical.

It needs to be noted that these isolated studies were published in the last 2–3 years, while the S-100 protein is still the subject of many research projects, which concern, in particular, its threshold concentration level, above which poor prognoses should be expected.

### Conclusions

1. Elevated concentration of the S-100 protein has been noted in the blood serum of patients with ischemic cerebral stroke.
2. In patients with acute ischemic cerebral stroke, it has been noted that the concentration of S-100 protein exceeded 0.6 ng/ml.
3. Determination of the concentration of S-100 protein during the first day of the occurrence of the ischemic cerebral stroke appears to be of prognostic value.

Na podstawie swoich badań Büttner i wsp. [15] stwierdzili, że w udarze niedokrwiennym mózgu, z zakresu unaczynienia tętnicy środkowej mózgu, u około 80% chorych zanotowano znaczący wzrost stężenia białka S-100 w surowicy krwi co najmniej w jednej próbce krwi podczas 10-dniowej poudarowej obserwacji. Wyniki badań wskazały, że największy wzrost stężenia dotyczył chorych z rozległym obrzękiem mózgu oraz z przesunięciem linii środkowej mózgu w badaniu tomograficznym głowy. Nieprzerwany wzrost stężenia białka S-100 sugerował niepomyślną prognozę dotyczącą przeżycia lub stopnia kalectwa.

Kierując się wynikami powyższych badań, we własnym materiale klinicznym oznaczano stężenie białka S-100 w surowicy krwi w pierwszej dobie wystąpienia udaru niedokrwiennego mózgu. Chorych podzielono na dwie grupy z uwzględnieniem stopnia ciężkości udaru. U wszystkich pacjentów z udarem ciężkim stężenie białka S-100 były podwyższone, natomiast u chorych z udarem lekkim — u 15 osób, co stanowi około 50%. Wartości w grupie kontrolnej nie przekraczały 0,2 ng/ml, co jest zgodne z danymi z piśmiennictwa [5, 11, 16].

Średnie stężenie w grupie pacjentów z udarem ciężkim wynosiło 0,89 ng/ml i różniło się znamienne statystycznie zarówno w porównaniu z osobami z udarem lekkim, jak i w porównaniu z grupą kontrolną. U większości chorych, u których stężenie białka S-100 wynosiło poniżej 0,6 ng/ml, rokowanie było dobre. Powyżej tej granicy należy się liczyć z nieodwracalnym uszkodzeniem mózgu.

Przegląd piśmiennictwa na temat wartości oznaczeń białka S-100 w różnych schorzeniach neurologicznych wskazuje na dużą wartość rokowniczą tego parametru. Większość autorów uważa, że podwyższone stężenie białka S-100 wskazuje na niekorzystne rokowanie [4, 5, 13, 15, 17].

Wyniki niniejszej pracy są zbliżone do uzyskanych przez Martensa i wsp. [4], którzy ocenili stężenie białka S-100 jako wskaźnik w rokowaniu powrotu świadomości po niedokrwieniu mózgu. Za krytyczną wartość uznali 0,7 ng/ml.

Należy zaznaczyć, że te pojedyncze prace opublikowano w ostatnich 2–3 latach, a białko S-100 jest nadal przedmiotem wielu badań, zwłaszcza jego stężenie progowe, po przekroczeniu którego należy liczyć się z niekorzystnym rokowaniem.



## References

1. Allore RJ, Friend WC, O' Hallon D (1990) Cloning and expression of the human S-100B gene. *J Biol Chem*, 265: 1537–1543.
2. Missler U, Wiessman M, Friedrich Ch, Kaps M (1997) S-100 protein and Neuron-Specific Enolase concentrations in blood as indicators of infarction volume and prognosis in acute ischemic stroke. *Stroke*, 28: 1956–1960.
3. Abraha HD, Butterworth RJ, Bath PM, Wassif W, Garthwaite J, Sherwood RA (1997) Serum S-100 protein, relationship to clinical outcome in acute stroke. *Ann Clin Biochem*, 34: 546–550.
4. Martens P, Raabe A, Johnsson P (1998) Serum S-100 and Neuron-Specific Enolase for prediction of regaining consciousness after global cerebral ischemia. *Stroke*, 29: 2363–2366.
5. Missler U, Wiessman M, Friedrich Ch, Kaps M (1997) S-100 protein and Neuron-Specific Enolase concentrations in blood as indicators of infarction volume and prognosis in acute ischemic stroke. *Stroke*, 28 (10): 1956–1960.
6. Persson L, Hardemark HG, Gustafsson J, Rundstrom G, Mendel-Hartwig Ib, Esscher T, Pahlman S (1987) S-100 protein and Neuron-Specific Enolase in cerebrospinal fluid and serum: markers of cell damage in human central nervous system. *Stroke*, 18: 911–918.
7. Ingebrigsten T, Romner B (1996) Serial S-100 protein serum measurements related to early magnetic resonance imaging after minor head injury. *J Neurosurg*, 85: 945–958.
8. Woś S, Opala G, Jasiński M, Janas P, Bachowski R, Kuś H, Domaradzki W, Gemel M, Deja M, Dyaczyńska-Herman A (1997) Wczesne ośrodkowe powikłania neurologiczne po operacjach serca w krążeniu pozaustrojowym. *Kard Pol*, 47: 115–120.
9. Ryglewicz D (1992) Epidemiologia udarów mózgu. *Medycyna* 2000, 38: 38–40.
10. Jong S Kim, Sung S Yoon, Yang H Kim, Jin S Ruy (1996) Serial measurement of interleukin-6, transforming growth factor- $\beta$ , and S-100 protein in patients with acute stroke. *Stroke*, 27: 1553–1557.
11. Nygaard O, Langbakk B, Romner B (1997) Age- and sex-related changes of S-100 protein concentrations in cerebrospinal fluid and serum in patients with no previous history of neurological disorder. *Clin Chem*, 43: 541–543.
12. Aurell A, Rosengren L, Karlsson B, Olsson JE, Zbornikowa V, Haglid K (1991) Determination of S-100 and glial fibrillary acidic protein concentrations in cerebrospinal fluid after brain infarction. *Stroke*, 22: 1254–1258.

## Wnioski

1. Stwierdzono podwyższone stężenia białka S-100 w surowicy krwi osób z udarem niedokrwiennym mózgu.
  2. U chorych z ciężkim udarem niedokrwiennym mózgu wykazano, że stężenie białka S-100 w surowicy krwi przekracza 0,6 ng/ml.
  3. Oznaczanie stężenia białka S-100 w pierwszej dobie wystąpienia udaru niedokrwiennego mózgu prawdopodobnie ma wartość rokowniczą.
- 
13. Butterworth RJ, Wassif WS, Sherwood RA, Gerges A, Poyser KH, Garthwaite J, Peters TJ, Bath PM (1996) Serum Neuron-Specific Enolase, Carnosinase, and their ratio in acute stroke. *Stroke*, 27: 2064–2068.
  14. Niebrój-Dobosz I, Rafałowska J, Łukasiuk M, Pfefer A, Mossakowski MJ (1994) Immunochemical analysis of some proteins in cerebrospinal fluid and serum of patients with ischemic strokes. *Folia Neuropathol*, 32: 129–137.
  15. Büttner T, Weyers S, Postert T, Sprengelmeyer R, Kuhn W (1997) S-100 protein: serum marker of focal brain damage after ischemic territorial MCA infarction. *Stroke*, 28: 1961–1965.
  16. Lynch J, Blessing R, White W, Grocott H, Newman M, Laskowitz D (2004) Novel diagnostic test for acute stroke. *Stroke*, 35: 57–63.
  17. Foerch C, Otto B, Singer O, Neumann-Haefelin T, Yan B, Berkefeld J, Steinmetz H, Sitzer M (2004) Serum S100B predicts a malignant course of infarction in patients with acute middle cerebral artery occlusion. *Stroke*, 35: 2160–2164.
  18. Członkowska A, Ryglewicz D (1996) Epidemiologia udarów mózgu. *Terapia*, 9: 4–11.
  19. Missler U, Wandinger KP, Wiessmann M, Kaps M, Wessel K (1997) Acute exacerbation of multiple sclerosis increases plasma levels of S-100 protein. *Acta Neurol*, 96: 142–144.
  20. Otto M, Wiltfang J, Schultz E (1998) Diagnosis of Creutzfeld-Jakob disease by measurement of S-100 protein in serum: prospective case — control study. *Br Med J*, 316: 577–582.
  21. Rafałowska J, Dolińska E, Dziewulska D, Krajewski S (1990) Zawały mózgu w wieku średnim i starczym. Zaburzenia przepuszczalności bariery krew–mózg w badaniach immunocytochemicznych. *Neuropatol Pol*, 28: 1–17.
  22. Wiessmann M, Missler U, Hagenstrom H, Gottman D (1997) S-100 protein plasma levels after aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Acta Neurochir*, 139: 1155–1160.