

TESI DOCTORAL

**EVOLUCIÓ INICIAL DELS ICTUS PER ARTERIOSCLEROSI CAROTÍDIA.  
SEVERITAT, DETERIORAMENT NEUROLÒGIC I RECURRENCIA**

Autora: Elisa Cuadrado Godia

Director: Jaume Roquer González

Tutora acadèmica: Mercè Cladellas Capdevila

Programa de Doctorat: Medicina

Departament de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

Barcelona, Setembre de 2015

<b>ÍNDEX</b>	<b>I - IV</b>
<b>1. INTRODUCCIÓ</b>	<b>pàg.1</b>
<b>1.1. L'ARTERIOSCLEROSI COM A PROBLEMA DE SALUT</b>	<b>pàg.1</b>
1.1.1. Definició d'arteriosclerosi	pàg. 1
1.1.2. Epidemiologia	pàg. 1
1.1.3. Factors de risc	pàg. 2
1.1.4. Fisiopatologia	pàg. 4
1.1.4.1. Disfunció endotelial	pàg. 5
1.1.4.2. Aterogènesi i aterotrombosi	pàg. 8
1.1.5. L'arteriosclerosi subclínica	pàg. 10
<b>1.2. L'ARTERIOSCLEROSI CAROTÍDIA (AC)</b>	<b>pàg. 13</b>
1.2.1. Epidemiologia	pàg. 13
1.2.1.1. AC asimptomàtica	pàg. 13
1.2.1.2. AC simptomàtica	pàg. 14
1.2.2. Mecanismes d'ictus a l'AC	pàg. 16
1.2.3. Severitat de l'ictus per AC	pàg. 18
1.2.4. Mètodes diagnòstics	pàg. 18
1.2.5. Pronòstic	pàg. 20
1.2.5.1. Risc d'ictus	pàg. 20
1.2.5.2. Risc d'altres esdeveniments vasculars	pàg. 23
1.2.6. Tractament de l'AC	pàg. 23
1.2.6.1. Endoarteriectomia carotídia	pàg. 24
1.2.6.2. Angioplàstia carotídia	pàg. 26
1.2.6.3. Tractament mèdic	pàg. 28

1.2.6.4. Tractament de l' AC asimptomàtica	pàg. 31
<b>1.3. RECURRENCIA DE L'ICTUS PER AC</b>	<b>pàg. 32</b>
1.3.1. Epidemiologia	pàg. 32
1.3.2. Factors de recurrència	pàg. 33
<b>1.4. DETERIORAMENT NEUROLÒGIC PRECOÇ (DNP)</b>	<b>pàg. 37</b>
1.4.1. Definició	pàg. 37
1.4.2. Factors predictors	pàg. 37
1.4.3. Tractament del DNP	pàg. 38
<b>2. JUSTIFICACIÓ DE LA TESI</b>	<b>pàg. 40</b>
<b>3. HIPÒTESI</b>	<b>pàg. 41</b>
<b>4. OBJECTIUS</b>	<b>pàg. 42</b>
<b>5. MATERIAL I MÈTODES</b>	<b>pàg. 43</b>
5.1. DISSENY DELS ESTUDIS	pàg. 43
5.2. SUBJECTES	pàg. 44
5.3. MÈTODES DIAGNÒSTICS I TERAPEÙTICS	pàg. 44
5.4. MESURES DE LABORATORI	pàg. 46
5.5. DEFINICIÓ DE LES VARIABLES	pàg. 47
5.6. ANÀLISI ESTADÍSTICA	pàg. 49
5.7. ASPECTES ÈTICS	pàg. 50
<b>6. RESULTATS</b>	<b>pàg. 52</b>
6.1. OBJECTIU 1	pàg. 52
6.1.1. ARTICLE 1	pàg. 52

High risk of early neurological recurrence in symptomatic carotid stenosis. Ois A, Cuadrado-Godia E, Rodríguez-Campello A, Jiménez-Conde J, Roquer J. Stroke. 2009 Aug;40(8): 2727-31

6.1.2. ARTICLE 2 pàg. 59

Recurrent stroke in symptomatic carotid stenosis awaiting revascularisation. A pooled analysis. Johansson E, Cuadrado-Godia E, Hayden D, Ois A, Roquer J, Wester P, Kelly PJ. Neurology (*in press*)

**6.2. OBJECTIU 2** **pàg. 82**

6.2.1. ARTICLE 3 pàg. 82

Factors associated with early outcome in patients with large-vessel carotid strokes. Cuadrado-Godia E, Jimena S, Ois A, Rodríguez-Campello A, Giralt-Steinhauer E, Soriano-Tarraga C, Jiménez-Conde J, Martínez-Rodríguez JE, Capellades J, Roquer J. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2013 Mar;84(3): 305-9

**6.3. OBJECTIU 3** **pàg. 89**

6.3.1. ARTICLE 4 pàg. 89

Endothelial progenitor cells predict cardiovascular events after atherothrombotic stroke and acute myocardial infarction. A PROCELL Substudy. Cuadrado-Godia E, Regueiro A, Núñez J, Díaz M, Novella S, Oliveras A, Valverde MA, Marrugat J, Ois A, Giralt-Steinhauer E, Sanchís J, Escolar G, Hermenegildo C, Heras M, Roquer J. Plos One. 2015 Sep 2;10 (9): e0132415

**7. DISCUSSIÓ** **pàg. 104**

**7.1. OBJECTIU 1** **pàg. 104**

**7.2. OBJECTIU 2** **pàg. 107**

**7.3. OBJECTIU 3** **pàg. 109**

<b>8. CONCLUSIONS</b>	<b>pàg. 112</b>
<b>9. IMPLICACIONS CLÍNiques</b>	<b>pàg. 113</b>
<b>10. BIBLIOGRAFIA</b>	<b>pàg. 114</b>
<b>11. ANNEXOS</b>	<b>pàg. 127</b>
<b>11.1. ANNEX A</b>	<b>Pàg. 127</b>

Acrònims i abreviacions.

<b>11.2. ANNEX B</b>	<b>Pàg. 129</b>
----------------------	-----------------

ABSTRACT SEN 2010: Disfunción endotelial y deterioro neurológico precoz en el ictus aterotrombótico y lacunar. Cuadrado-Godia E, Ois A, Garcia-Ramallo E, Giralt E, Jimena S, Rubio MA, Rodríguez-Campello A, Jiménez-Conde J, Roquer. Abstract. Neurologia.2010; 25 (Espec Congr):36

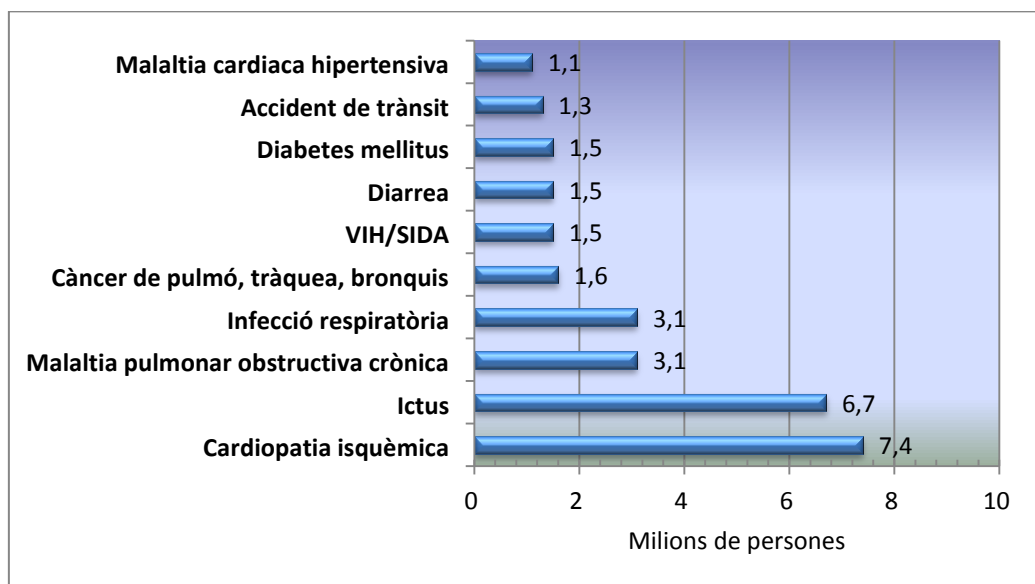
## 1.1. L'ARTERIOSCLEROSI COM A PROBLEMA DE SALUT

### 1.1.1. Definició d'arteriosclerosi

L'arteriosclerosi és una malaltia sistèmica complexa que afecta les artèries de diàmetre mitjà o gran i és la principal responsable de les malalties cardiovasculars. Fins fa pocs anys es creia que era una malaltia de l'home modern, associada a l'estil de vida contemporani. En canvi, s'ha demostrat que poblacions prehistòriques de fa més de 4000 anys ja presentaven arteriosclerosi, suggerint una predisposició bàsica de l'ésser humà per patir aquesta malaltia. (Thompson *et al.*, 2013)

### 1.1.2. Epidemiologia

L'arteriosclerosi i les seves principals manifestacions clíniques (cardiopatia isquèmica, ictus i malaltia vascular perifèrica) són la primera causa de mort a nivell mundial, amb 17,5 milions de morts l'any 2012, dels quals 7,4 foren degudes a infart agut de miocardi (IAM) i 6,7 milions a ictus. (World Health Organization, 2014)



**Figura 1:** Les 10 principals causes de mort a nivell mundial l'any 2012 (font OMS)

L'ictus és un problema de salut mundial prioritari ja que la seva incidència està creixent ràpidament en països de renda baixa o mitjana degut a un augment dels factors de risc. Mentre que als països de renda alta, s'està produint un augment del global de la prevalença a causa de l'envelliment de la població i la disminució de les taxes de mortalitat. (Kinlay, 2011)

A part d'una causa fonamental de mort, l'ictus és la principal causa de discapacitat a l'adult i contribueix al desenvolupament d'altres patologies com la demència o l'epilèpsia vascular. (Álvarez Sabin i Masjuan Vallejo, 2013)

A Espanya l'arteriosclerosi és la principal causa de mort, causant 117.532 morts l'any 2011, de les quals 28.855 foren degudes a ictus. De forma similar a allò que s'ha observat en altres països de renda alta, la taxa de mortalitat per ictus ha disminuït en les últimes tres dècades degut a la millora en els tractaments i l'atenció mèdica. Malgrat tot això, l'ictus continua essent la primera causa de mort en dones i la tercera en homes, després de la malaltia coronària i el càncer de pulmó, amb una taxa de mortalitat de 61,7 per cada 100.000 habitants. (Cayuela *et al.*, 2014)

La incidència d'ictus a Espanya és similar a la d'altres països desenvolupats, al voltant de 132-202 casos nous cada 100.000 habitants l'any. (Díaz-Guzmán *et al.*, 2012) Quant a la prevalença a la població major de 65 anys, és similar a la resta de la població europea, al voltant del 5%. (Díaz-Guzmán *et al.*, 2008)

### **1.1.3. Factors de risc**

Els principals factors de risc per al desenvolupament de l'arteriosclerosi són els anomenats factors clàssics (FRCV), que es classifiquen en no modificables, com ara

l'edat, el sexe i la raça, i modificables, com són la hipertensió arterial (HTA), la diabetis mellitus (DM), el tabaquisme i la dislipèmia (DL). (Faxon *et al.*, 2004)

L'associació entre els factors de risc i el desenvolupament de l'arteriosclerosi ha estat possible gràcies a grans estudis epidemiològics, des del clàssic Framingham Heart Study (Dawber *et al.*, 1951) que es va iniciar l'any 1948, fins als estudis moderns com són el Cardiovascular Health Study (Fried *et al.*, 1991), INTERHEART (Yusuf *et al.*, 2004), INTERSTROKE (O'Donnell *et al.*, 2010) o el registre REACH (Bhatt *et al.*, 2014), entre d'altres. Aquests estudis han mostrat que l'associació entre FRCV i arteriosclerosi és independent de la regió geogràfica o la raça, encara que amb algunes diferències. Els estudis més antics inclouen només la malaltia coronària com a manifestació clínica a estudi, però ja als estudis més recents s'hi inclou també l'íctus, donada la seva rellevància epidemiològica. Això és molt important perquè l'impacte dels factors de risc és diferent segons el territori vascular afectat. Per exemple, per a l'íctus el principal factor de risc és l'HTA, (O'Donnell *et al.*, 2010) mentre que per a la cardiopatia isquèmica ho és la dislipèmia. (Yusuf *et al.*, 2004)

Malgrat tot això, s'estima que entre un 10% i un 20% dels pacients amb malaltia cardiovascular no tenen FRCV clàssics. (Gómez *et al.*, 2009; Greenland *et al.*, 2003; Khot *et al.*, 2003) Per aquest motiu als darrers anys s'han realitzat nous estudis encaminats a la recerca d'altres factors de risc anomenats emergents, com serien factors genètics, el sedentarisme, la dieta, factors psicosocials, l'obesitat abdominal, biomarcadors com l'homocisteïna, la LDL-oxidada (LDL-ox), la lipoproteïna A, el quocient ApoB/ApoA1 o marcadors d' infecció crònica per herpesvirus o *Chlamydia pneumoniae*.



No obstant això, el paper d'alguns d'aquests factors de risc és encara controvertit.

(Yusuf *et al.*, 2004)

La prevenció de les malalties cardiovasculars es fonamenta, per una banda, en les intervencions poblacionals en salut pública que es basen en la promoció d'estils de vida saludables com l'activitat física, la dieta equilibrada i l'abstinència del tabac, i per una altra, en el cribratge oportunista a les consultes mèdiques. Aquest cribratge es realitza mitjançant les funcions de risc cardiovascular, com són l'equació de Framingham (Wilson *et al.*, 1998) i la seva adaptació a la població espanyola o l'índex REGICOR (Registre Gironí del Cor) (Marrugat *et al.*, 2007). Es tracta de funcions multifactorials que proporcionen una puntuació basada en el sexe, l'edat i els FRCV tradicionals i fan una estimació del risc cardiovascular a 10 anys entre baix, moderat o intermedi, alt i molt alt. Els punts de tall que defineixen els grups de risc baix, moderat o alt tenen implicacions pràctiques a l'hora de decidir mesures d'intervenció farmacològiques. Són molt útils i fàcils d'aplicar a l'atenció primària. Així i tot, tenen algunes limitacions com són que inclouen només els FRCV clàssics i que la majoria d'esdeveniments vasculars tenen lloc en subjectes classificats com de risc moderat, que és el més prevalent i on les intervencions realitzades no són tan agressives. (Marrugat *et al.*, 2011)

### **1.1.4 Fisiopatologia**

Es tracta d'un procés inflamatori crònic en resposta a un dany o agent nociu d'origen genètic o ambiental com són els citats FRCV (Ross, 1999). El procés s'inicia amb la disfunció de l'endoteli quan encara no hi hauria lesió estructural i posteriorment es

caracteritza pel dipòsit de plaques d'ateroma amb un cor central lipídic i una capa fibrosa perifèrica. Encara que pot afectar a qualsevol artèria de calibre mitjà o gran, com són l'aorta, les artèries coronàries, les renals, les artèries de les cames, les caròtides i les cerebrals, té predilecció per les bifurcacions arterials. En aquestes regions la pèrdua del flux laminar canvia la tensió de cisallament o *shear stress* i augmenta la turbulència, que per processos de mecanorecepció i mecanotransducció altera l'expressió de determinats gens implicats en l'homeòstasi de l'endoteli, iniciant el procés arterioscleròtic. (Lehoux, 2006) El dipòsit de plaques i la formació d'estenosi contribueix a la pèrdua del flux laminar i a la perpetuïtat d'aquest procés.

### **1.1.4.1. Disfunció endotelial (DE)**

L'endoteli és una monocapa de cèl·lules que recobreix l'interior de tots els vasos. No és només una estructura anatòmica sinó que té propietats d'òrgan endocrí amb múltiples funcions: modula el to vasomotor; regula l'intercanvi de macromolècules com lipoproteïnes i cèl·lules inflamatòries entre els espais intra- i extravascular; regula l'activitat i proliferació de les cèl·lules del múscul llis de la túnica mitja i té activitat antitrombòtica ja que regula el sistema fibrinolític i inhibeix l'adhesió plaquetària i la coagulació. Totes aquestes funcions són realitzades mitjançant la secreció de nombroses molècules intermediàries (Roquer *et al.*, 2009), la majoria de les quals s'enumeren a la taula 1.

**Taula 1:** Principals molècules secretades pel endoteli

Òxid nítric (NO)	Factor activador de plaquetes
Endotelina- 1 (ET-1)	Homocisteïna
Factor de von Willebrand (vWF)	Factor tissular (FT)
Trombomodulina (TM)	Inhibidor de la via del factor tissular
Molècula 1 d'adhesió de cèl·lula vascular (VCAM-1)	Tromboplastina
Molècula 1 d'adhesió intercel·lular (ICAM-1)	Paraoxonasa
P-selectina	Pèptid natriurètic tipus C
E-selectina	Tromboxà A2
L-selectina	Espècies reactives d'oxigen (ROS)
Antigen activador del plasminogen (t-PA ag)	Proteïna d'atracció de monòcits (MCP-1)
Inhibidor de l'activador del plasminogen tipus 1 (PAI-1)	Factor hiperpolaritzant derivat de l'endoteli
Angiotensina II	Factor contràctil derivat de l'endoteli
Prostaciclina	Ciclooxygenasa 1
Molècula d'adhesió endotelial per plaquetes 1	Ciclooxygenasa 2

La DE es defineix com la pèrdua de l'homeòstasi fisiològica de l'endoteli, que en resposta a diversos estímuls nocius canvia el seu fenotip cap a un estat proinflamatori, protrombòtic i vasoconstrictor. A través de l'increment de la permeabilitat cel·lular permet el pas de lipoproteïnes (sobretot LDL) que s'uniran a fosfoglicans i altres proteïnes de la matriu extracel·lular (ME) que afavoriran la seva modificació (agregació, glucosilació, proteòlisi enzimàtica, oxidació, etc) incrementant l'aterogènesi i la retenció en l'íntima vascular. La retenció d'LDL a l'íntima arterial és un procés clau en l'inici i la progressió de la lesió arterioscleròtica. (Badimon, 2012)

L'estrès oxidatiu juga un paper molt important en el desenvolupament de la DE. L'òxid nítric (NO) és produït principalment a l'endoteli vascular per l'enzim NO-sintetasa a partir de molècules de L-arginina. És un potent vasodilatador, a més de tenir altres funcions com ara inhibir l'activació de leucòcits i monòcits i inhibir l'adhesió de plaquetes a la paret del vas. A més, és el principal determinant del to basal del múscul llis arterial i de la regulació del flux sanguini. L'exposició de l'endoteli a canvis bioquímics com el pH o als canvis hemodinàmics que s'han comentat abans disminueix la biodisponibilitat del NO, la qual cosa provoca la formació d'espècies reactives d'oxigen (ROS) com l'anió superòxid ( $O_2^-$ ), el peròxid d'hidrogen ( $H_2O_2$ ), radicals hidroxil (OH), l'àcid hipoclorós (HClO) i radicals lipídics, molècules totes elles molt reactives amb altres biomolècules. En aquesta situació coneguda com estrès oxidatiu, molècules com l'LDL són oxidades amb facilitat a LDL-oxidada (LDL-ox), que és altament immunògena i activa les cèl·lules endotelials induint l'atracció i adhesió de leucòcits i monòcits i la seva migració a l'interior del vas. A més a més, la disminució de NO i la formació d'anions superòxid altera els mecanismes de vasodilatació arterial, augmenta l'expressió de mediadors inflamatoris i indueix la hipertròfia de les artèries degut a la producció de metal·loproteïnases de matriu (MMP), que al mateix temps, augmenten la permeabilitat de la capa fibrosa que envolta la placa fent-la més vulnerable. (Madamanchi *et al.*, 2005)

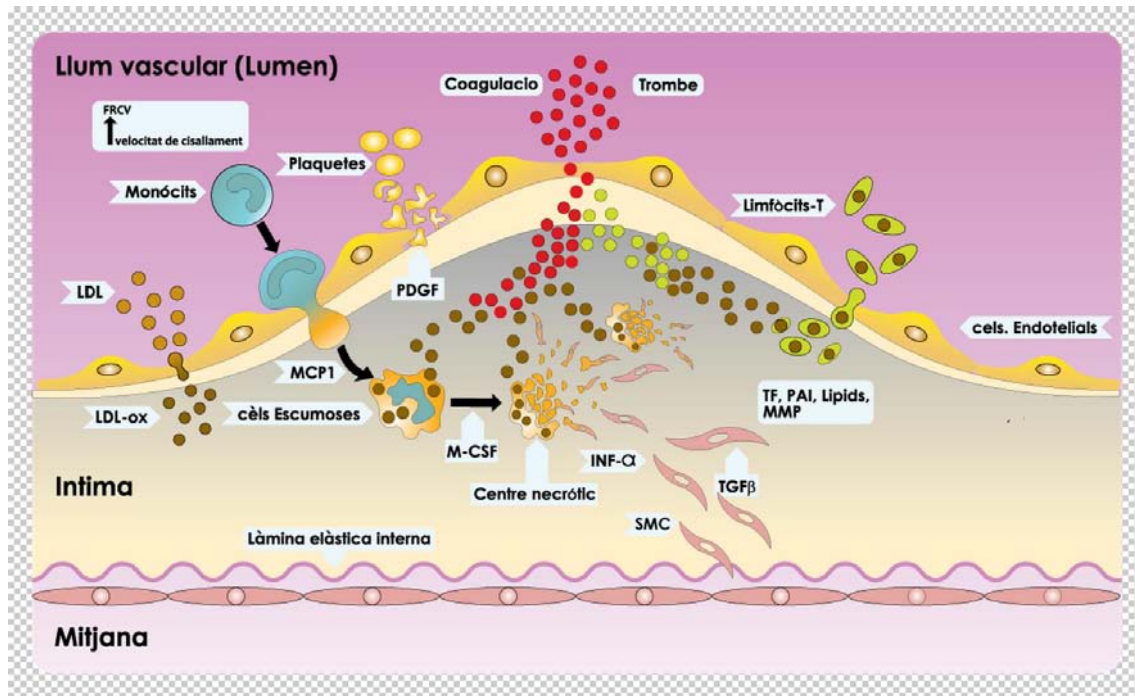
L'excés de ROS provoca també l'oxidació de NO i la formació, entre d'altres, de radicals de nitrogen com el peroxinitrit ( $ONOO^-$ ), situació que es coneix com estrès nitrosatiu. Aquests radicals de nitrogen reaccionen amb molta facilitat amb molècules com proteïnes, lípids i ADN, desencadenant respostes cel·lulars de necrosi i apoptosi de les

cèl·lules endotelials i del múscul llis i contribuint d'aquesta manera a l'augment de la vulnerabilitat de la placa. (Pacher *et al.*, 2007)

### **1.1.4.2. Aterogènesi i aterotrombosi**

El dipòsit i oxidació de les molècules d'LDL produeix l'activació de la cascada inflamatòria amb l'adhesió de leucòcits i limfòcits T que, com a resposta secreten citocines facilitant la migració dels monòcits a l'artèria. Els monòcits es converteixen en macròfags que al captar les molècules de LDL-ox formaran cèl·lules escumoses que s'acumulen a l'espai subintimal formant la lesió inicial de la malaltia, anomenada estria de greix o *fatty streak* degut a la seva aparença macroscòpica. Les cèl·lules escumoses poden alliberar més citocines, oxidants i MMP que alteren la capa endotelial i muscular. Les cèl·lules del múscul llis (SMC) migren des de la túnica mitjana a l'íntima degut a la síntesi de factors de creixement, citocines i altres substàncies produïdes per les cèl·lules escumoses, però també per les cèl·lules endotelials i els limfòcits T (Badimon 2006). Les SMC proliferen i elaboren més ME que, junt amb el teixit connectiu elaborat pels fibroblasts, formarà la coberta fibrosa que envolta el cor lipídic. Inicialment la lesió arterioscleròtica creix en direcció a l'exterior, procés que s'anomena remodelació arterial. La producció de teixit connectiu i el dipòsit de calci causen l'esclerosi o enduriment arterial. No obstant això, a mesura que la placa va creixent, va associant més proliferació de teixit fibrós i de múscul llis, cosa que acaba per provocar la reducció de la llum arterial o estenosi. Estudis histològics han demostrat que les plaques estables es caracteritzen per tenir poc contingut lipídic i una càpsula fibrosa gruixuda rica en cèl·lules musculars i ME, mentre que les plaques vulnerables estan formades per un gran nucli lipídic i una coberta fibrosa prima amb

poc contingut de cèl·lules musculars, escassa quantitat de col·lagen i un important infiltrat inflamatori. (Badimon et al. 2012; Libby, 2002)



**Figura 2:** Evolució de la placa arterioscleròtica (adaptat de Badimon i Fuster, 2012)

TGF- $\beta$ : factor de creixement transformador de tipus  $\beta$ ; MCP-1: proteïna d'atracció de monòcits; PDGF: factor de creixement derivat de plaquetes; TF: factor tissular; PAI-1: inhibidor del'activador del plasminogen tipus 1; MMP: metal·loproteases de matriu; M-CSF: factor estimulador de formació de colònies de macròfags.

L'evolució de les lesions envers plaques avançades es produeix degut a l'apoptosi dels macròfags activats per estímuls proinflamatoris i a la secreció d'MMP, que degraden la ME que conforma la coberta fibrosa. Això provoca l'exposició de col·lagen, lípids i substàncies procoagulants com el TF o el vWF a la superfície del vas, ocasionant l'adhesió de plaquetes i la formació d'un trombe que pot, de forma aguda, augmentar el grau d'estenosi o ocloure el flux sanguini. L'hemorràgia intra placa causada per microvasculatura friable a la base també pot contribuir a l'expansió aguda de la placa i

l'inici de símptomes. Aquests tipus de plaques s'anomenen complicades ja que poden donar lloc a embolismes arterioarterials amb oclusió de vasos distals de menor calibre o bé produir l'oclusió completa del vas in situ. Aquesta fase, que es coneix com a aterotrombosi o malaltia aterotrombòtica, és la causant dels símptomes que variaran segons quin sigui el territori vascular afectat

### **1.1.5. Arteriosclerosi subclínica o asimptomàtica i risc cardiovascular**

L'arteriosclerosi és una malaltia crònica que comença a la infantesa amb l'acumulació de lípids a l'íntima arterial i la formació de l'estria de greix. Algunes d'aquestes estries, amb la presència dels FRCV, evolucionaran a l'adolescència a plaques fibroses i a plaques complicades a l'edat adulta, com es demostra en estudis de necròpsia.

(Strong *et al.*, 1999)

En diversos estudis epidemiològics s'ha trobat una clara relació entre la presència i el gruix de les plaques a l'artèria caròtide i el risc d'esdeveniments cardiovasculars.

(Rundek *et al.*, 2008) No obstant això, a les darreres dècades s'han esmerçat molts esforços per trobar altres marcadors de risc cardiovascular en subjectes que encara no han desenvolupat la malaltia. En aquest sentit hi ha hagut diferents tipus d'aproximacions entre les quals destaquem:

- Anàlisi dels factors de risc emergents esmentats en l'apartat anterior com són els antecedents familiars, l'obesitat abdominal, la dieta o l'exercici cardiorespiratori.
- Quantificació de biomarcadors com, per exemple, marcadors d'inflamació sistèmica com la proteïna C reactiva de alta sensibilitat (hs-CRP) o bé marcadors de DE com els que s'han exposat en la taula 1, la microalbuminúria (MA), o el recompte de (CEP) o circulants (CEC).

- Estudi de la funció endotelial a través de les propietats biomecàniques de la paret vascular com són l'anàlisi de la rigidesa arterial o de la capacitat vasodilatadora. Existeixen diverses proves funcionals segons quin sigui el territori vascular per estudiar. Així, a la circulació cerebral la prova *gold standard* és la vasoreactivitat cerebral mesurada amb doppler transcranial (DTC) després de l'estimulació amb substàncies vasodilatadores com són la L-arginina, l'acetazolamida o el CO<sub>2</sub> inhalat.

- Proves basades en la radiologia amb l'objectiu d'evidenciar canvis subclínic a la paret arterial. En aquest grup trobaríem el càlcul del gruix íntima-mitjana carotídi (GIM) amb ecodoppler, el càlcul del calci intracoronari (CAC score) i el càlcul de l'índex turmell-braç (ITB).

A les darreres guies pel maneig del risc cardiovascular de la ACC/AHA de 2013 s'han establert unes recomanacions sobre l'ús d'aquestes proves per calcular el risc cardiovascular basant-se en l'evidència científica acumulada els darrers anys. (Goff *et al.*, 2014) En destaca que cap dels marcadors estudiats ha estat avaluat com a eina de cribratge en un assaig clínic aleatoritzat amb l'objectiu primari d'avaluar el risc d'esdeveniments cardiovasculars. Per tant, les recomanacions es basen en l'opinió d'un grup d'experts. S'estableix que, si després del càlcul de risc, la decisió sobre les mesures a prendre és incerta, es pot considerar l'anàlisi d'un o més dels següents factors: història familiar, hs-CRP, CAC score o l'ITB. No es recomana l'anàlisi rutinari del GIM per la seva manca d'utilitat addicional provada en pacients asimptomàtics i tampoc no es recomana l'anàlisi de l'ApoB, la MA o l'exercici cardiorespiratori, per la manca de dades suficients.



La utilitat d'aquestes proves en pacients que ja han patit malaltia cardiovascular tampoc s'ha establert, encara que hi ha estudis que han demostrat el seu valor pronòstic. Per exemple, el GIM carotídi, independentment del grau d'ateromatosi carotídia, ha demostrat ser un bon marcador de risc cardiovascular durant el primer any després d'un ictus no cardioembòlic. (Roquer *et al.*, 2011)

En aquesta guia també es recomana que el càlcul del risc cardiovascular a 10 anys s'hauria de reavaluar cada 4-6 anys en adults entre els 40 i els 79 anys d'edat que encara no hagin patit malaltia simptomàtica.

## **1.2. ARTERIOSCLEROSI CAROTÍDIA (AC)**

### **1.2.1. Epidemiologia**

#### **1.2.1.1. AC asimptomàtica**

Com s'ha explicat amb anterioritat, les plaques d'arteriosclerosi habitualment es desenvolupen a les bifurcacions arterials, on la divisió del flux predisposa a canvis a l'homeòstasi de l'endoteli. (Lehoux, 2006) Per aquest motiu la bifurcació de l'artèria caròtide comuna en les artèries caròtides interna (ACI) i externa (ACE) és un lloc habitual de formació de plaques. De fet, l'arteriosclerosi és la principal malaltia de l'artèria caròtide, molt per davant d'altres malalties com són la displàsia fibromuscular, la necrosi medial quística, la vasculitis de gran vas i la dissecció arterial. (Grotta, 2013)

La prevalença d'AC asimptomàtica varia segons l'edat i el sexe. Així, en homes majors de 50 anys la prevalença d'AC moderada (estenosi 50-69%) és d'un 7,5% i severa (estenosi  $\geq 70\%$ ) d'un 3,1%. En dones majors de 50 anys la prevalença d'AC moderada i severa és d'un 5 i 0,9% aproximadament. Mentre que a la població menor de 50 anys s'estima que la prevalença d'AC asimptomàtica és propera al 0%. (de Weerd *et al.*, 2010) Curiosament, l'AC no està distribuïda simètricament ja que sol ser més prevalent al costat esquerre, on també s'ha observat una major vulnerabilitat de les plaques respecte al costat dret. (Selwaness *et al.*, 2014) La progressió de l'AC és similar a la d'altres regions vasculars, però la relació entre el creixement de la placa, l'augment de l'estenosi i l'aparició de símptomes és més complexa que, per exemple, a la circulació coronària. (Grotta, 2013)

### **1.2.1.2. AC simptomàtica (ACS)**

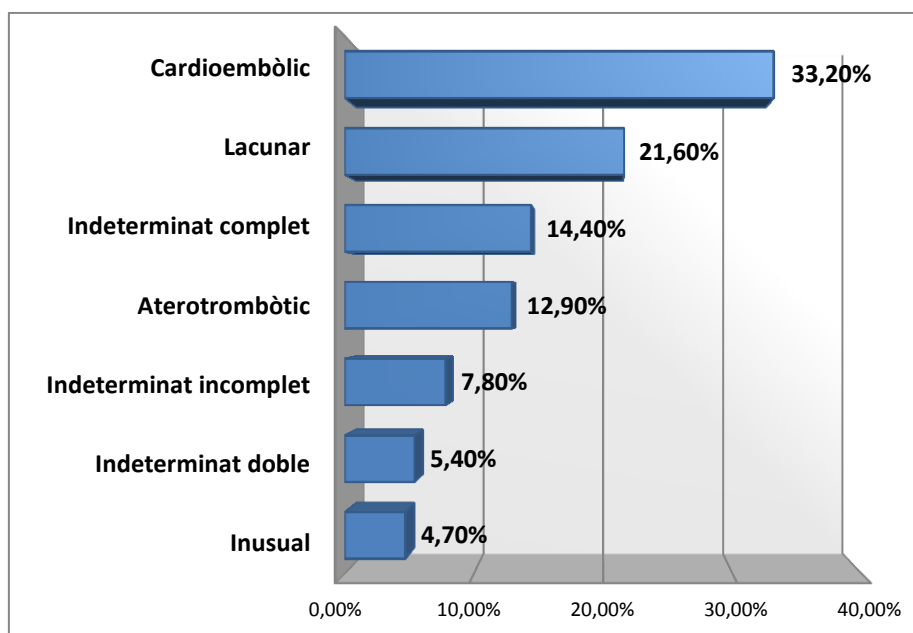
Els ictus isquèmics es classifiquen principalment en 5 subtipus etiològics (Adams *et al.*, 1993): els ictus deguts a arteriosclerosi de gran vas (*large artery atherosclerosis* o LAA), els secundaris a cardioembolisme (CE), els ictus lacunars o secundaris a oclusió de petit vas (LAC), els ictus de causa infreqüent (IS) i els ictus de causa indeterminada o criptogènica (UND). La classificació d'un ictus com a LAA requereix uns requisits mínims com són la demostració d'una estenosi  $\geq 50\%$  en una de les artèries principals intra- o extracranials responsables de la vascularització de la zona simptomàtica i l'exclusió d'altres causes, principalment causes cardíques d'embòlia. Aproximadament entre un 10 i un 25% dels ictus isquèmics són deguts a LAA. A les races caucàsica i negra sol afectar més a la circulació extracranial, fonamentalment a l'artèria caròtide, mentre que a les races hispana o asiàtica afecta més freqüentment la circulació intracranial. (Arenillas, 2011; Gorelick *et al.*, 2008; Schneider *et al.*, 2004; White *et al.*, 2005; Wong, 2006) Això fa que la proporció d'ictus deguts a ACS sigui variable a la literatura, situant-la al voltant d'un 10-20% de tots els ictus isquèmics, depenent de la població estudiada i del tipus d'estudi etiològic realitzat. (Brott *et al.*, 2011; Grotta, 2013)

A Espanya l'ictus per LAA és el subtipus etiològic més freqüent segons dos estudis recents. A l'estudi poblacional IBERICTUS (Díaz-Guzmán *et al.*, 2012) realitzat el 2006, el percentatge d'ictus per LAA va ser del 35% , seguit dels ictus UND (24%), els CE (20%), els LAC (18%) i els IS (3%). Tanmateix, al registre multicèntric hospitalari EPICES (Arias-Rivas *et al.*, 2012) realitzat entre el 2008 i el 2009, els percentatges foren LAA 28,4%, CE 26,2%, LAC 22,5%, UND 20,7% i IS 2,4%. Cal dir, no obstant això, que als

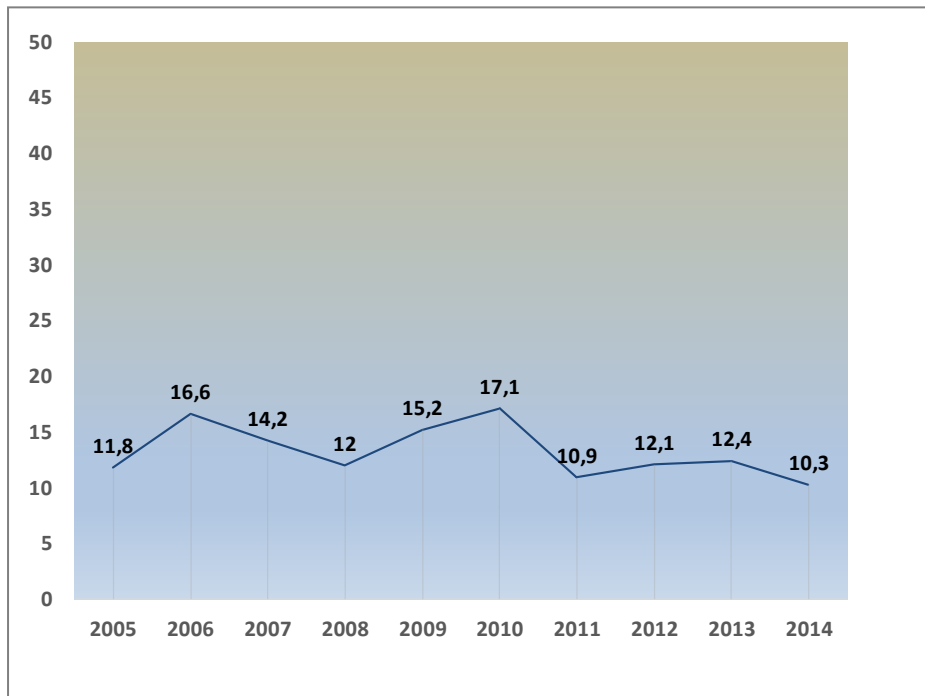
països de renda mitja-alta, la prevalença dels subtipus d'ictus està canviant. A les darreres dues dècades s'ha observat un descens de la proporció d'ictus per LAA, possiblement a causa de la millor prevenció primària, i un augment d'altres subtipus com el CE, més lligat a l'envelliment. (Kolominsky-Rabas *et al.*, 2015) Al registre Basicmar, registre epidemiològic d'ictus de l'àrea sanitària de l'Hospital del Mar, en el qual es basa aquesta tesi, la proporció d'ictus LAA s'ha mantingut bastant estable entre el 2005 i el 2014, representant un 12,9 % de tots els ictus isquèmics (figures 3 i 4). L'etiologia més habitual en aquesta àrea sanitària és l'ictus CE.

**Figura 3 :** Epidemiologia de l'ictus segons el registre BASICMAR entre el 2005 i el 2014.

N=4053 pacients.



**Figura 4:** Evolució de l'íctus aterotrombòtic a BASICMAR entre el 2005 i el 2014



### 1.2.2. Mecanismes d'íctus a l'AC

Existeixen dos mecanismes pels quals l'AC pot provocar símptomes: bé per tromboembòlies distals a artèries retinals o cerebrals, el que s'anomena mecanisme d'embòlia artèria-artèria, bé per reducció de la perfusió cerebral degut a l'existència d'una estenosi crítica o oclusió completa, que s'anomena mecanisme hemodinàmic o d'hipoperfusió.

Les embòlies distals són degudes a la ruptura de la superfície d'una placa inestable. La major part dels èmbols resulten de l'activació de les plaquetes a la superfície de la placa i, amb menys freqüència, de partícules de colesterol. Els símptomes dels èmbols depenen de l'artèria distal afectada, com ara ceguesa transitòria (amaurosi fugaç o Afx) o permanent si és una artèria retinal, o si s'afecta la circulació cerebral els

síntomes (trastorn motor, sensitiu, visual, del llenguatge) depenen de la zona afectada i de l'hemisferi. Generalment s'afectarà la circulació cerebral anterior, o sigui l'artèria cerebral mitja (ACM) o anterior (ACA) encara que també es pot afectar la circulació posterior, depenent de l'anatomia del polígon de Willis.

El mecanisme d'hipoperfusió és degut o bé al creixement progressiu de les plaques, o bé a l'oclusió aguda per trombosi in situ d'una placa carotídia inestable.

Sol afectar regions cerebrals anomenades frontera, que són els territoris arterials limitants entres les principals artèries intracranials, ACA, ACM i arteria cerebral posterior (ACP), on la pressió de perfusió és més baixa, més vulnerable a canvis i amb menys arribada de flux colateral. Els infarts frontera, anomenats *border-zone* o *watershed*, es poden arribar a distingir dels infarts embòlics a les proves de neuroimatgeria (Sette *et al.*, 2000). No obstant això, la hipoperfusió com a causa d'ictus és més infreqüent que la tromboembòlia. Per tal que una lesió carotídia provoqui símptomes hemodinàmics cal que per una banda el grau d'estenosi carotídia (EC) sigui moderat ( $\geq 60\%$ ) i per altra banda cal també que la circulació colateral intracranial sigui deficient, bé per estenosis o per hipoplàsies arterials. Generalment els mecanismes hemodinàmics es manifesten amb més freqüència en forma d'accident isquèmic transitori (AIT) de repetició i són més breus ( $< 1$  min) que els AIT de causa embòlica que solen tenir una durada superior (5-30 minuts). (Grotta, 2013) Val a dir que en un mateix individu poden coincidir mecanismes hemodinàmics i embòlics i son sinèrgics, segons s'ha demostrat en estudis animals i humans. Així doncs, la hipoperfusió fa que hi hagi una menor capacitat per eliminar el material embòlic que

pugui haver sortit a la circulació. La presència d'aquest doble mecanisme s'ha associat amb lesions isquèmiques més grans. (Derdeyn, 2007)

### **1.2.3. Severitat dels ictus per AC**

Pel que fa a la severitat dels ictus per AC no disposem d'estudis que hagin analitzat aquest factor tant important pel pronòstic. Sí que es coneix que, de tots els ictus isquèmics, els ictus per LAA solen tenir una severitat intermèdia entre els ictus CE, més severs, i els ictus lacunars, menys severs. (Grau *et al.*, 2001) Tot i que cal tenir en compte que s'han analitzat pacients amb estenosis tant intra- com extracranials i de circulació anterior i posterior. A més a més, dels assajos clínics de revascularització, que són la principal font de coneixement d'aquesta malaltia, no es pot extreure informació sobre la severitat dels ictus ja que no es van incloure ictus severs i només un 44% van ser ictus (35% AIT i 29% símptomes oculars). Així doncs, en un pacient amb ACS la severitat de l'ictus pot variar des d'un AIT a un infart complet de circulació anterior (TACI) i es desconeix quins són els factors relacionats amb la severitat.

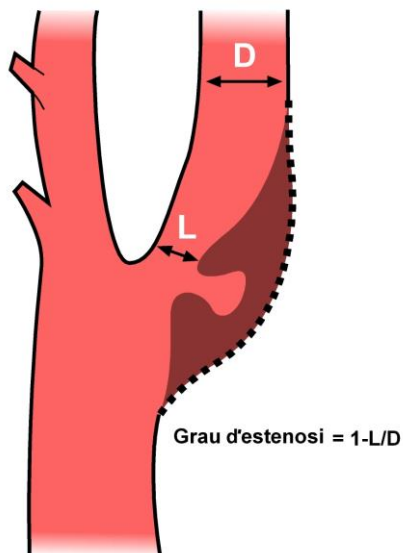
### **1.2.4. Mètodes diagnòstics**

No existeixen signes clínics específics de malaltia carotídia. La presència d'un buf carotídi pot traduir la presència d'EC severa però no sempre és així, ja que aproximadament un 5% de la població entre 45 i 80 anys presenta bufs carotidis sense estenosi associada. (Ratchford *et al.*, 2009)

Pel diagnòstic de l'AC podem utilitzar diverses tècniques d'imatge, cadascuna amb els seus avantatges i inconvenients. La tècnica de cribratge més emprada avui en dia és

l'ecografia-doppler de troncs supraaòrtics (Eco-TSA), ja que és incruenta, ràpida, econòmica i suficientment acurada pel diagnòstic d'EC. Normalment es defineixen 4 graus d'EC a nivell de la ACI segons la velocitat doppler: lleu o <50%, moderada o 50-69%, severa o 70-99% i oclusió completa. La principal limitació és la dificultat per distingir estenosis suboclusives (80-99%) de oclusions completes. (Brott *et al.*, 2011)

Altres tècniques possibles són l'angiografia per tomografia computeritzada (angioTAC), l'angiografia per ressonància magnètica contrastada o no amb gadolini (angioRMN) i l'angiografia amb sostracció digital (DSA), que es considera l'estàndard de referència i és la prova habitual utilitzada als assajos clínics. El mètode per calcular el grau d'EC és l'emprat a l'estudi North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial (NASCET), (Barnett, 1998) que mesura el mínim lumen residual a nivell de la lesió estenòtica (L) comparat amb el diàmetre (D) de la caròtide interna distal on les parets són ja paral·leles amb la següent fórmula: Grau d'estenosi (%) =  $[1-(L/D)] \times 100$ .



**Figura 5:** Mesura del grau d'estenosi segons l'estudi NASCET (Barnett, 1998)



Tot i així, la DSA és una prova invasiva, i en pacients amb AC comporta un risc d'ictus d'un 1%. (Goldstein *et al.*, 2011) Per aquest motiu, i encara que existeix controvèrsia i diferències segons els centres, s'accepta la realització de dos proves no invasives, preferentment l'ecografia Doppler i l'angiRMN, ja que la fiabilitat augmenta i és similar a la sensibilitat i especificitat de la DSA (Johnston and Goldstein, 2001; Moore, 2003; Nederkoorn *et al.*, 2003). Per tant, la DSA es pot reservar per a casos seleccionats que requereixin un major detall anatòmic o per a casos amb discordança entre les proves no invasives. (Grotta, 2013)

### **1.2.5. Pronòstic de l'AC**

#### **1.2.5.1. Risc d'ictus**

Com s'ha comentat en apartats anteriors, el pronòstic dels pacients amb AC està relacionat amb el grau d'estenosi, encara que només aquest factor no explica tot el risc. Així per exemple, a l'estudi NASCET de pacients simptomàtics, la taxa d'ictus als 18 mesos al grup de tractament mèdic fou d'un 19% a les estenosi del 70-79%, d'un 28% a les estenosi del 80-89% i d'un 33% al grup del 90-99%. (Barnett, 1998) En canvi el grup de quasi oclusió o *near occlusion*, definida com estenosi severa que s'acompanya d'una disminució del diàmetre arterial i del flux distal, tenia un risc més baix que el grup d'estenosi >70%. (Fox *et al.*, 2005) Altres estudis de revascularització en pacients asimptomàtics tampoc no han trobat una relació clara entre el grau d'estenosi i el risc d'ictus. Per exemple, a l'estudi ACAS (Asymptomatic Carotid Atherosclerosis Study) i a l'estudi ACST (Asymptomatic Carotid Surgery Trial), els pacients amb estenosi 60-80% tenien taxes d'ictus més altes que els pacients amb una estenosi

major. (Halliday *et al.*, 1994; Young *et al.*, 1996)

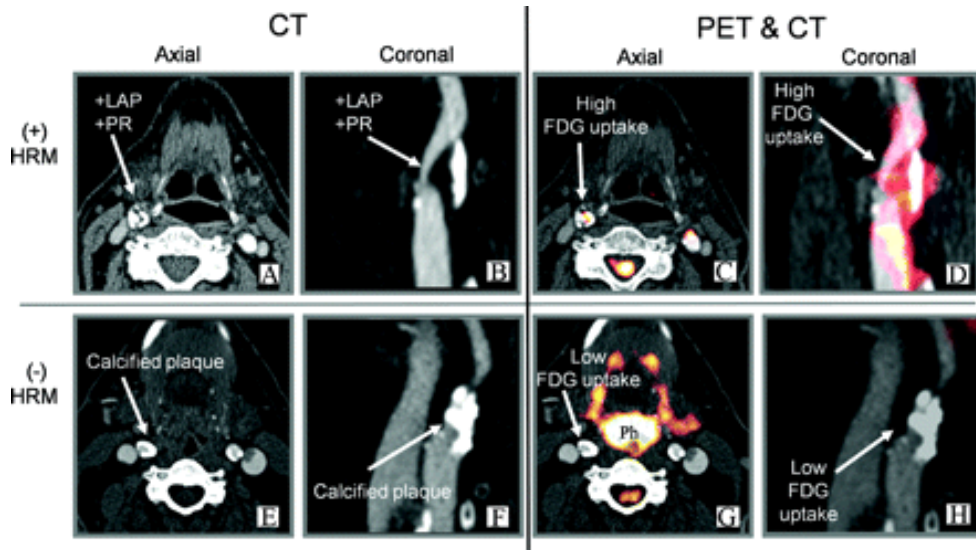
Degut a que la correlació entre el grau d'estenosi i l'existència d'esdeveniments vasculars és imperfecta, s'han estudiat altres potencials marcadors de risc com, per exemple, el grau de vulnerabilitat de la placa. Així, en estudis basats en les característiques de la placa per ecodoppler, el grau d'ecotransparència, l'existència d'hemorràgia intraplaca o d'ulceració de la coberta fibrosa i el grau de contingut lipídic al cor s'han correlacionat amb un major risc d'ictus. (Fisher *et al.*, 2005; Lal *et al.*, 2002)

L'angioRMN amb contrast, la RMN intravascular i la TAC també s'han utilitzat en estudis de caracterització de placa. Això ha propiciat el desenvolupament en els darrers anys de *softwares* automàtics de caracterització de plaques tant per ecografia, angioRMN o TAC. (Brott *et al.*, 2011)

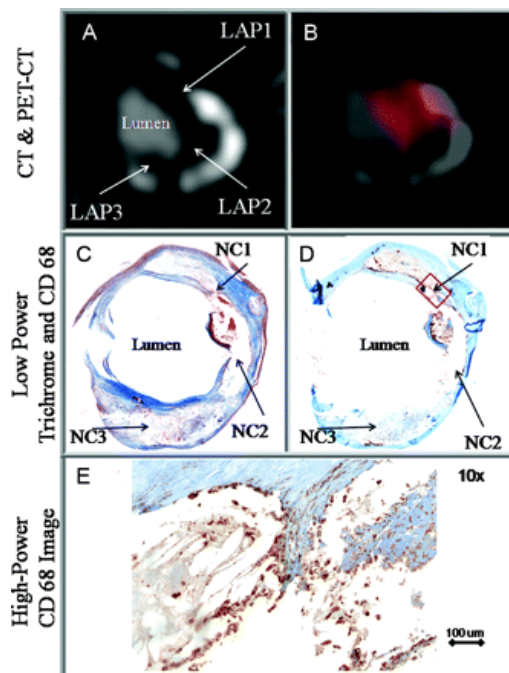
Altres factors que s'han associat amb la vulnerabilitat de la placa i un major risc de símptomes són l'activitat metabòlica de la placa amb Tomografia per Emissió de Positrons (PET-18F-FDG) o els nivells plasmàtics de hs-CRP i MMP-9 i LDL-ox .

(Alvarez Garcia *et al.*, 2003; B. Alvarez *et al.*, 2004; Figueroa *et al.*, 2012; Marnane *et al.*, 2012; Nishi *et al.*, 2002) (Figures 6 i 7)

Malgrat que aquestes tècniques han millorat el coneixement de la fisiopatologia de la placa arterioscleròtica, la utilitat de les característiques morfològiques, patològiques o bioquímiques de la placa en la predicció d'esdeveniments cerebrovasculars no ha quedat ben establerta en estudis prospectius. Això fa que el grau d'estenosi estimat amb l'ecografia Doppler continuï sent el principal determinant de la severitat de la malaltia i la base de les decisions clíniques. (Brott *et al.*, 2011)



**Figura 6:** De A a E : Seccions axials i coronals de PET-TAC del coll. A-D: Placa amb morfologia d'alt risc (HRM): baixa atenuació (LAP), remodelat positiu (PR) i captació intensa de <sup>18</sup>FDG. E-H: Placa predominantment calcificada sense HRM. L'activitat de la placa és baixa, menor que l'activitat de la medul·la espinal o de la cavitat orofaríngeica (Ph). Imatge de Figueroa et al. (Figueroa *et al.*, 2012). Còpia permesa per Wolters Kluwer Health, Inc.



**Figura 7:** A-E: Imatges PET-TAC del panell superior de la Figura 6 que representen les característiques morfològiques d'alt risc (HRM). A, imatge TAC d'una placa amb lumen irregular, baixa atenuació (LAP) i remodelament positiu (PR). B, captació elevada de <sup>18</sup>FDG a la mateixa placa, predominantment a la regió de baixa atenuació. C i D, Tinció de tricròmic i CD68 de la mateixa localització que mostra la presència de 3 cors necròtics (NC). E: Micrografia de la tinció CD 68 de NC1. De manera dispersa i envoltant el NC es troben cèl·lules amb tinció obscura, indicant la infiltració per macròfags. Imatge de Figueroa et al. (Figueroa *et al.*, 2012). Còpia permesa per Wolters Kluwer Health, Inc.

### **1.2.5.2. Risc d'altres esdeveniments cardiovasculars**

L'arteriosclerosi és una malaltia sistèmica, per tant, els pacients amb AC freqüentment presenten arteriosclerosi en altres localitzacions de l'arbre vascular, generalment a l'aorta, artèries coronàries o artèries perifèriques. (Craven *et al.*, 1990) Per aquest motiu tenen un risc augmentat d'ictus, IAM i mort per causa cardíaca. De fet, en pacients amb AC asimptomàtica el risc de mort per malaltia coronària és superior que el risc de mort per ictus en alguns estudis. (Divya *et al.*, 2015; Norris *et al.*, 1991) No obstant això, no s'han fet estudis epidemiològics poblacionals per confirmar-ho. En pacients amb ACS els assajos de revascularització quirúrgica dels anys 90 van trobar una taxa de mortalitat per causa cardíaca als 10 anys variable, entre el 19% i el 51% dels pacients, segons la prevalença de FRCV a les diferents cohorts. Per aquest motiu, l'ictus de causa LAA es considera avui en dia un equivalent de malaltia coronària per al càlcul del risc cardiovascular. (Lackland *et al.*, 2012) Malgrat tot, els assajos més recents de cirurgia *versus stenting* han trobat taxes de morbidimortalitat cardíaca menors, al voltant de l'1% anual, indicant una major efectivitat del tractament mèdic en els últims anys, (Hong *et al.*, 2011) encara que no hi ha dades de seguiment a 10 anys.

### **1.2.6. Tractament de l'AC**

El tractament dels FRCV constitueix la base del tractament de prevenció primària i secundària per pacients amb AC. Pel que fa a la revascularització arterial, als darrers 20 anys s'han dut a terme nombrosos assajos clínics que han intentat respondre a la pregunta de quins són els pacients que s'han de revascularitzar i quina és la millor

tècnica de revascularització per a cada pacient, endoarteriectomia (*carotid endarterectomy* o CEA) o angioplàstia amb stent carotidi (*carotid stenting* o CAS). Ha quedat clar, com es comentarà a l'apartat següent, que la revascularització és superior al tractament mèdic en pacients amb ACS si l'estenosi és  $\geq 50\%$ . En canvi, el benefici en pacients amb AC asimptomàtics és més limitat.

### **1.2.6.1. Endoarteriectomia carotídia (CEA)**

Els estudis NASCET, l'European Carotid Surgery Trial (ECST) i el Veterans Affairs Cooperative Study Program (VACS) van demostrar a principis dels anys 90 que en pacients amb ictus degut a  $EC \geq 50\%$ , la CEA durant els primers 180 dies era superior al tractament mèdic pel que feia a la reducció de recurrències. (Barnett, 1998; MRet *al.*, 1991; Warlow *et al.*, 1998) Així doncs, en una anàlisi conjunta dels tres estudis que va incloure més de 6000 pacients, a 5 anys de seguiment, la CEA augmentava el risc d'ictus ipsolateral en el grup d' $EC < 30\%$  ( $n=1746$ , reducció absoluta del risc o RAR -2,2%,  $p=0,05$ ), no tenia cap efecte en el grup d' $EC 30-49\%$  ( $n=1429$ , RAR 3,2%,  $P=0,6$ ), tenia un benefici lleu en les EC 50-69% ( $n=1549$ , RAR 4,6%,  $P=0,04$ ) i un gran benefici en el grup d' $EC \geq 70\%$  sense *near occlusion* ( $n=1095$ , RAR 16%,  $P < 0,001$ ). En el grup de *near occlusion* hi havia una tendència al benefici als dos anys ( $n=262$ , RAR 5,6%,  $P=0,19$ ) però no es trobava benefici als 5 anys (RAR 1,7%,  $P=0,9$ ). (Rothwell *et al.*, 2003)

El risc quirúrgic de la CEA (ictus o mort) en els assajos NASCET, ECST i VA fou del 7,1%, mentre que en estudis posteriors com el Stent-Protected Angioplasty versus Carotid Endarterectomy (SPACE) (Eckstein *et al.*, 2008), el risc fou menor, del 5,9%. Encara que

molts estudis han trobat pitjors resultats quant a morbiditat quirúrgica i reestenosi en dones respecte a homes, aquestes dades són inconsistentes en la literatura. (Luebke and Brunkwall, 2015) També l'edat és un factor controvertit, ja que hi ha estudis que sí que han trobat un augment del risc quirúrgic en majors de 75 anys i altres estudis que no han trobat diferències. (Brott *et al.*, 2011).

Subanàlisis conjuntes dels estudis NASCET i ECST van mostrar que el benefici de la cirurgia depenia del temps. Era clarament superior si el procediment es duia a terme dintre de les primeres dues setmanes després del 'esdeveniment clínic amb un nombre necessari per tractar (NNT) de 3 per prevenir un ictus en 5 anys en el grup d'EC $\geq$ 70%, NNT de 6 si la cirurgia es feia en 2-4 setmanes, NNT de 9 després de 4 setmanes i NNT de 125 a partir dels 3 mesos. En el grup d'estenosi 50-69% la cirurgia només era beneficiosa si es realitzava en les 2 primeres setmanes des de l'esdeveniment isquèmic amb NNT de 7.

La seguretat de la CEA precoç (< 2 setmanes) en aquest subgrup d'ictus lleus s'ha confirmat en diversos estudis, amb una morbiditat similar a la de la cirurgia en fase estable. (Rerkasem and Peter M. Rothwell, 2009) Amb aquests resultats, des de l'any 2004 les guies de prevenció americanes i europees recomanen que en pacients amb ictus o AIT secundari a EC moderada-severa es realitzi la cirurgia dintre dels primers 14 dies (Recomanació classe II a; Nivell d'evidència B). Això sempre que no hi hagi contraindicacions per a la cirurgia precoç com serien pacients amb ictus extensos, ictus en evolució o amb transformació hemorràgica. (Fuentes *et al.*, 2014; Kernan *et al.*, 2014) Malgrat aquestes recomanacions, la realitat és que menys del 50% dels pacients amb ACS són tractats amb CEA i només una minoria dintre dels primers 14 dies. (Fairhead *et al.*, 2005; Gladstone *et al.*, 2009; Poisson *et al.*, 2010)

Com a raons potencials pel retard fins a la cirurgia s'han reconegut diferents factors: relacionats amb el pacient (retard en el reconeixement dels símptomes i en cerca d'atenció mèdica), depenent dels metges (retard en el diagnòstic i la derivació) o factors relacionats amb el sistema de salut i els recursos (accés ràpid a les proves diagnòstiques, quiròfans i personal quirúrgic).

### **1.2.6.2. Angioplàstia carotídia (CAS)**

La CAS és una alternativa menys invasiva que la cirurgia per a la revascularització carotídia, ja que al ser una tècnica percutània ocasiona menys desconfort al pacient i escurça el període d'ingrés i recuperació. En els darrers 20 anys s'han realitzat nombrosos assajos clínics tant en pacients amb ACS com asimptomàtica. Molts d'ells han estat patrocinats per la indústria farmacèutica amb l'objectiu d'avaluar un stent o sistema de neuroprotecció concret. Els més rellevants són el Carotid

Revascularization Endarterectomy versus Stenting Trial (CREST), realitzat als Estats

Units i al Canadà i que va incloure més de 2500 pacients simptomàtics i

asimptomàtics, i tres estudis europeus que varen estudiar només pacients

simptomàtics: l'Endarterectomy versus Angioplasty in Patients with Symptomatic

Severe Carotid Stenosis (EVA 3), l'SPACE i l'International Carotid Stenting Study

(ICSS). (Bonati *et al.*, 2010) La majoria no han trobat un benefici en l'ús de la CAS

respecte de la CEA degut principalment a un major augment dels ictus i mort

periprocediment. En una revisió sistemàtica de Cochrane que incloïa 16 assajos

clínics amb més de 7500 pacients es va confirmar que en pacients simptomàtics

amb risc quirúrgic estàndard la CAS s'associa amb un risc

augmentat d'ictus o mort als 30 dies de tractament respecte a CEA [OR:1,72 (IC 95%: 1,29-2,31)] encara que el risc posterior d'ictus ipsolateral durant el seguiment no és diferent entre les dues opcions terapèutiques [OR: 0,93, (IC 95% :0,60-1,45)]. Hi ha una interacció clara entre l'edat i l'efecte del tractament. En subjectes menors de 70 anys el risc de mort o ictus periprocediment és similar a la CEA [OR:1,16 (IC 95%: 0,80-1,67)]. En canvi, en població major de 70 anys el risc és superior en la CAS [OR: 2,20, IC (95%: 1,47-3,29)]. (Bonati *et al.*, 2012)

Malgrat tot això, el tractament amb CAS també té el seu lloc en aquesta patologia. En pacients d'alt risc quirúrgic tant simptomàtics com asimptomàtics l'assaig clínic Stenting and Angioplasty with Protection in Patients at High Risk for Endarterectomy trial (SAPPHIRE ) va demostrar que la CAS no era inferior a la CEA ni als 30 dies (Yadav *et al.*, 2004) ni als 3 anys postprocediment. (Ansel *et al.*, 2008) Malgrat això, la taxa d'outcomes primaris a l'any (mort, ictus o infart de miocardi) va ser molt alta en els dos grups de tractament (20,1% en la CEA i 12,2% en la CAS) i per això es va plantejar la qüestió sobre quin és el benefici de la revascularització carotídia en pacients asimptomàtics de tant alt risc.

En aquest estudi es va considerar com d'alt risc quirúrgic l'edat superior a 80 anys, la presència de malaltia cardíaca, pulmonar o renal severa, oclusió carotídia contralateral, paràlisi del nervi laringi recurrent contralateral, presència de traqueotomia, reestenosi després d'una endoarteriectomia, cirurgia radical cervical prèvia o radioteràpia cervical. (Yadav *et al.*, 2004)

Amb tot això, en les darreres guies de prevenció secundària d'ictus es planteja com a raonable que la CAS pugui ésser una alternativa a la CEA per a pacients simptomàtics



amb estenosi >70% sempre i quan el risc periprocediment sigui <6% , sobretot en pacients joves menors de 70 anys i pacients amb risc quirúrgic augmentat (Recomanació Classe II a; Nivell d'evidència B). (Kernan *et al.*, 2014)

Quant a la reestenosi després de la revascularització, les dades més recents que s'han obtingut de l'estudi CREST han objectivat una taxa molt similar als 2 anys en els dos grups (6% CAS i 6,3% amb CEA). (Lal *et al.*, 2012) La reestenosi s'associa amb l'antecedent de HTA, sexe femení i DM i no s'associa clarament amb un augment del risc d'ictus, per tant, no existeix una recomanació pel seguiment ecogràfic i eventual revascularització en pacients que es mantinguin asimptomàtics. (Kernan *et al.*, 2014)

### **1.2.6.3. Tractament mèdic**

El tractament mèdic de l'arteriosclerosi carotídia inclou el tractament dels FRCV modificables (HTA, DM i DL), l'abstenció del tabaquisme, la pràctica d'exercici físic regular i la complementació d'una dieta mediterrània. Es recomana el tractament de l'HTA per sobre de 140/90mmHg excepte en la fase hiperaguda del ictus, pel risc potencial d'empitjorament clínic. (Brott *et al.*, 2011)

El tractament antiagregant amb àcid acetilsalicílic (AAS) 50-325mg es recomana en prevenció primària encara que no hi hagi evidència de l'efecte protector en pacients amb AC asimptomàtica (Brott *et al.*, 2011a), mentre que sí que és efectiu en prevenció secundària (Recomanació classe 1; nivell d'evidència A). Com alternativa a l'AAS es pot utilitzar clopidogrel 75mg o la combinació AAS 25mg i dipiridamol 200mg/12h (Recomanació classe 1; nivell d'evidència B). Es considera també raonable la utilització de la combinació d'AAS i clopidogrel 75mg però no es recomana més enllà de 3 mesos

per l'augment del risc hemorràgic (Recomanació Classe IIb; nivell d'evidència B)(Gouya *et al.*, 2014; Huang *et al.*, 2013; Kernan *et al.*, 2014; Markus *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2013). En canvi, la teràpia dual amb AAS i ticagrelor o prasugel no ha demostrat superioritat a l'AAS amb clopidogrel als estudis realitzats fins ara i per tant no es recomana. (Gouya *et al.*, 2014) Tampoc no es recomana l'ús d'anticoagulants orals o heparina tret que el pacient tingui un altra indicació com pot ser la fibril·lació auricular (FA) o ser portador de pròtesi valvular. (Kernan *et al.*, 2014)

El tractament mèdic amb estatines es considera un dels avenços mèdics recents més importants en la prevenció de l'ictus, ja que a banda del seu efecte hipolipemiant ha demostrat un efecte estabilitzador de plaques arterioscleròtiques (Amarenco *et al.*, 2004). Diverses metanàlisis d'assajos clínics han mostrat que el tractament amb estatines, en combinació amb altres estratègies preventives, disminueix el risc d'ictus tant en prevenció primària com secundària (una reducció de 1 mmol/L o 39mg/dL de LDL associa una reducció del RR del 21,1% (95% IC: 6,3-33,5), P=0,009. En prevenció secundària d'ictus no cardioembòlic la reducció intensa del LDL-col redueix el risc d'ictus recurrent [RR 0,84 (95% IC: 0,71-0,99) P=0,03], i d'altres esdeveniments CV majors [RR 0,80 (95% IC: 0,69-0,92), P= 0,002]. (Amarenco and Labreuche, 2009)

Malgrat això, a l'estudi de prevenció secundària Stroke Prevention by Aggressive Reducion in Cholesterol Levels (SPARCL) es va descriure un lleu augment d'ictus hemorràgic al grup de tractament amb estatines [n=55 ( 2,3%) *versus* n=33 (1,4%) al grup placebo; HR: 1,66; 95% CI, 1,08–2,55] (Amarenco *et al.*, 2006). El sexe masculí, l'edat i l'antecedent d'ictus hemorràgic es van associar també amb la incidència d'ictus hemorràgic durant el seguiment. Per això es recomana precaució al considerar el

tractament amb estatines en pacients amb antecedents d'hemorràgia cerebral o edat avançada. (Goldstein *et al.*, 2009)

Es consideren recomanables uns nivells de LDL <100mg/dL en prevenció primària (classe 1, ev B) i <70mg/dL en prevenció secundària (Recomanació classe IIa; nivell d'evidència B) (Kernan *et al.*, 2014). No obstant això, no està clar que la reducció intensa (<70mg/dL) d'LDL sigui superior a la reducció moderada (<100mg/dL) pel que fa a la reducció d'esdeveniments CV en pacients amb ictus, i és motiu d'un assaig clínic que s'està duent a terme a l'actualitat (Treat Stroke to Target (TST) trial (ClinicalTrials.gov, unique identifier: NCT01252875).

La reducció dels triglicèrids (TG) i l'augment de l'HDL podrien també associar una reducció addicional del risc, segons es dedueix dels estudis epidemiològics, però aquesta hipòtesi encara no ha estat provada i també està sent avaluada en l'actualitat. (Amarenco and Labreuche, 2009)

Malgrat la millora en els tractaments en les darreres dècades, sabem gràcies al registre EUROASPIRE (European Action on Secondary and Primary Prevention by Intervention to Reduce Events) que només aproximadament un terç dels pacients amb malaltia cardiovascular tenen els FRCV controlats. (Kotseva *et al.*, 2015) A més, als assajos clínics de revascularització dels anys 90 una proporció molt baixa de pacients del grup de tractament mèdic (pex. només el 15% al NASCET) anava tractada amb estatines i no s'inclouïa com a tractament mèdic l'ús d'antiagregants com el clopidogrel o el maneig intens dels factors de risc modificables. Aquest règim de tractament mèdic agressiu o intensiu ha demostrat recentment ser superior a l'angioplàstia i l'*stenting* en pacients amb ictus o AIT secundaris a una estenosi intracranial severa (70-99%), degut sobretot

a l'alt risc d'ictus periprocediment del grup d'angioplàstia (Derdeyn *et al.*, 2014). En aquest estudi el tractament mèdic incloïa doble antiagregació amb AAS 325mg i Clopidogrel75mg durant 3 mesos i control intensiu dels factors de risc vascular amb TAS <140mm Hg (<130mm Hg en DM), LDL < 70mg/dl en un programa de modificació d'hàbits d'estil de vida amb control de dieta i exercici físic regular. Per tant, donada l'evidència del tractament mèdic intensiu tal com es concep en l'actualitat, alguns autors advoquen per nous assajos clínics que comparin aquest nou règim de tractament amb les teràpies de revascularització carotídia (quirúrgica o intravascular) per tal d'avaluar si el benefici de les intervencions continua sent el mateix que als anys 90. (Chaturvedi and Bhattacharya, 2014)

#### **1.2.6.4. Tractament de l'AC asimptomàtica**

Encara que l'AC és un factor de risc d'ictus, els estudis poblacionals han mostrat que el cribatge poblacional global d'AC no s'associa amb una reducció del risc. (Goldstein *et al.*, 2011) A més, amb la millora dels tractaments mèdics actuals, el risc anual d'ictus en pacients amb AC asimptomàtica es <1% i, per tant, es considera que el benefici de la revascularització en la actualitat seria nul (Abbott, 2009; Marquardt *et al.*, 2010; Woo *et al.*, 2010). En les darreres guies de prevenció primària es recomana que a la selecció de pacients asimptomàtics per a revascularització es tingui molt en compte l'expectativa de vida i les comorbiditats i s'han de discutir clarament amb el pacient el riscos i beneficis del procediment (Classe I, nivell d'evidència C). (Goldstein *et al.*, 2011) Seria raonable plantejar revascularització carotídia en pacients asimptomàtics que tinguin una estenosi  $\geq 70\%$  sempre i quan el risc quirúrgic fos baix (Classe IIa, evidència

A). (Brott *et al.*, 2011a) No obstant això, es necessiten més dades de seguiment a llarg termini. Per aquest motiu hi ha en marxa en l'actualitat una sèrie d'assajos clínics col·laboratius a Europa i els EUA que estan intentant establir quin seria el millor maneig terapèutic en aquest pacients. (Chaturvedi and Bhattacharya, 2014)

### **1.3. RECURRENCIA DE L'AC SIMPTOMÀTICA**

#### **1.3.1. Epidemiologia**

El risc de recurrència en l'ictus LAA és el més elevat de tots els subtipus d'ictus. En un estudi poblacional dut a terme a la població d'Oxford els ictus LAA tenien un risc triplicat de patir una recurrència als 7, 30 i 90 dies comparat amb els altres subtipus. (Lovett *et al.*, 2004) Posteriorment, un estudi hospitalari de cohorts de pacients amb AIT també va mostrar que el risc de recurrència als 90 dies era significativament superior als AIT per LAA(20%) comparat amb els CE (11,5%), UND (4,7%) o LAC (1,5%). (Purroy *et al.*, 2007)

Com s'ha comentat abans, una placa simptomàtica ho és o bé perquè és inestable amb risc de tromboembòlies distals o bé perquè ha arribat a una situació d'estenosi que compromet el flux cerebral. Totes dues situacions tenen un alt risc de repetir-se si no s'adopten mesures terapèutiques. Així, s'ha observat que el risc de recurrència és més alt durant el primer mes degut a la estabilització posterior de la placa i al desenvolupament de circulació colateral. (Ramani K Na clin paract 2007)

Al grup de tractament mèdic de l'estudi NASCET el risc de recurrència als 90 dies va ser de 11,78%. (Eliasziw *et al.*, 2004) Altres estudis duts a terme entre els anys 2000 i 2005 van trobar risc de recurrències en pacients tributaris de CEA variables segons la població estudiada: 10,48% als 30 dies en una cohort hospitalària de pacients amb EC

severa ( $\geq 70\%$ ) (Blaser *et al.*, 2002) o 21% als 15 dies i 32% als 3 mesos en un estudi poblacional de pacients amb EC ( $\geq 50\%$ ) a la població d'Oxford. (Fairhead JF *et al.*, 2005)

### 1.3.2. Factors de recurrència.

Gran part del coneixement que tenim del risc de recurrència a l'EC simptomàtica es basa en subanàlisis dels assajos clínics de revascularització. Malgrat això, la majoria d'aquest estudis es centren més en l'evolució a llarg termini i descriuen poques dades sobre la fase aguda i subaguda de l'ictus. Entre els factors que s'han associat a un augment del risc de recurrència trobem:

- **FRCV i variables clíniques:** El risc de recurrència s'associa a la majoria de FRCV clàssics com són el sexe masculí, l'edat, l'HTA, la DM, la DL, l'antecedent d'ictus i de cardiopatia isquèmica. (P. Rothwell *et al.*, 2004)
- **El tipus d'esdeveniment inicial:** En tots els assajos s'ha descrit un risc d'ictus inferior als pacients amb símptomes inicials retinals, ja siguin transitoris o permanents. A l'anàlisi conjunta de NASCET i ECST aquest risc fou gairebé la meitat (13% vs. 25% a 5 anys) respecte dels pacients amb símptomes cerebrals (Benavente *et al.*, 2001; P. Rothwell *et al.*, 2004). En pacients amb símptomes cerebrals, no es van trobar diferències significatives a llarg termini, mentre que a curt termini, els pacients que havien patit un AIT hemisfèric tenien un risc de recurrència als 90 dies del 20,1% comparat amb el 2,3% dels pacients que havien patit un ictus. El risc als 2 dies també era superior al grup d'AIT inicial (5,5%) comparat amb el grup d'ictus (0,0%). Dintre del

subgrup d'AIT inicial la presència d'un infart a la neuroimatgeria doblava el risc de recurrència als 90 dies [HR 2,1,( 95% IC 1,5-3,0)]. (Eliasziw *et al.*, 2004)

- **Coexistència d'arteriosclerosi intracranial:** En el grup de tractament mèdic de l'estudi NASCET la coexistència d'arteriosclerosi intracranial ipsolateral es va associar al risc de recurrència tant als 30 dies com als 3 anys. (RR: 1,1 i 1,4 respectivament). (Kappelle LK *et al.*, 1999, Eliasziw *et al.*,2004)
- **Presència de circulació colateral a l'angiografia:** A l'estudi NASCET, el risc de recurrència ipsolateral a dos anys en el grup de tractament mèdic fou 27,8% en pacients sense colaterals i es reduïa a 11,3% en aquells pacients que presentaven circulació colateral a través de les artèries comunicants anterior i posterior. (Henderson *et al.*,2000)
- **Altres dades angiogràfiques:** L'única variable que es va trobar associada al risc de recurrència, de les moltes analitzades, va ser l'existència d'una placa irregular o ulcerada a la caròtide simptomàtica [HR: 1,35 (95% IC: 1,11-1,64), p=0,003]. En canvi, ni el grau d'estenosi de la caròtide simptomàtica ni l'existència d'una oclusió contralateral van demostrar associació (Eliasziw *et al.*, 2004; P. Rothwell *et al.*, 2004).
- **Senyals microembòliques:** La detecció de senyals microembòliques a l'ACM ipsolateral amb DTC s'ha associat de forma clara amb el risc d'ictus tant en pacients amb EC simptomàtica com asimptomàtica. La detecció de senyals microembòliques és més freqüent en pacients amb plaques ulcerades. (Molloy and Markus, 1999; Siebler *et al.*, 1995)
- **La reactivitat cerebrovascular mesurada amb CO2:**La presència d'una reserva hemodinàmica exhausta ipsolateral és un factor independent de recurrència en

pacients amb EC  $\geq$  70% . En una cohort hospitalària de pacients amb EC severa  $\geq$ 70% tributaris de CEA, la taxa d'ictus en pacients amb reserva exhausta fou del 27% al mes comparat amb el 5,2% en pacients amb vasoreactivitat normal. (Blaser *et al.*, 2002)

- **Temps des del primer símptoma:** Als assajos clínics, el risc de recurrència al grup de tractament mèdic es va associar de forma inversa al temps des dels símptomes fins a la randomització, tot i que no tenim dades reals de quants pacients es van perdre per presentar recurrències precoces incapacitants, ja que el període de randomització abastava els 180 dies posteriors als símptomes i la mediana de temps des de l'esdeveniment inicial a l'aleatorització va ser de 36 dies a l'estudi NASCET i de 45 a l'ECST. (Rothwell *et al.*, 2004)

- **Temps fins a la revascularització:** Com ja s'ha comentat en el apartat de tractament, el retard de la cirurgia s'ha associat de forma inqüestionable a l'augment del risc de recurrència. A l'estudi poblacional d'Oxfordshire entre 2002 i 2004, el temps mig fins a la CEA fou 100 dies (rang interquartílic o IQR: 59-137). Només 6% dels pacients van rebre la CEA en 2 setmanes i un de cada 3 pacients va presentar un ictus recurrent esperant la cirurgia. La meitat d'aquestes recurrències foren incapacitants. (Fairhead *et al.*, 2005) El registre prospectiu de la xarxa canadenca d'ictus entre 2003 i 2006 va mostrar dades lleugerament millors: en pacients amb EC  $>$ 50%, només un terç rebien la cirurgia durant les dues primeres setmanes i el 10% patien recurrències. (Gladstone *et al.*, 2009) El balanç entre el risc de recurrència de l'ictus i el risc d'una revascularització molt precoç és un tema que encara no està resolt ja que una revascularització molt prematura pot produir canvis hemodinàmics dintre de l'àrea de necrosi isquèmica que resultin en una transformació hemorràgica a més del risc



d'embòlia d'una placa amb trombosi aguda. Alguns estudis publicats entre 2002 i 2011 no han descrit un augment de la morbimortalitat en pacients intervinguts de forma urgent (<48h) (Rantner *et al.*, 2005; Salem *et al.*, 2011; Sbarigia *et al.*, 2006). No obstant això, es tracta d'estudis amb una mida de mostra molt petita. En canvi, una metanàlisi que recull tots els estudis publicats des del 1980 fins al 2008 va descriure un augment del risc perioperatiu en pacients intervinguts de forma urgent per deteriorament neurològic (AIT *in crescendo* o ictus progressiu), mentre que no s'objectiva augment de risc en pacients estables. (Rerkasem and Peter M Rothwell, 2009) Tanmateix, els resultats publicats recentment del registre vascular suec, que inclou més de 2500 CEA entre 2008 i 2011, mostren un augment del risc d'ictus i mort en pacients intervinguts dintre de les primeres 48h des de l'inici dels símptomes independentment de la estabilitat dels símptomes (11,5% vs. 4% en pacients intervinguts entre els dies 3 i 14). Només el grup de pacients amb amaurosi fugaç presenta un risc més baix. (Strömberg *et al.*, 2012) Queda per saber si dintre dels primers dos dies el benefici del millor tractament mèdic supera el risc de recurrència mentre s'espera la CEA.

- **Biomarcadors:** No existeix en l'actualitat un biomarcador de recurrència en pacients amb ACS. Estudis a gran escala recents que han inclòs tots els subtipus d'ictus han trobat un valor predictiu lleu d'alguns marcadors d'inflamació com la interleucina 6, l'hs-CRP (Segal *et al.*, 2014) o la lipoproteïna associada a la fosfolipasa A<sub>2</sub>. (Elkind *et al.*, 2006). Amb tot, cap d'aquests marcadors s'utilitza en la pràctica clínica rutinària.

## **1.4. Deteriorament neurològic precoç (DNP)**

### **1.4.1. Definició**

El DNP es defineix com l'empitjorament neurològic durant les primeres 72h després d'un ictus isquèmic. És una complicació freqüent encara que la incidència és variable segons els estudis, entre un 13 i un 37% de tots els ictus isquèmics. Això és degut a diferències entre les poblacions estudiades i entre les definicions de DNP emprades. (Thanvi *et al.*, 2008) La definició pot incloure tant els ictus progressius com les recurrències precoces.

Les causes de DNP estan relacionades amb la fisiopatologia de l'ictus isquèmic. Això el diferencia del deteriorament neurològic més tardà que sol ésser degut a complicacions sistèmiques com infeccions, trastorns metabòlics o altres complicacions vasculars. (Cuadrado-Godia 2015)

La fisiopatologia exacta del DNP no és del tot ben coneguda. S'han involucrat diversos mecanismes com són: la manca de circulació colateral en pacients amb estenosis crítiques o oclusions d'artèries grans intra- o extracranials; la progressió d'una trombosi in situ d'una artèria intracranial amb augment de l'àrea d'infart; la recurrència d'una embòlia distal des d'una placa inestable o una altra font embòlica; l'augment de l'àrea infartada per edema o la transformació hemorràgica, sobretot en pacients tractats amb fibrinolítics. (Thanvi *et al.*, 2008)

### **1.4.2. Factors predictors**

En els darrers anys s'han realitzat nombrosos estudis amb l'objectiu d'identificar factors predictors de risc de DNP. D'aquesta manera s'ha demostrat la influència d'algunes variables clíniques com són: la severitat inicial (els ictus més severos tenen

més risc de DNP) o l'existència d'una lesió extensa a la neuroimatgeria inicial; l'etiologia de l'ictus (els ictus LAA tenen més risc que els LAC o els CE) (Dávalos *et al.*, 1990); factors metabòlics com la hiperglucèmia a l'ingrés, la concentració alta d'urea plasmàtica (Castillo, 1999); nivells augmentats de marcadors d'inflamació com el recompte de leucòcits, factor de necrosi tumoral alfa, interleucina 6, ICAM-1 i la MMP-9 o concentracions baixes de la citocina antiinflamatòria interleucina 10; (Audebert *et al.*, 2004; Castellanos *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2006; Vila *et al.*, 2003) dany per excitotoxicitat determinat amb la concentració plasmàtica de glutamat i GABA; (Serena *et al.*, 2001) factors hemodinàmics com la variació de la tensió arterial durant les primeres 24h; (Castillo *et al.*, 2004) una reserva hemodinàmica cerebral exhausta (<2%/mmHg); (F. J. Alvarez *et al.*, 2004) i la presència d'estenosi severa o oclusió en l'artèria simptomàtica. (Ois *et al.*, 2008)

### **1.4.3. Tractament del DNP**

El DNP és, encara avui, un problema sense resoldre, ja que no té un tractament específic i implica un pitjor pronòstic per al pacient. (Castillo, 1999) No obstant això, el DNP és pot intentar prevenir. L'única mesura de prevenció que ha demostrat reduir el risc de DNP és l'ingrés a una Unitat d'Ictus (UI) amb maneig multidisciplinari per part de neuròlegs vasculars i personal d'infermeria entrenat. En un estudi realitzat a l'Hospital del Mar es va demostrar que l'ingrés a l'UI disminuïa el risc de DNP comparat amb l'ingrés a la Unitat de Neurologia convencional i, d'aquesta manera, millorava el pronòstic dels pacients. (Roquer *et al.*, 2008) No obstant això, malgrat el benefici de les UI, un percentatge important de pacients pateixen encara DNP i per això es molt

important la identificació de factors predictors que puguin detectar els pacients amb major risc tributaris de mesures terapèutiques excepcionals o experimentals.

## **2. JUSTIFICACIÓ DE LA TESI**

La causa més freqüent d'ictus aterotrombòtic a la nostra població és l'AC. Sabem que els ictus aterotrombòtics tenen un major risc de recurrència que els ictus d'altres etiologies. No obstant això, hi ha molts interrogants sobre l'evolució inicial dels ictus deguts a AC simptomàtica, ja que la principal font d'evidència, els assajos clínics de revascularització, no ha aportat dades sobre aquesta fase inicial. Tenim poques dades sobre la proporció de recurrències durant les primeres hores i dies i sobre la seva severitat, factors clau a l'hora de decidir tractaments de revascularització posteriors. No sabem quin és el percentatge de pacients que continua presentant recurrències abans de la cirurgia en la actualitat, amb la millora dels tractaments mèdics. Per últim, no disposem encara d'un biomarcador de recurrència que pugui ajudar a la selecció de pacients d'alt risc en aquest subtipus d'ictus.

### **3. HIPÒTESI**

Tot i la milloria en el tractament mèdic, la taxa de recurrència i de deteriorament neurològic precoç, en pacients amb ictus degut a arteriosclerosi carotídia, és alta. Es poden identificar els pacient amb ictus aterotombòtic d'alt risc de recurrència i DNP amb marcadors clínics i biològics.

## 5. OBJECTIUS

Els objectius d'aquesta tesi són:

- 1) Descriure la taxa de recurrència inicial (a les 72h, als 7 i als 14 dies) dels ictus per AC tributaris de revascularització i analitzar factors predictors de recurrència.
  
- 2) Descriure l'evolució inicial (severitat i risc de DNP) dels ictus per AC incloent-hi l'oclusió carotídia. Analitzar el paper del grau d'estenosi pel que fa a la severitat i risc de desenvolupar DNP.
  
- 3) Analitzar el paper de biomarcadors relacionats amb la DE (les CEP, les CEC, la MA i la LDL-ox), en el risc de recurrència en ictus LAA.

## **6. MATERIAL I MÈTODES**

### **5.1. Disseny dels estudis**

Estudi de cohorts prospectiu basat en el registre hospitalari d'ictus isquèmics i hemorràgics atesos al Servei de Neurologia de l'Hospital del Mar de Barcelona des del 2002. L'Hospital del Mar és un centre terciari d'ictus que atén a una població de referència de 300.000 habitants de dos districtes de la ciutat de Barcelona (Ciutat Vella i Poblenou-Sant Martí). L'hospital disposa de neuròleg i cirurgià vascular de guàrdia 24h amb capacitat per fer l'estudi neurovascular tots els dies de l'any. El tractament amb trombòlisi sistèmica es realitza des del 2004 i les teràpies intravasculares per a l'ictus agut des del 2009. Des del 2005 disposa d'una unitat d'ictus amb 6 llits i amb personal d'infermeria especialitzat. El tractament de revascularització carotídia el realitzen els serveis de cirurgia vascular i neuroangiologia.

Des del 2005 el registre d'ictus incorpora un banc de genètica i plasma (REGISTRE BASICMAR FIS:PI051737) i compta amb el suport de la Red de Investigación Cardiovascular (FEDER, RD12/0042/0020). En l'actualitat hi ha registrats més de 4000 pacients amb ictus isquèmics, dels quals un 13% són deguts a LAA. De tots els pacients es recullen dades demogràfiques, antecedents patològics i familiars i dades clínicoradiològiques sobre la fase aguda de l'ictus i la fase estable. Tots els pacients tenen un estudi neurovascular i cardíac complet. El seguiment es realitza als 3 mesos de l'esdeveniment mitjançant una visita mèdica o bé una trucada telefònica on es valora l'estat funcional després de l'ictus mitjançant l'escala mRS (modified Rankin Scale).



## 5.2. Subjectes

S'han estudiat els pacients amb AC S (ictus, AIT, Afx i oclusió retinal) atesos en el nostre hospital en un període variable segons els diferents estudis. Per l'anàlisi de biomarcadors s'han estudiat també ictus LAA amb estenosis a d'altres artèries dels troncs supraòrtics. Els criteris d'inclusió dels diferents estudis són lleugerament diferents segons l'objectiu de l'estudi i es detallen a l'apartat de resultats.

## 5.3. Mètodes diagnòstics i terapèutics

La metodologia diagnòstica i terapèutica ha estat la mateixa en tots els estudis, sempre adaptada a les guies nacionals i internacionals de maneig de l'ictus isquèmic.

Tots els pacients amb sospita d'ictus/AIT agut són avaluats inicialment per un neuròleg que estableix la severitat inicial amb l'escala NIHSS i acompanya el pacient a fer la prova radiològica inicial (TAC+/- AngioTAC). Si la neuroimatgeria inicial descarta l'hemorràgia cerebral el pacient inicia tractament antiagregant amb AAS 300mg dintre de les primeres 6 hores. En pacients amb intolerància a la AAS, s'utilitza el clopidogrel 75mg o el triflusal 900mg. En alguns pacients prèviament tractats amb AAS s'hi ha afegit clopidogrel 75mg durant els primers dies. En casos aïllats (pacients amb AIT *in crescendo* malgrat el tractament antiagregant), els pacients han estat tractats amb heparina endovenosa (1000 UI/h) monitoritzant l'APTT cada 6h. Arran dels darrers estudis (Wong *et al.*, 2013), en l'actualitat s'utilitza el tractament amb doble antiagregació (AAS i clopidogrel 75mg) durant els primers 90 dies. Tot i això, a la cohort

de l'estudi els pacients amb doble antiagregació són pocs, ja que en no haver-hi una evidència clara, el tractament dual s'ha deixat a la decisió del metge corresponent.

Des de setembre del 2009, arran de la publicació dels resultats de l'estudi SPARCLE, tots els pacients amb ictus LAA es tracten amb atorvastatina 80mg, retirant el tractament previ amb altres estatines.

El maneig de la TA durant les primeres 24h és estricte (cada hora). Només s'administra tractament antihipertensiu si la TAS és  $>220\text{mmHg}$  o la diastòlica  $>120\text{mmHg}$  (amb excepcions puntuals de pacients amb cardiopaties). El maneig de la glicèmia i la temperatura també és intensiu amb determinacions periòdiques (cada 6 hores) i correcció de la hiperglucèmia ( $>130\text{mg/dL}$ ) amb insulina ràpida i de la  $T^a >37.5\text{C}$  amb antitèrmics.

La trombólisi sistèmica amb alteplasa (tPA) es va administrar segons els criteris SITS-MOST dintre de les primeres 3 hores fins l'any 2008 arran de la publicació de l'estudi ECASS-III, quan la finestra és va ampliar a les 4,5 hores. (Hacke *et al.*, 2008) Des de l'any 2009 els pacients han estat tractats amb teràpies de reperfusió intravasculares seguint els criteris recomanats per les guies de pràctica clínica.

L'estudi de troncs supraaòrtics es realitza durant les primeres 24h mitjançant un ecoTSA i DTC per part d'un neuròleg vascular expert. El grau d'estenosi es calcula seguint les guies de consens internacional. (Grant *et al.* 2003; Baumgartner *et al.* 1999; Demchuk *et al.* 2001) Als pacients que presenten una estenosi a l'ecodoppler inicial se'ls fa una segona exploració TSA que habitualment és una angiRMN amb gadolini. En casos amb claustrofòbia o quan ja es disposi d'una angiOTAC inicial, la prova complementària és l'angiOTAC. Només en casos de discordança entre les dues proves

d'imatge carotídia o bé en casos concrets amb alteracions anatòmiques s'indica la realització d'un DSA. Els criteris diagnòstics per al càlcul del grau d'estenosi són els criteris NASCET (Committee, 1991). El grau d'EC es categoritza en <50%, 50-69%, 70-99% i oclusió completa. Pel grau d'estenosi intracranial s'utilitzen els criteris de l'estudi WASID (Warfarin-Aspirin Symptomatic Intracranial Disease). (Samuels *et al.*, 2000)

Tots els pacients tributaris de revascularització s'avaluen de forma precoç per cirurgia vascular i en decisió conjunta amb neurologia es decideix la indicació quirúrgica del pacient i el temps recomanable per a la cirurgia. Seguint les recomanacions internacionals els pacients amb ictus minor/AIT són intervinguts de forma precoç, idealment <2 setmanes des de l'any 2009. Només casos seleccionats (per dificultat anatòmica, risc quirúrgic, etc.), els pacients es tracten amb angioplàstia carotídia.

#### **5.4. Mesures de laboratori**

Com s'ha comentat abans, el registre Basicmar inclou una seroteca i una genoteca. Per a l'anàlisi de biomarcadors s'extrau una mostra de sang a l'arribada del pacient a urgències al mateix temps que es realitza l'anàlisi basal de l'hospital. Per a la mesura de LDL-ox la sang es va dipositar en 2 tubs de K2EDTA (1.8 mg/mL) que immediatament van ser portats a centrifugar a temperatura ambient (15 minuts a 1500G). El plasma extret es va distribuir en alíquotes i es va congelar a -80°C fins a l'anàlisi. La concentració de LDL-ox es va mesurar mitjançant un kit comercial d'ELISA (LDL-ox; Mercodia AB, Uppsala, Suècia) amb una variabilitat intra- i interassaig acceptable (coeficient de variació: 6,02 i 10,42% respectivament). Els resultats s'expressen en U/L.

L'albuminúria es va mesurar en una mostra aïllada d'orina de primera hora del matí següent a l'inici dels símptomes, bé per micció espontània o per catèter uretral. El mètode d'anàlisi és un assaig immunoturbidimètric (Hitachi P-800, Roche). La variabilitat intra-i interassaig fou de 1,3% i 4,3 %, respectivament. Es va definir com a microalbuminúria (MA) la ràtio albúmina/creatinina entre 30-300 mg/g. (Ovbiagele, 2008)

Per a l'estudi de les CEP i CEC es va realitzar una extracció de sang amb tubs heparinitzats dintre de les primeres 24h després de l'ictus i es va processar durant les 4 primeres hores postextracció. L'anàlisi de CEP i CEC es va realitzar mitjançant citometria de flux (FC5000 cytometer Beckman-Coulter, Madrid). La caracterització de les cèl·lules es va fer segons una metodologia prèvia. (Freixa *et al.*, 2011) Es van definir com CEP les cèl·lules negatives per CD45 i positives per CD 34, KDR i CD 133. Les CEC es van definir com negatives per CD45, i positives per CD 146 i CD 131. El nombre absolut de CEP i CEC per 1mL de sang total es va obtenir multiplicant la ràtio de cèl·lules obtingudes per citometria pel nombre de leucòcits/mL de sang.

### 5.5. Definició de les variables

Les variables que es recullen a Basicmar i que s'han emprat en els treballs que conformen aquesta tesi es defineixen a continuació:

- **FRCV:** HTA, diagnòstic previ o evidència en al menys 2 determinacions de TAS >140mmHg o TAD>90mmHg en dies diferents; DM, diagnòstic previ o evidència durant l'ingrés de 2 determinacions de glicèmia en dejú alterada (>126mg/dl) o HbA1c>6.5%; DL, diagnòstic previ, ús previ de tractament o evidència de nivells de colesterol

total>220mg/dL, LDL colesterol>130mg/dL o TG>150mg/dL; tabaquisme (actiu, ex<5anys, ex>5anys, mai); enolisme actiu si consum >40g/dia en homes i 30g/dia en dones. També es recull la prevalença d'arteriosclerosi simptomàtica/asimptomàtica prèvia: cardiopatia isquèmica, diagnòstic previ documentat d'angina de pit o IAM; malaltia vascular perifèrica, diagnòstic previ de claudicació intermitent, ateromatosi carotídia significativa, aneurismes arterials o ITB<0.9; ictus/AIT previ, diagnòstic previ d'ictus/AIT tant isquèmic com hemorràgic. Altres variables que es recullen sistemàticament són l'existència de malalties cardíques amb potencial embòlic com valvulopaties, arítmies cardíques o miocardiopaties i altres causes d'ictus infreqüent com a coagulopaties o ús de drogues. La història farmacològica prèvia (ús d'antihipertensius, antidiabètics, hipolipemians, antitrombòtics) també es registra.

- **Glicèmia inicial:** Glicèmia (mg/dL) mesurada a la primera analítica extreta a l'arribada del pacient a urgències.
- **Tensió arterial mitja (TAM) inicial:** Calculada a partir de la TA sistòlica (TAS) i TA diastòlica(TAD) inicial, a l'arribada del pacient a urgències, segons la fórmula TAM=2/3 TAD+1/3 TAS.
- **Esdeveniment inicial:** Últim esdeveniment clínic presentat pel pacient abans de cercar assistència mèdica. Seguint la definició de la OMS s'han definit:
  - Ictus isquèmic: Dèficit neurològic mantingut >24h degut a isquèmia cerebral.
  - AIT: Dèficit neurològic transitori amb duració <24h degut a isquèmia cerebral.
  - Amaurosi fugaç (Afx): Dèficit visual degut a un esdeveniment vascular retinal isquèmic amb duració <24h.

- Oclusió arterial retinal (RAO): Oclusió d'un vas retinal amb duració dels símptomes >24h diagnosticat per un oftalmòleg.
- **AIT previ:** Episodi de dèficit neurològic previ, no actual, recuperat en <24h. Els AIT previs es categoritzen en <24h, de 24 a 7 dies i de 7dies a 3mesos.
- **Severitat inicial de l'ictus:** Basada en l'escala NIHSS els ictus es classifiquen en lleus si NIHSS ≤7, moderats de 8 a14 i severs si NIHSS>14 segons la literatura prèvia. (DeGraba *et al.*, 1999)
- **Deteriorament neurològic precoç (DNP):** Empitjorament de la clínica neurològica ≥4 punts a la escala NIHSS o aparició de nous símptomes suggestius de nous ictus/AIT en pacients asimptomàtics durant les primeres 72h, confirmats per un neuròleg i no atribuïble a causes no neurològiques o isquèmiques (p. ex: transformació hemorràgica o infecció sistèmica). Per confirmar el diagnòstic de DNP als pacients se'ls ha realitzat una prova de neuroimatgeria.
- **Recurrència:** Evidència de nova simptomatologia neurològica en un pacient clínicament estable en forma de nou ictus/AIT/Afx/RAO segons la definició prèvia. A l'article 1 s'inclou com a recurrència l'empitjorament de 4 punts de NIHSS, mentre que a l'article 2, per tal d'unificar criteris amb les altres dues cohorts, només es considera recurrència si és un nou dèficit. Segons la localització es considera ipsolateral o contralateral a l'ACS.
- **Nou esdeveniment vascular (NVE):** Diagnòstic d'una nova síndrome coronària aguda, AIT, ictus, hospitalització o mort per causa cardiovascular.

## 5.6. Anàlisi estadística

S'ha seguit el mateix criteri per a tots els treballs. Les dades es presenten amb mitjana  $\pm$ DE o mediana  $\pm$  IQR per a variables contínues o bé en freqüències i percentatges per a variables categòriques. Per a la comparació bivariàble de proporcions s'ha utilitzat el test de Chi-quadrat i T-test o ANOVA per a variables contínues normals. Per a variables no normals s'ha emprat el test no paramètric de Mann-Whitney *U* test. Els valors de MA i LDL-ox s'han analitzat com a variables contínues.

La correlació entre els biomarcadors s'ha analitzat amb el coeficient de correlació de Pearson (*r*). L'anàlisi multivariàble s'ha realitzat mitjançant diversos models (regressió logística, ordinal o regressió de COX) segons les característiques de l'estudi i les variables. Les variables introduïdes als models són analitzades per descartar col·linealitat i interaccions. El P valor seleccionat com a significatiu per a la introducció de les variables dintre dels models ha estat de  $<0,1$  a l'estudi d'anàlisi bivariàble ( $<0,5$  a l'article 3).

Les anàlisis estadístiques dels treballs presentats han estat realitzats per l'autora E.C.G amb el suport del servei de bioestadística de l'IMIM (I.S.R). A l'article 2 l'anàlisi ha estat realitzat en col·laboració amb E.J de l'hospital d'Umeå. Per a les anàlisis s'ha emprat el *software* SPSS per a Windows (versions 13-22 ) i R *software* (versió 2.11.1).

## 5.7. Aspectes ètics

Tots els estudis han estat avaluats i aprovats pel comitè ètic de l'hospital seguint la regulació local i internacional a l'àmbit de la recerca mèdica i els estàndards establerts per la Declaració de Hèlsinki. Des de l'inici del registre Basicmar (gener del 2005) els

pacients han signat un consentiment informat per a la participació als estudis de cohorts i per a l'extracció de mostres. Per a l'article 4 (estudi Procell) els pacients han signat un consentiment informat addicional.



## 6. RESULTATS

### 6.1. OBJECTIU 1

#### 6.1.1. ARTICLE 1: High risk of early neurological recurrence in symptomatic carotid stenosis. Ois A, Cuadrado-Godia E, Rodríguez-Campello A, Jiménez-Conde J, Roquer J. *Stroke*. 2009 Aug; 40 (8):2727-31.

L'objectiu d'aquest primer treball fou descriure la taxa de recurrència precoç (NR) i pronòstic inicial dels pacients amb ACS tributaris de revascularització i analitzar-ne els factors relacionats. Per aquest treball vàrem incloure els pacients des de maig del 2002 fins a maig del 2008 amb ictus minor (NIHSS<7) o AIT d'evolució molt curta ( $\leq 6$ h des de l'inici dels símptomes). La cohort final fou 163. Dos terços dels pacients, 121 (74,2%), eren ictus minor i un terç, 42 (25,8%), AIT. El 60% eren homes amb una edat mitjana de 71,8 anys (DE:10,4). Setanta-nou pacients (48,5%) tenien una estenosi  $\geq 70\%$  i 84 (51,5%) una estenosi 50-69%. Un 37% dels pacients anaven pretractats amb antiagregants i un 28% amb estatines.

Un total de 45 pacients (27,6%) van tenir una NR durant els primers 15 dies, 37 (22,7%) en forma d'ictus progressius/recurrències i 8 (4,9%) nous AIT. Per períodes la taxa de NR fou: 34 (20,9%) a les 72h, 11 (6,7%) entre 72h i 7 dies, 6 (3,7%) entre els 8 i els 14 dies. Vint-i-sis pacients (16%) van patir l'NR el primer dia. L'anàlisi bivariàble va demostrar una associació de la recurrència amb la DM ( $P=0,097$ ), el grau d'EC $\geq 70\%$  ( $P=0,012$ ) i l'antecedent d'AIT previ ( $P=0,067$ ). En l'anàlisi multivariàble ajustada només l'EC $\geq 70\%$  es va mantenir com a variable associada de forma independent [OR: 2,44 (95% IC:1,16-5,13)  $P=0,018$ ].

Als 15 dies, 19 pacients (11,7%) tenien discapacitat, la majoria (16 pacients) per haver presentat NR sobretot dintre de les primeres 24h (14 pacients). En tres pacients (1,8%) la recurrència va ser mortal.

# High Risk of Early Neurological Recurrence in Symptomatic Carotid Stenosis

Angel Ois, MD; Elisa Cuadrado-Godia, MD; Ana Rodríguez-Campello, MD;  
Jordi Jimenez-Conde, MD, PhD; Jaume Roquer, MD, PhD

**Background and Purpose**—Few data are available on very early stroke recurrence evaluated within the first hours after onset of symptoms and outcome for unselected patients with first-ever mild stroke or TIA and symptomatic carotid stenosis  $\geq 50\%$ .

**Methods**—One hundred sixty-three patients with symptomatic carotid stenosis and initial mild stroke (121) or TIA (42) were evaluated within 6 hours from onset of symptoms in a single tertiary hospital. Neurological recurrence (NR) was defined as a clearly defined new neurological event (TIA or stroke) or an increase of 4 points in the initial NIHSS. The NR rate was determined at 72 hours, 7 days, and 14 days. Disability was defined as a score of 3 to 6 on the modified Rankin scale at 14 days.

**Results**—Forty-five patients (27.6%) had NR, including 6 patients with 2 episodes in different time periods: 34 (20.9%) within the first 72 hours; 11 (6.7%) between 72 hours and 7 days; and 6 (3.7%) at 14 days. Only carotid stenosis  $\geq 70\%$  was associated with NR; diabetes was marginally associated. At 2 weeks, 19 patients (11.7%) had disability; 14 of them experienced NR in the first 72 hours.

**Conclusions**—Patients with first-ever mild stroke or TIA and symptomatic carotid stenosis are at high risk for NR, especially within the first 72 hours. Our results suggest the necessity of testing pharmacological or interventional strategies for use during the hyperacute stroke phase in these patients. (*Stroke*. 2009;40:2727-2731.)

**Key Words:** carotid stenosis ■ prognosis ■ stroke care

The efficacy of carotid endarterectomy for medical treatment, as well as the accepted surgical risk for patients with symptomatic carotid stenosis (SCS), is well-known from the results of 2 large trials: the European Carotid Surgery Trial and the North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial.<sup>1-3</sup> Data from these trials have been used to perform various subanalyses to obtain information concerning various aspects of the clinical evolution of these patients,<sup>4</sup> including early risk of stroke after TIA<sup>5</sup> or the relevance of randomization within 2 weeks.<sup>4</sup> Both trials, however, recruited patients after a nondisabling ischemic stroke; consequently, it is not possible to know how many patients were noneligible because of early recurrence, and subsequent disability, during the time before randomization.

Recent studies have shown a high recurrence risk in the first days after TIA or TIA and minor stroke.<sup>6-11</sup> Moreover, the very high early risk of recurrence has been described in patients with carotid stenosis.<sup>11</sup> There are, however, few data about the clinical evolution in the first hours from symptom onset in unselected patients with SCS.

The aim of the present study was to describe the recurrence rate at 72 hours, 7 days, and 14 days, in an unselected series of patients with SCS  $\geq 50\%$  and first-ever nondisabling

stroke or TIA evaluated in the first 6 hours from onset of symptoms.

## Subjects and Methods

From May 2002 to May 2008, 1151 consecutive patients with first-ever mild acute ischemic stroke (defined as initial neurological severity  $< 7$  points on the National Institutes of Health Stroke Scale)<sup>12</sup> or TIA were evaluated in our hospital within the first 6 hours from the onset of symptoms. This cut-off point (7 points) was chosen according to previously reported criteria to define mild stroke.<sup>13</sup> Patients were prospectively included in the BasicMar database, an ongoing register of patients with acute ischemic stroke at our hospital. This is the only public hospital to our knowledge serving a population of 300 000 people in 3 districts of the city of Barcelona.

We selected patients with ipsilateral SCS  $\geq 50\%$  without occlusion. Any patient with advanced age, comorbidity, or concomitant cardiac diseases was excluded in an effort to reflect the clinical evolution of patients with SCS in actual clinical practice. The final study cohort was 163 patients, once all patients whose stroke was not associated with ipsilateral SCS were excluded: 121 cases of mild stroke and 42 cases of TIA, representing 14.1% of total ischemic strokes or TIA. In all cases, the degree of arterial stenosis was confirmed by concordance of high-resolution ultrasonographic studies (duplex) performed by trained physicians and other radiology techniques, either intracranial/extracranial contrast-enhanced magnetic resonance angiography or computer scan angiography, performed and interpreted by trained radiologists following established

Received January 18, 2009; final revision received March 19, 2009; accepted April 30, 2009.

From the Servei de Neurologia, Hospital del Mar, IMAS, IMIM, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain.

Correspondence to Dr Angel Ois, Servei de Neurologia, Hospital del Mar, IMAS, IMIM, Passeig Marítim 25-29, 08003, Barcelona, Spain. E-mail 94545@imas.imim.es

© 2009 American Heart Association, Inc.

Stroke is available at <http://stroke.ahajournals.org>

DOI: 10.1161/STROKEAHA.109.548032

North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial criteria.<sup>1,3,14</sup> An arteriography study was performed in those cases with doubtful or discordant results (n=42).

### Methodology of Care

Cases were directly diagnosed on hospital admission by a neurologist who established the initial neurological severity. Time of stroke onset was registered in all patients. When the onset of the neurological symptoms was unknown, or occurred while sleeping, the stroke onset was established as the last time that the patient was seen free of symptoms. All patients had a complete medical examination, blood test, chest radiography, ECG (daily during hospitalization), and head scan (CT) on admission. Patients were clinically monitored with National Institutes of Health Stroke Scale assessment at least once per day during hospitalization. All patients were assessed in the same way, following the therapeutic and diagnostic protocols. Initially, antiaggregant therapy is started as 300 mg aspirin or other anti-aggregants (clopidogrel or trifusal) for patients with aspirin intolerance; in some patients already receiving aspirin treatment (n=24), 75 mg clopidogrel was added, in consultation with the attending physician. In 14 cases, this initial antiaggregant therapy was a combination of aspirin and clopidogrel. In all cases, treatment was started in the first 6 hours from hospital admission and after the initial examination. High-dose atorvastatin (80 mg) was administered in hyperacute phase only in the last patients of the series (n=32), when protocols were adjusted to accommodate new evidence. Any previous treatment with statins was withdrawn. Glycemia, blood pressure, and temperature were monitored carefully. Blood pressure was determined each hour (in the stroke unit) or every four hours (in the rest of cases) during at least the first 24 hours. Antihypertensive agents were administered only in patients with heart failure, under current international stroke guidelines, or if the diastolic blood pressure was >120 mm Hg or the systolic blood pressure was >220 mm Hg. Moreover, in selected patients already pretreated with antiplatelet drugs who presented with repetition/crescendo TIA (n=6) or patients with an associated high-risk cardioembolic cause, we started anticoagulation with endovenous heparin. In May 2005 we inaugurated the stroke unit in our center and added continuous noninvasive monitoring of admitted patients for at least 24 hours (n=61). The same neurology team attended the patients before and after May 2005, and the same protocols were used. The specialized nursing and continuous monitoring that became available in the new stroke unit were the only differences in care.

In the first 3 hours after stroke onset, endovenous thrombolytic treatment with recombinant tissue plasminogen activator was administered (n=5) based on the European Medicines Evaluation Agency Criteria (SITS-MOST criteria). None of the included patients had surgery in the first 2 weeks. This is because the vascular surgery team in our center considers  $\geq 2$  weeks to be the optimal timing for carotid endarterectomy or angioplasty plus stent after ischemic stroke.

### End Points

Given the standard timing of vascular surgery in our center, the end point of the study was neurological recurrence at 2 weeks. Neurological recurrence (NR) was defined as a new neurological clinical event. In patients with TIA, this was a new TIA or stroke. In patients with mild stroke, NR was a worsening by at least 4 points from the initial National Institutes of Health Stroke Scale score or clearly defined new symptoms that suggested a new neurological event during the follow-up period.

To discard non-neurological causes of deterioration or a possible nonipsilateral NR, all patients with NR were submitted to clinical reassessment or new radiological studies (DWI-MRI in 34 patients and CT in the remaining patients). In all cases, a neurologist trained in neurovascular pathology validated the end point.

NR was divided into 3 time periods: initial 72 hours, from 72 hours up to 7 days, and from 7 days to 14 days. At 14 days, disability was registered as a score of 3 to 6 on the modified Rankin scale. The disability was determined by direct examination by a neurologist.

Forty-five patients were discharged within 2 weeks without disability. In all cases, patients and their family members or caregivers were advised about the risk of NR and received clear instructions about the urgent need for emergency room care in the event of any worsening or any new symptom. Moreover, a neurologist evaluated all patients at 14 to 17 days to discard NR. In all cases, NR in the first 2 weeks was registered, whether the patient was hospitalized.

### Factors Analyzed

We analyzed the relationship between NR and the following factors: age, gender, initial stroke severity, vascular risk factors, major cardioembolic sources, SCS  $\geq 50\%$  to 69% or  $\geq 70\%$ , presence of significant ( $\geq 50\%$ ) ipsilateral intracranial stenosis or contralateral arterial carotid stenosis  $\geq 50\%$ , and presentation as a TIA. Those patients with neurological symptoms fully recovered at the initial neurological examination or with symptoms and complete recuperation in the first 24 hours without evidence of acute ischemic lesion in the initial CT study. Vascular risk factors were obtained from the patient, relatives, caregivers, or previous medical records, following the definitions recommended by the international guidelines.<sup>15</sup> The risk factors were registered in a structured questionnaire (BasicMar) as follows: arterial hypertension (evidence of at least 2 raised blood pressure measurements, systolic >140 mm Hg or diastolic >90 mm Hg, recorded on different days before stroke onset; a physician's diagnosis, or use of medication); diabetes (a physician's diagnosis or use of medication); hyperlipidemia (a physician's diagnosis, use of medication, serum cholesterol concentration >220 mg/dL, LDL cholesterol >130 mg/dL, or serum triglyceride concentration >150 mg/dL); current smoking habits; ischemic heart disease (documented history of angina pectoris or myocardial infarct); and peripheral arterial disease (physician's diagnosis of intermittent claudication or ankle-brachial index <0.90 in either leg). We also registered previous TIA (based on focused questions concerning neurological symptoms attributable to carotid stenosis in the previous 7 days) and previous treatment with statins or antithrombotic drugs (anticoagulants or anti-platelets).

### Statistical Analysis

Differences in parametric and nonparametric continuous variables were evaluated using the *t* test and the Mann-Whitney *U* test, respectively, and the  $\chi^2$  test was used for proportional analysis. The univariate analysis is presented in Table 1 for proportional variables; continuous variables, age and initial severity, are discussed later in this article. Multivariate OR with 95% CI were calculated by a logistic regression model. Variables with a significance of  $P < 0.1$  in the univariate analysis were introduced into the logistic regression models. An independent statistician performed regression analysis by the forward method. The variables were cross-tabulated to assess multicollinearity. Statistical significance was determined at  $\alpha$  level of 0.05.

### Ethics

Data for the study were collected following the local ethics guidelines. Data were anonymous and the identity of the individual patients was completely protected. The study did not delay any therapeutic interventions.

### Results

The mean age was 71.8 years (SD, 10.4; range 45–92), and the median arrival time to neurological evaluation after onset of symptoms was 3 hours (1st and 3rd quartiles: 2, 4). Seventy-nine patients (48.5%) had stenosis  $\geq 70\%$  without occlusion, and 84 patients (51%) had stenosis  $\geq 50\%$  to 69%. Demographic, clinical, and arterial variables are detailed in Table 1.

Major cardioembolic causes were detected in 25 patients (15.3%): atrial fibrillation (documented history or diagnosis during hospitalization, n=17); left ventricular ejection fraction <35% (n=5); valvular disease (n=1); severe anterior

**Table 1. Demographics, Vascular Risk Factors, and Clinical Variables in Relation to Recurrence**

	Total Cases, N=163 (%)	Recurrence, N=45 (%)	No Recurrence, N=118 (%)	<i>P</i>
Male	97 (59.5)	24 (53.3)	73 (61.9)	0.321
Arterial hypertension	119 (73)	33 (73.3)	86 (72.9)	0.954
Diabetes mellitus	63 (38.7)	22 (48.9)	41 (34.7)	0.097*
Hyperlipidemia	105 (64.4)	30 (66.7)	75 (63.6)	0.711
Current smoking	52 (31.9)	12 (26.7)	40 (33.9)	0.376
Heart ischemic disease	32 (19.6)	11 (24.4)	21 (17.8)	0.339
Peripheral arterial disease	23 (14.1)	5 (11.1)	18 (15.3)	0.497
Major cardioembolic cause	25 (15.3)	7 (15.6)	18 (15.3)	0.962
Antithrombotic pretreatment	60 (36.8)	17 (37.8)	43 (36.4)	0.874
Statin pretreatment	45 (27.6)	10 (22.2)	35 (29.7)	0.342
Symptomatic carotid stenosis $\geq 70\%$	79 (48.5)	29 (64.4)	50 (42.4)	0.012*
Contralateral carotid stenosis $\geq 50\%$	29 (17.8)	10 (22.2)	19 (16.1)	0.361
Intracranial ipsilateral stenosis	49 (30.1)	11 (24.4)	38 (32.2)	0.334
TIA as initial symptom	42 (25.8)	10 (22.2)	32 (27.1)	0.523
Previous TIA	29 (17.8)	12 (26.7)	17 (14.4)	0.067*

Univariate analysis. \*Selected for logistic regression analysis.

akinesia (n=1); and left ventricular aneurism with associated thrombus (n=1). We performed echocardiography in 126 patients (77.3%); of the 45 patients with NR, 36 (78%) had an echocardiography study performed.

### Neurological Recurrence

During the first two weeks after stroke onset, 45 patients (27.6%) presented with NR. The majority, 34 patients (20.9%), presented NR within the first 72 hours (progressive stroke/new stroke [n=28], new TIA [n=6]). Mean time of NR after admission in these patients was 17.7 hours  $\pm$  17.1. Twenty-six patients (16%) experienced NR in the first 24 hours after admission for stroke; 11 (6.7%) presented NR between 72 hours and 7 days, and 6 (3.7%) presented at 14 days, for a total of 51 NR (6 patients experienced 2 NR, in 2 different time periods). When patients who experienced a new TIA were excluded from the analysis, the NR rate of new stroke was 22.7% (37 patients); NR by time periods was 28 patients (17.2%) in the first 72 hours, 8 (4.9%) at 7 days, and 5 (3.1%) at 14 days.

The relationship between NR and the factors analyzed is shown in Table 1. Factors included in the multivariable analysis ( $P < 0.1$ ) were diabetes mellitus, carotid stenosis  $\geq 70\%$ , and previous TIA. NR rate increases with the degree of stenosis from 19.0% in patients with carotid stenosis (50% to 69%) to 36.7% of patients with stenosis  $\geq 70\%$  ( $P = 0.012$ ; OR=2.45). There was no association with age (mean, 71.2 vs 72;  $P = 0.419$ ) or initial severity (mean 2.8 vs 2.9;  $P = 0.832$ ). We did not detect any association between NR and thrombolytic treatment ( $P = 0.161$ ) or with stroke unit admission ( $P = 0.954$ ).

The multivariable analysis, detailed in Table 2, showed that only carotid stenosis  $\geq 70\%$  was associated with NR. Diabetes was marginally associated.

### Disability

At 2 weeks, 19 patients (11.7% of the entire cohort) had disability. Three patients did not experience NR. Of the 16 NR cases, 14 (87.5%) occurred in the first 72 hours and the remaining 2 occurred between 72 hours and 2 weeks of follow-up. Three patients died, with large new ischemic lesions.

### Discussion

It is well-known that the risk of recurrence after stroke or TIA has been traditionally underestimated.<sup>16</sup> Recent studies have shown a high recurrence risk in the first days after TIA or TIA and minor stroke.<sup>17</sup> However, few data are available concerning recurrence risk in patients with minor stroke, which generally includes early neurological deterioration,<sup>18,19</sup> a factor that may often reflect early recurrence. Moreover, no previous series to our knowledge specifically included patients in the first 6 hours from onset of symptoms. We sought to quantify how many patients with mild stroke or TIA and ipsilateral carotid disease experienced a recurrence in a hospital with a trained team of vascular neurologists following standard medical practice. We found a high NR rate of 27.6% (22.7% if recurrent TIA was excluded), mainly in the first 72 hours (only 9.8% of total NR were beyond the first 72 hours). Although there are no similar previously published series to compare with our results, a recent meta-analysis<sup>20</sup> showed a risk of stroke recurrence of 13.4%, and 17.3% at 30

**Table 2. Factors Analyzed With Neurological Recurrence in the Logistic Regression Model**

	<i>P</i>	OR	95% CI
Diabetes mellitus	0.052	2.06	0.99–4.27
Carotid stenosis $\geq 70\%$	0.018	2.44	1.16–5.13
Previous TIA	0.158	1.88	0.78–4.50

and 90 days, respectively. In 1 population-based study<sup>7</sup> of patients with TIA and minor stroke, the recurrence rate was 11.5% and 15%, respectively. At present, a high recurrence risk is widely accepted in stroke patients with large-artery atherosclerosis.<sup>8–10</sup> An article<sup>11</sup> focusing on patients with hemispheric TIA and carotid stenosis  $\geq 50\%$  reported a risk of stroke at 2 weeks of 21%, similar to that obtained in our series. Our results confirm the high risk of early NR in patients with SCS. In our center, all patients with carotid stenosis are admitted, independent of severity of initial symptoms, and we immediately start treatments and neurological and clinical monitoring. Recently, new evidence of benefits from starting urgent treatments (single or combined) in patients with TIA or mild stroke to prevent stroke recurrence has been published.<sup>21–23</sup> However, these studies were not focused on patients with carotid stenosis. We attribute the high figure observed in our series to 4 possible factors: (1) early evaluation after onset of symptoms; (2) the consideration of worsening of symptoms as an end point; (3) exhaustive neurological monitoring; and (4) the inclusion of consecutive patients, including those with concomitant causes of stroke, leading to the possibility that an embolic stroke could cause early recurrence in patients with associated cardiac sources of embolus. One noteworthy finding is the relationship between NR and the degree of carotid disease, especially in patients with stenosis  $\geq 70\%$  who presented with NR in 36.7% of cases. Other factors, such as TIA presentation, ipsilateral arterial disease, or contralateral carotid disease, were not associated with stroke recurrence, and diabetes was the only factor marginally associated. Diabetes mellitus is a relevant risk factor in cerebrovascular patients and its relationship with the risk of early recurrence has been previously described after a TIA,<sup>6</sup> but not in relation to a high risk of early recurrence in patients with carotid disease. We found a borderline statistical relationship, probably because of the small number of cases. With regard to outcome, we found that 11.7% of patients had disability/death at 15 days. Taking into account that all cases were in patients with initially mild stroke or TIA under exhaustive medical control, and were treated with current protocols, this is a considerably high rate. These data confirm the unresolved problem of current stroke management during the first days after onset of symptoms.

Acute medical options such as the combination of anti-aggregants, high-dose statins, clopidogrel dose-loading,<sup>24</sup> or other antithrombotics<sup>25</sup> might have a higher protective effect on NR in these patients. However, the consideration of urgent endovascular/surgical procedures (in the first hours) in cerebrovascular disease, clearly accepted in other vascular pathologies such as coronary disease, could be an interesting option to explore because only 2 patients experienced disabling NR beyond the first 72 hours after symptoms onset.

In conclusion, with current medical treatments, patients with first-ever mild stroke or TIA and SCS are at high risk for NR, especially within the first 72 hours. Our results suggest the necessity of testing pharmacological or interventional strategies for use during the hyperacute stroke phase in these patients.

## Acknowledgments

The authors appreciate the statistical support of Isaac Subirana, MSc. (Statistician, Unitat de Recerca de Lípids i Epidemiologia Cardiovascular, Institut Municipal d'Investigació Mèdica, Barcelona) and the careful review of English grammar and style by Elaine Lilly, PhD (Writer's First Aid).

## Sources of Funding

This study was funded in part by the Ministry of Health, Instituto de Salud Carlos III (Red HERACLES RD06/0009).

## Disclosures

None.

## References

1. North Am Symptomatic Carotid Endarterectomy Trialist's Collaborative group. The final results of the NASCET trial. *N Engl J Med*. 1998;339:1415–1425.
2. European Carotid Surgery Trialists' Collaborative Group. Randomised trial of endarterectomy for recently symptomatic carotid stenosis: final results of the MRC European Carotid Surgery Trial (ECST). *Lancet*. 1998;351:1379–1387.
3. Rothwell P, Eliasziw M, Gutnikov S, et al. Analysis of pooled data from the randomised controlled trials of endarterectomy for symptomatic carotid stenosis. *Lancet*. 2003;361:107–116.
4. Rothwell PM, Eliasziw M, Gutnikov SA, Warlow CP, Barnett HJM. Sex Difference in the Effect of Time From Symptoms to Surgery on Benefit From Carotid Endarterectomy for Transient Ischemic Attack and Non-disabling Stroke. *Stroke*. 2004;35:2855–2861.
5. Rantner B, Pavelka M, Posch L, Schmidauer C, Fraedrich G. Carotid endarterectomy after ischemic stroke—is there a justification for delayed surgery? *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2005;30:36–40.
6. Johnston SC, Gress DR, Browner WS, Sidney S. Short-term prognosis after emergency department diagnosis of TIA. *JAMA*. 2000;284:2901–2906.
7. Coull AJ, Lovett JK, Rothwell PM. Oxford Vascular Study. Population based study of early risk of stroke after transient ischaemic attack or minor stroke: implications for public education and organisation of services. *BMJ*. 2004;328:326–328.
8. Lovett JK, Coull AJ, Rothwell PM. Early risk of recurrence by subtype of ischemic stroke in population-based incidence studies. *Neurology*. 2004;62:569–573.
9. Moroney JT, Bagiella E, Paik MC, Sacco RL, Desmond DW. Risk Factors for Early Recurrence After Ischemic Stroke: The Role of Stroke Syndrome and Subtype. *Stroke*. 1998;29:2118–2124.
10. Purroy F, Montaner J, Molina CA, Delgado P, Ribo M, Álvarez-Sabín J. Patterns and Predictors of Early Risk of Recurrence After Transient Ischemic Attack With Respect to Etiologic Subtypes. *Stroke*. 2007;38:3225–3229.
11. Fairhead JF, Mehta Z, Rothwell PM. Population-based study of delays in carotid imaging and surgery and the risk of recurrent stroke. *Neurology*. 2005;65:371–375.
12. Lyden P, Brott T, Tilley B, Welch KM, Mascha EJ, Levine S, Haley EC, Grotta J, Marler J, for the NINDS t-PA Stroke Study Group. Improved reliability of the NIH Stroke Scale using video training. *Stroke*. 1994;25:2220–2226.
13. DeGraba TJ, Hallenbeck JM, Pettigrew KD, Dutka AJ, Kelly BJ. Progression in acute stroke: value of the initial NIH Stroke Scale score on patient stratification in future trials. *Stroke*. 1999;30:1208–1212.
14. Alexandrov AV, Neumyer MM. Diagnostic criteria for cerebrovascular ultrasound. In: Alexandrov AV, ed. *Cerebrovascular Ultrasound in Stroke Prevention and Treatment*. New York, NY: Blackwell Publishing; 2004:81–120.
15. Pearson TA, Blair SN, Daniels SR, Eckel RH, Fair JM, Fortmann SP, Franklin BA, Goldstein LB, Greenland P, Grundy SM, Hong Y, Miller NH, Lauer RM, Ockene IS, Sacco RL, Sallis JF, Smith SC Jr, Stone NJ Jr, Taubert KA. AHA Guidelines for Primary Prevention of Cardiovascular Disease and Stroke: 2002 Update: Consensus Panel Guide to Comprehensive Risk Reduction for Adult Patients Without Coronary or Other Atherosclerotic Vascular Diseases. *Circulation*. 2002;106:388–391.

16. Coull AJ, Rothwell PM. Underestimation of the Early Risk of Recurrent Stroke: Evidence of the Need for a Standard Definition. *Stroke*. 2004;35:1925–1929.
17. Ois A, Gomis M, Rodriguez-Campello A, Cuadrado-Godia E, Jimenez-Conde J, Pont-Sunyer C, Cuccurella G, Roquer J. Factors Associated with a High Risk of Recurrence in Patients With Transient Ischemic Attack or Minor Stroke. *Stroke*. 2008;39:1717–1721.
18. Weimar C, Miesck T, Buchthal J, Ehrenfeld CE, Scgmid E, Diener HC. German Stroke Study Collaboration. Neurologic worsening during the acute phase of ischemic stroke. *Arch Neurol*. 2005;62:393–397.
19. Ois A, Martinez-Rodriguez JE, Munteis E, Gomis M, Rodriguez-Campello A, Jimenez-Conde J, Cuadrado-Godia E, Roquer J. Steno-occlusive arterial disease and early neurological deterioration in acute ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis*. 2008;25:151–156.
20. Wu CM, McLaughlin K, Lorenzetti DL, Hill MD, Manns BJ, Ghali WA. Early risk of stroke after transient ischemic attack: A Systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med*. 2007;167:2417–2422.
21. Rothwell PM, Giles MF, Chandrathewa A, Marquardt L, Geraghty O, Redgrave JN, Lovelock CE, Binney LE, Bull LM, Cuthbertson FC, Welch SJ, Bosch S, Alexander FC, Silver LE, Gutnikov SA, Mehta Z. Early use of Existing Preventive Strategies for Stroke (EXPRESS) study. Effect of urgent treatment of transient ischaemic attack and minor stroke on early recurrent stroke (EXPRESS study): a prospective population-based sequential comparison. *Lancet*. 2007;370:1432–1442.
22. Giles MF, Rothwell PM. Risk of stroke early after transient ischaemic attack: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol*. 2007;6:1063–1072.
23. Lavalley PC, Meseguer E, Abboud H, Cabrejo L, Olivot JM, Simon O, Mazighi M, Nifle C, Niclot P, Lapergue B, Klein IF, Brochet E, Steg PG, Leseche G, Labreuche J, Touboul PJ, Amarenco P. A transient ischaemic attack clinic with round-the-clock access (SOS-TIA): feasibility and effects. *Lancet Neurol*. 2007;6:953–960.
24. Kennedy J, Hill MD, Ryckborst KJ, Eliasziw Michael, Demchuk AM, Buchan AM; for the FASTER Investigators. Fast assessment of stroke and transient ischaemic attack to prevent early recurrence (FASTER): a randomised controlled pilot trial. *Lancet Neurol*. 2007;6:961–969.
25. Abciximab in acute ischemic stroke: a randomized, double-blind, placebo- controlled, dose-escalation study. The Abciximab in Ischemic Stroke Investigators. *Stroke*. 2000;31:601–609.

**6.1.2. ARTICLE 2: Recurrent stroke in symptomatic carotid stenosis awaiting revascularisation - A pooled analysis. Johansson E, Cuadrado-Godia E, Hayden D, Bjellereup J, Ois A, Roquer J, Wester P, Kelly PJ. Neurology (In Press)**

Amb l'objectiu d'augmentar la mida mostral i la potència estadística per detectar variables predictores de recurrència es va dissenyar aquest treball. Es tracta d'un estudi multicèntric internacional que va incloure pacients de tres cohorts prospectives: la nostra cohort hospitalària Basicmar des de gener del 2005 fins a gener del 2013, la cohort hospitalària d'Umeå (Suècia) des d'agost del 2007 a desembre del 2009 i la cohort prospectiva de Dublín des de desembre del 2005 a març del 2012. D'un total de 607 pacients amb ACS es van seleccionar els pacients tributaris de revascularització. L'objectiu fou analitzar la taxa de recurrència abans de la revascularització o durant els primers 90 dies en aquells pacients que no van rebre el tractament, per negativa del pacient o per recurrència incapacitant. Seguint la metodologia dels assajos clínics només es va comptabilitzar la recurrència ipsolateral en forma d'ictus o RAO.

La cohort final fou de 377 pacients. El 69% foren homes i l'edat mitjana fou 71 anys (IQR 65-77). La taxa de tractament previ amb antitrombòtics i estatines fou 53% i 45% respectivament. A les 48h de l'ingrés el 91% dels pacients estaven tractats amb antitrombòtics, encara que només un 21% rebia teràpia dual antiagregant i entre un 64 i un 88% dels pacients estava tractat amb estatines. La taxa de revascularització precoç (<14 dies) fou del 54% a Dublín, del 24% a Umeå i del 16% a Barcelona (P<0.001).

La taxa de recurrència per períodes fou: 2,7% el primer dia, 6,6% el tercer dia, 11,5% als 14 dies i 18,8% als 90 dies. Aquestes xifres es doblaven si es tenien en compte els AIT i Afx com a recurrència. Un terç de les recurrències van ser discapacitants.



Els factors associats al risc de recurrència foren: dèficit cerebral vs.ocular (log-rank  $P=0,04$ ), tractament amb antitrombòtics durant les primeres 48h ( $P=0,02$ ), edat ( $P=0,08$ ) i antecedent de fibril·lació auricular (FA) ( $P=0,06$ ). No es van trobar diferències entre centres, gènere, grau d'estenosi o AIT previ. Al model multivariable només l'edat es va mantenir com a predictora independent de recurrència (HR ajustat per cada 10 anys d'increment 1,6 (IC 1,1-2,2,  $P=0,01$ ). No obstant això, els esdeveniments cerebrals *versus* els oculars van mostrar una tendència a l'associació (HR ajustat 2,7, IC 0,9-7,8,  $P=0,066$ ).

## **Recurrent stroke in symptomatic carotid stenosis awaiting revascularisation - A pooled analysis**

Elias Johansson (MD, PhD)<sup>1,2</sup>, Elisa Cuadrado-Godia (MD)<sup>3</sup>, Derek Hayden(MBBCh)<sup>4</sup>, Jakob Bjellerup (MD)<sup>1</sup>, Angel Ois(MD,PhD)<sup>3</sup>, Jaume Roquer(MD, PhD)<sup>3</sup>, Per Wester (MD, Professor)<sup>1</sup>, Peter J Kelly (MD)<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Department of Public Health and Clinical Medicine, Umeå Stroke Centre, Umeå University, Umeå, Sweden

<sup>2</sup> Department of Pharmacology and Clinical Neuroscience, Umeå University, Umeå, Sweden

<sup>3</sup> Department of Neurology, Neurovascular Research Group, IMIM-Hospital del Mar (Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques), Universitat Autònoma de Barcelona/DCEXS-Universitat Pompeu Fabra, Barcelona 08003, Spain

<sup>4</sup> Neurovascular Unit for Translational and Therapeutics Research, Mater University Hospital/Dublin Academic Medical Centre, Dublin Ireland

### **Corresponding author:**

Elisa Cuadrado-Godia

Department of Neurology, Neurovascular Research Group

IMIM-Hospital del Mar (Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques)

Universitat Autònoma de Barcelona/DCEXS-Universitat Pompeu Fabra,

Barcelona 08003, Spain

E-mail: [ecuadrado@hospitaldelmar.cat](mailto:ecuadrado@hospitaldelmar.cat)

Telephone: 0034-667564588

### Supplemental Data

Title length including spaces: 95

Tables: 1 + 6 supplemental

Figures: 3

Abstract word count: 219

Word count: 2771

References: 29

Statistical analysis was conducted by Elias Johansson, MD, PhD.

Search Terms: [ 2 ] All Cerebrovascular disease/Stroke, [ 12 ] Stroke prevention, carotid stenosis, carotid endarterectomy, stroke recurrence

**Author contributions:**

Elias Johansson: Wrote the first draft of the manuscript, performed the statistical analyses, initiated and co-designed the current pooled analysis, designed and gathered most data in the Umea center sub-study.

Elisa Cuadrado-Godia: Co-designed the current pooled analysis, gathered all data in the Barcelona center substudy, assembled the pooled database and contributed in the manuscript review.

Derek Hayden: Data collection, data management, reviewed and contributed to the manuscript

Jakob Bjellerup: Gathered data in the Umea center sub-study and contributed in the manuscript preparation

Angel Ois: Contributed in the study design and manuscript review

Jaume Roquer: Supervised the database from Barcelona center and helped in manuscript review.

Per Wester: Made constructive remarks on the manuscript, co-designed and supervised the Umea center sub-study.

Peter J Kelly: Designed, raised funding for, and supervised Dublin TIA and population studies, co-designed pooled analysis, data collection, data management, data analysis, reviewed and wrote the manuscript with Dr Johansson

**Funding:**

This study was supported by the Swedish Heart and Lung Foundation, the Swedish Stroke Foundation, the Northern Swedish Stroke Fund, the County of Västerbotten, and the medical faculty of Umeå University. Supported by Spain's Ministry of Health (Ministerio de Sanidad y Consumo, Instituto de Salud Carlos III), FEDER, RD12/0042/0020 and by the Health Research Board of Ireland, and Irish Heart Foundation.

**Disclosures:**

Dr Elias Johansson reports no disclosures.

Dr Elisa Cuadrado-Godia reports no disclosures.

Dr Derek Hayden reports no disclosures.

Dr Jakob Bjellerup reports no disclosures.

Dr Angel Ois reports no disclosures.

Dr Jaume Roquer reports no disclosures.

Dr Per Wester reports no disclosures.

Dr Peter J Kelly reports no disclosures.

## Abstract

**Objective:** We aimed to quantify the risk and predictors of ipsilateral ischemic stroke in patients with symptomatic carotid stenosis awaiting revascularisation (CEA or stenting [CAS]) by pooling individual patient data from recent prospective studies with high rates of treatment with modern stroke prevention medications.

**Methods:** Data were included from 2 prospective hospital-based registries (Umea, Barcelona) and one prospective population-based study (Dublin). Patients with symptomatic 50-99% carotid stenosis eligible for carotid revascularisation were included and followed for early recurrent ipsilateral stroke or retinal artery occlusion (RAO).

**Results:** Of 607 patients with symptomatic 50-99% carotid stenosis, 377 met pre-specified inclusion criteria. Ipsilateral recurrent ischemic stroke/RAO risk pre-revascularisation was 2.7% (1-day), 5.3% (3-day), 11.5% (14-day), and 18.8% (90-day). On bivariate analysis, presentation with a cerebral versus ocular event was associated with higher recurrent stroke risk (log-rank  $p=0.04$ ). On multivariable Cox regression, recurrence was associated with older age (adjusted hazard ratio [HR] per 10-year increase 1.5,  $p=0.02$ ) with a strong trend for association with cerebral (stroke/TIA) versus ocular symptoms (adjusted HR 2.7,  $p=0.06$ ), but not degree of stenosis, smoking, vascular risk factors, or medications.

**Conclusions:** We found high risk of recurrent ipsilateral ischemic events within the 14-day time-period currently-recommended for CEA. Randomised trials are needed to determine the benefits and safety of urgent versus sub-acute carotid revascularisation within 14 days after symptom onset.

## **Introduction**

Pooled analysis of randomised clinical trials of CEA for symptomatic carotid stenosis have demonstrated that maximal benefit is obtained when revascularisation is performed within two weeks after randomisation, leading to guidelines recommending early surgery [1-3]. However, the optimal timing of carotid revascularisation within the first two weeks is unresolved with two large studies (each including >2500 operations) reporting an increased periprocedural risk of stroke and death in patients undergoing very early CEA [4-5]. Moreover, despite advances in stroke prevention therapeutics the risk of early recurrent stroke in medically-treated patients with carotid stenosis is also substantial [6-10]. We and others have reported high risk of ipsilateral recurrent stroke (between 4.0-17.2%) within 48-72 hours after symptom onset [6-10]. While providing valuable information, earlier studies have been limited by inclusion of patients ineligible for carotid revascularisation and relatively small sample sizes, leading to imprecision and wide confidence intervals around the point estimates of recurrent stroke risk, and insufficient statistical power for analysis of determinants of early stroke recurrence. To improve identification of patients at highest risk of early recurrent stroke who might benefit from urgent carotid revascularisation, larger studies providing accurate estimates of early stroke risk in patients deemed eligible for CEA or CAS are needed.

We aimed to determine the risk and predictors of major pre-procedural ipsilateral ischemic events (stroke and RAO) among patients with symptomatic 50-99% carotid stenosis eligible for CEA/CAS by pooling individual patient data from three recent prospective studies with high rates of treatment with modern stroke prevention medications.

## **Methods**

We pooled individual patient data from prospective cohort studies from three European centres, each previously-described [6-8]. Two centres (Umea, Sweden and Barcelona, Spain) provided data from prospective hospital-based registries serving local communities and regional hospitals. One centre (Dublin, Ireland) provided data from a 2006 population-based study (including all unselected community- and hospital-based patients) and a later (2007-2011) prospective hospital-based study of blood and imaging biomarkers which included patients with TIA or minor stroke (modified Rankin score 0-2). Detailed centre descriptions are presented in supplemental table 1.

Demographic and clinical parameters, medical treatments, time between presenting event and CEA/CAS and early recurrent events were compared and pooled in a single database (Table 1 and Web-Supplement).

Inclusion criteria were: (1) Symptomatic 50-99% carotid stenosis; (2) Symptom onset (cerebral or retinal ischemic event) within 6 months of first health care contact (3) Patient deemed eligible for CEA/CAS in the opinion of the treating clinicians. Eligibility for CEA/CAS was defined as: (1) completion of CEA or CAS; (2) non-completion of a planned CEA/CAS due to a disabling or fatal recurrent stroke while awaiting revascularisation; (3) patient refusal to proceed with CEA/CAS recommended by treating clinicians.

Exclusion criteria were: (1) Ineligibility for CEA/CAS in the opinion of the treating clinician, for reasons such as low likelihood of benefit, high periprocedural risk or comorbidities, or technical difficulties; (2) As we aimed to analyse the risk of ischaemic events prior to planned

revascularisation, patients with CEA/CAS performed within 24 hours of the presenting stroke/TIA were excluded (Figure 1).

### **Definitions**

The presenting event was defined as the last event before the patient first sought medical attention, classified as either ischaemic stroke (according to WHO definition, with haemorrhagic stroke or stroke mimic excluded by brain imaging), TIA (transient neurological symptoms due to cerebral ischaemia lasting less than 24 hours), retinal artery occlusion (RAO, retinal ischaemic event lasting longer than 24 hours) or amaurosis fugax (retinal ischaemic event lasting less than 24 hours). The traditional (time-based) definition of TIA was used to allow standardised comparisons across included studies.

Carotid stenosis was defined as 50-99% lumen narrowing, using the NASCET criteria applied by the reporting radiologist at each centre, based on ultrasound, computed tomography angiography (CTA), magnetic resonance angiography (MRA) with either contrast or with time-of-flight sequences and/or conventional angiography [1, 12,13].

The primary endpoint was pre-specified as an ipsilateral ischemic stroke or RAO to allow comparison with the endpoint used in pooled analysis of large randomized trials by the Carotid Endarterectomy Trialists Collaboration [1]. Secondary endpoints were (1) disabling or fatal ipsilateral ischemic stroke, (2) any ischemic stroke or retinal artery occlusion and (3) any ipsilateral ischaemic event (stroke, RAO, TIA, amaurosis fugax). For all endpoints, only ischemic events that occurred after the presenting event but before planned CEA/CAS were counted. Disabling/fatal ipsilateral ischemic stroke was defined as mRS 3-6 at follow-up, consistent with Carotid Endarterectomy Trialists Collaboration criteria [14]. In all three

centres, patients with atrial fibrillation and ischaemic stroke or TIA confined to the territory of an ipsilateral 50-99% carotid stenosis were considered for revascularisation.

**Follow-up:**

Follow-up for outcome stroke and ischaemic events was performed at 1, 2, 3, 7, 14, 30 and 90 days after the presenting event. Data relating to recurrent stroke severity were ascertained at 90 days or at one year depending on centre. Follow-up assessments were performed prospectively by in-person and/or telephone interview by trained study personnel, and verified by stroke clinicians by in-person reviews supplemented by review of the medical files. Two patients (0.5%) presented to medical attention later than 90 days after their presenting event but within 6 months. For these patients, follow-up for recurrent stroke/RAO within 90 days within the presenting event was completed when they sought health care per our pre-specified inclusion criteria, by retrospective review of medical files.

**Statistical Analysis:**

The risk of ipsilateral ischemic stroke recurrence after the presenting event was calculated using time-to-event survival analysis, with Kaplan-Meier curves and censoring for outcome events or CEA/CAS. Bivariate comparisons of the 90-day risk of the primary endpoint among subgroups were compared using the log rank test.

To examine the relationship between clinically-relevant co-variates and pre-procedural recurrent stroke, we performed backward stepwise multivariable Cox-regression analysis, after first verifying adherence to the underlying assumptions required for Cox regression modelling (see web supplement). After first determining the unadjusted hazard ratio (HR) for all co-variates, we then produced 2 models: (1) HRs for all co-variates adjusted for age, sex



and study centre; (2) HR adjusted for multiple co-variates, where all 14 co-variates were initially entered into the model and the variable with the highest p-value was then removed in a step-wise fashion until all remaining parameters had a p-value of <0.10.

We used the 2-sided  $\chi^2$ -test for comparison of proportions. Non-parametric continuous variables are presented with median and intra-quartile range (IQR) and were analysed with Kruskal-Wallis test. A p-value of <0.05 was set as threshold for statistical significance. We used SPSS 22.0 statistical software.

### **Standard Protocol Approvals, Registrations and Patient Consents**

The study was approved in each centre by the local ethical committee.

## **Results**

### **Clinical characteristics:**

A total of 607 patients with symptomatic carotid stenosis were ascertained in the three centres. Of these, 227 (37%) were ineligible for revascularisation and 3 (0.5%) underwent CAS within 24 hours and were excluded. Reasons for ineligibility are described in Figure 1. For 67 patients (11%) the reason for not proceeding with CEA/CAS could not be determined due to inadequate documentation. In total, 377 patients met our pre-specified criteria and were included in the pooled analysis. Of these, 259 (69%) were men and the median age was 71 (IQR 65-77) years. Clinical characteristics are described in Table 1 and Table e-1 in the Web-supplement .

Within 48 hours, 329 (91%) patients were treated with antithrombotic medication (200 [61%] antiplatelet monotherapy; 69 [21%] dual anti-platelet therapy; 60 [18%] anti-coagulant therapy). Fewer patients in Umea were treated with early statins (64% v 77% v 81%,  $p=0.001$ ). Fifty-four per cent of Dublin patients had revascularisation within 14 days of symptom onset, compared with 24% (Umea) and 16% (Barcelona) ( $p<0.001$ ). CAS was used more frequently in Dublin (20%) than Umea (1%) or Barcelona (12%) ( $p<0.001$ ) (Table e-2).

### **Recurrent stroke before CEA/CAS:**

Fifty-one patients suffered a recurrent ipsilateral ischemic stroke or RAO within 90 days of the presenting event. Across all 3 centres, the pooled risk of recurrent ipsilateral ischemic stroke or RAO was 2.7% at 1 day, 6.6% at 3 days, 11.5% at 14 days, and 18.8% at 90 days (Figure 2 and Table e-3). Recurrent stroke was the most frequent outcome event (47/51 patients, 92%). Disabling or fatal recurrent stroke occurred in 31% (16/51) of these, with fatal stroke in 6 patients (Table e-3).

In addition to the 51 patients that suffered a recurrent ipsilateral ischemic stroke or RAO, three patients had contralateral ischemic stroke/RAO, all later than 14 days after the presenting event.

The risk of any ipsilateral ischaemic recurrent event (stroke, RAO, TIA or amaurosis fugax) was approximately double that of ipsilateral ischemic stroke/RAO at each time-interval (Table e-3). Data on atrial fibrillation status was available for 48/51 patients with recurrent stroke. Of these 8/48 (16.7%) had atrial fibrillation.

### **Factors associated with early recurrence:**

On bivariate Kaplan-Meier analysis, the risk of early recurrent ipsilateral ischemic stroke/RAO was increased for patients presenting with cerebral (stroke/TIA) compared with ocular (amaurosis/RAO) events (log-rank  $p=0.04$ ), and with early antiplatelet/anticoagulant medication use ( $p=0.02$ ); with statistical trends towards increased risk with increasing age ( $p=0.08$ ) and atrial fibrillation ( $p=0.06$ ) (Figure 3). No difference in risk was observed for study centre (Table e-4), gender, degree of ipsilateral stenosis, or earlier TIA/stroke within 7 days before the presenting event.

In a model adjusting for age, gender and study centre, only age (adjusted HR for each 10-year age increase 1.6, CI 1.1-2.2;  $p=0.01$ ) was associated with 90-day stroke recurrence, with a trend observed for presentation with a cerebral event (stroke/TIA) (adjusted HR 2.7, CI 0.9-7.8;  $p=0.066$ ). On backward step-wise Cox regression, after insertion and sequential removal of non-significant potential confounding variables, our results were unchanged (adjusted HR for each 10-year age increase 1.5, CI 1.1-2.2;  $p=0.02$ , adjusted HR for presentation with cerebral versus ocular event 2.7, CI 0.95-7.3;  $p=0.064$ ) (Table e-5).

### **Discussion:**

The main finding of our study is the quantification of the risk of ipsilateral stroke and other ischemic events during very early time-intervals after initial symptom onset in pooled recent cohort studies of patients with carotid stenosis with high rates of treatment with modern stroke prevention medications. Our relatively large sample size provides greater precision around the point-estimates of stroke risk at each time-interval compared with earlier studies. We found very high risk of recurrent events within the first days after first symptomatic medical presentation. At 3 days, the risk of recurrent stroke was 6.6% and that of any ischemic cerebral or ocular event was 14.6%. Within the first 14 days (the currently-

recommended time-interval for CEA), the risk of recurrent stroke was 11.5% and that of any ischemic recurrent event was almost 24%. By 90 days, these risks had near-doubled to almost 20% and 40% respectively. These recurrent events had significant impact upon individual patients, with one-third of recurrent strokes resulting in death or disability on follow-up assessment.

Other observational studies have reported high risk (4.0-17.2%) of early stroke recurrence after TIA and ischemic stroke, with highest risk described in population-based studies with in-person follow-up [6-11]. In rigorous population-based studies, we and others have also reported greater early recurrent stroke risk in patients with TIA and stroke caused by carotid stenosis compared with cardio-embolic, small vessel, or other stroke mechanisms [7, 15]. However, earlier reports have either included unselected patients with all stroke mechanisms or unselected patients with carotid stenosis/occlusion, many of whom are unsuitable for CEA/CAS due to disabling stroke or medical co-morbidity [7, 10]. By contrast, in our pooled analysis, we analysed early recurrence risk only in patients with recently-symptomatic carotid stenosis deemed eligible for carotid revascularisation, which is of proven benefit in randomised clinical trials [1]. Imaging studies using transcranial Doppler ultrasound [16] and positron emission tomography [17] suggest that early recurrent ischemic events are related to frequent platelet-rich emboli associated with unstable inflammatory or ulcerated carotid plaque, or to impaired cerebral haemodynamic reserve in patients with near-occlusive carotid atherosclerosis [18].

After adjusting for other variables, we found that greater age was independently associated with early recurrent stroke, with a strong statistical trend for the association between stroke risk and presentation with an initial cerebral rather than ocular ischemic event. In pooled

analysis of aspirin-treated patients in the medical arms of randomised trials, the Carotid Endarterectomy Trialists Collaboration found that 5-year ipsilateral stroke risk increased in a linear fashion with age and was approximately doubled in patients whose initial (qualifying) event was a cerebral infarct compared to ocular ischemia [1]. We found no relationship between gender and early recurrent stroke risk, unlike medically-treated patients in randomised trials where a strong trend towards greater late stroke risk in men was observed [19]. We also found a statistical trend for the association between atrial fibrillation and stroke risk, suggesting a role for early stroke prophylaxis in patients with atrial fibrillation and ipsilateral carotid stenosis. On adjusted analyses, we did not observe relationships between diabetes, smoking, vascular risk factors or other medication and early recurrence. Overall, our findings are remarkably consistent with those for late stroke outcome in earlier randomised trials, despite high rates of immediate antiplatelet and statin treatment in our study. This similarity also extends to the severity of the recurrent events [14].

Strengths of our analysis include a relatively large sample of patients treated with current medical therapy, prospective design of included studies, standardised 'hard' primary outcome definitions (recurrent stroke rather than symptom progression or TIA), and inclusion only of patients eligible for CEA/CAS. However, we acknowledge some limitations. As the data were derived from independent studies performed at 3 centres, a pre-defined multi-centre protocol was not used and data were not available for all potentially-informative variables (eg. patients with high intensity statin treatment, intracranial stenosis). Categorisation of patients with severe stenosis according to the degree of distal lumen diameter reduction was not standardised across centres [20]. Therefore, patients with near-occlusion were included with those with severe stenosis in our study. Assessment of carotid stenosis was based on the opinion of the treating radiologist at each centre using different imaging techniques and not

centrally-assessed. Treatment administered does not represent optimal medical therapy since 1/3 of patients did not receive early statin treatment. Although key clinical and treatment parameters were captured, we cannot fully exclude the possibility that international differences in health systems or referral patterns may have introduced undetected between-centre variation. While larger than earlier studies, we may have lacked statistical power for the detection of modest associations between candidate predictor variables and recurrent stroke.

Our findings further support the hypothesis that urgent intensive treatment may decrease stroke risk in patients with symptomatic carotid stenosis. In clinical trials, maximal benefit was observed in patients who underwent CEA within 14 days of randomisation [1, 19]. Although most guidelines currently recommend CEA within 2 weeks of symptom onset, this goal is frequently not met in routine practice [10, 21, 22]. In our study, despite patients deemed suitable for CEA, the rate of revascularisation within 14 days varied from 16-54% across centres.

As our studies included patients treated in the years shortly after updates of guidelines to recommend early CEA in symptomatic patients, it is possible that these differing rates may be partly-explained by variation in early implementation of new guidelines across study centres. Other studies from North America and Europe have reported similar low rates of early CEA in symptomatic patients [21, 22]. Some recent guidelines and experts have recommended CEA within 48 hours of initial symptoms, informed by post-hoc analyses from randomised trials suggesting that urgent surgery might provide net benefit despite increased perioperative risk [23, 24]. However, the net benefit of urgent surgery remains unclear as newer antiplatelet agents and statins were unavailable in the medical comparison arms of earlier trials and high

rates of perioperative stroke and death have been reported with urgent CEA [1,4,5]. For example, a large Swedish registry reported a stroke/death rate of 11.5% in patients who had CEA within 2 days, while a systematic review reported stroke/death rates of 11.4% for patients who had emergency CEA for crescendo TIA and 20.2% for stroke-in-evolution [4, 25].

Improvements in urgent medical therapy since earlier randomised trials may also provide benefit. A recent population-based study reported a 10-fold decrease in recurrent ischemic events, with no recurrent strokes, in patients awaiting CEA after introduction of urgent high-dose dual clopidogrel/aspirin and statin therapy, consistent with findings from the CARESS study and CHANCE trial [26-28]. As with our study, we caution that many of these studies were non-randomised and that undetected bias which might partly explain their results cannot be fully excluded. Randomised clinical trials comparing current medical treatment to early CEA/CAS in moderate-risk patients are under way [29]. Further randomised trials in symptomatic patients comparing urgent medical treatment, urgent CEA within 48-72 hours, and early CEA in the 3-14 day time-window are required.

### **Acknowledgements**

This study was supported by the Swedish Heart and Lung Foundation, the Swedish Stroke Foundation, the Northern Swedish Stroke Fund, the County of Västerbotten, and the medical faculty of Umeå University. Supported by Spain's Ministry of Health (Ministerio de Sanidad

y Consumo, Instituto de Salud Carlos III), FEDER, RD12/0042/0020 and by the Health Research Board of Ireland, and Irish Heart Foundation.



## References

- 1 Rothwell PM, Eliasziw M, Gutnikov SA, Warlow CP, Barnett HJM. Endarterectomy for symptomatic carotid stenosis in relation to clinical subgroups and timing of surgery. *Lancet* 2004;363:915–924.
- 2 Ringleb PA, Bousser MG, Ford G, et al, for the The European Stroke Organization (ESO) Executive Committee and the ESO Writing Committee. Guidelines for Management of Ischaemic Stroke and Transient Ischaemic Attack 2008. Available at: <http://www.eso-stroke.org/> Accessed January 30, 2015.
- 3 Furie KL, Kasner SE, Adams RJ, et al, on behalf of the American Heart Association Stroke Council, Council on Cardiovascular Nursing, Council on Clinical Cardiology, and Interdisciplinary Council on Quality of Care and Outcomes Research. Guidelines for the Prevention of Stroke in Patients With Stroke or Transient Ischemic Attack: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 2011; 42:227-276.
- 4 Strömberg S, Gelin J, Osterberg T, Bergström GM, Karlström L, Osterberg K; Swedish Vascular Registry (Swedvasc) Steering Committee. Very Urgent Carotid Endarterectomy Confers Increased Procedural Risk. *Stroke* 2012;43:1331-1335.
- 5 Goodney PP, Likosky DS, Cronenwett JL. Factors associated with stroke or death after carotid endarterectomy in Northern New England. *J Vasc Surg* 2008;48:1139-1145.
- 6 Ois A, Cuadrado-Godia E, Rodríguez-Campello A, Jimenez-Conde J, Roquer J. High Risk of Early Neurological Recurrence in Symptomatic Carotid Stenosis. *Stroke* 2009;40:2727–2731.
- 7 Marnane M, Ni Chroinin D, Callaly E et al. Stroke recurrence within the time window recommended for carotid endarterectomy. *Neurology* 2011; 77:738–743.
- 8 Johansson EP, Arnerlöf C, Wester P. Risk of recurrent stroke before carotid endarterectomy: The ANSYSCAP study. *Int J Stroke* 2013; 8:220-227.
- 9 Mono ML, Steiger I, Findling O, et al. Risk of very early recurrent cerebrovascular events in symptomatic carotid artery stenosis. *J Neurosurg* 2013;119:1620-1626.
- 10 Fairhead JF, Mehta Z, Rothwell PM. Population-based study of delays in carotid imaging and surgery and the risk of recurrent stroke. *Neurology* 2005;65:371–375.
- 11 Giles MF, Rothwell PM. Risk of stroke early after transient ischaemic attack: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol* 2007; **6**: 1063–72
12. Hansen F, Bergqvist D, Lindblad B, Lindh M, Mätzsch T, Länne T. Accuracy of Duplex Sonography before Carotid Endarterectomy – A Comparison with Angiography. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1996; 12:331–336.

- 13 Alexandrov AV, Neumyer MM. Diagnostic criteria for cerebrovascular ultrasound. In: Alexandrov AV, ed. *Cerebrovascular Ultrasound in Stroke Prevention and Treatment*. New York, NY: Blackwell Publishing; 2004:81–120.
- 14 Rothwell PM, Eliasziw M, Gutnikov SA, Fox AJ, Taylor DW, Warlow CP, Barnett HJM, for the Endarterectomy Trialists' Collaboration. Analysis of pooled data from the randomised controlled trials of endarterectomy for symptomatic carotid stenosis. *Lancet* 2003;361:107-116.
- 15 Lovett JK, Coull AJ, Rothwell PM. Early risk of recurrence by subtype of ischemic stroke in population-based incidence studies. *Neurology* 2004; 62: 569-573.
- 16 Topakian R, King A, Kwon SU, Schaafsma A, Shipley M, Markus HS; ACES Investigators. Ultrasonic plaque echolucency and emboli signals predict stroke in asymptomatic carotid stenosis. *Neurology* 2011;77:751-758.
- 17 Marnane M, Merwick A, Sheehan OC, Hannon N, Foran P, Grant T, Dolan E, Moroney J, Murphy S, O'Rourke K, O'Malley K, O'Donohoe M, McDonnell C, Noone I, Barry M, Crowe M, Kavanagh E, O'Connell M, Kelly PJ. Carotid plaque inflammation on (18) F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography predicts early stroke recurrence. *Ann Neurol* 2012; 71:709-718.
- 18 Blaser T, Hoffman K, Buerger T, Effenberger O, Wallesch CW, Goertler M. Risk of stroke, transient ischemic attack, and vessel occlusion before endarterectomy in patients with symptomatic severe carotid stenosis. *Stroke* 2002;33:1057-1062.
- 19 Rothwell PM, Eliasziw M, Gutnikov SA, Warlow CP, Barnett HJM. Sex Difference in the Effect of Time From Symptoms to Surgery on Benefit From Carotid Endarterectomy for Transient Ischemic Attack and Nondisabling Stroke. *Stroke* 2004;35:2855-2861.
20. Johansson E, Öhman K, Wester P. Symptomatic carotid near-occlusion with full collapse might cause a very high risk of stroke. *J Intern Med* 2015;277:615-623.
- 21 Scholte op Reimer WJ, Dippel DW, Franke CL, van Oostenbrugge RJ, de Jong G, Hoeks S, Simoons ML. Quality of hospital and outpatient care after stroke or transient ischemic attack: insights from a stroke survey in the Netherlands. *Stroke* 2006;37:1844-1849.
- 22 Poisson SN, Johnston SC, Sidney S, Klingman J, Nguyen-Huynh MN. Gender Differences in Treatment of Severe Carotid Stenosis After Transient Ischemic Attack. *Stroke* 2010;41:1891-1895
- 23 UK Department of Health. The national stroke strategy. Available at: <http://clahrc-gm.nihr.ac.uk/cms/wp-content/uploads/DoH-National-Stroke-Strategy-2007.pdf>. Accessed February 5 2015

24 Naylor AR. Delay may reduce procedural risk but at what price to the patient? *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2008;35:383-391.

25 Rerkasem K, Rothwell PM. Systematic Review of the Operative Risks of Carotid Endarterectomy for Recently Symptomatic Stenosis in Relation to the Timing of Surgery. *Stroke* 2009;40:e564–572.

26 Shahidi S, Owen-Falkenberg A, Hjerpsted U, Rai A, Elleman K. Urgent best medical therapy may obviate the need for urgent surgery in patients with symptomatic carotid stenosis. *Stroke* 2013;44:2220-25

27 Markus HS, Droste DW, Kaps M, et al. Dual Antiplatelet Therapy With Clopidogrel and Aspirin in Symptomatic Carotid Stenosis Evaluated Using Doppler Embolic Signal Detection The Clopidogrel and Aspirin for Reduction of Emboli in Symptomatic Carotid Stenosis (CARESS) Trial. *Circulation* 2005;111:2233-2240

28 Wang Y, Wang Y, Zhao X, et al; CHANCE Investigators. Clopidogrel with aspirin in acute minor stroke or transient ischemic attack. *N Engl J Med* 2013;369:11-19.

29 The ECST 2-study. <http://s489637516.websitehome.co.uk/ECST2/index2.htm> Accessed January 30, 2015.

Table 1.

		Umeå <i>n</i> =198	Dublin <i>n</i> =82	Barcelona <i>n</i> =97	p
Men <i>n</i> (%)		134 (68)	57 (70)	68 (70)	0.90
Age median (IQR)		71 (65-77)	71 (55-78)	71 (64-77)	0.91
Ipsilateral stenosis	50-69% <i>n</i> (%)	35 (18)	10 (12)	6 (6)	0.02
	70-99% <i>n</i> (%)	163 (82)	72 (88)	91 (94)	
Contralateral stenosis†	0-49% <i>n</i> (%)	136 (69)	49 (61)	63 (65)	0.56
	50-99% <i>n</i> (%)	55 (28)	29 (36)	28 (29)	
	100% <i>n</i> (%)	7 (4)	3 (4)	6 (6)	
Type of presenting event	Stroke <i>n</i> (%)	79 (40)	39 (48)	59 (61)	<0.001
	RAO <i>n</i> (%)	11 (6)	0 (0)	0 (0)	
	TIA <i>n</i> (%)	59 (30)	41 (50)	34 (35)	
	Amaurosis fugax <i>n</i> (%)	49 (25)	2 (2)	4(4)	
Ipsilateral ischemic event <7 days of presentation <i>n</i> (%)		43 (22)	8 (10)	16 (16)	0.06
Ischemic heart disease† <i>n</i> (%)		57 (29)	29 (38)	17 (18)	0.01
Prior stroke (>6 months ago) <i>n</i> (%)		34 (17)	7 (9)	14 (14)	0.19
Hypertension† <i>n</i> (%)		184 (93)	71 (95)	75 (77)	<0.001
Diabetes <i>n</i> (%)		51 (26)	10 (13)	41 (42)	<0.001
Current smoking <i>n</i> (%)††		32 (17)	31 (40)	43 (45)	<0.001
Atrial fibrillation or flutter <i>n</i> (%)††		14 (7)	15 (19)	9 (9)	0.01
Total Cholesterol mmol/l (median,IQR) ††		4.6 (3.9-	4.5 (3.5-	4.3 (3.4-	0.14

	5.3)	5.7)	5.2)	
Low Density Lipoprotein mmol/l (median,IQR) †††	2.4 (2.0- 3.2)	2.7 (2.0- 3.5)	2.6 (1.7- 3.3)	0.83

**Table 1 Legend:** Ischemic heart disease defined as myocardial infarction and/or angina.

Hypertension defined as blood pressure >140/90 and/or use of blood pressure medication.

†Missing data for ≤1% of patients, †† Missing data for 2-7% of patients, ††† Missing data for 20% of patients

## Tables

**Table 1 title:** Baseline features, grouped by study centre

## Figure legends

**Figure 1:** Study flow chart

**Figure 2:** Title: Kaplan-Meier analysis of the main outcomes.

Legend: Kaplan-Meier analysis of the risk of recurrent ipsilateral ischemic stroke or RAO within 90 days of the presenting event, prior to CEA/CAS. (CEA/CAS was used as censoring event).

**Figure 3:** Title: Risk of ipsilateral stroke/ RAO within 2, 7, 14 and 90 days

Legend: The risk of ipsilateral ischemic stroke or RAO within 2, 7, 14 and 90 days after the presenting event in subgroups. Data derived from Kaplan-Meier analysis using CEA/CAS as censor. Error bars denotes 95% confidence interval., p-values are derived by log rank tests.

Event within 7 days before: Ipsilateral ischemic event within 7 days before the presenting event. Hypertension: Blood-pressure >140/90 and/or use of blood pressure lowering medication. AP/AC-med: Anti-platelet or anti-coagulant medication. BP-med: Blood Pressure reducing medication. At 2 days (for medication): Use of medication at 2 days after seeking medical attention

## 6.2. OBJECTIU 2

### 6.2.1. ARTICLE 3: Factors associated with early outcome in patients with large-vessel carotid strokes. Cuadrado-Godia E, Jimena S, Ois A, Rodríguez-Campello A, Giralt-Steinhauer E, Soriano-Tarraga C, Jiménez-Conde J, Martínez-Rodríguez JE, Capellades J, Roquer J. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2013 Mar;84(3):305

L'objectiu d'aquest estudi és descriure la severitat inicial i la taxa de DNP de l'ACS simptomàtica, incloent-hi les oclusions, i analitzar variables predictores de major severitat i risc de DNP.

Per aquest treball es van seleccionar tots els ictus/AIT amb temps d'evolució  $\leq 24$ h des de gener del 2003 fins a gener del 2012. De 2.332 pacients, 422 presentaven ACS. Després d'excloure pacients amb altres causes embòliques (N=82) i pacients amb altres malalties carotídies no arterioscleròtiques (N=12), la cohort final fou de 338 pacients, dels quals 107 (31,7%) tenien una EC moderada del 50-69%, 135 (39,9%) una EC del 70-99% i 96 (28,4%) eren oclusions completes. La proporció d'homes fou 67,8% i l'edat mitjana 70 anys. La proporció de tractament previ antiagregant i amb estatines va ser del 30%.

La severitat global de la cohort fou baixa, mediana (q25-q75): 4 (1-7,25). Per categories, 254 pacients (75,1%) tenien una severitat lleu (NIHSS $\leq 7$ ), 53 (15,7%) moderada (NIHSS 8-14) i 31 (9,2%) alta (NIHSS  $> 14$ ). Un total de 96 (28,4%) van ser AIT. Com era esperable, els ictus més severs tenien un pitjor pronòstic als 3 mesos (P $< 0,001$ ).

L'anàlisi bivariàble va mostrar una associació amb major severitat del grau d'EC (P $< 0,001$ ), la glicèmia inicial (P $< 0,001$ ) i l'existència d'una estenosi intracranial  $\geq 50\%$

( $P < 0,001$ ). L'antecedent d'AIT previ s'associava a una menor severitat ( $P < 0,007$ ). A l'anàlisi multivariable totes les variables es van mantenir independentment associades. Les OR ajustades (95% IC) foren: grau d'EC (referència 50-69%) [OR: 2,20 (IC: 1,55-3,11),  $P < 0,0001$ ]; estenosi intracranial [OR: 1,93 (IC: 1,18-3,17),  $P < 0,0001$ ]; glicèmia inicial [OR: 1,13 (IC: 1,06-1,21),  $P > 0,001$ ] per cada increment d'un mmol/L; i AIT previ [OR: 0,37 (IC: 0,17-0,82),  $P < 0,014$ ].

Setanta-vuit pacients (23,1%) van patir DNP, dels quals 56 (71%) dintre de les primeres 24 h. El tipus d'DNP fou un ictus progressiu en 48 pacients i una recurrència en 30 pacients (14 AIT i 16 ictus). Els pacients amb DNP també tenien un pitjor pronòstic als 3 mesos ( $P < 0,001$ ). A l'anàlisi bivariàble el risc de DNP es va associar amb el grau d'EC ( $P = 0,005$ ), la TAM inicial ( $P = 0,003$ ), l'antecedent d'AIT previ ( $P = 0,040$ ), l'ús previ d'antiagregants ( $P = 0,025$ ), l'ús previ d'estatines ( $P = 0,092$ ) i la severitat inicial ( $P = 0,079$ ). A l'anàlisi multivariable el grau d'EC (referència 50-69%) [OR: 1,64 (IC: 1,14-2,34),  $P < 0,007$ ], l'AIT previ [OR: 2,40 (IC: 1,25-4,57),  $P < 0,008$ ] i la TAM inicial [OR: 1,02 (IC: 1,01-1,04),  $P < 0,002$ ] per cada mmHg, es van mantenir independentment associat amb el risc de DNP.



## RESEARCH PAPER

# Factors associated with early outcome in patients with large-vessel carotid strokes

Elisa Cuadrado-Godia,<sup>1,2</sup> Sara Jimena,<sup>1,2</sup> Angel Ois,<sup>1,2</sup> Ana Rodríguez-Campello,<sup>1,2</sup> Eva Giralt-Steinhauer,<sup>1,2</sup> Carol Soriano-Tarraga,<sup>2</sup> Jordi Jiménez-Conde,<sup>1,2</sup> José Enrique Martínez-Rodríguez,<sup>1,2</sup> Jaume Capellades,<sup>3</sup> Jaume Roquer<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Neurology Department, Hospital del Mar, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

<sup>2</sup>Vascular Research Program, IMIM (Hospital del Mar Medical Research Institute), Barcelona, Spain

<sup>3</sup>Neuroradiology Department, Hospital del Mar, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

## Correspondence to

Elisa Cuadrado-Godia, Neurology Department, Hospital del Mar, Universitat Autònoma de Barcelona, Vascular Research Program, IMIM, Passeig Marítim 25–29, Barcelona 08003, Spain; [Ecuadrado@hospitaldelmar.cat](mailto:Ecuadrado@hospitaldelmar.cat)

Received 10 July 2012

Revised 27 August 2012

Accepted 4 September 2012

Published Online First

2 October 2012

## ABSTRACT

**Objective** To describe the severity and early neurological deterioration (END) in patients with symptomatic carotid stenosis and to analyse the influence of related factors.

**Methods** Observational cohort study of patients with ischaemic stroke, ipsilateral carotid stenosis and without evidence of cardiac sources of embolism prospectively recorded since January 2003 to January 2012. Initial severity was categorised as mild (NIH stroke scale (NIHSS)  $\leq 7$ ), moderate (NIHSS 8–14) or high (NIHSS  $> 14$ ). Logistic ordinal and regression analyses were performed for stroke severity and END risk.

**Results** Of 2332 ischaemic strokes attended, 338 patients were included. Stroke severity was mild in 254 (75.1%) cases, moderate in 53 (15.7%) and severe in 31 (9.2%). Adjusted ORs (95% CI) for stroke severity were: degree of carotid stenosis, 2.20 (1.55 to 3.11,  $p < 0.001$ ); intracranial disease, 1.93 (1.18 to 3.17,  $p = 0.009$ ); plasma glucose, 1.01 (1.003 to 1.02,  $p < 0.001$ ); and previous transient ischaemic attack (TIA), 0.37 (0.17 to 0.82,  $p = 0.014$ ). 78 patients (23.1%) had END. Multivariate analysis showed independent association between END and degree of carotid stenosis (OR 1.64, 1.14 to 2.34,  $p = 0.007$ ), previous TIA (OR 2.40, 1.25 to 4.57,  $p = 0.008$ ) and mean arterial pressure (OR 1.02, 1.01 to 1.04,  $p = 0.003$ ).

**Conclusions** Strokes due to large vessel disease in the carotid artery are in general of mild severity and have a high rate of END. The degree of stenosis has a clear association with higher severity and END risk.

## INTRODUCTION

In general, strokes due to large-vessel disease have an intermediate severity, between the more severe cardioembolic strokes and less severe small-vessel disease strokes.<sup>1 2</sup>

In a single patient with symptomatic carotid atherosclerosis, however, severity might vary from a transient ischaemic attack (TIA) to a total anterior circulation stroke, and the factors associated with initial severity are not very well known.

Large surgical trials carried out in the 1990s in patients with symptomatic carotid atherosclerosis showed that degree of stenosis has a clear influence in recurrence risk.<sup>3 4</sup> Lately it has been reported that patients with strokes due to high-degree carotid stenosis or occlusion carry a high risk of early neurological deterioration (END).<sup>5 6</sup>

However, the initial evolution of atherosclerotic carotid strokes is still unclear because the trials included neither patients with carotid occlusion nor acute phase data.

Therefore, the aim of our study was to describe the initial severity and END in a prospective cohort of patients with significant carotid atherosclerosis including occlusion and to look for factors associated with worse outcomes.

## METHODS

Our tertiary stroke centre is the only public hospital offering round-the-clock acute phase stroke services to a population of 300 000 in three Barcelona city districts. In January 2003 we started a prospective observational register of first-ever atherothrombotic strokes with ipsilateral symptomatic carotid stenosis  $\geq 50\%$  (according to Trial of Org 10172 in acute stroke treatment criteria) in order to study their short-term evolution. For the current study we included patients attended during the first 24 h of symptoms onset, recorded through January 2012.

## Methodology of care

Patients were attended in the emergency department during the first 24 h. After April 2005, patients ( $n = 258$ ) were attended in our stroke unit following the same diagnostic and therapeutic protocols. Patients were evaluated at hospital admission and at least twice a day during the first 3 days by a trained neurologist who established initial severity using the NIH stroke scale (NIHSS). All patients had a complete physical examination, blood test, chest radiography, CT brain scan and ECG at admission. Heart rhythm was monitored for at least 24 h in all patients to rule out cardioembolic aetiology. A transthoracic echocardiogram was performed at the discretion of the treating physician ( $n = 263$ ).

Within the first 24 h, all patients had a complete B-mode colour Doppler study of the supra-aortic arteries (Multi-Dop-Portable Doppler System-DWL, Sonosite MicroMaxx) by a neurologist trained in ultrasonography techniques, following established criteria.<sup>7 8</sup> In all cases, the degree of arterial stenosis was confirmed during hospitalisation with another radiological procedure, either intracranial/extracranial contrast-enhanced MRI angiography or CT scan angiography. All vascular images were interpreted by trained neuroradiologists following the

## Cerebrovascular disease

North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial criteria<sup>9</sup> for extracranial lesions and the Warfarin–Aspirin Symptomatic Intracranial Disease trial methods for intracranial stenosis.<sup>10</sup> A digital subtraction angiography was performed in those cases with discrepancy between the screening tests in the degree of stenosis (n=44). None of the strokes were related to radiological procedures.

Treatment was decided in each case by a neurologist experienced in neurovascular diseases following international consensus. The treatment protocol has been described previously.<sup>5</sup> Briefly, antiplatelet therapy is started in all patients with 300 mg aspirin. Other antiplatelet agents (clopidogrel or trifusal) are used in patients whose medical records indicate aspirin intolerance. In some patients already receiving aspirin (n=63), 75 mg clopidogrel was added, in consultation with the attending physician. In 14 cases, this initial antiplatelet therapy was a combination of aspirin and clopidogrel. In all cases, treatment was started after the initial examination and within the first 6 h following hospital admission. High-dose atorvastatin (80 mg daily) was administered in the hyperacute phase in patients included after September 2006 (n=225), when protocols were adjusted to accommodate new evidence. Any previous treatment with statins other than atorvastatin was withdrawn and dosage was adjusted in patients already receiving atorvastatin. Initial glycaemia, blood pressure (BP) and temperature were monitored carefully.

Antihypertensive agents were administered only in patients with heart failure, under current international stroke guidelines, or if the diastolic BP was >120 mm Hg or the systolic BP was >220 mm Hg. Moreover, in selected patients already pretreated with antiplatelet drugs who presented with repetition/crescendo TIA (n=13), we started anticoagulation with intravenous heparin (infusion of 1000 units per hour), monitoring the partial thromboplastin time (PTT) ratio every 6 h.

Intravenous thrombolytic therapy with alteplase (tPA) was administered in 29 (8.6%) cases. Six patients were treated with urgent mechanical thrombectomy followed by angioplasty and stenting, procedures performed in our hospital since October 2009. Carotid endarterectomy was performed in 86 patients and elective angioplasty with stenting was done in eight patients. Median time to surgery was 5 weeks (3 weeks in the last 3 years). None of the patients had surgery in the first 72 h.

The study proposal was approved by our local ethics committee. Written informed consent was obtained from all patients participating in the study (or their relatives).

### Main outcome measures

END was defined as the worsening by at least four points in the initial NIHSS punctuation and/or clearly defined new symptoms suggestive of a new event (TIA or stroke) within the first 72 h. Patients with deterioration due to other illness (two heart failure and one respiratory infection) were excluded. This methodology has been previously described.<sup>5 11</sup>

We analysed the associations between initial stroke severity, END development and numerous variables: age, sex, hypertension, diabetes, hypercholesterolaemia, current smoking, previous cardiovascular events, previous antiplatelet agents, statin use, degree of carotid stenosis (categorised into three groups<sup>8</sup>: moderate (50–69%), high degree (≥70% and near-occlusion),<sup>12</sup> and occlusion), existence of a significant contralateral carotid disease (≥50% stenosis or occlusion), significant ipsilateral intracranial disease (≥50% stenosis or occlusion), and documented TIA during the preceding 3 months. Other variables analysed due to previous association with END were initial plasma

glucose levels and initial mean arterial pressure (MAP), calculated with the formula  $(2/3 \times \text{diastolic BP} + 1/3 \text{ systolic BP})$ .<sup>13</sup>

### Statistical analysis

Data are presented as mean±SD or median±q25–75 for continuous variables and as frequencies and percentages for categorical variables. The t test and analysis of variance were used to evaluate the differences in means for continuous variables, and the  $\chi^2$  test was used for categorical variables. Glucose levels and MAP were analysed as continuous variables. Due to a non-normal distribution, initial stroke severity was categorised into three groups according to previous methodology: mild severity (NIHSS ≤7), moderate severity (NIHSS 8–14) and high severity (NIHSS >14).<sup>14</sup> Multivariate ORs with 95% CI for stroke severity were estimated by an ordinal logistic analysis for each category. For END risk, multivariate ORs with 95% CI were calculated with a logistic regression model. Multivariate models were adjusted by variables that obtained a p value <0.1 in the univariate analysis. Two-sided p values <0.05 were considered significant. All statistical analyses were performed by a biostatistician (IS) with SPSS for Windows V.19.

## RESULTS

Of 2332 ischaemic strokes during the first 24 h, 422 patients met inclusion criteria. After excluding patients with concomitant major cardiac sources of embolism (n=82), incomplete data (n=3) and non-atherosclerotic carotid disease (n=12), the final cohort was 338 patients (67.8% were male and mean age was 70.47±10.57 years). No differences in the main study variables were observed between patients attending before and after the stroke unit opened. Analysed factors are detailed in table 1. Among 135 patients with ≥70% stenosis, 24 (17.7%) had distal internal carotid artery calibre reduction suggestive of near-occlusion.

### Initial severity

Initial median (p25–p75) NIHSS was 4 (1–7.25). Stroke severity was mild in 254 (75.1%) cases, moderate in 53 (15.7%) and severe in 31 (9.2%). Ninety-six patients (28.4%) had a TIA and 18 patients fulfilled radiological criteria of lacunar stroke (sub-cortical infarction <15 mm in diameter in the territory of the deep-penetrating arteries). Factors associated with the initial severity were degree of carotid stenosis, higher initial glucose levels, previous TIA and concomitant intracranial disease (table 1). In the multivariate analysis (table 2), adjusted OR (95% CI) for higher stroke severity were the following: degree of carotid stenosis (OR 2.20 (1.55 to 3.11), p<0.0001), intracranial disease (OR 1.93 (1.18 to 3.17), p=0.009), initial glucose levels (OR 1.13 (1.06 to 1.21), p<0.001) for each mmol/l and previous TIA (OR 0.37 (0.17 to 0.82), p=0.014).

### Early neurological deterioration

A total of 78 patients (23.1%) suffered END, 56 of them (71%) during the first 24 h. In 48 patients, END consisted of a progressive stroke; 30 patients had a stroke recurrence (14 new TIA and 16 new strokes). The rate of END increased with stenosis degree: 14 (17.9%) with 50–69% stenosis, 33 (42.3%) with ≥70% stenosis and 31 (39.7%) with carotid occlusion. Other variables associated with END in univariate analysis (table 3) were MAP, previous TIA, previous antiplatelet use, previous statin use and initial severity according to initial NIHSS. Multivariate analysis (table 4) showed an independent association between END development and degree of carotid stenosis (OR 1.64 (1.14 to 2.34), p=0.007), previous TIA (OR 2.40 (1.25

**Table 1** Univariate analysis for initial severity

Variable	Total (n=338)	NIHSS $\leq 7$ (n=254)	NIHSS 8–14 (n=53)	NIHSS >14 (N=31)	p Value
Male sex	229 (67.8)	175 (68.9)	30 (56.6)	24 (77.4)	0.106
Age years, mean (SD)	70.47 (10.57)	70.80 (10.48)	69 (11.60)	70.47 (10.57)	0.528
Arterial hypertension	244 (72.2)	186 (73.2)	35 (66)	23 (74.2)	0.549
Diabetes mellitus	127 (37.6)	95 (37.4)	19 (35.8)	13 (41.9)	0.851
Hyperlipidaemia	206 (60.9)	157 (61.8)	28 (58.2)	21 (67.7)	0.342
Current smoking	134 (39.6)	95 (37.4)	26 (49.1)	13 (41.9)	0.277
Coronary disease	50 (14.8)	38 (15)	8 (15.1)	4 (12.9)	0.953
Peripheral arterial disease	58 (17.2)	43 (16.9)	9 (17)	6 (19.4)	0.693
MAP mm Hg, mean (SD)	106.20 (19.80)	106.49 (21.09)	106.52 (16.65)	103.30 (12.66)	0.629
Glucose mmol/l, mean (SD)	7.70 (3.49)	7.33 (3.00)	8.34 (3.64)	9.69 (5.65)	0.001*
Contralateral carotid					0.696
Stenosis $\geq 50\%$	80 (23.7)	57 (22.4)	16 (30.2)	7 (22.6)	
Occlusion	14 (4.14)	12 (4.7)	1 (1.9)	1 (3.2)	
Ipsilateral intracranial disease					<0.001*
Stenosis $\geq 50\%$	32 (9.5)	27 (10.6)	2 (3.8)	3 (9.7)	
Occlusion	11 (3.3)	2 (0.8)	3 (5.7)	6 (19.4)	
Previous TIA	69 (20.4)	60 (23.6)	9 (17.0)	0	0.007*
Statins	105 (31.1)	80 (31.5)	13 (24.5)	12 (38.7)	0.382
Antiplatelets	101 (29.9)	76 (29.9)	17 (32.1)	8 (25.8)	0.832
Degree of carotid stenosis					<0.001*
50–69%	107 (31.7)	90 (35.4)	13 (24.5)	4 (12.9)	
>70%	135 (39.9)	109 (42.9)	16 (30.2)	10 (32.3)	
Occlusion	96 (28.4)	55 (21.7)	24 (45.3)	17 (54.8)	
90-day mRS	2 (0–3)	1 (0–2)	3 (2–4)	4 (3–6)	<0.001

Results expressed as no. (%), unless indicated otherwise.

\*Variables selected for multivariate analysis.

MAP, mean arterial pressure; NIHSS, NIH stroke scale; TIA, transient ischemic attack.

to 4.57),  $p=0.008$ ) and MAP (OR 1.02 (1.01 to 1.04),  $p=0.002$ ) for each mm Hg.

## COMMENT

We have described two relevant aspects in the acute phase of a stroke, initial severity and END risk, in a prospective cohort of patients with large-vessel carotid disease exhaustively evaluated by neurologists within the first hours of symptoms onset. Although initial severity was generally low, we have reported the key role of arterial stenosis degree in increased severity and END risk.

## Stroke severity

Initial stroke severity assessment is crucial because it is the main prognostic factor, independently associated with poor long-term outcome.<sup>15</sup> Previous studies found a lower severity of large-artery atherosclerotic strokes compared with other embolic aetiologies; however, they included strokes due to all intra- and extra-cranial vessels.<sup>14</sup> In the carotid surgery trials, almost 50% of the patients presented with TIA as the initial

event. However, information on patients excluded due to severe strokes is scarce.<sup>4 9 16</sup> In our study, two thirds of the strokes were of mild severity and only 9% were severe. Patients with severe strokes had a worse 90-day outcome and almost 55% had carotid occlusions.

The influence of stenosis degree on initial severity has not previously been evaluated. In two large previous studies, stroke severity was higher in patients with carotid occlusion than in those with carotid stenosis, although severity was not specifically analysed.<sup>6 17</sup> In our study, independent factors associated with stroke severity were the degree of carotid stenosis, the existence of concomitant intracranial stenosis or occlusion, and initial glucose levels. Preceding TIA, within the previous 3 months, was found associated with a lower stroke severity.

Previous studies reported larger lesion volumes in strokes due to carotid occlusion compared with carotid stenosis.<sup>17</sup> Chronic impairment of haemodynamic status might be responsible for the higher volume load and stroke severity in patients with carotid occlusion. Preceding TIA has been associated with lower stroke severity in previous studies, although the pathophysiological explanation for this finding is not well known.<sup>18</sup> The other independent factors affecting stroke severity have been described previously. In large series of patients with symptomatic steno-occlusive disease, intracranial middle cerebral artery occlusions have higher severity than carotid occlusions.<sup>17</sup> Moreover, in neuroimaging studies, middle cerebral artery (MCA) occlusions alone or MCA occlusions with coexistent carotid occlusions have more extensive infarcts than carotid occlusions.<sup>19</sup> The relationship between initial glucose and stroke severity might be explained by the multilevel deleterious effect of initial hyperglycaemia in acute strokes.<sup>20</sup>

**Table 2** Ordinal logistic regression analysis for initial severity

	Adjusted OR (95%CI)	p Value
Degree of carotid stenosis	2.20 (1.55 to 3.11)	<0.001
Intracranial disease	1.93 (1.18 to 3.17)	0.009
Glucose, mmol/l	1.13 (1.06 to 1.21)	<0.001
Previous TIA	0.37 (0.17 to 0.82)	0.014

TIA, transient ischemic attack.

## Cerebrovascular disease

**Table 3** Univariate analysis between study variables and END

Variable	END yes (n=78)	END no (n=260)	p Value
Age, mean (SD), years	69.85 (11.06)	70.65 (10.43)	0.555
Male sex	52 (66.7)	177 (68.1)	0.458
Hypertension	54 (69.2)	190 (73.1)	0.298
Diabetes mellitus	25 (32.1)	102 (39.2)	0.155
Hyperlipidaemia	45 (57.7)	146 (56.2)	0.457
Current smoking	34 (43.6)	100 (38.5)	0.247
Coronary disease	10 (12.8)	40 (15.4)	0.361
Peripheral arterial disease	10 (12.8)	48 (18.5)	0.162
MAP mm Hg, mean (SD)	112.04 (23.26)	104.45 (18.32)	0.003*
Glucose mmol/l, mean (SD)	7.84 (3.58)	7.66 (3.47)	0.683
Contralateral carotid			0.554
Stenosis	15 (19.2)	65 (25)	
Occlusion	3 (3.8)	11 (4.2)	
Intracranial disease			0.270
≥50%	10 (12.8)	22 (8.5)	
Occlusion	4 (5.1%)	7 (2.7)	
Previous TIA	22 (28.2)	45 (18.1)	0.040*
Previous antiplatelets	16 (20.5)	85 (32.7)	0.025*
Previous statins	19 (24.4)	86 (33.1)	0.092*
Initial NIHSS median (q25–75)	4 (2–10)	4 (1–7)	0.079*
Degree of carotid stenosis			0.005*
50–69%	14 (17.9)	93 (35.8)	
≥70%	33 (42.3)	102 (39.2)	
Occlusion	31 (39.7)	65 (25)	
90-day mRS median (q25–75)	3 (1–4.25)	1 (0–3)	<0.001

Results expressed as no. (%), unless indicated otherwise.

\*Variables selected for multivariate analysis.

MAP, mean arterial pressure; END, early neurological deterioration; NIHSS, NIH stroke scale; TIA, transient ischaemic attack.

### Early neurological deterioration

The development of END is an unresolved problem closely associated with poor prognosis. We previously evaluated the influence of steno-occlusive disease on the development of END in 1093 patients with anterior or posterior circulation strokes of any aetiology. Steno-occlusive disease was the best independent predictive factor for END, with occlusion more significantly associated than stenosis.<sup>21</sup> We next described the END risk (21%) in patients with symptomatic carotid stenosis ≥50%.<sup>5</sup> However, we only studied patients with mild stroke (NIHSS <7) or TIA, and neither included carotid occlusions nor analysed other related factors. In the current study including all strokes, global END risk was very similar (23%) and reached almost 40% in patients with carotid occlusion.

**Table 4** Logistic regression analysis for END

	END Adjusted OR (95%CI)	p Value
Degree of carotid stenosis	1.64 (1.14 to 2.34)	0.007
Previous TIA	2.40 (1.25 to 4.57)	0.008
MAP mm Hg	1.02 (1.01 to 1.04)	0.002
Initial NIHSS	1.05 (0.99 to 1.10)	0.059
Previous antiplatelet	0.62 (0.32 to 1.21)	0.167
Previous statins	0.73 (0.38 to 1.39)	0.345

END, early neurological deterioration; MAP, mean arterial pressure; NIHSS, NIH stroke scale; TIA, transient ischaemic attack.

Very few studies have described the END risk in patients with carotid occlusions. To our knowledge, this is the first study to analyse the factors that might influence END development in patients with symptomatic carotid atherosclerosis. In our cohort, the degree of carotid stenosis and the existence of preceding TIA were the main predictive factors. Initial MAP was also independently associated.

Our results are very similar to those from a recent large study that showed a higher rate of neurological worsening/recurrence, in-hospital death and poor functional outcome at discharge in patients with carotid occlusion compared with severe stenosis.<sup>6</sup> However, that study did not clearly define neurological worsening or analyse other related factors.

Whereas recurrent emboli are more likely implicated in END of high-risk stenosis, in patients with carotid occlusions the haemodynamic factors that result in infarction of the oligoemic tissue may be more crucial.<sup>22</sup> Nevertheless, the coexistence of embolic and haemodynamic mechanisms is frequent in this stroke subtype and may have a synergistic effect with delayed washout of microemboli material in patients with haemodynamic failure.<sup>23</sup>

Recent TIA has been associated with high risk of early stroke, possibly because of repeated emboli, poor collateral circulation or impaired cerebral autoregulation.<sup>24</sup> Finally, initial hypertension has been associated with END in previous studies,<sup>21 25</sup> as are acute BP drops during the acute phase.<sup>26</sup> Elevated BP, a protective mechanism to maintain cerebral perfusion after a stroke,<sup>25</sup> might be a marker of haemodynamic failure of other compensatory mechanisms and therefore a predictor of END.

This study has limitations. We did not perform vasoreactivity tests or perfusion imaging in the acute phase to assess the contribution of the haemodynamic status to the development of severe strokes or END. Moreover, the influence of collateral filling on the outcomes could not be determined. BP was registered for each patient only on admission; we did not register BP when patients suffered END to analyse potential changes. We did not analyse acute treatments because of the different strategies used in the study (thrombolysis, thrombectomy, antiplatelets and anticoagulants). Due to the low number of patients we could not assess initial severity and END risk in patients presenting with a high degree of stenosis and near-occlusion. In endarterectomy trials, patients with near-occlusion have shown a lower stroke recurrence risk than patients with a high degree of stenosis without near-occlusion; however, little is known about the acute stroke phase in this subgroup.<sup>27</sup> Future studies should focus on this topic.

### CONCLUSIONS

Although strokes due to significant symptomatic carotid atherosclerosis are generally of mild severity, degree of carotid stenosis, concomitant intracranial occlusions and increased initial glucose levels are associated with higher severity. Preceding TIA is associated with lower severity. Degree of stenosis is also a determining factor in the END that occurs in many patients. Other related factors are previous TIA and initial BP.

Ultra-early assessment of the arterial status helps to select patients that might benefit from very careful monitoring during the first days following stroke.

**Contributors** EC-G is the principal author and corresponding author, and is responsible for ensuring that author contributions and full disclosures appear on the submitted, revised and final accepted manuscript and that the page proofs reflect the author contributions and disclosures listed. SJ has contributed to data

acquisition, writing for content and study supervision. AO has contributed to study design, analysis and data interpretation, and revising the manuscript. AR-C has contributed to data acquisition. EG-S has contributed to study coordination. CS has contributed to manuscript revision. JJ-C has contributed to manuscript revision. JEM-R has contributed to manuscript revision. JC has contributed to radiological data revision and manuscript revision. JR has contributed to study design, interpretation of data and manuscript revision.

**Funding** This work was supported by the Ministerio de Sanidad y Consumo, Instituto de Salud Carlos III (Red HERACLES) grant number: RD06/0009. FEDER.

**Competing interests** None.

**Ethics approval** Hospital del Mar ethics committee.

**Provenance and peer review** Not commissioned; externally peer reviewed.

## REFERENCES

- Barnett HJM**, Gunton RW, Eliasziw M, *et al*. Causes and severity of ischemic stroke in patients with internal carotid artery stenosis. *JAMA: J Am Med Assoc* 2000;**283**:1429–36.
- Grau AJ**, Weimar C, Buggle F, *et al*. Risk factors, outcome, and treatment in subtypes of ischemic stroke. *Stroke* 2001;**32**:2559–66.
- Barnett HJM**, Taylor DW, Eliasziw M, *et al*. Benefit of carotid endarterectomy in patients with symptomatic moderate or severe stenosis. *N Engl J Med* 1998;**339**:1415–25.
- European Carotid Surgery Trialists' Collaborative Group**. Randomised trial of endarterectomy for recently symptomatic carotid stenosis: final results of the MRC European Carotid Surgery Trial (ECST). *Lancet* 1998;**351**:1379–87.
- Ois A**, Cuadrado-Godia E, Rodriguez-Campello A, *et al*. High risk of early neurological recurrence in symptomatic carotid stenosis. *Stroke* 2009;**40**:2727–31.
- Burke MJ**, Vergouwen MD, Fang J, *et al*. Short-term outcomes after symptomatic internal carotid artery occlusion. *Stroke* 2011;**42**:2419–24.
- Baumgartner RW**, Mattle HP, Schroth G. Assessment of  $\geq 50\%$  and  $< 50\%$  intracranial stenoses by transcranial color-coded duplex sonography. *Stroke* 1999;**30**:87–92.
- Grant EG**, Benson CB, Moneta GL, *et al*. Carotid artery stenosis: gray-scale and Doppler US diagnosis—Society of Radiologists in Ultrasound Consensus Conference. *Radiology* 2003;**229**:340–6.
- North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial**. Methods, patient characteristics, and progress. *Stroke* 1991;**22**:711–20.
- Samuels OB**, Joseph GJ, Lynn MJ, *et al*. A standardized method for measuring intracranial arterial stenosis. *AJNR Am J Neuroradiol* 2000;**21**:643–6.
- Cuadrado-Godia E**, Ois A, Garcia-Ramallo E, *et al*. Biomarkers to predict clinical progression in small vessel disease strokes: Prognostic role of albuminuria and oxidized LDL cholesterol. *Atherosclerosis* 2011;**219**:368–72.
- Bartlett ES**, Walters TD, Symons SP, *et al*. Diagnosing carotid stenosis near-occlusion by using CT angiography. *Am J Neuroradiol* 2006;**27**:632–7.
- Roquer J**, Rodriguez-Campello A, Gomis M, *et al*. Acute stroke unit care and early neurological deterioration in ischemic stroke. *J Neurol* 2008;**255**:1012–17.
- DeGraba TJ**, Hallenbeck JM, Pettigrew KD, *et al*. Progression in acute stroke: value of the initial NIH stroke scale score on patient stratification in future trials. *Stroke* 1999;**30**:1208–12.
- Adams HP Jr**, Davis PH, Leira EC, *et al*. Baseline NIH stroke scale score strongly predicts outcome after stroke: a report of the Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST). *Neurology* 1999;**53**:126–31.
- Ederle J**, Dobson J, Featherstone RL, *et al*. International Carotid Stenting Study investigators. Carotid artery stenting compared with endarterectomy in patients with symptomatic carotid stenosis (International Carotid Stenting Study): an interim analysis of a randomised controlled trial. *Lancet* 2010;**375**:985–97.
- Weimar C**, Goertler M, Harms L, *et al*. Distribution and outcome of symptomatic stenoses and occlusions in patients with acute cerebral ischemia. *Arch Neurol* 2006;**63**:1287–91.
- Weber R**, Diener HC, Weimar C, *et al*. Why do acute ischemic stroke patients with a preceding transient ischemic attack present with less severe strokes? Insights from the German Stroke Study. *Eur Neurol* 2011;**66**:265–70.
- Phan TG**, Donnan GA, Srikanth V, *et al*. Heterogeneity in infarct patterns and clinical outcomes following internal carotid artery occlusion. *Arch Neurol* 2009;**66**:1523–8.
- Parsons MW**, Barber PA, Desmond PM, *et al*. Acute hyperglycemia adversely affects stroke outcome: a magnetic resonance imaging and spectroscopy study. *Ann Neurol* 2002;**52**:20–8.
- Ois A**, Martinez-Rodriguez JE, Munteis E, *et al*. Steno-occlusive arterial disease and early neurological deterioration in acute ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis* 2008;**25**:151–6.
- Alawneh JA**, Moustafa RR, Baron J. Hemodynamic factors and perfusion abnormalities in early neurological deterioration. *Stroke* 2009;**40**:e443–50.
- Derdeyn CP**. Mechanisms of ischemic stroke secondary to large artery atherosclerotic disease. *Neuroimaging Clin N Am* 2007;**17**:303–11, vii–viii.
- Merwick A**, Albers GW, Amarenco P, *et al*. Addition of brain and carotid imaging to the ABCD(2) score to identify patients at early risk of stroke after transient ischaemic attack: a multicentre observational study. *Lancet Neurol* 2010;**9**:1060–9.
- Abboud H**, Labreuche J, Plouin F, *et al*. High blood pressure in early acute stroke: a sign of a poor outcome? *J Hypertens* 2006;**24**:381–6.
- Castillo J**, Leira R, Garcia MM, *et al*. Blood pressure decrease during the acute phase of ischemic stroke is associated with brain injury and poor stroke outcome. *Stroke* 2004;**35**:520–6.
- Fox AJ**, Eliasziw M, Rothwell PM, *et al*. Identification, prognosis, and management of patients with carotid artery near occlusion. *Am J Neuroradiol* 2005;**26**:2086–94.

### 6.3. OBJECTIU 3

**ARTICLE 4. Endothelial progenitor cells predict cardiovascular events after atherothrombotic stroke and acute myocardial infarction. A PROCELL Substudy. Cuadrado-Godia E, Regueiro A, Núñez J, Díaz M, Novella S, Oliveras A, Valverde MA, Marrugat J, Ois A, Giralte-Steinhilber E, Sanchís J, Escolar G, Hermenegildo C, Heras M, Roquer J. Plos One. 2015 Sep 2;10 (9):e0132415**

L'estudi PROCELL fou un estudi multicèntric, prospectiu, amb disseny cas-control i l'objectiu d'estudiar la mobilització i funcionalitat de les CEP i les CEC a curt i llarg termini en pacients amb IAM i ictus LAA. L'objectiu d'aquest subestudi fou analitzar l'associació de les CEP i les CEC basals amb el risc d'esdeveniments cardiovasculars (NVE) durant els primers 6 mesos.

Es van incloure 100 pacients amb IAM i 50 amb ictus LAA d'edat <75 anys, NIHSS<20, sense ictus previ, discapacitat, comorbiditats o tractament amb estatines (Regueiro *et al.*, 2015). Els controls sans es van seleccionar de l'estudi poblacional REGICOR (Grau *et al.*, 2007), emparellats per edat i sexe. Dels 50 pacients amb patologia cerebrovascular, 35 (70%) foren ictus i 15 (30%) AIT. Els pacients amb IAM eren més joves (53,7 vs. 64,5 anys;  $P < 0,01$ ) i tenien una menor prevalença de FRCV excepte pel que feia al tabaquisme i una menor càrrega arterioscleròtica. De tots els pacients, 14 (9,3%) no tenien dades basals de CEP i 5 (3,3%) no en tenien de CEC.

Un total de 19 pacients (12,66%) van tenir un NVE durant el seguiment (9 dels 100 pacients amb IAM i 10 dels 50 pacients amb ictus). Els NVE foren: 5 nous ictus, 3 nous AIT, 4 nous IAM, 6 hospitalitzacions per altres causes vasculars i una mort cardiovascular. Tots els nous IAM es van produir en pacients cardiològics igual que tots

els nou ictus/AIT es van produir en pacients neurològics. La mediana de temps fins al NVE fou de 30 dies (IQR 2-90). La incidència de NVE es va associar amb l'edat ( $P=0,039$ ),  $GIM \geq 0,9$  ( $P=0,044$ ) i les CEP basals ( $P=0,041$ ). No es va trobar cap tendència d'associació amb les CEC basals. A l'anàlisi multivariable de Cox el nombre de CEP basals es va associar de forma independent amb el desenvolupament de NVE. Comparat amb el Q4, els HR ajustats foren : Q1 [HR: 10,33, 95% CI (1,22-87,34),  $P=0,032$ ]; Q2 [HR: 1,43, 95%CI (0,17-17,48)  $P=0,778$ ]; Q3 [HR: 0,67, 95% CI (0,03-11,48),  $P=0,789$ ]. La variable  $IMT \geq 0,9$  també es va associar de forma independent amb NVE [HR: 4,12, 95% CI (1,21-13,95),  $P =0,023$ ]. En ajustar per altres variables com el tractament a l'alta no van canviar els resultats.

RESEARCH ARTICLE

# Endothelial Progenitor Cells Predict Cardiovascular Events after Atherothrombotic Stroke and Acute Myocardial Infarction. A PROCELL Substudy

Elisa Cuadrado-Godia<sup>1\*</sup>, Ander Regueiro<sup>2</sup>, Julio Núñez<sup>3</sup>, Maribel Díaz-Ricard<sup>4</sup>, Susana Novella<sup>5</sup>, Anna Oliveras<sup>6</sup>, Miguel A. Valverde<sup>7</sup>, Jaume Marrugat<sup>8</sup>, Angel Ois<sup>1</sup>, Eva Giralte-Steinhauer<sup>1</sup>, Juan Sanchís<sup>3</sup>, Ginès Escolar<sup>4</sup>, Carlos Hermenegildo<sup>5</sup>, Magda Heras<sup>2†</sup>, Jaume Roquer<sup>1</sup>



**OPEN ACCESS**

**Citation:** Cuadrado-Godia E, Regueiro A, Núñez J, Díaz-Ricard M, Novella S, Oliveras A, et al. (2015) Endothelial Progenitor Cells Predict Cardiovascular Events after Atherothrombotic Stroke and Acute Myocardial Infarction. A PROCELL Substudy. PLoS ONE 10(9): e0132415. doi:10.1371/journal.pone.0132415

**Editor:** Carlos Zaragoza, University Francisco de Vitoria School of Medicine, SPAIN

**Received:** December 17, 2014

**Accepted:** June 13, 2015

**Published:** September 2, 2015

**Copyright:** © 2015 Cuadrado-Godia et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement:** All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

**Funding:** This study was supported in part by Spain's Ministry of Health (Ministerio de Sanidad y Consumo, FONDO DE INVESTIGACIÓN SANITARIA, Instituto de Salud Carlos III. Grant number: PI080459, RED DE INVESTIGACIÓN CARDIOVASCULAR (RIC RD12/0042/0010, RIC RD12/0042/0052, RD12/0042/0020). The sponsor had no role in study design, data collection and

**1** Department of Neurology, Neurovascular Research Group, IMIM-Hospital del Mar (Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques), Universitat Autònoma de Barcelona/DCEXS-Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Spain, **2** Cardiology Department, Thorax Institute, Hospital Clínic, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain, **3** Cardiology Department, Hospital Clínic Universitario, Valencia School of Medicine, Universitat de València, Valencia, Spain, **4** Hemotherapy-Hemostasis Department, Biomedical Diagnostics Center, Hospital Clínic, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain, **5** Valencia INCLIVA Biomedical Research Institute, Hospital Clínic, Valencia; Department of Physiology, Universitat de València, València, Spain, **6** Nephrology Department, Hospital del Mar, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, **7** Laboratory of Molecular Physiology and Channelopathies, Department of Experimental and Health Sciences, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Spain, **8** Epidemiology and Cardiovascular Genetics Group, IMIM, Barcelona, Spain

† Deceased.  
\* [ecuadrado@parcdesalutmar.cat](mailto:ecuadrado@parcdesalutmar.cat)

## Abstract

### Introduction

The aim of this study was to determine prognostic factors for the risk of new vascular events during the first 6 months after acute myocardial infarction (AMI) or atherothrombotic stroke (AS). We were interested in the prognostic role of endothelial progenitor cells (EPC) and circulating endothelial cells (CEC)

### Methods

Between February 2009 and July 2012, 100 AMI and 50 AS patients were consecutively studied in three Spanish centres. Patients with previously documented coronary artery disease or ischemic strokes were excluded. Samples were collected within 24h of onset of symptoms. EPC and CEC were studied using flow cytometry and categorized by quartiles. Patients were followed for up to 6 months. NVE was defined as new acute coronary syndrome, transient ischemic attack (TIA), stroke, or any hospitalization or death from cardiovascular causes. The variables included in the analysis included: vascular risk factors, carotid intima-media thickness (IMT), atherosclerotic burden and basal EPC and CEC count. Multivariate survival analysis was performed using Cox regression analysis.



analysis, decision to publish or preparation of the manuscript.

**Competing Interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

## Results

During follow-up, 19 patients (12.66%) had a new vascular event (5 strokes; 3 TIAs; 4 AMI; 6 hospitalizations; 1 death). Vascular events were associated with age ( $P = 0.039$ ), carotid  $\text{IMT} \geq 0.9$  ( $P = 0.044$ ), and EPC count ( $P = 0.041$ ) in the univariate analysis. Multivariate Cox regression analysis showed an independent association with EPC in the lowest quartile (HR: 10.33, 95%CI (1.22–87.34),  $P = 0.032$ ) and  $\text{IMT} \geq 0.9$  [HR: 4.12, 95%CI (1.21–13.95),  $P = 0.023$ ].

## Conclusions

Basal EPC and  $\text{IMT} \geq 0.9$  can predict future vascular events in patients with AMI and AS, but CEC count does not affect cardiovascular risk.

## Introduction

Endothelial progenitor cells (EPC) are mobilized from bone marrow and participate in adult neovascularization after both myocardial infarction [1] and ischemic stroke [2,3]. Circulating endothelial cells (CEC) on the other hand are mature cells that have detached from the intimal monolayer in response to endothelial injury [4]. Both types of cell are increased in patients with acute vascular disease [4–6]. However, the total count of these cells may be influenced by the presence of vascular risk factors traditionally associated with lower EPC and higher CEC counts [7–10] and the effects of medication to control these risk factors [11]. To date, no studies have analysed these two cell subtypes together in the same population.

In patients with stable coronary artery disease (CAD), EPC count has been associated with the risk of future cardiovascular events, mostly coronary revascularization [12,13]. However, the influence of these cells after acute myocardial infarction (AMI) is less well known. A previous study found the level of circulating EPCs to be predictive of poor neurological status and early stroke recurrence after ischemic stroke of various etiologies [14]. The role of CECs in both conditions has not been established.

The PROCELL study was a multicentre, prospective, population-based, case-control study paired by sex and age. The aim of the study was to compare the short- and long-term mobilization of EPCs and CECs following an AMI or an atherothrombotic stroke (AS), as this type of stroke shares the same etiology, large-vessel disease, and high cardiovascular risk of CAD [15,16]. Controls were recruited from a population-based cross-sectional study (REGICOR cohort study) [17], all free of selected cardiovascular risk factors (hypertension, dyslipidemia, diabetes), and matched by age and sex with cases. The main findings of this study have recently been published elsewhere [18]. In this substudy, we aimed to determine the effect of basal EPC and CEC on the risk of new vascular events (NVE) among high-risk vascular patients.

## Methods

The PROCELL study was a multicenter, prospective study performed in three tertiary hospital centres in Spain. The study was conducted according to the principles expressed in the Declaration of Helsinki. The study protocol was approved by the Institutional Ethics Committees (Hospital del Mar, Barcelona; Hospital Clínic, Barcelona; Hospital Clínico Universitario de Valencia) and all patients gave written informed consent before being included.

## Study population

Between February 2009 and July 2012, we included 100 consecutive patients with AMI—either ST elevation myocardial infarction (STEMI) or non-ST elevation MI (NSTEMI)—and 50 patients with acute ischemic stroke or transient ischemic attack (TIA) of atherothrombotic origin according to SSS-TOAST criteria [19] (presence of plaques in the symptomatic intracranial or extracranial artery with stenosis >50%, or stenosis <50% in a patient with more than one traditional vascular risk factor after excluding other embolic sources).

Inclusion criteria for AMI patients were  $\leq 75$  years of age, first AMI, and the presence of more than one traditional vascular risk factor. Exclusion criteria were documented CAD and previous treatment with statins. Inclusion criteria for AS were  $\leq 75$  years of age and initial stroke severity <20 on the National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS). Exclusion criteria were previous documented stroke, previous disability >2 on the modified Rankin scale (mRS), and previous treatment with statins. We also excluded patients with kidney disease, active neoplasm, and chronic inflammatory or infectious diseases from both cohorts.

All patients underwent an initial arterial study that included a B-mode ultrasound of the carotid and vertebral arteries and transcranial Doppler ultrasound to assess intracranial circulation. A second arterial study confirmed the degree of stenosis, either by MRI angiogram ( $n = 36$ ) or CT angiogram ( $n = 14$ ). Degree of stenosis was categorized into four groups: 30% to 50%; 51% to 70%; 71% to 99%; and complete occlusion.

All patients received treatment according to current guidelines.

## Circulating endothelial cell and endothelial progenitor cell counts

Samples were collected in the first 24h after the initial AMI or AS. Blood was recovered in low molecular weight heparin tubes and processed in duplicate within 4h of extraction. An assessment of  $2 \times 10^6$  events per sample was considered sufficient for statistical analysis. EPC were defined as negative for CD45 and positive for CD34, KDR, and CD133 (CD45-CD34+KDR+CD133+). CEC were defined as negative for CD45 and positive for CD146 and CD31 (CD45-CD146+CD31+). We multiplied the EPC to CEC ratio obtained from flow cytometry analysis by the number of leukocytes/ml in the blood sample to obtain the absolute number of each cell type per 1 mL of whole blood.

## Variables analysed

We recorded traditional cardiovascular risk factors for all patients according to standard definitions: age, sex, hypertension, diabetes, hypercholesterolemia, body mass index (BMI), admission lipids and HbA1c levels, and previous medication. Other variables recorded were: common carotid artery (CCA) intima-media thickness (IMT), defined as the mean of three measurements in each carotid artery and measured using a semi-automated carotid ultrasound system (Sonosite MIcroMaxx IMT calc) according to international consensus [20]; and atherosclerotic burden (AB), determined on the basis of the number of affected vascular territories: coronary, cerebrovascular, and peripheral [21]. For the AB evaluation, all patients had carotid and transcranial Doppler ultrasounds (US). Cerebrovascular disease was diagnosed if >50% stenosis was found in the supra-aortic ultrasound. In stroke patients, CAD was evaluated with CT coronary angiography and diagnosed when stenosis exceeded 50%. Peripheral artery disease (PAD) was defined if the ankle-brachial index score was <0.9 or there was a previous history of intermittent claudication. Patients were thus classified into 3 groups according to the presence of disease in each territory. All data were available except IMT, which was not measurable in 17 patients (11.33%).

## Follow-up and vascular events

All patients had follow-up visits at 7, 30, 90, and 180 days. At each visit, any NVE was recorded. The study endpoints included new acute coronary syndrome, any TIA or stroke, and any hospitalization or death from cardiovascular causes. No patients were lost to follow-up.

## Statistical methods

Means, standard deviations and frequencies were computed to describe continuous, normally distributed, and categorical variables, respectively. Normality plots were constructed to check whether continuous variables followed normal distributions. EPCs and CECs were categorized into quartiles for further analysis. Student's t-tests and ANOVA were performed to compare means between 2 or more groups, respectively, while chi-square tests were computed to compare frequencies between groups. Multivariate survival analysis was performed using Cox regression models to estimate the hazard ratio (HR) for NVE with 95% confidence intervals (CI). Multivariate models were adjusted for associated variables in the univariate analysis, considering a 2-sided P-value  $<0.05$  as significant. Sensitivity analyses were performed to analyse potential confounding variables, due to the known association between age and a lower EPC count [22] and IMT with age and NVE [23]. Data analysis was performed using version 19 of the SPSS statistical program and was reviewed by a biostatistician.

## Results

### Study population

Of the 100 consecutive AMI patients, 87 presented with STEMI and 13 with non-STEMI. Coronary angiography was performed on all patients. In the STEMI group, primary percutaneous coronary intervention was the revascularization method used for 66 (76%) patients, and fibrinolysis for 15 (17%). Seven patients initially treated with fibrinolysis were subsequently treated with percutaneous coronary intervention. Of the 50 patients with acute cerebrovascular disease, 35 (70%) had a stroke diagnosis and 15 (30%) a TIA. The degree of stenosis in the symptomatic artery was 30% to 50% in 14 (34%) patients, 51% to 70% in 10 (20%), higher than 70% in 21 (42%) and complete occlusion in 2 (4%) patients. Two patients were treated with intravenous thrombolysis and 12 (24%) with delayed surgical or endovascular revascularization therapies.

Demographics and the clinical characteristics of the study population are shown in [Table 1](#). Patients with AMI were younger (53.7 vs. 64.5 years;  $P < 0.01$ ) and showed a lesser prevalence of hypertension (27% vs. 68%;  $P < 0.01$ ), diabetes mellitus (11% vs. 28%;  $P < 0.01$ ), hypercholesterolemia (20% vs. 42%;  $P < 0.01$ ) and a greater prevalence of cigarette smoking (74% vs. 56%;  $p = 0.03$ ) than patients with strokes. Atherosclerotic burden was higher in patients with strokes than with AMI (36% with 3 territories vs 2%,  $P < 0.01$ ). Following discharge, AMI patients were more frequently treated with aspirin (99% vs. 78%;  $P < 0.001$ ), clopidogrel (95% vs. 24%;  $P < 0.001$ ), beta-blockers (85% vs. 6%;  $P < 0.001$ ), and angiotensin-converting enzyme inhibitors (63% vs. 30%,  $P < 0.001$ ) or angiotensin receptor blockers (26% vs. 14%,  $P = 0.09$ ) than patients with strokes. The prescription of statins at discharge was similar among AMI and stroke patients (100% vs. 98%;  $P = 0.94$ ). Anticoagulation therapy was very infrequent and was similar in both cohorts (8% of AMI vs 12% of strokes,  $P = 0.42$ ).

### EPC and baseline clinical variables

Of the 150 patients, 14 (9.3%) had basal EPC samples that were unavailable or invalid and 18 (12%) had values of 0. The median and IQR for each EPC quartile were as follows: Q1, 0.0 (0.0–38.25); Q2, 97.5 (65.22–121.15); Q3, 214.65 (185.75–239.65), Q4, 486.60 (380.62–799.80).

**Table 1. Bivariate analysis between AMI and stroke patients.**

	AMI N = 100	STROKE N = 50	P value
Age, mean (SD) y	53.7(10.2)	64.5 (9.4)	<0.01
Males, n (%)	85 (85.0)	42 (84.0)	0.87
Hypertension, n (%)	27 (27.0)	34 (68.0)	<0.01
Hypercholesterolemia, n (%)	20 (20.0)	21 (42.9)	<0.01
Diabetes Mellitus, n (%)	11 (11.0)	14 (28.0)	<0.01
Current smoking, n (%)	74 (74)	28 (56)	0.03
Previous IHD, n (%)	0 (0)	2 (4)	0.04
Previous stroke, n (%)	0(0)	0 (0)	
Previous PAD, n (%)	2 (2)	2 (4)	0.474
BMI	26.6 (24.3–29.3)	28.1 (25.3–30.3)	0.117
Total Cholesterol (mg/dL)	197 (40)	199 (51)	0.80
LDL Cholesterol (mg/dL)	129 (33)	129 (39)	0.97
Triglycerides (mg/dL)	168 (135)	162 (88)	0.79
HbA1c% (median, IQR)	6.1 (1.7)	6.6 (1.6)	0.09
AB, n (%)			<0.01
Three territories	2 (2)	18 (36)	
Two territories	42 (42)	23 (46)	
One territory	56 (56)	9 (18)	
IMT>0.9, n (%)	31 (36.9)	20 (40.8)	0.65
NVE, n (%)	9 (9)	10 (20)	0.06

IHD = Ischemic heart disease  
 PAD = Peripheral arterial disease  
 BMI = Body mass index  
 AB = Atherosclerotic Burden  
 IMT = Intima media thickness  
 NVE = New vascular event.

doi:10.1371/journal.pone.0132415.t001

Higher basal EPC was associated with lower age ( $p$  for trend = 0.076), AMI ( $p = 0.019$ ), and a lower proportion of DM ( $p = 0.077$ ). Glycated haemoglobin was lower in patients with a low EPC, although all values were within the normal range. Although not statistically significant, patients with a higher AB had lower basal EPC. The univariate analysis is summarized in [Table 2](#).

### CEC and baseline clinical variables

Of 150 patients included, 5 (3.3%) patients had no basal CEC data and 10 (6.7%) had a cell count of 0. The median and IQR of each CEC quartile were as follows: Q1, 21.50 (0.0–51.75); Q2, 113.97 (100.82–129.73); Q3, 208.30 (168.55–258.50); Q4, 570.50 (415.77–869.000). We found no association between cardiovascular risk factors or AB and basal CEC. Basal CEC count was higher in AMI patients ( $P = 0.014$ ). A summary of the univariate analysis is found in [Table 3](#).

### Incidence of cardiovascular events

A total of 19 patients (12.66%) had a NVE during follow-up (9/100 AMI patients and 10/50 stroke patients): 5 new strokes, 3 new TIA, 4 new AMI, 6 hospitalizations for other acute

**Table 2. Bivariate comparison between study variables and EPC quartiles.**

	BasEPC Q1 N = 34	BasEPC Q2 N = 34	BasEPC Q3 N = 34	BasEPC Q4 N = 34	P value
Age, mean (SD) y	58.65 (10.50)	59.06 (12.29)	58.38 (10.28)	52.91 (11.08)	0.076
Males, n (%)	30 (88.2)	27 (79.4)	31 (91.2)	28 (82.4)	0.504
AMI patients, n (%)	20 (58.8)	19 (55.9)	22 (64.7)	30 (88.2)	0.019
Stroke patients, n (%)	14 (41.2)	15 (44.1)	12 (35.3)	4 (11.8)	
Hypertension	15 (44.1)	14 (41.2)	15 (44.1)	12 (35.3)	0.866
Hypercholesterolemia, n (%)	6 (17.6)	10 (29.4)	9 (26.5)	11 (32.4)	0.549
Diabetes Mellitus, n (%)	6 (17.6)	8 (23.5)	8 (23.5)	1 (2.9)	0.077
Current smoker, n (%)	25 (73.5)	20 (58.8)	23 (67.6)	25 (73.5)	0.517
Alcohol overuse, n (%)	8 (23.5)	6 (17.6)	7 (20.6)	2 (5.9)	0.227
BMI, med (q25-q75)	27.1(24.2–29.4)	26.6(24.4–29.8)	26.5(24.5–30.1)	27.4(25.8–29.4)	0.965
HbA1c% med (q25-75)	5.5 (5.0–5.9)	5.8 (5.6–6.7)	5.9 (5.3–7.5)	5.8 (5.4–6.0)	0.048
AB, n (%)					0.414
Three territories	7 (20.6)	4 (11.8)	6 (17.6)	1 (2.9)	
Two territories	13 (38.2)	17 (50.0)	13 (38.2)	17 (50.0)	
One territory	14 (41.2)	13 (38.2)	15 (44.1)	16 (47.1)	
IMT>0.9, n (%)	9 (29.0)	13 (41.9)	12 (38.7)	16 (55.2)	0.229
NVE, n (%)	9 (26.5)	3 (8.8)	2 (5.9)	3 (8.8)	0.020
New stroke/TIA	6 (17.6)	2 (5.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	
New ACS	1 (2.9)	0 (0.0)	1 (2.9)	1 (2.9)	
Other ACV event	2 (5.9)	1 (2.9)	1 (2.9)	2 (5.9)	

BasEPC = Basal count of EPC

AMI = Acute myocardial infarction

BMI = Body mass index

AB = Atherosclerotic Burden

IMT = Intima-media thickness

NVE = New vascular event

ACS = Acute coronary syndrome

ACV = Acute cardiovascular event.

doi:10.1371/journal.pone.0132415.t002

cardiovascular diseases, and 1 cardiovascular death. All new AMI patients had had a previous AMI and all the strokes/TIAs occurred in patients with initial stroke. Median time to NVE was 30 days (range 2–90). In univariate analysis, the incidence of NVE was associated with age (P for trend 0.039), IMT $\geq$ 0.9 (P = 0.044) and basal EPC count (P = 0.041). The analysis is summarized in Table 4. Basal CEC count was not associated with NVE.

Regarding medication at discharge, the proportions of aspirin (79% vs 93%, P = 0.047), clopidogrel (52% vs.74%, p = 0.052) and beta-blockers given (42% vs. 61%, P = 0.094) was lower in patients who had had a NVE (Table A in S1 File).

To explore potential associations between each NVE and the study variables, we divided NVEs into two subgroups due to the low number of events in each category: the first group included new strokes/TIAs; and the second group, other vascular events (AMI/cardiovascular hospitalization or death). We performed a separate bivariate analysis between vascular risk factors and each subgroup outcome. Variables associated with new stroke/TIA compared with other vascular events were: HTA (75% vs. 9%, P = 0.014) and age (67.38 vs. 58.4, P = 0.026). Moreover, patients who had a new stroke/TIA had lower EPC counts than patients who suffered other vascular events (p = 0.027). (Table B in S1 File)

**Table 3. Bivariate comparison between study variables and CEC quartiles.**

	BasCEC Q1 N = 34	BasCEC Q2 N = 34	BasCEC Q3 N = 33	BasCEC Q4 N = 34	P value
Age, mean (SD)	60.14 (10.26)	58.11(9.70)	54.22 (11.72)	56.94 (12.34)	0.145
Males, n (%)	29 (80.6)	31 (86.1)	32 (86.5)	31 (86.1)	0.877
AMI patients, n (%)	17 (47.2)	23 (63.9)	29 (78.4)	28 (77.8)	<b>0.014</b>
Stroke patients, n (%)	19 (52.8)	13 (36.1)	8 (21.6)	8 (22.2)	
Hypertension, n (%)	16 (44.4)	14 (38.9)	13 (35.1)	17 (47.2)	0.721
Hypercholesterolemia, n (%)	9 (25.0)	10 (27.8)	11 (29.7)	10 (27.8)	0.976
Diabetes Mellitus, n (%)	8 (22.2)	5 (13.9)	5 (13.5)	7 (19.4)	0.707
Current smoker, n (%)	20 (55.6)	29 (80.6)	27 (73.0)	23 (63.9)	0.117
Alcohol overuse, n (%)	6 (16.7)	10 (27.8)	4 (10.8)	4 (11.1)	0.176
BMI med (q25-75)	26.7(24.1–29.8)	26.8(24.3–29.4)	26.9(24.5–30.2)	27.5(26.1–29.6)	0.717
HbA1c%, med (q25-75)	5.8 (5.3–6.8)	5.7 (5.4–6.2)	5.8(5.4–6.4)	5.7 (5.4–6.2)	0.968
AB, n (%)					0.562
Three territories	6 (16.7)	3 (8.3)	5 (13.5)	5 (13.9)	
Two territories	16 (44.4)	21 (58.3)	13 (35.1)	15 (41.7)	
One territory	14 (38.9)	12 (33.3)	19 (51.4)	16 (44.4)	
IMT>0.9, n (%)	13 (43.3)	12 (35.3)	12 (37.5)	14 (42.4)	0.895
NVE, n (%)	7 (19.4)	6 (16.7)	3 (8.1)	2 (5.6)	0.219
New stroke/TIA	3 (8.3)	4 (11.1)	1 (2.7)	0 (0.0)	
New ACS	1 (2.8)	1 (2.8)	2 (5.4)	1 (2.8)	
Other ACV event	3 (8.3)	1 (2.8)	3 (8.1)	1 (2.8)	

BasCEC = Basal count of circulating endothelial cells

AMI = Acute myocardial infarction

BMI = Body mass index

AB = Atherosclerotic Burden

IMT = Intima media thickness

NVE = New vascular event

ACS = Acute coronary syndrome

ACV = Acute cardiovascular event.

doi:10.1371/journal.pone.0132415.t003

Multivariate Cox regression analysis showed an independent association with basal EPC. The risk is highest in the lowest quartile (Table 5 and Fig 1). Compared with Q4, adjusted HRs were as follows: Q1 [HR: 10.33, 95% CI (1.22–87.34), P = 0.032]; Q2 [HR: 1.43, 95%CI (0.17–17.48) P = 0.778]; Q3 [HR: 0.67, 95% CI (0.03–11.48), P = 0.789]. IMT ≥ 0.9 was also an independent predictor of NVE [HR: 4.12, 95% CI (1.21–13.95), P = 0.023]. In the model without IMT but adjusted for age (Table C in S1 File), sensitivity analyses showed an estimated HR of 2.96 (p = 0.105) for EPC Q4 vs Q1, whereas in the model without age but adjusted for IMT (Table C in S1 File), the HR was 15.77 (p = 0.010). These results clearly indicate that age was not a confounding variable when IMT was already present in the model, since the HR remained significant and varied from 10.33 to 15.77 (Table 4). On the other hand, IMT was a strong reverse confounding variable, even in the presence of age, since the HR varied from 10.33 to 2.96 and ceased to be significant when IMT was removed from the model.

Other variables associated in bivariate analysis, such as HbA1c or medication at discharge, were not associated in the Cox regression analysis. (Tables D-E in S1 File)

**Table 4. Bivariate analysis between study variables and NVE.**

	Vascular events yes N = 19	Vascular events No N = 131	P value
Age, mean (SD)	62.21 (9.74)	56.58 (11.17)	0.039
Males, n (%)	15 (78.9)	112 (85.5)	0.443
Hypertension, n (%)	7 (36.8)	54 (41.2)	0.758
Hypercholesterolemia, n (%)	6 (31.6)	35 (26.7)	0.653
Diabetes Mellitus, n (%)	4 (21.1)	21 (16)	0.587
Current smoker, n (%)	14 (73.7)	88 (67.2)	0.260
BMI, med (q25-75)	25.8 (23.7–19.4)	26.9 (24.8–29.7)	0.384
<b>Atherosclerotic Burden, n (%)</b>			<b>0.205</b>
Three territories	5 (26.3)	15 (11.5)	
Two territories	7 (36.8)	58 (44.3)	
One territory	7 (36.8)	58 (44.3)	
IMT>0.9, n (%)	9 (64.3)	42 (35.3)	0.044
<b>Basal EPC, n (%)</b>			<b>0.041</b>
Q1	9 (52.9)	25 (21.0)	
Q2	3 (17.6)	31 (26.1)	
Q3	2 (11.8)	32 (26.9)	
Q4	3 (17.6)	31 (26.1)	
<b>Basal CEC, n (%)</b>			<b>0.219</b>
Q1	7 (38.9)	29 (22.8)	
Q2	6 (33.3)	30 (23.6)	
Q3	3 (16.7)	34 (26.8)	
Q4	2 (11.1)	34 (26.8)	

BMI = Body mass index  
 IMT = Intima-media thickness  
 EPC = Endothelial progenitor cells  
 CEC = Circulating endothelial cells.

doi:10.1371/journal.pone.0132415.t004

## Discussion

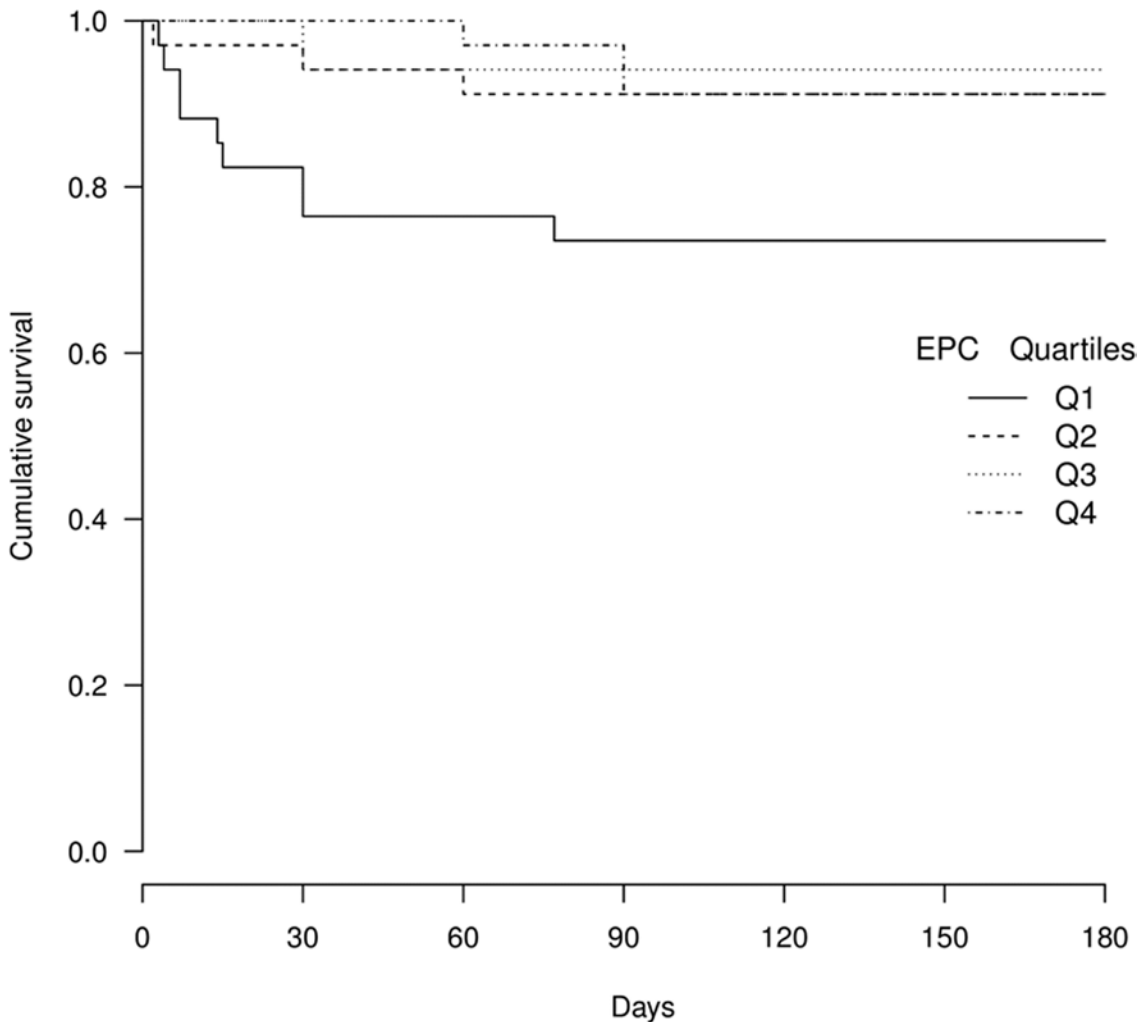
Our study is the first to show that basal EPC, but not basal CEC count, is associated with 6-month NVE in patients with AMI and AS. Cerebrovascular diseases and CAD are the highest causes of mortality worldwide. However, whereas CAD is usually attributable to large-vessel atherosclerosis, stroke has a far more heterogeneous pathophysiology, including emboli

**Table 5. Cox regression analysis for the risk of NVE.**

	HR 95% CI	P
<b>Basal EPC quartiles</b>		<b>0.003</b>
Basal EPC Q1	10.33 (1.22–87.34)	0.032
Basal EPC Q2	1.43 (0.17–17.48)	0.778
Basal EPC Q3	0.67 (0.03–11.48)	0.786
IMT > 0.9	4.12 (1.21–13.95)	0.023
Age	1.05 (0.98–1.12)	0.118

EPC = Endothelial progenitor cells  
 IMT = Intima-media thickness.

doi:10.1371/journal.pone.0132415.t005



**Fig 1. Kaplan-Meier survival curve according to EPC quartiles.**

doi:10.1371/journal.pone.0132415.g001

originating from the heart, cerebral small-vessel disease (lacunar infarcts), and an abundant variety of other less frequent causes.

Atherothrombotic strokes—the most prevalent stroke subtype [24]—are those caused by large-vessel atherosclerosis in the major blood vessels supplying the brain, such as the carotid, vertebral, and basilar arteries or the vessels forming the circle of Willis. This stroke subtype and AMI not only share a common pathophysiology (large-vessel atherosclerosis) but also a high (20%) 10-year risk of future cardiovascular events [15,16].

Although very promising results have been found in trials using stem cell therapy in vascular diseases [25,26], the role of circulating EPC and CEC is not completely understood. The PROCELL study aimed to study the role of these cells in patients with AMI and acute AS.

We found that patients with a very low EPC count have a higher risk of a NVE during the first 6 months. These results come as no surprise in AMI patients since previous studies have found similar results. In a large study including 519 patients undergoing coronary angiography [27], decreasing levels of baseline EPC were associated with death from cardiovascular causes, first major cardiovascular events, revascularization and hospitalization after 12 months of follow-up, although EPCs were not associated with AMI or stroke. That study included patients



with acute, subacute and chronic myocardial infarction and the incidence of AMI or stroke during follow-up was less than in our study (6.7% and 3.4% respectively). There was also no information about stroke subtype (ischemic or haemorrhagic). Another study including 44 patients with stable CAD, 33 patients with acute coronary syndrome and 43 control subjects also found an independent association with EPC and later cardiovascular events during a median follow-up of 10 months [13]. Eleven patients (14.5%) had a cardiovascular event, but most of these were revascularizations

In addition, a lower EPC count has been associated with NVEs in healthy subjects [28] and patients with kidney disease [29] or metabolic syndrome [30]. However, in most of these studies, a new stroke was not considered an outcome.

There are numerous differences between these studies and ours: We included only patients with acute diseases (AMI and stroke) because these patients are at a high risk of subsequent cardiovascular events. [31] For this reason, we studied patients admitted within the first 24h after the initial event and the follow-up was shorter. It is worthy of note that, in our study, 6 of 19 patients (31.57%) had the NVE in the first week of follow-up, pointing out the importance of studying acute patients. Furthermore, we studied ischemic strokes that had the same etiology, large artery atherosclerosis, whereas in the previous studies, the stroke etiologies were mixed; this is a crucial matter, especially when studying pathophysiology. We did not include programmed revascularization as an outcome because we focused only on the risk of unexpected acute cardiovascular events. We included ischemic stroke as an outcome, whereas other studies did not. Finally, our study is the first to consider EPC and CEC counts in the same cohort.

In addition, to the best of our knowledge, the association between NVE and basal EPC count has not previously been described in stroke patients. Only one study [14] found an association between lower basal EPC and a combination of NVE and poor neurological status at 90 days, with only 3 out of 138 patients having a stroke recurrence.

Several experimental studies have proved that circulating EPC is capable of mobilizing to injured arteries and repairing the endothelium [32]. In our study, we also observed the potential protective effect of these cells as a marker of a high risk of vascular events even in patients receiving the best medical treatment available.

Although the role of EPC has been broadly studied, the influence of CEC on the risk of NVE has received little attention. The association between CEC and NVE in patients with ischemic stroke has not been previously reported, and we found only one previous study of patients with acute coronary syndrome in which 48h CEC was the only independent predictor of a major cardiovascular event at one year [33]. We were unable to replicate these findings; this was probably due to methodological differences between the studies, most importantly that the CEC characterization was different (CD 146+CD31- in the study cited and CD146+CD31+ in our study) and also that strokes were not included as a vascular outcome in the earlier study.

Apart from the cell analysis, we aimed to identify other clinical variables with a predictive role in vascular risk. We found that carotid IMT  $\geq 0.9$  was independently associated with the risk of NVE. Increased carotid IMT has been considered an early marker of atherosclerosis and a proven risk factor for future vascular events in healthy populations, as well as in patients with cardiovascular disease, independently of other vascular risk factors [23,34]. In our study, IMT  $\geq 0.9$  was more informative than other clinical variables such as age, vascular risk factors, or atherosclerotic burden. This is important because, although various meta-analyses found that IMT measurement adds little predictive value in the general population [35,36], it can help identify subgroups with a worse prognosis in patients at high vascular risk, such as AMI or AS patients.

Our study has several strengths. We have uniformly studied patients with different acute manifestations of a common disease, large-vessel atherosclerosis. All patients underwent exhaustive vascular study and were treated under current international guidelines. All samples were collected within the first 24h of the ischemic event in order to study early recurrences. Finally, this was the first study to analyse both cell subtypes at the same time. The study also has a few limitations, the most important being the small sample size. However it should be pointed out that the PROCELL study was a prospective, multicenter case-control study that included a highly selected population. Patients were studied during the acute phase and the follow-up was very thorough [18]. In addition, the results of the study are in agreement with previous studies with similar methodologies and similar sample sizes. [13,14,33] We consider therefore that although the small sample size prevented a more detailed analysis of patient subtypes and vascular events, it does not invalidate the association between EPC and NVE. Secondly, although the information on the patients recruited was extensive, we did not include other comorbidities that may have influenced the association between EPC and the risk of NVE, such as obstructive sleep apnea, which is implicated in the development of hypertension, endothelial dysfunction and higher intima-media thickness, all elements known to lead to atherosclerosis. [37] Lastly, although the medication prescribed and patient compliance was verified at every visit, due to the observational nature of the study and the study size, the influence of drugs on the risk of vascular events could not be ascertained.

## Conclusions

In patients with acute manifestations of large-vessel atherosclerosis, such as AMI or AS, a low EPC count is a strong predictor of future vascular events, whereas CEC count has no predictive role. More research on this field is needed to confirm the protective role of EPC in patients with vascular disease.

## Supporting Information

**S1 File. Table A.** Bivariate analysis of medication at discharge and the risk of new vascular events. **Table B.** Bivariate analysis of study variables and subtypes of NVE. **Table C. Model A.** Sensitivity analysis: Cox regression model after removal of IMT. **Model B.** Cox regression model after removal of age. **Table D.** Cox regression analysis including HbA1c. **Table E.** Cox regression analysis including aspirin. (DOCX)

## Acknowledgments

Isaac Subirana, MSc, Epidemiology and Cardiovascular Genetics, Inflammatory and Cardiovascular Disorders Research Program (IMIM) reviewed the statistical analysis. Elaine M. Lilly, PhD, Writers First Aid, provided assistance in the English translation and copyediting of the manuscript.

## In memoriam

In memory of Magda Heras i Fortuny MD, PhD (1953–2014)

## Author Contributions

Conceived and designed the experiments: GE JM MAV CH JS MH JR. Performed the experiments: EC AR JN MD SN. Analyzed the data: EC AR A. Oliveras. Contributed reagents/materials/analysis tools: EC A. Ois EG. Wrote the paper: EC AR.

## References

1. Rafii S, Meeus S, Dias S, Hattori K, Heissig B, Shmelkov S, et al. Contribution of marrow-derived progenitors to vascular and cardiac regeneration. *Semin Cell Dev Biol.* 2002; 13(1):61–7. PMID: [11969372](#)
2. Hess DC, Hill WD, Martin-Studdard A, Carroll J, Brailer J, Carothers J. Bone marrow as a source of endothelial cells and NeuN-expressing cells after stroke. *Stroke.* 2002; 33(5):1362–8. PMID: [11988616](#)
3. Navarro-Sobrinho M, Rosell A, Hernandez-Guillamon M, Penalba A, Ribó M, Alvarez-Sabín J, et al. Mobilization, endothelial differentiation and functional capacity of endothelial progenitor cells after ischemic stroke. *Microvasc Res.* 2010; 80(3):317–23. doi: [10.1016/j.mvr.2010.05.008](#) PMID: [20594997](#)
4. Boos CJ, Lip GYH, Blann AD. Circulating Endothelial Cells in Cardiovascular Disease. *Journal of the American College of Cardiology.* 2006. p. 1538–47.
5. Makin AJ, Blann AD, Chung NAY, Silverman SH, Lip GYH. Assessment of endothelial damage in atherosclerotic vascular disease by quantification of circulating endothelial cells: Relationship with von Willebrand factor and tissue factor. *Eur Heart J.* 2004; 25(5):371–6. PMID: [15033248](#)
6. Nadar SK, Lip GYH, Lee KW, Blann AD. Circulating endothelial cells in acute ischaemic stroke. *Thromb Haemost.* 2005; 94(4):707–12. PMID: [16270621](#)
7. Shintani S, Murohara T, Ikeda H, Ueno T, Honma T, Katoh A, et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation.* 2001.
8. McClung JA, Naseer N, Saleem M, Rossi GP, Weiss MB, Abraham NG, et al. Circulating endothelial cells are elevated in patients with type 2 diabetes mellitus independently of HbA1c. *Diabetologia.* 2005; 48(2):345–50. PMID: [15660261](#)
9. Fadini GP, Agostini C, Sartore S, Avogaro A. Endothelial progenitor cells in the natural history of atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2007. p. 46–54. PMID: [17493626](#)
10. Umemura T, Soga J, Hidaka T, Takemoto H, Nakamura S, Jitsuiki D, et al. Aging and hypertension are independent risk factors for reduced number of circulating endothelial progenitor cells. *Am J Hypertens.* 2008; 21(11):1203–9. doi: [10.1038/ajh.2008.278](#) PMID: [18787520](#)
11. Vasa M, Fichtlscherer S, Adler K, Aicher A, Martin H, Zeiher AM, et al. Increase in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease. *Circulation.* 2001.
12. Werner N, Kosiol S, Schiegl T, Ahlers P, Walenta K, Link A, et al. Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes. *N Engl J Med.* 2005; 353(10):999–1007. PMID: [16148285](#)
13. Schmidt-Lucke C, Rössig L, Fichtlscherer S, Vasa M, Britten M, Kämper U, et al. Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: Proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair. *Circulation.* 2005; 111(22):2981–7. PMID: [15927972](#)
14. Yip H-K, Chang L-T, Chang W-N, Lu C-H, Liou C-W, Lan M-Y, et al. Level and value of circulating endothelial progenitor cells in patients after acute ischemic stroke. *Stroke.* 2008; 39(1):69–74. PMID: [18063830](#)
15. Ois A, Cuadrado-Godia E, Rodríguez-Campello A, Giralt-Steinhauer E, Jiménez-Conde J, Lopez-Cuiña M, et al. Relevance of stroke subtype in vascular risk prediction. *Neurology.* 2013; 81(6):575–80. doi: [10.1212/WNL.0b013e31829e6f37](#) PMID: [23825174](#)
16. Lackland DT, Elkind MS V, D’Agostino R, Dharmoon MS, Goff DC, Higashida RT, et al. Inclusion of stroke in cardiovascular risk prediction instruments: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke.* 2012; 43(7):1998–2027. doi: [10.1161/STR.0b013e31825bcdac](#) PMID: [22627990](#)
17. Grau M, Subirana I, Elosua R, Solanas P, Ramos R, Masiá R, et al. Trends in cardiovascular risk factor prevalence (1995–2000–2005) in northeastern Spain. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2007; 14(5):653–9. PMID: [17925624](#)
18. Regueiro A, Cuadrado-Godia E, Bueno-Betf C, Diaz-Ricart M, Oliveras A, Novella S, et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in acute cardiovascular events in the PROCELL study: Time-course after acute myocardial infarction and stroke. *J Mol Cell Cardiol* 2015; 80:146–55. doi: [10.1016/j.yjmcc.2015.01.005](#) PMID: [25619946](#)
19. Ay H, Furie KL, Singhal A, Smith WS, Sorensen AG, Koroshetz WJ. An evidence-based causative classification system for acute ischemic stroke. *Ann Neurol.* 2005; 58(5):688–97. PMID: [16240340](#)
20. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Desvarieux M, et al. Mannheim intima-media thickness consensus. *Cerebrovascular Diseases.* 2004. p. 346–9.
21. Roquer J, Ois A, Rodríguez-Campello A, Gomis M, Munteis E, Jiménez-Conde J, et al. Atherosclerotic burden and early mortality in acute ischemic stroke. *Arch Neurol.* 2007; 64:699–704. PMID: [17502469](#)
22. Williamson K, Stringer SE, Alexander MY. Endothelial progenitor cells enter the aging arena. *Front Physiol.* 2012; 3:1–7.

23. Roquer J, Segura T, Serena J, Cuadrado-Godia E, Blanco M, García-García J, et al. Value of carotid intima-media thickness and significant carotid stenosis as markers of stroke recurrence. *Stroke*. 2011; 42(11):3099–104. doi: [10.1161/STROKEAHA.110.612010](https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.612010) PMID: [21852617](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21852617/)
24. Arenillas JF. Intracranial atherosclerosis: Current concepts. *Stroke*. 2011; 42 (Suppl 1): S20–3
25. Assmus B, Honold J, Schächinger V, Britten MB, Fischer-Rasokat U, Lehmann R, et al. Transcatheter transplantation of progenitor cells after myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2006; 355(12):1222–32. PMID: [16990385](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16990385/)
26. Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, Ikeda U, Shintani S, Masaki H, et al. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: A pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet*. 2002; 360(9331):427–35. PMID: [12241713](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12241713/)
27. Werner N, Kosiol S, Schiegl T, Ahlers P, Walenta K, Link A, et al. Circulating Endothelial Progenitor Cells and Cardiovascular Outcomes. 2005;999–1007.
28. Hill JM, Zalos G, Halcox JPJ, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med*. 2003; 348(7):593–600. PMID: [12584367](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12584367/)
29. Lorenzen J, David S, Bahlmann FH, de Groot K, Bahlmann E, Kielstein JT, et al. Endothelial progenitor cells and cardiovascular events in patients with chronic kidney disease—a prospective follow-up study. *PLoS One*. 2010 Jan; 5(7):e11477. doi: [10.1371/journal.pone.0011477](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011477) PMID: [20628606](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20628606/)
30. Fadini GP, de Kreutzenberg S, Agostini C, Boscaro E, Tiengo A, Dimmeler S, et al. Low CD34+ cell count and metabolic syndrome synergistically increase the risk of adverse outcomes. *Atherosclerosis*. 2009; 207(1):213–9. doi: [10.1016/j.atherosclerosis.2009.03.040](https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2009.03.040) PMID: [19406403](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19406403/)
31. Steg PG, Bhatt DL, Wilson PWF, D'Agostino RS, Ohman EM, Rother J, et al. One-year cardiovascular event rates in outpatients with atherothrombosis. *JAMA*. United States; 2007 Mar; 297(11):1197–206. PMID: [17374814](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17374814/)
32. Dzau VJ, Gnecci M, Pachori AS, Morello F, Melo LG. Therapeutic potential of endothelial progenitor cells in cardiovascular diseases. *Hypertension*. 2005. p. 7–18. PMID: [15956118](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15956118/)
33. Lee KW, Lip GYH, Tayebjee M, Foster W, Blann AD. Circulating endothelial cells, von Willebrand factor, interleukin-6, and prognosis in patients with acute coronary syndromes. *Blood*. 2005; 105(2):526–32. PMID: [15374879](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15374879/)
34. Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hofman A, Grobbee DE. Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation*. 1997; 96(5):1432–7. PMID: [9315528](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9315528/)
35. Lorenz MW, Polak JF, Kavousi M, Mathiesen EB, Völzke H, Tuomainen TP, et al. Carotid intima-media thickness progression to predict cardiovascular events in the general population (the PROG-IMT collaborative project): A meta-analysis of individual participant data. *Lancet*. 2012; 379(9831):2053–62. doi: [10.1016/S0140-6736\(12\)60441-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60441-3) PMID: [22541275](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22541275/)
36. Den Ruijter HM, Peters SAE, Anderson TJ, Britton AR, Dekker JM, Eijkemans MJ, et al. Common carotid intima-media thickness measurements in cardiovascular risk prediction: a meta-analysis. *JAMA* [Internet]. American Medical Association; 2012; 308(8):796–803. doi: [10.1001/jama.2012.9630](https://doi.org/10.1001/jama.2012.9630) PMID: [22910757](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22910757/)
37. Ciccone MM, Scicchitano P, Mitacchione G, Zito A, Gesualdo M, Caputo P, et al. Is there a correlation between OSAS duration/severity and carotid intima-media thickness? *Respir Med*. England; 2012 May; 106(5):740–6.

## 7. DISCUSSIÓ

### 7.1. OBJECTIU 1: RISC DE RECURRÈNCIA I FACTORS RELACIONATS

El primer article mostra que en pacients amb ACS tributaris de revascularització, el risc de recurrència precoç és molt alt. Els pacients amb ictus lleus o AIT tenen un risc de recurrència, incloent DNP, del 30% durant els primers 14 dies, però sobretot durant les primeres 24h. La taxa de recurrència ipsolateral durant els primers 14 dies és de l'11,5% (24% si es tenen en compte els AIT) i en un terç dels pacients la recurrència és incapacitant.

Estudis previs han descrit el risc de recurrència en pacients amb AC simptomàtica. No obstant això, la majoria han inclòs pacients no seleccionats, alguns no tributaris de revascularització per comorbiditats o per ictus incapacitant. Tampoc s'han analitzat les primeres hores d'evolució que resulten tant crucials. En l'estudi poblacional d'Oxford en pacients amb AIT i estenosi  $\geq 50\%$  es va trobar un risc de recurrència del 21% als 15 dies i del 32% als 90 dies, dades similars a les nostres. (Fairhead *et al.*, 2005) El fet d'haver inclòs el DNP amb progressió clínica com a recurrència en el primer article fa que les nostres xifres siguin lleugerament superiors.

Com a factor predictor de recurrència en aquest primer treball només hem trobat el grau d'estenosi. També en dos estudis previs realitzats en el nostre centre el fet de tenir una estenosi severa o una oclusió arterial fou el factor més important per patir DNP tant en ictus com en AIT de qualsevol etiologia. (Ois, Gomis, *et al.*, 2008; Ois, Martinez-Rodriguez, *et al.*, 2008)

En el segon article, on es va utilitzar la definició de recurrència basada en els assajos clínics, no es va trobar que el grau d'estenosi fos un factor associat. Tampoc en els assajos de revascularització el grau d'estenosi es va associar amb el risc de recurrència,

ni en altres estudis posteriors, que han trobat que el grau de vulnerabilitat de la placa és més rellevant que el grau d'estenosi pel risc de recurrència. (Eliasziw *et al.*, 2004; Marnane *et al.*, 2012; P. Rothwell *et al.*, 2004) En canvi, segons els nostres resultats, el grau d'estenosi sí que juga un paper clau en el risc de DNP, probablement per mecanismes hemodinàmics. (Blaser *et al.*, 2002)

L'únic factor predictiu de recurrència en l'estudi multicèntric ha estat l'edat. També a l'anàlisi conjunta dels assajos clínics, l'edat i la majoria de FRCV es van associar al risc de recurrència. (Rothwell *et al.*, 2003) La DM al primer article i la FA al segon mostren una tendència a l'associació. L'associació entre DM i recurrència després d'un AIT de qualsevol etiologia és àmpliament coneguda, per això és un factor clau a les escales de risc de recurrència. (Johnston *et al.*, 2000) En canvi, l'associació amb l'antecedent de FA en aquest subtipus de pacients no ha estat descrita ni avaluada prèviament. Aquesta troballa mereixeria ser investigada en futurs estudis degut a les seves possibles implicacions terapèutiques. Per últim, el tipus d'esdeveniment simptomàtic també mostra una tendència a l'associació, congruent amb els assajos de revascularització que sempre han trobat un major risc de recurrència en esdeveniments cerebrals respecte dels oculars. (Benavente *et al.*, 2001; P. Rothwell *et al.*, 2004)

Com a limitació cal destacar que dintre del grup de pacients amb EC 70-99% no s'han diferenciat aquells pacients amb disminució del flux distal descrits a la literatura com a quasi oclusions o *near occlusion*, que en els assajos de revascularització van mostrar un menor risc de recurrència a llarg termini. L'evolució inicial d'aquest tipus especial d'EC

severa s'hauria d'adreçar en futurs estudis, ja que hi ha pocs treballs realitzats i els seus resultats són controvertits. (Johansson *et al.*, 2015)

A diferència dels estudis previs publicats, als nostres treballs tots els pacients han estat atesos dintre de les primeres 24 hores i han rebut tractament mèdic de forma precoç. Pràcticament tots els pacients són tractats amb estatines a dosis altes des de la publicació de l'estudi SPARCLE i també hem objectivat un augment del percentatge de pacients tractats amb doble antiagregació en els darrers anys. Malgrat això, aquest percentatge encara és baix (9-28% en el segon treball), donat que els estudis que han mostrat el benefici de la teràpia són més recents i les guies de tractament encara no el recomanen com a primera elecció. (Wang *et al.*, 2013) Aquest fet és important, ja que alguns estudis recents no aleatoritzats han trobat un risc de recurrència abans de la cirurgia molt baix, pràcticament nul, en pacients amb ACS tractats amb teràpia dual antiagregant i estatines a dosis altes. (Shahidi *et al.*, 2013)

A pesar de les recomanacions només un 32% dels pacients reben la cirurgia abans dels 14 dies, essent la nostra cohort la que aporta un percentatge més baix (només un 16%). Això és degut a què hem inclòs pacients des del 2005, quan no existia la recomanació de cirurgia precoç i també al fet que la nostra cohort és la que aporta més pacients amb ictus respecte a les altres dues cohorts, que aporten més pacients amb AIT i símptomes oculars. La cirurgia en pacients amb ictus inicialment incapacitant es pot demorar més de dos setmanes, doncs es considera que la morbimortalitat quirúrgica pot ser superior.

El moment adient per a la cirurgia precoç continua sent objecte de debat. Mentre alguns estudis no troben augment de la morbimortalitat durant les primeres 72h en

pacients amb AIT o ictus minor, en altres estudis sí que en troben (Strömberg *et al.*, 2012). En el nostre estudi un 6,6% dels pacients tenen una recurrència ipsolateral durant els primers tres dies, gairebé el que es considera el risc quirúrgic acceptable en aquest tipus de pacients. (Kernan *et al.*, 2014) Són necessaris, per tant, estudis aleatoritzats que comparin l'efecte del tractament mèdic intensiu actual amb la revascularització urgent (<72h) i precoç (3-14 dies) per veure quina és la teràpia que mostra millor benefici en cada un d'aquests períodes on el risc de recurrència i morbimortalitat quirúrgica són diferents.

## **7.2. OBJECTIU 2: SEVERITAT I RISC DE DNP. PAPER DEL GRAU D'ESTENOSI**

El segon article descriu, per primera vegada, la fase més hiperaguda dels ictus deguts a AC en una cohort consecutiva sense seleccionar i inclouent-hi els pacients amb oclusions. En treballs previs s'havia descrit que la severitat inicial dels ictus LAA és menor que la dels CE i major que la dels LAC, però mai s'havia fet una anàlisi de pacients amb AC exclusivament. Tampoc no podem extreure dades sobre severitat inicial dels assajos de revascularització, ja que no es van incloure ictus incapacitants.

El nostre estudi mostra que, a la nostra població, 2/3 dels ictus per AC són lleus i només un 9% tenen un ictus sever. No obstant això, aproximadament 1/4 dels pacients presenten DNP durant les primeres 72h, empitjorant el seu pronòstic als tres mesos.

El principal factor associat a la severitat inicial és el grau d'estenosi. De fet, més de la meitat dels ictus severs són oclusions carotídiades. L'associació entre la severitat inicial i el grau d'EC no s'havia descrit prèviament, tot i que dos estudis anteriors havien trobat



un pitjor pronòstic inicial de les oclusions carotídies comparat amb graus menors d'estenosi. (Burke *et al.*, 2011; Weimar *et al.*, 2006)

Els altres factors associats a la severitat (AIT previ, estenosi intracranial i glicèmia inicial) han estat descrits prèviament en altres estudis que no necessàriament havien inclòs l'ictus per AC. (Luitse *et al.*, 2012; Weber *et al.*, 2011; Weimar *et al.*, 2006)

Pel que fa al risc de DNP, es confirma que en pacients amb ACS el grau d'estenosi és un factor determinant, essent més alt a les EC>70% i a les oclusions que a les estenosis 50-69%. Al primer article ja havíem descrit aquesta associació, però es tractava només d'una cohort d'ictus minor i AIT i no s'inclouien oclusions carotídies. En aquest tercer treball hem confirmat que l'associació es manté en tots els graus de severitat i que les oclusions carotídies tenen un risc major que les EC severes. El risc de DNP global és similar al del primer treball (23% en global) i arriba a gairebé un 40% a les EC severes i oclusions. Aquest resultat coincideixen amb els d'un estudi previ amb una cohort gran (n=4144) que va descriure una taxa més alta de DNP, mort intrahospitalària i pitjor estat funcional a l'alta als pacients amb oclusió carotídia que als pacients amb EC≥70% (Burke *et al.*, 2011). En aquest estudi, però, no queda clar com es va definir el DNP ni es van analitzar els factors relacionats. Com s'ha comentat abans, en pacients amb oclusions i estenosis severes el DNP podria explicar-se per un pitjor estat hemodinàmic, que dificultaria l'aclariment de possibles tromboembòlies distals i l'arribada de flux col·lateral (Alawneh *et al.*, 2009; Derdeyn, 2007). Malgrat tot, al nostre estudi no hem pogut analitzar els mecanismes relacionats amb el DNP en profunditat. Com es comenta a les limitacions del treball, no s'han realitzat estudis de vasoreactivitat cerebral que haurien pogut indicar els pacients amb una reserva

hemodinàmica exhausta, (Alvarez *et al.*, 2004) ni tampoc no s'ha pogut analitzar el paper de la circulació colateral per DTC o neuroimatgeria.

Els altres factors associats amb el risc de DNP ja s'havien descrit prèviament en pacients amb ictus de qualsevol etiologia com l'antecedent d'AIT previ (Ois *et al.*, 2008) i la TAM a l'arribada del pacient (Castillo *et al.*, 2004; Ois *et al.*, 2008), fet que podria traduir l'esgotament d'altres mecanismes compensatoris. Per últim, en aquest tercer estudi també destaquem la limitació de no haver pogut diferenciar les EC severes de les quasi oclusions.

### **7.3. OBJECTIU 3: BIOMARCADORS DE RECURRÈNCIA**

Els ictus LAA són el subtipus d'ictus amb un major risc d'esdeveniments vasculars segons un estudi recent realitzat a la nostra cohort Basicmar. (Ois *et al.*, 2013) Donada la rellevància que tindria el poder disposar de biomarcadors de recurrència en aquests pacients, hem analitzat el valor pronòstic de diferents molècules implicades en la fisiopatologia de l'arteriosclerosi. Hem objectivat que l'existència d'un nombre baix de CEP després d'un ictus LAA o IAM s'associa a un major risc d'esdeveniments vasculars durant els primers 6 mesos. No hem trobat, en canvi, cap relació amb les CEC.

Cap estudi previ no ha analitzat ictus i IAM, ni CEP i CEC a la mateixa cohort o a pacients en fase aguda (<24h d'evolució dels símptomes). Això és rellevant perquè al nostre estudi més d'un 30% de les recurrències es produeixen durant la primera setmana. En un estudi publicat fa uns mesos, s'ha descrit l'associació de les CEP als 7 dies després d'un ictus de qualsevol etiologia amb el risc de NVE (Marti-Fabregas *et al.*, 2015) En aquest estudi, que incloïa 121 pacients, tampoc no s'ha pogut demostrar una

associació exclusiva amb la recurrència d'ictus, possiblement degut al mida mostral, que és també la principal limitació del nostre estudi.

A banda d'aquest estudi, a l'apartat d'annexes hem inclòs l'abstract d'un estudi previ realitzat l'any 2010 (annex B) que és va presentar com a comunicació oral a la reunió anual de la SEN i al qual vàrem analitzar la relació de dos biomarcadors de DE (MA i LDL-ox) amb el risc de DNP en pacients amb ictus/AIT d'etiologia LAA i LAC. A l'anàlisi multivariable ajustada, les variables associades de forma independent amb el risc de DNP foren: MA [OR: 3,52 (95% IC: 1,40-8,41) P=0,007], TAM inicial [OR: 1,04, (95% IC: 1,01-1,06) P<0,001 per cada mmHg] i l'existència d'estenosi severa [OR: 3,23 (95% IC: 1,24-8,40) P=0,016] . Per cada increment de 1mg d'albuminúria l'OR ajustada fou 1,01 (95% IC: 1,002-1,018, P=0,01). A l'anàlisi multivariable ajustada pels valors de LDL-col i tractament amb estatines, els valors de LDL-ox també es van associar de forma independent amb el DNP [OR: 1.03, (95% IC: 1,02-1,06) P=0,034] per cada U/L. Cap d'aquestes associacions no s'havia descrit prèviament

Aquest estudi va conduir a una ulterior publicació (Cuadrado-Godia *et. al* 2011) que no s'ha inclòs dintre de les publicacions de la tesi ja que només va abastar els resultats dels ictus LAC.

Els mecanismes pels quals podem explicar les associacions descrites són hipotètics, ja que estem estudiant un procés cerebral amb biomarcadors de malaltia sistèmica. L'albuminúria tradueix un augment de la permeabilitat vascular, mentre que la LDL-ox es considera un marcador d'estrès oxidatiu (Roquer *et al.*, 2009). Totes dues molècules estan implicades en un augment de la rigidesa arterial, la qual cosa podria influir en el desenvolupament del DNP per alteració dels mecanismes d'autoregulació de flux

(Brinkley *et al.*, 2009; Ishikawa *et al.*, 2008). A més, l'augment de la permeabilitat vascular podria empitjorar altres mecanismes cel·lulars implicats en el DNP com el pas de citocines proinflamatòries (Castellanos *et al.*, 2002; Vila *et al.*, 2003). Per altra banda, les CEP tenen capacitat de mobilitzar-se i adherir-se a l'endoteli de vasos danyats. (Dzau *et al.*, 2005) La reducció del nombre d'aquestes cèl·lules reparadores podria afavorir la recurrència vascular en pacients amb arteriosclerosi evolucionada.

(Du F front biosci 2012)

## 8. CONCLUSIONS

1. En pacients amb AC simptomàtica tributaris de revascularització, la taxa de recurrència ipsolateral és 6,6 % als 3 dies, 11,5% als 14 dies i 18,8% als 90 dies. Un terç de les recurrències són incapacitants. L'edat i el tipus de símptoma inicial (cerebral vs.ocular) s'associen a un major risc de recurrència.
2. Els 75% dels ictus per AC tenen una severitat inicial lleu. No obstant això, un 23% presenta DNP durant les primeres 72h. El grau d'estenosi és el factor més important per al desenvolupament d'ictus sever i DNP en aquest subtipus d'ictus. Altres factors relacionats són l'antecedent d'AIT, que s'associa a una menor severitat inicial però a un risc més alt de DNP, i la TAM inicial, que també s'associa a un major risc de DNP.
3. El recompte baix de CEP dintre de les primeres 24h després d'un ictus LAA s'associa a un risc elevat de NVE durant els primers 6 mesos. Valors augmentats d'albuminúria i LDL-ox plasmàtica s'associen a un major risc de DNP.

## 9. IMPLICACIONS CLINIQUES

Els resultats d'aquesta tesi demostren que malgrat la millora en el tractament mèdic, els pacients amb ACS continuen tenint un risc elevat de DNP i recurrència abans de la cirurgia. Per tant, la primera implicació clínica que s'extrau d'aquests resultats és la importància d'identificar de forma ràpida la patologia carotídia en els pacients amb ictus/AIT agut, ja que les primeres hores d'evolució són crucials per al pronòstic posterior. Tot pacient amb sospita d'ictus/AIT requereix un estudi de troncs supraaòrtics dintre de les primeres hores i, en cas de detectar-se una estenosi severa o oclusió, s'hauria d'iniciar el tractament mèdic de forma ràpida i valorar l'ingrés en una unitat d'ictus durant els primers tres dies, quan el risc de DNP és molt alt. El tractament dual antiagregant i amb estatines a dosis elevades semblaria el més adient segons els darrers estudis, encara que no hi ha dades randomitzades. L'ús d'un conjunt de biomarcadors de DNP i recurrència com els analitzats en aquesta tesi podria ajudar a la identificació de pacients amb major risc, de qui s'hauria de valorar la revascularització ultraprecoç, dintre, si fos possible, d'un assaig clínic aleatoritzat. El recompte de les CEP en aquests pacients també pot ajudar a la selecció d'aquells amb risc més alt d'esdeveniments cardiovasculars futurs. En aquests pacients les teràpies de prevenció secundària i el seguiment mèdic haurien de ser molt estrets per assegurar el compliment terapèutic, el canvi d'estil de vida i valorar teràpies experimentals.

## 10. BIBLIOGRAFIA

**Abbott AL.** Medical (nonsurgical) intervention alone is now best for prevention of stroke associated with asymptomatic severe carotid stenosis: Results of a systematic review and analysis. *Stroke* 2009; 40: 573–584.

**Adams HP, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, et al.** Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke*. 1993; 24: 35–41.

**Alawneh JA, Moustafa RR, Baron JC.** Hemodynamic factors and perfusion abnormalities in early neurological deterioration. *Stroke* 2009; 40

**Alvarez B, Ruiz C, Chaín P, Alvarez-Sabin J, Matas M.** Serum values of metalloproteinase-2 and metalloproteinase-9 as related to unstable plaque and inflammatory cells in patients with greater than 70% carotid artery stenosis. *J. Vasc. Surg.* 2004; 40: 469–475.

**Alvarez FJ, Segura T, Castellanos M, Leira R, Blanco M, Castillo J, et al.** Cerebral hemodynamic reserve and early neurologic deterioration in acute ischemic stroke. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2004; 24: 1267–1271.

**Alvarez Garcia B, Ruiz C, Chacon P, Alvarez Sabin J, Matas M.** High-sensitivity C-reactive protein in high-grade carotid stenosis: Risk marker for unstable carotid plaque. *J. Vasc. Surg.* 2003; 38: 1018–1024.

**Alvarez Sabin J, Masjuan J.** Comprender el ictus. Amat editorial. 2013. ISBN ePub:978-84-9735-702-9

**Amarenco P, Bogousslavsky J, Callahan A, Goldstein LB, Hennerici M, Rudolph AE, et al.** High-dose atorvastatin after stroke or transient ischemic attack. *N. Engl. J. Med.* 2006; 355: 549–559.

**Amarenco P, Labreuche J, Lavallée P, Touboul PJ.** Statins in stroke prevention and carotid atherosclerosis: Systematic review and up-to-date meta-analysis. *Stroke* 2004; 35: 2902–2909.

**Amarenco P, Labreuche J.** Lipid management in the prevention of stroke: review and updated meta-analysis of statins for stroke prevention. *Lancet Neurol.* 2009; 8: 453–463.

**Ansel G, Strickman NE, Wang H, Cohen SA, Ph D, Massaro JM, et al.** Long-Term Results of Carotid Stenting versus Endarterectomy in High-Risk Patients. 2008: 1572–1579.

**Arenillas JF.** Intracranial atherosclerosis: Current concepts. In: *Stroke*. 2011.

**Arias-Rivas S, Vivancos-Mora J, Castillo J.** Epidemiología de los subtipos de ictus en pacientes hospitalizados atendidos por neurólogos: Resultados del registro EPICES (I). *Rev. Neurol.* 2012; 54: 385–393.

**Audebert HJ, Pellkofer TS, Wimmer ML, Haberl RL.** Progression in lacunar stroke is related to elevated acute phase parameters. *Eur. Neurol.* 2004; 51: 125–131.

**Badimon L, Fuster V.** Malalties cardiovasculars. Aterosclerosi i trombosi. 2012 Treball de la Societat Catalana de Biologia. 2012; 63:123-140

**Barnett HJM.** Benefit of endarterectomy in patients with symptomatic moderate or severe stenosis. *N. Engl. J. Med.* 1998; 339: 1415–1425.

**Baumgartner RW, Mattle HP, Schroth G.** Assessment of  $\geq 50\%$  and  $< 50\%$  intracranial stenoses by transcranial color-coded duplex sonography. *Stroke.* 1999; 30: 87–92.

**Benavente O, Eliasziw M, Streifler JY, Fox AJ, Barnett HJ, Meldrum H.** Prognosis after transient monocular blindness associated with carotid-artery stenosis. *N. Engl. J. Med.* 2001;345(15):1084-1090.

**Bhatt DL, Ohman EM, Hirsch AT, Richard AJ, Wilson PWF.** and Treatment of Cardiovascular Risk Factors in Outpatients With Atherothrombosis. *JAMA-JOURNAL Am. Med. Assoc.* 2014; 295: 180–189.

**Blaser T, Hofmann K, Buerger T, Effenberger O, Wallesch C-W, Goertler M.** Risk of Stroke, Transient Ischemic Attack, and Vessel Occlusion Before Endarterectomy in Patients With Symptomatic Severe Carotid Stenosis. *Stroke* 2002; 33: 1057–1062.

**Bonati LH, Dobson J, Algra A, Branchereau A, Chatellier G, Fraedrich G, et al.** Short-term outcome after stenting versus endarterectomy for symptomatic carotid stenosis: a preplanned meta-analysis of individual patient data. *Lancet* 2010; 376: 1062–73.

**Bonati LH, Lyrer P, Ederle J, Featherstone R, Brown MM.** Percutaneous transluminal balloon angioplasty and stenting for carotid artery stenosis. *Cochrane database Syst. Rev.* 2012; 9: CD000515.

**Brinkley TE, Nicklas BJ, Kanaya AM, Satterfield S, Lakatta EG, Simonsick EM, et al.** Plasma Oxidized Low-Density Lipoprotein Levels and Arterial Stiffness in Older Adults: The Health, Aging, and Body Composition Study. *Hypertension* 2009; 53: 846–852.

**Brott TG, Halperin JL, Abbara S, Bacharach JM, Barr JD, Bush RL, et al.** 2011 ASA/ACCF/AHA/AANN/AANS/ACR/ASNR/CNS/SAIP/ SCAI/SIR/SNIS/SVM/SVS Guideline on the management of patients with extracranial carotid and vertebral artery disease. A report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task F. *Circulation* 2011; 124: e54–130.



**Burke MJ, Vergouwen MDI, Fang J, Swartz RH, Kapral MK, Silver FL, et al.** Short-term outcomes after symptomatic internal carotid artery occlusion. *Stroke*. 2011; 42: 2419–24.

**Castellanos M, Castillo J, García MM, Leira R, Serena J, Chamorro A, et al.** Inflammation-mediated damage in progressing lacunar infarctions a potential therapeutic target. *Stroke* 2002; 33: 982–987.

**Castillo J, Leira R, García MM, Serena J, Blanco M, Dávalos A.** Blood Pressure Decrease during the Acute Phase of Ischemic Stroke Is Associated with Brain Injury and Poor Stroke Outcome. *Stroke* 2004; 35: 520–527.

**Castillo J.** Deteriorating Stroke: Diagnostic Criteria, Predictors, Mechanisms and Treatment. *Cerebrovasc. Dis.* 1999; 9(suppl 3): 1–8.

**Cayuela A, Cayuela L, Escudero-Martínez I, Rodríguez-Domínguez S, González A, Moniche F, et al.** Analysis of cerebrovascular mortality trends in Spain from 1980 to 2011. *Neurologia* 2014

**Chaturvedi S, Bhattacharya P.** Large artery atherosclerosis: carotid stenosis, vertebral artery disease, and intracranial atherosclerosis. *Continuum (Minneap. Minn)*. 2014; 20: 323–334.

**Committee NS. NASCET:** North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial. *Stroke* 1991; 22: 711–20.

**Craven TE, Ryu JE, Espeland MA, Kahl FR, McKinney WM, Toole JF, et al.** Evaluation of the associations between carotid artery atherosclerosis and coronary artery stenosis. A case-control study. *Circulation* 1990; 82: 1230–1242.

**Cuadrado-Godía E.** Early neurological deterioration, easy methods to detect it. *Indian J. Med. Res.* 2015; 141: 266–268.

**Cuadrado-Godía E, Ois A, García-Ramallo E, Giralte E, Jimena S, Rubio MA et al.** Biomarkers to predict clinical progression in small vessel disease strokes. Prognostic role of albuminuria and oxidized LDL cholesterol. *Atherosclerosis*. 2011; 219:368-372

**Dávalos A, Cendra E, Teruel J, Martínez M, Genís D.** Deteriorating ischemic stroke: risk factors and prognosis. *Neurology* 1990; 40: 1865–1869.

**Dawber TR, Meadors GF, Moore FE.** Epidemiological approaches to heart disease: the Framingham Study. *Am. J. Public Health* 1951; 41: 279–281.

**DeGraba TJ, Hallenbeck JM, Pettigrew KD, Dutka a J, Kelly BJ.** Progression in acute stroke: value of the initial NIH stroke scale score on patient stratification in future trials. *Stroke*. 1999; 30: 1208–1212.

- Demchuk a M, Burgin WS, Christou I, Felberg R a, Barber P a, Hill MD, et al.** Thrombolysis in brain ischemia (TIBI) transcranial Doppler flow grades predict clinical severity, early recovery, and mortality in patients treated with intravenous tissue plasminogen activator. *Stroke*. 2001; 32: 89–93.
- Derdeyn CP, Chimowitz MI, Lynn MJ, Fiorella D, Turan TN, Janis LS, et al.** Aggressive medical treatment with or without stenting in high-risk patients with intracranial artery stenosis (SAMMPRIS): The final results of a randomised trial. *Lancet* 2014; 383: 333–341.
- Derdeyn CP.** Mechanisms of Ischemic Stroke Secondary to Large Artery Atherosclerotic Disease. *Neuroimaging Clin. N. Am.* 2007; 17: 303–311.
- Díaz-Guzmán J, Bermejo-Pareja F, Benito-Leon J, Vega S, Gabriel R, Medrano MJ.** Prevalence of stroke and transient ischemic attack in three elderly populations of central Spain. *Neuroepidemiology* 2008; 30: 247–253.
- Díaz-Guzmán J, Egido J-A, Gabriel-Sánchez R, Barberá-Comes G, Fuentes-Gimeno B, Fernández-Pérez C.** Stroke and transient ischemic attack incidence rate in Spain: the IBERICTUS study. *Cerebrovasc. Dis.* 2012; 34: 272–81.
- Divya KP, Sandeep N, Sarma S, Sylaja PN.** Risk of Stroke and Cardiac Events in Medically Treated Asymptomatic Carotid Stenosis. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* 2015; 24: 2149–2153.
- Dzau VJ, Gneccchi M, Pachori AS, Morello F, Melo LG.** Therapeutic potential of endothelial progenitor cells in cardiovascular diseases. *Hypertension* 2005; 46: 7–18.
- Eckstein H-H, Ringleb P, Allenberg J-R, Berger J, Fraedrich G, Hacke W, et al.** Results of the Stent-Protected Angioplasty versus Carotid Endarterectomy (SPACE) study to treat symptomatic stenoses at 2 years: a multinational, prospective, randomised trial. *Lancet. Neurol.* 2008; 7: 893–902.
- Eliasziw M, Kennedy J, Hill MD, Buchan AM, Barnett HJM.** Early risk of stroke after a transient ischemic attack in patients with internal carotid artery disease. *Cmaj* 2004; 170: 1105–1109.
- Elkind MS, Tai W, Coates K, Paik MC, Sacco RL.** High-sensitivity C-reactive protein, lipoprotein-associated phospholipase A2, and outcome after ischemic stroke. *Arch Intern Med.* 2006; 166 (19):2073-80
- Fairhead JF, Mehta Z, Rothwell PM.** Population-based study of delays in carotid imaging and surgery and the risk of recurrent stroke. *Neurology* 2005; 65: 371–375.
- Faxon DP, Fuster V, Libby P, Beckman J a., Hiatt WR, Thompson RW, et al.** Atherosclerotic vascular disease conference. Writing group III: Pathophysiology. *Circulation* 2004; 109: 2617–2625.

**Figuroa AL, Subramanian SS, Cury RC, Truong Q a., Gardecki J a., Tearney GJ, et al.** Distribution of inflammation within carotid atherosclerotic plaques with high-risk morphological features a comparison between positron emission tomography activity, plaque morphology, and histopathology. *Circ. Cardiovasc. Imaging* 2012; 5: 69–77.

**Fisher M, Paganini-Hill A, Martin A, Cosgrove M, Toole JF, Barnett HJM, et al.** Carotid plaque pathology: Thrombosis, ulceration, and stroke pathogenesis. *Stroke* 2005; 36: 253–257.

**Fox AJ, Eliasziw M, Rothwell PM, Schmidt MH, Warlow CP.** Identification , Prognosis , and Management of Patients with Carotid Artery Near Occlusion. 2005: 2086–2094.

**Freixa X, Masotti M, Palomo M, Diaz-Ricart M, Escolar G, Guasch E, et al.** Endothelin-1 levels predict endothelial progenitor cell mobilization after acute myocardial infarction. *Microvasc. Res.* 2011; 82: 177–181.

**Fried LP, Borhani NO, Enright P, Furberg CD, Gardin JM, Kronmal RA, et al.** The cardiovascular health study: Design and rationale. *Ann. Epidemiol.* 1991; 1: 263–276.

**Fuentes B, Gállego J, Gil-Nuñez A, Morales A, Purroy F, Roquer J, et al.** Guía para el tratamiento preventivo del ictus isquémico y AIT (II). Recomendaciones según subtipo etiológico. *Neurología* 2014; 29: 168–183.

**Gladstone DJ, Oh J, Fang J, Lindsay P, Tu J V., Silver FL, et al.** Urgency of carotid endarterectomy for secondary stroke prevention: Results from the registry of the canadian stroke network. *Stroke* 2009; 40: 2776–2782.

**Goff DC, Lloyd-Jones DM, Bennett G, Coady S, D’Agostino RB, Gibbons R, et al.** 2013 ACC/AHA guideline on the assessment of cardiovascular risk: A report of the American college of cardiology/American heart association task force on practice guidelines. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2014; 63: 2935–2959.

**Goldstein LB, Bushnell CD, Adams RJ, Appel LJ, Braun LT, Chaturvedi S, et al.** Guidelines for the primary prevention of stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke.* 2011; 42: 517–84.

**Goldstein MR, Mascitelli L, Pezzetta F.** Hemorrhagic stroke in the Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels study. *Neurology* 2009; 72: 1448; author reply 1448–9.

**Gómez M, Valle V, Arós F, Sanz G, Sala J, Fiol M, et al.** LDL oxidada, lipoproteína(a) y otros factores de riesgo emergentes en el infarto agudo de miocardio (estudio FORTIAM). *Rev. Esp. Cardiol.* 2009; 62: 373–382.

**Gorelick PB, Wong KS, Bae HJ, Pandey DK.** Large artery intracranial occlusive disease: A large worldwide burden but a relatively neglected frontier. *Stroke* 2008; 39: 2396–2399.

**Gouya G, Arrich J, Wolzt M, Huber K, Verheugt FW a, Gurbel P a., et al.** Antiplatelet treatment for prevention of cerebrovascular events in patients with vascular diseases: A systematic review and meta-analysis. *Stroke* 2014; 45: 492–503.

**Grant EG, Benson CB, Moneta GL, Alexandrov A V, Baker JD, Bluth EI, et al.** Carotid artery stenosis: grayscale and Doppler ultrasound diagnosis--Society of Radiologists in Ultrasound consensus conference. *Ultrasound Q.* 2003; 19: 190–198.

**Grau AJ, Weimar C, Bugge F, Heinrich A, Goertler M, Neumaier S, et al.** Risk factors, outcome, and treatment in subtypes of ischemic stroke: the German stroke data bank. *Stroke.* 2001; 32: 2559–2566.

**Grau M, Subirana I, Elosua R, Solanas P, Ramos R, Masiá R, et al.** Trends in cardiovascular risk factor prevalence (1995-2000-2005) in northeastern Spain. *Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil.* 2007; 14: 653–659.

**Greenland P, Knoll MD, Stamler J.** Major risk factors as antecedents of fatal and nonfatal coronary heart disease events. *ACC Curr. J. Rev.* 2003; 12: 23–24.

**Grotta JC.** Clinical practice. Carotid stenosis. *N. Engl. J. Med.* 2013; 369: 1143–50.

**Hacke W, Kaste M, Bluhmki E, Brozman M, Davalos A, Guidetti D, et al.** Thrombolysis with alteplase 3 to 4.5 hours after acute ischemic stroke. *N. Engl. J. Med.* 2008; 359: 1317–1329.

**Halliday AW, Thomas D, Mansfield A.** The Asymptomatic Carotid Surgery Trial (ACST). Rationale and design. Steering Committee. *Eur. J. Vasc. Surg.* 1994; 8: 703–710.

**Henderson RD, Eliasziw M, Fox AJ, Rothwell PM, Barnett HJ.** Angiographically defined collateral circulation and risk of stroke in patients with severe carotid artery stenosis. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial (NASCET) Group. *Stroke;* 31 (1): 128-132

**Hong K-S, Yegiaian S, Lee M, Lee J, Saver JL.** Declining Stroke and Vascular Event Recurrence Rates in Secondary Prevention Trials Over the Past 50 Years and Consequences for Current Trial Design. *Circ.* 2011; 123 : 2111–2119.

**Huang Y, Li M, Li JY, Li M, Xia YP, Mao L, et al.** The Efficacy and Adverse Reaction of Bleeding of Clopidogrel plus Aspirin as Compared to Aspirin Alone after Stroke or TIA: A Systematic Review. *PLoS One* 2013; 8: e65754.

**Ishikawa T, Hashimoto J, Morito RH, Hanazawa T, Aikawa T, Hara A, et al.** Association of microalbuminuria with brachial-ankle pulse wave velocity: the Ohasama study. *Am. J. Hypertens.* 2008; 21: 413–418.

**Johansson E, Ohman K, Wester P.** Symptomatic carotid near-occlusion with full collapse might cause a very high risk of stroke. *J. Intern. Med.* 2015; 277: 615–623.

**Johnston DC, Goldstein LB.** Clinical carotid endarterectomy decision making: noninvasive vascular imaging versus angiography. *Neurology* 2001; 56: 1009–1015.

**Johnston SC, Gress DR, Browner WS, Sidney S.** Short-term prognosis after emergency department diagnosis of TIA. *JAMA* 2000; 284: 2901–2906.

**Kappelle LK, Eliasziw M, Fox AJ, Sharpe BL, Barnett HJ.** Importance of intracranial atherosclerotic disease in patients with symptomatic stenosis of the internal carotid artery. The North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial. *Stroke.* 1999; 30 (2):282-286

**Kernan WN, Ovbiagele B, Black HR, Bravata DM, Chimowitz MI, Ezekowitz MD, et al.** Guidelines for the prevention of stroke in patients with stroke and transient ischemic attack: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke.* 2014;45 (7):2160-2236

**Khot UN, Khot MB, Bajzer CT, Sapp SK, Ohman EM, Brener SJ, et al.** Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. *JAMA-JOURNAL Am. Med. Assoc.* 2003; 290: 898–904.

**Kim YS, Lee KY, Koh SH, Park CY, Kim HY, Lee YJ, et al.** The role of matrix metalloproteinase 9 in early neurological worsening of acute lacunar infarction. *Eur. Neurol.* 2006; 55: 11–15.

**Kinlay S.** Changes in stroke epidemiology, prevention, and treatment. *Circulation* 2011; 124: e494–6.

**Kolominsky-Rabas PL, Wiedmann S, Weingärtner M, Liman TG, Endres M, Schwab S, et al.** Time Trends in Incidence of Pathological and Etiological Stroke Subtypes during 16 Years: The Erlangen Stroke Project. *Neuroepidemiology* 2015; 44: 24–29.

**Kotseva K, Wood D, De Bacquer D, De Backer G, Ryden L, Jennings C, et al.** EUROASPIRE IV: A European Society of Cardiology survey on the lifestyle, risk factor and therapeutic management of coronary patients from 24 European countries. *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2015: 59–61.

**Lackland DT, Elkind MS V, D’Agostino R, Dhamoon MS, Goff DC, Higashida RT, et al.** Inclusion of stroke in cardiovascular risk prediction instruments: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke.* 2012; 43: 1998–2027.

**Lal BK, Beach KW, Roubin GS, Lutsep HL, Moore WS, Malas MB, et al.** Restenosis after carotid artery stenting and endarterectomy: a secondary analysis of CREST, a randomised controlled trial. *Lancet. Neurol.* 2012; 11: 755–763.

**Lal BK, Hobson RW, Pappas PJ, Kubicka R, Hameed M, Chakhtura EY, et al.** Pixel distribution analysis of B-mode ultrasound scan images predicts histologic features of atherosclerotic carotid plaques. *J. Vasc. Surg.* 2002; 35: 1210–1217.

**Lehoux S.** Redox signalling in vascular responses to shear and stretch. *Cardiovasc. Res.* 2006; 71: 269–279.

**Libby P.** Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420: 868–74.

**Lovett JK, Coull a J, Rothwell PM.** Early risk of recurrence by subtype of ischemic stroke in population-based incidence studies. *Neurology* 2004; 62: 569–573.

**Luebke T, Brunkwall J.** Meta- analysis and meta-regression analysis of the associations between sex and the operative outcomes of carotid endarterectomy. *BMC Cardiovasc. Disord.* 2015; 15: 32.

**Luitse MJA, Biessels GJ, Rutten GEHM, Kappelle LJ.** Diabetes, hyperglycaemia, and acute ischaemic stroke. *Lancet. Neurol.* 2012; 11: 261–271.

**Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS.** Oxidative stress and vascular disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005; 25: 29–38.

**Markus HS, Droste DW, Kaps M, Larrue V, Lees KR, Siebler M, et al.** Dual antiplatelet therapy with clopidogrel and aspirin in symptomatic carotid stenosis evaluated using doppler embolic signal detection: The clopidogrel and aspirin for reduction of emboli in symptomatic carotid stenosis (CARESS) trial. *Circulation* 2005; 111: 2233–2240.

**Marnane M, Merwick A, Sheehan OC, Hannon N, Foran P, Grant T, et al.** Carotid plaque inflammation on 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography predicts early stroke recurrence. *Ann. Neurol.* 2012; 71: 709–718.

**Marquardt L, Geraghty OC, Mehta Z, Rothwell PM.** Low risk of ipsilateral stroke in patients with asymptomatic carotid stenosis on best medical treatment: A prospective, population-based study. *Stroke* 2010; 41: 11–18.

**Marrugat J, Subirana I, Comín E, Cabezas C, Vila J, Elosua R, et al.** Validity of an adaptation of the Framingham cardiovascular risk function: the VERIFICA Study. *J. Epidemiol. Community Health* 2007; 61: 40–47.

**Marrugat J, Vila J, Baena-Díez JM, Grau M, Sala J, Ramos R, et al.** Validez relativa de la estimación del riesgo cardiovascular a 10 años en una cohorte poblacional del estudio REGICOR. *Rev. Esp. Cardiol.* 2011; 64: 385–394.

**Marti-Fabregas J, Delgado-Mederos R, Crespo J, Pena E, Marin R, Jimenez-Xarrie E, et al.** Circulating endothelial progenitor cells and the risk of vascular events after ischemic stroke. *PLoS One* 2015; 10: e0124895.

**Molloy J, Markus HS.** Asymptomatic embolization predicts stroke and TIA risk in patients with carotid artery stenosis. *Stroke*. 1999; 30: 1440–1443.

**Moore WS.** For Severe Carotid Stenosis Found on Ultrasound, Further Arterial Evaluation Is Unnecessary. *Stroke* 2003; 34: 1816–1817.

**Mayberg MR, Wilson SE, Yatsu F, Weiss DG, Messina L, Hershey LA, et al.** Carotid endarterectomy and prevention of cerebral ischemia in symptomatic carotid stenosis. *JAMA* 1991; 266: 3289–3294.

**Nederkoorn PJ, Van Der Graaf Y, Hunink MGM.** Duplex ultrasound and magnetic resonance angiography compared with digital subtraction angiography in carotid artery stenosis: A systematic review. *Stroke* 2003; 34: 1324–1331.

**Nishi K, Itabe H, Uno M, Kitazato KT, Horiguchi H, Shinno K, et al.** Oxidized LDL in carotid plaques and plasma associates with plaque instability. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2002; 22: 1649–1654.

**Norris JW, Zhu CZ, Bornstein NM, Chambers BR.** Vascular risks of asymptomatic carotid stenosis. *Stroke*. 1991; 22: 1485–1490.

**O'Donnell MJ, Denis X, Liu L, Zhang H, Chin SL, Rao-Melacini P, et al.** Risk factors for ischaemic and intracerebral haemorrhagic stroke in 22 countries (the INTERSTROKE study): A case-control study. *Lancet* 2010; 376: 112–123.

**Ois A, Cuadrado-Godia E, Rodríguez-Campello A, Giralte-Steinhauer E, Jiménez-Conde J, Lopez-Cuiña M, et al.** Relevance of stroke subtype in vascular risk prediction. *Neurology* 2013; 81: 575–80.

**Ois A, Gomis M, Rodríguez-Campello A, Cuadrado-Godia E, Jiménez-Conde J, Pont-Sunyer C, et al.** Factors associated with a high risk of recurrence in patients with transient ischemic attack or minor stroke. *Stroke*. 2008; 39: 1717–21.

**Ois A, Martínez-Rodríguez JE, Munteis E, Gomis M, Rodríguez-Campello A, Jiménez-Conde J, et al.** Steno-occlusive arterial disease and early neurological deterioration in acute ischemic stroke. *Cerebrovasc. Dis.* 2008; 25: 151–6.

**Ovbiagele B.** Microalbuminuria: Risk factor and potential therapeutic target for stroke? *J. Neurol. Sci.* 2008; 271: 21–28.

**Pacher P, Beckman JS, Liaudet L.** Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol. Rev.* 2007; 87: 315–424.

**Poisson SN, Johnston SC, Sidney S, Klingman JG, Nguyen-Huynh MN.** Gender differences in treatment of severe carotid stenosis after transient ischemic attack. *Stroke* 2010; 41: 1891–1895.

**Purroy F, Montaner J, Molina C a., Delgado P, Ribo M, Álvarez-Sabín J.** Patterns and predictors of early risk of recurrence after transient ischemic attack with respect to etiologic subtypes. *Stroke* 2007; 38: 3225–3229.

**Rantner B, Pavelka M, Posch L, Schmidauer C, Fraedrich G.** Carotid endarterectomy after ischemic stroke - Is there a justification for delayed surgery? *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2005; 30: 36–40.

**Ratchford E V, Jin Z, Di Tullio MR, Salameh MJ, Homma S, Gan R, et al.** Carotid bruit for detection of hemodynamically significant carotid stenosis: the Northern Manhattan Study. *Neurol. Res.* 2009; 31: 748–752.

**Regueiro A, Cuadrado-Godia E, Bueno-Betí C, Diaz-Ricart M, Oliveras A, Novella S, et al.** Mobilization of endothelial progenitor cells in acute cardiovascular events in the PROCELL study: Time-course after acute myocardial infarction and stroke. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2015; 80: 146–155.

**Rerkasem K, Rothwell PM.** Systematic review of the operative risks of carotid endarterectomy for recently symptomatic stenosis in relation to the timing of surgery. *Stroke* 2009; 40

**Roquer J, Rodríguez-Campello A, Gomis M, Jiménez-Conde J, Cuadrado-Godia E, Vivanco R, et al.** Acute stroke unit care and early neurological deterioration in ischemic stroke. *J. Neurol.* 2008; 255: 1012–7.

**Roquer J, Segura T, Serena J, Castillo J.** Endothelial dysfunction, vascular disease and stroke: The ARTICO study. In: *Cerebrovascular Diseases*. 2009. p. 25–37.

**Roquer J, Segura T, Serena J, Cuadrado-Godia E, Blanco M, García-García J, et al.** Value of carotid intima-media thickness and significant carotid stenosis as markers of stroke recurrence. *Stroke* 2011; 42: 3099–3104.

**Ross R.** Atherosclerosis — An Inflammatory Disease. *N. Engl. J. Med.* 1999; 340: 115–126.

**Rothwell P, Eliasziw M, Gutnikov S, Fox A, Taylor D, Mayberg M, et al.** Analysis of pooled data from the randomised controlled trials of endarterectomy for symptomatic carotid stenosis. *Lancet* 2003; 361: 107–116.

**Rothwell P, Eliasziw M, Gutnikov S, Warlow C, Barnett HJM.** Endarterectomy for symptomatic carotid stenosis in relation to clinical subgroups. *Lancet* 2004; 363: 915–24.



**Rothwell PM, Eliasziw M, Gutnikov S a., Warlow CP, Barnett HJM.** Sex difference in the effect of time from symptoms to surgery on benefit from carotid endarterectomy for transient ischemic attack and nondisabling stroke. *Stroke* 2004; 35: 2855–2861.

**Rundek T, Arif H, Boden-Albala B, Elkind MS, Paik MC, Sacco RL.** Carotid plaque, a subclinical precursor of vascular events: the Northern Manhattan Study. *Neurology* 2008; 70: 1200–1207.

**Salem MK, Sayers RD, Bown MJ, Eveson DJ, Robinson TG, Naylor a. R.** Rapid access carotid endarterectomy can be performed in the hyperacute period without a significant increase in procedural risks. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2011; 41: 222–228.

**Samuels OB, Joseph GJ, Lynn MJ, Smith H a, Chimowitz MI.** A standardized method for measuring intracranial arterial stenosis. *AJNR. Am. J. Neuroradiol.* 2000; 21: 643–646.

**Sbarigia E, Toni D, Speziale F, Acconcia MC, Fiorani P.** Early Carotid Endarterectomy after Ischemic Stroke: The Results of a Prospective Multicenter Italian Study. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2006; 32: 229–235.

**Schneider AT, Kissela B, Woo D, Kleindorfer D, Alwell K, Miller R, et al.** Ischemic stroke subtypes: A population-based study of incidence rates among blacks and whites. *Stroke* 2004; 35: 1552–1556.

**Segal HC, Burgess AI, Poole DL, Mehta Z, Silver LE, Rothwell PM.** Population-based study of blood biomarkers in prediction of subacute recurrent stroke. *Stroke*.2014;45(10):2912-2917.

**Selwaness M, van den Bouwhuijsen Q, van Onkelen RS, Hofman A, Franco OH, van der Lugt A, et al.** Atherosclerotic plaque in the left carotid artery is more vulnerable than in the right. *Stroke.* 2014; 45: 3226–3230.

**Serena J, Leira R, Castillo J, Pumar JM, Castellanos M, Dávalos a.** Neurological deterioration in acute lacunar infarctions: the role of excitatory and inhibitory neurotransmitters. *Stroke.* 2001; 32: 1154–1161.

**Sette M Del, Sette M Del, Eliasziw M, Eliasziw M, Streifler JY, Streifler JY, et al.** Internal Borderzone Infarction. *Group* 2000: 631–636.

**Shahidi S, Owen-Falkenberg A, Hjerpsted U, Rai A, Ellemann K.** Urgent best medical therapy may obviate the need for urgent surgery in patients with symptomatic carotid stenosis. *Stroke* 2013; 44: 2220–2225.

**Siebler M, Nachtmann A, Sitzer M, Rose G, Kleinschmidt A, Rademacher J, et al.** Cerebral Microembolism and the Risk of Ischemia in Asymptomatic High-Grade Internal Carotid Artery Stenosis. *Stroke* 1995; 26 : 2184–2186.

**Strömberg S, Gelin J, Österberg T, Bergström GML, Karlström L, Österberg K.** Very urgent carotid endarterectomy confers increased procedural risk. *Stroke* 2012; 43: 1331–1335.

**Strong JP, Malcom GT, McMahan CA, Tracy RE, Iii WPN, Herderick EE, et al.** Prevalence and extent of atherosclerosis in adolescents and young adults. *Jama* 1999; 281: 727–735.

**Thanvi B, Treadwell S, Robinson T.** Early neurological deterioration in acute ischaemic stroke: predictors, mechanisms and management. *Postgrad. Med. J.* 2008; 84: 412–417.

**Thompson RC, Allam AH, Lombardi GP, Wann LS, Sutherland ML, Sutherland JD, et al.** Atherosclerosis across 4000 years of human history: The Horus study of four ancient populations. *Lancet* 2013; 381: 1211–1222.

**Vila N, Castillo J, Dávalos A, Esteve A, Planas AM, Chamorro Á.** Levels of anti-inflammatory cytokines and neurological worsening in acute ischemic stroke. *Stroke* 2003; 34: 671–675.

**Wang YY, Zhao X, Liu L, Wang D, Wang CC, Li H, et al.** Clopidogrel with aspirin in acute minor stroke or transient ischemic attack. *N. Engl. J. Med.* 2013; 369: 11–9.

**Warlow C, Farrell B, Fraser A, Sandercock P, Slattery J.** Randomised trial of endarterectomy for recently symptomatic carotid stenosis: Final results of the MRC European Carotid Surgery Trial (ECST). *Lancet* 1998; 351: 1379–1387.

**Weber R, Diener HC, Weimar C.** Why do acute ischemic stroke patients with a preceding transient ischemic attack present with less severe strokes? - Insights from the German stroke study. *Eur. Neurol.* 2011; 66: 265–270.

**De Weerd M, Greving JP, Hedblad B, Lorenz MW, Mathiesen EB, O’Leary DH, et al.** Prevalence of asymptomatic carotid artery stenosis in the general population: an individual participant data meta-analysis. *Stroke.* 2010; 41: 1294–1297.

**Weimar C, Goertler M, Harms L, Diener H-C.** Distribution and outcome of symptomatic stenoses and occlusions in patients with acute cerebral ischemia. *Arch. Neurol.* 2006; 63: 1287–1291.

**White H, Boden-Albala B, Wang C, Elkind MS V, Rundek T, Wright CB, et al.** Ischemic stroke subtype incidence among whites, blacks, and Hispanics: The northern Manhattan study. *Circulation* 2005; 111: 1327–1331.

**World Health Organization.** The top 10 causes of death. Fact sheet N°310. Updated May, 2014. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/> (accessed Sept 09, 2015).

**Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger a M, Silbershatz H, Kannel WB.**

Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation* 1998; 97: 1837–1847.

**Wong KSL, Wang Y, Leng X, Mao C, Tang J, Bath PMW, et al.** Early dual versus mono antiplatelet therapy for acute non-cardioembolic ischemic stroke or transient ischemic attack: an updated systematic review and meta-analysis. *Circulation* 2013; 128: 1656–1666.

**Wong LKS.** Global burden of intracranial atherosclerosis. *Int. J. Stroke* 2006; 1: 158–159.

**Woo K, Garg J, Hye RJ, Dilley RB.** Contemporary results of carotid endarterectomy for asymptomatic carotid stenosis. *Stroke* 2010; 41: 975–979.

**Yadav JS, Wholey MH, Kuntz RE, Fayad P, Katzen BT, Mishkel GJ, et al.** Protected carotid-artery stenting versus endarterectomy in high-risk patients. *N. Engl. J. Med.* 2004; 351: 1493–1501.

**Young B, Moore WS, Robertson JT, Toole JF, Ernst CB, Cohen SN, et al.** An analysis of perioperative surgical mortality and morbidity in the asymptomatic carotid atherosclerosis study. ACAS Investigators. Asymptomatic Carotid Atherosclerosis Study. *Stroke.* 1996;27 (12):2216-2224

**Yusuf PS, Hawken S, Ôunpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, et al.** Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): Case-control study. *Lancet* 2004; 364: 937–952.

## **11. ANNEXOS**

### **11.1 Annex A: Acrònims i abreviacions.**

AAS: àcid acetilsalicílic

AC: arteriosclerosi carotídia

ACI: artèria caròtide interna

ACE: artèria caròtide externa

ACS: arteriosclerosi carotídia simptomàtica

Afx: amaurosi fugaç

ApoB: apoproteïna B

CAC score: puntuació de calci intracoronari

CAS: angioplàstia carotídia

CE: ictus secundaris a cardioembolisme

CEA: endoarteriectomia carotídia

CEC: cèl·lules endotelials circulants

CEP: cèl·lules endotelials progenitores

CV: cardiovascular

DE: disfunció endotelial

DNP: deteriorament neurològic precoç

DSA: angiografia amb sostracció digital

DTC: doppler transcranial

EC: estenosi carotídia

FRCV: factors de risc cardiovasculars

GIM: gruix íntima-mitjana carotídi

hs-CRP: proteïna C reactiva de alta sensibilitat

IAM: infart agut de miocardi

IS: Ictus de causa infreqüent

ITB: índex turmell-braç

LAA: Ictus deguts a arteriosclerosi de gran vas (*large artery atherosclerosis*)

LAC: ictus lacunars

LDL-ox: lipoproteïna de baixa densitat oxidada

RAR: Reducció absoluta del risc

**11.2 Annex B: ABSTRACT SEN 2010:**Disfunción endotelial y deterioro neurológico

precoz en el ictus aterotrombótico y lacunar. Cuadrado-Godia E, Ois A, Garcia-Ramallo E, Giralt E, Jimena S, Rubio MA, Rodríguez-Campello A, Jiménez-Conde J, Roquer. Abstract. Neurologia.2010; 25 (Espec Congr):36



# NEUROLOGÍA

www.elsevier.es/neurologia



## COMUNICACIONES ORALES

### LXII Reunión Anual de la Sociedad Española de Neurología

Barcelona, 16-20 de noviembre de 2010

36

LXII Reunión Anual de la Sociedad Española de Neurología

#### DISFUNCIÓN ENDOTELIAL Y DETERIORO NEUROLÓGICO PRECOZ EN EL ICTUS ATEROTROMBÓTICO Y LACUNAR

E. Cuadrado-Godia, E. García-Ramallo, A. Ois Santiago, E. Giralt, A. Rodríguez-Campello, J. Jiménez-Conde y J. Roquer

*Programa de Investigación en Inflamación y Procesos Cardiovasculares. Instituto Municipal de Investigación Médica. Barcelona.*

**Objetivos:** Analizar el papel de la disfunción endotelial (DE) medida mediante niveles de microalbuminuria (MA) y LDL-oxidada plasmática (ox-LDL) en el desarrollo de DNP.

**Material y métodos:** Pacientes consecutivos ingresados entre diciembre 2007 y diciembre 2009 por ictus aterotrombótico o lacunar. Definimos DNP como el empeoramiento  $\geq 4$  puntos de NIHSS en 72h. La MA se determinó en una muestra urinaria matutina a las 24h. Para confirmar el papel de la DE los niveles de ox-LDL basales fueron analizados en una cohorte diferente seleccionada de 90 pacientes (30 con DNP y 60 sin DNP) controlados por edad, sexo y etiología.

**Resultados:** La prevalencia de MA fue el doble en los pacientes con DNP 53,1% vs 27,1% ( $p = 0,005$ ). En el estudio multivariado el riesgo de DNP se asoció a la presencia de MA (OR: 3,52, IC95%: 1,40-8,41;  $p = 0,007$ ), presión arterial media (OR: 1,04, IC95%: 1,01-1,06;  $p < 0,001$ ) y estenosis carotídea ipsilateral  $\geq 70\%$  (OR: 3,23, IC95%: 1,24-8,40;  $p = 0,016$ ). Los niveles de ox-LDL fueron superiores en el grupo de DNP [media (DE): 76,70 (21,48) U/L vs 64,98 (23,77) U/L,  $p = 0,025$ ]. Ajustando por LDL-colesterol y pretratamiento con estatinas, los niveles de ox-LDL se asociaron independientemente con el riesgo de DNP (OR: 1,03, IC95%: 1,02-1,06,  $p = 0,034$ ).

**Conclusiones:** La DE es un factor determinante en el desarrollo de DNP. Los marcadores de DE pueden ser útiles en la estratificación del riesgo.)

