



# **Biomarqueurs de l'Accident Vasculaire Cérébral**

2<sup>ème</sup> Colloque du REPREMAF

Samedi, 25 août 2018

Dr YACOUBA Abdourahamane

Médecin Biologiste

# Plan

- ❑ Introduction
- ❑ Physiopathologie des AVC
- ❑ Classification des biomarqueurs des AVC
- ❑ Méthodes de dosage
- ❑ Panels de biomarqueurs
- ❑ Limites des biomarqueurs des AVC
- ❑ Conclusion

# Introduction

- AVC, Problème de santé publique : **7.8 million de décès en 2030** Strong et al, 2007
- Première cause de handicap invalidant
- Progrès connaissance de la physiopathologie des AVC
- Transition des soins par Introduction d'agents thrombolytiques (rt-PA)
- Cependant, Indication rt-PA (3h-4h30) AHA/ASA Recommandations 2018

# Introduction

- Biologie médicale: Longtemps absente
- Développement des Biomarqueurs pour révolutionner la PEC
- Objectif: SIMPLIFIER, ACCELERER et AMELIORER
- A ce jour, plus de 58 Biomarqueurs, dont plusieurs sous formes de panels

# Définition des Biomarqueurs

«une caractéristique mesurée objectivement et évaluée comme indicateur de processus physiologique ou physiopathologique ou de réponse de l'organisme à une intervention pharmacologique»

National Institutes of Health (NIH) Biomarkers Definitions Working Group, 1998

# Définition des Biomarqueurs

« Toute substance, structure ou processus pouvant être mesuré dans l'organisme ou ses produits et influencer ou prédire l'incidence des résultats ou de la maladie »

WHO International Programme on Chemical Safety. Biomarkers  
in Risk Assessment

# Définition des Biomarqueurs

## Biomarqueur Idéal:

- Facilement mesurable, Disponible
- Prélevé dans le sang circulant ;
- Spécifique, avec une sensibilité très précoce;
- Différencier un AVC ischémique vs AVC hémorragique
- Taux sérique corrélé au volume de l'infarctus ;
- Prédire le pronostic et la réponse au traitement

# Intérêt

- **Diagnostic:**

- AVC Ischémique vs AVC Hémorragique
- Etiologie des AVC ischémique

- **Thérapeutique:**

- Recanalisation artérielle après rt-PA
- Hémi-craniectomie décompressive

- **Pronostique**

- Transformation hémorragique
- Mortalité élevée à court terme



# **Classification**

- **Physiopathologique**
- **Application en clinique**

# Classification

(Mécanisme physiopathologique)

	<b>Biomarqueurs</b>	<b>Origines</b>
<b>Biomarqueurs de lésion cellulaire du SNC</b>	S100B	Astrocytes
	GFAP	Astrocytes, testis, liver
	NSE	Neurons, neuroendocrin neoplasma, uremia
	NMDA-R Ab	Glutamate excitotoxin response
	MBP	Myelin damage oligodendrocytes, schwann cells
<b>Biomarqueurs de l'inflammation</b>	CRP	Liver synthesis
	IL-6	Cytokine from T-cells+macrophage
	TNF- $\alpha$	Cytokine, inflammatory cells
	VCAM 1, ICAM 1	Immunoglobulin
	MMP2, MMP9	Gelatinase proteolytic enzymes
	Lp-PLA2*	Inflammatory cells
	ApoC-1, ApoC-III	Lipoproteins

\* FDA approved

# Classification

(Mécanisme physiopathologique)

	<b>Biomarqueurs</b>	<b>origines</b>
<b>Marqueurs de l'hémostase/thrombose ou de la fibrinolyse</b>	Fibrinogen D-Dimer vWF PAI I	Glycoprotein cleaved by thrombin to fibrin Breakdown of fibrin blood clot Glycoprotein
<b>Autres Biomarqueurs</b>	Plasma DNA PARK7 NDKA	Liver synthesis Cytokine from T-cells+macrophage Cytokine, inflammatory cells

**Jickling et al., 2016**

# Classification

(Application médicale)

## □ Application en clinique

- **Biomarqueurs de différenciation entre AVC ischémique et hémorragique**
- Biomarqueurs de prédiction de risque de survenue d'AVC ischémique
- **Biomarqueurs de diagnostic étiologique de l'AVC ischémique**
- Biomarqueurs du volume final de la zone infarctée et du pronostic
- **Biomarqueurs de détérioration neurologique précoce**
- **Biomarqueurs de la transformation hémorragique**
- Biomarqueurs de l'hémicraniectomie décompressive
- **Biomarqueurs de la recanalisation artérielle**
- Biomarqueurs de l'évaluation de traitement préventif

Jickling et al., 2011

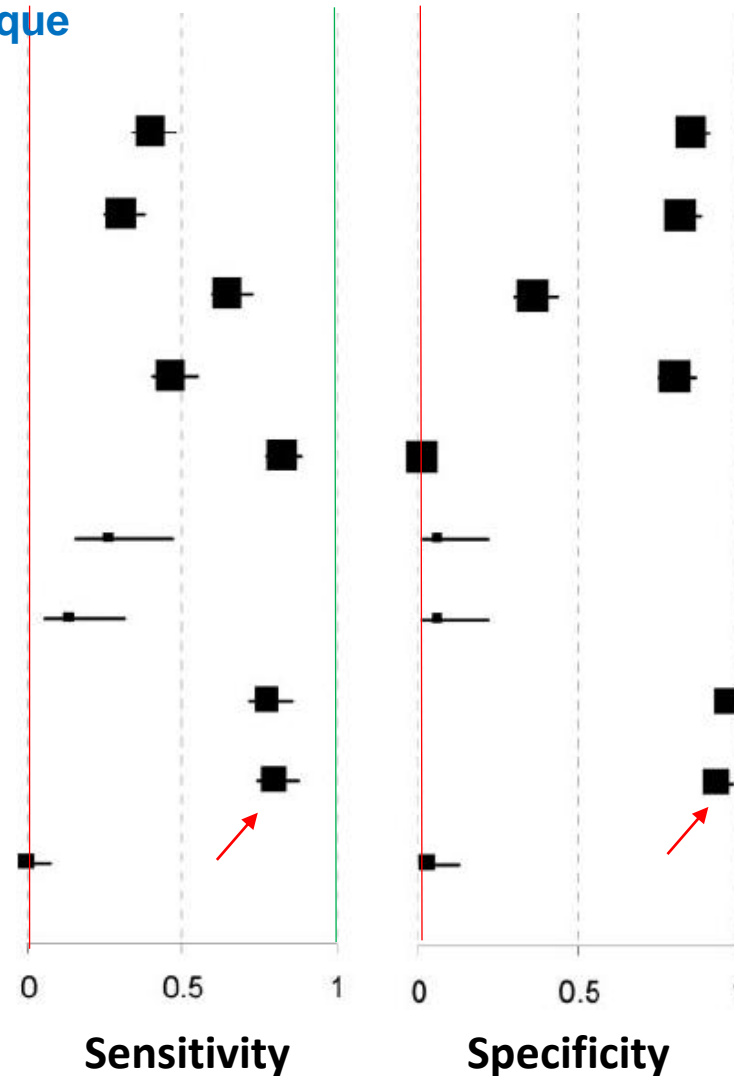
# Classification

(Application médicale)

## Différentiation

AVC Ischémique vs AVC Hémorragique

Sensitivity and specificity of biomarkers for the diagnosis of hemorrhagic stroke in studies of patients with hemorrhagic and ischemic stroke, with 95% confidence intervals



		Diagnostic threshold
β globin DNA	Rainer 2007	1486 kilogenome equivalents/L
β globin DNA	Rainer 2007	2500 kgenome equ/L
S100β	Rainer 2007	0.104 µg/L
S100β	Rainer 2007	0.25 µg/L
S100β/β gl DNA	Rainer 2007	DNA>2500 kgenome equ/L and S100 > 0.25µg/L
Apoprotein C 1	Allard 2004	59 RFU
Apoprotein C3	Allard 2004	39 RFU
GFAP	Foerch 2006	2.9 ng/L
GFAP	Foerch 2006	1.8 ng/L
NR2A/2B Abs	Dambinova 2003	<2µg/L

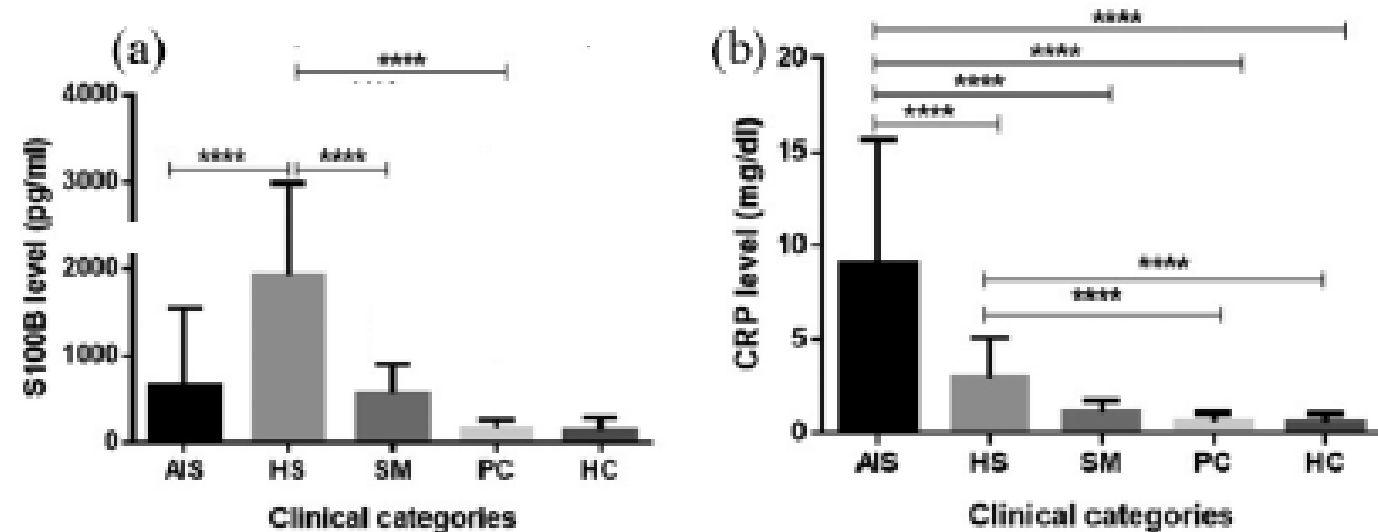
# Blood biomarkers in ischemic stroke: Role of biomarkers in differentiation of clinical phenotype

Chunyan Fang, Bin Lou, Juanjuan Zhou, Ren Zhong,

Fang et al., 2018

## Biomarkers for differentiation of AIS and HS

We observed elevated plasma levels of S100B, MMP-9, TNF- $\alpha$ , PAI-1, and P-selectin in HS compared to AIS. In contrast, AIS patients displayed high levels of CRP than HS. Furthermore, biomarker analysis revealed CRP and P-selectin as possible markers for AIS, and, on the other hand, S100B and MMP-9 were restricted to HS. To find out a valid biomarker which can differentiate between AIS and HS, we performed ROC curve analysis of S100B, CRP, MMP-9, TNF- $\alpha$ , PAI-1, and P-selectin, and results are shown in Figure 4. Although area under ROC curve was not highly significant, S100B (area: 0.88,  $P < 0.0001$ ) and CRP (area: 0.85,  $P < 0.0001$ ) can be possible biomarkers for differentiation of stroke type.



**AIS:** acute ischemic stroke; **HS:** hemorrhagic stroke; **SM:** stroke mimicking patients; **PC:** patient controls; **HC:** healthy controls; \*\*\*\* :  $p < 0.0001$

## Study population:

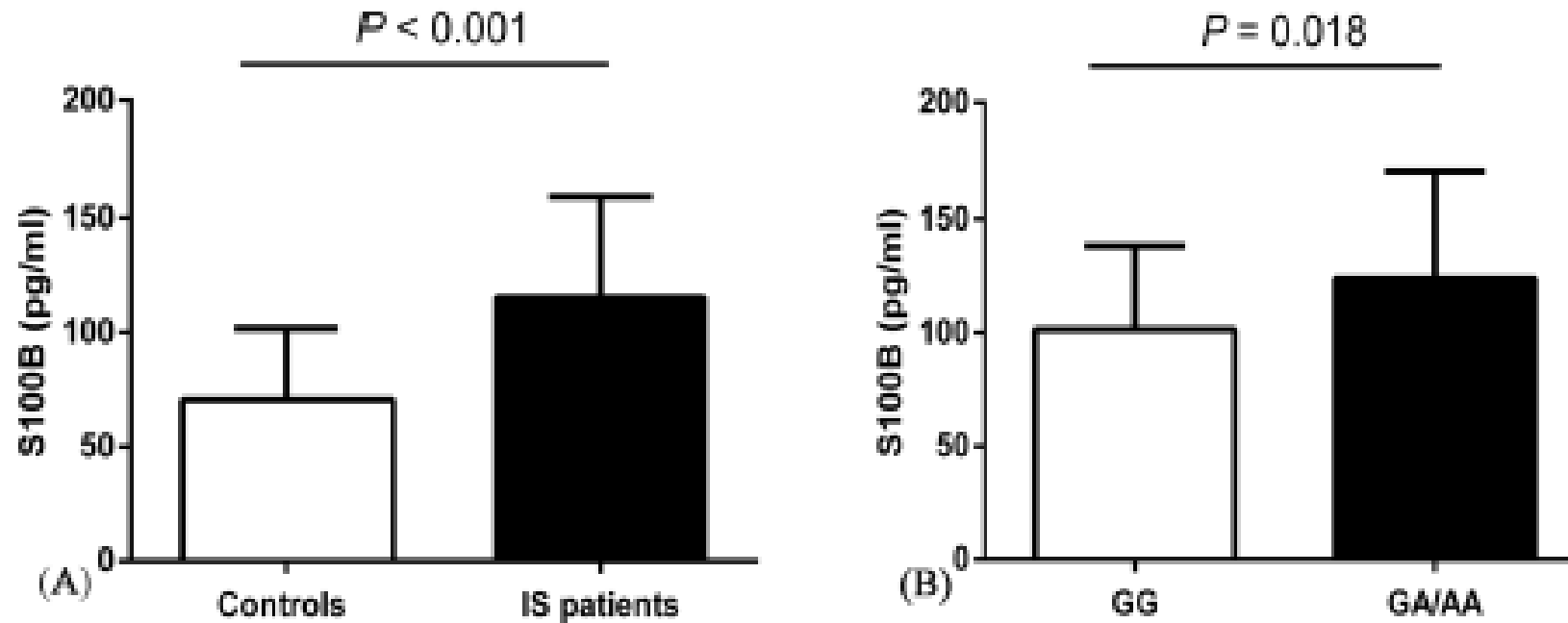
AIS (N = 262) HS (N = 42) SM (N = 46) PC (N = 125) HC (N = 200)

# S100B et risque de survenu d'un ACV I

OPEN Association of *S100B* polymorphisms and serum S100B with risk of ischemic stroke in a Chinese population

Received: 31 May 2017  
Accepted: 21 December 2017  
Published online: 17 January 2018

Yu-Lan Lu<sup>1</sup>, Rong Wang<sup>1</sup>, Hua-Tuo Huang<sup>1</sup>, Hai-Mei Qin<sup>1</sup>, Chun-Hong Liu<sup>1</sup>, Yang Xiang<sup>1</sup>, Chun-Fang Wang<sup>2</sup>, Hong-Cheng Luo<sup>2</sup>, Jun-Li Wang<sup>3</sup>, Yan Lan<sup>2</sup> & Ye-Sheng Wei<sup>2</sup>



**Figure 1.** ELISA detection of serum S100B levels. (A) There were significant differences in the levels of serum S100B between IS patients [(115.03 ± 44.42) pg/mL; n = 44] and controls [(70.53 ± 30.98) pg/mL; n = 44], ( $P < 0.001$ ). (B) Increased levels of serum S100B in IS patients carrying the rs9722 GA/AA genotypes [(123.98 ± 47.42) pg/mL; n = 52] compared with those carrying the rs9722 GG genotype [(101.33 ± 36.98) pg/mL; n = 36], ( $P = 0.018$ ). Data are presented as the mean ± standard error.

# Classification

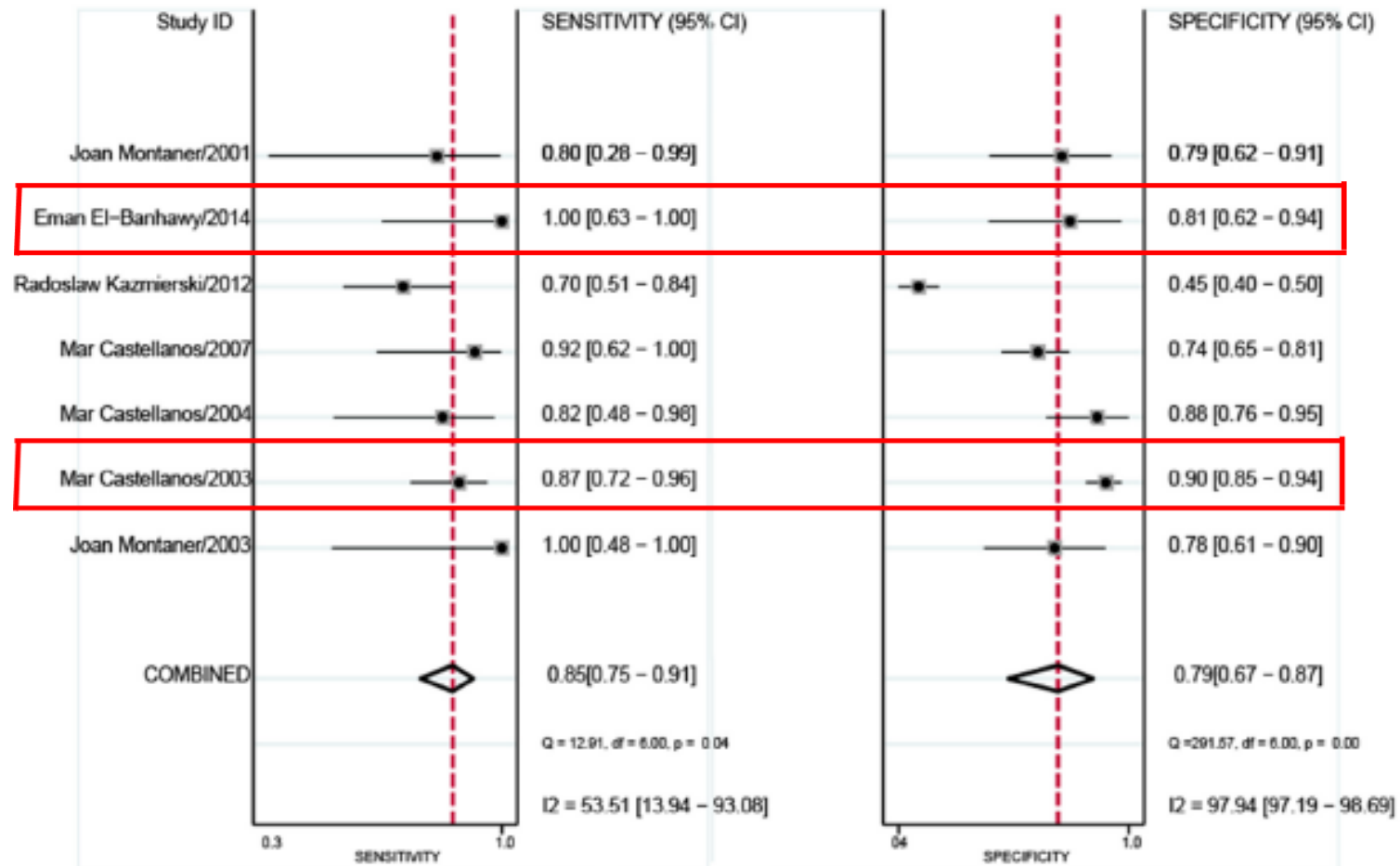
(Application médicale)

Type	Biomarker	Performances
Hemorrhagic Transformation	MMPs MMP-9 +++	MMP-9 $\geq$ 140 ng/ml Se: 87% and Sp: 90% Castellanos et al. 2003
	c-Fn	c-Fn $>3.6\mu\text{g/ml}$ after t-PA, Se: 100%, Sp: 96% Castellanos et al. 2004
	PAI-1	PAI-1 $>180\%$ + TAFI $<21.4$ ng/ml after t-PA
	TAFI	Se: 75% , Sp : 97.6%. Ribo et al.,2004



## The Accuracy of Serum Matrix Metalloproteinase-9 for Predicting Hemorrhagic Transformation After Acute Ischemic Stroke: A Systematic Review and Meta-Analysis

Lu Wang, MD,\*† Chenchen Wei, MD,\*† Linghui Deng, MD,\*†



# Classification

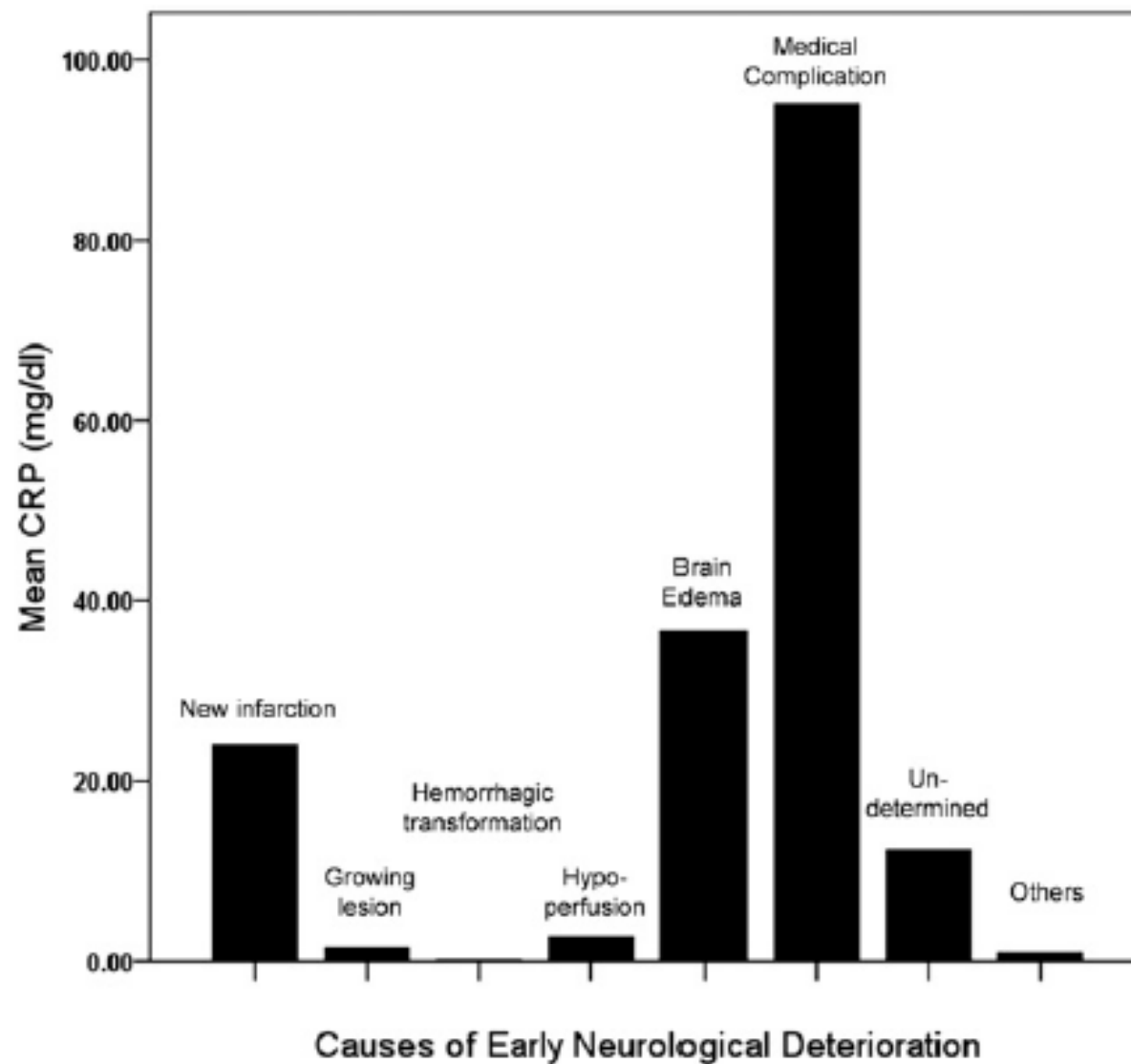
(Application médicale)

Type	Biomarker	Description	References
Early Neurologic Deterioration	Glutamate	Amino acid; neurotransmitter that activates cell surface receptors found on neuronal and glial membranes	4,38,82,83,89,96,97, 104,105
	TNF- $\alpha$	Cell signalling protein that regulates immune cells and inhibits tumorigenesis	15,16,42,47,51,52,54, 55,80,84,97,116
	ICAM-1	Transmembrane immunoglobulin protein involved in leukocyte-endothelial cell signal transduction	42,48,52,80
	MMPs	Calcium-dependent proteolytic enzyme, involved in degradation of basal lamina and extracellular matrix to disrupt blood-brain barrier	8,16,44,52,84-88,97, 106-109,116
	CRP	An acute-phase pentameric protein found in the blood plasma; a type of pattern recognition receptors (PRR) involved in inflammation response and innate immunity	10,18-20,35,40-42, 44-46,48,49,55,57, 59,64,73,82,98,108, 116,120-122,131

Original Article

## C-Reactive Protein is a Predictor of Early Neurologic Deterioration in Acute Ischemic Stroke

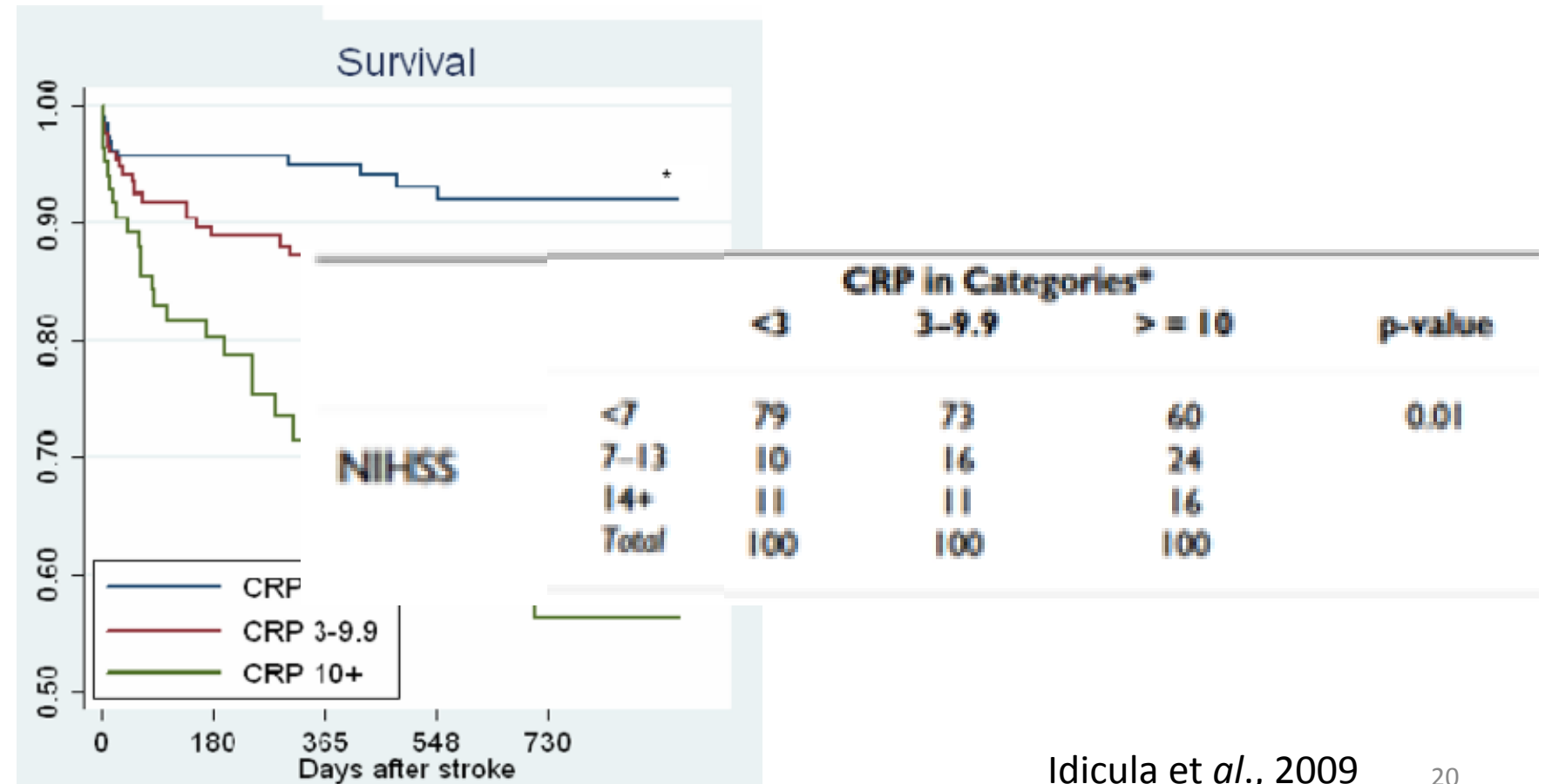
Woo-Keun Seo MD, PhD, Hung-Youl Seok MD, Ji Hyun Kim MD, PhD, Moon-Ho Park MD, PhD, Sung-



**Figure 2.** Mean CRP level according to cause of early neurologic deterioration.

# Admission C – reactive protein after acute ischemic stroke is associated with stroke severity and mortality: The 'Bergen stroke study'

Titto T Idicula <sup>†</sup>✉, Jan Brogger <sup>†</sup>, Halvor Naess, Ulrike Waje-Andreassen and Lars Thomassen



# Classification

(Application médicale)

## C-Reactive Protein Levels and Clinical Outcomes in Stroke Patients: A Prospective Cohort Study

**Table 3.** Association Between CRP Levels and Stroke Outcome Scores Using MRS, BI, and NIHSS

Variables	CRP <7 mg/L	CRP ≥7 mg/L	OR (95% CI)	P Value	Adjusted OR (95% CI) <sup>a</sup>	P Value
MRS on the 1st day						
≤2	9	4	1.00		1.00	
>2	56	86	3.45 (1.01, 11.76)	0.047	4.73 (1.08, 20.56)	0.038
MRS on the 4th day						
≤2	12	3	1.00		1.00	
>2	53	87	6.56 (1.77, 24.34)	0.005	5.16 (1.05, 25.27)	0.043
MRS on the 90th day						
≤2	51	22	1.00		1.00	
>2	14	68	11.25 (5.25, 24.12)	0.001	17.14 (5.49, 53.49)	0.001
BI on the 1st day						
≥70	15	3	1.00		1.00	
<70	50	87	8.70 (2.40, 31.52)	0.001	5.95 (1.24, 28.47)	0.026
BI on the 4th day						
≥70	25	6	1.00		1.00	
<70	40	84	8.75 (3.32, 23.02)	0.001	7.65 (2.06, 28.39)	0.002
BI on the 90th day						
≥70	47	24	1.00		1.00	
<70	18	66	7.18 (3.50, 14.70)	0.001	7.95 (3.07, 20.57)	0.001
NIHSS at baseline						
<7	35	2	1.00		1.00	
7–13	15	51	17.00 (6.28, 45.97)	0.001	16.24 (5.03, 52.43)	0.001
≥13	15	32	10.66 (3.85, 45.97)	0.001	4.53 (1.24, 16.52)	0.022
Death after stroke						
No	52	57	-	-	-	-
Yes	13	33	-	-	-	-

Mazaheri et al., 2018

# Classification

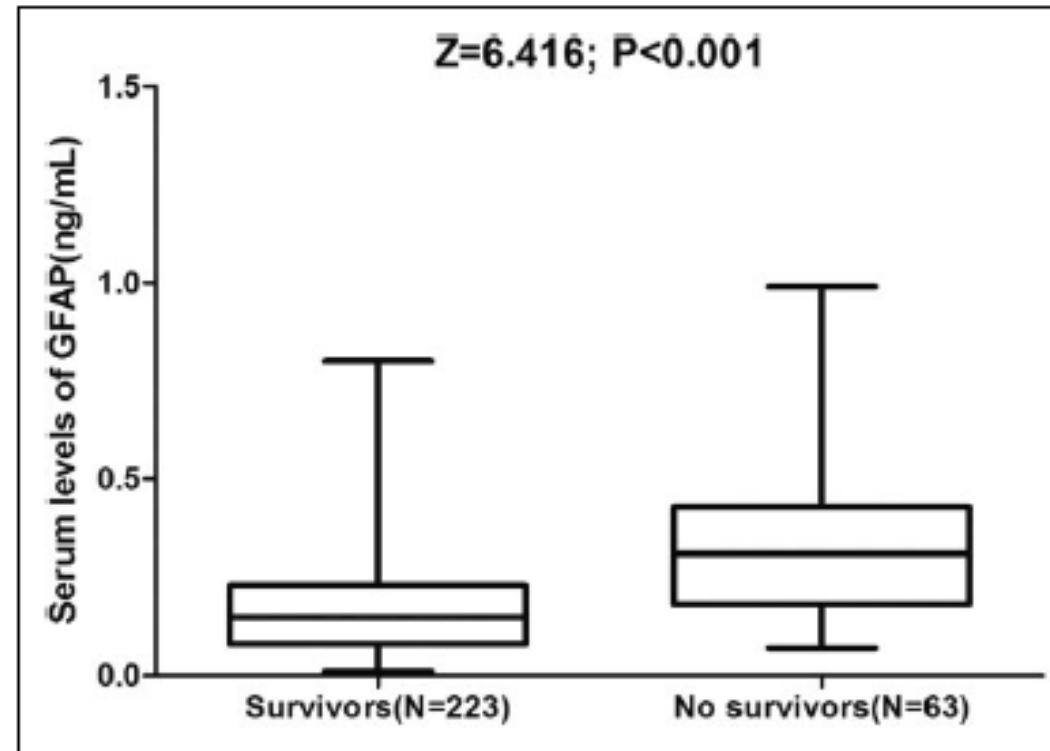
(Application médicale)

Type	Biomarker	Description	References
Decompressive hemicraniectomy	S100 $\beta$	Homodimeric glial protein that regulates intracellular calcium levels, also a marker of blood-brain barrier dysfunction	74-79,82,89,106-109
	c-Fn	Major component of extracellular matrix, involved in wound healing and cell adhesion	52,82,88,97
	MMPs	Calcium-dependent proteolytic enzyme, involved in degradation of basal lamina and extracellular matrix to disrupt blood-brain barrier	8,16,44,52,84-88,97,106-109,116

# Glial fibrillary acidic protein as a prognostic marker of acute ischemic stroke



G Liu and J Geng



**Figure 2.** Distribution of GFAP in *survivors* and *nonsurvivors* of stroke. Horizontal lines represent medians and IQR. *P* values refer to Mann–Whitney *U* tests for differences between groups. GFAP: glial fibrillary acidic protein; IQR: interquartile ranges; mRS: modified Rankin scale.

# Classification

(Application médicale)

## BM de Diagnostic étiologique de l'AVC ischémique

Biomarker	Cause of Stroke	Description of Biomarker
BNP <sup>21, 22</sup>	Cardioembolic	Vasoactive peptide hormone
Von Willebrand factor <sup>23, 24</sup>	Cardioembolic	Glycoprotein
Interleukin-6 <sup>25, 26</sup>	Cardioembolic, Lacunar	Inflammatory cytokine
TNF- $\alpha$ <sup>25</sup>	Cardioembolic, Lacunar	Inflammatory cytokine
D-Dimer <sup>18, 27-29</sup>	Cardioembolic, Large vessel	Fibrin degradation product
C-reactive protein <sup>30, 31</sup>	Cardioembolic, Large vessel, Lacunar	Acute phase protein
ICAM-1 <sup>32-34</sup>	Lacunar, Large vessel	Adhesion molecule
sRAGE <sup>18</sup>	Lacunar, Large vessel	Transmembrane Receptor
Fibrinogen <sup>31, 35</sup>	Large vessel	Glycoprotein
P-Selectin <sup>36</sup>	Large vessel	Cell Adhesion Molecule
Adiponectin <sup>37</sup>	Large vessel	Adipose tissue hormone
Thrombomodulin <sup>34</sup>	Lacunar	Thrombin cofactor
RNA Panel <sup>19, 20, 38</sup>	Cardioembolic, Large vessel, Lacunar	Nucleic Acid



# Classification

(Application médicale)

## Récapitulatif

### **Biomarqueurs de diagnostic de l'AVC**

NMDA-R, GFAP

### **Biomarqueurs de différentiation AVC I vs AVC H**

S100B, GFAP, MMP 9, CRP

### **Biomarqueurs de la transformation hémorragique**

MMP-9, c-FN, PAI-1, TAFI, S100B

### **Biomarqueurs du volume final de la zone infarctie et du pronostique**

S-100B, MMP, IL-6, TNF-alpha, ICAM-1 and glutamate

### **Biomarqueurs de la recanalisation artérielle**

PAI-1

### **Biomarqueurs de détérioration neurologique précoce**

CRP, MMPs, ICAM 1, TNF alpha,

# Classification

(Application médicale)

Tableau II – Valeur prédictive de marqueurs biologiques pour l'évolution des accidents vasculaires cérébraux.

Élément de prédiction	Marqueur biologique
Risque d'AVC accru	CRP
Image d'hypoperfusion au scanner cérébral	IL-6, TNF $\alpha$
Efficacité de la thrombolyse	IL-6, TNF $\alpha$ , MMP-9
Détérioration neurologique précoce	IL-6, glutamate, GABA, ICAM-1
Transformation hémorragique	PAI-1, MMP-13
Taille de la zone infarctée	S-100B, IL-6, TNF $\alpha$ , MMP-9, glutamate
Pronostic fonctionnel à trois mois	S-100B, IL-6
Mortalité à un an	CRP

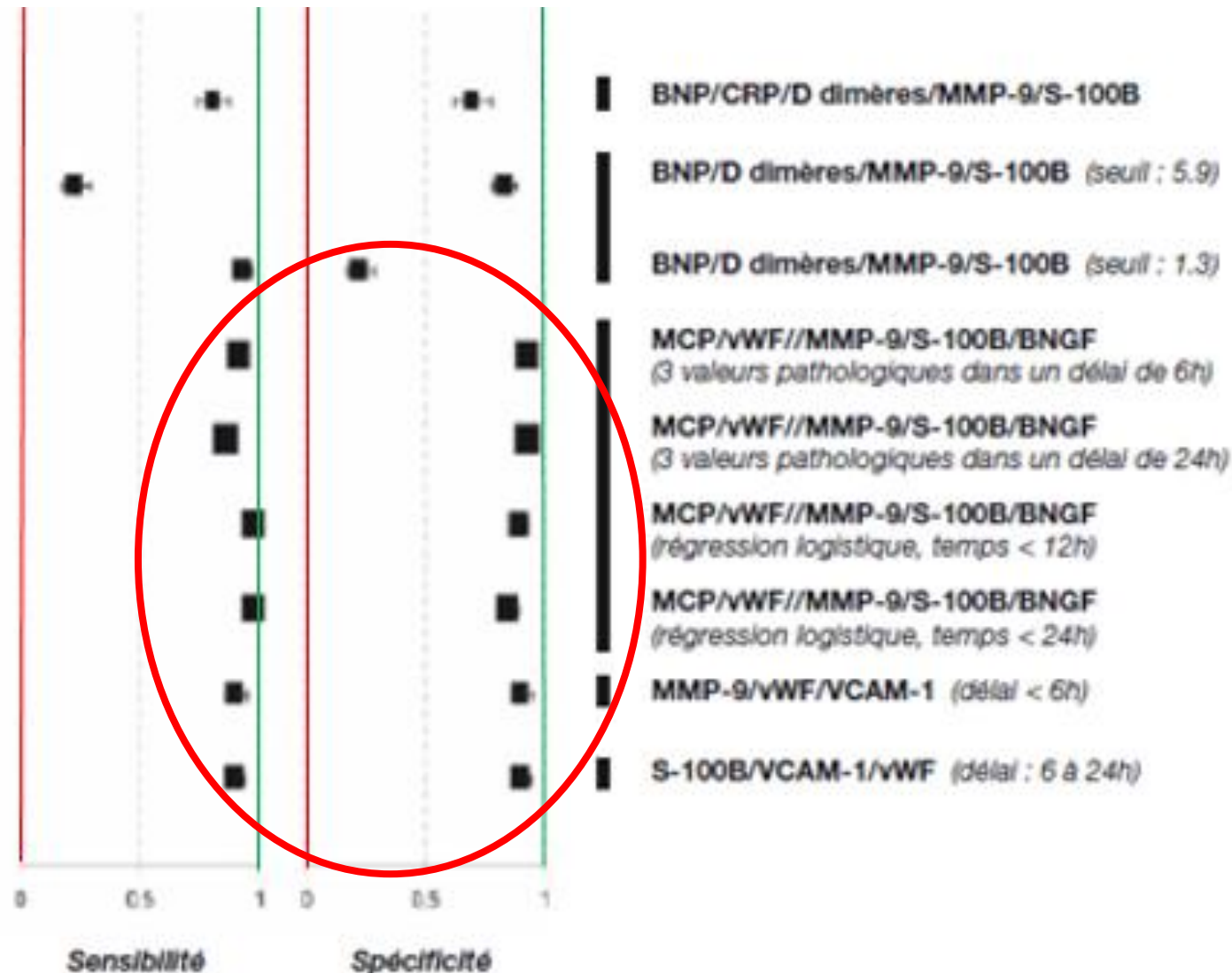
D'après Fowler et Mancini [27] et Castellanos et Serena [28].

# **Panels des biomarqueurs**

- Hétérogénéité de la population cellulaire cérébrale
- Complexité de la cascade ischémique
- Barrière hémato-encéphalique
- Utilisation d'un seul biomarqueurs ne prendra pas en compte les différents aspects de la pathogenèse de l'AVC.
- Nécessité d'utiliser un panel de biomarqueurs

# Panels des biomarqueurs

Sensibilité et spécificité de combinaisons de marqueurs biologiques évaluées pour le diagnostic de l'AVC



Whiteley et al., 2008

# Panels des biomarqueurs

Panel	Comparison	Marker Type	Assay Platform	Sample Size	Markers in Panel	Sensitivity / Specificity
6 Protein Panel <sup>12</sup>	Ischemic + Hemorrhagic Stroke vs Control	Protein, Plasma	ELISA	1005	Caspase-3, Chimerin, D-dimer, MMP-9, Secretogogin, sRAGE	17%/98%
5 Protein Panel <sup>13</sup>	Ischemic + Hemorrhagic Stroke vs Control	Protein, Plasma	ELISA	437	BNGF, MCP-1, MMP-9, S100B, vWF	<u>92%/93%</u>
4 Protein Panel <sup>14</sup>	Ischemic + Hemorrhagic Stroke vs Control	Protein, Plasma	ELISA	946 +343	BNP, D-dimer, MMP9, S100B	86%/37%
4 Protein Panel <sup>15</sup>	Ischemic Stroke vs Control	Protein, Plasma	ELISA	222	MMP-9, S100B, VCAM, vWF	<u>90%/90%</u>
4 Protein Panel <sup>16</sup>	Ischemic Stroke vs Control	Protein, Whole blood	Immunoassay	155	BNP, D-dimer, MMP-9, S100B	73%/72%
5 Protein Panel <sup>17</sup>	Ischemic + Hemorrhagic Stroke vs Control	Protein, Plasma	Immunoassay	130	Eotaxin, EGFR, S100A12, Metalloproteinase inhibitor-4, Prolactin	<u>90%/84%</u>
2 Protein Panel <sup>18</sup>	Cardioembolic vs NonCardioembolic stroke	Protein, Plasma	ELISA	707	D-dimer, BNP	87%/85%
40 Gene Panel <sup>19</sup>	Large vessel vs Cardioembolic Stroke	RNA, Whole Blood	Microarray, Affymetrix U133 Plus 2.0	99	ADAMTSL4, AP3S2, ARHGEF12, ARHGEF5, BANK1, C16orf68, C19orf28, CD46, CHURC1, CLEC18A, COL13A1, EBF1, ENPP2, EXT2, FCRL1, FLJ40125, GRM5, GSTK1, HLA-DOA, IRF6, LHFP, LHFP, LOC284751, LRRC37A3, OOEI, P2RX5, PIK3C2B, PTPN20A, TFDPI, TMEM119, TSKS, ZNF185, ZNF254	<u>100%/96%</u>

# Panels des biomarqueurs

- **Triage Stroke Panel:** 4 marqueurs dont aucun à lui seul ne permet de diagnostiquer un AVC:

**BNP + D-dimères + MMP-9 + S100B**

Approuvé pour être  
utilisé en Europe

- **Interprétation**

**Score allant de 0 à 10:**

< 1,3 : probabilité d'un AVC faible

> 5,9 : probabilité d'un AVC très élevée

# Méthodes de dosage des biomarqueurs


- Western blot, Immunoblot
  - ELISA
  - 2D gel electrophoresis
  - Spectrométrie de masse
  - RT-PCR, Microarray, Sequencing, and Nanostring technologies
- Protéines
- ARN
-

# Méthodes de dosage des biomarqueurs



Review

## Point-of-Care-Testing in Acute Stroke Management: An Unmet Need Ripe for Technological Harvest

Dorin Harpaz <sup>1,2,3</sup> , Evgeni Eltzov <sup>4</sup>, Raymond C. S. Seet <sup>5</sup>, Robert S. Marks <sup>1,2,6,7,\*</sup> and Alfred I. Y. Tok <sup>2,3,\*</sup>

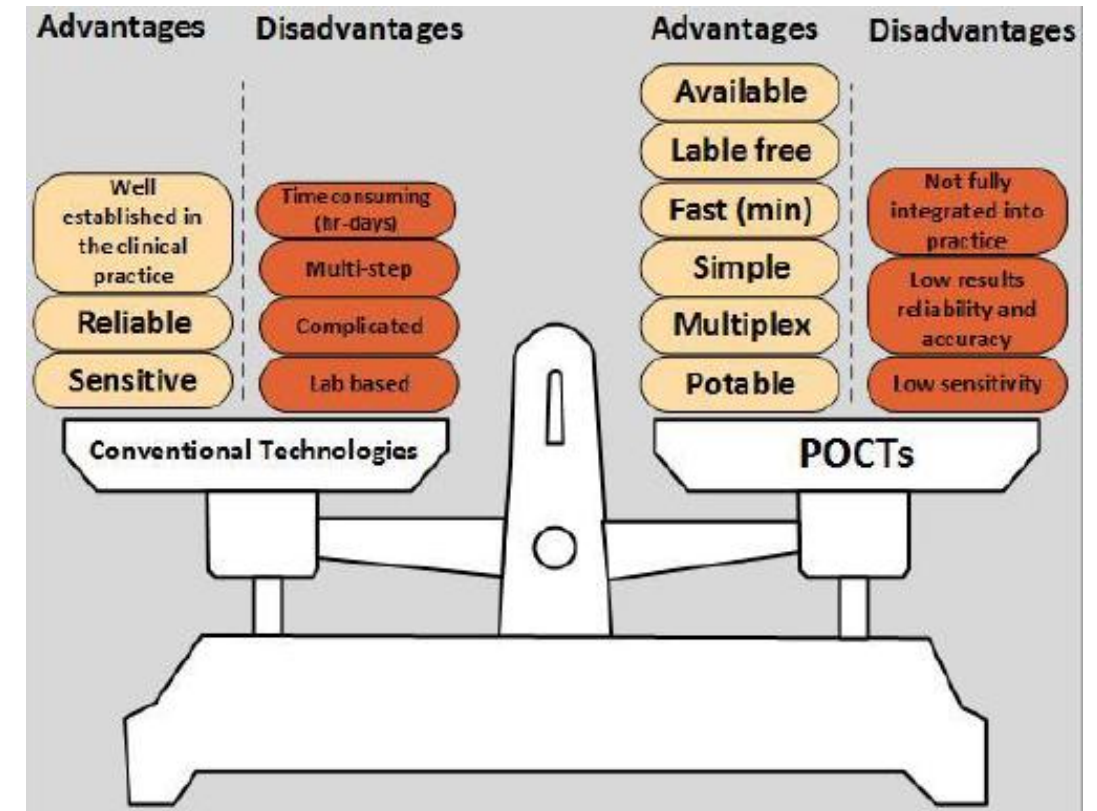


Figure: POCT vs. Conventional Technologies.



# Limites des biomarqueurs des AVC

1. Non spécifique
2. Libération limitée
3. Absence d'un seul marqueur suffisamment robuste
4. Disponibilité des Biomarqueurs

# Conclusion

- Intérêt croissant de l'utilisation des biomarqueurs dans les AVC
- Développement biomarqueurs « solitaire »/ panels de biomarqueurs
- Développement des POC-testing
- « **Aucun** » biomarqueur approuvé par FDA

**« We need early markers of cerebral ischemia, because if laboratorians can help clinicians diagnose ischemic stroke early, the clinicians have a better chance of helping patients »**

**Robert Christenson, PhD**  
Director of rapid response laboratories  
Professor of pathology,  
University of Maryland school of Medecine, Baltimore

**Merci pour votre aimable  
attention**