

BIĄŁKO S100B, ASTROCYTY I PAMIĘĆ*

S100B PROTEIN, ASTROCYTES AND MEMORY

Michał KIELBIŃSKI i Zbigniew SOŁTYS

Zakład Neuroanatomii, Instytut Zoologii
Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków

Streszczenie: S100 to występująca u kręgowców rodzina małych, wiążących wapń białek. Jednym z nich jest S100B, białko występujące głównie w astrocytach. Komórki te są również źródłem S100B uwalnianego do przestrzeni międzykomórkowej. Białko S100B uczestniczy w regulacji wielu procesów, takich jak: fosforylacja białek cytoszkieletowych, namnażanie się i różnicowanie komórek. Prowadzone od ponad 40 lat badania dowodzą, że S100B ma dodatni wpływ na procesy uczenia się. Są jednak również dowody wskazujące na to, że nadmiar S100B może prowadzić do zaburzeń pamięci. Jest możliwe, że zwiększone wydzielanie S100B przez astrocyty może być współodpowiedzialne za deficyty pamięci obserwowane we wczesnych stadiach choroby Alzheimera.

Słowa kluczowe: białko S100B, cytoszkielet, astrocyty, pamięć.

Summary: S100 is a vertebrate-specific family of small, calcium-binding proteins. One of them is the S100B protein, mostly expressed in and released by astroglial cells in the brain. The protein has been implicated in the regulation of numerous processes including phosphorylation of cytoskeletal proteins, cell proliferation and differentiation, and many others. This article is focused on the role of S100B in the processes related to learning and memory. More than four decades of behavioral and neurophysiological research reveal beneficial effects of this protein. However, there are also pieces of evidence that overexpression of S100B can lead to dysfunction of memory. It is possible that increased release of S100B from astrocytes may be co-responsible for memory dysfunction observed in the early stages of Alzheimer's disease.

Keywords: S100B protein, cytoskeleton, memory, astrocytes.

WSTĘP

Odkrycia ostatnich lat dowodzą, że astrocyty nie tylko pełnią funkcje pomocnicze w stosunku do neuronów, pośrednicząc w przekazie substancji odżywczych z układu krwionośnego do komórek nerwowych [27], regulując stężenie jonów w środowisku

*Praca finansowana z grantu BW/IZ/57/2006.

pozakomórkowym [25] czy chroniąc komórki nerwowe przed czynnikami patogenicznymi [48], ale także mogą odgrywać znaczącą rolę w przetwarzaniu informacji w centralnym systemie nerwowym, w tym także w procesach związanych z nabywaniem i konsolidacją śladów pamięciowych [58]. Uważa się, że pamięć ma związek z plastycznością synaptyczną, czyli ze zmianami we właściwościach i liczbie synaps, a także w rozroście dendrytów i aksonów. Coraz większa liczba obserwacji wskazuje na możliwość udziału astrocytów w takich procesach. Przy pomocy różnych gliotransmiterów astrocyty mogą wpływać na aktywność receptorów NMDA [31,36], regulować liczbę receptorów AMPA w synapsach [55], stymulować proces tworzenia nowych synaps [2,57], a nawet wspierać proces neurogenezy [50]. Zmianom w strukturze sieci nerwowej towarzyszą również zmiany w morfologii astrocytów [20]. Procesy te są bardzo złożone i zaangażowanych jest w nie wiele czynników. Jednym z nich, w dodatku bardzo wcześnie zidentyfikowanym, jest białko S100B.

Przeszło 40 lat temu wykryto w ekstraktach z tkanki nerwowej białka, które początkowo wydawały się specyficzne tylko dla mózgu [44]. Jedno z nich, nazwane S100 (później wykazano, że była to w istocie mieszanina dwóch pokrewnych białek, S100A1 i S100B [61]), od początku wzbudziło duże zainteresowanie. Sam odkrywca uważał, że jest to białko specyficzne dla neuronów [33], szybko jednak pojawiły się dowody wskazujące również na możliwość jego ekspresji w gleju [17]. Badania Cicero i wsp. [4] na wiele lat utrwaliły pogląd, że S100B jest głównie, albo i wyłącznie, białkiem astrocytarnym. W efekcie przez długi czas S100B było traktowane jako immunocytochemiczny marker astrocytów. Zasadniczo jest to podejście słuszne. Późniejsze badania pozwoliły wprowadzić na wykrycie białka S100B w oligodendrocytach [14,64], w licznych populacjach neuronów [64], a nawet w komórkach mikrogleju [1], to jednak najsilniejsza ekspresja tego białka jest obserwowana w astrocytach. Co więcej, jest to jak na razie najbardziej uniwersalny marker tych komórek. Inny marker – kwaśne, włóknikowe białko glejowe – GFAP (*glial fibrillary acidic protein*) nie występuje we wszystkich astrocytach. Astrocyty mogą różnić się kształtem, właściwościami elektrycznymi, obecnością białek transportujących i receptorów błonowych [21,49]. Natomiast białko S100B występuje najprawdopodobniej we wszystkich astrocytach, z wyjątkiem niewielkiej populacji niedojrzałych komórek w strefach neurogenicznych: w strefie przykomorowej i warstwie subgranularnej zakrętu zębatego hipokampa [41,54]. Komórki te wykazują obecność GFAP i mogą być prekursorami zarówno komórek nerwowych, jak i glejowych. Raponi i wsp. [41] uważają, że pojawienie się S100B oznacza transformację niedojrzałej, multipotencjalnej komórki macierzystej, do dojrzałej komórki glejowej.

PODSTAWOWE WŁAŚCIWOŚCI

S100 to rodzina występujących powszechnie u kręgowców małych (masa cząsteczkowa w granicach 10–12 kDa) białek wiążących wapń, mających motyw *EF-hand* odpowiedzialny za wiązanie jonów, głównie Ca^{2+} [7,8,19]. Motyw ten może też wiązać jony Zn^{2+} i prawdopodobnie jony Cu^{2+} [8]. W odróżnieniu od wielu podobnych

białek, takich jak kalmodulina i białka z rodziny NCS, zawierających 4 motywy *EF-hand*, rodzina białek S100 charakteryzuje się występowaniem dwóch takich fragmentów na jednej cząsteczce [18,29].

Białko S100B zazwyczaj funkcjonuje jako homodimer, może też tworzyć kompleksy z innymi białkami z rodziny S100, zwłaszcza z S100A1, S100A6, S100A11 [6]. Takie dimeryczne cząsteczki mają łącznie 4 miejsca wiązania jonów wapnia. U człowieka gen kodujący białko S100B zlokalizowany jest na chromosomie 21 [47]. Fakt ten może mieć związek z potencjalną rolą tego białka w patogenezie zespołu Downa i choroby Alzheimera.

BIAŁKO S100B I PAMIĘĆ – BADANIA EKSPERYMENTALNE

Obserwacje, że S100B ulega ekspresji w mózgu skłoniły badaczy do poszukiwania związków między tym białkiem a funkcjami poznawczymi. Pionierem badań w tej dziedzinie był Holger Hyden. Już pod koniec lat sześćdziesiątych wykazał, że uczenie się powoduje zwiększoną syntezę pewnych białek, w tym właśnie S100B, natomiast dokomorowe iniekcje przeciwciał skierowanych przeciwko S100B hamują konsolidację śladu pamięciowego. Zostało to potwierdzone także w eksperymentach prowadzonych w następnych latach, przy wykorzystaniu różnych metod testowania pamięci [15,44].

Zbieżne z wynikami badań behawioralnych są obserwacje Lewisa i Teylora z połowy lat osiemdziesiątych [44], dotyczące wpływu przeciwciał na indukcję długotrwałego wzmocnienia synaptycznego (LTP) w skrawkach z hodowli tkankowej. Wzmocnienie synaptyczne jest uważane za model procesów prowadzących do powstania długotrwałego śladu pamięciowego. Szczególnie łatwo wywołać je w hipokampie i właśnie do tej struktury były podawane przeciwciała przeciwko S100B. Przeciwciała zablokowały możliwość wywołania LTP, natomiast normalna aktywność elektryczna neuronów pozostała niezmienniona.

Domózgowe podanie S100B może działać korzystnie na pewne formy uczenia się. Mello e Souza i wsp. [32] wykazali, że dokomorowe iniekcje tego białka ułatwiają konsolidację śladu pamięciowego w teście biernego unikania. Podobne wyniki uzyskano w doświadczeniach, w których badano wpływ S100B na uczenie się szczurów z eksperymentalnie uszkodzonymi mózganami. Stwierdzono, że zwierzęta, którym podano S100B, wykazują większą efektywność uczenia się w labiryncie wodnym niż zwierzęta z grupy kontrolnej [22].

Omawiane doświadczenia mogłyby sugerować, że istnieje prosta zależność między S100B a konsolidacją engramu: brak białka utrudnia, a jego obecność ułatwia zapamiętywanie. Jednak obserwacje przeprowadzone na myszach transgenicznych dowodzą, że efekt działania tego białka w dużym stopniu zależy od jego ilości.

W tego typu badaniach wykorzystywane są dwa rodzaje zwierząt: myszy ze znokautowanym genem kodującym S100B i myszy mające dodatkowe kopie mysiego lub ludzkiego genu. U myszy z dodatkowymi kopiami genu, a w konsekwencji wyższym poziomem S100B, zaobserwowano szereg zaburzeń zarówno w testach behawioralnych, szczególnie dotyczących pamięci przestrzennej, jak i podczas indukcji LTP [13,65].

Natomiast myszy pozbawione genu kodującego S100B wydają się funkcjonować i rozwijać całkowicie prawidłowo. Nishiyama i wsp. [35] wykazali jednak, że u takich zwierząt indukcja LTP wywołuje znacznie silniejsze wzmocnienie niż u myszy niemodyfikowanych. Efekt ten może być cofnięty po iniekcji białka w ilościach odpowiadających normalnemu stężeniu fizjologicznemu.

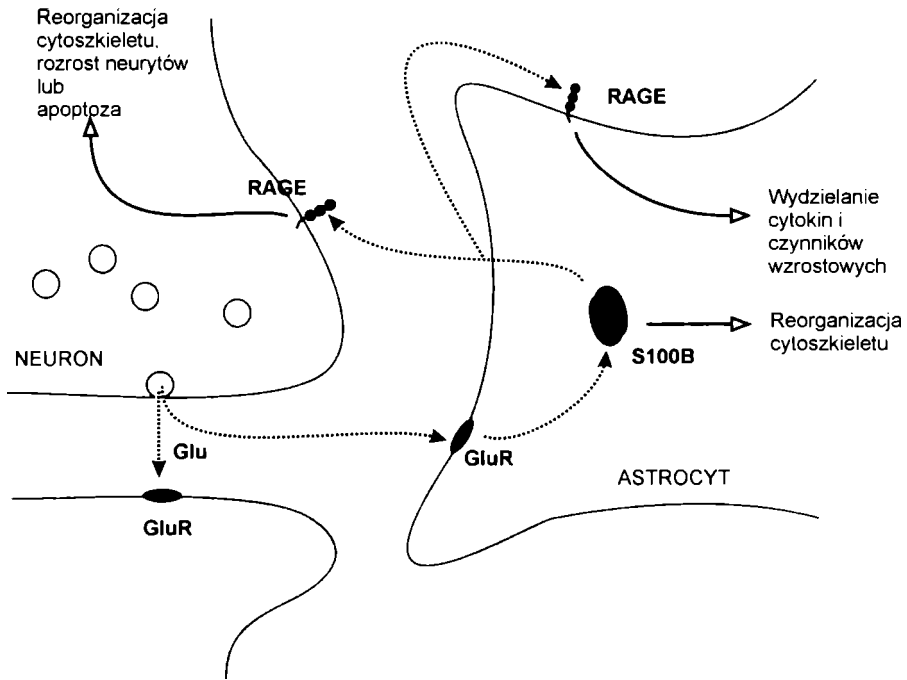
BIĄŁKO S100B JAKO CZYNNIK WZROSTOWY

Istnieją dowody na to, że białko S100B może działać jako czynnik wzrostowy. Już w latach siedemdziesiątych zaobserwowano, że dodanie S100B do pożywki powodowało rozrost neurytów i zwiększenie przeżywalności komórek w hodowli [24]. Neurotroficznym działaniem można wytłumaczyć opisane wyżej doświadczenia, wykazujące korzystny wpływ S100B na funkcje pamięciowe u zwierząt z uszkodzonymi mózgami [22]. W takich sytuacjach S100B może albo chronić komórki nerwowe przed degeneracją spowodowaną uszkodzeniem tkanki (działanie neuroprotektoryjne), albo też może stymulować proces regeneracji (działanie neurotroficzne). Ta druga możliwość została potwierdzona w kolejnych badaniach, w których stwierdzono, że u zwierząt z uszkodzonymi mózgami dokomorowa infuzja S100B zwiększa liczbę nowopowstałych komórek nerwowych [23].

Aby hipoteza dotycząca roli białka S100B w tych procesach plastycznych, które mają związek z tworzeniem śladów pamięciowych, była zasadna, trzeba jeszcze wykazać, że astrocyty mogą wydzielać S100B w odpowiedzi na transmisję synaptyczną.

Istnieje prawdopodobnie wiele neuroprzekaźników, które mogą stymulować wydzielanie S100B przez astrocyty. W hodowli komórkowej wykazano, że sekrecja tego białka może zachodzić po pobudzeniu receptorów purynergicznym A1 lub glutamatergicznym mGluR3 [3] jak również serotoninergetycznych 5HT-1A [24]. Podobny efekt *in vivo* nie został jeszcze zaobserwowany, można jednak przyjąć, że jest wysoce prawdopodobny. Astrocyty mają receptory glutamatergiczne [63], a ich wypustki otaczają ściśle co najmniej połowę synaps wykorzystujących ten neuroprzekaźnik [62]. Wydzielany w synapsie glutaminian może więc działać zarówno na receptory w błonie postsynaptycznej, jak na receptory w błonie astrocytu. Jednym ze skutków takiego działania może być wydzielanie S100B, choć jak dotąd mechanizm wiążący proces wydzielania tego białka z pobudzaniem odpowiednich receptorów nie został rozpoznany.

Wydzielane do przestrzeni międzykomórkowej białko S100B działa na receptory błonowe w innych komórkach. Pierwszym poznany receptorem dla S100B jest RAGE (*Receptor for advanced glycation end-products*, ryc. 1) [42,53]. Białko to, opisane przeszło 10 lat temu, jest wieloligandowym receptorem wiążącym, między innymi: AGE – późne produkty glikacji, białka z grupy S100, β -amyloid i amfoterynę. Stymulacja RAGE prowadzi do uruchomienia wielu szlaków, może między innymi wywoływać indukcję czynników transkrypcyjnych (takich jak NF- κ B) i zwiększenie ekspresji antyapoptotycznych białek z grupy Bcl-2. Wydaje się, że efekt działania S100B za pośrednictwem receptorów RAGE zależy od stężenia – w ilościach nanomolowych



RYCINA 1. Wpływ S100B na neurony i astrocyty – podstawowe mechanizmy: Glu – glutaminian. GluR – receptor glutamatergiczny. RAGE – receptor wiążący późne produkty glikacji

białko to działa stymulująco na rozrost dendrytów, w mikromolowych uruchamia apoptozę [16]. Ta zależność działania S100B od stężenia może wyjaśniać omawiane wyżej negatywne skutki nadmiaru S100B u zwierząt transgenicznych.

RAGE prawdopodobnie nie jest jedynym receptorem dla S100B. Sorci i wsp. wykazali niedawno, że S100B może wpływać na różnicowanie się i apoptozę mioblastów niezależnie do tego, czy mają one w pełni funkcjonalny, czy też nieprawidłowy receptor RAGE [51,52]. Sugeruje to możliwość istnienia innych niż RAGE receptorów dla S100B, choć jak dotąd receptory takie nie zostały fizycznie zidentyfikowane.

Powyższe obserwacje wskazują na możliwość udziału S100B w zmianach plastycznych zachodzących w neuronach podczas uczenia się. Nie ma jednak bezpośrednich dowodów takiego udziału. Astrocyty wydzielają bowiem tak wiele innych czynników, które mają związek z plastycznością synaptyczną, że wyodrębnienie efektów działania jednego z nich może być bardzo trudne.

BIAŁKO S100B I MIKROTUBULE

Zmiany w komórkach zachodzące podczas uczenia się wymagają przekształceń w cytoszkiecie. Białko S100B może wpływać na proces polimeryzacji mikrotubul, co może mieć znaczenie zarówno dla morfologii astrocytów, jak i komórek nerwowych.

Najprostszym mechanizmem jest sekwestracja wolnych cząsteczek tubuliny. S100B wiąże dimery tubuliny, zapobiegając ich włączeniu do mikrotubul. Reakcja ta może przebiegać bez udziału wapnia, jednak podanie jednocześnie jonów Ca^{2+} znacznie wzmacnia hamujący efekt S100B. Ponadto, oprócz sekwestracji niespolimeryzowanej tubuliny, zachodzi wiązanie S100B z mikrotubulami, prowadzące do ich destabilizacji, co ułatwia depolimeryzację [46].

Oprócz bezpośredniego oddziaływania na mikrotubule, S100B może wpływać na nie pośrednio, poprzez reakcje z białkami, które w różny sposób współdziałają z mikrotubulami. Do tej grupy należą białka Tau (τ), odgrywające istotną rolę w procesach wzrostu neurytów. W komórkach nerwiaka linii SH-SY5Y, inkubowanych przez 24 godziny z S100B w obecności cynku, obserwowano internalizację tego białka i wyraźną kolokalizację z białkiem Tau. Zaobserwowano jednocześnie intensywny wzrost neurytów i zmianę morfologii komórek z wrzecionowatej na silnie rozgałęzioną [66].

BIAŁKO S100B I MORFOLOGIA ASTROCYTÓW

Uczenie się wywołuje zmiany nie tylko w strukturze sieci nerwowej, ale także komplementarne zmiany w astrocytach. Wykazano na przykład, że hodowla zwierząt we wzbogaconym środowisku wywołuje nie tylko zmiany w komórkach nerwowych (rozrost dendrytów, zwiększenie liczby połączeń synaptycznych), ale również zmiany w morfologii komórek glejowych oraz w ekspresji GFAP, białka glejowego będącego podstawowym składnikiem cytoszkieletu astrocytów [20]. Zmiany w ekspresji GFAP mają z kolei wpływ na plastyczność sieci nerwowej. Rozovsky i wsp. [45] stwierdzili w hodowlach zawierających mieszaninę astrocytów i embrionalnych neuronów, że wiek astrocytów ma wpływ na rozwój morfologiczny komórek nerwowych. Astrocyty ze starych zwierząt (24 miesiące), mające więcej GFAP, działały hamująco na rozrost neurytów. Obniżenie poziomu GFAP w starych astrocytach przy pomocy interferencji RNA znosiło ten efekt, natomiast zwiększenie poziomu GFAP w młodych astrocytach powodowało zahamowanie wzrostu neurytów. Mechanizm wiążący białko cytoszkieletowe astrocytów z rozwojem innych komórek nie jest znany, z naszego punktu widzenia istotne jest to, że poziom GFAP może być regulowany właśnie przez białko S100B.

Podobnie jak w przypadku działania na mikrotubule, wpływ S100B na cytoszkielet zbudowany z filamentów pośrednich może mieć zarówno charakter bezpośredni, jak i pośredni. Wykazano, że białko S100B ma możliwość wiązania N-końcowej sekwencji GFAP znanej jako *RP-box*, uczestniczącej w procesie polimeryzacji. Zdolność związanych z S100B cząsteczek GFAP do włączania się do filamentów zostaje znacznie zmniejszona, a już związane cząsteczki po przyłączeniu S100 szybko oddysocjują. Powoduje to zwiększenie puli wolnych elementów cytoszkieletu kosztem redukcji długości i szybkości formowania filamentów pośrednich [11,67].

Równowaga między spolimeryzowaną i wolną frakcją GFAP zależy od poziomu fosforylacji filamentów. Może być ona przeprowadzana przez różne kinazy, w tym

PKA, PKC, CaMKII, kinazy Rho i Cdc2. S100B może hamować fosforylację albo przyłączając się do miejsc ewentualnego działania kinaz, albo bezpośrednio hamując ich aktywność [9,10,59].

S100B – DZIAŁANIE AUTOKRYNNE

S100B może działać na astrocyty nie tylko w procesach wewnątrzkomórkowych, ale też autokrynnie, po secrecji do środowiska pozakomórkowego. Ponath i wsp. [39] wykazali, że S100B, za pośrednictwem receptorów RAGE, stymuluje wydzielanie przez astrocyty w hodowli komórkowej interleukiny 6 (IL-6) i czynnika nekrozy nowotworu (TNF- α). Zdolność astrocytów do wydzielania cytokin o działaniu prozapalnym w stanach patologicznych jest znana od dawna. Cytokiny takie mogą być jednak wydzielane również w zdrowym mózgu i mogą uczestniczyć w procesach plastyczności synaptycznej. Niedawno wykazano, że właśnie wydzielany przez astrocyty TNF- α reguluje liczbę receptorów glutamatergicznych AMPA w synapsach [58]. Mechanizm ten jest podstawą tak zwanego skalowania synaptycznego. Jest to długotrwały proces modyfikujący efektywność synaps w taki sposób, aby z jednej strony zachować zmiany indukowane w poszczególnych synapsach podczas wzmocnienia lub osłabienia synaptycznego (LTP, LTD), z drugiej zaś utrzymać całkowitą pobudliwość neuronów w optymalnym zakresie [60]. Pozostaje sprawą do wyjaśnienia, czy także *in vivo* wydzielanie TNF- α przez astrocyty jest w jakiś sposób powiązane z secrecją S100B.

BIAŁKO S100B I CHOROBA ALZHEIMERA

Choroba Alzheimer (AD) jest najpoważniejszą i najpowszechniejszą chorobą neurodegeneracyjną. Prowadzi do zniszczenia tkanki mózgowej i nieuniknionej śmierci, zazwyczaj w ciągu kilku lat od pojawienia się pierwszych objawów. W tej chorobie najwcześniej występującymi objawami są zaburzenia pamięci. Mechanizm tych zaburzeń nie został wyjaśniony, ale prawdopodobne jest, że mają one związek właśnie z białkiem S100B.

Związki między AD i S100B są liczne. W miarę rozwoju choroby wzrasta ekspresja GFAP i S100B w astrocytach [28,40,43,47]. Obserwuje się też zwiększony poziom S100B w płynie mózgowo-rdzeniowym [37,38]. Astrocytarne S100B uważa się za czynnik odpowiedzialny za powstanie dystroficznych neurytów – patologicznie rozwiniętych neurytów wrastających w skupiska płytek amyloidowych [34]. Ostatnio udało się wykazać, że S100B może zwiększać wrażliwość komórek na toksyczne działanie amyloidu beta (A β). Craft i wsp. [5] porównywali wpływ dokomorowych iniekcji A β u myszy mających dodatkowe kopie genu kodującego S100B, myszy pozbawionych tego genu i myszy kontrolnych. U zwierząt z dodatkowymi kopiami genu zaobserwowano znacznie większą neurodegenerację i silniej rozwinięty stan zapalny niż u myszy kontrolnych i pozbawionych genu.

Opisane doświadczenia wskazują na istotną rolę S100B w rozwoju choroby Alzheimera. Pozostaje sprawą otwartą, na ile S100B uczestniczy w powstawaniu choroby w jej początkowych fazach, a na ile obserwowany wzrost ekspresji tego białka jest reakcją na zmiany wywołane przez inne czynniki.

Gen kodujący białko APP (białko prekursorowe, z którego wycinana jest 40- lub 42-aminokwasowy fragment tworzący A β) znajduje się u człowieka na chromosomie 21, czyli tym samym, na którym leży gen kodujący S100B. To z kolei zmusza do postawienia pytania o udział S100B w patologii związanej z trisomią chromosomu 21, czyli z zespołem Downa. Można oczekiwać, że trisomia powoduje wzrost ekspresji zarówno APP, jak i S100B. Wyraźnym skutkiem wzrostu poziomu APP jest to, że u ludzi z zespołem Downa choroba Alzheimera rozwija się wcześniej niż u innych ludzi i jest jedną z głównych przyczyn zgonów. Podwyższony poziom S100B może być obserwowany w płynie owodniowym u płodów z trisomią chromosomu 21 [12]. Można zadać pytanie, czy obserwowane u tych ludzi deficyty umysłowe mogą mieć związek z nadmierną ekspresją tego białka.

PODSUMOWANIE

Białko S100B, mimo że znane od prawie półwiecza, ciągle jest poznane w sposób mało zadowalający. Niewątpliwie wielostronność jego funkcji jest jedną z przyczyn takiego stanu rzeczy. Nowe metody i kierunki badań mogą przyczynić się do znacznego postępu w tej dziedzinie. Duże znaczenie mogą mieć działania mające na celu stworzenie niskocząsteczkowych inhibitorów S100B [30]. Inspiracją do takich badań było odkrycie, że białko to wiąże się z białkiem p53 – czynnikiem transkrypcyjnym chroniącym komórki przed transformacją nowotworową. Efektem takiego oddziaływania jest obniżenie poziomu p53 [26]. Czynniki wiążące S100B mogłyby więc mieć zastosowanie w terapii niektórych nowotworów, ale także mogłyby być wykorzystywane w badaniach podstawowych. Drugi kierunek działań wiąże się z wyhodowaniem myszy transgenicznych z indukowalną, specyficzną dla astrocytów delecją określonych genów [56]. Obserwacje skutków wyłączenia określonych genów w astrocytach powinny przyczynić się do lepszego zrozumienia roli tych komórek i wytwarzanych przez nie białek w procesach pamięciowych, a także mogą być przydatne w szukaniu metod farmakologicznego leczenia chorób, w których S100B może mieć swój udział.

LITERATURA

- [1] ADAMI C, SORCI G, BLASI E, AGNELETTI AL, BISTONI F, DONATO R. S100B expression in and effects on microglia. *Glia* 2001; **33**: 131–142.
- [2] CHRISTOPHERSON KS, ULLIAN EM, STOKES CC, MULLOWNEY CE, HELL JW, AGAH A, LAWLER J, MOSHER DF, BORNSTEIN P, BARRES BA. Thrombospondins are astrocyte-secreted proteins that promote CNS synaptogenesis. *Cell* 2005; **120**: 421–433.
- [3] CICCARELLI R, DI IORIO P, BRUNO V, BATTAGLIA G, D'ALIMONTE I, D'ONOFRIO M, NICOLETTI F, CACIAGLI F. Activation of A(1) adenosine or mGlu3 metabotropic glutamate receptors enhances the release of nerve growth factor and S-100beta protein from cultured astrocytes. *Glia* 1999; **27**: 275–281.

- [4] CICERO TJ, COWAN WM, MOORE BW, SUNTZEFF V. The cellular localization of the two brain specific proteins, S-100 and 14-3-2. *Brain Res* 1970; **18**: 25–34.
- [5] CRAFT JM, WATTERSON DM, MARKS A, VAN ELDIK LJ. Enhanced susceptibility of S-100B transgenic mice to neuroinflammation and neuronal dysfunction induced by intracerebroventricular infusion of human beta-amyloid. *Glia* 2005; **51**: 209–216.
- [6] DELOULME JC, ASSARD N, MBELE GO, MANGIN C, KUWANOR, BAUDIER J. S100A6 and S100A11 are specific targets of the calcium- and zinc-binding S100B protein *in vivo*. *J Biol Chem* 2000; **275**: 35302–35310.
- [7] DONATO R. Intracellular and extracellular roles of S100 proteins. *Microsc Res Tech* 2003; **60**: 540–551.
- [8] 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**: 637–668.
- [9] FRIZZO JK, TRAMONTINA AC, TRAMONTINA F, GOTTFRIED C, LEAL RB, DONATO R, GONCALVES CA. Involvement of the S100B in cAMP-induced cytoskeleton remodeling in astrocytes: a study using TRTK-12 in digitonin-permeabilized cells. *Cell Mol Neurobiol* 2004; **24**: 833–840.
- [10] FRIZZO JK, TRAMONTINA F, BORTOLI E, GOTTFRIED C, LEAL RB, LENGYEL I, DONATO R, DUNKLEY PR, GONCALVES CA. S100B-mediated inhibition of the phosphorylation of GFAP is prevented by TRTK-12. *Neurochem Res* 2004; **29**: 735–740.
- [11] GARBUGLIA M, VERZINI M, SORCI G, BIANCHI R, GIAMBANCO I, AGNELETTI AL, DONATO R. The calcium-modulated proteins, S100A1 and S100B, as potential regulators of the dynamics of type III intermediate filaments. *Braz J Med Biol Res* 1999; **32**: 1177–1185.
- [12] GAZZOLO D, BRUSCHETTINI M, CORVINO V, LITUANIA M, SARLI R, BRUSCHETTINI P, MICHETTI F. Amniotic fluid levels of S100B protein in normal and trisomy-21 fetuses. *Clin Chim Acta* 2003; **330**: 131–133.
- [13] GERLAI R, WOJTOWICZ JM, MARKS A, RODER J. Overexpression of a calcium-binding protein, S100 beta, in astrocytes alters synaptic plasticity and impairs spatial learning in transgenic mice. *Learn Mem* 1995; **2**: 26–39.
- [14] HACHEM S, AGUIRRE A, VIVES V, MARKS A, GALLO V, LEGRAVEREND C. Spatial and temporal expression of S100B in cells of oligodendrocyte lineage. *Glia* 2005; **51**: 81–97.
- [15] HERTZ L, HANSSON E, RONNBACK L. Signaling and gene expression in the neuron-glia unit during brain function and dysfunction: Holger Hyden in memoriam. *Neurochem Int* 2001; **39**: 227–252.
- [16] HUTTUNEN HJ, KUJA-PANULA J, SORCI G, AGNELETTI AL, DONATO R, RAUVALA H. Coregulation of neurite outgrowth and cell survival by amphotericin and S100 proteins through receptor for advanced glycation end products (RAGE) activation. *J Biol Chem* 2000; **275**: 40096–40105.
- [17] HYDEN H, MCEWEN B. A glial protein specific for the nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA* 1966; **55**: 354–358.
- [18] IKURA M, AMES JB. Genetic polymorphism and protein conformational plasticity in the calmodulin superfamily: two ways to promote multifunctionality. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; **103**: 1159–1164.
- [19] JASTRZEBSKA B, FILIPEK A. Funkcja białek wiążących jony Ca^{2+} z rodziny S100. *Post Biol Kom* 2003; **30**: 383–398.
- [20] JONES TA, GREENOUGH WT. Behavioural experience-dependent plasticity of glial-neuronal interactions. W: Volterra A, Magistretti P, Haydon P (eds), *The Tripartite Synapse: Glia in Synaptic Transmission*. Oxford: Oxford University Press, 2002: 248–265.
- [21] KIMELBERG HK. The problem of astrocyte identity. *Neurochem Int* 2004; **45**: 191–202.
- [22] KLEINDIENST A, HARVEY HB, RICE AC, MULLER C, HAMM RJ, GAAB MR, BULLOCK MR. Intraventricular infusion of the neurotrophic protein S100B improves cognitive recovery after fluid percussion injury in the rat. *J Neurotrauma* 2004; **21**: 541–547.
- [23] KLEINDIENST A, MCGINN MJ, HARVEY HB, COLELLO RJ, HAMM RJ, BULLOCK MR. Enhanced hippocampal neurogenesis by intraventricular S100B infusion is associated with improved cognitive recovery after traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2005; **22**: 645–655.
- [24] 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.
- [25] KOFUJI P, NEWMAN EA. Potassium buffering in the central nervous system. *Neuroscience* 2004; **129**: 1045–1056.
- [26] LIN J, YANG Q, YAN Z, MARKOWITZ J, WILDER PT, CARRIER F, WEBER DJ. Inhibiting S100B restores p53 levels in primary malignant melanoma cancer cells. *J Biol Chem* 2004; **279**: 34071–34077.
- [27] MAGISTRETTI PJ. Neuron-glia metabolic coupling and plasticity. *J Exp Biol* 2006; **209**: 2304–2311.

- [28] MARAGAKIS NJ, ROTHSTEIN JD. Mechanisms of disease: astrocytes in neurodegenerative disease. *Nat Clin Pract Neurol* 2006; **2**: 679–689.
- [29] MARENHOLZ I, HEIZMANN CW, FRITZ G. S100 proteins in mouse and man: from evolution to function and pathology (including an update of the nomenclature). *Biochem Biophys Res Commun* 2004; **322**: 1111–1122.
- [30] MARKOWITZ J, MACKERELL AD, JR., CARRIER F, CHARPENTIER TH, WEBER DJ. Design of inhibitors for S100B. *Curr Top Med Chem* 2005; **5**: 1093–1108.
- [31] MARTINEAU M, BAUX G, MOTHET JP. Gliotransmission at central glutamatergic synapses: D-serine on stage. *J Physiol Paris* 2006; **99**: 103–110.
- [32] MELLO E SOUZA T, ROHDEN A, MEINHARDT M, GONCALVES CA, QUILLFELDT JA. S100B infusion into the rat hippocampus facilitates memory for the inhibitory avoidance task but not for the open-field habituation. *Physiol Behav* 2000; **71**: 29–33.
- [33] MOORE BW. A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochem Biophys Res Commun* 1965; **19**: 739–744.
- [34] MRAK RE, GRIFFIN WS. Glia and their cytokines in progression of neurodegeneration. *Neurobiol Aging* 2005; **26**: 349–354.
- [35] NISHIYAMA H, KNOPFEL T, ENDO S, ITOHARA S. Glial protein S100B modulates long-term neuronal synaptic plasticity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; **99**: 4037–4042.
- [36] PANATIER A, THEODOSIS DT, MOTHET JP, TOUQUET B, POLLEGIONI L, POULAIN DA, OLIET SH. Glia-derived D-serine controls NMDA receptor activity and synaptic memory. *Cell* 2006; **125**: 775–784.
- [37] PESKIND ER, GRIFFIN WS, AKAMA KT, RASKIND MA, VAN ELDIK LJ. Cerebrospinal fluid S100B is elevated in the earlier stages of Alzheimer's disease. *Neurochem Int* 2001; **39**: 409–413.
- [38] PETZOLD A, JENKINS R, WATT HC, GREEN AJ, THOMPSON EJ, KEIR G, FOX NC, ROSSOR MN. Cerebrospinal fluid S100B correlates with brain atrophy in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 2003; **336**: 167–170.
- [39] PONATH G, SCHEITTLER C, KAESTNER F, VOIGT B, WENTKER D, AROLT V, ROTHERMUNDT M. Autocrine S100B effects on astrocytes are mediated via RAGE. *J Neuroimmunol* 2007; **184**: 214–222.
- [40] PORCHET R, PROBST A, BOURAS C, DRABEROVA E, DRABER P, RIEDERER BM. Analysis of glial acidic fibrillary protein in the human entorhinal cortex during aging and in Alzheimer's disease. *Proteomics* 2003; **3**: 1476–1485.
- [41] RAPONI E, AGENES F, DELPHIN C, ASSARD N, BAUDIER J, LEGRAVEREND C, DELOULME JC. S100B expression defines a state in which GFAP-expressing cells lose their neural stem cell potential and acquire a more mature developmental stage. *Glia* 2007; **55**: 165–177.
- [42] RONG LL, GOOCH C, SZABOLCS M, HEROLD KC, LALLA E, HAYS AP, YAN SF, YAN SS, SCHMIDT AM. RAGE: a journey from the complications of diabetes to disorders of the nervous system – striking a fine balance between injury and repair. *Restor Neurol Neurosci* 2005; **23**: 355–365.
- [43] ROSS GW, O'CALLAGHAN JP, SHARP DS, PETROVITCH H, MILLER DB, ABBOTT RD, NELSON J, LAUNER LJ, FOLEY DJ, BURCHFIEL CM, HARDMAN J, WHITE LR. Quantification of regional glial fibrillary acidic protein levels in Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand* 2003; **107**: 318–323.
- [44] ROTHERMUNDT M, PONATH G, AROLT V. S100B in schizophrenic psychosis. *Int Rev Neurobiol* 2004; **59**: 445–470.
- [45] ROZOVSKY I, WEI M, MORGAN TE, FINCH CE. Reversible age impairments in neurite outgrowth by manipulations of astrocytic GFAP. *Neurobiol Aging* 2005; **26**: 705–715.
- [46] SANTAMARIA-KISIEL L, RINTALA-DEMPSEY AC, SHAW GS. Calcium-dependent and -independent interactions of the S100 protein family. *Biochem J* 2006; **396**: 201–214.
- [47] SEN J, BELLI A. S100B in neuropathologic states: the CRP of the brain? *J Neurosci Res* 2007; **85**: 1373–1380.
- [48] SOFRONIEW MV. Reactive astrocytes in neural repair and protection. *Neuroscientist* 2005; **11**: 400–407.
- [49] SOLTYS Z, JANECZKO K, ORZYŁOWSKA-ŚLIWIŃSKA O, ZAREMBA M, JANUSZEWSKI S, ODERFELD-NOWAK B. Morphological transformations of cells immunopositive for GFAP, TrkA or p75 in the CA1 hippocampal area following transient global ischemia in the rat. A quantitative study. *Brain Res* 2003; **987**: 186–193.