

**PAPER DE LA GELATINASA B  
(MMP-9) EN EL  
DESENVOLUPAMENT D'EDEMA EN  
LA FASE AGUDA DE  
L'HEMORRÀGIA INTRACEREBRAL  
ESPONTÀNIA**

***Sònia Abilleira i Castells  
Barcelona. Maig de 2001***

**UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE  
BARCELONA**

**FACULTAT DE MEDICINA  
DEPARTAMENT DE MEDICINA**

**Maig de 2001**

***Al Carles i la Marisol, els meus pares, per la sort immensa de tenir-los sempre al meu costat.***

***A la Sandra i la Carola, les meves germanes, per ser-ho.***

***A la padrina i la iaia Annita.***

## **Agraiments**

---

Voldria expressar el meu agraiment a les següents persones:

Al **Dr. José Alvarez Sabín**, coordinador de la Unitat Cerebrovascular del Servei de Neurologia i codirector de la tesi, pels anys que hem compartit i que han estat decisius en la meva formació com a professional de la Neurologia. Voldria agrair-li les nombroses oportunitats que m'ha oferit en aquests anys i, per damunt de qualsevol, la d'haver-me considerat vàlida per a formar part integrant d'aquesta nouvinguda Unitat Cerebrovascular. Finalment, agrair-li l'afany, meticulositat i constància en la revisió de la tesi que ha fet possible, en gran manera, arribar fins aquí.

Als doctors **Joan Montaner** i **Carlos Molina**, els meus companys a la Unitat Cerebrovascular, pel seu encoratjament constant i la seva actitud, sempre optimista, a l'hora d'iniciar nous projectes.

Al **Dr. José Castillo**, codirector de la tesi, pels seus valuosos comentaris, sempre escaients, sobre el projecte i en reconeixement a l'esforç que ha mostrat en haver de llegir en una llengua aliena.

Al **Dr. Agustí Codina Puiggrós**, cap del Servei de Neurologia i codirector de la tesi, per mantenir intacta la il·lusió d'aprendre tants anys després.

Al **Jaume Sastre Garriga**, per ser al meu costat, confiar en mi i mostrar-me que la felicitat no és un bé efímer.

A **tots els residents del Servei de Neurologia**, presents i passats, que amb la seva col·laboració en la recollida de mostres, han fet possible aquest i altres treballs.

A la **Dra. Jasone Monasterio i l'Anna Anglés**, de la Unitat de Recerca en Hemostàssia, per la il·lusion que van mostrar en aquest projecte quan tot just s'estava gestant.

Al **Miguel Angel González** i el **Manolo Quintana** per la seva esforçada tasca a l'hora de dur a terme l'anàlisi estadística d'aquesta tesi.

Al **Dr. Feliu Titus i Albareda** i la **Dra. Assumpta Lafuente**, de la Unitat de Cefalees del Servei de Neurologia, amb els quals he gaudit de nombroses estones agradables. Vull agrair-los el haver-me implicat en aquesta matèria, desafortunadament poc reconeguda entre els propis neuròlegs, però que tantes satisfaccions em dóna.

A la **Sagrario Alia**, secretària del Servei de Neurologia, per haver fet, amb la seva feina, menys feixuga la nostra.

A la **Emy Edo i la Mercè Badia**, infermeres de la Consulta Externa del Servei de Neurologia, per fer-me més fàcils alguns moments difícils.

A tots els malalts que, sense haver-ho desitjat mai, van dipositar la seva confiança en nosaltres.

Barcelona, maig de 2001.

## ÍNDEX GENERAL

---

<b>AGRAIMENTS</b>	<b>I-II</b>
<b>ÍNDEX</b>	<b>1</b>
<b>1. INTRODUCCIÓ</b>	<b>10</b>
<b>2. REVISIÓ DE LA LITERATURA</b>	<b>13</b>
2.1 <u>Hemorràgia intracerebral</u>	14
2.1.1 <i>Concepte i breu ressenya històrica</i>	14
2.1.2 <i>Epidemiologia de l'hemorràgia intracerebral</i>	16
2.1.2.1 <i>Factors de Risc</i>	18
2.1.3 <i>Etiologia</i>	21
2.1.3.1 <i>Hipertensió arterial</i>	21
2.1.3.2 <i>Angiopatia Amiloide Cerebral</i>	22
2.1.3.3 <i>Malformacions Vasculares i Aneurismes</i>	23
2.1.3.4 <i>Tractament anticoagulant, antiagregant i trombolític</i>	26
2.1.3.5 <i>Simpaticomimètics</i>	30
2.1.3.6 <i>Vasculitis infeccioses</i>	30
2.1.3.7 <i>Vasculitis no infeccioses</i>	31
2.1.3.8 <i>Tumors</i>	32
2.1.3.9 <i>Malaltia de Moya-Moya</i>	32
2.1.3.10 <i>Traumatismes i Hemorràgia Postraumàtica Retardada (Spät-apoplexie)</i>	33
2.1.3.11 <i>Altres causes</i>	34
2.1.4 <i>Manifestacions clíniques</i>	34

2.1.4.1	<i>Forma d'inici</i>	34
2.1.4.2	<i>Alteració del nivell de consciència</i>	35
2.1.4.3	<i>Cefalea</i>	36
2.1.4.4	<i>Vòmits</i>	36
2.1.4.5	<i>Crisis comicials</i>	36
2.1.4.6	<i>Augment de la temperatura corporal</i>	37
2.1.5	<i>Diagnòstic</i>	37
2.1.5.1	<i>Hemorràgia intracerebral i neuroimatge</i>	38
2.1.5.1.1	<i>La tomografia computeritzada en l'estudi de l'hemorràgia intracerebral</i>	38
2.1.5.1.2	<i>Paper de la ressonància magnètica cranial en l'estudi de l'hemorràgia intracerebral</i>	40
2.1.5.2	<i>L'arteriografia cerebral</i>	41
2.1.6	<i>Pronòstic</i>	43
2.1.6.1	<i>Pronòstic en fase aguda</i>	43
2.1.6.2	<i>Pronòstic a llarg termini</i>	46
2.1.7	<i>Tractament</i>	47
2.1.8	<i>Hemorràgia intracerebral: models experimentals</i>	53
2.1.9	<i>La hipodensitat al voltant de l'hematoma</i>	55
2.1.9.1	<i>Edema i Isquèmia perihematoma</i>	56
2.1.9.2	<i>Proteolisi de la Barrera Hematoencefàlica</i>	60
2.2	<u>Metal.loproteïnases de la matriu</u>	62
2.2.1	<i>Concepte i classificació</i>	62

2.2.2	<i>Estructura de les metal.loproteïnases</i>	64
2.2.3	<i>Inhibidors tissulars de les metal.loproteïnases</i>	66
2.2.4	<i>Interaccions entre les metal.loproteïnases de la matriu i altres sistemes plasmàtics</i>	68
2.2.4.1	<i>Interaccions amb el sistema plasminogen/plasmina</i>	69
2.2.5	<i>Paper de les metal.loproteïnases en diverses patologies neurològiques</i>	70
2.2.5.1	<i>Metal.loproteïnases i ateromatosi carotídia</i>	70
2.2.5.2	<i>Metal.loproteïnases i Esclerosi múltiple</i>	74
2.2.5.3	<i>Metal.loproteïnases i Ictus</i>	78
2.2.5.3.1	<i>Ictus isquèmic</i>	78
2.2.5.3.2	<i>Hemorràgia intracerebral</i>	84
<b>3.</b>	<b>OBJECTIUS</b>	<b>86</b>
<b>4.</b>	<b>MATERIAL I MÈTODE</b>	<b>89</b>
4.1	<u>Selecció de la mostra</u>	90
4.1.1	<i>Criteris d'inclusió</i>	90
4.1.2	<i>Criteris d'exclusió</i>	90
4.2	<u>Protocol d'estudi</u>	92
4.2.1	<i>Factors de risc vascular</i>	92
4.2.2	<i>Dades clíniques i analítiques relacionades amb l'hemorràgia intracerebral</i>	93
4.2.3	<i>Valoració de l'estat neurològic i mortalitat</i>	98



4.2.3.1	<i>Definició d'empitjorament neurològic</i>	99
4.2.4	<i>Tomografia computeritzada cranial</i>	99
4.2.4.1	<i>Determinació del volum de l'hemorràgia i edema perihematoma</i>	100
4.2.4.2	<i>Creixement de l'hemorràgia intracerebral</i>	101
4.2.5	<i>Recollida i processament de les mostres plasmàtiques</i>	101
4.2.5.1	<i>Determinació de MMP-9, MMP-3, TIMP-1 i uPA</i>	101
4.3	<u>Anàlisi Estadística</u>	103
<b>5.</b>	<b>RESULTATS</b>	<b>106</b>
5.1	<u>Descripció general de la mostra</u>	107
5.1.1	<i>Distribució per edat i sexe</i>	108
5.1.1.1	<i>En el global de la sèrie</i>	108
5.1.1.2	<i>Comparació entre les HIC lobars i les profundes</i>	109
5.1.2	<i>Factors de Risc Vascular</i>	110
5.1.2.1	<i>En el global de la sèrie</i>	110
5.1.2.2	<i>Comparació entre les HIC lobars i les profundes</i>	110
5.1.3	<i>Manifestacions clíniques</i>	111
5.1.3.1	<i>En el global de la sèrie</i>	111
5.1.3.2	<i>Comparació entre les HIC lobars i les profundes</i>	112

5.1.4	<i>Etiologia de l'HIC</i>	112
5.1.4.1	<i>En el global de la sèrie</i>	112
5.1.4.2	<i>Comparació entre les HIC lobars i les profundes</i>	113
5.1.5	<i>Dades procedents de la TC cranial</i>	113
5.1.5.1	<i>En el global de la sèrie</i>	113
5.1.5.2	<i>Comparació entre les HIC lobars i les profundes</i>	115
5.1.6	<i>Dades analítiques i constants</i>	116
5.1.6.1	<i>En el global de la sèrie</i>	116
5.1.6.2	<i>Comparació entre les HIC lobars i les profundes</i>	117
5.1.7	<i>Estat neurològic, mortalitat i evolució</i>	118
5.1.7.1	<i>En el global de la sèrie</i>	118
5.1.7.2	<i>Comparació entre les HIC lobars i les profundes</i>	119
5.1.8	<i>Gelatinasa B (MMP-9), MMP-3, uPA i TIMP-1</i>	121
5.1.8.1	<i>En el global de la sèrie</i>	121
5.1.8.2	<i>Comparació entre les HIC lobars i les profundes</i>	121
5.1.8.3	<i>Relació dels valors de MMP-9, MMP-3, uPA i TIMP-1 entre els casos i a la normalitat</i>	122
5.2	<u>Relació dels valors de MMP-9 amb les variables recollides</u>	125

5.2.1	<i>Relació entre MMP-9 i les característiques basals de la mostra: edat, sexe i factors de risc vascular</i>	125
5.2.1.1	<i>En totes les HIC</i>	125
5.2.1.2	<i>En les HIC profundes</i>	125
5.2.1.3	<i>En les HIC lobars</i>	126
5.2.2	<i>Relació entre MMP-9 i les variables relacionades amb la presentació clínica de l'HIC, etiologia i dades del laboratori</i>	126
5.2.2.1	<i>Variables relacionades amb la presentació i manifestacions clíniques</i>	126
5.2.2.2	<i>Etiologia</i>	127
5.2.2.3	<i>Dades de laboratori</i>	128
5.2.3	<i>Relació entre MMP-9, MMP-3, uPA i TIMP-1</i>	129
5.2.4	<i>Relació entre MMP-9 i les dades derivades de la TC cranial: volums de les hemorràgies mesurats en el temps 1/2 i invasió ventricular</i>	129
5.2.5	<i>Relació entre MMP-9 i el creixement de l'hemorràgia</i>	130
5.2.6	<i>Relació entre MMP-9 i l'estat neurològic</i>	131
5.2.6.1	<i>En totes les HIC</i>	131
5.2.6.2	<i>En les HIC profundes</i>	131
5.2.6.3	<i>En les HIC lobars</i>	131
5.2.7	<i>Relació entre MMP-9 i la situació funcional dels malalts als 3 mesos</i>	132

5.2.7.1	<i>En totes les HIC</i>	132
5.2.7.2	<i>En les HIC profundes</i>	132
5.2.7.3	<i>En les HIC lobars</i>	133
5.2.8	<i>Relació entre MMP-9 i la mortalitat de la sèrie</i>	133
5.2.8.1	<i>En totes les HIC</i>	133
5.2.8.2	<i>En les HIC profundes</i>	133
5.2.8.3	<i>En les HIC lobars</i>	134
5.2.9	<i>Relació entre MMP-9 i l'anell d'hipodensitat perihematoma</i>	134
5.3	<u>Variables que es relacionen amb la presència de l'anell d'hipodensitat perihematoma</u>	135
5.3.1	<i>En el global de les HIC</i>	135
5.3.2	<i>En les HIC profundes</i>	138
5.3.3	<i>En les HIC lobars</i>	142
5.4	<u>Anàlisi dels factors que influeixen en el desenvolupament de l'anell d'hipodensitat perihematoma en les HIC profundes</u>	146
5.5	<u>Relació entre la MMP-9 i el quocient "volum anell/volum HIC 1"</u>	148
5.5.1	<i>Variables que influeixen en el quocient "volum anell/volum HIC 1" en el global de les HIC</i>	149
5.5.1.1	<i>Edat i sexe</i>	149
5.5.1.2	<i>Factors de risc vascular</i>	149
5.5.1.3	<i>Manifestacions clíniques</i>	150
5.5.1.4	<i>Situació neurològica basal</i>	150

5.5.1.5	<i>Dades procedents de la TC cranial</i>	151
5.5.1.6	<i>Dades analítiques i constants</i>	151
5.5.1.7	<i>Valor de MMP-9, MMP-3, uPA i TIMP-1</i>	152
5.5.1.8	<i>Etiologia</i>	152
5.5.1.9	<i>Variables per a la regressió logística</i>	153
5.5.2	<i>Variables que influeixen en el quocient "volum anell/volum HIC 1" en les HIC profundes</i>	154
5.5.2.1	<i>Edat i sexe</i>	154
5.5.2.2	<i>Factors de risc vascular</i>	154
5.5.2.3	<i>Manifestacions clíniques</i>	155
5.5.2.4	<i>Situació neurològica basal</i>	156
5.5.2.5	<i>Dades procedents de la TC cranial</i>	156
5.5.2.6	<i>Dades analítiques i constants</i>	157
5.5.2.7	<i>Valor de MMP-9, MMP-3, uPA i TIMP-1</i>	157
5.5.2.8	<i>Etiologia</i>	158
5.5.2.9	<i>Variables per a la regressió logística</i>	158
<b>6.</b>	<b>DISCUSSIÓ</b>	<b>160</b>
6.1	<u>Expressió de MMP-9 en l'hemorràgia intracerebral aguda espontània en humans</u>	161
6.1.1	<i>Variables relacionades amb els valors de MMP-9</i>	162
6.1.2	<i>Vies d'activació de MMP-9: expressió de MMP-3 i uPA</i>	163
6.2	<u>Relació dels valors de MMP-9 amb el desenvolupament de l'anell d'hipodensitat perihematoma</u>	166

6.2.1	<i>Variables que influeixen en la formació de l'anell. El paper del volum inicial de l'HIC</i>	166
6.2.2	<i>Variables que influeixen en el quocient "volum de l'anell/volum HIC 1"</i>	167
6.2.3	<i>Relació amb el volum de l'anell d'hipodensitat</i>	168
6.3	<u>Relació dels valors de MMP-9 o gelatinasa B amb el volum i creixement de l'hemorràgia intracerebral espontània</u>	170
6.4	<u>Relació dels valors de MMP-9 amb la situació neurològica dels malalts en fase aguda</u>	173
6.5	<u>Relació de MMP-9 amb la mortalitat i la situació funcional dels malalts als tres mesos</u>	175
6.6	<u>Paper de l'inhibidor endogen de MMP-9, TIMP-1, en aquest procés</u>	176
<b>7</b>	<b>CONCLUSIONS</b>	<b>178</b>
<b>8</b>	<b>ANNEXES</b>	<b>181</b>
8.1	<u>Annex 1. Acrònims i abreviacions</u>	182
8.2	<u>Annex 2. Protocol de recollida de dades</u>	185
8.3	<u>Annex 3. Escala de Glasgow (GCS)</u>	188
8.4	<u>Annex 4. Escala Canadenca (CSS)</u>	189
8.5	<u>Annex 5. Índex de Barthel (IB)</u>	191
8.6	<u>Annex 6. Escala de Rankin modificada (mRS)</u>	193
<b>9</b>	<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>194</b>

## ***1. INTRODUCCIÓ***

L'hemorràgia intracerebral constitueix al voltant del 10%-15% de tots els ictus. La seva aparició es relaciona amb diversos factors de risc i entitats concomitants: hipertensió arterial, angiopatia amiloide cerebral, malformacions vasculares subjacents, tumors primaris i metastàsics, arteritis, hemopaties, ús de certes drogues, hemopaties, anticoagulants orals i antiagregants, fibrinolítics, etc.

Es tracta d'una entitat amb una mortalitat elevada: d'un 30% a un 52% dels malalts moren en els primers 30 dies; la meitat d'aquestes morts es produeixen en els 3 dies posteriors a l'inici del quadre clínic. Els factors que determinen aquesta elevada mortalitat són: el volum de l'hemorràgia, la puntuació en l'escala de Glasgow a l'ingrés i el grau d'extensió intraventricular. A despit d'aquesta dada dramàtica, l'evolució funcional a llarg termini dels supervivents és relativament bona si es compara amb l'extrema gravetat d'aquest procés durant la fase aguda.

Actualment, sabem que durant la fase aguda d'aquest tipus de patologia cerebrovascular, el principal determinant de mortalitat és l'efecte massa derivat de l'extravasació de sang a l'interior del parènquima encefàlic i la formació d'edema al voltant de l'hemorràgia. Poc després de l'inici del quadre clínic, s'iniciarà una cadena de fenòmens: retracció del coàgul, extravasació de proteïnes plasmàtiques que, actuant oncòticament, seran responsables, al menys en part, del desenvolupament d'edema cerebral perilesional. És



innegable que aquest edema contribueix a l'augment de la pressió intracranial i l'efecte massa.

Si bé tradicionalment s'han dedicat grans esforços a l'estudi de l'íctus isquèmic, la investigació de la fisiopatologia i possibles línies terapèutiques en el camp de l'hemorràgia intracerebral ha estat minsa. És indubtable que aprofundir en els mecanismes bàsics que condueixen a la formació d'edema després de l'inici d'una hemorràgia cerebral i que condicionen, per tant, un pitjor pronòstic, és un camí per al posterior desenvolupament de noves estratègies terapèutiques destinades a millorar la supervivència i la morbiditat d'aquesta entitat clínica neurològica.

## ***2. REVISIÓ DE LA LITERATURA***

## **2.1 HEMORRÀGIA INTRACEREBRAL**

### ***2.1.1 Concepte i breu ressenya històrica***

L'hemorràgia intracerebral (HIC) o hematoma intraparenquimatós és una col·lecció de sang a l'interior del parènquima encefàlic produïda per la ruptura espontània, no traumàtica, d'un vas. Pot allotjar-se totalment a l'interior del teixit cerebral o bé pot obrir-se als ventricles o a l'espai subaracnoidal. En qualsevol cas, l'origen del sagnat és sempre el parènquima encefàlic i aquesta és la diferència amb altres entitats com l'hemorràgia subaracnoidal (HSA) o l'hemorràgia intraventricular pura (HIV). Des d'un punt de vista conceptual, l'hem de diferenciar de l'infart cerebral hemorràgic, la qual cosa no sempre resulta fàcil en la pràctica diària.

A grans trets, poden diferenciar-se dos grups etiològics: HIC traumàtiques i les HIC no traumàtiques o espontànies, que les classificarem en primàries i secundàries segons es demostrï la presència o no de vasos congènitament anormals (aneurismes saculars, fístules arteriovenoses, telangiectàssies, angiomes cavernosos), vasos neoformats (hemorràgia intratumoral), o vasos afectats per processos inflamatoris, infecciosos o no (vasculitis, aneurismes micòtics).

Els principals factors de risc són: l'edat (el risc es duplica amb cada dècada), la presència d'hipertensió arterial (HTA), l'alcoholisme crònic, les

malalties hepàtiques, l'ús de fàrmacs anticoagulants i antiplaquetaris i els valors alts de l'hematocrit (figura 2.1.1).

<b><u>HIC Primàries</u></b>	<b><u>HIC Secundàries (segons edat)</u></b>
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Edat</li> <li>2. Hipertensió</li> <li>3. Alcoholisme</li> <li>4. Nivells de colesterol molt baixos</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Joves <ul style="list-style-type: none"> <li>• Malformacions vasculares</li> <li>• Aneurismes</li> <li>• Drogues</li> <li>• Coagulopaties</li> </ul> </li> <li>2. Adults <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumors primaris i metastàsics</li> <li>• Coagulopaties</li> </ul> </li> <li>3. Vells <ul style="list-style-type: none"> <li>• Angiopatia amiloide cerebral</li> </ul> </li> </ol>

Figura 2.1.1. Factors de risc i etiologies més freqüents de les HIC espontànies.

L'HIC o apoplexia clàssica és coneguda com a causa d'íctus des de l'antiguitat i en el món occidental ha estat motiu d'estudi des del segle XVI. El concepte de que l'HIC era causada per l'HTA sorgí al segle XIX, tot i que no va poder confirmar-se fins els entrants del segle XX, quan s'establí formalment la determinació de la pressió arterial.

Els estudis poblacionals i el desenvolupament de registres d'íctus han permés un millor coneixement dels factors de risc que poden conduir a una HIC. L'arribada de la tomografia computeritzada (TC) a la dècada dels 70 i de la ressonància magnètica (RM) a la dels 80 ha permés un diagnòstic i seguiment de l'HIC molt més acurat.

### **2.1.2 Epidemiologia de l'hemorràgia intracerebral**

A l'era pre-TC els estudis epidemiològics es basaven únicament en dades clíniques i necròpsiques, aquestes últimes realitzades en una minoria de malalts, de tal forma que la distinció entre l'infart cerebral i l'HIC s'aconseguia només en els casos autopsiats. Així, aquests estudis van infraestimar la incidència real d'HIC al no tenir en compte petites HIC primàries que fàcilment es confonien amb infarts cerebrals. Amb posterioritat, s'ha estimat que fins un 24% dels ictus que en les sèries pre-TC s'havien diagnosticat com infarts cerebrals eren hemorràgies<sup>1</sup>.

La incidència anual ajustada per l'edat varia des del 11 al 31 per 100.000 habitants quan la població de referència és predominantment caucàsica i l'ús de la TC pel diagnòstic molt més elevat<sup>2,3</sup>. El risc d'HIC en la població negra és 1.4 vegades més elevat que en els blancs<sup>4</sup>. Alguns treballs han comunicat incidències més elevades al Japó i la Xina (51-73 x 100.000 habitants) tot i que el diagnòstic no es dugué a terme mitjançant TC<sup>5,6</sup>. Un estudi recent de l'Equador demostrà que la incidència d'HIC, referida al total d'ictus, entre la població hispànica d'aquest país era tan elevada com l'observada al Japó<sup>7</sup>. Igualment, també s'ha observat una incidència marcadament elevada als països europeus menys desenvolupats<sup>8</sup>.

S'ha demostrat que en una mateixa àrea geogràfica existeixen diferències significatives en la incidència d'HIC entre els diversos grups racials

que hi conviuen. La incidència d'HIC, ajustada per edat i sexe, fou 1.4 vegades superior pels afro-americans que pels caucàsics a l'estudi del grup de Cincinnati. Si es consideraven els pacients de menys de 75 anys la incidència d'HIC arribava a ser 2.3 vegades més elevada als afro-americans<sup>4</sup>. Els mecanismes que explicarien aquestes variacions interracials tan àmplies són encara desconeguts. Tot i que la raça podria ser un factor de risc, altres condicions com el control de la PA, la dieta i els condicionants socioeconòmics són, probablement, de gran importància a l'hora d'explicar aquestes diferències. Això últim es demostra en l'estudi sobre població masculina japonesa resident a Hawaii i Califòrnia en el que la incidència d'HIC es redueix en un terç en comparar-la amb els seus compatriotes residents al Japó<sup>9</sup>.

Al nostre país existeixen pocs estudis sobre l'epidemiologia de la malaltia cerebrovascular. Entre els estudis d'incidència, el primer es publicà al 1993 i analitzà la incidència d'ictus en adults joves (edat inferior als 50 anys)<sup>10</sup>. Es realitzà a la Comunitat de Cantàbria i va durar 2 anys. La taxa d'incidència crua anual fou de 13,9 x 100.000 habitants en el grup d'edats compreses entre els 11 i els 50 anys i del 12 x 100.000 habitants en el grup d'edats entre 16-45 anys. L'HIC espontània representà el 27% del total dels casos. El segon treball<sup>11</sup> es publicà al 95 i analitzà la incidència d'ictus i atacs isquèmics transitoris en una població rural de Girona. En aquest treball no es distingeix entre ictus isquèmics i hemorràgics.

Un treball del grup de Santiago de Compostela analitzà la morbi-mortalitat relacionada amb l'HIC<sup>12</sup>. La mortalitat d'aquesta entitat es situà al voltant del 23%, menor que la publicada per altres grups, sense trobar diferències significatives en relació amb l'edat. Pel que fa a la recuperació funcional, en el moment de l'alta el 35,8% eren independents (Rankin 0-1), el 50,6% eren parcialment dependents (Rankin 2-3) i el 13,4% totalment dependents (Rankin 4-5). Els malalts independents al moment de l'alta eren significativament més joves. Entre les dades analítiques, la hiperglucèmia a l'ingrés fou l'única variable que es relacionà significativament amb un major grau de dependència a l'alta. Finalment, el tamany de l'hematoma fou l'única dada de la neuroimatge que es relacionà amb el pronòstic.

### 2.1.2.1 Factors de Risc

#### ► **Hipertensió arterial**

La hipertensió arterial (HTA) representa el factor de risc més important per l'HIC. La presència d'HTA en sèries d'HIC varia àmpliament; des del 40% al 89%<sup>13</sup>. Aquestes variacions s'expliquen per l'ús de diversos criteris diagnòstics d'HTA i diferències en la prevalença d'aquesta malaltia en diverses poblacions. L'HTA crònica produeix canvis histològics arterials com la lipohialinosi, la necrosi fibrinoide i la degeneració de la mitja que afecta especialment les artèries perforants de l'encèfal, la qual cosa fa a aquests vasos més susceptibles de trencar-se. Es per això, que les HIC de localització al putamen, tàlem, protuberància i cerebel són freqüentment anomenades HIC hipertensives, tot i

que estudis més recents suggereixen que el paper de l'HTA és menys obvi del que es pensa (figura 2.1.2).

Les elevacions agudes de la PA també poden donar lloc a HIC. En aquests pacients, generalment sense condicionants previs, la funció autoregulatora no s'ajusta a l'augment bruscat de PA al contrari d'aquells amb HTA crònica, en els que el llit arteriolar s'ha ajustat tant funcionalment com estructuralment. L'augment bruscat de PA seria la causa de les HIC que es produeixen en relació temporal amb l'ingesta de substàncies simpaticomimètiques<sup>14</sup>, l'exposició al fred<sup>15</sup>, post-endarterectomia carotídea, l'estimulació del trigemin<sup>16</sup>, la cirurgia neuroquirúrgica, el cateterisme cardíac amb administració d'ergonovina, la picada d'un escorpí i la teràpia electroconvulsiva.

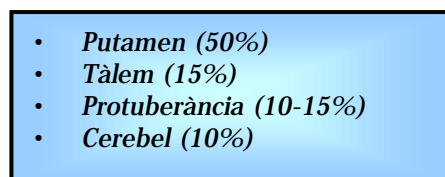
- 
- *Putamen (50%)*
  - *Tàlem (15%)*
  - *Protuberància (10-15%)*
  - *Cerebel (10%)*

Figura 2.1.2. Localitzacions més freqüents de les HIC espontànies primàries.

### ► Alcohol

El consum d'alcohol s'ha relacionat amb un risc incrementat d'HIC, tot i que això ha estat menys estudiat que la relació que aquest tòxic té amb l'íctus isquèmic<sup>17</sup>. Al "Honolulu Heart Program" el risc d'HIC era 2,0; 2,0 i 2,4 cops superior en aquells individus bevedors lleugers, moderats i severs,



respectivament, després d'ajustar per altres factors de risc<sup>18</sup>. Un altre estudi sobre població activa va mostrar que la consumició diària de 3 o més vasos d'alcohol es relacionava amb taxes d'hospitalització per ictus hemorràgic més elevades<sup>19</sup>.

Els estudis realitzats des de la introducció de la TC cranial per a l'estudi de la malaltia cerebrovascular han recolzat el paper de l'alcohol com a factor de risc independent per al desenvolupament d'una HIC. Tant la ingesta crònica d'aquest tòxic com l'aguda (entre les 24 hores i els 7 dies previs) hi estan clarament relacionades<sup>20</sup>. Però també trobem a la literatura dades que recolzen un cert paper protector per a la ingesta de petites quantitats d'alcohol.

Els mecanismes que s'han imputat en aquesta relació alcohol-HIC han estat: increments aguts de la pressió arterial tant en l'exposició aguda com en l'abstinència alcohòlica, i certs efectes sobre la coagulació i les plaquetes<sup>21</sup>. Les HIC relacionades amb l'alcohol, tot i que sense haver estat estudiades en profunditat, són freqüentment grans i lobars<sup>22</sup>.

#### ► **Tabac**

La relació entre el tabac i l'HIC no està tan ben establerta com la que existeix entre tabac i ictus isquèmic i tabac i hemorràgia subaracnoidal (HSA). Molts d'aquests estudis, que no es basaven en la tomografia pel diagnòstic, agruparen l'HIC i l'HSA dins el mateix paquet: ictus hemorràgic. Una revisió dels

estudis en HIC més recents no ha mostrat una associació positiva entre tabac i el risc d'HIC<sup>23</sup>.

### ► **Colesterol**

Els nivells baixos de colesterol (<160 mg/dl) s'han relacionat amb un risc d'HIC incrementat a la població japonesa, després d'ajustar per altres factors de risc<sup>24</sup>. Evidències d'aquesta relació les trobem també al MRFIT (Multiple Risk Factor Intervention Trial), tot i que aquest estudi va posar de relleu la interacció entre els nivells baixos de colesterol i la hipertensió diastòlica. Es va suggerir que la hipocolesterolèmia actuaria debilitant l'endoteli de les petites artèries i que, en presència d'HTA, això podria desembocar en una HIC<sup>25</sup>.

### **2.1.3 Etiologia**

A continuació s'exposen, breument, els diferents processos i malalties que poden conduir al desenvolupament d'una HIC. Alguns d'ells constitueixen causa i factor de risc. En aquest cas, caldrà remetre's a l'apartat previ (2.1.2 Epidemiologia i Factors de Risc).

#### **2.1.3.1 Hipertensió arterial (HTA)**

Remetre's a l'apartat 2.1.2.1.

### 2.1.3.2 Angiopatia Amiloide Cerebral (AAC)

L'AAC és una arteriopatia per dipòsit de material amiloide a les parets de les artèries de petit i mig diàmetre de l'escorça cerebral i de les leptomeninges (figures 2.1.3 i 2.1.4). La seva freqüència augmenta molt amb l'edat; d'un 5%-8% en persones d'entre 60-69 anys, del 23% al 43% en la dècada dels 70 i quasi un 60% en els més vells<sup>26</sup>. L'AAC s'expressa, principalment, i des d'un punt de vista clínic, en forma d'HIC i, a la inversa, l'AAC és un dels processos que més freqüentment origina HIC en persones majors de 70 anys.

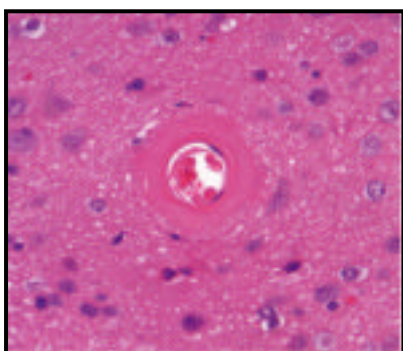


Figura 2.1.3. Hematoxilina-eosina.

L'amiloide es tenyeix de rosa.

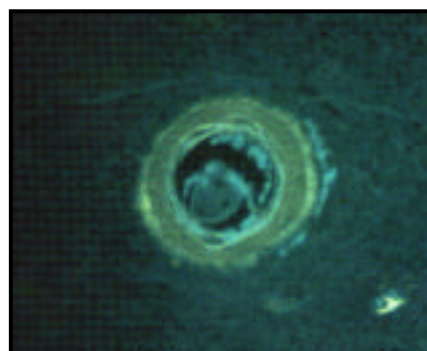


Figura 2.1.4. Microscopia fluorescent.

L'amiloide es tenyeix de groc.

La localització de les HIC secundàries a AAC és característicament lobar. Per contra, les HIC de localització subcortical profunda, al tronc i al cerebel, relacionades amb aquesta entitat són excepcionals. És freqüent que aquestes HIC lobars tinguin una extensió subaracnoidal, donant un aspecte característic a aquestes hemorràgies. Els diferents lòbuls s'afecten de manera similar en aquest procés i és relativament freqüent la presència d'HIC múltiples i espontànies<sup>27</sup>. Una altra característica clínica rellevant d'aquesta malaltia és

l'alta tendència a la recurrència, que és superior a la que existeix en HIC d'altres orígens<sup>28</sup> (figures 2.1.5 A i 2.1.5 B).

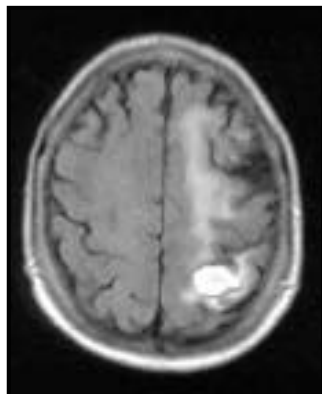


Figura 2.1.5. A

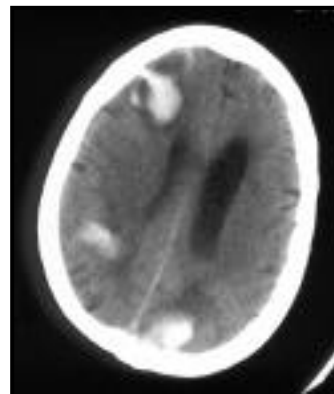


Figura 2.1.5. B

Figura 2.1.5 A: Agost 1998. Imatge RM d'una HIC parietal posterior esquerra i dipòsits d'hemosiderina subaracnoidal. Figura 2.1.5 B: Desembre de 1999. La pacient ingressa per una HIC parietal dreta. Pocs dies després presenta un empitjorament neurològic. La imatge per TC mostra l'aparició de noves lesions hemorràgiques.

Algunes formes d'AAC tenen una forta empremta genètica. Són les AAC islandesa (Ic-AAC) i l'holandesa (Du-AAC) que tenen una herència autossòmica<sup>29</sup>. En la forma Ic-AAC les HIC tenen tendència a produir-se entre els 30 i els 50 anys, mentre que a la Du-AAC tenen lloc, principalment entre els 50 i els 70 anys.

### 2.1.3.3 Malformacions Vasculars (MV) i Aneurismes

Les MV són una causa freqüent d'HIC no hipertensiva, sobretot en subjectes joves. En un estudi d'HIC en subjectes entre 15 i 45 anys, Toffol et

al.<sup>30</sup> trobaren que les MV n'eren les responsables en 21/55 malalts (38%), concluent que les MV són, probablement, la causa més freqüent d'hematomes espontanis en aquest grup d'edat. Un treball més recent realitzat a Alemanya aporta dades similars<sup>31</sup>. Aquestes HIC poden tenir localitzacions diverses, però existeix un cert predomini de la localització lobar sobre la de ganglis basals. Les MV poden classificar-se en malformacions arteriovenoses vasculares (MAV) pials, MAV durals, angiomes cavernosos o cavernomes, angiomes venosos i telangiectàsies.

Les MAV pials tenen una localització supratentorial en el 90% de les vegades, parietals més freqüentment. Es calcula que són l'origen d'una HIC en un 70% dels casos (és excepcional la HSA), sobretot en gent menor de 45 anys.

Les MAV durals reben les seves suplències arterials de branques meníngees de l'artèria caròtida externa, caròtida interna o artèries vertebrals, i els seus drenatges venosos a través de sinus venosos durals i venes pials. Les MAV durals es compliquen amb HIC menys freqüentment que les pials (15%) i es localitzen a la fossa anterior o a la convexitat cerebral.

Els cavernomes són MV generalment de mida petita (<2 cm), que passen freqüentment desapercebuts per angiografia. Això va fer que en temps passats,

pre-RM, s'hi referissin com HIC de causa oculta o criptogènica. En l'actualitat, la introducció de la RM ha permès millorar-ne el diagnòstic "in vivo". Uns 2/3 d'aquestes tenen una localització supratentorial preferentment al lòbul temporal. Les lesions són múltiples fins en 1/3 dels casos i poden presentar-se agrupadament en una mateixa família<sup>32</sup>. Les formes de presentació clínica són les HIC, les crisis comicials i els dèficits neurològics progressius.

Els angiomes venosos són troballes incidentals freqüentment després de la realització d'una TC amb contrast o d'una autòpsia. El risc de sagnat és baix i, tot i que hi ha casos reportats, aquestes HIC podrien ser degudes a la presència concomitant d'angiomes cavernosos<sup>33</sup>.

El trencament d'un aneurisma intracranial clàssicament dona lloc a una hemorràgia subaracnoidal (HSA), però en sèries clíniques, fins un 40% d'aquestes formacions vasculars s'associen a hematomes parenquimatosos<sup>34</sup>. Les troballes de la neuroimatge que ens han de fer sospitar la presència d'un aneurisma són, bàsicament, la localització poc comuna de l'HIC, per exemple al lòbul frontal basal i/o medial, al lòbul temporal mig i combinacions d'aquestes dues, i la presència de sang subaracnoidal sense invasió ventricular. Clínicament, l'inici és més brusc que a l'HIC i el símptoma clínic fonamental és la cefalea.

#### 2.1.3.4 Tractament anticoagulant, antiagregant i trombolític

##### ► Anticoagulants

Les HIC són una de les complicacions més devastadores del tractament anticoagulant originant una mortalitat del 60% aproximadament<sup>35</sup>. En les sèries clíniques d'HIC, entre el 9% i el 14% estan relacionades amb anticoagulants. Més del 80% de les hemorràgies relacionades amb anticoagulants es situen al sistema nerviós central de les quals, el 70% són parenquimatoses. La presència d'una arteriopatia de base constituirà un factor predisponent a les HIC en aquests malalts. Altres factors ben establerts que augmenten el risc d'HIC en subjectes anticoagulats són: l'edat avançada, el grau d'anticoagulació, la presència de malaltia cerebrovascular prèvia i l'HTA (sobretot sistòlica)<sup>35</sup>. La fibrilació auricular, la diabetes, l'inici recent de l'anticoagulació i l'ús concomitant d'antiagregants es mencionen ocasionalment. La interacció entre els factors del pacient i el grau d'anticoagulació per tal de predir-ne el risc de sagnat és complexa. Malgrat això, la majoria de treballs semblen estar d'acord en que l'increment del risc és proporcional al grau d'anticoagulació<sup>36,37</sup>. Paradoxalment, el grau d'anticoagulació mesurat segons l'INR de l'ingrés no sembla estar relacionat ni amb el pronòstic funcional ni amb la mortalitat hospitalària de les HIC relacionades amb anticoagulants orals<sup>38</sup>.

Des d'un punt de vista clínic, les HIC relacionades amb anticoagulació solen ser més grans, la qual cosa es relaciona amb una major mortalitat (60-

65%). La distribució de les HIC és similar a la que s'observa en les HIC primàries.

Les HIC associades al tractament amb heparina són menys freqüents i s'observen, sobretot en aquells malalts amb infarts cerebrals que en fase aguda reben tractament anticoagulant amb heparina<sup>39</sup> o en pacients hemodialitzats. L'HIC sol produir-se en les 24-48 hores posteriors a l'inici del tractament amb heparina. El risc d'HIC en malalts heparinitzats per altres indicacions (trombosi de venes profundes, embòlia pulmonar, etc) és petit.

### ► **Antiagregants**

Les HIC associades al tractament antiagregant són menys freqüents que les complicacions gastrointestinals. Els agents antitrombòtics, usats extensament pel tractament i prevenció secundària de l'íctus, a més d'inhibir el procés trombòtic també incrementen el risc d'HIC. Tot i que els beneficis de l'aspirina, en pacients amb un risc vascular elevat, sobrepassen àmpliament el risc d'hemorràgia<sup>40,41</sup>, aquesta apareix en 1 de cada 1000 pacients antiagregats<sup>42</sup>. Com a resultat d'aquestes dades, s'ha suggerit que els pacients amb un alt risc de patir una HIC, com els asiàtics, hipertensos i amb nivells molt baixos de colesterol, no haurien de rebre tractament antiagregant<sup>43</sup>.



Un treball molt recent<sup>44</sup> ha descrit les característiques clíniques i radiològiques de les HIC relacionades amb l'ús d'aspirina. La localització d'aquestes HIC difereix significativament de les que presenten els malalts que no reben aspirina i, així, s'observa una major proporció de sagnats de localització lobar (32% en front d'un 10%). Els autors relacionen aquest fet amb la major edat dels pacients en el grup que prenia aspirina i la major freqüència d'AAC en aquest grup d'edat. Així, als supervivents de les HIC relacionades amb l'antiagregació se'ls va realitzar una RM amb seqüències gradient-echo que demostraren la presència d'hemosiderina en tots els casos que van desenvolupar una HIC. A més, aquests dipòsits d'hemosiderina es varen localitzar en àrees diferents a l'HIC prèvia. Altres diferències significatives entre els dos grups foren la presència d'HTA i malaltia cerebrovascular i cardiovascular prèvia, més elevada en el grup que havia rebut aspirina.

### ► Trombolítics

La teràpia trombolítica, ben establerta en el tractament de l'infart agut de miocardi, i acceptada als Estats Units pel tractament de l'infart cerebral en fase hiperaguda (3 hores des de l'inici), pot produir també HIC. Les dades obtingudes de diversos assajos i sèries clíniques posen de manifest que l'ús de trombolítics pel tractament de l'infart de miocardi, tot i que petit, té un risc consistent d'HIC. Les freqüències d'HIC per l'estreptokinassa són 0,1% a 0,8%<sup>45,46</sup> i per l'activador recombinant del plasminogen tissular 0,3% a 0,9%<sup>47</sup>.

En una anàlisi de regressió logística múltiple basada en dades procedents de diversos assajos clínics, Simoons et al.<sup>48</sup> van suggerir que hi ha 4 variables predictores del risc de desenvolupar HIC en aquests malalts: l'edat avançada (>65 anys), el baix pes (<70 Kg), la presència d'HTA (PAs >170 i/o PAd >95) i el tractament amb rt-PA.

Les característiques clíniques d'aquestes HIC relacionades amb la fibrinolisi són l'inici i la progressió ràpides de la simptomatologia, la presència d'alteracions del nivell de consciència, molt freqüents, i l'elevada mortalitat (44% al 80%). La localització és predominantment lobar (70%-90%) i fins un terç dels casos són HIC múltiples.

S'han proposat diverses explicacions per aquesta relació entre el tractament trombolític i les HIC però poques han estat contrastades amb estudis autòpsics. Existeix una forta evidència de que l'AAC podria ser un factor determinant ja que ha estat demostrada la seva presència en material quirúrgic. La localització lobar, la multiplicitat d'algunes d'aquestes HIC i l'augment del risc amb l'edat són altres dades que suggereixen l'important paper de l'AAC en aquestes HIC. Un treball molt recent ha examinat el problema en els pacients més ancians<sup>49</sup>. L'HIC es va presentar en 1,43% dels casos (455/31.732) i en un model de regressió logística les variables que es van mostrar més relacionades foren: edat igual o superior als 75 anys, sexe femení, raça negra, ictus previ,

PA igual o superior a 160 mm Hg, rTPA (enfront altres agents fibrinolítics), anticoagulació excessiva (INR igual o superior a 4) i un pes igual o inferior als 65 Kg per a les dones i 80 Kg per als homes. L'escala de risc estratificada mostrarà que la presència de 0 o 1 d'aquests factors es relacionava amb 0,69% d'HIC; amb 2 factors la taxa era 1,02%; amb 3 factors 1,63%; amb 4 factors 2,49% i amb 5 o més factors 4,11%.

#### 2.1.3.5 Simpaticomimètics

L'ús d'amfetamines, cocaïna, heroïna, fenilpropanolamina, pseudoefedrina, quimopapaina, anorexígens i descongestionants nasals és una causa important d'ictus, especialment hemorràgics, en gent jove. S'han proposat diferents explicacions<sup>50</sup>: les elevacions brusques de la PA i la vasoconstricció produïda per la cocaïna i la fenilpropanolamina, que predisposaria al sagnat després de la reperfussió del vas isquèmic<sup>51</sup>. Cal contemplar la possibilitat que l'ús d'aquestes drogues produeixi HIC per ruptura de MAV o aneurismes subjacents.

#### 2.1.3.6 Vasculitis Infeccioses

Diverses infeccions bacterianes, fúngiques i virals poden originar HIC. Els embolismes sèptics, més freqüents en les endocarditis bacterianes, o bé la disseminació a la paret vascular directament des de les meninges, pot

complicar-se amb l'aparició d'una HIC. Els mecanismes implicats són: l'arteritis piògena amb erosió de la paret del vas, la transformació hemorràgica d'un infart cerebral per embolisme sèptic i els aneurismes micòtics<sup>52</sup>.

Els fongs més freqüentment implicats en HIC són l'*Aspergillus fumigatus*, el *Petriellidium bodyii*, la *Candida albicans* i el *Coccidioides immitis*. Les característiques clíniques inclouen: meningitis coexistent, procediments neuroquirúrgics recents, signes d'infecció paranasal, ús de drogues immunosupressores i un pronòstic fatal<sup>53</sup>.

Les infeccions víriques són una causa rara d'HIC. S'han reportat alguns casos d'HIC en infeccions pel virus de l'herpes zoster i el desenvolupament d'HIC múltiples en infeccions per l'HTLV-1. La infecció per l'HIV també pot complicar-se amb l'aparició d'hematomes cerebrals.

#### 2.1.3.7 Vasculitis no infeccioses

L'angeítis granulomatosa del SNC pot donar lloc a una HIC, però és més freqüent que origini infarts cerebrals. La poliarteritis nodosa (PAN) és una altra de les arteritis que pot complicar-se amb l'aparició d'HIC. Habitualment, el diagnòstic de l'entitat ja està fet en els casos que posteriorment es compliquen amb hemorràgies cerebrals. Aquestes es relacionen amb la ruptura de petites

arterioles afectades per l'arteritis necrotitzant o l'HTA, molt prevalent en aquesta malaltia<sup>54</sup>.

#### 2.1.3.8 Tumors

Les hemorràgies en el si d'un tumor cerebral són una complicació rara (1.3%)<sup>55</sup>. En les sèries d'HIC la causa tumoral està implicada en un 6-10% dels casos. Els tumors que més freqüentment es compliquen amb HIC són: el glioblastoma multiforme i les metàstasis cerebrals (melanoma, carcinoma broncogènic, hipernefoma i coriocarcinoma). El sagnat en el si d'altres tumors és molt poc freqüent, a excepció dels adenomes hipofisaris que es compliquen amb hemorràgies intratumorals en el 16% dels casos<sup>55</sup>.

Aquestes hemorràgies es relacionen amb la ruptura de vasos tumorals anòmals o amb fenòmens necròtics intratumorals. Poden suposar un empitjorament brusc en malalts prèviament diagnosticats o bé ésser la primera manifestació clínica.

#### 2.1.3.9 Malaltia de Moya-Moya

Aquest terme fa referència a una síndrome angiogràfica que comprén la presència d'estenosis uni o bilaterals o oclusió dels extrems distals de la caròtida interna i de les parts proximals de les seves branques intracranials. El

desenvolupament d'HIC és més freqüent en el Moya-Moya dels adults i la localització d'aquestes HIC és típicament profunda<sup>56</sup>.

#### 2.1.3.10 Traumatismes i Hemorràgia Postraumàtica Retardada (Spät-apoplexie)

Les hemorràgies intra i extracerebrals són complicacions ben conegudes dels traumatismes cranials. Quan aquests són d'intensitat severa habitualment s'associen a lesió axonal difusa, contusions, hematomes intracranials extracerebrals, hemorràgies intraventriculars i subaracnoidees.

Al compartiment supratentorial els hematomes traumàtics afecten tot sovint al lòbul temporal, característicament la regió íferomedial. Amb menor freqüència l'HIC es localitza als lòbuls frontals i, en aquest cas, l'àrea basal és la més afectada. Els hematomes traumàtics localitzats als ganglis basals s'han comunicat en un 3% de traumatismes cranials severos. En aquest cas el mecanisme imputat seria la lesió de les artèries lenticuloestriades i coroidals anteriors com a resultat de les forces d'acceleració/desacceleració<sup>57</sup>. La localització primària al tronc encefàlic és molt infreqüent, a excepció de les hemorràgies de Duret, secundàries a lesions supratentorials que originen herniació transtentorial.

L'hemorràgia postraumàtica retardada o Spät-apoplexie és una HIC que es desenvolupa després d'un traumatisme cranial i amb un període o interval

lliure de símptomes/signes i una TC inicial normal. Aquest període de latència és de 24 hores a diversos dies, amb una mitja de 5 dies<sup>58</sup>. No cal que el traumatisme sigui molt intens però sí que s'associï a un cert grau de lesió axonal difusa. La localització de l'HIC pot ser lobar o profunda. Els mecanismes patogènics no han estat esbrinats completament, però s'han proposat diverses hipòtesis: 1) necrosi del parènquima i de petites artèries per vasospasme traumàtic, 2) alliberació de substàncies trombogèniques que causarien coagulació intravascular localitzada i la subsegüent fibrinolisi, 3) pèrdua local d'autoregulació i 4) congestió venosa.

#### 2.1.3.11 Altres causes

Veure figura 2.1.6.

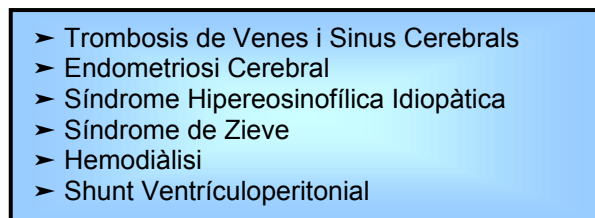
- 
- Trombosis de Venes i Sinus Cerebrals
  - Endometriosi Cerebral
  - Síndrome Hipereosinofílica Idiopàtica
  - Síndrome de Zieve
  - Hemodiàlisi
  - Shunt Ventrículoperitoneal

Figura 2.1.6. Altres causes potencials d'hemorràgies intracerebrals.

### **2.1.4 Manifestacions Clíniques**

#### 2.1.4.1 Forma d'inici

Més del 90% dels casos debuten amb símptomes focals resultants de la disfunció neurològica produïda per la destrucció/disfunció neuronal al punt del

sagnat. En un 66% de casos els símptomes progressen en els 10-30 primers minuts com a resultat del creixement de l'hematoma. En el 33% restant, els símptomes són màxims ja a l'inici. Les HIC habitualment comencen durant el dia, quan es desenvolupen les activitats diàries ordinàries, essent molt infreqüent l'inici durant el son.

La presentació en forma d'AITs no és típica de les HIC però s'han comunicat alguns casos<sup>59</sup> que podrien representar lesions isquèmiques amb una posterior transformació hemorràgica o crisis comicials relacionades amb alguna estructura vascular anòmala subjacent (MV, AAC) que originaria posteriorment l'HIC.

Tradicionalment, s'havia cregut que el sagnat en una HIC era de curs monofàsic. Però diversos treballs basats en TC han demostrat que l'hematoma pot seguir creixent en les primeres 24 hores després de l'inici<sup>60,61</sup>.

#### 2.1.4.2 Alteració del nivell de consciència

La proporció de malalts que en arribar a urgències presenten un nivell de consciència deprimat varia segons el temps d'arribada dels pacients, però en sèries àmplies de la literatura, d'un 22% a un 50% de tots els malalts amb HIC arriben conscients. En les HIC supratentorials, així com en les cerebel·loses, el factor clau, a l'hora de determinar el nivell de consciència, és la grandària de l'hematoma.



#### 2.1.4.3 Cefalea

En l'era pre-TC, la cefalea (conjuntament amb els vòmits i la disminució del nivell de consciència) era el símptoma guia que permetia orientar el diagnòstic d'HIC. Estudis més recents han mostrat que la cefalea és present en menys de la meitat dels casos<sup>62</sup> (36% al 41%), essent present, sobretot, a les HIC supratentorials lobars i a les cerebel·loses. Per contra, les petites HIC parenquimatoses no solen acompanyar-se de símptomes àlgics.

El parènquima cerebral no conté terminacions nervioses sensibles, per tant l'origen del dolor s'ha de buscar en altres estructures; habitualment la tracció mecànica de vasos extracerebrals, la distorsió d'estructures meníngees sensibles al dolor o certs productes hemàtics poden activar el sistema trigèminovascular a la base cranial.

#### 2.1.4.4 Vòmits

Els vòmits són un signe freqüent tant a les HIC com als infarts cerebrals del territori posterior que, amb major facilitat, estimulen les vies vestibulars i el centre del vòmit, localitzat al terra del IV ventricle. A les HIC supratentorials, els vòmits es produeixen com a resultat de l'augment de la pressió intracranial o l'extensió de l'HIC als ventricles.

#### 2.1.4.5 *Crisis comicials*

En la fase aguda d'una HIC, les crisis poden estar presents fins en un 15% dels casos<sup>63</sup>. Són més freqüentment focals que generalitzades i, en molts casos, són d'aparició puntual, presentant-se només a l'inici de l'HIC. Estan quasi exclusivament relacionades amb les HIC supratentorials: poden estar presents en un 16%-30% d'HIC lobars i en un 4%-8% d'hematomes del caudat i putamen<sup>64</sup>. Malgrat que el desenvolupament de crisis a l'inici no està relacionat amb un pitjor pronòstic, ni vital ni funcional, sí que augmenta el risc d'epilèpsia secundària<sup>65</sup>.

#### **2.1.4.6 Augment de la temperatura corporal**

L'augment de la temperatura corporal pot veure's en HIC supratentorials i protuberancials en absència d'infecció o desordres sistèmics. Aquesta hipertèrmia s'ha relacionat directament amb l'estimulació del centre termoregulador hipotalàmic i indirectament amb l'extensió de l'hemorràgia al tercer ventricle.

#### **2.1.5 Diagnòstic**

L'anamnesi, com en qualsevol altra patologia, és l'eina fonamental de qualsevol clínic. Haurà de tenir especialment en compte aspectes com la presència de certs antecedents personals: HTA, ús d'anticoagulants orals, antiagregants, drogues o fàrmacs amb activitat simpaticomimètica (descongestionants nasals, píndoles per aprimar-se, etc), malalties sistèmiques (tumors malignes, vasculitis, malalties hematològiques).

L'exploració general i neurològica (que posarà en evidència l'existència de focalitats neurològiques, alteració del nivell de consciència, etc) haurà de tenir en compte aspectes bàsics com la determinació de la PA, temperatura i glucèmia. La búsqueda d'hemorràgies subhialoidees i angiomes retinians, que s'associen a les malformacions arteriovenoses, pot ser d'ajuda a l'hora d'establir el diagnòstic etiològic.

S'hauran de realitzar les exploracions complementàries bàsiques: analítica, radiografia simple de tòrax i ECG. L'analítica ha d'incloure un hemograma complet, perfil de coagulació, funció hepàtica i renal, ionograma i screening de certes drogues (sobretot en gent més jove amb el diagnòstic d'HIC).

### **2.1.5.1 Hemorràgia intracerebral i Neuroimatge**

#### ***2.1.5.1.1 La Tomografia Computeritzada en l'estudi de l'hemorràgia intracerebral***

La TC cranial sense contrast és el mètode de neuroimatge d'elecció en el diagnòstic de les HIC agudes ja que ens permet el diagnòstic nosològic, calcular el tamany de l'hemorràgia, veure si existeix invasió dels ventricles cerebrals o extensió subaracnoidea i en alguns casos pot suggerir-ne l'etiologia. Però probablement el factor que determina el seu ús en el malalt neurovascular agut és el fet de ser la tècnica de neuroimatge més a l'abast, disponible en la

majoria de centres hospitalaris, i la de major tradició en el maneig d'aquests malalts.

La TC cranial pot oferir les claus pel diagnòstic etiològic en alguns casos d'HIC. La presència de sang en certs compartiments cerebrals, la localització de l'hemorràgia, la presència de calcificacions, estructures vasculars dilatades o lesions expansives poden ser de gran ajuda a l'hora d'establir o orientar la causa subjacent. Així, la presència de sang a l'espai subaracnoidal sense relació amb un traumatisme previ és altament sospitosa d'un aneurisma subjacent. Fins el 85% d'HSA no traumàtiques són d'origen aneurismàtic. La majoria d'aneurismes es localitzen al Polígon de Willis i les seves branques. Si la TC detecta una HSA el més probable és que l'aneurisma estigui localitzat allà on existeix una major concentració de sang. Altres lesions estructurals que poden ser origen d'una HIC com les MAVs, fístules durals, angiomes cavernosos i tumors són més difícils de diagnosticar en la fase aguda de l'HIC i habitualment es requeriran altres tècniques complementàries. Més pràctic resulta el destacar alguns conceptes sobre l'HIC hipertensiva, una de les causes més freqüents de sagnats intraparenquimatosos en l'adult. Aquestes HIC freqüentment assenten en el territori de les artèries perforants dependents de les artèries cerebral mitja, cerebral posterior i basilar. Aproximadament dos terços d'aquestes HIC es localitzen als ganglis basals, el 15-25% al tàlem, el 5-10% a la protuberància i el 2-5% al cerebel<sup>66</sup>. Les HIC hipertensives de localització lobar són menys freqüents i difícils de diferenciar d'aquelles que tenen lloc en l'AAC i les MAVs.

Resulta interessant destacar el fet que la TC cranial simple permet la mesura del volum de l'HIC. Aquesta possibilitat, emprada en multitud d'estudis, ens l'ofereix també la ressonància magnètica però la major disponibilitat de la tomografia ha fet que aquesta sigui la tècnica usada majoritàriament pel càlcul del volum de l'hematoma. Així, el volum de l'hematoma es mesura mitjançant la següent fórmula:  $A \times B \times C \times 0.5$ , on A i B són els majors diàmetres perpendiculars de l'HIC i C és el nombre de talls tomogràfics on s'observa l'hemorràgia (suposant que siguin talls de 10 mm de gruix).

#### *2.1.5.1.2 Paper de la Ressonància Magnètica (RM) cranial en l'estudi de l'hemorràgia intracerebral*

Tot i que en dècades passades la detecció d'HIC hiperagudes per RM no havia suscitat gaire interès, la introducció de la fibrinolisi pel tractament de l'íctus isquèmic agut i les noves tècniques de RM (difusió i perfusió) aplicades a l'estudi de l'infart cerebral en aquesta fase, han aportat nous coneixements. La possibilitat de desenvolupar hemorràgies cerebrals com a complicació derivada d'aquestes noves teràpies i la necessitat d'un diagnòstic precoç han fet que el paper de la RM en l'estudi de l'íctus hiperagut assoleixi un gran interès.

Actualment, és de tots acceptada la possibilitat de practicar RMs en pacients amb una HIC aguda. La intensitat característica del senyal per RM (hipointensitat) s'atribueix als productes del metabolisme del ferro i a la integritat dels hematies<sup>67</sup>. Altres han suggerit que la formació i retracció del

coàgul<sup>68</sup> i la concentració intracel.lular de proteïnes<sup>69</sup> podrien jugar algun paper en la generació d'aquest senyal.

Atlas et al.<sup>70</sup> investigaren l'aparença de les HIC hiperagudes en 7 casos estudiats mitjançant RM (1.5 T). Per a una millor comprensió del mecanisme subjacent a aquestes troballes radiològiques, prèviament havien establert un model animal (rata) d'hemorràgia cerebral per tal de conèixer la forma bioquímica i la distribució histològica del ferro durant la fase hiperaguda de l'HIC. Així, l'anell o rivet hipointens que mostra la RM d'una HIC, provindria de la ràpida desoxigenació de l'hemoglobina en els hematies més perifèrics. Aquest fet bioquímic succeeix en una direcció determinada; des de la periferia cap a l'interior de l'hematoma. A mesura que el temps passa, la desoxigenació s'extén fins a l'interior de la col.lecció hemàtica produint l'aparença per RM característica ja descrita per les HIC agudes.

Malgrat haver-se demostrat la utilitat de la RM en la fase aguda, certament aquesta tècnica no aporta gaires avantatges respecte la TC si només tenim en compte el diagnòstic de l'entitat. Tot i aquest hàndicap, la RM i l'Angio-RM són especialment útils en la identificació de les causes subjacents (MAV, tumors, aneurismes), és a dir, en l'estudi de les HIC secundàries.

#### 2.1.5.2 L'Arteriografia cerebral

Malgrat l'aparició de noves tècniques de neuroimatge (angio-TC i angio-RM) l'arteriografia convencional segueix essent considerada la prova d'or pel diagnòstic de les lesions vasculars subjacents, que cal investigar com a origen de l'HIC. Degut a que es tracta d'una exploració invasiva que, en ocasions, pot donar lloc a complicacions serioses<sup>71</sup>, caldrà analitzar acuradament la relació risc/benefici de forma individualitzada.

La localització de l'HIC, l'edat del pacient i la presència d'HTA preexistent han estat considerades, clàssicament, factors determinants de la probabilitat de trobar anomalies vasculars subjacents per arteriografia cerebral en les HIC espontànies. Tot i això, la forma com aquests tres factors afecten la indicació d'aquesta exploració complementària segueix essent controvertida i pocs treballs han intentat aclarir-ho. Zhu et al.<sup>72</sup> han aportat una de les sèries angiogràfiques per l'estudi etiològic de l'HIC més extenses. En aquest treball tant l'edat com la presència d'HTA prèvia van mostrar una correlació negativa i independent amb el rendiment de l'arteriografia; és a dir, en els malalts d'edat superior als 45 anys i/o amb antecedents d'HTA crònica, el benefici de practicar una arteriografia convencional era molt inferior, i estadísticament significatiu, al que s'obtenia quan l'exploració es realitzava en malalts d'edat inferior als 45 anys i/o sense antecedent d'HTA. Malgrat tot, l'arteriografia resultà d'utilitat en un 18% de malalts majors de 45 anys i en un 9% de malalts amb l'antecedent d'HTA. En aquells pacients hipertensos i amb HIC putaminales, talàmiques i/o de fossa posterior, el benefici de l'arteriografia va ser de 0%. L'impacte dels

factors edat i HTA preexistent en el rendiment de l'arteriografia va ser més significatiu en les hemorràgies lobars, on el benefici fou del 10% en pacients vells i amb HTA prèvia, i del 64% en pacients joves no hipertensos. En les hemorràgies intraventriculars pures (HIV) el benefici de l'arteriografia arribava al 65%.

En conclusió, l'arteriografia convencional hauria de considerar-se en tots aquells malalts amb HIC espontànies, a excepció dels majors de 45 anys, amb HTA prèvia i HIC localitzades al putamen, tàlem o fossa posterior.

## **2.1.6 Pronòstic**

### **2.1.6.1 Pronòstic en fase aguda**

L'HIC segueix essent una de les causes de mort més importants, especialment en la fase aguda del procés. Estudis amb sèries hospitalàries realitzats posteriorment a la introducció de la TC cranial, han mostrat taxes de mortalitat als 30 dies al voltant del 30%-40%<sup>73</sup>, mentre que aquesta taxa arriba fins el 52% quan es revisen estudis basats en la comunitat<sup>74</sup>. Aquesta diferència s'explica pel biaix que suposa, en les sèries hospitalàries, no incloure aquells pacients amb ictus lleus, els casos molt greus que moren fora de l'hospital i els pacients molt vells que són atesos en centres geriàtrics. El 50% d'aquestes morts es produeix en els dos primers dies després de l'inici.



Diversos estudis<sup>75,76,77,78,79</sup> han analitzat els factors pronòstics relacionats amb una evolució dolenta en la fase aguda d'una HIC, la majoria amb resultats similars. El nivell de consciència a l'ingrés, el volum de l'HIC i la invasió ventricular són els predictors independents de mortalitat als 30 dies que més es repeteixen en diferents treballs. Tot i que la majoria d'estudis han analitzat aquests factors en l'HIC profunda, Flemming KD et al.<sup>80</sup> varen estudiar una població ben definida d'HIC lobars i observaren deteriorament neurològic en un 26%, xifra similar a la que s'observa en altres tipus d'HIC. Dels factors analitzats, tant clínics com de laboratori, només la presència d'una escala de Glasgow inferior a 14 en l'exploració basal es va associar a un risc significativament més alt de patir un empitjorament neurològic. La major grandària de l'HIC permetia predir el deteriorament clínic i un pronòstic desfavorable (el 63% dels que es deterioraren tenien HIC majors de 60 ml a la TC inicial). Altres troballes radiològiques predictives d'un mal pronòstic foren el desplaçament del septum pellucidum i l'esborrament de la cisterna mesencefàlica contralateral.

Alguns treballs han demostrat que les HIC poden progressar després del diagnòstic i hospitalització del malalt<sup>81</sup> i que aquesta progressió radiològica s'associa amb un empitjorament de l'estat neurològic que pot conduir a la mort del malalt<sup>82</sup>. La revisió de Fujii et al.<sup>83</sup> d'un total de 419 casos d'HIC espontànies mostrà que la majoria d'hematomes s'estabilitzen en les primeres 6 hores després de l'inici i que només un 1,4% de primeres TC realitzades

posteriorment a aquestes 6 hores presentaran creixement radiològic. En canvi, la taxa de creixement dels hematomes va arribar fins un 26,1% si la primera TC es realitzava en l'hora següent a l'inici dels símptomes. El seu treball no va poder demostrar cap relació significativa entre la pressió arterial sistòlica a l'ingrés i la progressió de l'HIC, però sí que van poder-ho relacionar amb la morfologia inicial de l'hematoma i la mida; les HIC de formes irregulars, suggestives de sagnats concomitants per vèries arterioles, i les de major grandària en la primera TC es van correlacionar amb un increment del risc de progressió. Les troballes analítiques van posar en evidència que aquells malalts amb progressió de l'hematoma presentaven freqüentment una disfunció de l'hemostàssia primària (trombopènia i supressió de l'agregació plaquetària), un deteriorament de l'hemostàssia secundària (nivells baixos de fibrinogen) i un excés de la fibrinolisi (nivells baixos de l'activitat de l'  $\alpha_2$ -antiplasmina). Un altre treball<sup>84</sup> del mateix grup, retrospectiu, en el que es varen revisar 627 casos d'HIC, va demostrar, després de l'anàlisi multivariant, que els factors que s'associaven al creixement de l'HIC, en ordre d'importància, eren: l'arribada a urgències poc després de l'inici dels símptomes, el tenir un hàbit alcohòlic important, la morfologia irregular de l'hematoma, la presència de disminució del nivell de consciència i els nivells baixos de fibrinogen.

Alguns estudis han mostrat resultats variables pel que fa al valor pronòstic de l'elevació de la PA en la fase aguda de l'HIC. Terayama et al.<sup>85</sup> estudiaren un total de 1701 malalts amb HIC de diverses localitzacions i

trobaren que la PA mitja i el volum de l'hematoma basals estaven relacionats amb una major mortalitat en les HIC de localització putaminal i talàmica. Suzuki et al.<sup>86</sup> en un treball recent han mostrat que el volum de l'HIC es correlaciona fortament amb el nombre de leucòcits circulants, especialment amb els polimorfonuclears, i que aquest fet representaria una resposta induïda per l'estrés, tal vegada similar a la que altres autors<sup>87</sup> han descrit en l'hemorràgia subaracnoidal, en la que l'augment del nombre de leucòcits es va atribuir a l'increment en l'alliberació de catecolamines i la producció de corticoesteroids.

#### 2.1.6.2 Pronòstic a llarg termini

Malgrat que existeix força informació sobre el risc de mort, discapacitat i recurrència de l'infart cerebral, el pronòstic a llarg termini de l'HIC ha estat molt menys estudiat. El risc anual de mort en aquells supervivents de la fase aguda de l'HIC és similar al que ha estat publicat per l'infart cerebral<sup>88,89</sup>. Fogelholm et al.<sup>90</sup> en un estudi de seguiment amb una mitja de 32 mesos, van observar que el 35% dels pacients eren vius, el 51% d'aquests eren independents per les activitats de la vida diària, el 45% requerien alguna ajuda i el 4% requeria atenció continuada. L'estudi de Helweg-Larsen et al.<sup>91</sup> mostrà que el 30% tenien una exploració neurològica normal als quatre anys i mig mentre que el 13% presentaven dèficits menors i el 17% tenien seqüeles invalidants. Un estudi recent ha exposat que els predictors de mal pronòstic (dependència o mort) a l'any d'una HIC són la severitat i localització de l'hemorràgia, l'edat del malalt i la quantitat d'alcohol consumit la setmana prèvia a l'HIC<sup>92</sup>.

El risc de recurrència després d'una HIC ha estat poc estudiada. En un estudi italià<sup>93</sup> el 24% de pacients presentaren un o més episodis de resagnat durant un període de seguiment d'uns 84 mesos. La localització lobar, que presumiblement indicava l'existència d'una AAC subjacent, va ser l'únic predictor significatiu de resagnat. Concluent, tot i que està basat en pocs estudis, pot afirmar-se que el risc de resagnat no és menyspreable.

### **2.1.7 Tractament**

L'aproximació al tractament de l'HIC requereix la identificació ràpida de la causa que l'originà i la determinació de la necessitat d'intervencions específiques com són el maneig de la hipertensió intracranial i l'elecció entre el tractament quirúrgic i/o mèdic. Malgrat que les mesures generals i el maneig de l'elevació de la pressió intracranial són aspectes bàsics del tractament de l'HIC, actualment no existeixen, al respecte, diversitat d'opinions, per la qual cosa obviaré comentar-los. Més interessant m'ha semblat fer una revisió dels treballs d'impacte que la polèmica tractament quirúrgic-tractament mèdic ha generat.

Tot i el coneixement que tenim de l'elevada mortalitat d'aquesta entitat i que representa la causa més freqüent d'íctus en persones d'edat igual o inferior als 50 anys, aquests fets no semblen haver estat prou decisius i, encara avui, no existeix una idea clara de quin és el tractament òptim d'aquests malalts. La pràctica actual recull possibilitats variades i dependents del centre i dels metges que acullen el pacient. L'avaluació acurada del paper de la cirurgia en aquesta

entitat hauria de ser contrastada únicament en base a les dades obtingudes a partir d'assajos clínics prospectius i controlats. Actualment, existeixen 7 assajos randomitzats que han estudiat el paper de l'evacuació quirúrgica d'un hematoma espontani (taula 2.1.1).

El primer assaig clínic controlat (McKissock et al.<sup>94</sup>) data dels anys 60. En aquest estudi es van randomitzar 180 pacients d'un total de 303 reclutats en 2 centres hospitalaris londinencs. Aquest estudi va realitzar-se a l'era pre-TC per la qual cosa l'examen clínic, la punció lumbar i l'arteriografia convencional foren les eines diagnòstiques. Els criteris d'exclusió van ser: ràpida millora de la simptomatologia i la troballa per angiografia d'un aneurisma, MAV o d'un vas obstruït. També van ser exclosos aquells casos on l'HIC tenia localització infratentorial i aquells casos on el diagnòstic era incert i existia el dubte raonable que pogués tractar-se d'un tumor o abscess. És evident que sense el concurs de la TC, tot i els esforços dels autors, algun dels casos randomitzats podia no ser una HIC. En total, la taxa d'error diagnòstic va arribar fins un 5% (4 malalts al grup de tractament quirúrgic i 5 al grup de tractament mèdic). En aquest estudi, un cop randomitzats, els pacients van ser intervinguts mitjançant una craniotomia i l'hematoma evacuat un cop localitzat. La localització va ser possible en el 60% dels casos. Els hematomes confinats als ganglis de la base i tàlem no van ser intervinguts. Ha d'extraure's, doncs, que aquest és un treball primàriament destinat a l'estudi del tractament quirúrgic dels hematomes lobars. Els resultats d'aquest assaig mostren una tendència significativa a una

mortalitat i dependència superiors amb la cirurgia (OR 2.00; IC 95%: 1.04-3.86).

Els 3 següents assajos clínics, el d'Auer et al.<sup>95</sup>, Juvela et al.<sup>96</sup> i Batjer et al.<sup>97</sup> van ser conduïts, tots ells, ja en l'era post-TC i van incloure pacients amb HIC ganglionars i talàmiques. El treball d'Auer, que va reclutar un total de 100 casos, 50 dels quals van ser intervinguts, trobà un benefici significatiu de l'evacuació endoscòpica de l'HIC versus el tractament mèdic. Els estudis de Juvela i Batjer van incloure massa pocs casos per considerar-los conclouents.

Un altre treball procedent dels Estats Units s'ha publicat recentment. Morgenstern et al.<sup>98</sup> van randomitzar 35 malalts entre tractament quirúrgic (craniotomia) i el millor tractament mèdic, d'un total de 76 pacients elegibles. Els criteris d'inclusió foren: ictus de menys de 3 hores d'evolució (la cirurgia es va realitzar en les primeres 12 hores després del diagnòstic), hematoma de més de 9 ml, lobar o profund, però que no afectés al tàlem i escala de Glasgow entre 5 i 15 punts. Els malalts amb invasió ventricular foren exclosos. La mortalitat fou molt inferior pel grup tractat quirúrgicament quan es va analitzar un mes després, però similar als 6 mesos. L'índex de Barthel va ser similar pels dos grups i, finalment, el treball va mostrar una tendència cap a una menor mortalitat i dependència amb el tractament quirúrgic.

Un estudi xinès<sup>99</sup>, randomitzat, va ser publicat al 92. Aquest estudi, publicat en la llengua nativa, es va haver de traduir per tal de fer-ne possible la seva inclusió en meta-anàlisi posteriors. Es randomitzaren 127 casos i es van incloure els hematomes cerebel·losos. Els malalts assignats al grup de tractament quirúrgic van ser intervinguts mitjançant aspiració estereoatàxica, craniotomia o drenatge ventricular. El resultat d'aquest treball mostra una tendència a una major mortalitat i dependència amb el tractament quirúrgic.

L'últim treball<sup>100</sup> ha estat publicat recentment. Es van randomitzar 20 malalts durant un període de 24 mesos; 9 van ser intervinguts i 11 van rebre tractament mèdic. Els criteris d'inclusió foren: HIC de menys de 24 hores d'evolució, volum superior als 10 ml., edat superior als 18 anys i escala de Glasgow superior a 4. La tècnica quirúrgica fou la més indicada per cada cas en concret: craniotomia o aspiració estereoatàxica. El tractament mèdic va incloure: manitol, drenatge ventricular, intubació i hiperventilació si la PIC era superior a 20 mm Hg. Els controls es realitzaren a l'alta i als 3 mesos mitjançant l'escala GOS (Glasgow Outcome Scale). L'OR d'aquest assaig indicà una tendència a uns millors resultats amb la cirurgia (OR 0.48; IC 95%: 0.09 a 2.69).

Diverses meta-anàlisi, incloent tots o alguns dels treballs fins ara analitzats, han estat publicades. Els primers 4 assajos, que van incloure un total de 349 pacients (173 randomitzats al grup de tractament quirúrgic), estudiats

en conjunt, van mostrar un increment no significatiu de mortalitat i dependència als 6 mesos per aquells tractats quirúrgicament (OR 1.23; IC 95%: 0.77 a 1.98)<sup>101,102</sup>. Una altra meta-anàlisi, estudiant únicament l'end-point mortalitat, i incloent només els treballs realitzats amb TC, va mostrar una reducció d'aquesta amb la cirurgia (OR 0.50; IC 95%: 0.38 a 1.44). Una publicació recent de Fernandes et al.<sup>103</sup> ha tingut en compte tots els assajos clínics abans ressenyats per l'elaboració d'una altra meta-anàlisi. En aquesta, novament s'observa una tendència cap a una major mortalitat i dependència en aquell grup de pacients tractats amb cirurgia (OR 1.20; IC 95%: 0.83 a 1.74). L'anàlisi de tots els treballs, exceptuant el de McKissock, no mostra influències de cap dels dos tractaments, mèdic o quirúrgic (OR 0.94; IC 95%: 0.60 a 1.47). Finalment, els mateixos autors van analitzar tots els treballs de l'era post-TC excloent, a més, l'estudi xinès. En aquest cas, el tractament quirúrgic demostra un cert benefici en aconseguir una reducció de les possibilitats de mort i dependència (OR 0.63; IC 95%: 0.35 a 1.14).



Taula 2.1.1.1. Recull dels assajos clínics randomitzats sobre els efectes de la cirurgia en el tractament de l'HIC supratentorial espontània.

Autor/Any	Nº de casos	MÈTODE QUIRÚRGIC	Resultats	OR (IC 95%) de mort i dependència
Auer, 1989 <sup>89</sup>	50 TTQ 50 TTM	Aspiració endoscòpica	Als 6 mesos en una escala de 6 punts. Mortalitat del 42% en el grup TTQ, 70% en el TTM. Dependència del 58% en el grup TTQ i 74% en el grup de TTM.	OR 0.46 (0.20 a 1.04)
Batjer, 1990 <sup>91</sup>	8 TTQ 4 MTTM + monitorització de la PIC 9 TTM	Craniotomia	Als 3 i 6 mesos en una escala de 4 punts. Mortalitat del grup TTQ del 78% i del 67% en el de TTM. Dependència del 83% en el grup TTM i del 78% en el de TTQ. No diferències entre grups.	OR 0.86 (0.10 a 7.64)
Chen, 1992 <sup>93</sup>	64 TTQ 63 TTM	Craniotomia/estereo- atàxia/drenatge ventricular	Mortalitat: 23% en el grup TTQ i 17% en el de TTM. Dependència: 63% en el grup TTQ, 50% en el grup TTM. No diferències entre els grups.	OR 1.66 (0.82 a 3.34)
Juvela, 1989 <sup>90</sup>	26 TTM 26 TTQ	Craniotomia	Als 6 i 12 mesos. Mortalitat: 46% en el grup TTQ, 38% en el grup TTM. Dependència: 98% en el grup TTQ i 81% en el TTM. No diferències significatives entre els grups.	OR 4.39 (0.81 a 23.65)
McKissock, 1961 <sup>88</sup>	89 TTQ 91 TTM	Craniotomia	Mortalitat: 65% al grup TTQ i 51% al TTM. Dependència: 66% al grup TTM, 80% al grup TTQ. No diferències significatives entre grups.	OR 2.00 (1.04 a 3.86)
Morgensstern, 1998 <sup>92</sup>	15 TTQ 16 TTM	Craniotomia	Als 6 mesos. Mortalitat: 24% del grup TTQ, 18% al grup TTM. Dependència: 69% al grup de TTM, 50% al de TTQ.	OR 0.46 (0.11 a 1.86)
Zuccarello, 1999 <sup>94</sup>	9 TTQ 11 TTM	Craniotomia/aspiració estereoatàxica	Als 3 mesos. Mortalitat: 22% al grup de TTQ, 27% al grup de TTM. Dependència: 44% al grup de TTQ, 64% al grup de TTM.	OR 0.48 (0.09 a 2.69)

Abreviacions: TTM: tractament mèdic, MTTM: millor tractament mèdic, TTQ: tractament quirúrgic, PIC: pressió intracranial.

### **2.1.8 Hemorràgia intracerebral: models experimentals**

Disposem de models experimentals d'HIC des dels anys seixanta. El mètode d'ús més estès ha estat l'administració de sang autòloga als lòbuls frontals de gossos, gats i monos prèviament anestesiats. Més recentment, els rosegadors s'han imposat com el model més vàlid, probablement pel fet de suposar un menor cost, per la semblança de la seva fisiologia i anatomia cerebrovascular a la d'espècies superiors i per la possibilitat que ofereix el seu petit cervell de realitzar tincions histoquímiques de major qualitat.

S'han descrit diferents tècniques per a la consecució d'aquests models animals d'HIC. La connexió d'un catèter des de l'artèria femoral de l'animal fins a una xeringa inserida al nucli caudat de l'animal és una d'elles. En obrir el catèter, la sang afavorida per la pressió sistòlica, flueix en direcció al nucli caudat i para quan el gradient de pressions s'inverteix<sup>104,105</sup>. Aquest model fou creat per imitar el que succeeix en l'HIC espontània dels humans. Nath et al.<sup>106</sup> van utilitzar injeccions ràpides (aproximadament 10 segons) d'un volum de sang estable a una pressió de 100 mm Hg per simular l'HIC espontània. Altres han fet servir un microbaló inflable per aconseguir l'efecte massa produït per l'HIC. Aquest sistema permetia, a més, comprovar les conseqüències de l'eliminació de l'efecte massa.

Més recentment, Rosenberg et al.<sup>107</sup> han descrit un model en el que l'HIC s'aconseguia a través de l'administració d'una col.lagenassa intracerebral. Les col.lagenasses són enzims proteolítics que digereixen el col.lagen de la làmina

basal de l'endoteli. Van trobar que, 10 minuts després de la injecció de la col.lagenassa a nivell del nucli caudat, ja s'observaven eritròcits a la zona i l'hematoma estava completament format a les 4 hores de l'administració, essent el volum de l'HIC dosi-depenent. Els animals als quals se'ls administrà una dosi de col.lagenassa superior a 1 unitat moriren com a conseqüència de l'edema massiu. Histològicament, la lesió hemorràgica causada per la col.lagenassa es caracteritzà per la invasió d'eritròcits als espais perivasculars i als tractes de la substància blanca. S'observà la presència d'edema tant al punt d'injecció, on era màxim, com en zones més allunyades (àrees posteriors de l'hemisferi ipsilateral i nucli caudat contralateral). La consolidació d'aquesta massa necròtica resultà en una formació quística a les 3 setmanes. Altres autors<sup>108</sup>, treballant amb aquest mateix model experimental d'HIC, han demostrat que reproduïx els diferents passos que s'observen en l'HIC espontània dels humans, específicament la presència d'una cavitat necròtica residual envoltada per gliosi que es correlaciona bé amb els dèficits residuals observats tant en humans com en animals.

Del Bigio et al.<sup>109</sup> investigaren la correlació entre els diferents fets histològics conseqüència d'una HIC experimental, la imatge per RM en diferents moments i els dèficits neurològics. El model utilitzat era una petita variació del model experimental d'en Rosenberg; l'administració conjunta d'una col.lagenassa i heparina. El model mostrà com els dèficits començaven a resoldre's a les 48 hores i això es relacionava amb l'inici de la resolució de l'edema generalitzat. Les imatges en T2 mostraren que la majoria de l'edema es

localitzà a la substància blanca i que la hiperintensitat observada era deguda a l'increment en la quantitat d'aigua lliure. La infiltració neutrofílica s'inicia a les 4 hores, probablement estimulada per certs components derivats de la lisi del coàgul que actuen com factors quimiotàctics. En aquest model, el fenomen inflamatori és més dens i això es relaciona amb la presència d'heparina que pot actuar com a potenciadora de certs agents quimioatracients. En imatges T2 aquest fenomen inflamatori agut a la perifèria del coàgul es visualitza com una banda d'hipointensitat perifèrica a l'hematoma i és màxima a les 48 hores. La invasió de l'hematoma per monòcits, que posteriorment es convertiran en macròfags, comença a les 48 hores. La fagocitosi dels productes derivats de l'hemoglobina, hemosiderina i ferritina, produïda pels macròfags, origina un creixement de la hipointensitat en T2 en aquest moment evolutiu. Aquest fet però, és difícil d'estudiar en humans donada la dificultat per obtenir mostres de teixit cerebral en diferents temps evolutius d'una HIC.

### **2.1.9 La hipodensitat al voltant de l'hematoma**

És força freqüent observar, en malalts amb HIC, una progressió de la simptomatologia o empitjorament de l'estat neurològic en les hores següents a l'inici del quadre. Aquest fet comporta un pitjor pronòstic, tant en termes de mortalitat com de morbiditat, i ha estat relacionat directament amb l'efecte massa o increment de la pressió intracranial derivat del propi hematoma, amb la formació d'edema al voltant de l'HIC i, excepcionalment amb el desenvolupament d'hidrocefàlia obstructiva<sup>110</sup>. El creixement de l'HIC justifica aproximadament la meitat de casos en què es produeix deteriorament

neurològic, mentre que l'altre 50% s'explica pel desenvolupament d'edema cerebral<sup>111</sup>. Malgrat tot, és força habitual el comprovar una gran disparitat pronòstica en relació amb el tamany de l'edema: en ocasions la hipodensitat perifèrica a l'HIC observada en la TC persisteix mesos després de l'inici i s'associa amb una major discapacitat, i en altres casos aquesta imatge desapareix completament relacionant-se amb el restabliment de l'individu. L'explicació més probable és que el que s'ha anomenat clàssicament com edema perihematoma (EPH), al qual seria més correcte referir-se com hipodensitat perihematoma, és en realitat conseqüència de diversos mecanismes fisiopatològics: acumulació de proteïnes, retenció d'aigua per l'augment de la pressió oncòtica i retracció del coàgul<sup>112</sup>, dany de la barrera hematoencefàlica (BHE) que contribueix a l'edema vasogènic<sup>113</sup> i isquèmia cerebral.

#### 2.1.9.1 Edema i Isquèmia Perihematoma

Diversos treballs han demostrat que l'extravasació de sang al parènquima encefàlic és perjudicial en sí mateixa. Els estudis de Suzuki i Ebina<sup>114</sup> mostraren com la toxicitat de la sang al parènquima cerebral era independent del seu efecte massa, en comparar l'administració intracerebral de sang "completa" versus l'administració d'infusions similars d'una substància inerta. Van observar que el grup que havia rebut sang desenvolupava edema al voltant de la lesió a les 24 hores. De forma similar, l'efecte massa aconseguit mitjançant un baló inflable no va conduir a la formació d'edema.

Els estudis del grup de la Universitat de Michigan<sup>115,116</sup> van definir la importància de la cascada de la coagulació, concretament d'un dels seus factors (la trombina), en el desenvolupament d'EPH en les 24 hores posteriors a l'HIC. Aquesta proteïna de la coagulació pot modular la permeabilitat de les cèl·lules endotelials i contribueix a la lesió cel·lular ja que inactiva certs processos neuronals i gials. També s'ha demostrat la presència d'una resposta inflamatòria deguda a la trombina que inclou la inducció de mitosi, quimiotaxi de leucòcits, producció de molècules d'adhesió, agregació plaquetària i alliberació de citoquines. El mateix grup, treballant en models experimentals d'HIC amb sang heparinitzada i sense heparinitzar, va demostrar que les HIC originades amb l'administració de sang heparinitzada no conduïen a la formació d'EPH amb la mateixa intensitat que ho aconseguen les HIC amb sang sense heparinitzar. Així, es va demostrar que l'heparina reduïa la formació de l'EPH mediat per trombina i que, per tant, la formació del coàgul i la trombina jugaven un paper decisiu en les primeres 24 hores d'aquest procés. Altres treballs més recents han corroborat aquestes troballes al mostrar com les HIC secundàries al tractament trombolític que s'administra en l'infart agut de miocardi i en l'ictus isquèmic, el desenvolupament d'EPH és significativament menor. Aquest fet suggerí, per primer cop en humans, que l'activació de la cascada de la coagulació en l'HIC és un mecanisme patogènic plausible en la formació d'EPH<sup>117</sup>.

Una hipòtesi molt atractiva que recolzaria aquest paper de la trombina es planteja en una altra publicació molt recent<sup>118</sup>. En l'actualitat, es reconeix un

paper protector a la isquèmia transitòria que, d'alguna forma, indueix certa tolerància al fenomen isquèmic. Aquest preconditionament isquèmic es va demostrar primer en el camp de la cardiopatia isquèmica i després al teixit cerebral<sup>119</sup>. El grup de la Universitat de Michigan ha traslladat la idea al camp de l'HIC demostrant, en un model animal, que l'administració de petites dosis de trombina directament al parènquima cerebral dels animals abans de l'administració de grans dosis de la mateixa proteïna, atenuava la formació d'edema.

Xi et al.<sup>120</sup> han proposat que l'EPH es desenvoluparia en diferents fases. En la fase més precoç (primeres hores després de l'inici) tindrien importància els fenòmens de pressió hidrostàtica causada per l'HIC i la retracció del coàgul. Una segona fase que s'estendria fins les 24 hores posteriors a l'inici es relacionaria amb la cascada de la coagulació i la trombina, i la tercera fase (fins el tercer dia) en la que es produiria la lisi de l'eritròcit i l'alliberació d'hemoglobina que resultarien tòxics per al parènquima cerebral.

Fins ara, hem revisat aquells treballs d'interès que han mostrat el decisiu paper de la trombina, al menys en part, en la gènesi de l'EPH. En una línia diferent, altres treballs han estudiat la importància que la isquèmia i la BHE podrien tenir en aquest fet. L'edema cerebral es classifica generalment en dos tipus: citotòxic i vasogènic en dependència de la integritat o no de la BHE. L'edema citotòxic, que es deriva de la pèrdua del metabolisme energètic cel.lular, es caracteritza per un increment del  $\text{Na}^+$  i una disminució del  $\text{K}^+$ ,

mentre que l'edema que s'origina com a conseqüència de l'obertura de la BHE o edema vasogènic, es caracteritza per un contingut alt en  $\text{Na}^+$  i pocs canvis en el contingut de  $\text{K}^+$ . Yang et al.<sup>121</sup>, en un model animal (rates) d'HIC, trobaren que l'edema progressava fins arribar a ser màxim a les 24 hores després de l'HIC, després es mantenia constant fins al quart dia i decreixia posteriorment. La formació d'EPH en aquest model animal d'HIC tenia certes semblances amb l'edema secundari a la isquèmia cerebral que es desenvolupa en dues fases: citotòxica, que implica les primeres 4 a 6 hores, i vasogènica. Tot i la semblança en el curs evolutiu, el mecanisme de l'EPH es mostrà més complexe. El teixit cerebral adjacent a l'hemorràgia mostrava la presència de mol·lècules osmòticament actives probablement procedents de la degradació del coàgul. Durant les primeres 12 hores les concentracions dels diferents ions suggerien el mecanisme vasogènic per a la formació de l'EPH. Això es va confirmar en observar un augment de la permeabilitat de la BHE al teixit contigu al coàgul. Cap a les 24 hores, la concentració iònica mesurada es corresponia amb la que s'observa en la fase citotòxica de la isquèmia cerebral. Aquests resultats suggerien que la isquèmia o certes toxines cel·lulars contribuïen a la formació de l'EPH en fases més tardanes. Una qüestió transcendental en aquest model era quin mecanisme originava la disrupció de la BHE. En comprovar que tant l'edema inicial (vasogènic) com l'efecte massa de l'HIC causaven una reducció en el FSC creant, per tant, una situació d'isquèmia transitòria incompleta i coneixent que la isquèmia en sí mateixa resulta en la formació de més edema i en la disrupció de la BHE, el mecanisme semblava engranat. Els autors proposen que en comptes de la isquèmia, o bé en conjunció amb la isquèmia,



certes substàncies tòxiques derivades de la lisi del coàgul podrien ser les desencadenants de la citotoxicitat local i la disrupció de la BHE.

En conclusió, ja des de les primeres hores després d'una HIC podem observar una hipodensitat al voltant de l'hematoma. Aquesta lesió hipodensa implica diferents mecanismes dels quals la isquèmia i el desenvolupament d'edema són els de major transcendència. A més, aquests dos mecanismes s'interrelacionen de forma complexa. L'EPH té una evolució temporal, tant pel que fa a la seva formació com resolució, que inclou diferents mecanismes en funció del moment. Paral·lelament a l'increment en la concentració d'aigua en zones veïnes a l'HIC també s'ha pogut constatar la presència d'edema en àrees distants a l'hematoma. L'edema que es forma en la zona perihematoma està produït per l'augment de permeabilitat de la BHE en les primeres hores; és a dir, és bàsicament de tipus vasogènic. La citotoxicitat, depenent tant de l'alliberació de certes substàncies del coàgul com de la isquèmia que s'instaura progressivament a la zona, contribueix a l'edema citotòxic predominant a fases més tardanes. L'edema que s'observa en zones allunyades de l'hemorràgia és de tipus vasogènic.

#### 2.1.9.2 Proteolisi de la Barrera Hematoencefàlica

Diverses proteases han demostrat la seva capacitat per originar un augment de la permeabilitat de la BHE. A més de les metal·loproteïnases de la matriu (MMPs), la injecció intracerebral d'elastasa ha demostrat que pot obrir la BHE causant hemorràgies perivasculars al punt d'administració<sup>122</sup>. Un altre

enzim que pot originar, tot i que de forma retardada, la disrupció de la BHE és la plasmina. El TNF , que també té la capacitat d'obrir la BHE, està molt relacionat amb l'expressió de gelatinasa B (MMP-9), i de forma similar, altres substàncies han mostrat que mitjançant l'activació de MMP-9 (gelatinasa B) condueixen a la disrupció de la BHE. En sentit invers, l'administració d'un inhibidor de MMPs, va reduir-ne l'obertura, oferint un major suport al fet que l'activació de certes MMPs estava clarament relacionada amb un augment de la permeabilitat a través de la BHE<sup>123</sup>.

Existeixen estudis que suggereixen que en la proteolisi de la BHE hi estan implicats fenòmens inflamatoris que afecten la matriu extracel.lular. Així, la neuroinflamació, podria ser el senyal que donés l'ordre a la cè.lula endotelial per augmentar la seva permeabilitat. Les cè.lules de la microglia s'activen, s'alliberen citoquines com el TNF i la IL-1 que amplifiquen la cascada. L'estromelissina (MMP-3) també s'activa precoçment en aquest procés i conjuntament amb la plasmina i els radicals lliures activarien la MMP-9.

El dany tissular per proteases és un efecte no desitjat de la neuroinflamació. Amb l'obertura de la BHE, certs components del sèrum com la fibrina, la trombina i el complement, atravessen l'endoteli en direcció al teixit cerebral. La fibrina posa en marxa els activadors del plasminogen i la conversió del plasminogen en plasmina. La fibrina dipositada estimula la fibrinolisi perpetuant la lesió endotelial, la fibrosi i la fibrinolisi, i conduint finalment a la lesió irreversible de la cè.lula.

## **2.2 METALLOPROTEINASES DE LA MATRIU**

### **2.2.1 Concepte i classificació**

Les metalloproteïnases de la matriu (MMPs) constitueixen una família d'endopeptidases dependents de zinc i calci que, actuant en pH neutres, tenen com a principal finalitat la degradació de la majoria dels components de la matriu extracel·lular (MEC)<sup>124,125</sup>. Les MMPs són part important en la majoria de processos fisiològics que requereixen el recanvi de la MEC i tenen un paper ben definit en diversos processos cel·lulars com la proliferació, l'apoptosi i la morfogènesi tissular. A més d'aquesta finalitat reparadora i remodeladora també han estat implicades en una àmplia varietat de processos patològics: disseminació de metàstasi tumorals, artritis, formació d'aneurismes, aterosclerosi, emfisema pulmonar, etc. Més recentment, ha estat descrita la seva implicació en el processament de citoquines i factors de creixement<sup>126</sup>, en l'apoptosi<sup>127</sup> i en l'activació del factor de necrosi tumoral alfa (TNF- $\alpha$ )<sup>128</sup>.

La classificació d'aquesta família d'enzims ha estat subjecte a diferents criteris. Si bé prèviament s'havien dividit en tres subclasses (colagenases tipus I, colagenases tipus IV i estromelissines) segons quin fos la seva afinitat o especificitat de substracte, actualment aquesta classificació ha estat superada a mesura que s'han clonat noves MMPs i que s'han descobert nous substractes d'aquests enzims. |

Tot i que la tendència actual és la de classificar-les segons l'estructura en dominis de la proteïna, el criteri clàssicament usat per a la seva classificació és el substrate sobre el que les MMPs han mostrat especificitat (Taula 2.2.1). Així, actualment es coneixen sis subfamílies de MMPs: 1) les col.lagenasses, que degraden el col.lagen del teixit connectiu; 2) les gelatinasses, que actuen sobre els col.làgens tipus IV, V, VII i X, l'elastina i els col.làgens desnaturalitzats; 3) les estromelissines i 4) la matrilissina, que degraden el nucli de proteoglicans de les proteïnes, la laminina, la fibronectina, l'elastina i la gelatina; 5) les MMPs de membrana, que degraden la fibronectina, la laminina i altres MMPs i, finalment, 6) la metal.loelastassa macrofàgica, que actua sobre l'elastina insoluble, el col.lagen IV, la fibronectina, la laminina i els proteoglicans. Fins ara, s'han identificat 20 membres de la família de MMPs.

Són una família d'enzims en contínua expansió i, és probable que en el moment actual s'estiguin incorporant nous membres a la ja extensa llista que es coneix. De forma sintètica, les MMPs poden definir-se per les següents característiques: 1) comparteixen seqüències aminoacídiques comunes, 2) la seva acció proteolítica és inhibida pels inhibidors tissulars de les metal.loproteïnases o TIMPs, 3) són secretades com a proenzims o bé existeixen com a proenzims transmembrana, però, en qualsevol cas, requereixen ésser activades per dur a terme les seves accions com a MMPs, 4) el lloc actiu conté zenc ( $Zn^{2+}$ ) i requereix un segon cofactor com el calci ( $Ca^{2+}$ ), i 5) l'activitat enzimàtica és òptima en pHs fisiològics.

GRUP	IDENTIFICACIÓ	NOM TRIVIAL	SUBSTRACTES
<b>Col.lagenasses</b>	MMP-1 MMP-8 MMP-13	Col.lagenassa intersticial Col.lagenassa dels neutròfils Col.lagenassa-3	Col.lagen I, II, III, X; gelatinasa; proteoglicans
<b>Gelatinasses</b>	MMP-2  MMP-9	Gelatinasa-A  Gelatinasa-B	Col.làgens desnaturalitzats; col.lagen IV, V, VII, X, XI; elastina
<b>Estromelissines</b>	MMP-3 MMP-10  MMP-11	Estromelissina-1 Estromelissina-2  Estromelissina-3	Proteoglicans; Procol.làgens; fibronectina; laminina; gelatina; col.lagenasses; gelatinasa-B Desconegut
<b>Matrilissines</b>	MMP-7	Pump-1, Matrilissina	Proteoglicans; Procol.làgens; fibronectina; laminina; gelatina; col.lagenasses; gelatinasa-B; elastina
<b>Metal.loelastassa</b>	MMP-12	Metal.loelastassa macrofàgica	Elastina; fibronectina; col.lagen IV; laminina; proteoglicans
<b>Metal.loproteï- nasses de membrana</b>	MMP-14  MMP-15  MMP-16 MMP-17	MT-MMP-1  MT-MMP-2  MT-MMP-3 MT-MMP-4	Col.lagen I, II, III: gelatina, elastina, caseïna, vitronectina, MMP-2, MMP-13, pro- TNF , dermatan sulfat MMP-2, gelatina, tenascina, laminina, fibronectina MMP-2 Desconegut
<b>Miscel.lània</b>	MMP-19 MMP-20	RASI-1 Enamelissina	Gelatines Amelogenina

Taula 2.2.1. Classificació de les Metal.loproteïnases de la matriu.

### **2.2.2 Estructura de les metal.loproteïnases**

S'han identificat 9 MMPs mitjançant tècniques de clonació i seqüenciació de DNA. La comparació d'aquestes seqüències, conjuntament amb les dades bioquímiques i immunològiques, ha mostrat que existeixen 2 col.lagenasses, 2 gelatinasses (col.lagenasses tipus IV) i 2 estromelissines amb una estructura mol.lecular similar. El pump (matrilissina), l'estromelissina-3 i la metal.loelastassa presenten una seqüenciació i propietats diferents.

Les seqüències aminoacídiques de totes les MMPs són similars, i presenten un alt grau de conservació entre cada tipus d'enzim en diferents espècies de mamífers (un 80% de similitud entre col.lagenasses i estromelissines). La semblança entre enzims és menor, tot i que es manté al voltant d'un 50%.

Totes les MMPs contenen tres dominis diferents: el propèptid, el domini catalític i l'extrem C-terminal, que poden ser identificats en la seqüència de DNA d'aquestes proteïnes, cadascun dels quals desenvolupa una funció específica (Figura 2.2.1). L'estructura en dominis de la MMP-9 o gelatinasa B, també coneguda com la col.lagenassa tipus IV de 94 kD, és el prototipus de la família de MMPs. S'hi han identificat els següents dominis: el propèptid, d'aproximadament 100 residus, conté un segment de 8 aminoàcids estables, PRCGVDPV, l'escisió dels quals activarà les MMPs latents. El domini catalític, format per 162 a 173 residus, conté el lloc actiu que s'unirà a  $Zn^{2+}$  i  $Ca^{2+}$  per tal de dur a terme la seva acció. La resta de dominis tenen seqüències similars a d'altres proteïnes estructurals de la MEC<sup>129,130</sup>. D'aquests, el domini C-terminal (similar a la vitronectina) que conté entre 202 a 213 aminoàcids, es troba a totes les MMPs, a excepció del pump. Les gelatinasses presenten una seqüència similar a la fibronectina inserida al domini catalític. La gelatinasa B conté una inserció pel col.lagen a l'extrem C-terminal del domini catalític. Aquests dominis extrems, específics de les gelatinasses, vénen determinats exogènicament.

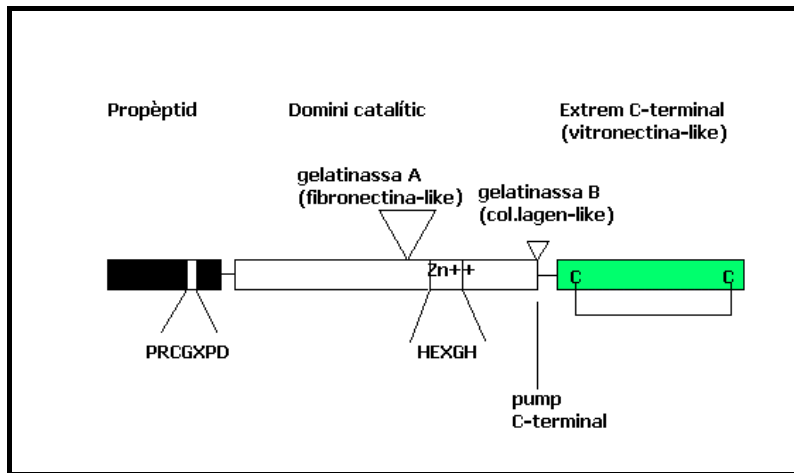


Figura 2.2.1. Estructura de les metal·loproteïnes.

### **2.2.3 Inhibidors tissulars de les metal·loproteïnes**

Existeixen dos inhibidors fisiològics de les MMPs: la  $\alpha_2$ -macroglobulina, amb una activitat restringida donat el seu gran volum (780 kD), i una família d'inhibidors específics de les MMPs: els TIMPs. Hi ha dos trets característics de la interacció entre TIMPs i MMPs: 1) una afinitat molt elevada i 2) diferències pel que fa a l'especificitat dels diversos TIMPs, tot i l'alt grau de semblança entre les seves seqüències. En el moment actual s'han identificat quatre inhibidors en mamífers: TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 i TIMP-4. La pluralitat dels TIMPs suggereix que podrien tenir propietats funcionals diferents i en aquest sentit s'han publicat algunes diferències pel que fa a les seves accions inhibidores, tot i que cadascun dels TIMPs poden unir-se a la majoria de MMPs. Així, TIMP-2 i TIMP-3, a diferència de TIMP-1, són inhibidors efectius de les MT-MMPs, mentre que TIMP-3, però no TIMP-1, -2 o -4, és un bon inhibidor de l'enzim convertidor del TNF (TACE). També la forma com TIMP-1 i TIMP-2 interaccionen amb MMP-2 és diferent.

El TIMP-1 és una glicoproteïna de 30 kD<sup>131</sup> i el TIMP-2 és una proteïna no glicosilada de 23 kD<sup>132</sup>. La seva distribució cel.lular és bastant similar, tot i que el TIMP-1 generalment es troba en majors quantitats. Presenten una estructura aminoacídica en la que es poden reconèixer dos dominis: l'extrem N-terminal i el C-terminal. En el cas del TIMP-1 ha estat demostrat que l'extrem N-terminal, codificat pels aminoàcids 1 al 126, pot actuar independentment del domini C-terminal i inhibir de forma eficient la majoria de MMPs<sup>133</sup>.

La importància dels TIMPs com a reguladors de l'activitat de les MMPs ha estat demostrada de forma ambigua. En diversos models cel.lulars s'ha comprovat la capacitat dels TIMPs per prevenir la degradació de la MEC però també s'ha vist que en diverses situacions, com per exemple en la degeneració del cartílag, els nivells de TIMPs augmenten sense arribar a compensar l'enorme augment en l'activitat de les MMPs<sup>134</sup>. Estudis d'immunolocalització de l'expressió del TIMP-1 en models "in vivo" de reabsorció òssia, han demostrat la precisa expressió temporo-espacial d'aquest inhibidor en relació a les MMPs<sup>135</sup>. Altres estudis han mostrat com la secreció de TIMPs i MMPs per la cèl.lula endotelial es realitza de forma polaritzada; selectivament en direcció a la làmina basal de l'endoteli demostrant que és en aquest extrem de la cèl.lula on es concentren les principals funcions tant estructurals com funcionals<sup>136</sup> d'aquestes proteïnes.

Sembla ben clar que el paper fonamental d'aquestes mol.lècules té lloc en la remodelació tissular, mitjançant la seva capacitat per inhibir les MMPs al formar complexos enzim-inhibidor. Nombrosos estudis han mostrat que els



TIMPs poden aturar la invasió cel.lular, la tumorigènesi i l'angiogènesi. Aquestes activitats dels TIMPs, atribuïdes a la inhibició de certes MMPs, no són les úniques ja que avui en dia es coneixen tot un seguit d'altres funcions independents de la seva acció inhibidora sobre les MMPs<sup>137</sup>.

#### ***2.2.4 Interaccions entre les metalloproteinases de la matriu i altres sistemes plasmàtics***

Donada la quantitat de substractes sobre els que actuen les MMPs, la seva regulació és necessàriament restrictiva i, majoritàriament, succeeix a nivell de la seva expressió genètica<sup>138</sup>. L'altre punt de regulació té lloc a nivell extracel.lular, controlant el nivell d'activitat enzimàtica mitjançant l'activació de les formes proenzimàtiques i la seva inhibició pels TIMPs<sup>139</sup>.

El procés d'activació de les MMPs mitjançant la pèrdua del propèptid pot ser iniciat per l'activitat proteolítica exògena en el cas de les col.lagenasses, les estromelissines 1 i 2, el pump i la gelatinasa B. La gelatinasa A, a diferència de les altres MMPs, és regulada completament a nivell transcripcional. El propèptid d'aquest enzim no té, aparentment, una zona d'unió a altres proteinases, tot i que, mitjançant reaccions autocatalítiques pot aconseguir l'activació del propèptid.

##### ***2.2.4.1 Interaccions amb el sistema plasminogen/plasmina***

Les interaccions entre els sistemes plasminogen/plasmina i les MMPs són múltiples. Això suggereix que ambdós sistemes podrien cooperar pel que fa a la

degradació de la MEC<sup>140</sup>. El sistema plasminogen/plasmina conté un proenzim, el plasminogen, que es converteix en un enzim actiu, la plasmina, per l'acció dels activadors del plasminogen: el tissular (tPA) i l'urokinasa (uPA). La plasmina degrada la fibrina en subproductes solubles. Ambdós activadors del plasminogen són inhibits principalment, per l'inhibidor de l'activador del plasminogen (PAI-1), mentre que la plasmina és inhibida, bàsicament, per l' $\alpha_2$ -antiplasmina<sup>141</sup>. Les potencials interaccions entre el sistema plasminogen/plasmina i les MMPs estan esquematitzades a la figura 2.2.2. Diversos mecanismes de retroalimentació positius operen en l'activació de MMPs<sup>142</sup>. Així, la MMP-3 i la MMP-10 poden superactivar les procol.lagenasses generant formes d'entre 5 a 12 vegades més actives<sup>143</sup>. La pro-MMP-9 pot ser activada tant per la MMP-3<sup>144</sup> com per la MMP-13<sup>145</sup>.

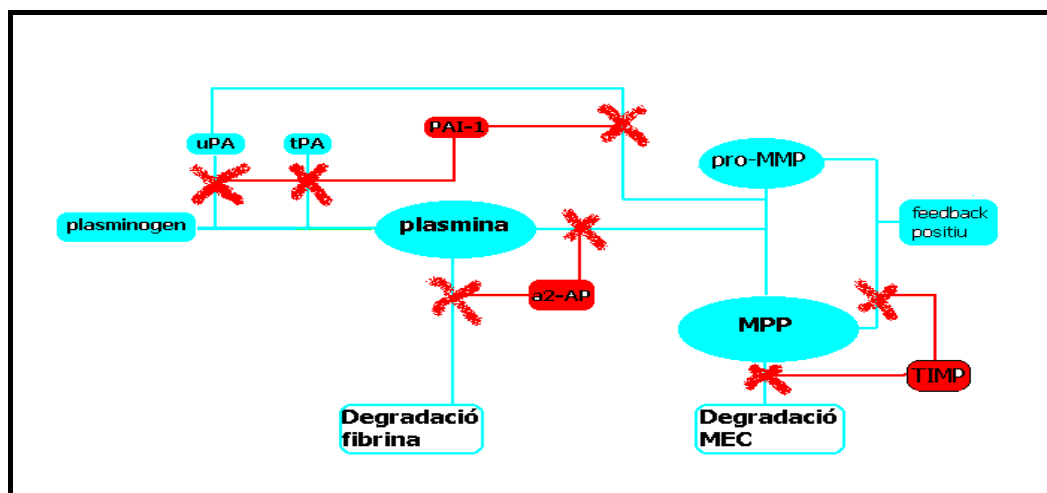


Figura 2.2.2. Representació esquemàtica de les possibles interaccions entre el sistema plasminogen/plasmina i les MMPs.

"In vitro" la plasmina activa directament la pro-MMP-1, pro-MMP-3, pro-MMP-9, pro-MMP-10 i la pro-MMP-13<sup>146</sup>. L'activació de pro-MMP-2 és més controvertida i alguns autors han suggerit que la plasmina podria estar

implicada en l'activació d'aquesta MMP en presència de cèl.lules<sup>147</sup>. L'activació in vivo de pro-MMP-9 també ha generat dubtes, tot i que s'han proposat vies dependents de l'activació del plasminogen per a la seva activació en la malaltia neoplàssica disseminada. Així, la plasmina pot jugar un paper important en l'activació in vivo de les MMPs, però la seva relevància fisiològica no ha estat clarament establerta.

Estudis més recents han utilitzat un model animal (rata) genèticament manipulat per aconseguir, de forma dirigida, la manca dels principals components del sistema plasminogen/plasmina i han mostrat que l'activació de pro-MMP-2 mitjançant uPA no té un paper fisiològic important. És a dir, que in vivo, l'activació de pro-MMP-2 succeeix independentment del plasminogen. Contràriament, l'activació de pro-MMP-9 es pot dur a terme tant en presència com en absència (mediada per MMPs) de plasminogen<sup>148</sup>.

## ***2.2.5 Paper de les metal.loproteïnases en diverses patologies neurològiques***

### ***2.2.5.1 Metal.loproteïnases i Ateromatosis Carotídia***

La placa arterioscleròtica és una estructura dinàmica en la que es succeixen un seguit de fenòmens. La MEC de la placa, de la qual en depèn la seva integritat estructural, està sotmesa a fenòmens de reparació i remodelació continus. El desenvolupament de la lesió ateromatosa requereix la migració de leucòcits, la proliferació de les cèl.lules musculars llises de la paret arterial, l'acumulació de components de la MEC i la creació de noves reds capil.lars. A

mesura que la placa evoluciona es produirà una dilatació compensadora de l'artèria que conduirà, finalment, a un canvi en l'arquitectura del vas<sup>149</sup>. En les fases més tardanes, quan el desenvolupament de la placa sobrepassa aquesta ectàssia compensadora, la lesió origina una reducció en la secció del vas, és a dir, s'inicia l'estenosi. En aquesta situació poden esdevenir la ruptura i trombosi de la placa. Cadascun d'aquests passos en l'evolució de la placa suposen canvis en la MEC, un procés que es regula tant a nivell de la síntesi com de la degradació dels components de la MEC.

Actualment, és ben conegut que diversos canvis aguts en el si de la placa com l'hemorràgia intraplaca, el trencament i la ulceració, es correlacionen amb les manifestacions clíniques isquèmiques<sup>150</sup>. Treballs recents suggereixen que cada fase dels canvis que tenen lloc en el procés arterioscleròtic estaria dirigit per enzims de la família de les MMPs<sup>151</sup>. Això últim, també ha estat comprovat en els aneurismes aòrtics<sup>152</sup>.

Diversos treballs han demostrat que, in vitro, algunes cèl.lules vasculars humanes són capaces de produir enzims de la família de les MMPs<sup>153,154</sup>. Galis et al.<sup>155</sup> investigaren l'expressió i activació de diverses MMPs (MMP-1, MMP-3 i gelatinasses) i els seus inhibidors (TIMP-1 i TIMP-2) en artèries humanes normals i arterioscleròtiques. Les mostres arterials, obtingudes mitjançant la cirurgia o bé la necròpsia, van ser estudiades amb tècniques d'immunohistoquímica, zimografia i immunoprecipitació. Tant en les artèries lliures d'ateroma com en les arterioscleròtiques les cèl.lules musculars llises van

mostrar la presència de MMP-2, TIMP-1 i TIMP-2. Però, i a diferència de les artèries ateromatoses, les artèries sanes no van mostrar la presència de MMPs actives. Les cèl.lules musculars llises de les plaques, a més de MMP-2, contenen estromelissina, col.lagenassa intersticial i MMP-9. "In vitro", citoquines com la IL-1 o el TNF- de cèl.lules musculars llises humanes, indueixen l'expressió de les mateixes tres MMPs que els autors trobaren elevades en les plaques. Les citoquines, a més d'augmentar l'expressió genètica de les MMPs, regulen l'activació de MMPs per mecanismes mediatos a través de cèl.lules<sup>156</sup> o regulant l'activitat de la plasmina, un activador putatiu in vivo de les MMPs. Els macròfags, molt infreqüents en teixit arterial normal, s'acumulen en les zones de la placa propenses al trencament. En les mostres ateromatoses analitzades en aquest treball, es van localitzar conjuntament amb les MMPs estudiades pels autors. Així, els macròfags podrien ser una font addicional de MMPs a la placa arterioscleròtica.

Loftus IM et al.<sup>157</sup> han mostrat, en un treball molt recent, que existeix un increment localitzat en la concentració de MMP-9 activa en la majoria de plaques carotídiades inestables quan aquestes es van definir per la presència de síndromes cerebrals focals isquèmics recents i positivitat en la detecció de microèmbols mitjançant la monitorització per doppler transcranial. Aquestes plaques inestables no mostraren diferències pel que fa als nivells de MMP-1, MMP-2 (actives i inactives) i MMP-3, en comparar-les amb les concentracions d'aquestes MMPs en les plaques de pacients menys simptomàtics. Els nivells de TIMP-1, el principal inhibidor fisiològic de la MMP-9, no foren significativament

diferents en ambdós grups (plaques estables i plaques inestables). Aquests resultats suggereixen que la MMP-9 podria jugar un paper fonamental en la disrupció aguda de la placa carotídia i conduir a l'inici de la simptomatologia. Altres treballs recents recolzen aquesta teoria i mostren com en les síndromes coronàries agudes es produeix un increment paroxíctic i transitori dels nivells plasmàtics de MMP-9<sup>158</sup>.

Evidències del paper de les MMPs en el procés arterioscleròtic les trobem també en alguns treballs que han mostrat el benefici de certes mesures terapèutiques. Aikawa et al.<sup>159</sup> produïren lesions ateromatoses en 33 conills de forma experimental mitjançant la lesió produïda per un baló i una dieta aterogènica durant quatre mesos. En aquest moment 15 animals foren sacrificats (grup basal) i la resta van ser dividits en dos grups: cinc animals van rebre una dieta hiperlipemiant durant setze mesos més, i els restants una dieta lliure de colesterol durant 8 mesos (n=3) i 16 mesos (n=10). Les lesions ateromatoses del grup basal expressaven nivells elevats de MMP-1 i contenien gran quantitat de macròfags. Aquests canvis persistiren en el grup hiperlipèmic però els animals que van seguir una dieta sense colesterol mostraren una reducció progressiva tant en el contingut de MMP-1 com en el de macròfags que s'accentuava amb el temps. Aquests resultats mostren un mecanisme pel qual la dieta lliure de greixos pot estabilitzar les plaques vulnerables mitjançant la reducció en l'expressió i activitat dels enzims que degraden la MEC.

Bocan et al.<sup>160</sup>, en un treball experimental amb conills molt recent, han provat d'aclarir els efectes de l'inhibidor de l'acil-CoA:colesterol O-aciltransferassa (ACAT) Avasimibe sobre la placa d'ateroma, demostrant que aquest inhibidor limita l'acumulació de macròfags en la lesió, així com en redueix l'activitat catalítica de les formes latents i actives de MMP-9, MMP-1 i MMP-3. La MMP-2 va romandre sense canvis. Els resultats mostren com l'Avasimibe, tot restringint el nombre de macròfags presents en la placa ateromatosa, pot estabilitzar lesions arterioscleròtiques preestablertes mitjançant la reducció en l'expressió de MMPs en el si de la lesió.

#### 2.2.5.2 Metal·loproteinases i Esclerosi Múltiple

Els estudis neuropatològics inicials en l'Esclerosi Múltiple (EM) ja van posar en evidència la transcendència de la paret vascular en la formació de la placa desmielinitzant de l'EM<sup>161</sup>. Més recentment, la possibilitat de realitzar RM amb contrast seriades (gadolini) ha fet reviure l'interès pel llit vascular en la fisiopatologia d'aquesta malaltia<sup>162</sup>. Amb freqüència, l'aparició de la placa en les imatges potenciades en T2 és precedida per canvis en la permeabilitat vascular. La disrupció de la MEC mitjançant enzims proteolítics (MMPs) i uPA podria ser un dels mecanismes implicats en el trencament de la BHE. L'evidència d'això últim prové d'estudis experimentals en animals que han mostrat que la injecció de la col.lagenassa tipus IV de 72 kD (gelatinasa A o MMP-2) directament al parènquima cerebral de la rata origina un increment de la permeabilitat vascular i que l'inhibidor tissular de la MMP-2 (TIMP-2) bloqueja aquests canvis patològics<sup>163</sup>.

Publicacions de les darreres dècades han mostrat que, efectivament, existeix un increment d'enzims proteolítics en líquid cefaloraquidi (LCR) de malalts amb EM suggerint que aquests podrien ser els causants de la desmielinització<sup>164</sup>. Igualment, ha estat demostrat que les gelatinasses es troben augmentades en el LCR de malalts amb EM<sup>165</sup>. El tractament amb esteroides, usats convencionalment en el tractament dels brots d'EM remitent-recurrent, en pacients amb dany de la BHE degut a aquesta entitat, produeix un ràpid tancament de la BHE, com demostren els estudis de neuroimatge contrastats<sup>166</sup>. Això, suggereix que els esteroides afecten, d'alguna forma, la permeabilitat de la BHE. Malgrat tot, el mecanisme a través del qual desenvolupen aquesta acció beneficiosa és desconegut. Rosenberg et al.<sup>167</sup> van demostrar, en un estudi realitzat amb 7 malalts en brot, que la gelatinasa B i l'uPA estaven augmentats en el LCR durant les exacerbacions. Els nivells més elevats d'aquests enzims proteolítics els trobaren en un subgrup de pacients on existia captació de contrast al parènquima cerebral al realitzar la RM amb gadolini. Així mateix, els nivells de MMP-9 i uPA van disminuir significativament després de 3 dies de tractament amb dosis elevades d'esteroides, mentre que la proteinorràquia, la proteïna bàsica de mielina (PBM), l'índex IgG i les bandes oligoclonals van romandre estables, suggerint que l'augment dels enzims proteolítics no era degut al flux de proteïnes a través de la BHE. Els autors postulen que la reducció selectiva que els esteroides produïren en els nivells de gelatinasa B en LCR podien tenir dues possibles explicacions: o bé originaven una reducció en l'expressió genètica de la MMP-9 o bé un increment del TIMP.



És àmpliament acceptat el fet que l'EM és una malaltia immunomediada. La interacció entre certes mol·lècules d'adhesió (VCAM, ICAM-1, L-selectina i TNF ) i les citokines facilita la migració de cèl·lules T activades i macròfags des del compartiment intravascular al parènquima cerebral. Aquesta migració també podria veure's facilitada per la capacitat d'aquestes cèl·lules de produir MMPs, enzims que digereixen la MEC i la membrana basal.

L'interferon-beta (IFN ), una mol·lècula amb activitat immunomoduladora, ha representat un dels majors avenços terapèutics en l'EM, tot i que aquest s'ha donat sense comprendre totalment el seu mecanisme. Al 1996 van aparèixer diverses publicacions<sup>168,169</sup> que, basades en estudis in vitro, proposaven que l'efecte terapèutic del IFN- era secundari a la inhibició de la MMP-9. La transmigració de limfòcits activats a través de membranes basals depèn de la MMP-9 i els dos estudis mostraren que l'IFN- disminuïa la secreció de MMP-9 i la migració de limfòcits a través de membranes basals artificials. Així, va ser proposat que el tractament amb IFN- bloquejava la formació de la placa tot limitant l'entrada de limfòcits al sistema nerviós central.

Waubant et al.<sup>170</sup> van examinar els nivells sèrics de MMP-9 i del seu inhibidor, el TIMP-1, en un estudi sobre la història natural de la malaltia en pacients als quals se'ls van realitzar RM contrastades mensuals. Van trobar que els nivells de MMP-9 augmentaven sense que es produïssin canvis significatius

en el TIMP-1 immediatament abans de l'aparició de noves lesions gadolíniques positives a la RM.

Trojano et al.<sup>171</sup> examinaren els canvis sèrics de MMP-9 en malalts durant el tractament amb IFN- $\gamma$  i van trobar una disminució en el primer any de tractament que es correlacionava amb la millora clínica i neuro-radiològica. Els nivells d'ICAM-1, que es correlacionen inversament amb el trànsit de limfòcits, van ser baixos abans del tractament però augmentaven durant el tractament. Aquests resultats suggerien que els nivells sèrics de MMP-9 reflectien el dany de la BHE en malalts amb EM però no aclarien si eren directament implicats en aquest dany. Aquests dubtes podrien ser aclarits en el futur si es duguessin a terme assajos clínics per probar l'eficàcia dels inhibidors de MMP-9 en la terapèutica d'aquesta malaltia.

Les MMPs i els TIMPs són presents al cervell i els seus nivells canvien, no només a l'EM, si no també a altres patologies que interessen el parènquima cerebral<sup>172</sup>. Han estat estudiats extensament en diversos processos inflamatoris. Al parènquima cerebral, els processos inflamatoris aguts generalment resulten en un increment de MMP-9 mediat per citoquines. La reparació tissular es produeix mitjançant la secreció MMP-2 i TIMP que resten sota control dels factors de creixement. És probable que precoçment en el desenvolupament de les plaques hi hagi un predomini de MMP-9 la qual cosa condueix al dany de la BHE. Més tard, quan la lesió madura i s'inicien els processos de reparació, els

TIMPs i la MMP-2 participarien en la remodelació de la MEC. Això es correspondria amb la fase crònica i progressiva de la malaltia.

### 2.2.5.3 Metal·loproteïnases i Ictus

#### *2.2.5.3.1 Ictus Isquèmic*

És conegut que la isquèmia cerebral origina un allau d'aconteixements a nivell cel·lular amb una cronologia determinada, cadascun dels quals és susceptible de ser considerat com una diana terapèutica. Així, l'alliberació de glutamat i calci té lloc en els primers minuts, mentre que altres fenòmens com la formació d'edema es desenvolupen ja des de les primeres hores i fins uns dies després. Sabem que la formació d'edema combina elements citotòxics i vasogènics que assoleixen un màxim al voltant del segon dia després de l'inici de la isquèmia<sup>173</sup>. La seva severitat pot, en alguns casos, arribar a representar una complicació letal<sup>174</sup> i la seva gènesi està relacionada amb canvis en la microvasculatura.

Rosenberg et al. han mostrat, en un model animal d'isquèmia cerebral focal, que existeix un increment en l'activitat de la gelatinasa B (MMP-9) des de les 12 hores i fins al cinquè dia, mentre que la gelatinasa A (MMP-2) s'eleva a partir del cinquè dia postisquèmia<sup>175</sup>. Un treball<sup>176</sup> necròptic publicat al 1998 en què s'analitzà l'activitat de diverses MMPs després de l'oclusió de l'artèria cerebral mitja en rates, coincidia amb el treball d'en Rosenberg en els temps d'aparició de la MMP-2 i MMP-9 després de la isquèmia. L'estudi mostrà que no s'expressaven altres MMPs (MMP-1 i MMP-3) en els teixits cerebrals isquèmics

estudiats. L'activitat de la MMP-9 es detectà ja a les 6 hores postictus; estava significativament incrementada a les 12 hores; fou màxima a les 24 hores i restà incrementada de forma màxima fins als cinc dies postisquèmia. L'expressió de MMP-2 es detectà a les 24 hores posteriors a l'íctus però va ser màxima als cinc dies.

Clark et al.<sup>177</sup> en un estudi necròptic en humans que havien mort en diferents intervals després d'un ictus isquèmic (2 hores després, 2-4 dies després, des de 4 a diversos mesos després i 7 anys després) van mostrar que la zimografia no revelà canvis en l'activitat de les gelatinasses en el cas en què la mort es produí dues hores després de l'íctus. En tots els altres casos, les gelatinasses es trobaven elevades en la zona infartada si es comparava amb altres zones sanes del teixit cerebral. La zimografia en gel detectà un increment significatiu de la gelatinasa A (MMP-2) en els casos en què la mort va tenir lloc quatre mesos o més després de l'infart, mentre que només van apreciar-se canvis subtils en els casos que moriren entre 2-4 dies després de l'íctus. D'altra banda, la gelatinasa B (MMP-9) mostrà increments màxims en els casos que moriren en l'interval 2-4 dies després de l'íctus i persistiren increments més modestos en els casos que s'analitzaren entre 4 mesos a 7 anys després de l'infart.

En condicions normals, el plasma conté gelatinasa A i B. L'edema cerebral vasogènic, en què es filtren elements plasmàtics al teixit cerebral, podria originar l'augment de la gelatinasa B com a efecte, més que com a

causa, de l'increment de la permeabilitat vascular. Però el fet que la gelatinasa A es trobi només mínimament incrementada en la setmana posterior a l'íctus, quan l'increment de la gelatinasa B és màxim, suggereix que la contribució plasmàtica a aquests canvis és modesta; és a dir, que l'augment de gelatinasa B seria la causa del trencament de la BHE.

La microglia, l'astroglia i les cèl·lules endotelials produeixen gelatinasa B en determinades condicions<sup>178,179</sup>. Els factors o condicions que indueixen activitat de la gelatinasa B al cervell humà, tot i que desconegudes, inclouen probablement citoquines i factors de creixement. Els leucòcits i macròfags tissulars també hi contribueixen. En l'interval que va de les 6 a les 24 hores després de la isquèmia s'acumulen neutròfils que romandran elevats fins uns nou dies després. Els neutròfils produeixen gelatinasa B i, com és sabut, ha estat d'interès el potencial terapèutic de controlar el seu flux en la isquèmia cerebral. En el treball de Romanic et al.<sup>176</sup> es corroborà, en un model animal, que en la fase aguda de la isquèmia cerebral focal apareix una infiltració neutrofílica conjuntament amb una expressió elevada de MMP-9. Els macròfags derivats de la microglia podrien ser transcendents en les fases tardanes de superactivitat de la gelatinasa B, ja que constitueixen una estirp cel·lular molt abundosa en els mesos posteriors a la isquèmia i poden produir gelatinasa B<sup>180</sup>.

Malgrat és d'esperar que les modificacions en el grau d'activitat dels TIMPs tinguin una influència decisiva en la distribució espacial i en l'activitat de les gelatinasses, l'estudi de Clark et al.<sup>177</sup> no aporta dades en els canvis que la isquèmia cerebral suposa. Un treball posterior<sup>176</sup> però, en analitzar l'expressió

de TIMP-1 en parènquima cerebral isquèmic i comparar-lo amb mostres de l'hemisferi contralateral sa (control) no va trobar diferències significatives en l'activitat del TIMP-1.

Com, aquestes i altres variables, es combinen i influencien tot el seguit de fets que succeeixen in vivo, es deconeix. La hiperactivitat en fases tardanes de la gelatinasa A, probablement es correlaciona amb els fenòmens de remodelació capilar postictals més que amb l'edema. Els fenòmens d'angiogènesi que tenen lloc després d'un infart de miocardi experimental s'associen amb un increment en l'activitat de gelatinasa A i B i tPA, i amb una decreixent activitat dels TIMPs. En aquest marc, l'activitat elevada de les gelatinasses podria ser essencial en l'èxit de la revascularització, mentre que la inhibició de les gelatinasses podria ser perjudicial<sup>181</sup>.

El dany per reperfusió afegeix un nou grau de complexitat a la isquèmia. La reintroducció de sang amb neutròfils i oxigen al teixit isquèmic origina canvis complexes. Quan el temps d'isquèmia és curt, el restabliment del fluxe sanguini cerebral és beneficiós i aconsegueix retornar la funció neurològica a la normalitat, però si el temps d'isquèmia és prolongat el retard en la reperfusió comportarà el "dany per reperfusió". Aquest, entre d'altres, origina un augment en l'edema cerebral<sup>182</sup> i un increment del risc d'hemorràgia. Múltiples factors influeixen el risc de sagnat: la longitud de l'oclusió, el tamany de la lesió i l'edat del subjecte. El trencament de la BHE derivat de la reperfusió succeeix de forma bifàsica: els radicals lliures, citoquines i proteasses estarien implicats en

la lesió dels capil.lars cerebrals, mentre que les MMPs actuarien degradant la làmina basal que envolta aquests capil.lars.

S'ha vist com l'administració intracerebral de gelatinasa A origina l'obertura de la BHE i com el TIMP-2, inhibint aquesta gelatinasa, en bloqueja l'obertura<sup>163</sup>. El TNF que es forma al teixit isquèmic incrementa la gelatinasa B a les 24 hores, coincidint amb el moment de màxima obertura de la BHE, i el Batimistat, un altre inhibidor de MMPs, ha mostrat la seva capacitat per reduir el dany al capil.lar<sup>183</sup>.

Evidències procedents d'estudis experimentals en rates<sup>175</sup>, en els que l'activitat de la gelatinasa B ja estava elevada a les 12 hores postictus, fan pensar que aquesta superactivitat origina una disrupció de la làmina basal endotelial i, per tant, un efecte nociu en els primers dos dies postisquèmia. Això podria jugar un paper decisiu en el desenvolupament d'edema i transformació hemorràgica postisquèmia<sup>184</sup>.

Un altre treball de Rosenberg<sup>185</sup> demostra com el dany de la BHE i l'expressió de MMPs en un model animal d'isquèmia cerebral, és temps-depenent. L'obertura precoç, i pèrdua de la funció, de la BHE a les 3 hores de la isquèmia, presumiblement relacionada amb l'expressió de MMP-2, va minimitzar-se amb l'administració d'un inhibidor sintètic de MMPs (BB-1101). Malgrat això, les fases més tardanes de disfunció de la BHE, relacionades amb l'expressió de MMP-9, no van mostrar modificacions amb l'administració de

l'inhibidor. Aquest estudi i d'altres del mateix grup que el precedeixen, mostren com les MMPs i els TIMPs s'afecten dramàticament per la reperfusió i com contribueixen de forma complexa al dany per reperfusió. En aquesta línia d'investigació, Lapchak et al.<sup>186</sup>, treballant amb un model animal (conill) d'isquèmia cerebral focal tromboembòlic descrit anteriorment, han demostrat que l'inhibidor de MMPs, BB-94, atenua el risc de transformació hemorràgica post-fibrinolisi, demostrant d'aquesta manera que la combinació de fàrmacs amb dianes diferents podria suposar una millora en el pronòstic d'aquesta patologia.

Un treball recent, molt interessant, firmat per Asahi et al.<sup>187</sup> parteix de la hipòtesi que la gelatinasa B o MMP-9 podria formar part de la cascada de dany tissular neuronal posterior a la isquèmia cerebral focal. Amb aquest supòsit, i mitjançant un model animal, demostren: primer, que després de la isquèmia existeix una sobreexpressió de formes latents de MMP-9 a l'hemisferi afectat (no al contralateral ni als animals control); segon, que entre les 12 i les 24 hores posteriors a l'inici de la isquèmia cerebral permanent, els nivells de RNAm MMP-9, mesurats mitjançant un tipus de reacció en cadena de la polimerassa ("reverse transcription PCR"), estan augmentats. Tercer, que en realitzar l'experiment amb una estirp d'animals genèticament manipulats per tal que siguin deficitaris en el gen que codifica per la MMP-9, van observar que aquests animals eren més resistents a la isquèmia focal i que això resultà en lesions infàrtiques més petites en aquest grup. Quart, que en administrar un inhibidor sintètic de MMPs, el BB-94, als animals no manipulats genèticament, el volum



de la lesió isquèmica a les 24 hores era significativament més petit mentre que en realitzar el mateix experiment en el grup que havia estat manipulat, les lesions romanien iguals. D'aquesta forma els autors demostren el paper deleteri de la MMP-9 en la isquèmia cerebral focal.

#### *2.2.5.3.2 Hemorràgia intracerebral*

Tot i la proximitat de treballs en el camp de la isquèmia cerebral, després d'una àmplia recerca bibliogràfica hem trobat només un treball en què es van relacionar diverses MMPs amb el desenvolupament d'edema en fase aguda d'una HIC.

Rosenberg et al.<sup>188</sup> en un model experimental d'HIC en rates, van mostrar que les gelatinases A i B estaven significativament elevades a les 24 hores després de l'inici d'una HIC i que la seva elevació coincidia amb el moment de màxim edema. Tot i trobar increments significatius de la gelatinasa A, fou la gelatinasa B, conjuntament amb l'uPA, els que mostraren increments més elevats. L'experiment es realitzà amb rates (n=30) a les quals produïren una HIC profunda mitjançant l'administració esteroatàxica d'una col.lagenassa a diferents dosis (n=6, dosi: 0.2; n=6, dosi: 0.3; n=12, dosi: 0.4 i n=6, dosi: 0.5). A les 6 hores després de l'inici de l'HIC la meitat d'animals de cadascun dels 4 grups rebé un inhibidor específic de MMPs i a les 24 hores de l'inici els animals foren sacrificats. L'estudi necròptic va incloure tècniques de zimografia en gel, tant a l'hemisferi que allotjava l'HIC com al contralateral que es va utilitzar de control, per determinar diferents proteases (MMP-2, MMP-9, uPA,

tPA). Les gelatinasses A i B es van trobar elevades de forma significativa a l'hemisferi que contenia l'HIC, essent aquest increment molt més evident per a la gelatinasa B (MMP-9). A més, van trobar que MMP-9 no només estava augmentada, sinó que hi havia un augment significatiu de les formes actives d'aquesta proteassa al costat lesionat. L'uPA també estava significativament elevat al costat que contenia l'HIC.

La possibilitat que aquests enzims proteolítics fossin els responsables de l'edema que apareixia a les 24 hores de l'HIC es confirmà al mateix treball: els animals que havien rebut l'inhibidor de MMPs desenvoluparen una quantitat d'edema significativament menor.

El treball suggereix que la formació d'edema en la fase aguda de l'HIC podria estar dirigit per MMP-9 i uPA, mitjançant la lesió o disrupció de la BHE, i que l'administració d'un inhibidor específic de MMPs pot reduir la formació d'edema vasogènic en un model experimental d'HIC.

### **3. OBJECTIUS**

Els **objectius principals** d'aquesta tesi són:

1. Demostrar si la gelatinasa B o MMP-9, determinada al plasma, està sobreexpressada o no en l'hemorràgia intracerebral espontània als humans.
2. Esbrinar a través de quina via preferentment (activador del plasminogen tipus uroquinassa -uPA- o MMP-3) es produeix l'activació de les proformes inactives o latents de MMP-9 o gelatinasa B en la fase aguda de l'hemorràgia intracerebral.
3. Determinar la relació entre els nivells de gelatinasa B o MMP-9 i el desenvolupament de l'anell d'hipodensitat perihematoma.

**Altres objectius** que intenta respondre la present tesi són:

1. Determinar la relació de MMP-9 o gelatinasa B amb el volum inicial de l'hemorràgia, el volum de l'hemorràgia en la TC cranial de control i el creixement de l'hemorràgia intracerebral en fase aguda.
2. Determinar si valors més elevats de MMP-9 o gelatinasa B es relacionen o no amb l'estat o situació neurològica del malalt tant basal com entre el tercer i el sisè dia després de l'inici de l'hemorràgia intracerebral.

3. Determinar si la gelatinasa B o MMP-9 es relaciona o no amb la mortalitat en fase aguda i global de l'hemorràgia intracerebral i amb la situació funcional dels malalts als tres mesos.
  
4. Valorar l'expressió de l'inhibidor endogen de MMP-9, TIMP-1, en aquesta patologia, així com la seva influència en el desenvolupament d'edema perihematoma.

## **4. MATERIAL I MÈTODE**

## **4.1 SELECCIÓ DE LA MOSTRA**

Durant el període de temps comprés entre el desembre del 1998 a l'abril del 2000, vam estudiar de forma prospectiva els malalts amb hemorràgia intracerebral diagnosticada per TC cranial arribats al Servei d'Urgències de l'Hospital General Vall d'Hebrón.

### **4.1.1 Criteris d'inclusió**

- Pacients d'edat superior als 18 anys.
- HIC supratentorial, lobar o profunda, diagnosticada mitjançant TC cranial en les primeres 24 hores del procés.
- Malalts que, a priori, serien ingressats i controlats per la Unitat Cerebrovascular del Servei de Neurologia de l'Hospital Vall d'Hebrón.
- Malalts als quals, un cop fet el diagnòstic, es pogués realitzar l'extracció de les mostres per l'estudi en les primeres 24 hores després de l'inici de la clínica.

### **4.1.2 Criteris d'exclusió**

- Hemorràgies infratentorials.
- Hemorràgies secundàries a patologia subjacent (malformacions arteriovenoses, cavernomes, aneurismes, tumors, trombosi de sins i venes

cerebrals, etc) o a tractament anticoagulant, trombolític o malaltia hepàtica greu (amb alteració de la coagulació, INR > 1,7).

- Infart cerebral hemorràgic.
- Associació d'altres malalties que impedissin una avaluació correcta del malalt (malaltia de Parkinson, malalties neuromusculars, artropaties severes, etc).
- Expectativa de vida inferior als 3 mesos (per qualsevol altra patologia diferent de l'HIC).

Durant el període de reclutament van arribar al nostre Servei d'Urgències un total de 83 malalts amb el diagnòstic d'HIC que complien tots els criteris d'inclusió. Finalment es van incloure a l'estudi 57 d'aquests casos.



## **4.2 PROTOCOL D'ESTUDI**

Durant el període de reclutament dels casos les dades es recolliren de forma prospectiva mitjançant un protocol de recollida de dades (Annex 2). Es va determinar l'existència de factors de risc vascular previs, les característiques clíniques i analítiques de l'episodi actual, les troballes de la TC cranial, la situació clínica dels malalts en la fase aguda, la mortalitat, la situació funcional als tres mesos i, posteriorment, es determinaren les metal·loproteinases (MMP-9, MMP-3), el TIMP-1 i l'uPA.

### **4.2.1 Factors de risc vascular**

Es va tenir en compte la presència dels següents factors de risc vascular:

**Hipertensió arterial**: definida com l'antecedent de xifres de pressió arterial (PA) superiors a 140/85 en diverses determinacions o d'HTA en tractament farmacològic. En aquells malalts sense història prèvia d'HTA es va definir com la presència de xifres de PA persistentment superiors o iguals a 160/95 a partir del setè dia després de l'HIC.

**Tabaquisme**: es va definir com el consum actual i regular de cigarretes. Aquells subjectes que havien abandonat l'hàbit en els últims 3 mesos abans de l'HIC van ser considerats fumadors actuals.

◀ Enolisme crònic: definit com la ingesta continuada de 40 grams/dia d'alcohol etílic. Es va considerar, a més, la presència d'una ingesta aguda d'alcohol (24-48 hores prèvies a l'HIC).

◀ Drogues i fàrmacs: Es va recollir l'ús continuat o esporàdic, però temporalment relacionat amb l'episodi, de certes drogues (cocaïna, amfetamines, descongestionants nasals, píndoles per aprimar-se, etc) de les quals es té coneixement que poden ser causa d'una HIC.

➤ Antiagregants: L'ús de medicació antiagregant de forma continuada, així com, en cas afirmatiu, el tipus d'antiagregant i la dosi diària, van ser recollits donat el coneixement derivat de múltiples estudis que relacionen aquests fàrmacs amb el desenvolupament d'HIC.

➤ Ictus previ: Es va recollir l'antecedent d'ictus isquèmic o hemorràgic quan es coneixia l'entitat nosològica o ictus desconegut quan se'n desconeixia el tipus.

➤ Diabetis Mellitus: Tot i que els estudis epidemiològics no confirmen el paper de la diabetis com a factor de risc pel desenvolupament d'una HIC, vam recollir aquest antecedent definit com diabetis prèviament coneguda.

#### **4.2.2 Dades clíniques i analítiques relacionades amb l'hemorràgia intracerebral**

Es recolliren les següents dades sobre l'episodi agut:

➤ Data de l'hemorràgia intracerebral: dia/mes/any. Hora d'inici de la simptomatologia.

➤ **Localització de l'hemorràgia intracerebral:** La imatge obtinguda per TC cranial va permetre establir la localització de la lesió hemorràgica en cada cas. La identificació de la localització de l'HIC es derivà del següent procés: es cercava aquell tall tomogràfic on l'HIC presentava la major superfície, és a dir, aquell tall on es mesurarien els diàmetres longitudinal i transversal, i es buscava el centre geomètric. Per extrapolació, aquest punt es considera l'origen del sagnat. Si aquest punt es situava al tàlem, el putamen, la càpsula interna o el caudat, es definí com una HIC profunda. La resta d'HIC, amb el seu punt geomètric situat en algun dels lòbuls cerebrals, es definiren com HIC lobars.

➤ **Lateralitat de l'hemorràgia intracerebral:** Dreta o esquerra, segons la imatge obtinguda per TC cranial.

➤ **Invasió extraparenquimatososa de l'hemorràgia intracerebral:** En aquest apartat es definiren les següents possibilitats: 1) sense disseminació a l'espai extraparenquimatos, 2) amb disseminació al sistema ventricular: quan per TC cranial es confirmà la invasió del sistema ventricular (ventricles laterals, tercer ventricle i/o quart ventricle) amb contingut hemàtic, 3) amb disseminació a l'espai subaracnoidal: quan per TC cranial es confirmà la invasió hemàtica d'aquest espai, i 4) ambdues: quan la TC cranial mostrà la disseminació tant a espai subaracnoidal com al sistema ventricular.

➤ **Inici de la clínica:** Es definiren dues possibilitats d'acord amb els criteris diagnòstics del "Grupo de Estudio de Enfermedades Cerebrovasculares de la Sociedad Española de Neurología": 1) brusca: quan la totalitat de la simptomatologia es presenta de forma aguda i roman estable al llarg dels

següents minuts, i 2) progressiu: quan el quadre clínic s'instaura de forma aguda però progressa en els següents minuts.

➤ Crisis comicials precoces: En aquells malalts en què durant la fase hospitalària aguda aparegueren crisis epilèptiques, bé focals, bé generalitzades, es recollí aquest fet al protocol d'estudi.

➤ Etiologia de l'hemorràgia intracerebral: Els antecedents patològics així com la imatge de l'hemorràgia per TC cranial foren aspectes claus a l'hora d'establir l'orientació diagnòstica i la necessitat de realitzar altres proves d'imatge o d'angioradiologia intervencionista. En cada cas, les passes diagnòstiques foren les recomanades pel "Grupo de Estudio de Enfermedades Cerebrovasculares de la Sociedad Española de Neurología".

Definirem HIC d'origen hipertensiu quan:

1. La TC cranial demostrà la presència d'una lesió única i homogènia. La localització de l'HIC era profunda. Existia l'antecedent d'HTA. L'edat del subjecte era superior als 45 anys.
2. La TC cranial demostrà la presència d'una lesió única i homogènia. La localització de l'HIC era profunda. Existia l'antecedent d'HTA. En subjectes menors de 45 anys d'edat, la realització d'una prova angiogràfica descartava l'existència d'una lesió vascular subjacent a una altra causa primària.
3. La TC cranial demostrà la presència d'una lesió única i homogènia. La localització de l'HIC era lobar. Existia l'antecedent d'HTA. L'edat del subjecte

era superior als 45 anys. La realització d'una RM amb seqüències gradient-Echo descartava la presència de microhemorràgies cròniques de predomini còrtico-subcortical o l'existència de lesions subjacents.

4. La TC cranial demostrà la presència d'una lesió única i homogènia. La localització de l'HIC era lobar. Existia l'antecedent d'HTA. L'edat del subjecte era inferior als 45 anys però la realització d'una prova angiogràfica permetia excloure l'existència d'una lesió vascular subjacent.

Definirem HIC en relació amb Angiopatia Amiloide Cerebral quan:

1. La TC cranial demostrà la presència d'una lesió única i homogènia. La localització de l'HIC era lobar. L'edat del subjecte era superior als 70 anys, no era hipertens i existia deteriorament cognitiu previ o una RM amb seqüències gradient-Echo que confirmaven la presència de microhemorràgies cròniques de localització predominantment còrtico-subcortical.
2. La TC cranial demostrà la presència de lesions hemorràgiques múltiples de localització lobar. El subjecte no tenia factors de risc vasculars previs. La realització d'una prova amb contrast i una prova angiogràfica descartaven la presència de lesions vasculars o tumorals subjacents.

Definirem altres causes d'HIC quan:

1. Es descartava l'origen hipertensiu de l'hemorràgia o l'AAC, així com la presència de lesions tumorals o vasculars subjacents. No existia l'antecedent de tractament anticoagulant.
2. Després d'un estudi negatiu, es podia relacionar l'HIC amb l'existència de tractament antiagregant previ, la ingesta d'alcohol, l'exposició al fred o a certes drogues i fàrmacs, malaltia de Moya-Moya, etc.

Definirem HIC d'origen indeterminat:

1. Quan en un mateix subjecte coincidien dues o més causes relacionables amb l'HIC (excloses aquelles que constitueixen criteri d'exclusió de l'estudi), essent les exploracions complementàries no determinants d'una o altra causa.

Definirem HIC d'origen o causa desconeguda:

1. En aquells casos en què després de la realització de totes les exploracions complementàries pertinents, no se'n va poder demostrar la causa.

➤ Dades analítiques i constants: es recolliren diferents dades analítiques i constants en els següents temps:

1. Basals: PA sistòlica i diastòlica, temperatura, glucèmia, leucòcits, fibrinogen, temps de protrombina, temps de tromboplastina parcial activada, hemoglobina, hematòcrit, plaquetes, AST i ALT.
2. El tercer dia: : PA sistòlica i diastòlica, temperatura i glucèmia.

3. Entre el cinquè i el setè dia: PA sistòlica i diastòlica, temperatura, glucèmia, leucòcits, fibrinogen, temps de protrombina, temps de tromboplastina parcial activada, hemoglobina, hematòcrit, plaquetes, AST i ALT.

#### **4.2.3 Valoració de l'estat neurològic i mortalitat**

La valoració de l'estat neurològic es realitzà en 2 temps diferents: basal (V1) i entre el 3<sup>r</sup> al 6<sup>e</sup> dia, coincidint amb la TC cranial de control (V2). Als 3 mesos (V3) es determinà l'evolució de cada cas. Les escales neurològiques utilitzades en les 2 primeres visites foren:

- Escales de Glasgow: remetre's a l'annex 3.
- Escales Canadenca d'Ictus: remetre's a l'annex 4.

En la V3 s'aplicaren escales de discapacitat i hàndicap, específicament:

- Escales o Índex de Barthel: remetre's a l'annex 5.
- Escales de Rankin modificada: remetre's a l'annex 6.

Es recollí la incidència de mortalitat de la forma següent:

- Hiperaguda: aquells casos que foren exitus entre el 1<sup>er</sup> i el 3<sup>er</sup> dia.
- Aguda: aquells casos que foren exitus entre el 4<sup>rt</sup> dia i el 6<sup>e</sup> dia. Es va definir mortalitat "aguda acumulada" per referir-nos a aquells casos que foren exitus entre el 1<sup>er</sup> i el 6<sup>e</sup> dia.
- Subaguda: aquells casos que foren exitus entre els dies 7 i 90.

➤ Global: la suma de les mortalitats en els diferents temps.

#### 4.2.3.1 Definició d'empitjorament neurològic

Es va definir el concepte d'empitjorament neurològic com una davallada en l'escala canadenca d'un punt o més entre les visites 1 i 2.

#### **4.2.4 Tomografia computeritzada cranial**

El diagnòstic d'una HIC, seguint les guies del "Grupo de Estudio de Enfermedades Cerebrovasculares de la Sociedad Española de Neurología", ve definit per l'aparició brusca, estable o progressiva, d'un dèficit neurològic focal i una Tomografia Computeritzada (TC) cranial sense contrast compatible; és a dir, que mostri l'existència de la típica lesió hiperdensa. Així doncs, en tots els casos el diagnòstic d'HIC es realitzà segons aquesta definició.

La TC cranial es va dur a terme segons el protocol d'estudi de la fossa craniana del Servei de Neuroradiologia del nostre hospital (Institut de Diagnòstic per Imatge -IDI-). El subjecte es col.loca en decúbit supí a la llitera i s'introdueix a l'aparell fent girar el "gantry" fins centrar-lo a la línia òrbitomeatal. A partir d'aquí, els següents passos estan estandarditzats i inclouen talls tomogràfics de 2,5 mm a la fossa posterior i de 10 mm a la superior. Les característiques tècniques queden resumides a la figura 4.2.1.



<b>PROTOCOL D'ESTUDI DE LA FOSSA POSTERIOR</b>	<b>PROTOCOL D'ESTUDI DE LA FOSSA MITJA I ANTERIOR</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Diàmetre del tall: 240 mm.</li> <li>- Amplada del tall: 2,5 mm.</li> <li>- Temps d'escanejat: 2,1 seg.</li> <li>- Resolució: estàndard.</li> <li>- Angle d'escanejat: 382°</li> <li>- Voltatge: 120 kV</li> <li>- Miliampers-segon: 315 mAs.</li> <li>- Inclinació: 17,2°</li> <li>- Gir: -1,7°</li> <li>- Posició llitera: 0 mm.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Diàmetre del tall: 240 mm.</li> <li>- Amplada del tall: 10 mm.</li> <li>- Temps d'escanejat: 2,1 seg.</li> <li>- Resolució: estàndard.</li> <li>- Angle d'escanejat: 382°</li> <li>- Voltatge: 120 kV</li> <li>- Miliampers-segon: 315 mAs.</li> <li>- Inclinació: 17,2°</li> <li>- Gir: -1,7°</li> </ul>

Figura 4.2.1. Detalls tècnics del protocol d'estudi per TC de la cavitat craniana.

#### 4.2.4.1 Determinació del volum de l'hemorràgia i de l'edema perihematoma

Un cop el diagnòstic d'HIC estava confirmat per la TC cranial realitzada en les primeres 24 hores després de l'inici de la clínica (TC 1), es procedí a la mesura del volum inicial de l'hematoma (VHIC 1). Per aquesta finalitat vàrem utilitzar el mètode clàssic, en el qual s'aplica la fórmula matemàtica:

$$V = 0,5 \times A \times B \times C$$

on (A) i (B) són els diàmetres majors, perpendiculars entre ells, de la lesió i (C) és el nombre de talls tomogràfics de 10 mm de gruix en els que es veu la lesió. Les dades s'expressen en centímetres cúbics (cc).

El protocol va incloure la realització d'una segona TC cranial (TC 2) en un període de temps que anava des del tercer fins al sisè dia després de l'inici de la clínica. En la TC 2 es van mesurar novament el volum de l'HIC (VHIC 2), així

com el volum de l'edema perihematoma (VE). El càlcul de VE es realitzà restant del volum total (VHIC 2 + VE) el VHIC 2, aplicant la fórmula abans referida.

#### **4.2.4.2 Creixement de l'hemorràgia intracerebral**

Tot i que existeixen en la literatura diferències pel que fa al tant per cent d'increment entre el volum 1 i el volum 2 que es considera creixement de l'HIC (Kazui et al.<sup>189,190</sup>) nosaltres vam definir creixement de l'HIC com qualsevol increment en el volum de la lesió ( $VHIC\ 2/VHIC\ 1 > 1$ ) mesurada en les dues TC cranials.

#### **4.2.5 Recollida i processament de les mostres plasmàtiques**

Una vegada fet el diagnòstic d'HIC supratentorial es procedí a l'extracció de mostres plasmàtiques (tubs de 4,5 ml amb EDTA) mitjançant venopunció. Les mostres havien d'estar extretes en les primeres 24 hores després de l'inici del quadre clínic. Un cop obtingudes i després d'un període de repòs d'aproximadament 15-30 minuts a temperatura ambient, es procedí a la centrifugació dels tubs (15 minuts a 3000 rpm) per tal de separar el plasma. Posteriorment, el sobrenadant o plasma es va aliquotar i emmagatzemar al congelador a una temperatura de -80°C fins el moment de l'anàlisi.

##### **4.2.5.1 Determinació de MMP-9, MMP-3, TIMP-1 i uPA**

Els nivells plasmàtics de MMP-9, MMP-3, TIMP-1 i uPA varen ser mesurats mitjançant plaques d'ELISA ("enzyme linked immunosorbent assay")

comercialitzades i disponibles al mercat. La MMP-9 o gelatinasa B es determinà mitjançant el kit ELISA RPN 2614 (Amersham Pharmacia, Regne Unit), la MMP-3 o estromelissina 1 amb el kit ELISA RPN 2613 (Amersham Pharmacia, Regne Unit), el TIMP-1 amb el kit ELISA RPN 2618 (Amersham Pharmacia, Regne Unit) i, finalment, l'uPA es mesurà amb el kit ELISA Tintelize uPA (Biopool, Suècia). Els procediments del laboratori van ser executats seguint les instruccions del fabricant.

Els valors de referència del nostre laboratori, prèviament validats per la Unitat de Recerca en Hemostàssia de l'Hospital Vall d'Hebrón (equip de la Dra. Monasterio), foren:  $41,03 \pm 27,88$  ng/ml per la MMP-9 (N=62; 58% homes, sensibilitat de la tècnica: 0,6 ng/ml, dilució 1/5, rang de normalitat 97 ng/ml),  $2,46 \pm 0,64$  ng/ml per la MMP-3 (N=38; 31,6% homes, sensibilitat de la tècnica: 2,35 ng/ml, sense dilució, rang de normalitat 6,585 ng/ml),  $625,432 \pm 76,07$  ng/ml pel TIMP-1 (N=40; 30% homes, sensibilitat de la tècnica: 1,25 ng/ml, dilució 1/40, rang de normalitat 475,94-763,34 ng/ml) i  $0,355 \pm 0,125$  ng/ml per l'uPA (N=40; 50% homes, sensibilitat de la tècnica: 0,1 ng/ml, rang de normalitat 0,609 ng/ml).

### **4.3 ANÀLISI ESTADÍSTICA**

Per l'anàlisi estadística s'ha utilitzat el paquet estadístic SPSS 10.0 per Windows obtenint les dades d'una base creada en ACCESS'97.

El primer pas ha estat realitzar una anàlisi descriptiva de totes les variables, tant per les contínues com per les discretes. Les primeres es van expressar en mitja  $\pm$  desviació estàndard i les segones en número de casos i percentatge. Les variables d'escala i les de temps es van expressar en mediana (mínim – màxim). Posteriorment es va dur a terme l'anàlisi multivariant.

Per comparar grups, en el cas de variables contínues, es va utilitzar la prova t (2 grups) o ANOVA (més de 2 grups) en el cas que s'utilitzessin tots els pacients i la prova U de Mann-Whitney (2 grups) o Kruskal-Wallis (més de dos grups) en el cas que només s'analitzessin el grup de pacients amb HIC profunda o lobar per separat, donat el reduït gruix de la mostra, i en les variables d'escala o temps. En el cas de les variables categòriques es va usar la prova  $\chi^2$  i el test exacte de Fisher. Aquest últim quan hi havia més del 20% de les caselles amb una freqüència esperada menor que 5. La comparació entre dues variables contínues es va realitzar mitjançant el test de correlació de Pearson per l'anàlisi de tots els casos i el test de correlació d'Spearman per les variables d'escala, temps i en l'anàlisi dels casos amb HIC profundes o lobars per separat, donat el reduït gruix de la mostra.

Per estudiar el volum de l'anell en les HIC profundes, mesurat en la segona TC cranial, l'hem categoritzat en dos grups mitjançant la mediana. Per calcular la sensibilitat i l'especificitat que ens permeten obtenir els punts de tall per categoritzar els valors de les variables volum HIC 1 i MMP-9 s'ha utilitzat una curva ROC (Receiver Operator Characteristic). Per categoritzar els valors de l'escala Canadenca s'ha utilitzat la mediana. Seguidament es va fer una anàlisi de regressió logística pel mètode per passes cap endavant, utilitzant el test de màxima versemblança per determinar quins factors podien ser considerats com a predictors independents del volum de l'anell. El model va incloure totes les variables que en l'anàlisi bivariant havien obtingut un p-valor inferior a 0,05 i les que tenien una forta tendència a apropar-se a aquest valor. D'aquesta forma es van obtenir el/s factor/s que, en conjunt amb totes les variables regressores, eren significatius respecte al volum de l'anell.

Per estudiar els factors que intervenen en la ratio "volum anell/volum HIC 1" en el global de les HIC, hem categoritzat aquesta variable en dos grups mitjançant el valor de la mediana. S'ha fet una curva ROC per calcular la sensibilitat i especificitat que ens permet obtenir el punt de tall per a les variables contínues AST i MMP-9. Posteriorment, es va realitzar una anàlisi de regressió logística per passes cap endavant utilitzant el mètode de màxima versemblança per determinar quins factors podien ser considerats com a predictors independents de la ratio o quocient. Després de fer l'anàlisi

univariant en cada component i veient que els resultats obtinguts per la regressió amb aquest mètode no eren resolutius, vam fer una altra anàlisi pel mètode per passes cap endarrera.

Finalment, seguint els criteris de les regressions anteriors, es va fer una altra anàlisi per estudiar la variable ratio en les HIC profundes.

En totes les regressions es va fer una anàlisi univariant per determinar l'odds ratio de cada una d'aquestes variables respecte de la variable dependent.

Totes les proves es van realitzar amb un nivell de significació del 5% i es va considerar com a tendència un nivell de significació entre el 5% i el 10%.

## **5. RESULTATS**

## **6. DISCUSSIÓ**



## **6.1 EXPRESSIÓ DE MMP-9 EN L'HEMORRÀGIA INTRACEREBRAL AGUDA ESPONTÀNIA EN HUMANS**

Hem trobat uns valors de MMP-9 clarament augmentats en els malalts inclosos en l'estudi. Aquest treball demostra, per primera vegada en humans, que *la gelatinasa B o MMP-9 està sobreexpressada en l'hemorràgia intracerebral aguda espontània.*

Si bé actualment disposem d'evidències suficients respecte de la sobreexpressió d'aquesta metal.loproteïnasa de la matriu i de la seva implicació en diversos processos patològics com l'artritis reumatoide, l'arteriosclerosi i la invasió tumoral, la investigació del seu paper en la malaltia cerebrovascular ha estat dirigida, principalment, a l'estudi del seu rol en la isquèmia cerebral. En els darrers anys han estat molts i molt interessants els treballs, tant experimentals com en humans, que demostren les implicacions de les gelatinasses en la cascada isquèmica.

Els primers treballs de Rosenberg et al.<sup>175</sup>, Romanic et al.<sup>176</sup>, i Clark et al.<sup>177</sup> en aquest camp demostraren que la MMP-9 es sobreexpressava precoçment després de l'íctus isquèmic, que la MMP-2 ho feia més tardanament i que l'administració d'un inhibidor de la MMP-9 reduïa el volum de l'infart. Treballs més actuals, com el de Lapchak et al.<sup>186</sup>, relacionen el risc de transformació hemorràgica de l'infart cerebral tractat amb fibrinolítics en les 3 primeres hores amb la sobreexpressió de MMP-9 i demostren que l'ús d'un

inhibidor sintètic de MMPs redueix significativament aquest risc. Finalment, un treball de la nostra Unitat ha demostrat com els valors basals de MMP-9, mesurats amb tècniques ELISA en malalts amb ictus isquèmic cardioembòlic de menys de 6 hores d'evolució, es correlacionen significativament amb el volum final de l'infart cerebral i l'estat o situació neurològica del malalt mesurada a les 48 hores<sup>191</sup>.

En contrast amb la prolixa i recent investigació en el camp de la isquèmia cerebral, són molt escasses les publicacions en el camp de la patologia cerebral hemorràgica. No existeix, fins el moment actual, cap treball publicat que demostrï, en humans, l'increment en l'expressió de la gelatinasa B en aquesta patologia. Malgrat que aquest treball no es va plantejar com un estudi cas control i que, per tant, no hem pogut comparar els valors de la MMP-9 en els nostres casos amb els dels controls sans en què prèviament s'havien validat la tècnica i determinat els valors de normalitat de la MMP-9 ( $X \pm DS = 51,27 \pm 44,09$  ng/ml). Les determinacions de MMP-9 dels malalts inclosos, tant dels que havien presentat una HIC profunda com dels que havien presentat una HIC lobar, van situar-se clarament per sobre del rang superior de la normalitat (remetre's a la figura 5.1.4).

### **6.1.1 Variables relacionades amb els valors de MMP-9**

L'estudi de les relacions entre les variables recollides i el valor de MMP-9 ha mostrat que, en el global de les HIC estudiades, la MMP-9 està significativament relacionada amb l'antecedent d'hipertensió arterial crònica

( $p < 0,01$ ) i amb les variables de laboratori: glucèmia ( $p < 0,01$ ), hemoglobina ( $p < 0,05$ ) i hematocrit ( $p < 0,01$ ) inicials, i amb el valor de l'uPA ( $p < 0,05$ ). S'observa una tendència a l'associació entre valors majors de MMP-9 i l'etiologia hipertensiva de l'HIC i entre els valors de MMP-9 i el fibrinogen inicial.

Les variables que s'han mostrat relacionades amb el valor de MMP-9 en el subgrup de les HIC profundes han estat: l'antecedent d'hipertensió arterial ( $p < 0,01$ ), l'uPA ( $p < 0,05$ ) i el volum de l'anell d'hipodensitat perihematoma ( $p < 0,01$ ). S'observa una tendència a la relació entre valors majors de MMP-9 i l'etiologia hipertensiva, així com entre valors de la gelatinasa B majors i l'empitjorament clínic del malalt, definit com una caiguda d'un punt o més en l'escala Canadenc de control, i amb el volum total (volum de l'hemorràgia més volum de l'anell) de la lesió final mesurada en la TC cranial de control.

Les variables que s'han mostrat relacionades amb el valor de la MMP-9 en el subgrup de les HIC lobars han estat: els valors inicials de la glucèmia ( $p < 0,01$ ), els leucòcits ( $p < 0,05$ ) i el fibrinogen ( $p < 0,05$ ). Els valors del TIMP-1 també han mostrat una associació estadísticament significativa ( $p < 0,05$ ) amb els valors de la MMP-9 en aquest tipus d'HIC. Existeix una tendència a la relació entre els valors de MMP-9 i els del TTPa inicial, i entre la MMP-9 i la MMP-3.

### **6.1.2 Vies d'activació de MMP-9: expressió de MMP-3 i uPA**

Un dels objectius del present treball era esbrinar si l'expressió de MMP-9 en aquesta patologia es relacionava amb l'activitat de l'uPA i/o amb la de

l'estromelissina 1 o MMP-3. Tot i que els valors d'uPA i els de MMP-3 en la nostra mostra varen mantenir-se dins del límit de la normalitat (remetre's a les figures 5.1.5 i 5.1.6), quan vam analitzar les relacions entre els valors de MMP-9 i els de la MMP-3 i l'uPA en el global de la mostra, vam observar una correlació estadísticament significativa únicament amb l'uPA ( $p < 0,05$ ). Aquesta relació es va mantenir quan vam estudiar les HIC profundes però no en el subgrup d'HIC lobars. En aquest últim subgrup apareix una tendència a la relació entre els valors de MMP-9 i els de MMP-3.

Diferents mecanismes poden intervenir en l'activació de MMPs i es coneix que la MMP-3 o estromelissina 1 pot superactivar les pro-col.lagenasses generant col.lagenasses amb una activitat específica d'entre 5 a 12 vegades major<sup>143</sup>. S'ha demostrat que la pro-MMP-9 pot fer-se activa per acció de la MMP-3<sup>144</sup>. D'altra banda, diversos treballs han demostrat que les proformes inactives de MMP-9 són susceptibles de ser activades a través de la plasmina que es genera per l'acció dels activadors del plasminogen<sup>147,148,192</sup> i, finalment, altres estudis han hipotetitzat que l'acció de la plasmina sobre MMP-9 es duria a terme indirectament mitjançant l'activació de pro-MMP-3. Hem de tenir en compte que la majoria d'aquestes evidències procedeixen d'estudis "in vitro" i no es coneixen, certament, quines són les vies d'activació "in vivo", ni tampoc si aquestes vies d'activació poden ser procés-dependents; és a dir, que existeixin variacions pel que fa a l'activació de la gelatinasa B en funció de la malaltia o procés que s'investigui.

Coneixent que després d'una HIC, on la ruptura d'un vas condiona la formació d'un tap hemostàtic, es posa en marxa el sistema fibrinolític per compensar la via coagulativa, nosaltres vam hipotetitzar que els nivells de MMP-9 es relacionarien amb l'uPA. Així ha estat quan hem estudiat la sèrie en conjunt i en el subgrup d'HIC profundes, mentre que aquesta relació no aparegué quan es van estudiar les HIC lobars. En aquest últim grup s'observà una tendència, únicament, a la relació entre els nivells de MMP-9 i els de la MMP-3.

Aquestes diferències podrien explicar-se per dos fets. D'una banda, s'ha de sospesar el fet que aquest treball es va plantejar com un estudi en temps únic; és a dir, que es va realitzar una sola determinació plasmàtica en les primeres 24 hores després de l'inici del quadre clínic. És plausible doncs, pensar que determinacions seriadades ens haguéssin mostrat amb major claredat les relacions temporals que s'estableixen entre aquestes mol.lècules i que això ens hagués permés comprovar millor el pes de l'uPA i la MMP-3 en aquest procés. D'una altra banda, un no pot evitar pensar que aquestes troballes tradueixen, en realitat, que *les vies d'activació de MMP-9 podrien ser diferents en les HIC lobars i les profundes*. En aquest sentit, les troballes del present estudi mostren que *en les HIC profundes és l'uPA el que es relaciona amb els nivells de MMP-9, mentre que a les HIC lobars existeix una tendència a l'associació amb la MMP-3*. És probable que la relació entre la MMP-9 i l'uPA que hem trobat en analitzar el conjunt de les HIC estigui fortament influïda per l'alt percentatge que les HIC profundes representen en el global de la mostra.

## **6.2 RELACIÓ DELS VALORS DE MMP-9 AMB EL DESENVOLUPAMENT DE L'ANEL·L D'HIPODENSITAT PERIHEMATOMA**

### ***6.2.1 Variables que influeixen en la formació de l'anell. El paper del volum inicial de l'HIC***

L'anàlisi de les variables que es relacionen amb l'anell mostra, en el global de la sèrie, que la hipodensitat perihematoma es relaciona significativament amb valors més baixos de la PA sistòlica ( $p < 0,01$ ) i diastòlica ( $p < 0,05$ ) inicials, volums HIC-1 més grans ( $p < 0,001$ ) i una puntuació més baixa en les escales de Glasgow ( $p < 0,05$ ) i Canadencs ( $p < 0,05$ ) inicials. S'observa una tendència a relacionar-se amb l'antecedent d'HTA i la presència d'edema a la TC diagnòstica o inicial.

En el subgrup d'HIC profundes, el volum de l'anell es va associar significativament amb l'antecedent d'enolisme (i enolisme crònic) ( $p < 0,05$ ), valors més elevats de MMP-9 ( $p < 0,01$ ), volums HIC-1 més grans ( $p < 0,001$ ) i una puntuació en l'escala Canadencs més baixa ( $p < 0,05$ ). S'observa una tendència a l'associació amb l'antecedent de tabaquisme, una PA sistòlica inicial menor i la presència d'edema inicial.

En les HIC lobars, el volum de l'anell d'hipodensitat es va relacionar significativament amb l'antecedent de tabaquisme ( $p < 0,05$ ), una PA sistòlica i diastòlica inicials menors ( $p < 0,05$ ), valors de la glucèmia inicial majors

( $p < 0,01$ ) i un volum HIC-1 més gran ( $p < 0,01$ ). S'observa una tendència a l'associació amb un percentatge major del temps de protrombina inicial.

L'anàlisi multivariant dels factors o variables que influeixen en el desenvolupament de l'anell d'hipodensitat perihematoma en les HIC profundes (l'única localització en què vam trobar una correlació significativa amb el valor de la MMP-9) va mostrar que l'únic factor que es relaciona de forma estadísticament significativa amb la formació d'aquest anell és el volum inicial de l'hemorràgia (OR: 3,377; IC 95%: 1,103-10,346;  $p < 0,05$ ).

El pes decisiu que el volum inicial de l'HIC té en la formació de l'anell i assumint que aquest és un factor sobre el que no es pot actuar, al menys en les HIC de localització profunda, va fer que a efectes estadístics utilitzéssim el quocient "volum de l'anell/volum de la HIC-1" per tal d'eliminar la importància del volum hemorràgic inicial.

### **6.2.2 Variables que influeixen en el quocient "volum de l'anell/volum HIC 1"**

L'anàlisi univariant va mostrar que valors majors d'aquesta ratio es relacionaven significativament, en el global de les hemorràgies, amb valors més elevats de MMP-9 ( $p < 0,05$ ) i amb una puntuació inicial en l'escala de coma de Glasgow més alta ( $p < 0,05$ ). S'observà una tendència en la relació amb la lateralitat dreta i valors inicials de l'AST més alts.

En les HIC profundes, valors majors del quocient es van relacionar de forma significativa amb valors més alts de la MMP-9 ( $p < 0,01$ ) mentre que la ingesta prèvia d'antiagregants es va relacionar amb un quocient menor ( $p < 0,05$ ). S'observa una tendència a l'associació entre la presència d'ictus previs i un valor més baix del quocient.

### **6.2.3 Relació amb el volum de l'anell d'hipodensitat**

El nostre treball demostra que els nivells basals de MMP-9, mesurats plasmàticament en les primeres 24 hores després de l'inici de la simptomatologia, es relacionen amb volums majors de l'anell d'hipodensitat perihematoma que es desenvolupa en les HIC profundes. Malgrat tot, la regressió logística va demostrar que el factor decisiu en el desenvolupament d'aquest anell és el volum inicial de l'HIC. Quan es va realitzar la mateixa anàlisi però estudiant la variable quocient vam observar que el valor de la MMP-9 era l'únic factor associat a una proporció volum anell/volum HIC 1 major, tant en el global de la sèrie (OR: 6,363; IC 95%: 1,021-39,653;  $p < 0,05$ ), com en les HIC de localització profunda (OR: 11,665; IC 95%: 1,527-89,101;  $p < 0,05$ ).

Les dades comentades susciten diversos interrogants. El primer, què és realment aquesta hipodensitat que apareix al voltant de l'HIC?. És ben conegut que diversos mecanismes estan implicats en el desenvolupament d'aquesta hipodensitat; bàsicament, la formació d'edema vasogènic per alteració o disrupció de la BHE<sup>111,113</sup> i la isquèmia<sup>121</sup>. Mol·lècules, com l'elastassa, la plasmina i el TNF<sup>122,123</sup> han estat implicades en l'aparició d'aquest edema



vasogènic i és probable que aquestes proteïnes, juntament amb la gelatinasa B i altres mol·lècules, estiguin íntimament relacionades i que totes elles formin part de l'allau d'aconteixements mol·leculars que, actuant en diferents moments després de l'inici d'una HIC, configuren la cascada de dany endotelial que durà, finalment, a la disrupció de la BHE. És probable que la determinació concomitant de marcadors de lesió endotelial (plasmina, MMP-9...) i d'isquèmia (glutamat, IL-6, TNF ...) aportés informació sobre el pes que aquests dos mecanismes tenen en la gènesi de l'anell d'hipodensitat perihematoma.

Diversos treballs han demostrat que la gelatinasa B o MMP-9 és un marcador de lesió de la BHE<sup>123,167,170,185</sup>, és a dir, d'edema vasogènic. Així, les conclusions que es poden extraure del present treball són:

*Els mecanismes que condueixen a la formació de la hipodensitat al voltant de l'HIC són diferents quan aquesta HIC es localitza en la profunditat del cervell o als lòbuls cerebrals.*

*La MMP-9 o gelatinasa B és una de les mol·lècules implicades en el seguit d'aconteixements que conduiran a la formació d'edema vasogènic, part integrant de l'anell d'hipodensitat perihematoma, al menys en les hemorràgies de localització profunda.*

### **6.3 RELACIÓ DELS VALORS DE MMP-9 O GELATINASA B AMB EL VOLUM I CREIXEMENT DE L'HEMORRÀGIA INTRACEREBRAL ESPONTÀNIA**

Els valors de MMP-9 o gelatinasa B no es van relacionar ni amb el volum inicial de l'HIC ni amb el creixement de l'HIC, en aquells casos en què aquest fet es va constatar, quan es van estudiar la mostra en conjunt, les HIC lobars i les HIC profundes. Tenint en compte que no existeixen treballs previs en humans que relacionin l'HIC amb les MMPs és difícil discutir aquests aspectes si no és referint-nos a l'únic treball experimental que investigà l'expressió de MMP-9 en l'HIC o bé fent una extrapolació dels treballs que relacionen MMPs amb ictus isquèmic, assumint les diferències existents entre ambdós processos.

L'únic treball publicat on s'investigà la presència i expressió de la MMP-9 o gelatinasa B en aquesta patologia és un treball experimental conduït per Rosenberg et al.<sup>188</sup> on injectant diferents dosis d'una col.lagenassa bacteriana en un grup de 30 rates es generaren HIC amb un volum dependent de la dosi administrada. L'estudi no fa esment d'una relació quantitativa entre el volum de l'HIC i els nivells de MMP-9.

La isquèmia cerebral posa en marxa una sèrie d'esdeveniments i, actualment, sabem que l'expressió de MMP-9 i també de MMP-2 està incrementada al teixit cerebral isquèmic<sup>175-177</sup>. Diversos treballs han demostrat, directament o indirectament, que el volum final de l'infart cerebral es relaciona

amb els nivells de MMP-9 expressats inicialment<sup>191</sup> i que la inhibició de la MMP-9 es relaciona amb una reducció en el volum de l'infart<sup>176,187</sup>. El nostre treball, però, no ha investigat si el volum de la lesió residual post-HIC es correlaciona amb l'expressió inicial de MMP-9.

En la nostra sèrie el creixement de l'HIC, definit com qualsevol increment de volum entre la primera i la segona TC, no s'ha relacionat amb els valors de MMP-9. Tot i que és criticable que no utilitzéssim els criteris de creixement d'una HIC definits per altres autors<sup>189,190</sup>, àdhuc una menor rigurositat en la definició de creixement de l'HIC no ens ha permès relacionar aquells casos on l'expressió de MMP-9 era major amb el creixement de l'HIC. Basant-nos en el que altres autors han observat en models d'ictus isquèmic i transformació hemorràgica<sup>186</sup> i, assumint que la transformació hemorràgica podria ser comparable al fet del creixement en el si d'una hemorràgia, les dades obtingudes no mostren cap relació amb els valors basals de MMP-9. Es pot deduir d'aquestes dades que *la disrupció de la BHE no contribueix de forma decisiva a l'increment del volum de l'HIC*. Tanmateix, no existeix cap publicació fins el moment actual que es pronunciï en aquest sentit.

Una dada interessant és el fet que en el subgrup d'HIC profundes hem trobat una tendència a la correlació entre els nivells de MMP-9 i el volum total de la lesió mesurada en la TC de control. Aquesta lesió es defineix com el sumatori del volum de l'hemorràgia i del volum de l'anell d'hipodensitat. Si la MMP-9 no es va relacionar amb el volum HIC-2, un dels components del

sumatori especificat, ni amb el volum HIC-1, però si amb el volum total o volum HIC-3, es pot intuir, tot i que de forma indirecta, que aquest increment patològic en els nivells de MMP-9 es relaciona amb la formació del volum de l'anell d'hipodensitat perihematoma, el segon component del sumatori al què m'he referit abans, i no amb el volum de l'HIC.

#### **6.4 RELACIÓ DELS VALORS DE MMP-9 AMB LA SITUACIÓ NEUROLÒGICA DELS MALALTS EN FASE AGUDA**

No hem trobat cap relació entre els nivells de MMP-9 i les puntuacions en les escales de coma de Glasgow i Canadencas basals i de control (a l'ingrés i entre 3-6 dies després), ni en el global de la sèrie, ni a l'estudiar les HIC profundes i lobars per separat. En canvi, en el subgrup d'HIC profundes s'observa una tendència a l'associació entre els nivells de MMP-9 i l'empitjorament neurològic.

Montaner et al.<sup>191</sup>, investigant un grup de pacients amb infart cerebral del territori de l'artèria cerebral mitja de mecanisme cardioembòlic, han trobat que la determinació inicial de la MMP-9 és l'únic factor associat de forma independent a la situació neurològica final mesurada mitjançant l'escala NIH. En aquest treball, un punt de tall de la MMP-9 de 142,18 ng/ml va tenir un valor predictiu positiu del 94,4% per a fixar la puntuació final (a les 48 hores) en l'escala NIH (<8 o 8 punts); és a dir, permetia distingir entre dèficits neurològics lleugers i moderats o greus.

L'empitjorament neurològic que pot comportar una HIC s'ha associat amb l'efecte massa de la pròpia hemorràgia i amb el desenvolupament d'edema<sup>110,111</sup> al voltant de l'hematoma. Es coneix que, en aproximadament el 50% dels casos, l'empitjorament neurològic està relacionat amb el desenvolupament de la hipodensitat perihematoma. El nostre treball suggereix

que aquest fet podria explicar-se per un augment de la MMP-9 i l'edema vasogènic que se'n deriva, si més no, en les HIC de localització profunda. Així, es pot concloure que *la MMP-9 és un dels factors implicats en l'empitjorament neurològic que pot seguir a una HIC de localització profunda.*

## **6.5 RELACIÓ DE MMP-9 AMB LA MORTALITAT I LA SITUACIÓ FUNCIONAL DELS MALALTS ALS TRES MESOS**

Els nivells de la gelatinasa B o MMP-9 no s'han associat a ninguna de les variables relacionades amb la mortalitat (total, aguda acumulada i subaguda) ni amb la situació funcional dels malalts als tres mesos, ni en la sèrie en conjunt, ni en les HIC profundes, ni en les lobars.

Múltiples treballs<sup>75-80</sup> han mostrat que els predictors independents de mortalitat als 30 dies després d'una HIC són el nivell de consciència a l'ingrés, el volum de l'HIC i la invasió ventricular. La morbiditat, determinada per la situació funcional posterior dels malalts, s'associa al volum de la lesió residual. Lesions més grans a la TC de control es correlacionen amb malalts més discapacitats. Ja s'ha comentat que la hipodensitat perihematoma és en realitat fruit de dos mecanismes diferents: la isquèmia i l'edema. A més, sabem que l'edema vasogènic, és, al menys inicialment, reversible.

L'absència d'una prova de neuroimatge al tercer mes en els casos que hem analitzat no ens permet establir relacions entre els nivells inicials de MMP-9 i el volum d'aquesta lesió residual. És probable, però, que la gelatinasa B, un marcador de lesió endotelial o de disrupció de la BHE, no mostrés cap associació amb el volum residual. *L'absència d'una associació entre la MMP-9 i la situació funcional dels malalts als tres mesos* en aquest treball així ho suggereix.

## **6.6 PAPER DE L'INHIBIDOR ENDOGEN DE MMP-9, TIMP-1, EN AQUEST PROCÉS**

L'inhibidor natural de la MMP-9, TIMP-1, està incrementat en l'HIC en humans i supera el límit superior del rang de normalitat observat en els controls. Aquesta sobreexpressió s'observa tant a les HIC de localització lobar com a les HIC profundes (remetre's a la figura 5.1.7). Però, malgrat aquesta sobreexpressió, l'anàlisi dels factors o variables que es relacionaren amb la presència de l'anell d'hipodensitat, tant a les HIC lobars com a les HIC profundes, va mostrar que els nivells de TIMP-1 no hi estaven associats. És possible, doncs, assumir que aquest increment en els nivells de TIMP-1 és insuficient per contraposar-se a l'acció deletèria de la gelatinasa B.

El paper dels TIMPs com a inhibidors i/o reguladors de l'activitat de les MMPs s'ha demostrat de forma ambígua. Tot i que hi ha evidències de la seva capacitat per controlar l'activitat lítica de les MMPs sobre la MEC<sup>131-133</sup> en condicions fisiològiques, alguns autors han suggerit que aquesta capacitat inhibidora no té la mateixa eficàcia en condicions patològiques. Dean et al.<sup>134</sup> han publicat que en la degeneració del cartílag, malgrat l'increment en els nivells del TIMP, aquesta elevació no és capaç de contraposar-se a l'enorme activitat de les MMPs. En la mateixa línia, Romanic et al.<sup>176</sup> en un model animal d'isquèmia cerebral van observar com els nivells de TIMP-1 eren similars quan comparaven l'hemisferi isquèmic amb el contralateral sa i, alhora, en el mateix



experiment van demostrar que el tractament intravenós amb un anticòs monoclonal contra la MMP-9 reduïa d'un 29,9% el volum de l'infart.

Hem observat en el nostre treball que *els nivells de la MMP-9 i els del TIMP-1 es correlacionen positivament ( $p < 0,05$ ) en el subgrup d'HIC lobars*, és a dir, que en aquesta localització una expressió més alta de gelatinasa B està significativament associada a una expressió més elevada del seu inhibidor (TIMP-1). L'ELISA detecta majoritàriament la proforma latent lliure de MMP-9 i el complex pro-MMP-9-TIMP-1. Així, és de suposar que aquesta correlació positiva que hem trobat és deguda a que, en les HIC de localització lobar, l'increment de MMP-9 detectat tradueix una major proporció del complex pro-MMP-9-TIMP-1. Aquesta suposició explicaria, a més, perquè en el subgrup d'HIC lobars no trobem una relació entre els nivells de MMP-9 detectats per l'ELISA i el volum de l'anell d'hipodensitat perihematoma.

## **7. CONCLUSIONS**

Les conclusions d'aquesta tesi són:

1. La gelatinasa B o MMP-9 està sobreexpressada en l'hemorràgia intracerebral aguda espontània en humans.
2. Els mecanismes d'activació de les formes latents de la MMP-9 probablement siguin diferents en les hemorràgies de localització lobar i profunda.
3. La sobreexpressió de gelatinasa B en aquesta patologia no es relaciona ni amb el volum inicial de l'hemorràgia, ni amb el volum de la lesió hemorràgica que es pot observar a la TC cranial de control, així com tampoc amb el creixement de l'hemorràgia intracerebral.
4. La sobreexpressió de MMP-9 es correlaciona amb el volum de l'anell d'hipodensitat perihematoma en les hemorràgies de localització profunda. Si més no, el factor que es relaciona de forma independent amb l'aparició d'aquesta hipodensitat és el volum inicial de l'hemorràgia.
5. La sobreexpressió de MMP-9 ( 133,91 ng/ml) és l'únic factor que es relaciona de forma independent amb el desenvolupament d'un anell d'hipodensitat 1,8 vegades major que el volum de l'hemorràgia que l'originà, en el subgrup d'hemorràgies de localització profunda ( $p=.018$ ). Aquesta relació també s'observa quan s'estudia el global de les hemorràgies

( $p=.047$ ), tot i que en aquest cas, l'associació és deguda al predomini d'hemorràgies profundes en aquesta sèrie.

6. La MMP-9 no es correlaciona ni amb l'estat neurològic basal, ni amb la situació funcional del malalt determinada als tres mesos, així com tampoc amb la mortalitat aguda, subaguda i/o global que aquesta entitat ocasiona. En les hemorràgies de localització profunda hi ha una tendència a la relació entre la sobreexpressió de MMP-9 i l'empitjorament neurològic, definit com una caiguda d'un punt o més en l'escala Canadenc d'ictus.
7. El TIMP-1, l'inhibidor endogen de la MMP-9, està incrementat en aquesta patologia. Si més no, la seva sobreexpressió només interfereix en l'associació entre els nivells de MMP-9 i el desenvolupament de l'anell d'hipodensitat perihematoma en el subgrup d'hemorràgies lobars.

## **8. ANNEXES**

**ANNEX 1. ACRÒNIMS I ABREVIACIONS**

- AAC: Angiopatia Amiloide cerebral
- ACAT: acil-CoA: colesterol O-aciltransferassa
- AIT: atac isquèmic transitori
- Angio-RM: Angio-ressonància magnètica
- BHE: barrera hematoencefàlica
- CSS: Escala Candença d'ictus
- Du-AAC: Angiopatia Amiloide cerebral tipus holandesa
- ECG: electrocardiograma
- EM: esclerosi múltiple
- EPH: edema perihematoma
- FSC: fluxe sanguini cerebral
- GCS: Escala de coma de Glasgow
- GOS: Glasgow Outcome Scale
- HIC: hemorràgia intracerebral
- HIV: hemorràgia intraventricular
- HSA: hemorràgia subaracnoidal
- HTA: hipertensió
- IB: índex de Barthel
- Ic-AAC: Angiopatia Amiloide cerebral tipus islandesa
- IFN : interferon beta
- IgG: immunoglobulina G
- IL-1 : Interleuquina 1 beta

- INR: International Normalized Ratio
- K<sup>+</sup>: potasi
- kD/kDa: kilodalton
- LCR: líquid cèfaloraquidi
- MAV: malformació arteriovenosa cerebral
- MEC: matriu extracel.lular
- MMP: metal.loproteïna de la matriu
- MMP-2: metal.loproteïna de la matriu 2 o gelatinasa A
- MMP-3: metal.loproteïna de la matriu 3 o estromelissina
- MMP-9: metal.loproteïna de la matriu 9 o gelatinasa B
- mRS: escala de Rankin modificada
- MV: malformació vascular
- Na<sup>+</sup>: sodi
- OR: Odds Ratio
- PA: pressió arterial
- PAD: pressió arterial diastòlica
- PAI-1: inhibidor de l'activador del plasminogen (tipus 1)
- PAN: Poliarteritis Nodosa
- PAS: pressió arterial sistòlica
- PBM: proteïna bàsica de la mielina
- PET: tomografia per emissió de positrons
- PIC: pressió intracranial
- RM: ressonància magnètica
- rTPA: activador recombinant del plasminogen tissular

- SNC: Sistema Nerviós Central
- SPECT: tomografia cerebral per emissió de fotó simple
- TACE: enzim convertidor del factor de necrosi tumoral alfa
- TC: tomografia computeritzada
- TIMPs: Inhibidors tissulars de les metal.loproteïnases (tipus 1, 2, 3 i 4)
- TNF : Factor de necrosi tumoral alfa
- tPA: activador del plasminogen tissular
- uPA: activador del plasminogen tipus uroquinassa
- VE: volum de l'edema o volum de l'anell d'hipodensitat perihematoma
- VHIC 1: volum de l'hemorràgia intracerebral mesurat en la visita basal o d'ingrés.
- VHIC 2: volum de l'hemorràgia intracerebral mesurat en la visita de control
- VHIC 3: volum total de la lesió (VHIC 2+VE) mesurat en la visita de control



**ANNEX 2. PROTOCOL DE RECOLLIDA DE DADES****Dades de filiació:**

NHC:                                      EDAT:                      SEXE:                      INICIALS:  
 Telèfon:                                      Nº SEROTECA:

**Antecedents:**

Hipertensió:                      SI                      NO  
 Tabaquisme:                      SI                      NO  
 Enolisme crònic:                      SI                      NO                      Enolisme agut:                      SI                      NO  
 Drogues:                      SI                      NO  
 Antiagregants:                      NO                      SI (Quin?, Quina dosi?)  
 Ictus previ:                      NO                      SI (Isquèmic, Hemorràgic, Desconegut)  
 Diabetis:                      SI                      NO

**Malaltia Actual:**

Data HIC:  
 Localització:                      LOBAR                      PROFUNDA  
 Lateralitat:                      DRETA                      ESQUERRA  
 Invasió:                      INTRAVENTRICULAR                      SUBARACNOIDEA                      AMBDUES                      NO  
 Inici de la clínica:                      BRUSC                      PROGRESSIU  
 Crisis comicials precoces:                      SI                      NO  
 Estat neurològic:

- Escala de Glasgow (GCS) basal (visita 1 -V1-) i control (visita 2 - V2-):
- Escala Canadenca (CSS) basal i control (V1 i V2):

Etiologia: HTA AAC ALTRES INDETERMINADA DESCONEGUDA

**Dades analítiques:**

	Ingrés	3 <sup>r</sup> dia	5 <sup>e</sup> -7 <sup>e</sup> dia
<b>PA sistòlica</b>			
<b>PA diastòlica</b>			
<b>Temperatura</b>			
<b>Glucèmia</b>			
<b>Leucòcits</b>			
<b>Fibrinogen</b>			
<b>TTPA</b>			
<b>TP</b>			
<b>Hemoglobina</b>			
<b>Hematocrit</b>			
<b>Plaquetes</b>			
<b>AST</b>			
<b>ALT</b>			

**Dades de la TC cranial:**

Temps des de l'inici de la clínica fins a la realització de la TC cranial 1:

Edema inicial: SI NO

	Longitudinal	Transversal	Profunditat	Volum
<b>TC 1 (diagnòstic)</b> <b>VHIC 1</b>				
<b>TC 2 (control)</b> <b>VHIC 2</b>				
<b>TC 2 (Volum Total)</b> <b>VHIC 2 + VE</b>				
<b>TC 2 (VE)</b>				

**Evolució:**

Mortalitat: Hiperaguda (1-3 dies)

Aguda (4-6 dies)

Subaguda (7-90 dies)

No

Escala de Rankin modificada (mRS) als 3 mesos:

Índex de Barthel als 3 mesos:

**Dades del laboratori d'Hemostàssia:**

MMP-9 o gelatinasa B: \_\_\_\_ (ng/ml)

MMP-3 o estromelissina 1: \_\_\_\_ (ng/ml)

TIMP-1: \_\_\_\_ (ng/ml)

uPA: \_\_\_\_ (ng/ml)

**ANNEX 3. ESCALA DE GLASGOW (GCS)\***

	<b><u>Puntuació</u></b>
<b><u>1. Apertura d'ulls</u></b>	
• Espontània	4
• Després d'un estímul verbal	3
• Després d'un estímul dolorós	2
• Absent	1
<b><u>2. Reacció verbal</u></b>	
• Orientada	5
• Conversa confosa	4
• Paraules inapropiades	3
• Incomprensible	2
• Absent	1
<b><u>3. Resposta motora</u></b>	
• Obeeix ordres	6
• Localitza dolor	5
• Flexió al dolor	4
• Flexió anormal	3
• Extensió al dolor	2
• Absent	1
<b>Nombre màxim de punts</b>	<b>15</b>
<b>Nombre mínim de punts</b>	<b>3</b>

---

Teasdale G, Jennett B. Assessment and prognosis of coma after head injury. *Acta Neurochir (Viena)* 1976; 34: 45-55.

## **ANNEX 4. ESCALA NEUROLÒGICA CANADENCA (CSS)\***

### **1. ESTAT MENTAL**

#### ***Nivell de consciència***

- Alerta 3
- Obnubilat 1,5

#### ***Orientació***

- Orientat 1
- Desorientat o no aplicable 0

#### ***Llenguatge***

- Normal 1
- Dèficit d'expressió 0,5
- Dèficit de comprensió 0

### **2. FUNCIONS MOTORES (no defecte de comprensió)**

#### ***Cara***

- Ninguna 0,5
- Present 0

#### ***Braç proximal***

- Ninguna 1,5
- Lleu 1
- Significativa 0,5
- Total o Màxima 0

#### ***Braç distal***

- Ninguna 1,5
- Lleu 1
- Significativa 0,5
- Total o Màxima 0

#### ***Cama***

- Ninguna 1,5
- Lleu 1
- Significativa 0,5
- Total o Màxima 0

### **3. RESPOSTA MOTORA (defecte de comprensió)**

#### ***Cara***

- Simètrica 0,5
- Asimètrica 0

---

Coté R et al. The Canadian Neurologic Scale: a preliminary study in acute stroke. *Stroke* 1986; 17: 731-737.

**Braços**

- Igual 1,5
- Desigual 0

**Cames**

- Igual 1,5
- Desigual 0

## **ANNEX 5. ESCALA DE BARTHEL\***

### **1. Alimentació**

- 10 Independent; s'alimenta personalment; és capaç de fer servir les eines que requereix; menja en un temps raonable.
- 5 Requereix ajuda per tallar els aliments, etc.
- 0 No compleix el criteri.

### **2. Moviment (de la cadira de rodes al llit i a l'inrevés)**

- 15 Independent en totes les fases de l'activitat.
- 10 Mínima necessitat d'ajuda o necessitat de supervisió en una o més fases d'aquesta activitat.
- 5 El malalt pot adoptar la posició d'assegut sense ajuda d'una segona persona però necessita que l'aixequin del llit i l'ajudin en les transferències.
- 0 No compleix el criteri.

### **3. Neteja personal**

- 5 Pot rentar-se les mans i la cara, pentinar-se i raspallar-se les dents; pot afaitar-se (homes) o maquillar-se (dones) sense ajuda; les dones no necessiten que tinguin cura dels seus cabells.
- 0 No compleix el criteri.

### **4. Ús de la comuna**

- 10 Pot entrar i sortir del lavabo, cordar-se i descordar-se i fer servir el paper higiènic sense ajuda; pot fer servir una barra a la paret o bé un altre recolzament; si requereix un orinal, pot posar-lo i treure'l de la cadira de rodes, buidar-lo i rentar-lo.
- 5 Requereix ajuda a causa de problemes d'equilibri o de dificultats amb la roba o el paper higiènic.
- 0 No compleix el criteri.

### **5. Ús de la dutxa**

- 5 Pot fer servir la banyera, la dutxa o rentar-se amb una esponja; és capaç de realitzar totes les funcions sense que una altra persona el supervisi.
- 0 No compleix el criteri.

---

Mahoney FI, Barthel DW. Functional evaluation: The Barthel Index. *Md State Med J* 1965; 14: 61-65.

**6. Deambulació per una superfície plana (\*)**

- 15 Pot caminar, com a mínim 40 metres, sense ajuda o supervisió; poden usar-se: corsé, recolzaments, crosses, bastons, etc, però no un caminador amb rodes; és capaç de posar-se i treure's el corsé, es manté dret o assegut.
- 10 Necessita ajuda per les activitats anteriors, però pot caminar 40 metres amb una ajuda mínima.
- 0 No compleix el criteri.

**7. Pujar i baixar escales**

- 10 Capaç de pujar i baixar escales de forma segura sense supervisió, recolzant-se a la barana o fent servir un bastó o crosses si és necessari i pot transportar aquestes eines tant si puja com si baixa.
- 5 Necessita ajuda o supervisió per alguna de les activitats anteriors.
- 0 No compleix el criteri.

**8. Vestir-se i desvestir-se**

- 10 Es capaç de posar-se, cordar-se i treure's la roba; es corda els cordons de les sabates. Es té en compte l'ús d'elàstics, sabates sense cordons o roba amb abertura frontal.
- 5 Necessita ajuda per posar-se, treure's i cordar-se la roba, però pot realitzar al menys la meitat d'aquestes accions en un temps raonable.
- 0 No compleix el criteri.

**9. Continència intestinal**

- 10 Té un control total, sense cap accident; es posa, tot sol, els supositoris o enemes.
- 5 Requereix ajuda amb els supositoris o enemes o té incontinència ocasional.
- 0 No compleix el criteri.

**10. Continència urinària**

- 10 Capaç de controlar la bufeta de dia i de nit; els malalts amb lesions medul.lars han de ser capaços de fer anar tot sols les sondes i estar secs dia i nit.
- 5 Incontinències ocasionals; requereix ajuda per les sondes i bosses.
- 0 No compleix el criteri.

**(\*) Moviment en cadira de rodes**

(per aquells malalts que no deambulin)

- 5 El malalt no pot caminar però pot moure la seva cadira de rodes de forma independent, girar, maniobrar, etc. Ha de ser capaç de propulsar-se 40 metres amb la seva cadira de rodes.
- 0 No compleix el criteri.



**ANNEX 6. ESCALA DE RANKIN MODIFICADA\***

0. Cap tipus de símptoma.
1. Discapacitat no significativa tot i la simptomatologia; capaç de dur a terme totes les activitats habituals.
2. Discapacitat lleugera; incapaç de dur a terme totes les seves activitats anteriors però capaç de tenir cura dels seus propis assumptes sense ajuda.
3. Discapacitat moderada; requereix alguna assistència però és capaç de caminar sense ajuda.
4. Discapacitat moderadament severa; incapaç de caminar i de tenir cura satisfactòriament de les seves necessitats corporals sense ajuda.
5. Discapacitat severa; enllitament, incontinència i requeriment d'assistència continuada.
6. Mort.

---

Bamford JM, Sandercock PAG, Warlow CP, Slattery J. Interobserver agreement for the assessment of handicap in stroke patients. Stroke 1989; 20: 828. Letter.

## **9. BIBLIOGRAFIA**

- 
- <sup>1</sup> Drury I, Whisnant JP, Garraway WM. Primary intracerebral hemorrhage: impact of CT on incidence. *Neurology* 1984; 34: 653-657.
  - <sup>2</sup> Broderick JP, Brott T, Tomsick T, Miller R, Huster G. Intracerebral hemorrhage more than twice as common as subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1993; 78: 188-191.
  - <sup>3</sup> Anderson CS, Chakera TMH, Stewart-Wynne EG, Jamrozik KD. Spectrum of primary intracerebral hemorrhage in Perth, Westwern Australia, 1989-90: incidence and outcome. *J Neurol Neurosurg Psychiat* 1994; 57: 936-940.
  - <sup>4</sup> Broderick JP, Brott T, Tomsick T, Huster G, Miller R. The risk of subarachnoid and intracerebral hemorrhages in blacks as compared with whites. *N Engl J Med* 1992; 323: 733-736.
  - <sup>5</sup> Ueda K, Hasuo Y, Kiyohara Y, et al. Intracerebral hemorrhage in a Japanese Community, Hisayama: incidence, changing pattern during long-term follow-up, and related factors. *Stroke* 1988; 19: 48-52.
  - <sup>6</sup> Shi F, Hart RG, Sherman DG, Tegler CH. Stroke in People's Republic of China. *Stroke* 1989; 20: 1581-1585.
  - <sup>7</sup> Del Brutto OH, Mosquera A, Sanchez X, Santos J, Novoa CA. Stroke subtypes among Hispanics living in Guayaquil, Ecuador. *Stroke* 1993; 24: 1833-1836.
  - <sup>8</sup> Thorvaldsen P, Asplund K, Kuulasmaa K, Rajakangas A-M, Schroll M. Stroke incidence, case fatality, and mortality in the WHO MONICA project. *Stroke* 1995; 26: 361-367.
  - <sup>9</sup> Takeya Y, Popper JS, Shimizu Y, Kato H, Rhoads GG, Kagan A. Epidemiologic studies of coronary heart disease and stroke in Japanese men living in Japan, Hawaii and California: Incidence of stroke in Japan and Hawaii. *Stroke* 1984; 15: 14-23.
  - <sup>10</sup> Leno C, Berciano J, Combarros O, Polo JM, Pascual J, Quintana F. A prospective study of stroke in young adults in Cantabria, Spain. *Stroke* 1993; 24: 792-5.
  - <sup>11</sup> López-Pousa S, Vilalta J, Llinás J. Incidencia de la enfermedad vascular cerebral en España: estudio en un área rural de Girona. *Rev Neurol* 1995; 23: 1074-80.
  - <sup>12</sup> López-González FJ, Aldrey JM, Pardellas H, Castillo J. Morbilidad de la hemorragia intracerebral. *Rev Neurol* 1998; 27: 755-8.
  - <sup>13</sup> McCormick WF, Rosenfield DB. Massive brain hemorrhage: a review of 144 cases and an examination of their causes. *Stroke* 1973; 4: 946-954.
  - <sup>14</sup> Kase CS, Caplan LR, eds. *Intracerebral hemorrhage*. Boston: Butterworth-Heinemann, 1984.
  - <sup>15</sup> Caplan LR, Neely S, Gorelick P. Cold-related intracerebral hemorrhage. *Arch Neurol* 1984; 41: 227.
  - <sup>16</sup> Caplan LR. Intracerebral hemorrhage revisited. *Neurology* 1988; 38: 624-627.
  - <sup>17</sup> Gorelick PB. The status of alcohol as a risk factor for stroke. *Stroke* 1989; 20: 1607-1610.
  - <sup>18</sup> Donahue RP, Abbot RD, Reed DM, Yano K. Alcohol and hemorrhagic stroke: the Honolulu Heart Program. *JAMA* 1986; 255: 2311-2314.
  - <sup>19</sup> Klatsky AL, Armstrong MA, Friedman GD. Alcohol use and subsequent cerebrovascular disease hospitalizations. *Stroke* 1989; 20: 741-746.

- 
- <sup>20</sup> Juvela S, Hillbom M, Palomäki H. Risk factors for spontaneous intracerebral hemorrhage. *Stroke* 1995; 26: 1558-1564.
- <sup>21</sup> Caplan LR. *Drugs. A: Kase CS, Caplan LR, eds. Intracerebral hemorrhage. Boston: Butterworth-Heinemann, 1994: 201-220.*
- <sup>22</sup> Nizuma H, Shimitzu Y, Nakasato N. Influence of liver dysfunction on volume of putaminal hemorrhage. *Stroke* 1988; 19: 987-990.
- <sup>23</sup> Fogelholm R, Murros K. Cigarette smoking and risk of primary intracerebral hemorrhage. A population-based case-control study. *Acta Neurol Scand* 1993; 87: 367-370.
- <sup>24</sup> Tanaka H, Ueda Y, Hayashi M, Date C, Baba T, Yamashita H, Shoji H, Tanaka Y, Owada K, Detels R. Risk factors for cerebral hemorrhage and cerebral infarction in a Japanese rural community. *Stroke* 1982; 13: 62-73.
- <sup>25</sup> Iso H, Jacobs DR, Wentworth D. Serum cholesterol levels and six-year mortality from stroke in 350,977 men screened for the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *N Engl J Med* 1989; 320: 904-910.
- <sup>26</sup> Vinters HV. Cerebral amyloid angiopathy: a critical review. *Stroke* 1987; 18: 311-324.
- <sup>27</sup> Weisberg L. Multiple spontaneous intracerebral hematomas: clinical and computed tomographic correlations. *Neurology* 1981; 31: 897-900.
- <sup>28</sup> Finelli PF, Kessimian N, Bernstein PW. Cerebral amyloid angiopathy manifesting as recurrent intracerebral hemorrhage. *Arch Neurol* 1984; 41: 330-333.
- <sup>29</sup> Gudmundsson G, Hallgrímsson J, Jonasson TA, Bjarnason O. Hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis. *Brain* 1972; 95: 387-404.
- <sup>30</sup> Toffol GJ, Biller J, Adams HP. Nontraumatic intracerebral hemorrhage of young adults. *Arch Neurol* 1987; 67: 545-552.
- <sup>31</sup> Schütz H, Bodeker RH, Damian M, Krack P, Dorndorf W. Age-related spontaneous intracerebral hematoma in German community. *Stroke* 1990; 21: 1412-1418.
- <sup>32</sup> Rigamonti D, Hadley MN, Drayer BP. Cerebral cavernous malformations: incidence and familial occurrence. *N Engl J Med* 1988; 319: 343-347.
- <sup>33</sup> Rigamonti D, Spetzler RF. The association of venous and cavernous malformations: report of four cases and discussion of the pathophysiological, diagnostic, and therapeutic implications. *Acta Neurochir* 1988; 92: 100-105.
- <sup>34</sup> Kase CS. *Aneurysms and vascular malformations. A: Kase CS, Caplan LR, eds. Intracerebral hemorrhage. Boston: Butterworth-Heinemann, 1994: 153-178.*
- <sup>35</sup> Hart RG, Boop BS, Anderson DC. Oral anticoagulants and intracranial hemorrhage. Facts and hypotheses. *Stroke* 1995; 26: 1471-1477.
- <sup>36</sup> Kase CS, Robinsn RK, Stein RW. Anticoagulant-related intracerebral hemorrhage. *Neurology* 1985; 35: 943-948.
- <sup>37</sup> Hylek EM, Singer DE. Risk factors for intracranial hemorrhage in outpatients taking warfarin. *Ann Intern Med* 1994; 120: 897-902.
- <sup>38</sup> Berwaerts J, Dijkhuizen RS, Robb OJ, Webster J. Prediction of functional outcome and in-hospital mortality after admission with oral anticoagulant-related intracerebral hemorrhage. *Stroke* 2000; 31: 2558-2562.

- 
- <sup>39</sup> Babikian VL, Kase CS, Pessin MS, Norrving B, Gorelick PB. Intracerebral hemorrhage in stroke patients anticoagulated with heparin. *Stroke* 1989; 20: 1500-1503.
- <sup>40</sup> Antiplatelet Trialists' Collaboration. Secondary prevention of vascular disease by prolonged antiplatelet treatment. *BMJ* 1988; 296: 320-331.
- <sup>41</sup> Antiplatelet Trialists' Collaboration. Collaborative overview of randomised trials of antiplatelet therapy - I: prevention of death, myocardial infarction and stroke by prolonged antiplatelet therapy in various categories of patients. *BMJ* 1994; 308: 81-106.
- <sup>42</sup> Buring JE, Bogouslavsky J, Dyken M. Aspirin and stroke. *Stroke* 1998; 29: 885-886.
- <sup>43</sup> He J, Whelton PK, Vu B, Klag MJ. Aspirin and risk of hemorrhagic stroke: a meta-analysis of randomised controlled trials. *JAMA* 1998; 220: 1930-1935.
- <sup>44</sup> Wong KS, Mok V, Lam WWM, Kay R, Tang A, Chan YL, Woo J. Aspirin-associated intracerebral hemorrhage. Clinical and radiologic findings. *Neurology* 2000; 54: 2298-2301.
- <sup>45</sup> ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival). Randomized trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both or neither among 17,187 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-2. *Lancet* 1988; 2: 349-360.
- <sup>46</sup> GUSTO Investigators. An international randomized trial comparing four thrombolytic strategies for acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1993; 329: 673-682.
- <sup>47</sup> LATE Study Group. Late assessment of thrombolytic efficacy (LATE) study with alteplase 6-24 hours after onset of acute myocardial infarction. *Lancet* 1993; 342: 759-766.
- <sup>48</sup> Simoons ML, Maggioni AP, Knatterud G. Individual risk assessment for intracranial hemorrhage during thrombolytic therapy. *Lancet* 1993; 342: 1523-1528.
- <sup>49</sup> Brass LM, Lichtman JH, Wang Y, Gurwitz JH, Radford MJ, Krumholz HM. Intracranial hemorrhage associated with thrombolytic therapy for elderly patients with acute myocardial infarction. *Stroke* 2000; 31: 1802-1811.
- <sup>50</sup> Sloan MA. Cerebrovascular disorders associated with licit and illicit drugs. A: Fisher M, Bogouslavsky J, eds. *Current review of cerebrovascular disease*. Philadelphia: Current Medicine, 1993: 48-62.
- <sup>51</sup> Bogouslavsky J, Regli F, Uské A, Maeder P. Early spontaneous hematoma in cerebral infarct: is primary hemorrhage overdiagnosed?. *Neurology* 1991; 41: 837-840.
- <sup>52</sup> Hart RG, Kagan-Hallet K, Joerns SE. Mechanisms of intracranial hemorrhage in infective endocarditis. *Stroke* 1987; 18: 1048-1056.
- <sup>53</sup> Kase CS. Vasculitis and other angiopathies. A: Kase CS, Caplan LR, eds. *Intracerebral hemorrhage*. Boston: Butterworth-Heinemann, 1994: 263-303.
- <sup>54</sup> Ford RG, Siekert RG. Central nervous system manifestations of periarthritis nodosa. *Neurology* 1965; 15: 114-122.
- <sup>55</sup> Wakai S, Yumakawa K, Manaka S, Takakura K. Spontaneous intracerebral hemorrhage caused by brain tumor: its incidence and clinical significance. *Neurosurgery* 1982; 10: 437-444.
- <sup>56</sup> Suzuki J, Kodama N. Moyamoya disease: a review. *Stroke* 1983; 14: 104-109.
- <sup>57</sup> Katz DA, Alexander MP, Seliger GM, Bellas DN. Traumatic basal ganglia hemorrhage: clinicopathologic features and outcome. *Neurology* 1989; 39: 897-904.

- 
- <sup>58</sup> Álvarez-Sabín J, Turon A, Lozano-Sánchez M, Vázquez J, Codina A. Delayed posttraumatic hemorrhage. "Spät-apoplexie". *Stroke* 1995; 26: 1531-1535.
- <sup>59</sup> Gras P, Grosmaire N, Fayolle H. Déficits neurologiques transitoires précédant les hémorragies intraparenchymateuses. *Rev Neurol (Paris)* 1993; 149: 224-226.
- <sup>60</sup> Chen ST, Chen SD, Hsu CY, Hogan EL. Progression of hypertensive intracerebral hemorrhage. *Neurology* 1989; 39: 1509-1514.
- <sup>61</sup> Broderick JP, Brott TG, Tomsick T, Barsan W, Spilker J. Ultraearly evaluation of intracerebral hemorrhage. *J Neurosurg* 1990; 72: 195-199.
- <sup>62</sup> Vestergaard K, Andersen G, Nielsen MI, Jensen TS. Headache in stroke. *Stroke* 1993; 24: 1621-1624.
- <sup>63</sup> Dávalos A, de Cendra E, Molins A. Epileptic seizures at the onset of stroke. *Cerebrovasc Dis* 1992; 2: 327-331.
- <sup>64</sup> Massaro AR, Sacco RL, Mohr JP. Clinical discriminators of lobar and deep hemorrhages: the Stroke Data Bank. *Neurology* 1991; 41: 1881-1885.
- <sup>65</sup> Kilpatrick CJ, Davis SM, Tress BM. Epileptic seizures in intracerebral hemorrhage. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 1989; 52: 1273-1276.
- <sup>66</sup> Osborne AG. *Diagnostic neuroradiology*. New York: CV Mosby, 1994.
- <sup>67</sup> Gomori JM, Grossman RI, Goldberg HI, Zimmerman RA, Bilaniuk LT. Intracranial hematomas: imaging by high-field MR. *Radiology* 1985; 157: 87-93.
- <sup>68</sup> Clark RA, Watanabe AT, Bradley WG, Roberts JD. Acute hematomas: effect of deoxygenation, hematocrit, and fibrin-clot formation and retraction on T2 shortening. *Radiology* 1990; 175: 201-206.
- <sup>69</sup> Hayman A, Chin HY, Kirkpatrick JB. Temporal changes in RBC hydration: application to MR of blood. En: *Proceedings of the Annual Meeting of the American Society of Neuroradiology*, Los Angeles, 1990. Oak Brook, IL: American Society of Neuroradiology; 1990: 314.
- <sup>70</sup> Atlas SW, Thulborn KR. MR detection of hyperacute parenchymal hemorrhage of the brain. *Am J Neuroradiol* 1998; 19: 1471-1477.
- <sup>71</sup> Grzyska U, Freitag J, Zeumer H. Selective cerebral intraarterial DSA: complication rate and control of risk factors. *Neuroradiology* 1990; 32: 296-299.
- <sup>72</sup> Zhu XL, Chan MSY, Poon WS. Spontaneous intracranial hemorrhage: Which patients need diagnostic cerebral angiography? A prospective study of 206 cases and review of the literature. *Stroke* 1997; 28: 1406-1409.
- <sup>73</sup> Fieschi C, Carolei A, Fiorelli M. Changing prognosis of primary intracerebral hemorrhage: results of a clinical and computed-tomography follow-up study of 104 patients. *Stroke* 1988; 19: 192-195.
- <sup>74</sup> Giroud M, Gras P, Chadan N. Cerebral hemorrhage in a french prospective population study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1991; 54: 595-598.
- <sup>75</sup> Douglas MA, Haerer AF. Long-term prognosis of hypertensive intracerebral hemorrhage. *Stroke* 1982; 13: 488-491.

- 
- <sup>76</sup> Portenoy R, Lipton R, Berger A, Lesser M, Lantos G. Intracerebral hemorrhage: a model for the prediction of outcome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1987; 50: 976-979.
- <sup>77</sup> Daverat P, Castel JP, Dartigues JF, Orgogozo JM. Death and functional outcome after spontaneous intracerebral hemorrhage: a prospective of 166 cases using multivariate analyses. *Stroke* 1991; 22: 1-6.
- <sup>78</sup> Broderick JP, Brott TG, Duldner JE, Tomsick T, Huster G. Volume of intracerebral hemorrhage. A powerful and easy-to-use predictor of 30-day mortality. *Stroke* 1993; 24: 987-993.
- <sup>79</sup> Masè G, Zorzon M, Biasutti E, Tasca G, Vitrani B, Cazzato G. Immediate prognosis of primary intracerebral hemorrhage using an easy model for the prediction of survival. *Acta Neurol Scand* 1995; 91: 306-309.
- <sup>80</sup> Flemming KD, Wijdicks EFM, St Louis EK, Li H. Predicting deterioration in patients with lobar hemorrhages. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; 66: 600-605.
- <sup>81</sup> Chen ST, Chen SD, Hsu CY, Hogan EL. Progression of hypertensive intracerebral hemorrhage. *Neurology* 1989; 39: 1509-1504.
- <sup>82</sup> Kelley RE, Berger JR, Scheinberg P. Active bleeding in hypertensive intracerebral hemorrhage: computed tomography. *Neurology* 1982; 32: 852-856.
- <sup>83</sup> Fujii Y, Tanaka R, Takeuchi S, Koike T, Minakawa T, Sasaka O. Hematoma enlargement in spontaneous intracerebral hemorrhage. *J Neurosurg* 1994; 80: 51-57.
- <sup>84</sup> Fujii Y, Takeuchi S, Sasaki O, Minakawa T, Tanaka R. Multivariate analysis of predictors of hematoma enlargement in spontaneous intracerebral hemorrhage. *Stroke* 1998; 29: 1160-1166.
- <sup>85</sup> Terayama Y, Tanahashi N, Fukuuchi Y, Gotoh F. Prognostic value of admission blood pressure in patients with intracerebral hemorrhage. Keio Cooperative Stroke Study. *Stroke* 1997; 28: 1185-1188.
- <sup>86</sup> Suzuki S, Kelley RE, Dandapani BK, Reyes-Iglesias Y, Dietrich WD, Duncan RC. Acute Leukocyte and temperature response in hypertensive intracerebral hemorrhage. *Stroke* 1995; 26: 1020-1023.
- <sup>87</sup> Neil-Dwyer G, Cruickshank J. The blood leukocyte count and its prognostic significance in subarachnoid hemorrhage. *Brain* 1974; 97: 79-86.
- <sup>88</sup> Franke CL, van Swieten JC, Algra A, van Gijn J. Prognostic factors in patients with intracerebral hematoma. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992; 55: 653-657.
- <sup>89</sup> Kojima S, Omura T, Wakamatsu W. Prognosis and disability of stroke patients after 5 years in Akita, Japan. *Stroke* 1990; 21: 72-77.
- <sup>90</sup> Fogelholm R, Nuutila M, Vuorela AL. Primary intracerebral hemorrhage in the Jyväskylä Region, Central Finland, 1985-89: incidence, case fatality rate, and functional outcome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992; 55: 546-552.
- <sup>91</sup> Helweg-Larsen S, Sommer W, Strange P. Prognosis for patients treated conservatively for spontaneous intracerebral hematomas. *Stroke* 1985; 15: 1045-1048.
- <sup>92</sup> Juvela S. Risk factors for impaired outcome after spontaneous intracerebral hemorrhage. *Arch Neurol* 1995; 52: 1193-1200.
- <sup>93</sup> Passero S, Burgalassi L, D-Andrea P, Battistini N. Recurrence of bleeding in patients with primary intracerebral hemorrhage. *Stroke* 1995; 26: 1189-1192.

- 
- <sup>94</sup> McKissock W, Richardson A, Taylor J. Primary intracerebral hemorrhage: a controlled trial of surgical and conservative treatment in 180 unselected cases. *Lancet* 1961; 2: 221-226.
- <sup>95</sup> Auer LM, Deinsberger W, Neiderkorn k, Gell G, Kleinert G, Hanusch S. Endoscopic surgery versus medical treatment for spontaneous intracerebral hematoma: a randomized study. *J Neurosurg* 1989; 70: 530-535.
- <sup>96</sup> Juvela S, Heiskanen O, Poranen A, Valtonen S, Kuurne T, Kaste M, Troupp H. The treatment of spontaneous intracerebral hemorrhage: a prospective randomized trial of surgical and conservative treatment. *J Neurosurg* 1989; 70: 755-758.
- <sup>97</sup> Batjer HH, Reisch JS, Allen BC, Plaizier LJ, Jen Su C. Failure of surgery to improve outcome in hypertensive putaminal hemorrhage: a prospective randomized trial. *Arch Neurol* 1990; 47: 1103-1106.
- <sup>98</sup> Morgenstern LB, Frankowski RF, Shedden P, Pasteur W, Grotta JC. Surgical treatment for intracerebral (STICH): a single-center, randomized clinical trial. *Neurology* 1998; 51: 1359-1363.
- <sup>99</sup> Chen X, Yang H, Czherig Z. A prospective randomized trial of surgical and conservative treatment of hypertensive intracranial hemorrhage (in Chinese). *Acta Acad Med Shanghai* 1992; 19: 237-240.
- <sup>100</sup> Zuccarello M, Brott T, Derex L, Kothari R, Sauerbeck L, Tew J, Van Loveren H, Yeh HS, Tomsick T, Pancioli A, Khoury J, Broderick J. Early surgical treatment for supratentorial intracerebral hemorrhage: a randomized feasibility study. *Stroke* 1999; 30: 1833-1939.
- <sup>101</sup> Hankey GJ, Hon C. Surgery for primary intracerebral hemorrhage: is it safe an effective? A systematic review of case series and randomized trials. *Stroke* 1997; 28: 2126-2132.
- <sup>102</sup> Prasad K, Bowman G, Srivastava A, Menon G. Surgery in primary supratentorial intracerebral hematoma: a meta-analyses of randomized trials. *Acta Neurol Scand* 1997; 95: 103-110.
- <sup>103</sup> Fernandes HM, Gregson B, Siddique S, Mendelow AD. Surgery in intracerebral hemorrhage. The uncertainty continues. *Stroke* 2000; 31: 2511-2516.
- <sup>104</sup> Bullock R, Mendelow AD, Teasdale JM. Intracranial hemorrhage induced at arterial pressure in the rat. Part 1: description of the technique, ICP changes and neuropathological findings. *Neurol Res* 1984; 6: 184-188.
- <sup>105</sup> Bullock R, Mendelow AD, Teasdale JM. Intracranial hemorrhage induced at arterial pressure in the rat. Part 2: short term changes in local cerebral blood flow measured by autoradiography. *Neurol Res* 1984; 6: 189-193.
- <sup>106</sup> Nath FP, Jenkins A, Mendelow AD. Early hemodynamic changes in experimental intracerebral hemorrhage. *J Neurosurg* 1986; 65: 697-703.
- <sup>107</sup> Rosenberg GA, Mun-Bryce S, Wesley M, Kornfeld M. Collagenase-induced intracerebral hemorrhage in rats. *Stroke* 1990; 21: 801-807.
- <sup>108</sup> Chesney JA, Kondoh T, Conrad JA, Low WC. Collagenase-induced intrastriatal hemorrhage in rats results in long-term locomotor deficits. *Stroke* 1995; 26: 312-317.
- <sup>109</sup> Del Bigio MR, Yan HJ, Buist R, Peeling J. Experimental intracerebral hemorrhage in rats: Magnetic resonance imaging and histopathological correlates. *Stroke* 1996; 27: 2312-2320.
- <sup>110</sup> Mayer SA, Sacco RL, Shi T, Mohr JP. Neurological deterioration in noncomatose patients with supratentorial intracerebral hemorrhage. *Neurology* 1994; 44: 1379-1384.



- 
- <sup>111</sup> Yang G, Betz AL, Chenevert TL, Brunberg JA, Hoff JT. Experimental intracerebral hemorrhage: relationship between brain edema, blood flow, and blood-brain barrier permeability in rats. *J Neurosurg* 1994; 81: 93-102.
- <sup>112</sup> Wagner KR, Xi G, Hua Y, Kleinholz M, de Courten-Myers GM, Myers RE, Broderick JP, Brott TG. Lobar intracerebral hemorrhage model in pigs: rapid edema development in perihematomal white matter. *Stroke* 1996; 27: 490-497.
- <sup>113</sup> Rosenberg GA, Scremin O, Estrada E, Kyner WT. Arginine vasopressin V1-antagonist and atrial natriuretic peptide reduce hemorrhagic brain edema in rats. *Stroke* 1992; 23: 1767-1773.
- <sup>114</sup> Suzuki J, Ebina T. Sequential changes in tissue surrounding ICH. En: Pia HW, Longmaid C, Zierski J, eds. *Spontaneous Intracerebral Hematomas: Advances in Diagnosis and Therapy*. Berlin, Germany: Springer; 1980: 121-128.
- <sup>115</sup> Lee KR, Colon GP, Betz AL, Keep RF, Kim S, Hoff JT. Edema from intracerebral hemorrhage: the role of thrombin. *J Neurosurg* 1996; 84: 91-96.
- <sup>116</sup> Lee KR, Betz AL, Kim S, Keep RF, Hoff JT. The role of the coagulation cascade in brain edema formation after intracerebral hemorrhage. *Acta Neurochir (Wien)* 1996; 138: 396-401.
- <sup>117</sup> Gebel J, Brott TG, Sila CA, Tomsick TA, Jauch E, Salisbury S, Khoury J, Miller R, Pancioli A, Duldner JE, Topol EJ, Broderick JP. Decreased perihematomal edema in thrombolysis-related intracerebral hemorrhage compared with spontaneous intracerebral hemorrhage. *Stroke* 2000; 31: 596-600.
- <sup>118</sup> Xi G, Keep RF, Hua Y, Xiang J, Hoff JT. Attenuation of thrombin-induced brain edema by cerebral thrombin preconditioning. *Stroke* 1999; 30: 1247-1255.
- <sup>119</sup> Kato H, Liu Y, Araki T, Kogure K. Temporal profile of the effects of pretreatment with brief cerebral ischemia on the neuronal damage following secondary ischemic insult in the gerbil: cumulative damage and protective effects. *Brain Res* 1991; 553: 238-242.
- <sup>120</sup> Xi G, Keep RF, Hoff JT. Erythrocytes and delayed brain edema formation following intracerebral hemorrhage in rats. *J Neurosurg* 1998; 89: 991-996.
- <sup>121</sup> Yang GY, Betz AL, Chenevert TL, Brunberg JA, Hoff JT. Experimental intracerebral hemorrhage: relationship between brain edema, blood flow, and blood-brain barrier permeability in rats. *J Neurosurg* 1994; 81: 93-102.
- <sup>122</sup> Armao D, Kornfeld M, Estrada EY, Grossetete M, Rosenberg GA. Neutral proteases and disruption of the blood-brain barrier in rat. *Brain Res* 1997; 767: 259-264.
- <sup>123</sup> Mun-Bryce S, Rosenberg GA. Gelatinase B modulates selective opening of the blood-brain barrier during inflammation. *Am J Physiol* 1998; 274: R1203-1211.
- <sup>124</sup> Murphy G. Matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Acta Orthop Scand* 1995; 66 (suppl 256): 55-60.
- <sup>125</sup> Matrisian LM. Metalloproteinases and their inhibitors in matrix remodeling. *Trends Genet* 1990; 6: 121-5.
- <sup>126</sup> Suzuki M, Raab G, Moses MA, Fernandez CA, Klagsbrun M. Matrix metalloproteinase-3 releases active heparin-binding EGF-like growth factor by cleavage at a specific juxtamembrane site. *J Biol Chem* 1997; 272: 31730-31737.

- 
- <sup>127</sup> Kayagaki N, Kawasaki A, Ebata T, Ohmoto H, Ikeda S, Inoue S, Yoshino K, Okumura K, Yagita H. Metalloproteinase-mediated release of human Fas ligand. *J Exp Med* 1996; 182: 1777-1783.
- <sup>128</sup> Black RA, Rauch CT, Kozlosky C, Peshon JJ, Slack JL, Wolfson MF, Castner BJ, Stocking KL, Reddy P, Srinivasan S, Nelson N, Boiani N, Schooley KA, Gerhart M, Davis R, Fitzner JN, Johnson RS, Paxton RJ, March CJ, Ceretti DP. A metalloproteinase disintegrin that releases tumor-necrosis factor-alpha from cells. *Nature* 1997; 385: 729-733.
- <sup>129</sup> Docherty AJP, O'Connell J, Crabbe T, Angal S, Murphy G. The matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Trends Biotech* 1992; 12: 110-117.
- <sup>130</sup> Murphy G, Docherty AJP. The matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992; 7: 120-125.
- <sup>131</sup> Docherty AJP, Lyons A, Smith BJ. Sequence of human tissue inhibitor of metalloproteinases and its identity to erythroid-potentiating activity. *Nature* 1985; 318: 66-69.
- <sup>132</sup> Boone TC, Johnson MJ, De Clerck YA, Langley KE. C-DNA cloning and expression of a metalloproteinase inhibitor related to tissue inhibitor of metalloproteinases. *Proc Natl Acad Sci USA*; 1990: 2800-2804.
- <sup>133</sup> Murphy G, Houbrechts A, Cockett MI, Wilyamson RA, O'Shea M, Docherty AJP. The N-terminal domain of tissue inhibitor of metalloproteinases retains metalloproteinase inhibitory activity. *Biochemistry* 1991; 30: 8097-8102.
- <sup>134</sup> Dean DD, Martel-Pelletier J, Pelletier JP, Howell DS, Woessner JF. Evidence for metalloproteinase and metalloproteinase inhibitor imbalance in human osteoarthritic cartilage. *J Clin Invest* 1989; 84: 678-685.
- <sup>135</sup> Brown CC, Hembry RM, Reynolds JJ. Immunolocalization of metalloproteinases and their inhibitor in the rabbit growth plate. *J Bone Joint Surg (Am)* 1989; 71-A: 580-593.
- <sup>136</sup> Unemori EN, Bouhana KS, Werb Z. Vectorial secretion of extracellular matrix proteins, matrix-degrading proteinases, and tissue inhibitor of metalloproteinases by endothelial cells. *J Biol Chem* 1990; 265: 445-451.
- <sup>137</sup> Brew K, Dinakarandian D, Nagase H. Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1477: 267-283.
- <sup>138</sup> Matrician LM. Metalloproteinases and their inhibitors in matrix remodelling. *Trends Genet* 1990; 6: 121-125.
- <sup>139</sup> Docherty AJP, Murphy G. The tissue metalloproteinase family and the inhibitor TIMP: a study using cDNAs and recombinant proteins. *Ann Rheum Dis* 1990; 49: 469-479.
- <sup>140</sup> Carmeliet P, Collen D. Development and disease in proteinase-deficient mice: role of the plasminogen, matrix metalloproteinase and coagulation system. *Thromb Res* 1998; 91: 255-285.
- <sup>141</sup> Lijnen HR, Collen D. Mechanisms of physiological fibrinolysis. *Baillière's Clinical Haematology* 1995; 8: 277-290.
- <sup>142</sup> Okada Y, Gonoji Y, Naka K, Tomita K, Nakanishi I, Iwata K, Yamashita K, Hayakawa T. Matrix metalloproteinase 9 (92-kDa gelatinase/type IV collagenase) from HT 1080 human fibrosarcoma cells: purification and activation of the precursor and enzymic properties. *J Biol Chem* 1992; 267: 21712-21719.

- <sup>143</sup> Suzuki K, Enghild JJ, Morodomi T, Salvesen G, Nagase H. Mechanisms of activation of tissue procollagenase by matrix metalloproteinase 3 (stromelysin). *Biochemistry* 1990; 29: 10261-10270.
- <sup>144</sup> Ogata Y, Enghild JJ, Nagase H. Matrix metalloproteinase 3 (stromelysin) activates the precursor for the human matrix metalloproteinase 9. *J Biol Chem* 1992; 267: 3581-3584.
- <sup>145</sup> Knauper P, Smith B, Lopez Otin C, Murphy G. Activation of progelatinase B (pro-MMP-9) by active collagenase-3 (MMP-13). *Eur J Biochem* 1997; 248: 369-373.
- <sup>146</sup> He CS, Wilhelm SM, Pentland AP, Marmer BL, Grant GA, Eisen AZ, Goldberg GI. Tissue cooperation in a proteolytic cascade activating human interstitial collagenase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 2632-2636.
- <sup>147</sup> Mazzieri S, Masiero L, Zanetta L, Monea S, Onisto M, Garbisa S, Mignatti P. Control of type IV collagenase activity by components of the urokinase/plasmin system: a regulatory mechanism with cell-bound reactants. *EMBO J* 1997; 16: 2319-2332.
- <sup>148</sup> Lijnen HR, Silence J, Lemmens G, Frederix L, Collen D. Regulation of gelatinase activity in mice with targeted inactivation of components of the plasminogen/plasmin system. *Thromb Haemost* 1998; 79: 1171-1176.
- <sup>149</sup> Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, Stankunavicius R, Kolettis GJ. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1987; 316: 1371-1375.
- <sup>150</sup> Falk E, Shah P, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995; 92: 657-671.
- <sup>151</sup> Dollery CM, McEwan JR, Henney AM. Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease. *Circ Res* 1995; 77: 863-868.
- <sup>152</sup> Thompson RW, Holmes DR, Mertens RA, Liao S, Botney MD, Mecham RP, Welgus HG, Parks WC. Production and localisation of 92-kDa gelatinase in abdominal aortic aneurysms. *J Clin Invest* 1995; 96: 318-326.
- <sup>153</sup> Herron GS, Banda MJ, Clark EJ, Gavrilovic J, Werb Z. Secretion of metalloproteinases by stimulated capillary endothelial cells. II. Expression of collagenase and stromelysin activities is regulated by endogenous inhibitors. *J Biol Chem* 1986; 261: 2814-2818.
- <sup>154</sup> Yanagi H, Sasaguri Y, Sugama K, Morimatsu M, Nagase H. Production of tissue collagenase (matrix metalloproteinase 1) by human aortic smooth muscle cells in response to platelet-derived growth factor. *Atherosclerosis* 1991; 91: 207-216.
- <sup>155</sup> Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1994; 94: 2493-2503.
- <sup>156</sup> Brown PD, Levy AT, Margulies IMK, Liotta LA, Stetler-Stevenson WG. Independent expression and cellular processing of 72,000 type IV collagenase and interstitial collagenase in human tumorigenic cell lines. *Cancer Res* 1990; 50: 6184-6191.
- <sup>157</sup> Loftus IM, Ross Naylor A, Goodall S, Crowther M, Jones L, Bell PRF, Thompson MM. Increased matrix metalloproteinase-9 activity in unstable carotid plaques. A potential role in acute plaque disruption. *Stroke* 2000; 31: 40-47.
- <sup>158</sup> Kai H, Ikeda H, Yasukawa H, Kai M, Seki Y, Kuwahara F, Ueno T, Sugi K, Imaizumi T. Peripheral blood levels of matrix metalloproteinase-2 and -9 are elevated in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 368-372.

- <sup>159</sup> Aikawa M, Rabkin E, Okada Y, Voglic SJ, Clinton SK, Brinckerhoff CE, Sukhova GK, Libby P. Lipid lowering by diet reduces matrix metalloproteinase activity and increases collagen content of rabbit atheroma: a potential mechanism of lesion stabilization. *Circulation* 1998; 97: 2433-2444.
- <sup>160</sup> Bocan TM, Krause BR, Rosebury WS, Mueller SB, Lu X, Dagle C, Major T, Lathia C, Lee H. The ACAT inhibitor avasimibe reduces macrophages and matrix metalloproteinase expression in atherosclerotic lesions of hypercholesterolemic rabbits. *Arterioscler Throm Vasc Biol* 2000; 20: 70-79.
- <sup>161</sup> Dawson JW. The histology of disseminated sclerosis. *Trans R Soc Edin* 1916; 50: 517-525.
- <sup>162</sup> Miller DH, Barkhof F, Nauta JJP. Gadolinium enhancement increases the sensitivity of MRI in detecting disease activity in multiple sclerosis. *Brain* 1993; 116: 1077-1094.
- <sup>163</sup> Rosenberg GA, Kornfeld M, Estrada E, Kelley RO, Liotta LA, Stetler-Stevenson WG. TIMP-2 reduces proteolytic opening of blood-brain barrier by type IV collagenase. *Brain Res* 1992; 576: 203-207.
- <sup>164</sup> Rinne UK, Riekkinen P. Esterase, peptidase and proteinase activities of human cerebrospinal fluid in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 1968; 44: 156-167.
- <sup>165</sup> Gijbels K, Masure S, Carton H, Opdenakker G. Gelatinase in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis and other inflammatory neurological disorders. *J Neuroimmunol* 1992; 41: 29-34.
- <sup>166</sup> Troiano R, Hafstein M, Ruderman M, Dowling P, Cook S. Effect of high-dose intravenous steroid administration on contrast-enhancing computed tomographic scan lesions in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1984; 15: 257-263.
- <sup>167</sup> Rosenberg GA, Dencoff JE, Correa N, Reiners M, Ford CC. Effect of steroids on CSF matrix metalloproteinases in multiple sclerosis. Relation to blood-brain barrier injury. *Neurology* 1996; 46: 1626-1632.
- <sup>168</sup> Stuve O, Dooley NP, Uhm JH. Interferon beta-1b decreases the migration of T lymphocytes in vitro: effects on matrix metalloproteinase-9. *Ann Neurol* 1996; 40: 853-863.
- <sup>169</sup> Hartung HP, Kieseier BC. Targets for the therapeutic action of interferon beta in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1996; 40: 825-826.
- <sup>170</sup> Waubant E, Goodkin DE, Gee L, Bacchetti P, Sloan R, Stewart T, Anderson PB, Stabler G, Miller K. Serum MMP-9 and TIMP-1 levels are related to MRI activity in relapsing multiple sclerosis. *Neurology* 1999; 53: 1397-1401.
- <sup>171</sup> Trojano M, Avolio C, Liuzzi GM. Changes of serum ICAM-1 and MMP-9 induced by r-IFN- $\beta$  treatment in relapsing-remitting MS. *Neurology* 1999; 53: 1402-1408.
- <sup>172</sup> Lukes A, Mun-Bryce S, Lukes M, Rosenberg GA. Extracellular matrix degradation by metalloproteinase and central nervous system diseases. *Mol Neurobiol* 1999; 19: 255-272.
- <sup>173</sup> Shaw CM, Alvord EC, Berry RG. Swelling of the brain following ischemic infarction with arterial occlusion. *Arch Neurol* 1959; 1:161-177.
- <sup>174</sup> White OB, Norris JW, Hachinski VC, Lewis A. Death in early stroke, causes and mechanisms (letter). *Stroke* 1979; 10: 743.
- <sup>175</sup> Rosenberg GA, Navratil M, Barone F, Feuerstein G. Proteolytic cascade enzymes increase in focal cerebral ischemia in rat. *J Cerebral Blood Flow Metab* 1996; 16: 360-366.

- <sup>176</sup> Romanic AM, White RF, Arleth AJ, Ohlstein EH, Barone FC. Matrix metalloproteinase expression increases after cerebral focal ischemia in rats. Inhibition of Matrix Metalloproteinase-9 reduces infarct size. *Stroke* 1998; 29: 1020-1030.
- <sup>177</sup> Clark AW, Krekoski CA, Bou SS, Chapman KR, Edwards DR. Increased gelatinase A (MMP-2) and gelatinase B (MMP-9) activities in human brain after focal ischemia. *Neuroscience letters* 1997; 238: 53-56.
- <sup>178</sup> Colton CA, Keri JE, Chen WT, Monsky WL. Protease production by cultures microglia: substrate gel analysis and immobilized matrix degradation. *J Neurosci Res* 1993; 35: 297-304.
- <sup>179</sup> Herron GS, Werb Z, Dwyer K, Banda MJ. Secretion of metalloproteinases by stimulated capillary endothelial cells. I. Production of procollagenase and promelysin exceeds expression of proteolytic activity. *J Biol Chem* 1986; 261: 2810-2813.
- <sup>180</sup> Khan KMF, Falcone DJ. Role of laminin in matrix induction of macrophage urokinase-type plasminogen activator and 92 kDa metalloproteinase expression. *J Biol Chem* 1997; 272: 8270-8275.
- <sup>181</sup> Tyagi SC, Kumar S, Cassatt S, Parker JL. Temporal expression of extracellular matrix metalloproteinase and tissue plasminogen activator in the development of collateral vessels in the canine model of coronary artery occlusion. *Can J Physiol Pharmacol* 1996; 74: 983-995.
- <sup>182</sup> Yang GL, Betz AL. Reperfusion-induced injury to the blood-brain barrier after middle cerebral artery occlusion in rats. *Stroke* 1994; 25: 1658-1664.
- <sup>183</sup> Rosenberg GA, Estrada EY, Dencoff JE, Stetler-Stevenson WG. Tumor necrosis factor-alpha-induced gelatinase B causes delayed opening of the blood-brain barrier: and expanded therapeutic window. *Brain Res* 1995; 703: 151-155.
- <sup>184</sup> Hamann GF, Okada Y, del Zoppo GJ. Hemorrhagic transformation and microvascular integrity during focal cerebral ischemia/reperfusion. *J Cerebr Blood Flow Metab* 1996; 16: 1373-1378.
- <sup>185</sup> Rosenberg GA, Estrada EY, Dencoff JE. Matrix metalloproteinases and TIMPs are associated with blood-brain barrier opening after reperfusion in rat brain. *Stroke* 1998; 29: 2189-2195.
- <sup>186</sup> Lapchak PA, Chapman DF, Zivin JA. Metalloproteinase inhibition reduces thrombolytic (tissue plasminogen activator)-induced hemorrhage after thromboembolic stroke. *Stroke* 2000; 31: 3034-3040.
- <sup>187</sup> Asahi M, Asahi K, Jung JC, del Zoppo GJ, Fini ME, Lo EH. Role for matrix metalloproteinase 9 after focal cerebral ischemia: effects of gene knockout and enzyme inhibition with BB-94. *J Cerebr Blood Flow Metab* 2000; 20: 1681-1689.
- <sup>188</sup> Rosenberg GA, Navratil M. Metalloproteinase inhibition blocks edema in intracerebral hemorrhage in the rat. *Neurology* 1997; 48: 921-926.
- <sup>189</sup> Kazui S, Minematsu K, Yamamoto H, Sawada T, Yamaguchi T. Predisposing factors to enlargement of spontaneous intracerebral hematoma. *Stroke* 1997; 28: 2370-2375.
- <sup>190</sup> Kazui S, Naritomi H, Yamamoto H, Sawada T, Yamaguchi T. Enlargement of spontaneous intracerebral hemorrhage: incidence and time course. *Stroke* 1996; 27: 1783-1787.
- <sup>191</sup> Montaner J, Alvarez-Sabín J, Molina C, Anglés A, Abilleira S, Arenillas J, González MA, Monasterio J. Matrix metalloproteinase expression after human cardioembolic stroke. Temporal profile and relation to neurological impairment. *Stroke* 2001; 32:----. (acceptat, pendent de publicació)

<sup>192</sup> Reich R, Thompson EW, Iwamoto Y, Martin GR, Deason JR, Fuller GC, Miskin R. Effects of inhibitors of plasminogen activator, serine proteinases, and collagenase IV on the invasion of basement membranes by metastatic cells. *Cancer Res* 1988; 48: 3307-3312.