

İskemik İnmenin Akut ve Subakut Döneminde Matriks Metalloproteinaz-2 ve Matriks Metalloproteinaz-9 Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Evaluation of Matrix Metalloproteinase-2 and Matrix Metalloproteinase-9 Levels in Acute and Subacute Periods of Ischemic Stroke

Sefer Varol¹, Mehmet Uğur Çevik¹, Abdullah Acar¹, Özlem Demirpençe², İbrahim Kaplan¹, Nebahat Taşdemir¹, Hasan Hüseyin Özdemir¹

ÖZET

Amaç: Ateroskleroz ve inflamatuvar mekanizmalar serebral iskemide patogenezinde önemli bir rol oynamaktadırlar. Matriks metalloproteinazların (MMP) aktivitesi inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu, düz kas hücre migrasyonu ve proliferasyonu gibi aterosklerotik plak oluşumu ile ilişkili birçok süreçte gereklidir. MMP-2 ve MMP-9 serum düzeylerinin akut iskemik inmede inme şiddeti ve prognoz açısından önemini araştıran az çalışma vardır. Bu çalışmada iskemik inmeli hastaların akut ve subakut dönemdeki MMP-2 ve MMP-9 seviyeleri ve Glasgow Koma Skalası (GKS) ile bu biyokimyasal parametrelerin ilişkisi değerlendirildi.

Yöntemler: Çalışmaya prospektif olarak akut dönem başvuran iskemik inmeli 64 hasta dahil edildi. İskemik inmeli bu hastaların akut ve subakut dönemlerinde serum MMP-2 ve MMP-9 antikor düzeyi ELİSA yöntemi ile ölçüldü.

Bulgular: Akut dönemde serum MMP-2 ortalama değerleri $4,28 \pm 3,36$ ng/mL, subakut dönemde ise $2,27 \pm 2,62$ ng/mL idi ($p < 0,05$). Ayrıca akut dönemde MMP-9 ortalama değeri $2,83 \pm 3,83$ ng/mL subakut dönemde $2,27 \pm 1,57$ ng/mL idi ($p > 0,05$). MMP-2 ve MMP-9 seviyeleri ile hastaların GKS arasında korelasyon saptanmadı.

Sonuç: Bu sonuçlar MMP-2 düzeyi iskemik inmeli hastaların akut döneminde subakut döneme göre yüksek olduğunu gösterir. Bu nedenle MMP-2 düzeyi iskemik inmenin patogenezinde akut dönemde rolünü destekleyebilir.

Anahtar kelimeler: İskemik inme, akut, subakut, MMP-2, MMP-9.

ABSTRACT

Objective: Atherosclerosis and inflammatory mechanisms play an important role in the pathogenesis of cerebral ischemia. The activity of Matrix metalloproteinases (MMP) is essential for many of the processes involved in atherosclerotic plaque formation, such as infiltration of inflammatory cells, smooth muscle cell migration and proliferation. There are a few studies referring to the importance of MMP-2 and MMP-9 levels for the stroke severity and prognosis in acute ischemic stroke. In this study, MMP-2 and MMP-9 levels in acute and subacute periods and the relationship between Glasgow coma scale (GCS) was assessed.

Methods: Seventy ischemic stroke patients who fulfilled the study criteria are included to our study prospectively. Serum MMP-2 and MMP-9 antibody levels calculated by ELISA method at period of the acute and subacute ischemic stroke.

Results: Average serum MMP2 antibody levels are 4.28 ± 3.36 acute period and 2.27 ± 2.62 ($p < 0.05$) in subacute period. Also average serum MMP9 antibody levels are 4.28 ± 3.36 acute period and 2.83 ± 3.83 ($p < 0.05$). It was not observed correlation between MMP-2 and MMP-9 levels and GCS.

Conclusion: These results suggest that MMP-2 levels in the patients with ischemic stroke show a statistically significant difference when compared acute and subacute period. We conclude that MMP-2 may important role on the ischemic stroke.

Key words: Ischemic stroke, acute, subacute, MMP-2, MMP-9.

¹ Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji ABD, Diyarbakır, Türkiye

² Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ABD Sivas, Türkiye

Yazışma Adresi /Correspondence: Sefer Varol,

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji ABD Diyarbakır, Türkiye Email: sfrvarol@gmail.com

Geliş Tarihi / Received: 03.04.2016, Kabul Tarihi / Accepted: 21.04.2016

Copyright © Dicle Tıp Dergisi 2016, Her hakkı saklıdır / All rights reserved

GİRİŞ

İskemik inme patofizyolojisi oldukça kompleksdir. Akut iskemik inme patofizyolojisinde inflamatuvar yanıt varlığı yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur. Son zamanlarda yapılan çalışmalar iskemik atak sonrasında gelişen inflamasyonu odaklanmış olup burada rol alan işaretçi moleküllerin rolü araştırmıştır [1].

Matriks metalloproteinaz (MMP) ailesi, ekstrasellüler proteinazların önemli bir üyesidir. En önemli görevleri ekstrasellüler matriksin (ECM) yıkımıdır. Birçok fizyolojik ve patolojik süreçlere katıldıkları saptanmıştır. Bu enzimler ECM'in turnover'i, doku remodelingi, angiogenez, morfogenez ve inflamasyon gelişiminde oldukça esansiyel bir konuma sahiptir. MMP'lerin aktivitesinin artışı kardiyak hastalık, ateroskleroz, tümör hücre metastazı ve artritler gibi birçok hastalığın patogeneğinde etkili olduğunu gösteren çalışmalar yayınlanmaktadır [2].

Nöroloji hastalarında prognozu önceden tahmin edebilecek, klinik araştırmaların ve tedavilerin değerlendirmesinde çeşitli skorlama sistemleri kullanılmaktadır. Glasgow koma skoru (GKS) yoğun bakım ünitelerinde halen en sık kullanılan skorlardandır ve mortaliteye etki edebilecek seçilmiş nörolojik faktörleri kullanarak özellikle iskemik inmeli hastalarda da hastalığın şiddetini rakamsal değerler ile ölçmektedir [3].

Bu çalışmada, akut iskemik inme ile nöroloji kliniğine başvuran hastalarda akut ve subakut dönemde MMP-2 ve MMP-9 düzeyleri ile hastaların klinik bulguları değerlendirildi ve bu belirteçlerin prognozla ilişkisi araştırıldı.

YÖNTEMLER

Çalışmaya Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji Kliniklerine Haziran ve Ağustos 20013 ayları arasında akut iskemik inme nedeni ile müracaat eden 50 yaş üzeri 70 hasta birey alındı. İskemik inme tanısı, öykü, klinik muayene bulguları ve bilgisayarlı beyin tomografisi (BBT) yada manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ile konuldu.

Hasta grubunda inme nedeni TOAST (The Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment) kriterleri kullanılarak büyük arter ateroskleroza, kardiyoembolik inme, küçük arter ateroskleroza, diğer ne-

denlere bağlı inme ve nedeni belirlenemeyen inme olarak gruplandı. Hastaların akut dönemde klinik durumların değerlendirmede GKS kullanıldı.

Son bir ay içerisinde ciddi enfeksiyonu, otoimmün, hematolojik veya malign hastalığı, ciddi renal veya hepatik yetmezliği olanlar, son 6 ay içerisinde myokard enfaktüsü veya majör cerrahi girişim geçirilenler, immünyüpresyon veya son 6 ayda antienflamatuvar ilaçlarla tedavi alanlar, derin ven trombozu, psikiyatrik bozukluklar, malnutrisyon, intoksikasyon hikayesi olanlar çalışma dışında tutuldu.

Hastalar demografik özellikleri, medikal öyküleri, risk faktörleri (hipertansiyon, diyabet, hiperlipidemi, sigara alkol kullanımı, koroner arter hastalığı) açısından değerlendirildi. Hastaların fizik muayene, nörolojik muayene, rutin laboratuvar testleri (rutin biyokimya hemogram, sedimentasyon, C-reaktif protein (CRP), lipid profili), bilgisayarlı beyin tomografi (BT) veya kraniyal manyetik rezonans görüntüleme, elektrokardiyografi (EKG), karotis ve vertebral Doppler ultrasonu veya BT serebral anjiyografisi yapıldı.

MMP-2 ve MMP-9 düzeyi ölçümleri, inme başlangıcından sonraki ilk 24 saat içinde ve subakut 5-7 günlerde hastalardan alınan venöz kan örneklerinden ELISA yöntemi ile çalışıldı.

Çalışmayla ilgili etik kurul onayı Dicle Üniversitesi Hastanesi Etik Kurulu'ndan alınmıştır.

İstatistiksel analiz

İstatistiksel değerlendirmede SPSS 16.0 (for Windows) versiyonu kullanıldı. Verilerin ortalama, standart sapma, minimum, maksimum değerleri belirlendi. Normal dağılım gösteren bağımsız nicel verilerin karşılaştırılmasında Student t-testi, normal dağılım göstermeyen bağımsız nicel verilerin karşılaştırılmasında Mann Whitney U-testi kullanıldı. Nitel verilerin karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı. Veriler %95 güven aralığında değerlendirildi ve $p < 0.05$ değerleri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya 70 hasta alındı. Hasta grubu 37 kadın (%52,9), 33 erkekten (%47,1) oluşturuldu. Kadın ve erkeklerin dağılımı homojendi. Kadınların yaş ortalaması $68,67 \pm 14,15$ yıl, erkeklerin yaş ortalaması $70,81 \pm 12,46$ yıl idi.

TOAST sınıflamasına göre değerlendirildiğinde hastaların 30 hasta (%42,8) büyük arter ateroskleroza, 18 hasta (%25,7) kardiyomembolik inme, 17 hasta (%24,8) küçük arter ateroskleroza, 5 hasta (%6,7) nedeni belirlenemeyen inme olarak değerlendirildi.

Hastaların 11 hastada (%24,2) diabetes mellitus, 38 hastada (%54,2) hipertansiyon, 15 hastada (%21,4) koroner arter hastalığı mevcuttu. 6 hastada (%8,5) eşlik eden sistemik hastalık hikayesi yoktu.

Hastaların akut dönemde serum MMP-2 ortalama değerleri $4,28 \pm 3,36$ ng/mL, subakut dönemde grubunda $2,27 \pm 2,62$ ng/mL idi ($p < 0,05$). Ayrıca akut dönemde MMP-9 ortalama değeri $2,83 \pm 3,83$ ng/mL subakut dönemde $2,27 \pm 1,57$ ng/mL idi ($p > 0,05$). Akut ve subakut MMP-2 düzeylerinde belirgin anlamlılık saptandı.

Akut ve subakut dönmedeki MMP-2 ve MMP-9 seviyeleri ile hastaların akut dönemdeki GKS'leri arasında korelasyon saptanmadı.

Tablo 1. Akut ve subakut dönemdeki MMP-2 ve MMP-9 değerleri

	MMP-2	MMP-9	p
Akut Dönem (ng/mL)	$4,28 \pm 3,36$	$2,83 \pm 3,83$	$<0,05$
Subakut Dönem (ng/mL)	$2,27 \pm 2,62$	$2,27 \pm 1,57$	$>0,05$

TARTIŞMA

Serebral iskemi etyopatogenezinde, ateroskleroz, serbest radikal oluşumu, lipid peroksidasyonu, ekzitoksisite, aşırı kalsiyum yüklenmesi ve enflamasyon gibi mekanizmalar yer almaktadır. Bu mekanizmalar birbirleriyle bir ilişki içerisinde ve birlikte hücre ölüm mekanizmalarını tetiklerler [4-6].

Matriks metalloproteinazların aktivitesi inflammatuar hücrelerin infiltrasyonu, ve aterosklerotik plak oluşumu ile ilişkili birçok süreç için temeldir. Ayrıca, MMP'ler, plak destabilizasyonu ve yırtılmasına yol açan olaylarla da ilişkilendirilmektedir [7]. Fizyolojik olayların sürdürülmesinde MMP aktivitesi ile onların spesifik endojen doku inhibitörleri (TIMP'ler) arasında sürekli bir denge söz konusudur [8]. MMP'ler ve TIMP'ler normal dokularda düşük düzeyde eksprese edilirler ve birçok biyolojik süreçte rol oynarlar. Bunlar arasında kemiğin yeniden modellenmesi, yara iyileşmesi, anjiyoje-

nez, inflamasyon, apoptozis, immün cevap gelişimi, embriyonik gelişim, blastosit implantasyonu, organ morfogenez, sinir hücre gelişimi, endometriyal siklus ve saç folikülü siklusunu sayılabilir [9].

Çeşitli deneysel ateroskleroz modellerinde oluşan aterosklerotik lezyonlarda ve aortik okluzif hastalığı ya da aortik anevrizması olan hastalardan alınan aterosklerotik arter örneklerinde özellikle MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-10, MMP-11, MMP-12, MMP-13 ve MMP-14'ün ekspresyon ve aktivitelerinin değiştiği polimorfizm anormallikleri gösterilmiştir [10-12]. Son yıllardaki çalışmalarda MMP-14'ün insan aterosklerotik plaklarında damarın media tabakasında MMP-2 ile birlikte bulunduğu ve MMP-2'yi aktive ederek aterosklerotik plakların yüzeysel erozyonuna yol açtığı gösterilmiştir [13]. Ayrıca MMP iskemik hasarın iyileşmesinde de rol aldığı gözlenmiştir [14].

İskemik inmede MMP düzeylerini değerlendiren bazı çalışmalar mevcuttur. Cojocarui ve ark. yaptıkları çalışmada MMP-9 düzeyinin iskemik inmede akut dönemde yüksek bulmuşlardır. Jeon ve ark. yaptıkları çalışmada ise serum MMP-2 düzeyini intrakranial aterosklerotik hastalarda düşük bulmuşlardır ve MMP-2'nin intrakranial ateroskleroz gelişiminde rol alabileceğini belirtmişlerdir [16]. Biz çalışmamızda, MMP-2 ve MMP-9 seviyelerini akut ve subakut dönemde değerlendirdik. Akut dönemde MMP-2 düzeyini subakut döneme göre belirgin yüksek bulduk. Fakat MMP-9 seviyelerinde ise belirgin değişim gözlemlenmedi. Ayrıca bu biobelirteçler ile GKS arasında korelasyon tespit edemedik. MMP-2 düzeylerindeki bu değişim MMP-2'nin inflammatuar özelliğinden veya aterosklerozdan kaynaklanabilir. MMP aterosklerotik sürece olan katkılarının anlaşılması aterosklerotik beyin damar hastalıklarında yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine ışık tutabilir.

Sonuç olarak MMP-2 düzeyi iskemik inmeli hastaların akut döneminde subakut döneme göre yüksek olduğunu gösterir. Bunun yanı sıra MMP-9 düzeyinde akut dönem ile subakut döneme arasında bir fark saptanmadı. Bu nedenle MMP-2 düzeyi iskemik inmenin patogenezinde akut dönemde rolünü destekleyebilir.

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını bildirmişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma 11-TF-48 no'lu proje ile Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Fonu tarafından desteklenmiştir.

Declaration of Conflicting Interests: The authors declare that they have no conflict of interest.

Financial Disclosure: This study was supported by Dicle University Scientific Research Projects Fund with the Project Number of 11-TF-48.

KAYNAKLAR

1. Cura HS, Özdemir HH, Demir CF, et al. Investigation of vaspin level in patients with acute ischemic stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2014;23:453-456.
2. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases structure, function, and biochemistry. *Circ Res* 2003;92:827-839.
3. Altun Y, Demircan F, Mengeloğlu FZ, Namuslu M. Yoğun bakım hastalarında ortalama trombosit hacminin mortalite ile ilişkisi. *J Clin Exp Invest* 2011;2:408-411.
4. Kristian T, Siesjö BK. Calcium in ischemic cell death. *Stroke* 1998;29:705-718.
5. Chan PH. Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. *J Blood Flow Metab* 2001;21:2-14.
6. Ertaş F, Çevik MU, Aluçlu MU, et al. Karotis arter stentlemesi: İnvaziv bir üçüncü basamak merkez deneyiminin retrospektif değerlendirilmesi. *Dicle Med J* 2016;43:141-145.
7. Reel B. Matriks Metalloproteinaz Enzimleri ve Ateroskleroz. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2006;26:527-537.
8. Lambert E, Dasse E, Haye B, Petitfrere E. TIMPs as multifunctional proteins. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004;49:187-198.
9. Nagase H, Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999;274:21491-21494.
10. Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: The good, the bad, and the ugly. *Circ Res* 2002;90:251-262.
11. Beaudoux JL, Giral P, Bruckert E, et al. Matrix metalloproteinases, inflammation and atherosclerosis: Therapeutic perspectives. *Clin Chem Lab Med* 2004;42:121-131.
12. Kucuk MU, Bayramoğlu A, Gocmen SU, et al. MTHFR and MMP-9 Genetic Variants in Coronary Artery Disease. *Dicle Med J* 2016;43:50-56.
13. Rajavashisth TB, Liao JK, Galis ZS, et al. Inflammatory cytokines and oxidized low density lipoproteins increase endothelial cell expression of membrane type 1-matrix metalloproteinase. *J Biol Chem* 1999;274:11924-11929.
14. Yang Y, Rosenberg GA. Matrix metalloproteinases as therapeutic targets for stroke. *Brain Res* 2015;14:1623:30-38.
15. Cojocarui IM, Cojocarui M, Sapira V, et al. Changes in plasma matrix metalloproteinase-9 levels in patients with acute ischemic stroke. *Rom J Intern Med* 2012;50:155-158.
16. Jeon SB, Chun S, Choi-Kwon S, et al. Biomarkers and location of atherosclerosis: matrix metalloproteinase-2 may be related to intracranial atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2012;223:442-447.