

Stężenie białka S100B w surowicy krwi dawców narządów po stwierdzonej śmierci mózgu — doniesienie wstępne

Serum S100B protein concentration in brain-dead organ donors: a pilot study

Łukasz J. Krzych, Piotr Filip Czempik, Wojciech Saucha, Danuta Kokocińska, Piotr Knapik

Oddział Kliniczny Kardioanestezji i Intensywnej Terapii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego, Śląskie Centrum Chorób Serca, Zabrze

Abstract

Background: Protein S100B is considered to be a marker of brain damage, but there is a paucity of data regarding the utility of its assessment in brain-dead organ donors. The aim of the study was to compare serum protein S100B concentrations between brain-dead organ donors and patients with a confirmed permanent neurological deficit but without signs of brain death.

Methods: The concentration of serum S100B protein was measured in 12 brain-dead organ donors (including 7 males with a median age of 40 years). All measurements were taken when brain death was confirmed by the commission. Twenty-nine patients (including 13 males with a median age of 63 years) who died in the medical ICU with confirmed permanent brain injury without signs of brain death acted as controls. In these patients, S-100B protein measurements were performed upon ICU admission.

Results: In brain-dead organ donors, the median values of serum S100B protein were much higher in comparison to the control group (median and IQR, respectively: 5.04 $\mu\text{g L}^{-1}$; 1.775–6.765 vs 0.897 $\mu\text{g L}^{-1}$; 0.324–1.880, $P < 0.001$). S100B serum values $> 1.81 \mu\text{g L}^{-1}$ predicted brain death with the highest accuracy (AUROC = 0.83; 95% CI 0.68–0.93; $P < 0.001$).

Conclusion: Concentrations of serum S100B protein in brain-dead organ donors are extremely high and may support the diagnosis of brain death. This fact may be of value when the presence of reflex movements (frequently reported despite brain death) might delay determination of brain death and result in the failure of organ donation.

Key words: S100B protein; organ donors; brain death

Słowa kluczowe: białko S100B; dawcy narządów; śmierć mózgu

Anestezjologia Intensywna Terapia 2015, tom XLVII, nr 4, 332–335

Białko S100B należy do rodziny małowcząsteczkowych białek wiążących wapń [1]. Jest uznanym biomarkerem wykorzystywanym w diagnostyce uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego o różnej etiologii [1, 2]. Wynika to z faktu, że jest białkiem gleju gwiaździstego, którego zadaniem to uczestniczenie w proliferacji astrocytów oraz w inter-

akcjach pomiędzy glejem a otaczającą tkanką nerwową. Gdy zostaje uwolnione z gleju, może indukować apoptozę poprzez wytwarzanie tlenu azotu. Uwalnianie go do krwi jest spowodowane uszkodzeniem bariery krew—mózg, co ma miejsce w każdej sytuacji uszkodzenia strukturalnego mózgu [1, 2].

Należy cytować anglojęzyczną wersję: Krzych ŁJ, Czempik PF, Saucha W, Kokocińska D, Knapik P: Serum S100B protein concentration in brain-dead organ donors: a pilot study. *Anaesthesiol Intensive Ther* 2015; 47: 320–323. 10.5603/AIT.2015.0041.

Przydatność diagnostyczną białka S100B w ocenie rokowania wykazano między innymi u osób po urazach ośrodkowego układu nerwowego, krwawieniach podpajęczynówkowych, udarach czy nagłym zatrzymaniu krążenia [1, 3–5]. Stężenie białka S100B po ciężkim urazie mózgu koreluje ze stopniem uszkodzenia neurologicznego według skali *Glasgow Outcome Score* (GOS) [6], a także stanem neurologicznym w skali *Glasgow Coma Scale* (GCS) [7].

Stężenie białka S100B, oznaczane w surowicy lub płynie mózgowo-rdzeniowym, jest predyktorem zarówno twardych punktów końcowych (zgonu), jak i upośledzenia funkcji poznawczych [5, 8]. Ponieważ zastosowanie terapeutycznej hipotermii nie wpływa na stężenie S100B [9, 10], jego oznaczenie po dokonanych uszkodzeniu mózgu wydaje się bezpośrednim wykładnikiem dokonanego już zniszczenia neuronów.

Ponieważ w piśmiennictwie istnieje niedostatek informacji na temat użyteczności oznaczania białka S100B w procedurze stwierdzania śmierci mózgu, celem niniejszej pracy była ocena stężenia tego białka wśród chorych po stwierdzonej śmierci mózgu (GOS=1), w porównaniu z osobami z potwierdzonym trwałym uszkodzeniem neurologicznym (GOS = 2), ale bez cech śmierci mózgu.

METODYKA

Ze względu na fakt, że uzyskany wynik oznaczenia stężenia białka S100B nie wpływał na sposób leczenia, a u większości chorych ze względu na ich stan neurologiczny nie było możliwe uzyskanie świadomej zgody na pobranie próbki krwi, Komisja Bioetyczna podjęła decyzję o zniesieniu tego wymogu w protokole badania.

Projekt przeprowadzono na podstawie modelu badania kliniczno-kontrolnego. Oznaczenia białka S100B dokonywano w okresie 2009–2011 metodą typu ELISA przy użyciu analizatora Cobas e411 (Hitachi, Japonia) oraz stosowano odczynniki firmy Boehringer-Manheim (Niemcy). W tym celu pobierano 5 ml krwi żyłnej, którą po odwirowaniu separowano i mrożono w temperaturze -70°C . Próbkę były rozmrażane i analizowane zbiorczo raz na kwartał.

Grupę badaną stanowili chorzy, u których komisyjnie stwierdzono śmierć mózgu (GOS=1), zgodnie z obowiązującymi przepisami prawa [11]. Próbkę krwi była pobierana na prośbę koordynatora transplantacyjnego po stwierdzeniu śmierci mózgu, przed procedurą pobrania, w ośrodku dawcy. Grupę kontrolną stanowili chorzy leczeni

na oddziale intensywnej terapii o profilu internistyczno-chirurgicznym, którzy mieli potwierdzone trwałe uszkodzenie neurologiczne (GOS=2), ale nie spełniali kryteriów rozpoznania śmierci mózgu. U tych osób próbki krwi były pobierane w momencie przyjęcia na oddział.

Analizy prowadzono na podstawie procedur dostępnych w licencjonowanym oprogramowaniu MedCalc v14. Zmienne ilościowe przedstawiono w postaci mediany i rozstępu międzykwartylowego. Zmienne jakościowe przedstawiono w postaci wartości bezwzględnych. Ocenę różnic pomiędzy zmiennymi ilościowymi prowadzono z wykorzystaniem testu U Manna-Whitneya, dla zmiennych jakościowych stosowano dokładny test Fishera. Wyznaczono krzywą ROC dla oceny predykcji śmierci mózgu za pomocą oznaczenia stężenia białka S100B. Przyjęto kryterium znamienności statystycznej $p < 0,05$.

WYNIKI

Charakterystykę grup przedstawiono w tabeli 1. Osoby z rozpoznaną śmiercią mózgu były znamienne statystycznie młodsze od osób z trwałym uszkodzeniem neurologicznym.

Wartość stężenia białka S100B była znamienne wyższa u osób z rozpoznaną śmiercią mózgu niż w grupie kontrolnej (mediany z rozstępami międzykwartylowymi odpowiednio: $5,04 \mu\text{g l}^{-1}$; 1,775–6,765 oraz $0,897 \mu\text{g l}^{-1}$; 0,324–1,880) (ryc. 1). Nie stwierdzono znamienych statystycznie różnic pomiędzy stężeniem S100B u kobiet i mężczyzn ($p = 0,9$). Nie wykazano korelacji pomiędzy stężeniem S100B a wiekiem badanych ($R = -0,17$; $p = 0,3$).

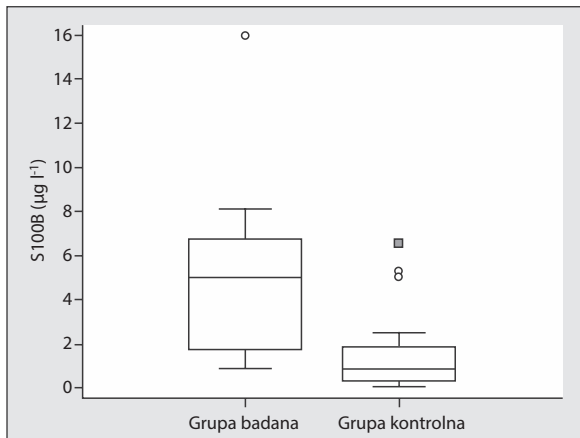
Wartość stężenia białka S100B $> 1,81 \mu\text{g l}^{-1}$ z największą trafnością (czułość: 75%, swoistość: 76%, współczynnik Youdena = 0,49) pozwalała przewidzieć śmierć mózgu (AU-ROC = 0,83; 95% CI 0,68–0,93; $p < 0,001$) (ryc. 2). Wartość ilorazu szans (OR, *odds ratio*) dla rozpoznania śmierci mózgu przy takich wartościach S100B wynosiła 9,43 (95%CI: 1,93–44,83). Przy przyjęciu punktu odcięcia $> 0,749 \mu\text{g l}^{-1}$, czułość wynosiła 100% (przy swoistości 48%) (współczynnik Youdena = 0,52), natomiast dla wartości S100B $> 6,56 \mu\text{g l}^{-1}$ pomiar cechował się 100% swoistością (z czułością 25%) (współczynnik Youdena = 0,75).

DYSKUSJA

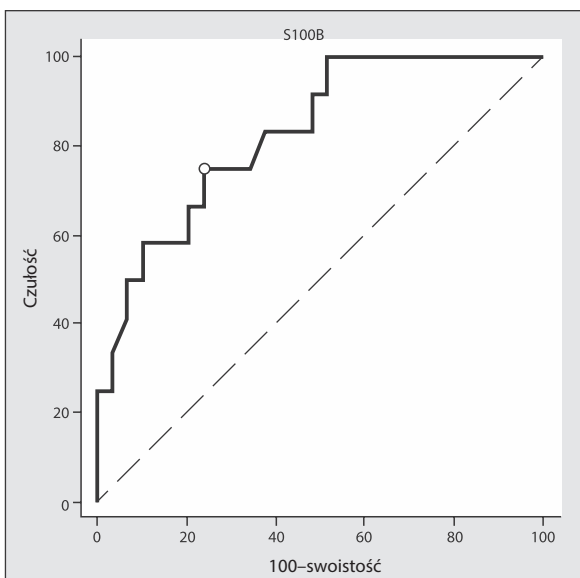
Celem niniejszego badania była ocena stężenia białka S100B u osób z rozpoznaną śmiercią mózgu. Stężenie S100B u chorych z grupy badanej wynosiło $5,04 \mu\text{g l}^{-1}$ i było ponad

Tabela 1. Charakterystyka grup

Zmienna	Grupa badana	Grupa kontrolna	Wartość p
Płeć (mężczyźni/kobiety)	7 / 5	13 / 16	0,5
Wiek (mediana, rozstęp międzykwartylowy) [lata]	40 (28,5–49,5)	63 (56–73)	< 0,001



Rycina 1. Stężenie białka S100B w grupie badanej i kontrolnej



Rycina 2. Krzywa ROC obrazująca zdolność predykcyjną oznaczania białka S100B w rozpoznawaniu śmierci mózgu (zaznaczono punkt odcięcia)

5,5-krotnie większe niż u osób z grupy kontrolnej. Jest to cenne spostrzeżenie, gdyż w literaturze wartości u osób ze stwierdzoną śmiercią mózgu wahają się od niespełna 0,5 do ponad 10 $\mu\text{g l}^{-1}$ [5]. Na wartość pomiaru ma bowiem wpływ wiele zmiennych, takich jak wiek badanych, ich płeć, przyczyna uszkodzenia mózgu oraz czas pobrania próbki do badań [6, 7, 12–14]. Ponieważ podstawowe cechy demograficzne (wiek i płeć) w niniejszej pracy są porównywalne do tych z piśmiennictwa (przewaga mężczyzn, wiek około 40–50 lat), można przypuszczać, że zmienną różnicującą we wszystkich cytowanych pracach jest spektrum zmiennych klinicznych.

W pracy stwierdzono, że stężenie S100B $>1,81 \mu\text{g l}^{-1}$ może ułatwiać decyzję o rozpoczęciu procedury orze-

kania śmierci mózgu, gdyż szansa wystąpienia śmierci mózgu jest prawie 10 razy większa niż przy mniejszych stężeniach białka. Po uzyskaniu tak dużych wartości można zatem myśleć o rozpoczęciu przygotowań do stwierdzenia śmierci mózgu.

Trafność diagnostyczna wyrażana wartością pola pod krzywą ROC wynosiła 0,83 przy optymalnym współczynniku Youdena 0,49. Całkowitą swoistość pomiaru uzyskano dopiero przy stężeniach $> 6,56 \mu\text{g l}^{-1}$. Bardzo zbliżone rezultaty otrzymali Egea-Gurererro et al. [12] u chorych po ciężkim uszkodzeniu mózgu z orzeczoną śmiercią mózgu, gdyż przy punkcie odcięcia $2,0 \mu\text{g l}^{-1}$, wartość AUROC wynosiła 0,92 przy 100% swoistości i 60% czułości, z ilorazem szans OR = 8,38. W pracach, w których wartości odcięcia były mniejsze ($0,365 \mu\text{g l}^{-1}$ [13], $0,372 \mu\text{g l}^{-1}$ [14]), również trafność diagnostyczna była mniejsza (odpowiednio: 0,75 [13] i 0,78 [14]). W metaanalizie obejmującej 39 badań kohortowych, punkt odcięcia dla predykcji zgonu (ze 100% swoistością) wahał się od 1,38 do $10,50 \mu\text{g l}^{-1}$, a dla predykcji niekorzystnego stanu neurologicznego (GCS ≤ 3 pkt) wahał się od 2,16 do $14 \mu\text{g l}^{-1}$ [5]. Przy tak deklarowanych punktach odcięcia, ważone ilorazy szans dla predykcji zgonu, niekorzystnego stanu neurologicznego (GCS ≤ 3 pkt) lub śmierci mózgu wynosiły kolejno: 2,55 (95% CI: 2,02–3,21), 2,62 (95% CI: 2,01–3,42) oraz 2,9 (95% CI: 2,3–3,5) [5]. Zdolność predykcji śmierci mózgu może zwiększać dołączenie do modelu statystycznego takich zmiennych jak: wiek chorego, wyjściowa przyczyna zatrzymania krążenia [15–17].

Skrócenie czasu do stwierdzenia śmierci mózgu ma istotne znaczenie, zarówno dla rodziny, jak i medycyny transplantacyjnej. Rodzina chorego szybciej dowiaduje się o wysunięciu podejrzenia śmierci bliskiej osoby, co umożliwi skrócenie okresu niepewności i umożliwi przyspieszenie psychologicznego procesu żałoby. Narządy wcześniej pobrane są mniej podatne na uszkodzenia wynikające z powikłań przedłużonego pobytu na OIT [18], a wczesne stwierdzenie śmierci mózgu to większa szansa na pobranie większej ilości sprawnie funkcjonujących narządów. Znaczenie oznaczania białka S100B może mieć szczególne znaczenie w sytuacji występowania odruchów rdzeniowych lub żrenicznych. Odruchy rdzeniowe mogą być obecne nawet u 75% chorych po stwierdzonej śmierci mózgu [19], a należą do nich: odruch pronacji-wyprostu kończyn górnych, odruch brzuszny czy zgięciowe ruchy kończyn dolnych. Z kolei wspólna ocena odruchu żrenicznego oraz stężenia białka S100B wpisuje się w zaproponowany w literaturze algorytm wczesnego powoływania komisji w procedurze orzekania śmierci mózgu [14].

Niniejsza praca nie jest wolna od ograniczeń wpływających na możliwość większego uogólniania otrzymanych wyników. Pierwszym z nich jest znaczna

heterogenność chorych kwalifikowanych do badania. Ponieważ udowodniono, że wartość S100B może znamienne różnić się zależnie od przyczyny uszkodzenia neurologicznego (lub wyjściowej przyczyny zgonu) [12, 15], należnym postępowaniem powinno być przeprowadzenie właściwych subanaliz. Liczność tak wyodrębnionych podgrup jest jednak niewystarczająca dla skonstruowania modeli matematycznych. Z tym faktem wiąże się drugie ograniczenie, czyli mała liczebność badanych. Otrzymane wyniki okazały się jednak na tyle interesujące, że postanowiono opublikować je w formie doniesienia wstępnego. Po trzecie, w pracy wykorzystano pojedynczy pomiar S100B, podczas gdy wykazano, że stężenie tego białka jest zmienne w czasie po urazie [7, 14]. Wreszcie, stężenie S100B koreluje z punktacją w skali GOS [6], zatem różnica pomiędzy grupą badaną i kontrolną mogła wynikać również z tego faktu. Przy tak głębokim uszkodzeniu neurologicznym, z jakim mieli do czynienia autorzy niniejszej pracy w opisywanym przypadku, nie wydaje się jednak, aby miało to istotne znaczenie dla interpretacji wyników.

WNIOSKI

Stężenie białka S100B u dawców narządów po stwierdzeniu śmierci mózgu jest znamienne większe niż u osób z ciężkim uszkodzeniem neurologicznym, ale bez rozpoznanej śmierci mózgu, i może wspierać proces jego orzekania. To spostrzeżenie może mieć znaczenie w sytuacji, kiedy obecność odruchów rdzeniowych (często obecnych pomimo stwierdzenia śmierci mózgu) opóźnia procedurę stwierdzenia śmierci mózgu i skutkuje brakiem pobrania narządów do przeszczepienia.

PODZIĘKOWANIA

1. Praca nie była finansowana.
2. Autorzy deklarują brak konfliktu interesów.
3. Wstępne dane z tego badania zostały przedstawione podczas kongresu Europejskiego Towarzystwa Intensywnej Terapii (ESICM), w Berlinie, 1–5 października 2011 oraz w prezentacji plakatu na Międzynarodowym Kongresie Polskiego Towarzystwa Anestezjologii i Intensywnej Terapii, w Wiśle, 14–18 września 2014.

Piśmiennictwo:

1. Donato R, Cannon BR, Sorci G et al.: Functions of S100 proteins. *Curr Mol Med* 2013; 13: 24–57.
2. Yordan T, Erenler AK, Baydin A, Aydin K, Cokluk C: Usefulness of S100B protein in neurological disorders. *J Pak Med Assoc* 2011; 61: 276–281.
3. Kochanek PM, Berger RP, Bayir H, Wagner AK, Jenkins LW, Clark RS: Biomarkers of primary and evolving damage in traumatic and ischemic brain injury: diagnosis, prognosis, probing mechanisms, and therapeutic decision making. *Curr Opin Crit Care* 2008; 14: 135–141. doi: 10.1097/MCC.0b013e3282f57564.

4. Bloomfield SM, McKinney J, Smith L, Brisman J: Reliability of S100B in predicting severity of central nervous system injury. *Neurocrit Care* 2007; 6: 121–138.
5. Mercier E, Boutin A, Lauzier F et al.: Predictive value of S-100β protein for prognosis in patients with moderate and severe traumatic brain injury: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2013; 346:f1757. doi: 10.1136/bmj.f1757.
6. Rainey T, Lesko M, Sacho R, Lecky F, Childs C: Predicting outcome after severe traumatic brain injury using the serum S100B biomarker: results using a single (24h) time-point. *Resuscitation* 2009; 80: 341–345. doi: 10.1016/j.resuscitation.2008.11.021.
7. Shakeri M, Mahdikhah A, Panahi F: S100B Protein as a post-traumatic biomarker for prediction of brain death in association with patient outcomes. *Arch Trauma Res* 2013; 2: 76–80. doi: 10.5812/atr.8549.
8. Sun ZL, Feng DF: Biomarkers of cognitive dysfunction in traumatic brain injury. *J Neural Transm* 2014; 121: 79–90. doi: 10.1007/s00702-013-1078-x.
9. Tiainen M, Roine RO, Pettilä V, Takkunen O: Serum neuron-specific enolase and S-100B protein in cardiac arrest patients treated with hypothermia. *Stroke* 2003; 34: 2881–2886.
10. Derwall M, Stoppe C, Brücken D, Rossaint R, Fries M: Changes in S-100 protein serum levels in survivors of out-of-hospital cardiac arrest treated with mild therapeutic hypothermia: a prospective, observational study. *Crit Care* 2009; 13: R58. doi: 10.1186/cc7785.
11. Obwieszczenie Ministra Zdrowia z dnia 17 lipca 2007 roku w sprawie kryteriów i sposobu stwierdzenia trwałego nieodwracalnego ustania czynności mózgu. http://www2.mz.gov.pl/wwwfiles/ma_struktura/docs/zal_ustanie_czynnosci_mozgu_18042007.pdf.
12. Egea-Guerrero JJ, Revuelto-Rey J, Gordillo-Escobar E et al.: Serologic behavior of S100B protein in patients who are brain dead: preliminary results. *Transplant Proc* 2013; 45: 3569–72. doi: 10.1016/j.transproceed.2013.10.021.
13. Stamataki E, Stathopoulos A, Garini E et al.: Serum S100B protein is increased and correlates with interleukin 6, hypoperfusion indices, and outcome in patients admitted for surgical control of hemorrhage. *Shock* 2013; 40: 274–280. doi: 10.1097/SHK.0b013e3182a35de5.
14. Egea-Guerrero JJ, Murillo-Cabezas F, Gordillo-Escobar E et al.: S100B protein may detect brain death development after severe traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2013; 30: 1762–1769. doi: 10.1089/neu.2012.2606.
15. Li DR, Michiue T, Zhu BL et al.: Evaluation of postmortem S100B levels in the cerebrospinal fluid with regard to the cause of death in medicolegal autopsy. *Leg Med (Tokyo)* 2009; 11 (Suppl 1): S273–5. doi: 10.1016/j.legalmed.2009.02.042.
16. Einav S, Kaufman N, Algur N, Strauss-Liviatan N, Kark JD: Brain biomarkers and management of uncertainty in predicting outcome of cardiopulmonary resuscitation: a nomogram paints a thousand words. *Resuscitation* 2013; 84: 1083–1038. doi: 10.1016/j.resuscitation.2013.01.031.
17. Einav S, Kaufman N, Algur N, Kark JD: Modeling serum biomarkers S100 beta and neuron-specific enolase as predictors of outcome after out-of-hospital cardiac arrest: an aid to clinical decision making. *J Am Coll Cardiol* 2012; 60: 304–311. doi: 10.1016/j.jacc.2012.04.020.
18. Sally M, Malinoski D: Current research on organ donor management. *Anesthesiol Clin* 2013; 31: 737–748. doi: 10.1016/j.anclin.2013.08.004.
19. Han SG, Kim GM, Lee KH, Chung CS, Jung KY: Reflex movements in patients with brain death: a prospective study in a tertiary medical center. *J Korean Med Sci* 2006; 21: 588–590.

Adres do korespondencji:

dr hab. n. med. Łukasz J. Krzych
Oddział Kliniczny Kardioanestezjologii i Intensywnej Terapii
Śląskie Centrum Chorób Serca
ul. Marii Curie-Skłodowskiej 9, 41–800 Zabrze
e-mail: l.krzych@wp.pl

Otrzymano: 7.01.2015 r.

Zaakceptowano: 1.03.2015 r.