

ARTICOL DE CERCETARE

Corelarea nivelului matrix metaloproteinazei-9 serice cu severitatea accidentului vascular cerebral ischemic

Natalia Ciobanu^{*1}, Valentin Gudumac^{†2}, Lucia Ciobanu¹, Stanislav Groppa^{†1}

¹Catedra de neurologie nr. 2, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

²Catedra de biochimie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

Data primirii manuscrisului: 26.06.2018

Data acceptării spre publicare: 14.09.2018

Autor corespondent:

Natalia Ciobanu, doctorand

Catedra neurologie nr. 2

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”

bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004

e-mail: nataliaandronic@yahoo.com

RESEARCH ARTICLE

The correlation of serum matrix metalloproteinase-9 level with the severity of stroke

Natalia Ciobanu^{*1}, Valentin Gudumac^{†2}, Lucia Ciobanu¹, Stanislav Groppa^{†1}

¹Chair of neurology no. 2, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

²Chair of biochemistry, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 26.06.2018

Accepted for publication on: 14.09.2018

Corresponding author:

Natalia Ciobanu, PhD fellow

Chair of neurology no. 2

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

165, Ștefan cel Mare si Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: nataliaandronic@yahoo.com

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Matrix metaloproteinazele serice sunt studiate pe scară largă la pacienții ce au suportat accident vascular cerebral ischemic, dar rolul lor exact în calitate de co-predictor al evoluției deficitului neurologic la pacienții cu accident vascular cerebral acut rămâne un subiect de discuție.

Ipoteza de cercetare

Matrix metaloproteinaza-9 serică poate fi folosită drept marker timpuriu al leziunilor cerebrale ischemice.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Corelarea dintre concentrația serică a MMP-9 și scorul NIHSS a fost mai strânsă în ziua internării ($r=0,41$) și în ziua 7 de spitalizare ($r=0,37$). Concentrația MMP-9 <10 $\mu\text{g/ml}$ are o sensibilitate de 100% și o specificitate de 86% pentru evoluția nefavorabilă a AVC-ului ischemic.

Rezumat

Introducere. Accidentul vascular cerebral este o cauză frecventă de deces și de invaliditate la nivel mondial. Matrix metaloproteinazele (MMP) sunt implicate în fiziopatologia accidentelor vasculare cerebrale. Relația dintre MMP-9 și accidentul vascular cerebral (AVC) dobândește un interes în creștere, deoarece este implicat în formarea focarului ischemic cerebral, iar inhibiția acesteia ar avea un rol terapeutic potențial. În acest studiu s-a cercetat corelația dintre nivelul

What is not known yet, about the topic

Serum matrix metalloproteinases are widely studied in patients with ischemic stroke, but their role as a co-predictor of outcome in patients with acute stroke remains a topic for discussion.

Research hypothesis

Serum matrix metalloprotenase-9 measurement can be used as an early marker of brain damage.

Article's added novelty on this scientific topic

The correlation between serum MMP-9 and NIHSS scores was closer on day of admission ($r=0.41$) and on day 7 of hospitalization ($r=0.37$). The MMP-9 <10 $\mu\text{g/ml}$ concentration has a 100% sensitivity and a 86% specificity for the unfavorable progression of ischemic stroke.

Abstract

Introduction. Stroke is a frequent cause of death and long-term disability worldwide. Matrix metalloproteinases (MMP) have been implicated in stroke pathophysiology. The relation between MMP-9 and stroke is gaining much interest as it is involved in stroke pathophysiology and its inhibition is of potential therapeutic role. This study investigated the correlation between the level of serum MMP-9, stroke subtype and stroke severity using the National Institute of Health Stroke Scale

seric al MMP-9, subtipul accidentului vascular cerebral și severitatea accidentului vascular cerebral, utilizând scala de apreciere a deficitului neurologic *National Institute Stroke Scale* (NIHSS) la pacienții internați în Secția Neurologie BCV, Institutul de Medicină Urgentă, Chișinău, Republica Moldova și diagnosticați cu un AVC ischemic.

Material și metode. S-a colectat sânge venos la pacienții cu accident vascular cerebral ischemic (n=39) pentru a determina nivelul MMP-9. Datele au fost comparate cu cele de la 39 de indivizi sănătoși, care au corespuns după sex și vârstă, aceștea servind drept lot martor. Toți pacienții au fost examinați prin tomografie computerizată craniană în primele 24 de ore de la debutul maladiei. Evaluarea neurologică a fost efectuată utilizând scala NIHSS în stadiul acut al accidentului vascular cerebral.

Rezultate. În comparație cu martorii, nivelul MMP-9 a fost semnificativ mai mare în grupul de pacienți cu AVC ischemic. S-a determinat o corelație pozitivă dintre nivelul seric al MMP-9 și scorul NIHSS. Corelarea dată a fost mai strânsă în ziua internării ($r=0,41$) și în a 7-a zi de spitalizare ($r=0,37$). O concentrație a MMP-9 de peste 10 $\mu\text{g/ml}$ are o sensibilitate de 100% și o specificitate de 86% pentru evoluția nefavorabilă a AVC-ului ischemic.

Concluzie. Determinarea serică a MMP-9 poate fi utilizată ca marker timpuriu al leziunilor cerebrale. De asemenea, MMP-9 poate fi utilizat în calitate de co-predictor al prognosticului pacienților cu AVC ischemic în faza acută.

Cuvinte cheie: prognostic, corelație, MMP-9, accident vascular cerebral ischemic.

Introducere

Accidentul vascular cerebral este o cauză frecventă de deces și de invaliditate la nivel mondial. Aproximativ 85% din accidentele vasculare cerebrale sunt ischemice, restul fiind hemoragice [1, 2]. Matrix metalloproteinazele (MMP) au fost implicate în fiziopatologia AVC. MMP-2 și MMP-9 sunt în cantități majorate în zona ischemică a creierului atât pe modelele animale, cât și la pacienții cu AVC. Inhibarea farmacologică sau distrugerea genetică a MMP ar reduce riscul de moarte neuronală, de leziune a barierei hemato-encefalice, de extindere a edemului cerebral și de transformare hemoragică a focarului ischemic [3, 4].

Matrix metalloproteinazele, cunoscute și sub denumirea de matrixine, sunt endopeptidaze dependente de calciu, cu un conținut sporit de zinc. Aceste enzime modulează multe procese de dezvoltare și regenerare ale sistemului nervos central. MMP-9 este implicată în distrugerea matricei extracelulare în timpul remodelării țesutului cerebral [3, 4]. În urma leziunii cerebrale de origine vasculară, aceste enzime atacă matricea extracelulară și neuronii din jurul vaselor de sânge, facilitând moartea celulelor neurale. MMP-ele perturbă bariera hemato-encefalică în faza timpurie după debutul ischemiei cerebrale, ducând la infiltrare leucocitară, edem cerebral și hemoragie [5]. Regiunea promotor a MMP-9 poate fi un locus de susceptibilitate pentru accidentul vascular cerebral. Expresia ei este

(NIHSS) of the patients admitted to the Institute of Emergency Medicine, Neurology and Cerebrovascular diseases unit, Institute of Emergency Medicine, Chisinau, Republic of Moldova, and diagnosed with an ischemic stroke.

Material and methods. Blood was collected from the patients with ischemic stroke (n=39) to determine MMP-9 level, sex and age-matched healthy individuals (n=39) served as control. All patients had cranial computerized tomography scan in the first 24 hours. The neurological evaluation was made with the National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS) in the acute stage.

Results. Compared to controls, MMP-9 was significantly higher in the ischemic stroke group. Positive correlation was established between the serum level of MMP-9 and the NIHSS score. This correlation was closer on the day of admission ($r=0,41$) and on the 7th day of hospitalization ($r=0,37$). A MMP-9 concentration above 10 $\mu\text{g/ml}$ has a 100% sensitivity and 86% specificity for the unfavorable progression of ischemic stroke.

Conclusion. Serum MMP-9 measurement can be used as an early marker of brain damage. There is a role of MMP-9 as a co-predictor of outcome in patients with acute stroke.

Key words: prognosis, correlation, MMP-9, stroke.

Introduction

Stroke is a frequent cause of death and long-term disability worldwide. About 85% of strokes are ischemic, the rest being hemorrhagic [1, 2]. Matrix metalloproteinases (MMP) have been implicated in stroke pathophysiology. MMP-2 and MMP-9 are rapidly upregulated in ischemic brain in animal models and stroke patients. Pharmacological inhibition or genetic knockdown of MMP reduces neuronal death, blood-brain barrier damage, edema, and hemorrhage [3, 4].

Matrix metalloproteinases, also known as matrixins, are calcium-dependent zinc-containing endopeptidases. They modulate many central nervous system developmental and regenerative processes. MMP-9 are involved in the breakdown of extracellular matrix during tissue remodeling [3, 4]. During stroke, it attacks the extracellular matrix around the blood vessels and neurons, facilitating neural cell death. MMPs disrupt the blood-brain barrier in the early phase following cerebral ischemia, leading to leakage, leukocyte infiltration, brain edema, and hemorrhage [5]. MMP-9 promoter region may be a susceptibility locus for stroke. Its expression is upregulated after cerebral ischemia, and contributes to infarct extent, and blood-brain barrier breakdown. Investigation on the relation between MMP-9 and stroke is gaining much interest as it is involved in stroke pathophysiology and its inhibition is of potential therapeutic role. MMP-9 is a promising marker of ischemic stroke [5, 6].

The purpose of our study was to investigate the correlation between the serum level of MMP-9 and the subtype of stroke using the TOAST classification (1993), the Bamford/Oxford

reglată după debutul ischemiei cerebrale și contribuie la extinderea infarctului și la deteriorarea barierei hemato-encefalice. Cercetarea relației dintre MMP-9 și stroke dobândește un mare interes, deoarece este implicată în fiziopatologia AVC, iar inhibarea acestui locus ar avea un rol terapeutic potențial. MMP-9 este un marker promițător pentru AVC ischemic [5, 6].

Scopul studiului nostru a fost de a cerceta corelația dintre nivelul seric al MMP-9, și subtipul de accident vascular cerebral, folosind clasificarea TOAST (1993), clasificarea Bamford/Oxford (1991) și severitatea accidentului vascular cerebral, utilizând scala NIHSS.

Material și metode

S-a efectuat un studiu prospectiv, care a inclus pacienți cu AVC ischemic în faza acută, internați în Secția de Neurologie BCV, Institutul de Medicină Urgentă, Chișinău, Republica Moldova. AVC-ul a fost confirmat clinic și radiologic prin tomografie computerizată cerebrală.

Protocolul acestui studiu a fost aprobat de Comitetul de Etică a Cercetării al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova (nr. 26/19 din 8.02.2016). Pacienții au semnat consimțământul informat pentru a participa în cadrul proiectului de cercetare.

Criteriile de includere pentru studiu au fost: pacienții cu AVC în faza acută, internați în decurs de 24 de ore de la debutul maladiei, diagnosticul fiind confirmat prin examenul imagistic – tomografie computerizată. Pacienții trebuiau să aibă vârsta peste 18 ani și să semneze consimțământul informat cu privire la participarea în studiu.

Criteriile de excludere au fost: pacienții cu boli decompensate renale sau cardiace, tulburări sistemice inflamatorii sau tumori, dorința exprimată a pacientului de a părăsi studiul, obținerea datelor incomplete ale pacienților.

Sângele venos a fost colectat în primele 24 de ore de la debutul bolii și la a 7-a zi de spitalizare. Dozarea MMP-9 a fost efectuată la Laboratorul de biochimie al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”.

Prelucrarea datelor a fost efectuată utilizând Microsoft Excel 2010 și XLStat. Datele parametrice sunt exprimate ca valori medii \pm deviație standard, iar variabilele categoricale – ca procente. Analiza de corelație a variabilelor s-a realizat cu ajutorul testului Pearson (când variabilele au avut distribuție normală). Testul T a fost utilizat pentru a analiza parametrii care rezultă din estimarea modelului de regresie liniară; modelul statistic a fost validat folosind coeficientul de determinare (R pătrat). În toate comparările, valorile $p < 0,05$ au fost considerate statistic semnificative.

Rezultate

Studiul a inclus 39 de pacienți cu AVC ischemic în faza acută, care au îndeplinit criteriile de includere și au fost internați în Secția de Neurologie BCV, Institutul de Medicină Urgentă, Chișinău, Republica Moldova. Repartiția pe sexe a pacienților înrolați este următoarea: 17 (43,6%) au fost de gen masculin și 22 (56,4%) au fost de gen feminin. Au fost incluși în studiu și 39 de voluntari sănătoși, asemănători cu lotul de bază în

clasificarea (1991) și severitatea stroke utilizând scala NIHSS.

Material and methods

This was a prospective observational study with a definite diagnosis of ischemic stroke made both clinically and radiologically, conducted among patients admitted at the Institute of Emergency Medicine, Neurology and Cerebrovascular diseases unit, Chisinau, Republic of Moldova.

The protocol of this study was approved by Ethics Research Committee of Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova (minutes no. 26/19 from 8.02.2016). The patients gave unanimous written consent to participate in the research project.

Inclusion criteria for the study were: patients with acute stroke, admitted within 24 hours of onset, diagnosis being confirmed by computerized tomography imaging. Also, patients should be above the age of 18 years and sign informed consent regarding enrollment into the study.

Exclusion criteria were: patients with renal or heart decompensated diseases, systemic inflammatory disorder or tumor, expressed desire of the patient to leave the study, incomplete standardized data chart.

Venous samples were drawn within 24 hours of the onset of symptoms and the 7th day of hospitalization, and sent for routine blood examinations, including measurement of the MMP-9 level at the Laboratory of biochemistry, Nicolae Testemitanu State Medical and Pharmaceutical University.

Data processing was done using Microsoft Excel 2010 and XLStat. Parametric data are expressed as mean value \pm standard deviation, and categorical variables – as percentages. The correlation analysis of the variables was performed with the use of Pearson's test (when the variables were normally distributed). T-test was used to analyze the parameters resulting from the estimation of the linear regression model; the statistical model was validated using the coefficient of determination (R square). In all the analyses, $p < 0.05$ were considered statistically significant.

Results

The study included 39 patients with acute ischemic stroke who fulfilled inclusion criteria and were admitted to the Institute of Emergency Medicine, Neurology and Cerebrovascular Diseases unit, Chisinau, Republic of Moldova. Out of total, 17 (43.6%) were male and 22 (56.4%) were female. In addition, 39 healthy volunteers, similar to the patients' cohort in term of age and sex, formed the control group. The mean age of the entire stroke group was 66.9 ± 9.0 years old, the mean age of women was 68.3 ± 9.2 and in male group – 65.2 ± 8.7 years old, there wasn't a significant difference between the age of women and men ($p = 0.28$).

The most common condition in stroke patients was high blood pressure 38 (97.4%), followed by ischemic heart disease 26 (66.7%), diabetes mellitus was seen in 17 (43.6%) and obesity (body mass index $> 30 \text{ kg/m}^2$) was seen in 16 (41.0%) patients, dyslipidemia was seen in 14 (35.9%) patients.

funcție de vârstă și sex, formând grupul de control. Vârsta medie a întregului grup de pacienți cu AVC ischemic a fost $66,9 \pm 9,0$ ani, vârsta medie a femeilor fiind de $68,3 \pm 9,2$ ani, iar a pacienților de sex masculin – $65,2 \pm 8,7$ ani. Nu s-a determinat o diferență semnificativă statistic dintre vârsta femeilor și cea a bărbaților ($p=0,28$).

Cea mai frecventă comorbiditate depistată la pacienții cu AVC ischemic a fost hipertensiunea arterială 38 (97,4%) de cazuri, urmată de boala cardiacă ischemică – 26 (66,7%) de cazuri; diabetul zaharat a fost constatat la 17 (43,6%) pacienți, iar obezitatea (indicele de masă corporală >30 kg/m²) a fost observată la 16 (41,0%) persoane. Dislipidemia a fost determinată la 14 (35,9%) pacienți.

Concentrația serică a MMP-9 a fost crescută peste valoarea considerată normală la toți pacienții cu AVC ischemic, valoarea medie a MMP-9 fiind de $7,44 \pm 5,32$ μg/l (extreme: 1,55 – 34,84 μg/l), aceasta fiind semnificativ statistic ($p < 0,001$) mai mare decât la grupul martor ($2,18 \pm 1,0$ μg/l). În a 7-a zi de spitalizare, nivelul seric al MMP-9 nu a fost statistic semnificativ mai mic decât în prima zi de spitalizare ($p < 0,3$), valorile medii ale acestuia fiind de $6,34 \pm 4,03$ μg/l (extreme: 1,91 μg/l – 22,74 μg/l).

Un pacient a suferit transformare hemoragică a zonei infarctului cerebral, la care nivelul MMP-9 a fost semnificativ mai mare decât a întregului grup de cercetare (în prima zi de spitalizare – 34,84 μg/l, în a 7-a zi de spitalizare – 22,74 μg/l).

S-a comparat gradul de expresie a MMP-9 în funcție de subtipul de AVC (Tabelul 1). Gradul de expresie al MMP-9 seric a fost statistic semnificativ mai mare în cazul pacienților cu AVC ischemic de origine macroangiopată și la pacienții cu AVC de etiologie nedeterminată, în comparație cu grupul de bolnavi cu AVC de origine microangiopată. Macroangiopatia a fost cea mai frecventă cauză etiologică a AVC-ului ischemic – 19 (48,7%) persoane, urmată de AVC de etiologie nedeterminată – 9 (23,07%) persoane, cardioembolică – 8 (20,5%) persoane și ocluzia vaselor mici – 7,7% din cazuri.

Conform clasificării *Bamford/Oxford* (1991), gradul de expresie al MMP-9 seric a fost similar la grupurile de bolnavi cu infarct cerebral cu afectarea parțială a circulației anterioare ($7,95 \pm 6,5$ μg/ml) și infarct cerebral la nivel de circulație

Serum MMP-9 concentration were increased above the normal value 7.44 ± 5.32 μg/l (extremes: 1.55 to 34.84 μg/l) in stroke group which was statistically significant ($p < 0.001$) when compared to the control group (2.18 ± 1.0 μg/l). At the 7th day of hospitalization, the serum MMP-9 level was not significant lower 6.34 ± 4.03 μg/l (extremes: 1.91 μg/l to 22.74 μg/l) than in the first day of hospitalization ($p < 0.3$).

One patient suffered hemorrhagic transformation of ischemically infarcted area, the MMP-9 level was significant higher than the entire group (first day of hospitalization – 34.84 μg/l, the 7th day of hospitalization – 22.74 μg/l).

There was a statistically significant difference in serum MMP-9 level between the patients according to stroke subtype (Table 1). Serum MMP-9 level were significantly higher in the large-artery atherosclerosis stroke and stroke of undetermined etiology group than in the small-vessel occlusion group. Large-artery atherosclerosis – 19 (48.7%) was the most common etiology of the ischemic stroke, followed by undetermined etiology – 9 (23.07%), ischemic cardio embolism – 8 (20.5%) and small-vessel occlusion – 3 (7.7%) patients.

According the *Bamford/Oxford* (1991) classification, the serum levels of MMP-9 were similar between the groups with partial anterior circulation infarct (7.95 ± 6.5 μg/ml) and posterior circulation infarct (6.77 ± 2.63 μg/ml) and were significant higher than in lacunar infarct group (4.06 ± 1.56 μg/ml) (Table 1).

We found a good correlation between serum MMP-9 levels and NIHSS score at admission ($r=0.41$) and in the 7th day of hospitalization ($r=0.37$) (Figure 1).

We divided the patients into 2 groups according to the NIHSS score: 1st group – with mild severity of stroke and 2nd group – with moderate severity of ischemic stroke. Serum MMP-9 levels were compared in the two groups according to low (NIHSS 1-7) and moderate (NIHSS >7) neurological deficiency (Table 2).

The group of patients with moderate stroke severity had significantly higher serum MMP-9 level ($p < 0.05$) (Table 2).

One patient died during the study. There was a significantly higher value of serum MMP-9 level in patient who expired af-

Tabelul 1. Gradul de expresie al MMP-9 (μg/ml) în funcție de subtipul de AVC ischemic.

Table 1. Distribution of MMP-9 levels (μg/ml) by ischemic stroke subtype.

Clasificarea TOAST (1993) al accidentului vascular cerebral ischemic <i>Type of ischemic stroke using TOAST (1993) classification</i>			
Macroangiopatie <i>Large artery atherosclerosis</i>	Microangiopatie <i>Small-vessel occlusion</i>	Cardioembolică <i>Cardioembolism</i>	Etiologie nedeterminată <i>Undetermined etiology</i>
8,56±6,90	4,06±1,56	6,29±3,64	7,07±2,39
Clasificarea Bamford/Oxford (1991) al accidentului vascular cerebral ischemic <i>Type of ischemic stroke using the Bamford/Oxford (1991) classification</i>			
Afectarea parțială a circulației anterioare <i>Partial anterior circulation infarct</i>	Afectarea totală a circulației anterioare <i>Total anterior circulation infarct</i>	Afectarea circulației posterioare <i>Posterior circulation infarct</i>	Infarct lacunar <i>Lacunar infarct</i>
7,95±6,50	9,39	6,77±2,53	4,06±1,56

Notă: datele sunt prezentate drept medie și deviere standard.

Note: data are presented as mean and standard deviation.

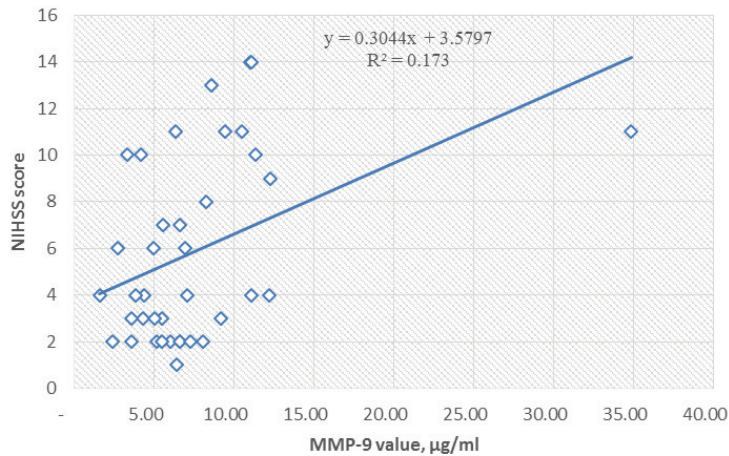


Fig. 1 Corelarea dintre nivelul MMP-9 seric și scorul NIHSS.
Fig. 1 Correlation between serum MMP-9 level and NIHSS score.

posteroară ($6,77 \pm 2,63 \mu\text{g/ml}$) și a fost statistic semnificativ mai mare decât în lotul de pacienți cu AVC lacunar ($4,06 \pm 1,56 \mu\text{g/ml}$) (Tabelul 1).

S-a determinat o corelație pozitivă dintre nivelul seric al MMP-9 și scorul NIHSS (Figura 1). Corelarea dată a fost mai strânsă în ziua internării ($r=0,41$) și în a 7-a zi de spitalizare ($r=0,37$).

Pacienții grupului de bază au fost împărțiți în 2 subloturi, în funcție de scorul NIHSS: primul sublot a fost constituit din bolnavi cu AVC de severitate ușoară, iar al doilea – din pacienți cu AVC ischemic de severitate medie. Nivelul seric al MMP-9 a fost comparat între cele două grupuri, în funcție de scorul NIHSS. Un deficit neurologic ușor se încadrează între valorile NIHSS cuprinse între 1-7 puncte și cel moderat – NIHSS >7 puncte (Tabelul 2).

Grupul de pacienți cu severitate moderată de AVC a prezentat un nivel semnificativ mai mare al MMP-9 serice ($p < 0,05$) (Tabelul 2).

Un pacient a decedat în timpul studiului. Acest pacient a prezentat o valoare semnificativ mai mare a nivelului seric al MMP-9 decât a pacienților care au supraviețuit ($10,46 \mu\text{g/ml}$ la internare și $8,89 \mu\text{g/ml}$ la a 7-ea zi de spitalizare).

Astfel, s-a constatat că MMP-9 seric poate fi utilizat pentru a prezice evoluția AVC ischemic (Figura 2). Pentru MMP-9, valoarea-prag de $>10 \mu\text{g/ml}$ are o sensibilitate de 100% și o

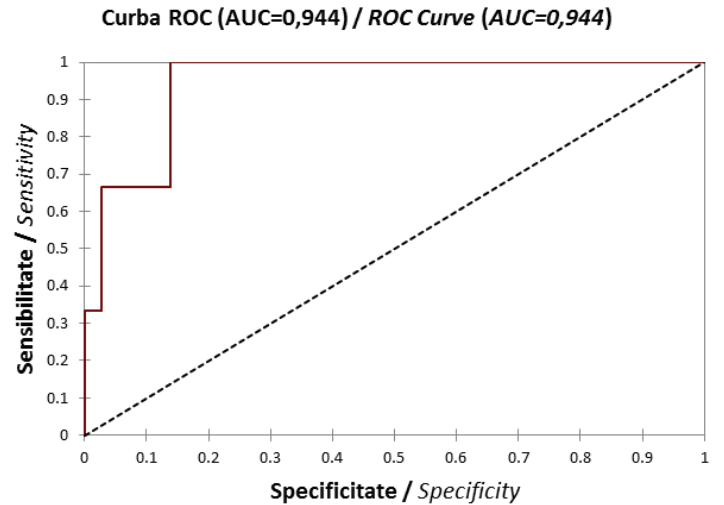


Fig. 2 Curba ROC pentru aprecierea prognosticului de evoluție al AVC ischemic, în funcție de gradul de expresie al MMP-9 ($\mu\text{g/l}$).
Fig. 2 The ROC curve for assessing the prognosis of ischemic stroke progression based on the MMP-9 expression ($\mu\text{g/l}$).

ter stroke than in patients who survived ($10,46 \mu\text{g/ml}$ at admission and $8,89 \mu\text{g/ml}$ – at the 7th day of hospitalization).

The MMP-9 can be used to predict the progression of ischemic stroke (Figure 2). For the MMP-9, we determined the level of MMP-9 $>10 \mu\text{g/l}$, respectively, for this value we determined a sensitivity for unfavorable disease progression of 100% and a specificity of 86%.

Discussion

MMP-9 is such a neurochemical marker of brain damage which is a major component of the cytosol, particularly in the astroglial cells and is released in the cerebrospinal fluid and peripheral blood due to disruption of blood brain barrier after the brain damage. MMP-9 have received increasing attention because of their use as predictive marker of improving clinical management and clinical outcome of patients. The present study primarily confirmed that MMP-9 level are higher in patients with stroke compared with healthy volunteers. The high level of MMP-9 in acute stroke was also observed with other studies in the literature [6-10]. Rosell A. *et al.* studied postmortem fresh brain tissue from 6 ischemic and 8 hemorrhagic stroke patients within the first 6 hours after death. The study demonstrated *in situ* higher levels of MMP-9 in human brain tissue after ischemic and hemorrhagic stroke, suggest-

Tabelul 2. Nivelul seric al MMP-9 ($\mu\text{g/ml}$) în funcție de severitatea AVC ischemic (24 de ore de la debut).

Table 2. Severity of stroke (first 24 hours of onset) and serum MMP-9 level ($\mu\text{g/ml}$).

Severitatea AVC ușoară <i>Mild stroke severity</i>	Severitatea AVC moderată <i>Moderate stroke severity</i>	p
5,89±2,50	10,21±7,60	0,013

Notă: test statistic aplicat – t-Student bicaudal nepereche.

Note: applied statistical test – two tailed unpaired t-Student.

specificitate de 86% pentru evoluția nefavorabilă a AVC-ului ischemic.

Discuții

MMP-9 reprezintă un marker neurochimic al leziunilor cerebrale și este o componentă majoră a citozolului, în special, în celulele astrogliale. Este eliberat în lichidul cefalorahidian și sângele periferic din cauza perturbării barierei hematoencefalice, ca urmare a leziunii cerebrale de origine traumatică sau vasculară. MMP-9 a beneficiat de o atenție sporită în ultimii ani datorită posibilității utilizării lui ca marker predictiv de îmbunătățire al managementului clinic și al prognosticului neurologic la pacienții cu AVC. Studiul prezent a confirmat că nivelul MMP-9 seric este ridicat la pacienții cu AVC ischemic, comparativ cu subiecții sănătoși.

Nivelul ridicat al MMP-9 seric la bolnavii cu leziuni cerebrale de origine vasculară a fost observat și în cazul altor studii din literatură [6-10]. Astfel, Rosell A. *et al.*, au studiat țesutul cerebral postmortem la 6 pacienți cu AVC ischemic și la 8 pacienți cu AVC hemoragic în primele 6 ore de la deces. Studiul a demonstrat niveluri mai ridicate de MMP-9 în țesutul cerebral uman *in situ* după leziune cerebrală de origine ischemică și hemoragică, sugerând contribuția MMP-9 în leziunile cerebrale ischemice și edemul format în jurul hematomului cerebral [8].

Zhong C. *et al.*, au măsurat concentrațiile serice ale MMP-9 la 3.186 de participanți din China în cadrul Trialului Antihipertensiv, dedicat pacienților cu AVC ischemic în faza acută. În cursul celor 3 luni de cercetare, 767 (24,6%) de participanți au prezentat un handicap major sau au decedat. MMP-9 seric a fost asociat cu un risc crescut de deces și invaliditate majoră în urma ajustării pentru vârstă, sex, pentru timpul de la debutul maladiei până la includerea în studiu, tabagism, consum de alcool, scor NIHSS la internare. Astfel, nivelurile serice mai mari ale MMP-9 în faza acută a accidentului vascular cerebral ischemic au fost asociate cu un risc crescut de mortalitate și dizabilitate majoră, sugerând că MMP-9 seric ar putea fi un factor de prognostic important pentru evoluția AVC ischemic [10].

Abdelnaseer M. a investigat nivelul seric al MMP-9 la 30 de pacienți cu AVC ischemic acut în primele 24 de ore de la debut în calitate de predictor de evoluție a deficitului neurologic și relația dintre nivelul MMP-9 seric peste 30 de zile de la debutul bolii și gradul de recuperare funcțională post-AVC. În acest studiu, nivelul seric al MMP-9 la o lună de la debutul AVC a corelat pozitiv cu severitatea deficitului neurologic la debutul bolii și cu gradul recuperării clinice la o lună [11].

MMP sunt supraexprimate în prezența unor afecțiuni neurologice, în care există o perturbare a barierei hematoencefalice. Abilleira S. *et al.*, au investigat concentrația MMP-9 la pacienții care au suferit de hemoragie intracerebrală acută și relația ei cu edemul format în jurul hematomului. Gradul de expresie al MMP-9 seric este crescut după suportarea unui AVC hemoragic. La pacienții cu AVC hemoragic, această creștere este asociată cu volumul edemului format în jurul hematomului și cu gradul agravării deficitului neurologic în stadiul acut [12].

ing a contribution of MMP-9 to ischemic brain injury and perihematoma edema [8].

Zhong C. *et al.*, measured serum MMP-9 levels in 3,186 participants from the China Antihypertensive Trial in Acute Ischemic Stroke. During 3 months of follow-up, 767 participants (24.6%) experienced major disability or died. Serum MMP-9 was significantly associated with an increased risk of death and major disability after adjustment for age, sex, time from onset to randomization, current smoking, alcohol drinking, and admission NIHSS score. So higher serum MMP-9 levels in the acute phase of ischemic stroke were associated with increased risk of mortality and major disability, suggesting that serum MMP-9 could be an important prognostic factor for ischemic stroke [10].

Abdelnaseer M. investigated the serum level of MMP-9 in 30 patients with acute ischemic stroke during the first 24 hours of onset as predictor of stroke outcome and the relation between the level of MMP-9 after 30 days and stroke recovery. In this study the serum level of MMP-9 30 days after stroke onset was positively correlated with initial stroke severity and outcome, as well as with clinical recovery [11].

MMPs are overexpressed in the presence of some neurological diseases in which blood-brain barrier disruption exists. Abilleira S. *et al.* investigated the MMP-9 concentration in patients after acute intracerebral hemorrhage and its relation to peri-hematoma edema. Expression of MMP-9 is raised after acute spontaneous intracerebral hemorrhage. Among patients with deep intracerebral hemorrhage this increase is associated with peri-hematoma edema and the development of neurological worsening within the acute stage [12].

In our study serum MMP-9 level were significantly higher in the large-artery atherosclerosis stroke and stroke of undetermined etiology group than in the small-vessel occlusion group. MMP-9 level was significantly higher in the patient who died compared with survivors. MMP-9 has high sensitivity and high specificity in ischemic stroke.

The definition of the exact role of MMP after ischemic stroke will have important diagnostic implications for stroke and for the development of therapeutic strategies aimed at modulating MMP [7]. MMP-9 is a possible marker for ongoing brain ischemia, as well as a predictor of hemorrhage in patients treated with rt-PA.

Conclusions

Serum MMP-9 level significantly rises in patient with acute stroke due to ischemia. It helps in the diagnosis of stroke and the severity of stroke as it is significant increases according to the NIHSS score in patients with moderate stroke severity compared to those with mild stroke severity. MMP-9 protein levels have a positive correlation with NIHSS. Finally, we conclude that serum MMP-9 protein measurement can be used for the prognosis of the clinical outcome in patients with acute ischemic stroke.

În studiul nostru, nivelul MMP-9 seric a fost semnificativ mai mare în cazul AVC ischemic de origine macroangiopată și AVC de etiologie nedeterminată, decât în grupul de pacienți cu AVC de origine microangiopată. Nivelul MMP-9 a fost semnificativ mai mare la pacientul care a decedat în comparație cu supraviețuitorii.

Definirea rolului exact al MMP după suportarea unui AVC ischemic va avea implicații importante asupra diagnosticului AVC și pentru dezvoltarea strategiilor terapeutice, menite să moduleze MMP [7]. MMP-9 este un potențial marker pentru ischemia cerebrală, precum și un predictor al transformării hemoragice a focarului ischemic la pacienții eligibili pentru tratament cu rt-PA.

Concluzii

Nivelul MMP-9 seric crește semnificativ la pacienții cu accident vascular cerebral ischemic în faza acută, servind drept biomarker pentru diagnosticarea accidentului vascular cerebral și a severității deficitului neurologic. Concentrația MMP-9 crește semnificativ în funcție de scorul NIHSS la pacienții cu deficit neurologic moderat, comparativ cu cei cu deficit ușor. Nivelurile MMP-9 au corelat pozitiv cu scorul NIHSS. În cele din urmă, măsurarea MMP-9 seric poate fi utilizată pentru prognosticul evoluției clinice la pacienții cu AVC ischemic în faza acută.

Declarația de conflict de interese

Autorii declară absența conflictului de interes.

Contribuția autorilor

Proiectarea studiului (EG, DC, VC, VM), acumularea materialelor clinice (VM), interpretarea datelor și analiza statistică (EG, DC), prepararea manuscriselor (VC, VM). Versiunea finală a manuscrisului a fost citită și aprobată de toți autorii.

Referințe / references

1. Caplan L. Basic pathology, anatomy, and pathophysiology of stroke. In: Caplan's Stroke: a clinical approach, 4th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia 2009. p. 22.
2. Adams H., Biller J. Classification of subtypes of ischemic stroke history of the trial of org 10172 in acute stroke treatment classification. *Stroke*, 2015; 46: e114-e117.
3. Dong X., Song Y., Liu W., Guo X. MMP-9, a potential target for cerebral ischemic treatment. *Curr. Neuropharmacol.*, 2009; 7 (4): 269-275.
4. Abdelnaseer M., Elfayomi N., Hassan E., Kamal M., Hamdy A., El-sawy E. Serum matrix metalloproteinase-9 in acute ischemic stroke and its relation to stroke severity. *The Egyptian Journal of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery*, 2015; 52 (4): 274-278.
5. Lakhan S., Kirchgessner A., Tepper D., Leonard A. Matrix metalloproteinases and blood-brain barrier disruption in acute ischemic stroke. *Front. Neurol.*, 2013; 4: 32.
6. Lucivero V., Prontera M., Mezzapesa D. *et al.* Different roles of matrix metalloproteinases-2 and -9 after human ischaemic stroke. *Neurol. Sci.*, 2007; 28: 165-170. <https://doi.org/10.1007/s10072-007-0814-0>.
7. Ramos-Fernandez M., Bellolio F. *et al.* Matrix Metalloproteinase-9 as a marker for acute ischemic stroke: a systematic review. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 2011; 20: 47-54.
8. Rosell A., Ortega-Aznar A., Alvarez-Sabín J. *et al.* Increased brain expression of matrix metalloproteinase-9 after ischemic and hemorrhagic human stroke. *Stroke*, 2006; 37: 1399-1406.
9. Turner R., Sharp F. Implications of MMP-9 for blood brain barrier disruption and hemorrhagic transformation following ischemic stroke. *Front Cell Neurosci.*, 2016; 10: 56.
10. Zhong C., Yang J., Xu T., Xu T. *et al.* Serum matrix metalloproteinase-9 levels and prognosis of acute ischemic stroke. *Neurology*, 2017; 89 (8): 805-812.
11. Abdelnaseer M., Elfauomy N., Esmail E., Kamal M., El-sawy E. Matrix metalloproteinase-9 and recovery of acute ischemic stroke. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.*, 2017; 26 (4): 733-740.
12. Abilleira S., Montaner J., Carlos A. *et al.* Matrix metalloproteinase-9 concentration after spontaneous intracerebral hemorrhage. *Journal of Neurosurgery*, 2003; 99 (1): 65-70.

Declaration of conflicting interests

The authors declare the absence of the conflict of interests.

Contribution of the authors

Study designing (EG, DC, VC, VM), accumulation of clinical material (VM), data interpretation and statistical analysis (EG, DC), manuscript preparation (VC, VM), critical review of manuscript (EG, DC). Final version of manuscript was read and approved by all authors.