



Universitat de Lleida

PSICOICTUS: avaluació i pronòstic de les alteracions afectives i cognitives després d'un ictus minor. Abordatge translacional

Cristina Pereira Priego

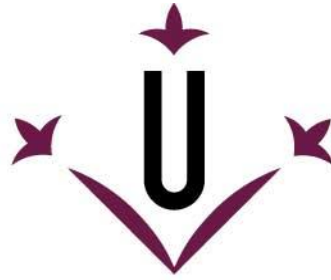
<http://hdl.handle.net/10803/688105>



PSICOICTUS: avaluació i pronòstic de les alteracions afectives i cognitives després d'un ictus minor. Abordatge translacional està subjecte a una llicència de [Reconeixement-NoComercial-CompartirIgual 4.0 No adaptada de Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Les publicacions incloses en la tesi no estan subjectes a aquesta llicència i es mantenen sota les condicions originals.

(c) 2023, Cristina Pereira Priego



Universitat de Lleida

TESI DOCTORAL

**PSICOICTUS: avaluació i pronòstic de les alteracions
afectives i cognitives després d'un ictus minor.
Abordatge translacional**

Cristina Pereira Priego

Memòria presentada per optar al grau de Doctora per la Universitat de Lleida

Programa de Doctorat en Salut

Directors/ra

Dr. Francisco Purroy Garcia

Dr. Gerard Piñol Ripoll

Dra. Glòria Arqué Fusté

Tutor

Dr. Reinald Pamplona Gras

2023

“ Res a la vida és per ser temut, és només per ser comprès. Ara és el moment d’entendre més, de manera que puguem témer menys”

- Marie Curie-

ÍNDEX DE CONTINGUTS

Índex de continguts

AGRAÏMENTS.....	14
RESUM-RESUMEN-ABSTRACT	19
ACRÒNIMS.....	25
1. Introducció	31
1. 1 L'ictus.....	31
1.1.1 Subtipus d'ictus isquèmic segons l'etiologia i la simptomatologia clínica	33
1.1.2 Incidència, epidemiologia i factors de risc de l'ictus isquèmic	35
1.1.3 Diagnòstic de l'ictus isquèmic	39
1.1.4 Tractament de l'ictus isquèmic en la fase aguda	40
1.1.5 Maneig del pacient amb ictus isquèmic en la fase post-aguda	42
1.2 La Unitat Neurovascular, l'entorn cel·lular del mecanisme fisiopatològic de l'ictus isquèmic..	44
1.2.1 Mecanismes fisiopatològics de l'ictus isquèmic: la cascada isquèmica	45
1.3 Estratègies de recerca de biomarcadors de pronòstic.....	49
1.3.1 Biomarcadors de neuroimatge.....	49
1.3.2 Biomarcadors circulants	51
1.3.2.1 Biomarcadors circulants de l'ictus isquèmic	51
1.4 Ictus Minor, com a entitat clínica.....	53
1.4.1 Tractament de la fase aguda de l'ictus minor	55
1.4.2 Ictus Minor, patologia susceptible a patir alteracions afectives i cognitives.....	56
1.4.2.1 Biomarcadors de neuroimatge de la depressió i el deteriorament cognitiu després d'un ictus minor	59
1.4.2.2 Biomarcadors circulants de la depressió i deteriorament cognitiu després d'un ictus minor	61
1.5 Models preclínic d'ictus isquèmic i factors de risc vascular	65
1.5.1 Models animals preclínic d'ictus isquèmic	65
1.5.2 Models animals preclínic de factors de risc vasculars	67
1.5.2.1 Models animals de diabetis mellitus tipus 2	68
1.5.2.2 Models animals d'hipertensió arterial	69
1.6 Justificació de la tesi.....	71
2. Hipòtesis i objectius	75
3. Materials i mètodes	80

3.1 Cohort PSICOICTUS.....	80
3.1.1 Aspectes ètics de l'estudi	83
3.1.2 Recollida de dades.....	83
3.1.2.1 Variables sociodemogràfiques	83
3.1.2.2 Variables clíniques neurològiques i farmacològiques	84
3.1.2.3 Cribratge del perfil afectiu i d'apatia.....	84
3.1.2.4 Cribratge de la funció cognitiva i bateria neuropsicològica	85
3.1.2.5 Avaluació de la qualitat de vida i la funcionalitat post-ictus.....	89
3.1.2.6 Extracció, recollida i emmagatzematge de mostres	89
3.1.2.7 Perfil bioquímic dels pacients inclosos a l'estudi	89
3.1.3 Anàlisi dades de neuroimatge	90
3.1.4 Biomarcadors genètics de deteriorament cognitiu: gen <i>APOE</i>	91
3.1.5 Anàlisi estadístic de les variables clíniques, el perfil neuropsicològic, el perfil bioquímic, les dades de neuroimatge i el biomarcador <i>APOE</i>	93
3.1.6 Determinació de biomarcadors metabòlics i lipídics circulants.....	94
3.1.6.1 Preparació de les mostres	96
3.1.6.2 Identificació dels metabòlits i lípids expressats diferencialment segons el perfil afectiu i cognitiu després d'un ictus minor.	96
3.1.6.3 Anàlisi estadístic dels metabòlits i lípids expressats diferencialment segons el perfil afectiu i cognitiu després d'un ictus minor.	97
3.2 Model animal d'Ictus Minor	98
3.2.1 Oclusió transitòria de l'artèria cerebral mitja (tMCAo).....	99
3.2.2 Determinació del fenotip neurològic	100
3.2.3 Extracció de sang	102
3.2.4 Quantificació volum d'infart.....	103
3.2.5 Tècnica d'immunofluorescència i microscòpia confocal.....	104
3.2.6 Estudi pilot model animal d'ictus Minor	106
3.2.7 Models experimentals de factors de risc vascular	107
3.2.7.1 Model animal de diabetis mellitus tipus 2	107
3.2.7.2 Model animal d'hipertensió arterial	108
3.2.8 Estudi translacional de factors de risc vascular i ictus minor.....	110
3.2.8.1 Model doble de diabetis mellitus tipus 2 i Ictus Minor.....	110
3.2.8.2 Model doble d'hipertensió arterial i ictus isquèmic establert	111
3.2.8.3 Model triple de diabetis mellitus tipus 2, hipertensió arterial i ictus minor.....	112
3.2.9 Anàlisi estadístic models experimentals	113

4. Resultats	117
4.1 Cohort PSICOICTUS.....	117
4.1.1 Descripció de la cohort PSICOICTUS.....	119
4.1.2 Descripció de la cohort PSICOICTUS segons el perfil afectiu i de funció cognitiva després d'un ictus minor	120
4.1.3 Descripció i evolució de la depressió i l'apatia post-ictus minor.	124
.....	126
4.1.4 Descripció i evolució del deteriorament cognitiu post-ictus minor	126
4.1.5 Descripció i evolució de la funcionalitat i la qualitat de vida post-ictus minor.....	129
4.1.6 Descripció perfil bioquímic.....	130
4.1.7 Descripció de les dades de neuroimatge	131
4.1.8 Biomarcador genètic de deteriorament cognitiu: rol del gen <i>APOE</i>	134
4.1.9 Determinació de biomarcadors metabòlics i lipídics circulants.....	135
4.1.9.1 Característiques dels pacients inclosos en l'estudi de biomarcadors circulants ...	135
4.1.9.2 Identificació dels metabòlits i lípids diferencialment expressats	137
4.1.9.3 Validació dels resultats amb la resta de la cohort PSICOICTUS	140
.....	144
4.1.9.4 Estudi de la capacitat predictiva dels metabòlits expressats diferencialment	144
4.1.10 Predictors clínics, bioquímics, radiològics i òmics de les alteracions cognitives i afectives després d'un ictus minor.....	145
4.2 Model animal d'ictus minor	150
4.2.1 Estudi pilot model animal d'Ictus Minor	150
4.2.1.1 Caracterització morfològica de la lesió isquèmica cerebral en un ratolí amb ictus minor	161
4.2.1.2 Estudi pilot model animal ictus minor en femelles.....	162
4.2.2 Models experimentals de factors de risc vascular i ictus minor	164
4.2.2.1 Model murí de diabetis mellitus tipus 2 i ictus minor.....	164
4.2.2.2 La hipertensió arterial com a factor de risc vascular en un model d'ictus isquèmic establert	170
4.2.2.3 La hipertensió arterial i la diabetis mellitus tipus 2 en un model murí d'ictus minor	171
5. Discussió.....	179
5.1 Predictors de les alteracions afectives després d'un ictus minor	179
5.2 Predictors de les alteracions cognitives després d'un ictus minor	188
5.3 Abordatge translacional: model animal ictus minor.....	196

5.4 Limitacions.....	201
5.5 Propostes de futur.....	202
6. Conclusions.....	207
7. Bibliografia.....	213
Índex de taules	247
Índex de figures	252
Annexes	261

AGRAÏMENTS

AGRAÏMENTS

Encara recordo el moment en el qual em van donar l'oportunitat de fer el doctorat, i ja han passat més de 3 anys. Des d'aquell instant va començar el camí per, primerament, aconseguir una beca pre-doctoral i he de dir que aquest procés no va ser gens fàcil. Després, va començar l'altra part del camí, la de l'aprenentatge i la il·lusió de tirar endavant el meu propi projecte. La veritat és que tinc una sensació una mica estranya per estar escrivint aquest apartat de la tesi perquè significa que s'acaba aquesta etapa, però també significa que en comença una de nova, amb nous projectes i il·lusions.

Primerament voldria donar les gràcies als meus directors de tesi, el Dr. Francisco Purroy, la Dra. Glòria Arqué i el Dr. Gerard Piñol. Al Paco i al Gerard, agrair-vos l'oportunitat de deixar-me participar en aquest projecte des del principi podent participar i pensar en el disseny de l'estudi i donar-me la confiança des del primer moment per tenir independència a l'hora de treballar i pensar nous experiments. A tú, Glòria, donar-te les gràcies per ser el meu pilar en tot aquest procés i acompanyar-me en els bons moments, però sobretot en els dolents, animant-me en tot moment perquè no tirés la tovallola. Tu m'has ensenyat que tot és possible.

Agrair també al meu tutor, el Dr. Reinald Pamplona per ajudar-nos en els moments difícils.

A les meves companyes de laboratori; Cris, Sara, Leila, Faridé, Amèlia i Ares, gràcies per estar sempre al meu costat i aguantar els meus dies de "subidón" i de "bajón"; i en especial gràcies a la Coral per estar amb mi des del principi i donar-me postre cada dia. Et dec uns quants kilos de kiwis.

Gràcies als nostres companys de laboratori del grup de Patologia Oncològica, que encara que es va notar molt quan es van instal·lar perquè ja no hi havia mai silenci, van fer més amena les hores de laboratori amb els seus riures i la seva música de fons.

Gràcies també a tot el servei de Neurologia de l'Hospital Universitari Arnau de Vilanova de Lleida per ajudar-me a reclutar als pacients del projecte PSICOICTUS. Sense vosaltres no hagués sigut possible.

Gràcies a la Dra. Raquel Mitjana, de l'Institut de Diagnòstic per la Imatge, per tenir la paciència de quedar amb mi cada dimecres i ensenyar-me a fer l'anàlisi de les dades de neuroimatge.

També gràcies a la Dra. Anna Rosell del grup de Malalties Neurovasculars del VHIR per permetre que pogués fer una estada al seu laboratori per poder aprendre noves tècniques i inculcar-me el seu amor i coneixement per la ciència.

A tots els meus amics de la colla LPA, gràcies per recolzar-me i treure'm a fer una cervesa en els moments que més ho necessitava. També gràcies per interessar-vos per la meva tesi, encara que ningú tenia molt clar que és un ictus. Després de tantes xarrades, crec que ara ja podríeu ser casi experts en el tema.

Gràcies a tota la meva família, però en especial als meus pares, la Conxita i el Robert. Des del primer moment que vaig decidir començar aquesta etapa que m'han fet costat i m'han ajudat en tot el que estava al seu abast. Ja em deien doctora des del primer moment i explicaven a tothom que la seva filla estava fent el doctorat, tot i que jo em moria de vergonya quan presumien així, però em demostraven la confiança que tenen depositada en mi i que sempre puc tirar endavant. Sé que durant aquesta època hem passat moments difícils... ara tenim quatre estrelles més al cel. Gràcies a ells també.

En especial, vull agrair a l'Albert Rourera, pel seu suport incondicional i sempre estar tant orgullós de mi. Perquè durant aquest temps hem donat un pas endavant i has passat de ser la meva parella al meu marit, amb tots els nervis que també suposa preparar un casament. Però amb tu les coses sempre són més fàcils perquè m'escoltes, m'animes, m'ajudes, i un munt de coses més que no acabaria mai d'enumerar.

Finalment volia agrair sobretot a tots les pacients i els seus familiars que de forma altruista han col·laborat en aquest projecte i que sense ells res de tot això hagués sigut possible.

Moltes gràcies a tots.

RESUM-RESUMEN-ABSTRACT

RESUM

L'ictus és una malaltia freqüent que es considera la primera causa de discapacitat i la segona causa de demència a Espanya. L'ictus minor (IM) és un tipus d'ictus isquèmic que es defineix com un episodi de simptomatologia neurològica focal que no causa discapacitat, amb una puntuació \leq a 5 en l'escala de severitat d'ictus (NIHSS) i que presenta una lesió isquèmica aguda independentment de la durada dels símptomes clínics. Donada la lleu simptomatologia clínica, la majoria d'aquests pacients no han estat inclosos en els principals assaigs de tractament d'ictus isquèmic en la fase aguda, malgrat que s'ha observat que les alteracions afectives i cognitives després d'un IM són complicacions amb una alta prevalença que poden afectar la recuperació funcional. Així, l'estudi PSICOICTUS ha descrit el perfil clínic i neuropsicològic, la signatura radiològica i els biomarcadors circulants de pronòstic de les alteracions afectives i cognitives després d'un IM. Per altra banda, per facilitar la translacionalitat s'ha desenvolupat un doble model de factors de risc vascular i s'ha generat i caracteritzat un nou model animal d'IM. El projecte PSICOICTUS és un estudi observacional, longitudinal i prospectiu que ha inclòs 118 pacients amb diagnòstic d'IM ingressats a l'Hospital universitari Arnau de Vilanova de Lleida, del mes de gener de 2018 a març de 2020. En el moment basal, les proves de cribratge afectiu i cognitiu van identificar 20 pacients amb alteracions afectives (17%), 11 pacients amb alteracions cognitives (9,3%) i 17 pacients amb alteracions afectives i cognitives (14,4%). Els pacients amb alteracions cognitives van ser avaluats amb una bateria neuropsicològica completa que va mostrar que les funcions executives, l'atenció i la velocitat de processament de la informació són els dominis cognitius més afectats. En l'anàlisi de les dades radiològiques es va observar que els pacients amb alteracions cognitives post-IM presentaven volums de lesió isquèmica més grans en el territori cortical de l'artèria cerebral mitja (ACM) i tenien més transformació hemorràgica. Els pacients amb alteracions afectives i cognitives tenien un major nombre d'ictus crònics. El metabòlit *2-hydroxyhexadecanoylcarnitine* es trobava sobre-expressat en els pacients amb IM i alteracions cognitives i *Isoleucyl-isoleucine*, el PC (38:4) i el DG (36:7) presentaven concentracions més baixes en els pacients amb IM i alteracions afectives respecte als pacients amb IM sense alteracions. Els principals predictors d'alteració afectiva post-IM van ser el sexe femení i els antecedents de síndrome depressiva i els predictors d'alteració cognitiva van ser tenir més de 70 anys i una lesió isquèmica aguda en el territori de l'ACM. A més, s'ha generat i caracteritzat un nou model animal diabètic-hipertens amb IM utilitzant un model murí d'oclusió transitòria de l'ACM durant 2 minuts seguit de 5 minuts de reperfusió, repetit 5 vegades. Els pacients amb IM malgrat presentar simptomatologia neurològica lleu aproximadament un 30 % presenten alteracions afectives i cognitives post-IM el que planteja la necessitat de tractar-los en la fase aguda sobretot en aquells casos que presenten els factors predictors de risc, el que suposaria una nova estratègia de pronòstic i un maneig diferencial dels pacients que han patit un IM.

RESUMEN

El ictus es una enfermedad frecuente que se considera la primera causa de discapacidad y la segunda causa de demencia en España. El ictus menor (IM) es un tipo de ictus isquémico que se define como un episodio de sintomatología neurológica focal que no causa discapacidad, con una puntuación ≤ 5 en la escala de severidad de ictus (NIHSS) y que presenta una lesión isquémica aguda independientemente de la duración de los síntomas clínicos. Dada la leve sintomatología clínica, la mayoría de estos pacientes no han sido incluidos en los principales ensayos de tratamiento de ictus isquémico en la fase aguda, aunque se ha observado que las alteraciones afectivas y cognitivas después de un IM son complicaciones con una alta prevalencia que pueden afectar a la recuperación funcional. Así, el estudio PSICOICTUS ha descrito el perfil clínico y neuropsicológico, la firma radiológica y los biomarcadores circulantes de pronóstico de las alteraciones afectivas y cognitivas después de un IM. Por otra parte, para facilitar la translacionalidad se ha desarrollado un doble modelo de factores de riesgo vascular y se ha generado y caracterizado un nuevo modelo animal de IM. El proyecto PSICOICTUS es un estudio observacional, longitudinal y prospectivo que ha incluido a 118 pacientes con diagnóstico de IM ingresados en el Hospital universitario Arnau de Vilanova de Lleida, de enero de 2018 a marzo de 2020. En el momento basal, las pruebas de cribado afectivo y cognitivo identificaron a 20 pacientes con alteraciones afectivas (17%), 11 pacientes con alteraciones cognitivas (9,3%) y 17 pacientes con alteraciones afectivas y cognitivas (14,4%). Los pacientes con alteraciones cognitivas fueron evaluados con una batería neuropsicológica completa que mostró que las funciones ejecutivas, la atención y la velocidad de procesamiento de la información son los dominios cognitivos más afectados. En el análisis de los datos radiológicos se observó que los pacientes con alteraciones cognitivas post-IM presentaban mayores volúmenes de lesión isquémica en el territorio cortical de la arteria cerebral media (ACM) y tenían una mayor transformación hemorrágica. Los pacientes con alteraciones afectivas y cognitivas tenían mayor número de ictus crónicos. El metabolito *2-hydroxyhexadecanoylcarnitine* se encontraba sobreexpresado en los pacientes con IM y alteraciones cognitivas y la *Isoleucyl-isoleucine*, el PC (38:4) y el DG (36:7) presentaban concentraciones más bajas en los pacientes con IM y alteraciones afectivas respecto a los pacientes con IM sin alteraciones. Los principales predictores de alteración afectiva post-IM fueron el sexo femenino y los antecedentes de síndrome depresivo y los predictores de alteración cognitiva fueron tener más de 70 años y una lesión isquémica aguda en el territorio de la ACM. Además, se ha generado y caracterizado un nuevo modelo animal diabético-hipertenso con IM utilizando un modelo murino de oclusión transitoria del ACM durante 2 minutos seguido de 5 minutos de reperusión, repetido 5 veces. Los pacientes con IM a pesar de presentar sintomatología neurológica leve aproximadamente un 30% presentan alteraciones afectivas y cognitivas post-IM lo que plantea la necesidad de tratarlos en la fase aguda sobre todo en aquellos casos que presentan los factores predictores de riesgo, lo que supondría una nueva estrategia de pronóstico y un manejo diferencial de los pacientes que han sufrido un IM.

ABSTRACT

Stroke is a frequent disease that is considered the leading cause of disability and the second cause of dementia in Spain. Minor stroke (MS) is a type of ischemic stroke that is defined as an episode of focal neurological symptoms that does not cause disability, with a score ≤ 5 on the Stroke Severity Scale (NIHSS) and that presents an acute ischemic lesion regardless of the duration of clinical symptoms. Despite the mild clinical symptoms, most of these patients have not been included in the main treatment trials of ischemic stroke in the acute phase, although it has been observed that affective and cognitive alterations after MS are highly prevalent complications that can affect functional recovery. For this, the PSICOICTUS study has described the clinical and neuropsychological profile, the radiological signature and the circulating prognostic biomarkers of affective and cognitive alterations after MS. On the other hand, to facilitate translation, a double model of vascular risk factors has been developed and a new animal model of MS has been generated and characterized. The PSICOICTUS project is an observational, longitudinal and prospective study that has included 118 patients MS diagnosed and admitted to the Hospital universitari Arnau de Vilanova in Lleida, from January 2018 to March 2020. At baseline, the affective and cognitive screening tests identified 20 patients with affective disorders (17%), 11 patients with cognitive disorders (9.3%) and 17 patients with affective and cognitive disorders (14.4%). Patients with cognitive impairment were assessed with a complete neuropsychological battery which showed that executive functions, attention and speed of information processing are the most affected cognitive domains. In the analysis of the radiological data, it was observed that patients with post-MS cognitive alterations had larger ischemic lesion volumes in the cortical territory of the middle cerebral artery (MCA) and had a more hemorrhagic transformation. Patients with affective and cognitive disorders had a higher number of chronic strokes. The 2-hydroxyhexadecanoylcarnitine metabolite was overexpressed in patients with MS and cognitive impairments and Isoleucyl-isoleucine, PC (38:4) and DG (36:7) had lower concentrations in patients with MS and affective alterations compared to MS patients without alterations. The predictors of post-MS affective alterations were female sex and previous history of depressive syndrome and the predictors of cognitive alteration were being older than 70 years of age and an acute ischemic lesion in the territory of the MCA. Furthermore, a new diabetic-hypertensive animal model with MS has been generated and characterized using a murine model of transient MCA occlusion for 2 minutes followed by 5 minutes of reperfusion, repeated 5 times. Despite presenting mild neurological symptoms, approximately 30% of patients with MS developed affective and cognitive alterations, which raises the need to treat these patients in the acute phase, especially in those cases that meet the predictive risk factors, which would represent a new prognostic strategy and differential management of MS patients.

ACRÒNIMS

ACRÒNIMS**A**

AA: Aminoàcids
A β -42: Proteïna β -amiloide 42
ABVD: Activitats bàsiques vida diària
ACM: Artèria Cerebral Mitja
ADC: Apparent diffUsion coeficient
ADN: Àcid desoxiribonucleic
AES-c: Escala avaluació de l'apatia clínica
AIT: Atac Isquèmic Transitori
APA: Associació Americana de psiquiatria
API: Apatia post-ictus
APOE: Apolipoproteïna E
ARN: Àcid ribonucleic
ATP: Adenosina trifosfat
AUC: Area under the curve

B

BDI-II: Inventari de Beck – II
BDNF: Factor neurotròfic del cervell
BHE: Barrera hematoencefàlica
BHT: Butil-hidroxi toluè
BNP: Brain natriuretic peptide
BNPc: Bateria neuropsicològica completa
BOLD: Blood oxygen level dependent

C

CEEA: Comité Ètic d'Experimentació Animal
CEIC: Comité Ètica i Investigació Clínica
CEM: Cardioembòlic
CPT-1: Carnitina palmitoil tranferasa 1

D

DAMPSs: Damage-Associated Molecular Patterns
DAPI: 4',6-diamidino-2-fenilindol
DCL: Deteriorament cognitiu lleu
DCV: Deteriorament cognitiu vascular
DD: Dímer D
DE: Desviació estàndard
DLP: Dislipèmia
DM: Diabetis Mellitus
DMT2: Diabetis mellitus tipus 2

DOCA: Desoxicorticoesterona
DPI: Depressió post-ictus
DSM-V: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders – 5
DWI: Diffusion-weighted imaging

E

ECVI-38: Escala qualitat de vida per a l'ictus 38
ELISA: Enzym-linked immunosorbent assay
EM: Estenosis mitral

F

FA: Fibril·lació auricular
FCE: Factor de creixement epidèrmic
FCRO: Figura complexe de Rey-Osterrieth
FCSRT: Free and Cued Selective Reminding Test
FDR: False Discovery Rate
FLAIR: FLuid-Attenuated Inversion Recovery
FRV: Factors de risc vascular
FSC: Flux sanguini cerebral
FvW: Factor von Willebrand

G

GFAP: Glial Fibrillary Acidic Protein
GL: Glicerolípids
GP: Glicerofosfolípids
GSK-3 β : Quinasa-glicogensintetasa-3 β

H

HADS: Escala d'ansietat i depressió hospitalària
HAMD: Escala de depressió de Hamilton
HMDB: Human Metabolome Database
HTA: Hipertensió arterial
HUAV: Hospital Universitari Arnau de Vilanova

I

Iba-1: Ionized calcium binding adaptor molecule 1
IC: Interval de confiança
IL: interleuquina
IM: Ictus Minor
IS: Ictus isquèmic

L

LACI: Lacunar infarct
LCR: Líquid cefaloraquidi
LDL: Low density lipoprotein

M

m/z: Massa /Càrrega
MADRS: Montgomery-Asberg depression rating scale
MCP-1: monocyte chemoattractant protein-1
MCV: Malaltia Cerebrovascular
MHC: Microhemorràgies
miRNA: Micro Ribonucleic Acid
MMP: Matrix metalloproteinase
MMSE: Mini-Mental State Examination
mNSS: Modified Neurological Severity Score
MoCA: Montreal Cognitive Assessment
MRC: Malaltia Renal Crònica
mRS: Modified rankin scale
MTBE: Metil-tert-butil èter

N

NeuN: Neuronal Nuclei
NF-L: Neurofilament lleuger
NIHSS: National Institute of Health Stroke Scale
NIH: National Institutes Health
NT-proBNP: N-terminal prohormone of brain natriuretic peptide

O

OCT: Optimal cutting temperature
OMS: Organització Mundial de la Salut
OR: Odds Ratio
OSPC: Oxfordshire Stroke Project Classification

P

PACI: Partial anterior circulation infarct
PAD: Pressió arterial diastòlica
PAS: Pressió arterial sistòlica
PBS: Phosphate-buffered saline
PC: Fosfatidilcolina
PCR: Proteïna C reactiva
PE: Fosfatidiletanolamina
PET: Tomografia per emissió de positrons
PFA: Paraformaldèid
PLS-DA: Partial least squares regression
PNA: Pèptid natriurètic atrial
POCI: Posterior circulation infarct
PR: Lípids prenols
PS: Fosfatidilserina
p-tau: tau fosforilada

Q

QC: Quality Control
Q-TOF-MS: Quadrupole time-of-flight mass spectrometry

R

RIQ: Rang inter-quartílic
RM: Ressonància Magnètica
RMf: Ressonància Magnètica funcional
RMs: Ressonància Magnètica estructural
ROC: Receiver operating characteristic
ROS: Reactive Oxygen Species
rt-PA: recombinant tissue plasminogen activator
RT-qPCR: Real time quantitative polymerase chain reaction

S

SEM: Standard error of mean
SEN: Societat Espanyola de Neurologia
SM: Esfingomielina
SNC: Sistema Nerviós Central
SNP: Single Nucleotide Polymorphism
SPECT: Tomografia computeritzada d'emissió monofotònica
SRA: Sistema renina-angiotensina
SZT: Estreptoizotocina

T

TACI: Total anterior circulation infarct
TC: Tomografia computada
TGF: Transforming growth factor
TI: Tolerància isquèmica
tMCAo: Oclusió transitòria artèria cerebral mitja
TMTA: Trail Making Test A
TMTB: Trail Making Test B
TNF: Tumor necrosis factor
TOAST: Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment Subtype Classification
TR: Temps de retenció
TTC: clorur de 2,3,5-trifeniltetrazoli

U

UHPLC: Ultra-high-performance liquid chromatography
UNV: Unitat Neurovascular

V

VCAM: Proteïna d'adhesió cel·lular vascular
VHSB: Volum lesions hiperintenses de la substància blanca
VLCAD: Deficiència d'acil-CoA deshidrogenasa de cadena molt llarga
VPI: Velocitat de processament de la informació

W

WAIS-IV: Wechsler Adult Intelligence Scale IV

1.INTRODUCCIÓ

1. Introducció

1. 1 L'ictus

Segons la definició de l'Organització Mundial de la Salut (OMS) de l'any 1988 l'ictus es defineix com una síndrome clínica caracteritzada per un ràpid desenvolupament de símptomes corresponents a una afectació neurològica focal, i que persisteixen més de 24 hores, sense una altra causa aparent que l'origen vascular (WHO MONICA Project Principal Investigators, 1988). No obstant, aquesta definició només es basa en els símptomes clínics que manifesta la malaltia i no inclou detalls sobre la seva neuropatologia o les característiques radiològiques, de manera que, l'any 2009, Easton i els seus col·laboradors van suggerir la definició tissular d'ictus isquèmic que diu que un infart cerebral implica l'existència de lesió isquèmica aguda en les proves de neuroimatge independentment de la durada dels símptomes clínics neurològics (Easton et al., 2009).

Les malalties cerebrovasculares (MCV) o ictus estan causades per un trastorn circulatori cerebral que altera transitòria o definitivament el funcionament d'una o múltiples zones del cervell i es produeix quan un vas sanguini que aporta sang a aquest òrgan s'obstrueix per un coàgul o un trombe o quan hi ha una davallada de l'aportació sanguínia, per exemple en situacions d'hipoperfusió. En aquestes circumstàncies, el cervell no obté el flux sanguini que necessita i com a conseqüència les cèl·lules nervioses de l'àrea del cervell afectada no reben oxigen ni glucosa i no poden funcionar, morint al cap d'uns minuts. Aquesta disminució del flux sanguini cerebral desencadena una sèrie d'esdeveniments moleculars coneguts com "cascada isquèmica" (Khoshnam et al., 2017) i l'estudi d'aquests processos fisiopatològics és fonamental per desenvolupar noves estratègies de diagnòstic i pronòstic per tal de protegir la unitat neurovascular (UNV), composta per tots els tipus de cèl·lules nervioses que treballen de manera coordinada. Aquest tipus d'ictus, els ictus isquèmics, són el subtipus d'ictus més freqüents i representen el 85% dels casos. Per altra banda, els ictus hemorràgics, que suposen un 15 % dels casos, són deguts a un trencament d'un vas sanguini del cervell causat, habitualment, per un augment de la pressió arterial o al dipòsit de beta-amiloide als vasos (Go et al., 2013) (Figura 1).

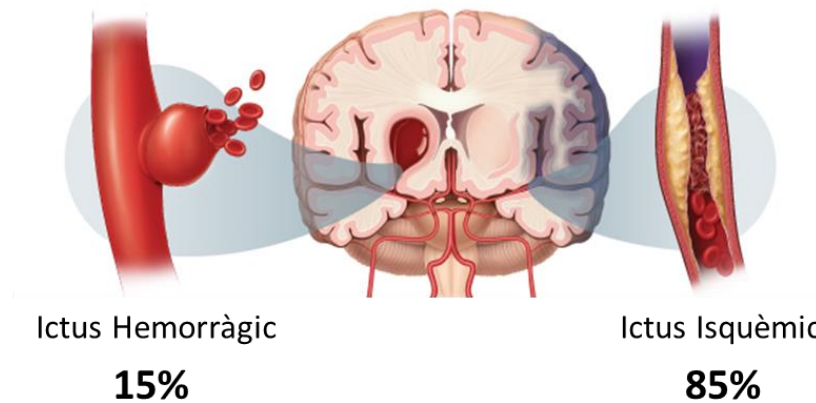


Figura 1. Classificació dels principals tipus d'ictus.

Dins de l'ictus isquèmic es troba englobat l'atac Isquèmic Transitori (AIT). La definició d'AIT es va descriure per primer cop per Fisher als anys 50 i es va considerar com una forma de MCV transitòria sense lesió parenquimatosa associada que suposava una oportunitat idònia per a canviar el pronòstic de la malaltia si s'actuava de forma adient iniciant precoçment els tractaments de prevenció secundària (Albers GW et al., 2002). La durada màxima dels símptomes del pacient per a diferenciar un AIT sense lesió associada al parènquima i la d'un ictus isquèmic, ha anat variant al llarg del temps, des de segons o minuts fins a 24 hores passant per una hora de durada màxima. Al 2009, al sorgir la definició tissular d'ictus en la qual no es tenia en compte la durada dels símptomes, es va definir l'AIT com un episodi breu de disfunció neurològica, de medul·la espinal o retina en la que no hi havia evidència de lesió isquèmica en les tècniques de neuroimatge (Easton et al., 2009).

Els pacients amb AIT i els pacients definits com a ictus minor (IM) els quals tenen poca simptomatologia després de la isquèmia cerebral però presenten lesió aguda en la neuroimatge han adquirit especial interès en els darrers anys pel seu alt risc de recurrència precoç d'ictus que pot arribar fins al 10% als 90 dies post-ictus segons estudis publicats a l'inici dels anys 2000 (Johnston SC et al., 2000) i ascendir fins al 30% en funció de l'etiologia (Purroy F. et al., 2007). Aquestes circumstàncies han fet que en els darrers anys diversos assaigs clínics com el FASTER (Kennedy J et al., 2007), el CHANCE (Wang Y et al., 2013), el POINT (Johnston SC et al., 2018) o el THALES (Amarenco et al., 2021) s'hagin centrat en aquest tipus de pacients amb l'objectiu de millorar el seu diagnòstic i pronòstic.

1.1.1 Subtipus d'ictus isquèmic segons l'etiologia i la simptomatologia clínica

L'ictus isquèmic i l'ictus isquèmic minor poden classificar-se segons l'etiologia i la simptomatologia clínica (Figura 2).

L'etiologia es classifica seguint la classificació TOAST (*Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment*), que és la més acceptada internacionalment (Adams et al., 1993). La classificació TOAST diferencia cinc subtipus d'ictus isquèmic:

- Ictus isquèmic aterotrombòtic per aterosclerosi d'artèries grans: és un ictus isquèmic de topografia cortico-subcortical i localització carotídia vertebro-basilar en el qual es produeix l'estenosi d'un gran vas i suposa un 15-20% dels ictus isquèmics. Aquest tipus d'ictus isquèmic està relacionat amb l'acumulació de factors de risc vascular (FRV) (Purroy F et al., 2019).
- Ictus isquèmic cardioembòlic: és un ictus de topografia habitualment cortical, per al què existeix evidència (en absència d'una altra etiologia alternativa) d'algunes de les següents cardiopaties embolígenes: presència d'un trombe o un tumor intra-cardíac, estenosis mitral (EM), pròtesi aòrtica o mitral, endocarditis, fibril·lació auricular (FA), malaltia del node sinusal i infart agut de miocardi en els tres mesos previs amb o sense aneurisma ventricular esquerra. Suposa un 25% dels casos d'ictus isquèmic.
- Malaltia oclusiva de petit vas arterial (infart llacunar): és un infart cerebral originat per l'oclusió d'arterioles cerebrals dels nuclis de la base i del tronc encefàlic (les llacunes són d'un diàmetre inferior a 1,5 cm). Habitualment, ocasiona una síndrome clínica llacunar (hemiparèsia motora pura, síndrome sensitiva pura, síndrome sensitiva-motora, hemiparèsia-atàxia o disàrtria mà feixuga) i es relaciona amb antecedents d'hipertensió arterial (HTA) o altres FRV, en absència d'una altra etiologia que ho expliqui. Suposa un 20-25 % dels casos.
- Ictus isquèmic d'etiologia inhabitual: és un ictus de localització cortical o subcortical, en territori carotídi o vertebro-basilar, en el qual s'ha descartat l'origen aterotrombòtic, cardioembòlic o llacunar i està causat per malalties sistèmiques (alteracions metabòliques, trastorns de la coagulació, malalties del teixit connectiu, síndrome mieloproliferatiu o processos infecciosos) o per altres causes com la trombosi venosa cerebral, migranya, aneurisma del septe, disseccions arterials, displàsia fibromuscular,

malformació arteriovenosa, angiïtis o per causa iatrogènica. Suposa entre un 3 i un 7 % dels casos.

- Ictus isquèmic d'etiologia indeterminada: és un ictus de localització cortical o subcortical, en territori carotidi o vertebro-basilar i després d'un exhaustiu estudi diagnòstic s'han descartat els subtipus aterotrombòtic, cardioembòlic, llacunar i de causa inhabitual. També pot considerar-se indeterminat en el cas de coexistir més d'una possible etiologia o en els casos en què es faci un estudi incomplet per descartar altres causes.

Per una altra banda, la *Oxfordshire Stroke Project Classification* (OSPC) classifica els ictus isquèmics segons la simptomatologia clínica (Bamford J. et al., 1991). L'OSPC es divideix en quatre subtipus:

- TACI (Total Anterior Circulation Infarct): es produeix una alteració de les funcions corticals (afàsia, discalculia, alteracions visoespacionals), hemianòpsia homònima i dèficit motor i/o sensitiu almenys en dues de les regions de la cara, membre superior o membre inferior.
- PACI (Partial Anterior Circulation Infarct): en aquest subtipus d'ictus isquèmic s'han de produir dos de les tres característiques del TACI o un dèficit aïllat de les funcions corticals o un dèficit motor i/o sensitiu en només una regió de la cara, membre superior o membre inferior.
- LACI (Lacunar Infarct): les característiques clíniques d'aquest subtipus d'ictus isquèmic són una síndrome hemimotora/hemisensitiva pura o una síndrome sensitiva-motora o atàxia-hemiparèsia (disàrtria "mà-feixuga") o moviments anormals focals i aguts.
- POCI (Posterior Circulation Infarct): es produeix una alteració ipsilateral dels parells cranials amb dèficit motor i/o sensitiu contralateral o un dèficit motor i/o sensitiu bilateral o alteracions oculomotores o alteracions cerebel·loses o una alteració aïllada del camp visual.

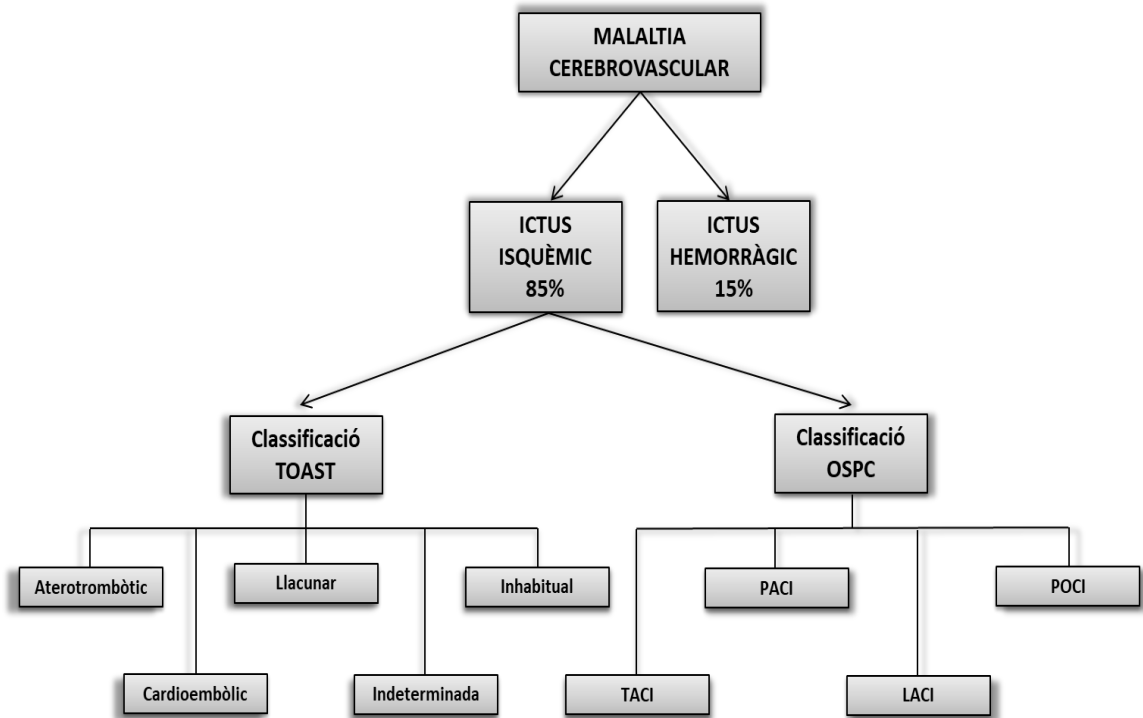


Figura 2. Classificació de l'ictus segons la seva etiologia mitjançant el TOAST (Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment) i la classificació de l'ictus segons la seva localització anatòmica i simptomatologia clínica mitjançant la OSPC (Oxfordshire Stroke Project Classification).

Les característiques clíniques, els resultats de les proves diagnòstiques i l'estudi dels FRVs afavoreixen la bona classificació de cada tipus d'ictus, permetent dur a terme un tractament ràpid i així poder millorar la predicció pronòstica reduint les recurrències.

1.1.2 Incidència, epidemiologia i factors de risc de l'ictus isquèmic

A nivell mundial, uns 15 milions de persones pateixen un ictus cada any amb una taxa de mortalitat al voltant del 30% durant el primer any i seqüeles que comporten a una discapacitat greu a 2 terços dels supervivents (Adamson et al., 2004; Johnston et al., 2009). L'any 2019, l'ictus era la segona causa de mort i la tercera causa de discapacitat en les persones adultes, situant-se per darrera de les cardiopaties isquèmiques en ambdós casos. També eren la segona causa de demència després de la malaltia d'Alzheimer (WHO, 2019). La incidència mitjana mundial de l'ictus resta al voltant de 200 casos nous per cada 100.000 habitants cada any (WHO, 2019). Una recent revisió sistemàtica sobre estudis epidemiològics publicats en la darrera dècada va evidenciar com la mitjana de la taxa d'incidència crua és de 149,5 casos per cada 100.000 habitants per a les MCV, 155 per a l'ictus isquèmic, 29 per a l'ictus hemorràgic i 6,5 per a

l'hemorràgia subaracnoidal. La incidència tant per a les MCV com per a l'ictus isquèmic era més elevada entre els homes que entre les dones en la majoria d'estudis. D'altra banda, també es va observar que hi havia una tendència al descens o estabilització d'aquesta incidència, a excepció dels estudis realitzats a Xina, Singapur, França i Austràlia (Purroy F. & Montalà N. 2021).

A nivell europeu s'ha descrit un gradient est-oest i nord-sud amb taxes d'incidència més elevades en països de l'est i nord europeu, variacions geogràfiques que podrien estar relacionades amb factors ambientals, meteorològics i genètics, juntament amb diferències en la distribució dels FRV. La incidència d'ictus a Europa, ajustada per edat, ha sigut estimada entre 95 i 290 casos nous cada 100.000 habitants cada any (Béjot et al., 2016).

A Espanya l'ictus suposa la segona causa de mort en la població general i la primera causa en les dones, situant-se per davant del càncer de mama, segons dades de la Societat Espanyola de Neurologia (SEN). La incidència global d'ictus a Espanya s'estima que està en 187 casos nous per cada 100.000 habitants cada any i només a Catalunya hi ha 11.500 nous casos l'any (Díaz-Guzmán et al., 2012). La incidència és major en homes que en dones i augmenta proporcionalment amb l'edat (Brea et al., 2013), multiplicant-se la taxa per 10 en la població major de 75 anys d'edat (Díaz-Guzmán et al., 2012). A Lleida, la taxa d'incidència crua oscil·la entre els 192 i els 211 casos cada 100.000 habitants (Vena AB et al., 2020). Les dades de mortalitat indiquen que l'ictus representa una de cada 10 morts a Espanya (Regidor et al., 2014) i que hi ha una desigualtat en la mortalitat segons el sexe, amb una mortalitat més alta en dones (Purroy F et al., 2019). Es preveu que el número de morts relacionades amb l'ictus incrementi un 39% fins a l'any 2035, degut a l'augment de l'esperança de vida de la població (Stevens E et al., 2017).

Les estimacions de la incidència i prevalença de l'AIT i IM són difícils de determinar a causa dels diferents criteris diagnòstics en els estudis epidemiològics i, a més, perquè en molts d'ells els engloben com si fos una única entitat clínica. A Espanya, l'estudi IBERICTUS del 2012, estableix que cada any es produeixen 30 nous casos d'AIT per cada 100.000 habitants (Díaz-Guzmán et al., 2012). La incidència d'IM en la zona de Lleida l'any 2020 va ser 20,5 casos l'any per cada 100.000 habitants, segons les dades obtingudes en la present tesi.

Malgrat el gran avenç en el maneig i tractament de les persones amb ictus isquèmic durant la fase aguda generat per la fibrinòlisi endovenosa, la trombectomia mecànica i l'ingrés a unitats d'ictus multidisciplinàries especialitzades (Campbell BCV et al., 2019), molts pacients pateixen una discapacitat neurològica greu en forma de dèficits funcionals en la mobilitat, la visió i la parla. Cal tenir en compte que tot i les altes taxes de recanalització de l'artèria obstruïda dels tractaments, no tots els pacients amb ictus isquèmic els poden rebre per contraindicacions o per estar fora de

la finestra temporal d'administració. A més, hi ha un període de temps entre l'inici dels símptomes i la recanalització que implica el desenvolupament de la lesió en el parènquima cerebral (Olivé-Gadea M et al., 2022).

A Espanya, tan sols durant el primer any, l'ictus suposa un cost de 27.711€, uns 5.850€ són despeses hospitalàries i els altres 18.000€ estan destinats a la rehabilitació i atenció dels pacients que pateixen alguna discapacitat (Truelsen et al., 2005). Davant d'aquesta situació, més enllà de la fase aguda es necessita parar atenció a altres aspectes que millorin el pronòstic i la qualitat de vida dels pacients, com el tractament rehabilitador, la teràpia cognitiva i la millora de l'estat emocional. També interessa el desenvolupament d'estratègies per a la reducció de la incidència d'ictus. En aquesta línia, "*Stroke action plan for Europe*" de la societat europea d'ictus i de la *Stroke alliance for Europe* planteja reduir el 10% del nombre absolut de nous ictus a Europa, partint del coneixement dels factors de risc relacionats amb l'ictus i portant un control d'aquells que siguin modificables.

Per a l'ictus isquèmic s'han descrit diversos factors de risc modificables i no modificables (Taula 1). Un dels factors de risc no modificables més important és l'edat ja que l'ictus és una malaltia clarament relacionada amb l'envelliment (Gorelick, 2004). Per altra banda, el sexe i la raça també hi juguen un paper important, tenint una major freqüència d'ictus els homes (Brea et al., 2013) i les persones de raça negra (Cruz-Flores et al., 2011). El factor genètic també pot influir, donat que la història familiar d'ictus en un familiar de primer grau s'associa a un major risc d'ictus (Mvundura M. et al., 2009). Tot i així, es considera que l'ictus és una malaltia poligènica i complexa en la qual tant factors externs com factors de susceptibilitat genètica, poden donar lloc a la malaltia. Un cas específic és la malaltia minoritària anomenada CADASIL (*Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy*) que és una MCV hereditària autosòmica dominant causada per una mutació del gen *Notch3* i les seves principals manifestacions clíniques consisteixen en migranya, episodis isquèmics cerebrals recurrents, demència i trastorns neuropsiquiàtrics.

D'interès per a la prevenció primària, també s'han descrit factors de risc modificables. El més rellevant és la HTA. Les persones amb nivells de pressió arterial inferior a 120/80 mmHg tenen la meitat de risc de patir un ictus que les persones hipertenses (Lloyd-Jones D. et al., 2009). Seguit de la HTA es troba la diabetis mellitus (DM) amb un increment entre 2 i 4 vegades el risc de patir un ictus, especialment el d'etiologia aterotrombòtica intracranial (Shou et al., 2015).

La relació de la dislipèmia amb la isquèmia cerebral, tot i participar en els processos d'aterosclerosi, és menys evident que en la malaltia coronària però s'ha descrit una correlació entre l'increment del risc de patir un ictus i l'augment del colesterol total. Per contra, el risc disminueix en les persones amb nivells elevats de colesterol HDL (Soyama et al., 2003).

Les cardiopaties poden trobar-se fins a un 41% dels pacients amb ictus (Martí-Vilalta & Arboix, 1999), sent la FA la font embolígena més prevalent. En la última dècada els ictus isquèmics relacionats amb aquest tipus d'arítmia s'han multiplicat per tres (Yiin et al., 2014).

Els estils de vida i els hàbits tòxics també són rellevants en l'ictus isquèmic. Així, consums d'alcohol diari superiors a 60 grams (Reynolds et al., 2003), el tabaquisme amb relació directa amb el consum paquets-any (Viveca M. Bhat et al., 2008), l'obesitat (Y. Lu et al., 2014), la manca de dieta mediterrània (Estruch R et al., 2013) i el sedentarisme (Wendel-Vos et al., 2004) estan relacionats amb un risc més elevat de patir un ictus isquèmic.

Taula 1. Factors de risc no modificables, modificables i genètics relacionats amb l'ictus isquèmic.

FACTORS DE RISC VASCULAR
NO MODIFICABLES
Sexe masculí
Edat
Raça
Antecedents familiar de cardiopatia isquèmica precoç
MODIFICABLES
Hipertensió arterial
Diabetis mellitus
Dislipèmia
Cardiopaties (FA)
Consum de substàncies (alcohol i tabac)
Obesitat
Dieta i activitat física
GENÈTICS
Malaltia poligènica, CADASIL

Abreviatures: FA: fibril·lació auricular; BNP: peptid natriurètic cerebral.

1.1.3 Diagnòstic de l'ictus isquèmic

El procés diagnòstic en pacients amb sospita d'ictus ha d'incloure els següents passos: revisió de la història clínica, exploració general i neurològica i exploracions complementàries.

L'obtenció de la història clínica del pacient amb ictus és usualment la primera i la part més important de l'avaluació diagnòstica on es determinarà el diagnòstic d'ictus o AIT previs i s'observarà la presència de FRV modificables, així com la presència d'antecedents d'altres trastorns que puguin causar o influir en la simptomatologia del pacient.

Posteriorment, es duu a terme una exploració general en la qual es fa un examen físic del pacient on es determinen els signes vitals com la pressió arterial, el pols, el ritme respiratori i la temperatura corporal. Després, s'efectua l'examen neurològic inicial mitjançant l'escala de severitat de l'ictus NIHSS (sigles en anglès de *National Institute of Health Stroke Scale*) que és una escala que ha sigut àmpliament utilitzada perquè permet una valoració eficient, vàlida i reproduïble de diversos components claus de la valoració neurològica i, a més, és una mesura fiable de la gravetat de l'ictus i està validada en la població espanyola (Montaner J, 2006).

Finalment, les proves complementàries necessàries per a l'estudi d'un pacient amb ictus inclouen proves bioquímiques, radiològiques, ultrasonogràfiques i cardíaques que estan destinades a l'exclusió d'entitats clíniques que simulen un ictus, a la detecció de la isquèmia cerebral aguda o dèficits en la perfusió aguda i a la investigació de l'etiologia de l'ictus (Guia SCN, malalties vasculares, 2018) (Taula 2).

Taula 2. Proves complementàries del diagnòstic de l'ictus

Bioquímiques	Radiològiques	Ultrasonogràfiques	Cardíaques
Analítica de sang	Tomografia computeritzada	Ecografia doppler-dúplex	Monitorització Holter
	Ressonància magnètica	Ecografia transtoràcica	Electrocardiograma
	Angio-RM		
	Angio-TC		

Abreviatures: RM: ressonància magnètica; TC: tomografia computeritzada

Les proves radiològiques són imprescindibles per al diagnòstic i la selecció de pacients candidats per a teràpies de reperfusió en la fase aguda. La tomografia computeritzada (TC) i la ressonància magnètica (RM) són les principals exploracions de neuroimatge en la isquèmia cerebral. A vegades, durant les primeres hores des de l'inici dels símptomes no es poden observar lesions isquèmiques agudes en la TC, però sí que es pot detectar la presència d'hemorràgies intracranials i d'altres malalties que entren en el diagnòstic diferencial de l'ictus com els tumors intracranials. Estudis publicats en la primera dècada del segle XXI com el d'Adams i els seus col·laboradors, l'any 2007, van evidenciar que encara que les lesions isquèmiques no poden observar-se en la TC durant les primeres hores en aproximadament dos terços dels pacients amb sospita d'ictus, es poden detectar signes precoços o indirectes d'isquèmia com ara el signe de l'artèria hiperintensa, la pèrdua de diferenciació entre la substància blanca i grisa i l'esborrament dels solcs corticals (Adams et al., 2007). En els darrers anys, la utilització de la TC multiparamètrica ha revolucionat el maneig dels pacients amb ictus. Aquestes exploracions permeten identificar obstruccions intracranials i dèficits de perfusió que orienten si el teixit està en situació de penombra o en situació de probable necrosi, el que s'anomena core isquèmic (Etherton MR et al., 2018). La penombra es defineix com un teixit cerebral que rep un flux sanguini disminuït produint una alteració funcional però no estructural en les cèl·lules cerebrals. Aquest teixit estar en risc d'una mort irreversible però és potencialment viable si s'apliquen tractaments de reperfusió de manera precoç (Baron, 2021).

La prova principal per a la detecció d'isquèmia aguda, inclòs als pacients amb clínica transitòria és la RM amb la seqüència de difusió (DWI). Aquesta tècnica permet identificar les àrees d'isquèmia en interpretar com a àrees hiperintenses les regions amb dèficit de difusió de les molècules d'aigua com a conseqüència de l'edema citotòxic secundari al dèficit metabòlic per isquèmia (Jauch et al., 2013). Semblant, a la TC multiparamètrica, la RM cranial també permet fer estudis de perfusió per a detectar àrees de penombra isquèmica i així guiar el tractament en la fase aguda de l'ictus.

1.1.4 Tractament de l'ictus isquèmic en la fase aguda

En les primeres hores des de l'aparició dels símptomes de l'ictus isquèmic, la intervenció clínica és primordial per poder millorar el pronòstic dels pacients, degut a què existeix una correlació gairebé exponencial entre la durada de la isquèmia i el dany del teixit cerebral. D'aquí l'eslògan "Temps és cervell" (Saver JL, 2006).

Per a la restauració del flux sanguini cerebral en la fase aguda de la isquèmia cerebral es pot utilitzar el tractament fibrinolític endovenós (Berge et al., 2021) o la trombectomia mecànica (Turc et al., 2019) que es poden administrar de forma aïllada o en combinació.

El tractament fibrinolític és un tractament farmacològic que consisteix en l'administració de l'activador tissular del plasminògen (sigles en anglès: rt-PA). Aquesta molècula activa la conversió del plasminògen a plasmina degradant la fibrina i per tant afavorint la dissolució del coàgul. Fins fa pocs anys només es podia administrar durant les primeres 4,5 hores des de l'inici dels símptomes (Berge et al., 2021). Recentment, la publicació dels assaigs clínics EXTEND (Ma H et al., 2019) i WAKE-UP (Thomalla G et al., 2018), juntament amb el metanàlisi del grup "Onset Stroke Thrombolysis Trials Investigators" (Thomalla G et al., 2020), que inclou dades de 843 pacients procedents dels assaigs clínics citats i d'estudis amb criteris d'inclusió i metodologia de neuroimatge similars, ha permès ampliar la finestra terapèutica de l'administració del fàrmac fins a les 9 hores, alhora que planteja la seva administració en aquelles persones que no se sap l'hora d'inici dels símptomes. La decisió de la seva administració més enllà de les 4,5 hores es basa en la demostració mitjançant proves de neuroimatge avançades d'àrees de penombra potencialment viables.

La trombectomia mecànica, consisteix en la recanalització del vas sanguini obstruït mitjançant l'extracció del coàgul utilitzant catèters endovasculars. Els primers estudis van evidenciar una finestra terapèutica més extensa que l'rt-PA (fins a les 6 i 8 hores) (Bracard S et al., 2016) amb unes taxes de recanalització significativament més elevades (entre el 50 i el 70%) que s'associen a un millor pronòstic funcional en persones amb ictus potencialment greus per oclusions intracranials proximals. Si no hi ha contraindicacions per a l'rt-PA, totes dues estratègies terapèutiques es poden combinar. De la mateix manera que amb l'rt-PA, la utilització de proves de neuroimatge avançades permet ampliar la finestra temporal terapèutica de la trombectomia mecànica fins a les 24 hores segons els estudis DAWN (Nogueira et al., 2018) i DEFUSE (Berkhemer et al., 2015; Bracard et al., 2016; Campbell et al., 2015; Goyal et al., 2015; Jovin et al., 2015).

Aquesta evidència científica ha permès canviar els criteris d'activació del Codi Ictus. Segons la nova instrucció de l'Institut Català de la Salut 01/2022 el criteri temporal d'activació s'amplia fins les 24 hores, incloent també els casos d'inici incert i/o els ictus del despertar.

1.1.5 Maneig del pacient amb ictus isquèmic en la fase post-aguda

Existeixen diversos estudis que suggereixen, des de fa vàries dècades, que la recuperació neurològica després de patir un ictus es produeix durant els tres primers mesos post-ictus amb un pic de recuperació en les primeres 4-6 setmanes, com van demostrar a l'estudi Framingham que és un estudi de cohorts de llarga duració que encara està en actiu (Gresham G. et al., 1995; Wade DT. et al., 1985). En alguns casos, es pot observar una millora fins als 6 mesos, amb un percentatge del 5% dels pacients que encara pot continuar millorant en el transcurs del primer any (Palomino Aguado B., 2010).

La recuperació neurològica segueix un patró diferent a la recuperació funcional i a la discapacitat. Edwardson i col·laboradors van confirmar que hi ha una gran varietat de factors que influeixen en el pronòstic de l'ictus, com poden ser: l'edat, la gravetat i el mecanisme de l'ictus, la localització de la isquèmia cerebral, comorbiditats, complicacions, així com un bon compliment del programa de rehabilitació (Edwardson M, 2022).

La gravetat de l'ictus pot avaluar-se mitjançant la valoració del grau d'afectació neurològica en les funcions cognitives-conductuals, el dèficit del camp visual, el dèficit motor i les alteracions en el llenguatge. La utilització d'escala de valoració de l'ictus, és molt útil, ja que milloren la precisió del diagnòstic, permeten determinar la viabilitat de tractaments específics i poden monitoritzar els canvis en el dany neurològic, així com la seva recuperació. L'escala de valoració global del dèficit neurològic més utilitzada és l'escala NIHSS, anomenada anteriorment. Aquesta escala és útil per predir la recuperació neurològica del pacient, de forma que, a les 24h post-ictus una puntuació del NIHSS ≤ 6 prediu una bona recuperació i una puntuació del NIHSS ≥ 16 prediu probabilitat de mort o discapacitat greu.

Una altre instrument molt utilitzat i complementari a l'escala NIHSS, és l'escala modificada de Rankin (mRS) (Van Swieten et al., 1988). Aquesta escala valora el grau de discapacitat global i assigna una puntuació entre el 0 i el 6 basant-se en el nivell d'independència. S'assigna una puntuació de 0 a les persones sense cap mena de discapacitat. En canvi, una puntuació de 5 s'interpreta com un alt grau de discapacitat i en els casos de mort s'assigna una puntuació de 6. Raymond i col·laboradors, l'any 2008, van establir la següent categorització de l'escala per a diferenciar el grau d'autonomia dels pacients: mRS ≤ 2 , no discapacitat greu o autonomia i mRS > 2 , discapacitat rellevant (Raymond S. et al., 2008).

L'avaluació de l'estat cognitiu i funcional del pacient de manera precoç en els primers dies i setmanes següents a l'ictus ha mostrat tenir un impacte molt positiu en els resultats de la rehabilitació (Andrew Evans et al., 2002), ja que és essencial per establir un tractament individualitzat. També s'ha observat una gran millora per fer les activitats bàsiques de la vida diària (ABVD) i una reducció de la discapacitat si els pacients són tractats en unitats especialitzades d'ictus (W. W. Zhang et al., 2014). Comparada amb les unitats de rehabilitació general, la rehabilitació coordinada i organitzada en una unitat d'ictus ha demostrat reduir la mortalitat i l'estància hospitalària i augmentar la independència funcional i la qualitat de vida dels pacients (Foley N. et al, 2007; Wiley & Ltd, 2013).

Una vegada avaluada la gravetat de l'ictus, s'ha de començar la rehabilitació el més aviat possible en aquells casos que no hi hagi pèrdua de consciència. La rehabilitació del pacient amb ictus és un procés progressiu, dinàmic i limitat en el temps que està orientat a l'objectiu final de tractar i/o compensar els dèficits i la discapacitat funcional produïdes després de l'ictus, facilitant així la independència i la reintegració en l'entorn familiar, social i laboral del pacient. Generalment, necessiten rehabilitació per dèficits persistents que s'associen a la pèrdua de funcionalitat de l'extremitat superior o inferior, problemes en la mobilitat o la marxa, disfàgia, alteracions de la visió i alteracions en el llenguatge.

El programa rehabilitador de l'ictus és un procés complex que requereix un abordatge multidisciplinar de les deficiències sensorials, motores i/o neuropsicològiques existents i que determinen el grau de discapacitat després de la rehabilitació post-ictus. En el tractament i la presa de decisions hi ha d'estar implicats activament el pacient i els cuidadors i familiars (Duarte E. et al., 2010). L'inici i la intensitat del programa rehabilitador són predictors importants dels resultats en la recuperació del pacient després de l'ictus (Wiley & Ltd, 2013) i s'ha demostrat que l'inici precoç i la teràpia intensiva milloren els resultats funcionals. Tant la implicació del pacient com de la família en la planificació i execució dels objectius, tenen un paper important en el programa de rehabilitació després de l'ictus. L'inici del tractament rehabilitador durant les primeres 24-72 hores després de l'ictus està ben tolerat i no comporta efectes adversos. Pel que fa a la intensitat del tractament rehabilitador, s'ha demostrat que augmentant el temps de teràpia en els sis primers mesos post-ictus es millora significativament la independència en les ABVD i la capacitat de la marxa dels pacients (Hebert et al., 2016). Segons la guia NICE del 2013 s'han de realitzar sessions d'almenys 45 minuts de teràpia durant un mínim de 5 dies a la setmana (NICE, 2013).

Encara que el major grau de recuperació neurològica dels dèficits té lloc durant els primers tres mesos i la recuperació funcional durant els 6 mesos posteriors a l'ictus, si hi ha discapacitat, s'ha de mantenir el tractament rehabilitador durant el primer any, sempre que hi hagi objectius funcionals. Tot i així, els programes rutinaris de rehabilitació que duren més d'un any no demostren una eficàcia significativa. No obstant, els pacients han de seguir tenint accés als serveis de rehabilitació durant la fase crònica ja que poden requerir de tractaments puntuals i de curta durada per tornar al nivell funcional previ a l'ictus (NICE, 2013).

1.2 La Unitat Neurovascular, l'entorn cel·lular del mecanisme fisiopatològic de l'ictus isquèmic

A part de les teràpies destinades a la reperfusió encara queda un llarg camí per aconseguir estratègies terapèutiques que evitin el dany post-reperfusió i que permetin, després de la fase aguda, una millora en la plasticitat cerebral. Així, més enllà del coneixement clínic sobre els símptomes i l'evolució dels pacients amb ictus cal un coneixement dels processos fisiopatològics que esdevenen durant la isquèmia aguda.

En els últims anys s'ha introduït el concepte de la UNV que és la unitat estructural i funcional del sistema nerviós central (SNC). La UNV està composta per neurones, cèl·lules glials (astròcits, micròglia i oligodendròcits) i cèl·lules vasculars (perícits, cèl·lules endotelials i làmina basal) (Posada-Duque et al., 2014) (Figura 3). En condicions fisiològiques els components de la UNV són els encarregats del bon funcionament de la barrera hematoencefàlica (BHE) i, així mateix, una bona interacció entre els diferents components permet el correcte funcionament dels processos cerebrals (Abbott et al., 2006; Yamazaki & Kanekiyo, 2017) i garanteix el subministrament de glucosa i oxigen al cervell (Sweeney et al., 2018). Tot i que, tots els components de la UNV tenen un funció específica per tal de mantenir la homeòstasis del SNC, la majoria de funcions estan interrelacionades.

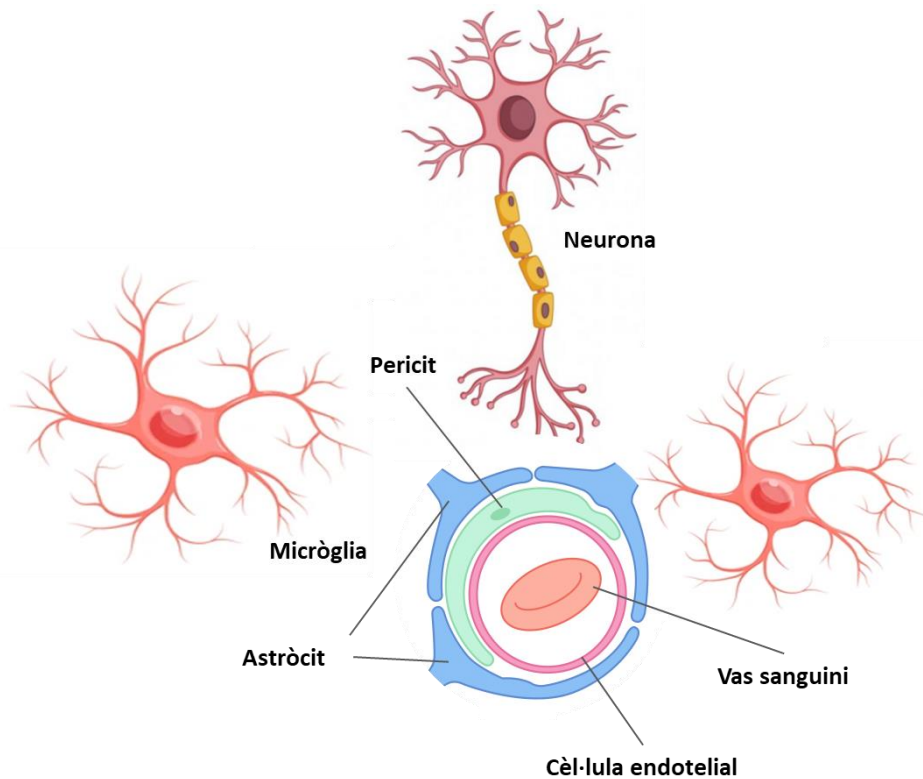


Figura 3. Components de la unitat neurovascular: unitat estructural i funcional del SNC format per cèl·lules endotelials, perïcits, astròcits, micròglia i neurones.

La pèrdua de la funcionalitat de la UNV es pot donar en diferents patologies del SNC com el traumatisme cranioencefàlic, l'esclerosi múltiple, l'ictus hemorràgic i l'ictus isquèmic (Dirnagl, 2012; Eilam et al., 2018; Keep et al., 2014; Tao et al., 2017). Concretament, després d'un ictus isquèmic es produeix un desequilibri dels diferents components de la UNV desencadenant una resposta inflamatòria deguda a la secreció de citoquines, quimiocines i molècules d'adhesió. Aquest fet provoca un augment de la permeabilitat de la BHE i es produeix el reclutament de cèl·lules del sistema immune perifèric a la zona isquèmica. Per aquest motiu, les noves estratègies terapèutiques de l'ictus isquèmic estan enfocades en mantenir el bon funcionament de la UNV i així poder reduir el dany cerebral i obtenir un millor pronòstic.

1.2.1 Mecanismes fisiopatològics de l'ictus isquèmic: la cascada isquèmica

El cervell conté reserves energètiques relativament baixes, de manera que, constantment necessita que hi hagi un subministrament d'oxigen i glucosa per poder obtenir energia en forma d'adenosina trifosfat (ATP). Quan hi ha una oclusió d'un vas sanguini i conseqüentment una disminució del flux sanguini cerebral no es pot mantenir el metabolisme de les cèl·lules i s'activen una sèrie de mecanismes que desencadenaran el que s'anomena cascada isquèmica, la qual

esdevindrà amb la mort neuronal del teixit afectat per la falta d'irrigació sanguínia (Torregrosa G. et al., 2008).

Durant la cascada isquèmica produïda després d'un ictus hi ha una seqüència temporal de successos que inclouen una fallada energètica seguida d'excitotoxicitat, estrès oxidatiu a través de l'alliberació de radicals lliures, lesió microvascular, pèrdua de funcionalitat de la BHE, canvis inflamatoris i finalment mort cel·lular de les cèl·lules que formen la UNV (Figura 4). La recanalització de l'artèria obstruïda i la reperfusió del teixit és de vital importància per restablir la funció cerebral, encara que a vegades es pot produir un dany secundari a aquesta reperfusió. Els processos que formen la cascada isquèmica poden durar des de minuts a dies, i fins i tot, poden ocórrer encara que ja s'hagi restablert la circulació sanguínia de la zona afectada (Brouns & De Deyn, 2009).

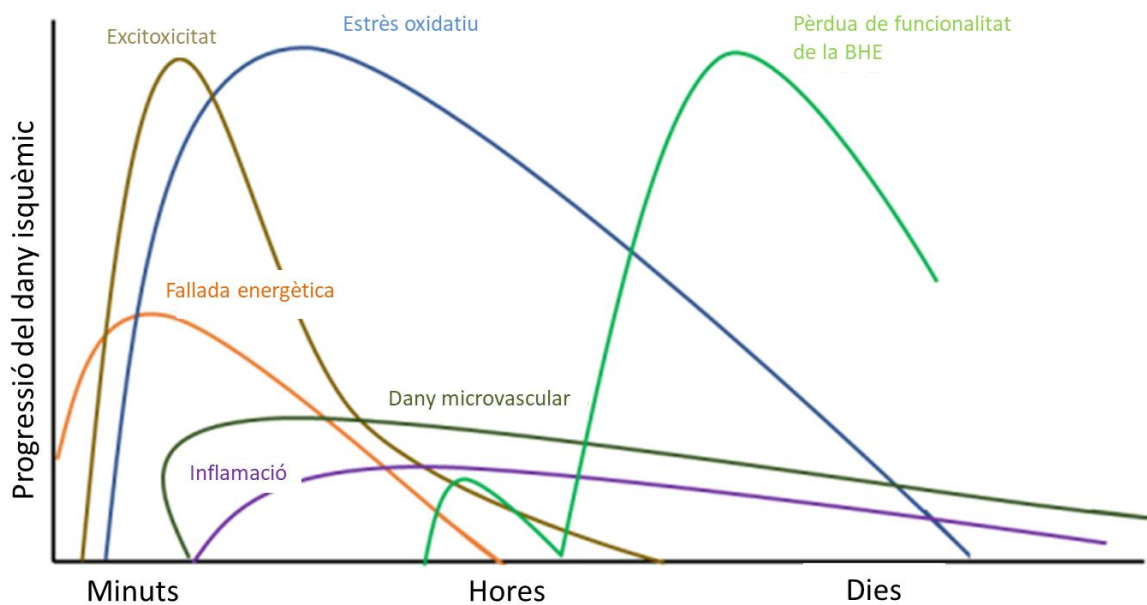


Figura 4. Seqüència temporal dels successos que tenen lloc durant la cascada isquèmica. La cascada isquèmica és un procés on es produeix un fallada energètica, seguida de excitotoxicitat, estrès oxidatiu, lesions microvasculars, inflamació i pèrdua de la funcionalitat de la BHE. Figura adaptada de: (Brouns & De Deyn, 2009).

A continuació es detallen els diferents successos que tenen lloc durant la cascada isquèmica:

Fallada energètica i excitotoxicitat

Primerament, quan es produeix l'oclusió d'una artèria cerebral i hi ha una disminució de l'oxigen i la glucosa, es produeix un descens important dels nivells d'ATP, esgotant el reservori cel·lular, de manera que és molt difícil mantenir la homeòstasi iònica. Hi haurà una alteració dels mecanismes

dependents d'ATP, principalment de les bombes iòniques de Na^+/K^+ . Aquesta fallada energètica produeix una caiguda del K^+ intracel·lular induint una despolarització axònica a les cèl·lules neuronals i gials, el que comportarà una apertura dels canals de Ca^{2+} i com a conseqüència s'alliberarà glutamat al medi extracel·lular (Turley et al., 2005). Aquest glutamat s'uneix als receptors post-sinàptics, com el receptor N-Metil-D-Aspartat (NMDA), que provocarà un increment de Na^+ i Ca^{2+} i consegüentment hi haurà una despolarització de les neurones post-sinàptiques (Chen et al., 2002; Ovbiagele et al., 2003). L'exitoxicitat és un procés on els receptors associats als canals iònics produeixen una entrada massiva de Ca^{2+} al medi intracel·lular, donant lloc a una entrada passiva d'aigua a l'interior cel·lular provocant un edema. Es produirà una mort irreversible de les neurones per mecanismes que impliquen proteïnes dependents de Ca^{2+} com les calpaines, la fosfolipasa cel·lular A2, les quinases i les endonucleases, de manera que l'exitoxicitat i la sobrecàrrega de Ca^{2+} intracel·lular són els principals factors que contribueixen a la mort cel·lular en les fases inicials de la isquèmia cerebral.

Estrès oxidatiu

L'estrès oxidatiu es defineix com un desequilibri entre la producció de ROS (del anglès, *Reactive Oxygen Species*) i la seva capacitat d'eliminació per part d'un sistema biològic. Durant l'oclusió d'una artèria cerebral, la falta d'oxigen i glucosa impedeix la producció d'ATP produint un augment de la concentració intracel·lular de Ca^{2+} . Això, causarà una producció massiva de ROS degut a la despolarització de la membrana mitocondrial (Dröse & Brandt, 2012; Shenoda, 2015). Tenint en compte que el cervell té una baixa activitat antioxidant i pocs mecanismes de reparació, l'acumulació de ROS acabarà produint dany en les proteïnes, els lípids i els àcids nucleics (Li et al., 2018). Aquest fet pot donar lloc a lesió o mort neuronal (M. Lu et al., 2014; Xing et al., 2017).

Inflamació

Durant la isquèmia cerebral s'activen diferents cèl·lules immunitàries residents al SNC i es desencadena una resposta inflamatòria. La micròglia és el primera en actuar enfront la isquèmia cerebral seguida per un augment de les cèl·lules dendrítiques, els macròfags i els limfòcits. En el core isquèmic la micròglia s'activa principalment per les senyals d'exitoxicitat generades durant la cascada isquèmica (Murugan et al., 2013). En la zona de la penombra, l'activació de la micròglia es produeix per molècules o lligands endògens associats a perill (DAMPs, del anglès *Damage-Associated Molecular Patterns*) (Neher et al., 2013). Durant aquest procés, també es produeix una alliberació de citoquines proinflamatòries i de radicals lliures provinents de les cèl·lules immunitàries, els quals augmenten la resposta inflamatòria i incrementen la propagació de la resposta immunitària (Huang et al., 2006).

Pèrdua de funcionalitat de la barrera hematoencefàlica

La BHE és una protecció formada per cèl·lules endotelials que separa el SNC del torrent sanguini i que s'encarrega de regular el trànsit de fluids, soluts i cèl·lules mantenint una homeòstasi i un correcte funcionament neuronal (Liebner et al., 2018; Zlokovic, 2008). En condicions normals es produeixen canvis en la permeabilitat de la BHE que permeten l'entrada d'aigua, nutrients i oxigen als teixits, no obstant, en situacions patològiques com en una MCV es produeix un augment de la permeabilitat de la BHE permetent l'entrada de substàncies perjudicials pel teixit cerebral (Sweeney et al., 2018; Sweeney et al., 2019). Aquest augment de la permeabilitat produïda després d'un ictus isquèmic, s'associa amb canvis en la homeòstasi iònica i de l'aigua afavorint la formació d'un edema cerebral (Dharmasaroja, 2016; Stokum et al., 2016). Una altra de les causes de la pèrdua de funcionalitat de la BHE després de l'ictus és la infiltració i l'acumulació de cèl·lules immunes perifèriques en el parènquima cerebral, promovent la progressió del dany isquèmic (Gelderblom et al., 2009). També s'ha observat que la disfunció de la BHE s'associa a un pitjor pronòstic i es relaciona amb la transformació hemorràgica i un augment de la mortalitat després del tractament agut amb rt-PA (Jickling et al., 2014; Xinchun Jin & Jie Liu, 2014).

Dany microvascular

La isquèmia cerebral també afecta a la microvasculatura a través de l'augment de la permeabilitat de les cèl·lules endotelials dels vasos sanguinis. Aquesta lesió endotelial, redueix l'alliberació d'òxid nítric i prostaciclina i augmenta la producció d'endotelina-1. L'endotelina-1 és un potent vasoconstrictor que incrementa el to vascular afectant a la quantitat de flux sanguini que arriba a la zona de la isquèmia cerebral contribuint a un increment del dany tissular (Del Zoppo & Mabuchi, 2003).

Mort cel·lular

La isquèmia cerebral, finalment, dona lloc a la mort neuronal. La mort cel·lular en el core de la isquèmia es produeix per necrosis (Nicotera et al., 2000), en canvi en la zona de la penombra isquèmica la mort es produeix per apoptosi.

La necrosi és un mecanisme passiu de mort neuronal el qual té lloc de manera desordenada degut a una disminució brusca dels nivells d'ATP. Per altra banda, l'apoptosi és un procés de mort cel·lular programada amb la qual s'eliminen les cèl·lules que no poden ser reparades i que podrien incrementar el dany tissular produït. Les caspases que s'expressen constitutivament en les

cèl·lules cerebrals adultes s'activen a través d'una via de senyalització de manera seqüencial i actuen en cascada per expulsar la cèl·lula apoptòtica (Elmore, 2007; Yuan & Yankner, 2000).

1.3 Estratègies de recerca de biomarcadors de pronòstic

Un dels majors reptes de la medicina actual és intentar estimar el risc de patir un esdeveniment patològic en una persona sana. El National Institutes of Health (NIH) va definir el terme biomarcador com un indicador de processos biològics normals, de processos patològics o com a una resposta farmacològica a una intervenció terapèutica. Existeixen diferents tipus de biomarcadors: diagnòstics, pronòstics i terapèutics (Martín-Ventura et al., 2009). El biomarcador ideal ha de ser específic, sensible, predictiu, ràpid i econòmic, estable *in vivo* i *in vitro*, no invasiu, i que tingui suficient rellevància preclínica i clínica per poder modificar les decisions relatives al procés patològic al qual s'aplica (Iqbal et al., 2013; Martín-Ventura et al., 2009).

En les darreres dècades s'han destinat molts esforços en la recerca de nous biomarcadors sanguinis i de neuroimatge per tal de millorar el diagnòstic, el pronòstic i l'establiment de l'etiologia dels pacients que han patit un ictus.

1.3.1 Biomarcadors de neuroimatge

Actualment, qualsevol característica que es pugui detectar en un estudi d'imatge es pot utilitzar per quantificar processos biològics. Mitjançant tècniques de neuroimatge avançada s'han pogut desenvolupar biomarcadors de patrons diferencials en aspectes estructurals i funcionals de l'encèfal, que recolzen i milloren la precisió del diagnòstic i pronòstic d'una patologia específica (Taula 3).

Els biomarcadors de neuroimatge inclouen mesures de volum de diferents zones del cervell (hipocamp, substància gris...), la localització d'una lesió isquèmica aguda o crònica i l'estudi de la permeabilitat de la BHE. La recerca d'aquests marcadors es pot dur a terme mitjançant tècniques de neuroimatge estructural amb la que s'observa una visió estàtica del SNC, o tècniques de neuroimatge funcional les quals proporcionen una visió dinàmica del funcionament cerebral. Una de les tècniques més àmpliament utilitzada tant en investigació com en la pràctica clínica habitual és la ressonància magnètica estructural (RMs) i en les últimes dos dècades s'han introduït la DWI, la tractografia, la ressonància magnètica funcional (RMf) i la tomografia per emissió de positrons (PET).

La RM pot utilitzar-se per l'obtenció d'imatges estructurals que permeten conèixer el volum de diferents àrees cerebrals i també valorar si hi ha zones atrofiades o tumorals i, per l'obtenció d'imatges funcionals que mostren les regions cerebrals implicades en una determinada tasca. Per una altra banda, la DWI es basa en la detecció *in vivo* del moviment de molècules d'aigua, que pot estar restringida en determinades patologies com la isquèmia cerebral. La tractografia, en canvi, permet obtenir una imatge de les connexions neuronals i reconstruir tot el feix de substància blanca permetent l'estudi de la plasticitat cerebral i la reorganització funcional després de patir una lesió isquèmica. La perfusió per RM és utilitzada per mostrar les àrees del cervell irrigades i ens dóna informació sobre el flux sanguini cerebral.

Per últim, el PET, es considerada una de les tècnica invasiva ja que s'ha d'injectar al pacient per via intravenosa una substància radioactiva, que indica la despesa metabòlica que tenen les cèl·lules donant informació de l'activitat neuronal (hipo/hipermetabolisme). L'SPECT (tomografia computeritzada d'emissió monofotònica), té la mateixa finalitat però utilitza un radiofàrmac diferent.

Taula 3. Resum de les tècniques d'imatge per a la recerca de biomarcadors de neuroimatge

Tipus d'informació	Tècnica d'adquisició	Biomarcador d'imatge
Anatòmica	RM	Localització lesió, volum, atrofia
Estructural	DWI, tractografia	Cel·lularitat, dany axonal
Funcional	RMf	Activació cerebral (tasca específica)
Dinàmica	RM perfusió	Vascularitat, permeabilitat capil·lar, etc
Molecular	PET, SPECT	Receptors de metabolisme

Abreviatures: RM: ressonància magnètica; DWI: ressonància magnètica de difusió; RMf: ressonància magnètica funcional; PET: tomografia per emissió de positrons; SPECT: tomografia computeritzada d'emissió monofotònica.

1.3.2 Biomarcadors circulants

Quan en un organisme es produeix una lesió o un dany hi ha diferents tipus de substàncies que són alliberades al torrent sanguini des dels diferents òrgans o teixits. Depenent de la zona on es produeixi la lesió i la seva gravetat i intensitat, s'alliberen un tipus o un altre de substàncies que estan implicades de forma molt directa en el desenvolupament i l'evolució del dany. Aquestes molècules són conegudes com a biomarcadors circulants i s'utilitzen com a eines diagnòstiques, pronòstiques o predictives de moltes malalties ja que sota diferents condicions patològiques com pot ser l'íctus pateixen canvis en el seu patró d'expressió.

La identificació de biomarcadors circulants metabòlics ha guanyat interès en els últims anys. Els metabòlits són molècules que deriven del metabolisme cel·lular i poden ser intermediàries o el producte final d'un procés biològic. Aquests biomarcadors poden estar presents en un fluid com el plasma ja que existeix un intercanvi continu de molècules entre els teixits i els fluids de l'organisme (Lanznaster D et al., 2018). Paral·lelament, la lipidòmica que és una branca de la metabolòmica, estudia i caracteritza el conjunt de lípids cel·lulars, així com les seves interaccions i funcions dins d'un organisme. L'estudi del perfil metabòlic/lipídic es fa mitjançant una anàlisi de metabolòmica/lipidòmica no dirigida (*untargeted metabolomics*) on l'objectiu és fer una quantificació aproximada encara que no precisa de tots els metabòlits i/o lípids presents en el metaboloma humà que poden ser diferents entre els individus o grups d'estudi. Actualment, tot i els grans avenços en aquesta tecnologia no s'utilitza cap metabòlit en la pràctica clínica habitual que millori el diagnòstic i pronòstic d'un ictus isquèmic, sinó que és la utilització de biomarcadors proteics la pràctica que estar més estesa.

1.3.2.1 Biomarcadors circulants de l'íctus isquèmic

Durant l'íctus isquèmic, la identificació de diferents molècules que participen en la cascada isquèmica podrien ser de gran utilitat com a biomarcadors en el maneig d'aquests pacients, però gran part d'aquests processos tenen lloc en els primers minuts després de l'oclusió vascular i, per tant, difícilment es podran determinar en la pràctica clínica habitual. Tot i així, processos posteriors, com la resposta inflamatòria post-íctus, l'activació del sistema de coagulació-fibrinòlisi, l'excitotoxicitat o l'apoptosi, tenen un paper important en l'evolució d'un ictus isquèmic i es podrien convertir en potencials biomarcadors.

S'ha observat que les molècules d'adhesió ICAM-1 i VCAM-1 estan implicades en la infiltració de leucòcits al teixit cerebral abans de la resposta inflamatòria. Diversos estudis van analitzar els

nivells d'aquestes molècules en mostres de sang perifèrica entre les 12 i les 72 hores des de l'inici dels símptomes, però els resultats no van ser homogenis. Blann i els seus col·laboradors, l'any 1999, van observar que hi havia concentracions elevades de VCAM-1 en la seva forma soluble durant els cinc primers dies després de l'esdeveniment isquèmic (Blann A et al., 1999).

Per altra banda, l'expressió local de citoquines inflamatòries (TNF- α , IL-1 β , IL-6) i quimiotàctils (IL-8 i la proteïna quimiotàctica de monòcits -1 (MCP-1)) promouen el reclutament i la migració de neutròfils i macròfags a la zona de la lesió isquèmica. L'augment de l'expressió en sang de la IL-1 i el TNF- α s'ha associat amb un dany cerebral més gran (Sairanen et al., 2001) igual que la citoquina pro-inflamatòria IL-6, on concentracions altes es correlacionen amb volums d'infart més elevats i un pitjor pronòstic a llarg termini (Bustamante et al., 2014; Smith et al., 2004).

Tradicionalment, s'ha avaluat el paper d'una única molècula com a biomarcador, però recentment s'ha proposat determinar l'expressió d'un conjunt de molècules alhora, en un panell de biomarcadors (Taula 4). Reynolds i col·laboradors van estudiar un grup de 50 biomarcadors en sèrum en una cohort de 223 pacients amb ictus i van proposar un model en què quan 3 o més molècules d'un grup de proteïnes [Proteïna lligadora de calci beta (SB100), el factor de creixement neurotròfic tipus B (BDNF), el factor von Willebrand (FvW), la metal·loproteïnasa 9 (MMP9) i la MCP-1) estaven per sobre d'un punt de tall, la sensibilitat per predir un ictus isquèmic era del 92% i la especificitat del 93% durant les primeres 6 hores des de l'inici dels símptomes (Reynolds et al., 2003). En un altre estudi, Laskowitz i col·laboradors van fer un altre model incloent el BNP (*Brain natriuretic peptide*), la proteïna C-reactiva (PCR), el dímer D (DD), la MMP-9 i el S100b que va presentar una sensibilitat del 81% i una especificitat del 70% per al diagnòstic d'un ictus isquèmic enfront a un ictus mímic (Laskowitz et al., 2009). Aquest mateix panell de biomarcadors havia estat proposat anteriorment per Lynch i col·laboradors (Lynch et al., 2004) per diferenciar pacients amb ictus isquèmic i pacients controls.

Taula 4. Principals panells de biomarcadors utilitzats per al diagnòstic d'un ictus isquèmic.

Biomarcadors	Comparació	n	Sensibilitat %	Especificitat %
Panell 4 de biomarcadors	IS vs controls, <24h	222	90	90
Panell 5 de biomarcadors	IS vs mímic, <6h	130	81	70
Panell 4 de biomarcadors	IS vs mímic, <24h	654	85	34

El panell 4 de biomarcadors està format per: S100B, vCAM, MMP-9 i FvW; El panell 5 de biomarcadors inclou: BNP, PCR, DD, MMP-9 i S100B. Abreviatures: IS: ictus isquèmic. Taula adaptada de Foerch et al., 2009 (Foerch et al., 2009).

Finalment, en la última dècada ha anat en augment el nombre de publicacions referents als canvis metabòlics i no només proteics relacionats tant en pacients amb ictus isquèmic com en models animals, tot i que encara no s'apliquen com a biomarcadors en la pràctica clínica habitual. En aquest sentit, la taula 5 mostra els estudis avaluats en una revisió publicada l'any 2013, sobre la metabolòmica en l'ictus isquèmic i els nous biomarcadors diagnòstics i pronòstics (Mauri Capdevila et al., 2013)

Taula 5. Metabòlits relacionats amb l'ictus isquèmic.

	Població (pacients ictus/control)	Mostra	Alteració	Metabòlits
(Sattari et al., 2011)	60/54	Plasma	Elevació	Taurina
(Jiang et al., 2011)	67/62	Sèrum	Elevació	Cisteïna, S-adenosil-homocisteïna, glutatió oxidat, àcid hidroxiicosatetraenoic, àcid hidroxiocetadecadienoic
			Disminució	Àcid fòlic, tetrahidrofolat, adenosina, aldosterona, deoxocatasterona, sacarosa 6-fosfat, betanina
(Jung et al., 2011)	54/47	Plasma	Elevació	Lactat, glicolat, piruvat, format
			Disminució	Valina, metanol, glutamina
	28/30	Orina	Disminució	Creatinina, glicina, hipurat
(Kelly et al., 2008)	57/27	Plasma	Elevació	F2-isoprostans
(Naccarato et al., 2010)	10/8	Plasma	Elevació	Anandamida
(Pilz et al., 2011)	61/3244	Sèrum	Disminució	Homoarginina

Taula adaptada de (Mauri Capdevila et al., 2013).

1.4 Ictus Minor, com a entitat clínica

Els pacients amb IM es caracteritzen per tenir un ictus amb poca simptomatologia clínica. Com s'ha descrit en els apartats anteriors, la MCV ha estat protagonista de grans avenços tant en les eines diagnòstiques i pronòstiques com en els tractaments en la fase aguda. En aquest context, l'IM ha presentat grans controvèrsies tant en el seu propi concepte o definició com en el tractament a aplicar. En molts estudis descriptius, l'IM ha anat lligat a l'AIT, és a dir, que s'han combinat pacients amb poca simptomatologia i lesió aguda en la neuroimatge amb pacients asimptomàtics i sense lesió en el parènquima cerebral (Hankey, 2003; Shahjouei et al., 2021; Weimar et al., 2009). Malgrat la poca simptomatologia, els pacients amb IM i AIT tenen un elevat risc de recurrència, especialment durant la primera setmana després de l'episodi inicial i sobretot en les 48 hores següents (Johnston et al., 2000; Purroy et al., 2007). Per aquest motiu, els pacients amb IM i AIT són protagonistes en els darrers anys d'assaigs de prevenció secundària com el

FASTER (Kennedy et al., 2007), el CHANCE (Y. Wang et al., 2013), el POINT (Johnston et al., 2018), el SOCRATES (Johnston et al., 2016) o el THALES (Amarenco et al., 2021) que tenen l'objectiu de millorar el diagnòstic i pronòstic d'aquests pacients.

La definició d'IM no és homogènia ni està estandarditzada. Per exemple, els tres primers assajos de prevenció secundària citats anteriorment van definir les persones amb IM com aquelles amb un dèficit neurològic persistent en el temps amb una puntuació igual o inferior a 3 en l'escala de severitat de l'ictus NIHSS. En canvi, l'estudi THALES i el SOCRATES el van definir amb una puntuació màxima de 5 punts. Aquesta definició també s'ha utilitzat en estudis observacionals multicèntrics com el del registre del Pla director de Malalties cerebrovasculares de la Generalitat de Catalunya (Font MA. et al., 2022). Finalment, els estudis de fibrinòlisi han exclòs en els seus criteris d'inclusió els pacients amb IM definint-los com aquells amb una puntuació igual o inferior a 4 en l'escala NIHSS (Emberson et al., 2014; NINDS, 1995). Altres estudis defineixen un IM, com aquells pacients que tenen una puntuació màxima de 1 en cada ítem de l'escala NIHSS (Fischer et al., 2010). Fins i tot, un recent estudi, el PRIMS, sobre l'efecte de l'rt-PA en aquest tipus de pacients utilitza una puntuació igual o inferior a 6 (Khatri P et al., 2018).

Com es mostra en la figura 5, la puntuació de l'escala NIHSS pot oscil·lar entre 0 i 42 punts segons la gravetat de l'ictus. En aquest context, potser s'hauria de definir aquests pacients com aquells amb un ictus isquèmic amb lesió aguda en la neuroimatge que no pateixen una discapacitat, independentment de la puntuació en l'escala NIHSS ja que hi ha símptomes amb més repercussió sobre les ABVD que uns altres, com per exemple les alteracions del llenguatge o l'hemiparèsia (Ferrari J et al., 2021). Tot i així, és difícil concretar de forma sistemàtica quins símptomes s'han de tenir en compte i quins no.


Puntuació NIHSS	Severitat ictus	Dany cerebral
0	No Ictus	
0-5	Ictus Minor	
6-15	Ictus moderat	
16-20	Ictus moderat o sever	
21-42	Ictus sever	

Figura 5. Puntuacions del 0 al 42 en l'escala de severitat de l'ictus NIHSS (National Institute of Health Stroke Scale). El NIHSS és una eina que quantifica objectivament el deteriorament funcional causat per un ictus isquèmic. L'IM, en aquest cas, es classifica amb una puntuació \leq a 5.

1.4.1 Tractament de la fase aguda de l'ictus minor

El principal argument per excloure els pacients amb IM del potencial benefici de l'rt-PA ha estat el fet que el risc o efectes de la transformació hemorràgica associada al tractament podria excedir els símptomes menors dels pacients (Ferrari J et al., 2021). Tot i així, un de cada tres pacients amb IM no serà funcionalment independent als 3 mesos de seguiment. Malauradament, pocs assaigs clínics s'han centrat en aquest tipus de pacients. Segons dades d'un metanàlisi que va incloure 9 assaigs clínics es va observar que l'efecte positiu de l'rt-PA es manté en el grup de pacients amb NIHSS basal inferior a 5 (Emberson et al., 2014), però s'ha de tenir en compte que només van ser inclosos els pacients amb IM amb una discapacitat rellevant. Així, en l'estudi ATLANTIS (Atlantis et al., 2004) es van incloure pacients amb alteració del llenguatge i alteració visual malgrat tenir puntuacions inferiors a 4 en l'escala NIHSS i, a l'estudi NINDS (Atlantis et al., 2004) es van excloure els pacients amb simptomatologia aïllada en forma d'atàxia, paràlisi o parèsia facial i alteració sensitiva. En l'estudi PRIMS que només es van incloure aquells pacients amb puntuacions en l'escala NIHSS inferiors a 5 i símptomes sense repercussió sobre les ABVD no es va observar un benefici significatiu del tractament amb rt-PA (Khatri P et al., 2018). Amb tota aquesta evidència, tant la guia de "*l'European Stroke Organization*" com la guia de "*l'American Stroke Organization*" recomanen el tractament amb rt-PA en els casos d'IM associats a discapacitat o en aquells pacients on seqüeles tinguin una repercussió sobre les ABVD o el retorn a la vida laboral.

A Catalunya, segons les dades del Pla director de la Malaltia Cerebrovascular analitzades pel Cat-SRC consorci, en el període comprès entre 2016 i 2020 es van activar 2975 codis ictus en pacients amb una puntuació del NIHSS inferior a 5 punts amb menys de 4,5 hores d'evolució des de l'inici dels símptomes. D'aquests 2975 pacients, només el 48,2% van rebre tractament amb rt-PA. Els principals predictors per decidir si els pacients eren tractats van ser la puntuació del NIHSS entre 4 i 5, el sexe femení, arribar a l'hospital el més aviat possible des de l'inici dels símptomes i la presència d'una oclusió intracranial (Font MA. et al., 2022).

Per altra banda, els pacients amb puntuacions inferiors a 7 en l'escala NIHSS han sigut exclosos dels grans assaigs de trombectomia mecànica (Goyal M et al., 2016). Com a conseqüència, hi ha poques dades que recolzin aquest tractament en pacients amb IM tot i que tinguin oclusions intracranials. De fet, les guies de la Societat Americana d'Ictus només afirmen que es pot tractar amb trombectomia mecànica aquest tipus de pacients. Destacar que aquesta situació clínica d'IM amb oclusió intracranial ha esdevingut en la realització d'estudis amb nous fàrmacs com l'activador del plasminògen tissular Tenecteplase. Així, l'estudi TEMPO 1, l'any 2015, va demostrar la seguretat d'aquest fàrmac en un total de 50 pacients amb una puntuació a l'escala NIHSS

inferior a 5 punts (Coutts SB et al., 2015). En l'actualitat s'està desenvolupant l'estudi TEMPO 2 amb la previsió d'incloure 1274 pacients atesos durant les primeres 12 hores de de l'inici dels símptomes.

1.4.2 Ictus Minor, patologia susceptible a patir alteracions afectives i cognitives

Més enllà de la simptomatologia identificada en els diferents ítems de l'escala NIHSS, existeixen altres aspectes que permeten avaluar millor la qualitat de vida dels pacients o que poden identificar els pacients amb IM associats a una major discapacitat i que realment haurien de ser candidats a teràpies de reperfusió. Entre ells, cal destacar, l'estat emocional i el deteriorament cognitiu.

La depressió és la complicació neuro-afectiva més freqüent després d'un ictus (Carod Artal, 2006; Dafer RM et al., 2008). Tot i així, poden aparèixer altres símptomes com l'apatia, l'ansietat, la irritabilitat, l'agitació, les alteracions del son, les alteracions del comportament, la fatiga i els símptomes psicòtics (Angelelli et al., 2004; Carod Artal, 2006). La depressió post-ictus (DPI) és el principal factor de mal pronòstic en la recuperació funcional després de l'ictus. Aquests pacients tenen una pitjor qualitat de vida i una major mortalitat que pot ser fins a 10 vegades més elevada que els pacients que no tenen DPI (Pohjasvaara T et al., 2001).

La DPI es defineix com un període important i persistent d'un estat d'ànim deprimat o una disminució de l'interès o el plaer per totes les activitats després de patir un ictus. El DSM-5 (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders – version 5*) de l'Associació Americana de Psiquiatria (APA) categoritza la DPI com un trastorn depressiu degut a una altra afectació mèdica, en aquest cas l'ictus, de manera que la DPI pot considerar-se una forma de depressió vascular. Així, per al seu diagnòstic és necessari tenir evidències per la història clínica, per les troballes de l'examen clínic i per les proves complementàries que la DPI és una conseqüència fisiològica directa de la lesió isquèmica.

En la majoria d'estudis de DPI s'han exclòs els pacients que han patit un IM, malgrat que aquest subgrup de pacients també és vulnerable a aquesta malaltia (Carnés Vendrell et al., 2016). La majoria d'estudis que han estudiat la DPI s'han centrat en determinar la seva prevalença i els factors de risc associats. La utilització de proves de cribatge, temps d'avaluació i dissenys d'estudi diferents han fet que el rang de prevalença sigui molt variable. Revisions sistemàtiques publicades al respecte informen d'una prevalença global del 33% (Hackett et al., 2005), que pot arribar fins al 40 % en pacients hospitalitzats (Williams, 2005). En el cas d'analitzar exclusivament els símptomes depressius i no només el diagnòstic de la depressió, la prevalença pot augmentar fins al 78 % dels

pacients (Snaphaan et al., 2009). Encara que la prevalença de la DPI és molt elevada, normalment està infra-diagnosticada i infra-tractada. És important conèixer els factors de risc associats per tal de tractar-la de manera precoç i així evitar les repercussions negatives que poden aparèixer per al pacient i el seu entorn. Un estudi publicat al 2016 va apuntar que els predictors de la DPI eren la discapacitat després de l'ictus, el deteriorament cognitiu, la gravetat de l'ictus, la localització de la lesió i els FRV (Y. Z. Shi et al., 2016).

El curs de la DPI es manifesta de la mateixa forma en pacients amb ictus isquèmic que tenen puntuacions elevades en l'escala NIHSS que en pacients amb IM. Concretament, 3 de cada 10 pacients amb IM desenvolupen DPI durant el primer any. La majoria de pacients mostren DPI en la fase aguda i un gran percentatge es recuperen en les avaluacions posteriors (Y. Z. Shi et al., 2016). Moran i els seus col·laboradors van afirmar que la prevalença de la DPI en l'etapa aguda de l'AIT i l'IM és relativament alta seguida d'una disminució al llarg del temps (Moran et al., 2014). Un bon diagnòstic i tractament farmacològic primerenc amb inhibidors de la recaptació de la serotonina són fonamentals per una bona recuperació afectiva, cognitiva i funcional d'aquests pacients (Morsund et al., 2019).

Malgrat que l'apatia ha estat menys avaluada, diferents estudis també han conclòs que és una complicació molt prevalent després de patir un ictus i encara que pot aparèixer com una entitat pròpia i independent, la majoria de vegades es troba associada a la depressió i el deteriorament cognitiu (Jorge RE et al., 2010). El diagnòstic diferencial entre la DPI i l'apatia pot ser molt complicat degut al solapament en la simptomatologia que existeix entre les dues patologies. L'apatia és un trastorn de la motivació que consisteix en una reducció quantitativa de la conducta dirigida a objectius, com ja va conceptualitzar Robert Marin al 1991 (Robert S. Marin et al., 1991). Els pacients mostren una pèrdua o disminució de la motivació, la preocupació i l'interès, que es tradueix en una disminució de la iniciativa, de la interacció amb l'entorn i de l'activitat social. Aquesta condició psicològica ha tingut poc interès en comparació a altres alteracions que apareixen després d'un ictus, com el deteriorament cognitiu i la depressió, encara que també s'ha vist que té una elevada prevalença i afecta negativament al procés de recuperació funcional i de readaptació familiar i social del pacient (van Dalen et al., 2013). Segons els estudis, l'apatia post-ictus (API) es situa entre el 19% i el 50% dels casos, depenent de la mostra, el moment evolutiu en què s'efectua la valoració i l'escala utilitzada per a la seva avaluació (Brodaty et al., 2005). No només això, sinó que entre un 36% i un 41 % dels pacients que presenten API en la fase aguda de l'ictus la mantenen en el primer any de seguiment (Mayo NE et al., 2009). No obstant, en la major part dels casos l'apatia apareix en la fase subaguda i crònica del ictus (Angelelli et al., 2004).

En la majoria d'estudis el diagnòstic de la DPI i l'API s'ha realitzat en base al manual DMS-5 en combinació amb altres escales de cribatge i avaluació. Les escales més utilitzades per a l'avaluació de la DPI són l'Inventari de Depressió de Beck (BDI), l'Escala d'Ansietat i Depressió Hospitalària (HADS), l'Escala de Depressió de Hamilton (HAMD) i l'Escala de Depressió de Montgomery-Asberg (MADRS) (Salter et al., 2007). En el cas de l'avaluació de l'apatia l'instrument més utilitzat és l'Escala d'Avaluació de l'Apatia clínica (AES-c) (Brodaty et al., 2005).

El deteriorament cognitiu lleu (DCL) és un estat entre el deteriorament cognitiu esperat degut a l'envelliment normal i un deteriorament més greu com la demència. El DCL es caracteritza per una pèrdua de memòria, capacitat del llenguatge, atenció o percepció visual/espacial en persones que encara mantenen la capacitat de realitzar de forma independent la majoria d'ABVD. A finals de la primera dècada del segle XX es va ampliar el concepte de DCL dividint-lo en 4 subtipus segons si afectava exclusivament a la memòria (DCL amnèsic de domini únic), a múltiples dominis cognitius inclòs la memòria (DCL amnèsic de domini múltiple), a una sola funció cognitiva que no fos la memòria (DCL no-amnèsic de domini únic) o afectació de diversos dominis cognitius, excepte la memòria (DCL no-amnèsic de domini múltiple) (Rockwood & Erkinjuntti, 2003).

Recentment, s'ha proposat el terme deteriorament cognitiu vascular (DCV) per agrupar un ampli espectre de trastorns cognitius d'origen vascular amb simptomatologies i cursos evolutius diferents. Concretament, el deteriorament cognitiu després d'un ictus isquèmic ha estat molt investigat des de la dècada dels 80. Les xifres de prevalença indiquen que el deteriorament cognitiu post-ictus pot oscil·lar entre el 35,2% i el 87 % dels pacients (Terroni et al., 2012), dels quals un 25-31 % poden arribar a patir demència post-ictus (Oksala et al., 2009). A més, s'ha observat que fins un 55% dels pacients amb ictus tenen alteracions en almenys un domini cognitiu quan s'aplica una bateria neuropsicològica completa (BNPc) (Madureira et al., 2001). Per altra banda, l'ictus augmenta el risc de patir demència entre 4 i 12 vegades (O'Brien et al., 2003; Petersen et al., 2001) i segons Petersen i els seu col·laboradors (2003), el DCL no-amnèsic de domini múltiple és el que està més relacionat amb la demència vascular (Petersen, 2003).

Tot i que existeix un consens en la importància de l'associació entre l'ictus i el DCL, els resultats poden variar molt d'un estudi a un altre, ja que la composició de les cohorts, la varietat dels dissenys experimentals i els diferents tests utilitzats per a l'avaluació, varien significativament entre els diferents estudis, de manera que la generalització dels resultats és molt complexa.

Per a l'avaluació del DCL s'utilitzen escales de cribratge cognitiu com el *Mini-Mental State Examination* (MMSE) o l'Avaluació Cognitiva de Montreal (MoCA) tot i que aquests tests no permeten l'estudi de dèficits cognitius específics (Nys et al., 2005). En particular, per a l'avaluació de deteriorament cognitiu post-ictus la sensibilitat i especificitat és més elevada en el MoCA que en el MMSE (Lees et al., 2014; Mai LM et al., 2016; Pendlebury ST et al., 2010).

També cal tenir en compte la relació que pot existir entre els símptomes depressius i les funcions cognitives en pacients amb ictus. En una revisió duta a terme per Terroni i col·laboradors, es va observar que hi havia diferències en el perfil cognitiu entre els pacients amb o sense DPI (Terroni et al., 2012). Concretament, un deteriorament en l'orientació, el llenguatge, les funcions executives, la memòria i l'atenció i VPI es va relacionar amb la depressió. En particular, el deteriorament de les funcions executives es va associar amb la DPI i alguns autors van considerar el terme síndrome de depressió-disexecutiva definint-la com una depressió d'inici tardà associada amb una disfunció executiva (Risto Vataja et al., 2005). Altres estudis ja havien descrit fa temps una associació entre la severitat de la DPI i la magnitud dels dèficits cognitius (Kauhanen et al., 1999) augmentant fins a tres vegades la freqüència de DCL en pacients amb depressió severa que en pacients amb símptomes més lleus (Nys et al., 2005). En un altre estudi també es va observar que el deteriorament cognitiu post-ictus, en la fase aguda, era un factor de risc a llarg termini per al desenvolupament de simptomatologia depressiva i una pitjor qualitat de vida (Nys et al., 2006). En aquest sentit, alguns autors han proposat que els símptomes depressius són una reacció secundària als dèficits cognitius en pacients post-ictus, encara que aquest tema segueix sent molt controvertit (Verdelho et al., 2004).

1.4.2.1 Biomarcadors de neuroimatge de la depressió i el deteriorament cognitiu després d'un ictus minor

Tenint en compte la definició d'AIT i el seu diagnòstic diferencial amb l'IM, la DWI s'ha tornat essencial per al seu diagnòstic. Els pacients han de sotmetre's a una prova de neuroimatge dins de les 24 hores des de l'inici dels símptomes, perquè tot i que la simptomatologia neurològica focal és transitòria, en la DWI s'observa una àrea hiperintensa deguda a la isquèmia cerebral aguda, indicant un dany permanent del teixit cerebral (Easton et al., 2009).

Fins al moment hi ha poca informació disponible sobre predictors de neuroimatge i el desenvolupament de simptomatologia afectiva i DCL després d'un IM (Purroy et al., 2011). De fet, hi ha moltes dades controvertides sobre les troballes en la neuroimatge i la relació amb la DPI. En un estudi fet per Zhang i col·laboradors van observar que els pacients que pateixen un ictus amb un percentatge de volum d'infart més elevat i amb focus d'isquèmia cerebral múltiples són factors

predictors de freqüències més altes de DPI (Zhang W. N. et al., 2013), fet que suggereix que una major pèrdua de teixit neural pot ser un factor de risc per la DPI. Troballes recents també recolzen aquest succés, ja que han relacionat un major risc de DPI amb un volum total afectat més gran per un efecte acumulatiu d'una malaltia de petit vas o infarts llacunars i també per una alteració de la substància blanca com la leucaraïosis (Liang et al., 2018; Shi Y et al., 2017; Zhang X et al., 2017).

Tradicionalment, s'havia informat que existia una relació entre la localització de l'ictus en zones frontals/anteriors o lesions en els ganglis basals, independentment del temps (fase aguda, post-aguda o crònica) amb una major taxa de DPI en comparació amb els ictus en altres àrees del cervell (Robinson & Jorge, 2016). Tot i així, un recent metanàlisi va observar que aquesta relació només era estadísticament significativa en la fase post-aguda, definida entre els 15 dies i els 6 mesos post-ictus (Douven et al., 2017). Per altra banda, evidències recents són inconsistentes sobre si hi ha relació entre l'hemisferi cerebral on hi ha la lesió aguda i la freqüència de DPI. Anteriorment, s'havia descrit un major risc de DPI amb lesions específicament en l'hemisferi esquerra (Robinson & Jorge, 2016), però un metanàlisi dut a terme per Douven l'any 2017 va observar que les persones amb un ictus a l'hemisferi esquerra tot i que tenien un risc més elevat de desenvolupar DPI, aquest no era significatiu (Douven et al., 2017).

També, cal destacar, que revisions sistemàtiques prèvies no van observar diferències en les freqüències de DPI segons el tipus d'ictus (ictus isquèmic vs ictus hemorràgic) ni tampoc amb la seva etiologia segons la classificació TOAST (De Ryck et al., 2014; Kutlubaev & Hackett, 2014).

Finalment, pel que fa als estudis sobre la neuroimatge i la relació amb el deteriorament cognitiu post-ictus, s'ha observat que la detecció de més d'un infart cerebral en regions cerebrals supratentorials pot ser un indicador de què el deteriorament cognitiu que presenta un pacient és d'origen vascular, encara que no sempre es pot establir una relació de causa-efecte. Les variables que poden pronosticar el DCL i la demència en la RM són el volum de les lesions hiperintenses de la substància blanca (VHSB) i una atròfia cerebral global (Turón, A i Bas, 2011). Tot i així, els adults amb una major reserva cognitiva, definida com una major intel·ligència i educació pre-mòrbida, donen a la persona la capacitat de "reserva cerebral". Aquest fet, pot compensar els efectes d'una isquèmia cerebral, de manera que adults amb una major reserva cognitiva són capaços de compensar majors quantitats de VHSB que aquells pacients amb una menor reserva, observant una menor prevalença de DCL després de l'ictus (Brickman et al., 2011).

La topografia de les lesions vasculars és clau per fer un bon diagnòstic. La localització de les lesions en l'hemisferi cerebral dominant, estructures límbiques, subcorticals frontals, bilaterals parietals o temporals i lesions subcorticals en els ganglis basals o el tàlem es correlacionen amb la

demència. A més, lesions isquèmiques cerebrals de poc volum però situades en llocs específics com la circumval·lació angular o el fòrnix de l'hipocamp, poden provocar alteracions cognitives molt greus a l'interrompre circuits fronto-subcorticals fonamentals (O'Brien & Thomas, 2015). Mandzia i col·laboradors van afirmar que els pacients amb infarts corticals crònics previs i amb infarts bilaterals aguts observats en la DWI tenen un pitjor rendiment en les funcions executives i la VPI (Mandzia et al., 2016). A més, la presència de microhemorràgies cerebrals (MHC) afecten a la funció cognitiva, sobretot si estan situades a la zona frontal o temporal i als ganglis basals (Lei et al., 2013).

Degut a les troballes controvertides en els biomarcadors de neuroimatge, la majoria d'investigacions destaquen la necessitat de realitzar més estudis longitudinals que avaluin detalladament les proves neuroradiològiques (localització i volum de la lesió isquèmia, alteracions de la substància blanca, quantificació d'ictus crònics) i la prevalença de DPI i deteriorament cognitiu post-ictus per tal de trobar nous factors predictors de risc.

1.4.2.2 Biomarcadors circulants de la depressió i deteriorament cognitiu després d'un ictus minor

Com s'ha descrit anteriorment, existeixen diferents tipus de biomarcadors circulants en sang com són els metabòlits, l'expressió dels quals es veu alterada sota diferents condicions fisiopatològiques com pot ser l'ictus. El cribratge dels seus perfils d'expressió amb la finalitat d'identificar nous biomarcadors relacionats amb la depressió i el deteriorament cognitiu després de l'ictus és molt rellevant.

Actualment, encara que les causes de la depressió no es coneixen amb certesa, s'han identificat diversos factors biològics, socials i psicològics que semblen associar-se d'una manera estreta amb la seva etiologia i desenvolupament, els quals podrien oferir, juntament amb els instruments clínics, una bona eina per establir diagnòstics precoços i ajustar el tractament al llarg del curs de la malaltia (Holtzheimer & Mayberg, 2011). Tot i així, els esforços per trobar un biomarcador aplicable en la pràctica clínica habitual no han donat resultats significatius.

L'interès en la recerca de biomarcadors biològics de la depressió ha crescut molt en les últimes dècades. Una de les biomolècules determinants és el BDNF, el qual els seus nivells es veuen reduïts durant la depressió. El seu paper fisiològic consisteix en estimular el desenvolupament i l'estabilització de les connexions neuronals. Existeixen múltiples evidències per la possible validació del BDNF com a marcador biològic de la depressió: s'observen nivells reduïts en sang en pacients depressius i una correlació negativa entre els nivells de BDNF i les puntuacions en l'escala

de depressió de Hamilton (Gonul et al., 2005; Karege et al., 2002; Mattson et al., 2004; Shimizu et al., 2003).

El VEGF (*Vascular Endotelial Growth Factor*) és un factor angiogènic que també té un paper important en la neurogènesi de l'hipocamp i com a molècula neuroprotectora (Schmidt et al., 2011). S'ha observat, que es produeix un augment del risc de desenvolupar episodis depressius en pacients amb disfunció endotelial causada per les MCV i la molècula VEGF podria estar implicada (Sharma et al., 2016).

També s'ha associat nivells baixos de colesterol amb trastorns de l'ànim (Martínez Carpio et al., 2009), on s'ha observat una clara correlació entre nivells baixos de colesterol i una alta puntuació en l'escala de depressió de Hamilton (Rafter, 2001).

Per una altra banda, hi ha marcadors immunològics de la depressió com l'augment dels nivells en sang de la IL-6 i la IL-2R (Zeugmann S et al., 2010). La IL-6 regula el sistema hipotàlem-hipofisari-corticoadrenal i la seva secreció és estimulada per fenòmens estressants físics o psicològics (Satoru Miyahara et al., 2000).

Un dels biomarcadors més àmpliament demostrats de la depressió és la disminució del número de transportadors de dopamina en la membrana de les plaquetes i els limfòcits ja que la hipòtesi monoaminèrgica de la depressió diu que aquesta patologia s'origina per una deficiència en els sistemes serotoninèrgic i noradrenèrgic (Mössner et al., 2007). Tot i així, el mecanisme etiopatogènic de la depressió encara no està clar.

Molts autors coincideixen en què pot ser difícil trobar un únic biomarcador diagnòstic per a la depressió. Per aquesta raó, s'ha proposat la utilització de panells de biomarcadors com el MDDScore (*Mayor Depression Disorder Score*) en el qual es van mesurar els nivells en sang de 9 proteïnes implicades en diferents rutes metabòliques i que s'havien relacionat prèviament amb la depressió. Aquestes proteïnes van ser l' α 1-antitripsina, l'apolipoproteïna C3, el BDNF, el cortisol, el factor de creixement epidèrmic (FCE), la mieloperoxidasa, la prolactina, la resistina i el receptor del TNF α . Aquest estudi va obtenir una sensibilitat del 92% i una especificitat del 81% per poder diferenciar els pacients que tenien depressió major i els que no (John A Bilello et al., 2015).

Per aquests motius, un biomarcador ajudaria a realitzar un diagnòstic en casos dubtosos o permetria conèixer la resposta del pacient a un tractament precoç, millorant significativament el pronòstic dels pacients amb depressió. Malauradament, fins al dia d'avui no s'ha trobat cap marcador ideal que es pugui aplicar en la pràctica clínica habitual, per això cal fer més estudis que proporcionin més informació sobre aquesta patologia.

Fins al moment, la principal limitació dels biomarcadors clàssics de deteriorament cognitiu ha estat la seva recerca en LCR i la utilització de la tècnica PET per veure el metabolisme de la glucosa i el dipòsit de β -amiloide. La primera tècnica és molt invasiva i la segona molt costosa dificultant la seva aplicació en la pràctica clínica habitual. Els principals biomarcadors de DCL en LCR són la proteïna β -amiloide 42 ($A\beta$ -42) que forma les plaques senils i la proteïna tau-total i la proteïna tau fosforilada que produeixen els cabdells neurofibril·lars interferint en la capacitat de transmissió cerebral.

Actualment, els avenços tecnològics permeten la mesura de múltiples biomarcadors en el plasma sanguini, potencials per al diagnòstic i seguiment del deteriorament cognitiu post-ictus. L'interès clínic d'aquesta síndrome també esdevé en la capacitat de predir el desenvolupament posterior d'una demència.

Diferents estudis han identificat marcadors de malaltia amiloide en sang perifèrica com la isoforma $A\beta$ -42, encara que existeix una baixa correlació entre els nivells de $A\beta$ en sang i LCR (Zetterberg, 2017). Els nivells plasmàtics elevats de $A\beta$ -42, baixos de $A\beta$ -40 i una ratio $A\beta$ 42/ $A\beta$ -40 reduïda en pacients d'edat avançada podrien indicar la progressió de normalitat cognitiva a DCL o malaltia d'Alzheimer (Jellinger et al., 2008). Tot i això, degut a la influència de múltiples factors i a la impossibilitat de reproduir molts dels resultats obtinguts en els diferents anàlisis, actualment encara no es pot establir el paper de $A\beta$ com a biomarcador plasmàtic (Jellinger et al., 2008; O'Bryant et al., 2017).

La fosforilació de la proteïna tau en diferents residus regula la capacitat per formar agregats que contribuiran a la formació de cabdells neurofibril·lars (Janel et al., 2011; Jellinger et al., 2008). Malauradament, la correlació entre la tau plasmàtica i en LCR és molt baixa (Deters et al., 2017), tot i que s'ha postulat que els nivells de tau-total i tau-fosforilada correlacionarien amb les puntuacions en test neuropsicològics i podrien discriminar entre pacients amb malaltia d'Alzheimer, DCL i controls (Deters et al., 2017; O'Bryant et al., 2017; Shekhar et al., 2016; Tatebe et al., 2017; Zetterberg, 2017). També s'ha estudiat que la proteïna tau plasmàtica podria ser un marcador de neurodegeneració i no un marcador específic de DCL o Alzheimer ja que s'ha observat que es troba augmentada en pacients amb ictus isquèmics o traumatisme

cranioencefàlic (Henriksen et al., 2014). No obstant, la proteïna tau plasmàtica fosforilada (p-tau) és un biomarcador específic de la malaltia d'Alzheimer i les seves capacitats diagnòstiques en LCR quan hi ha una fosforilació en la treonina 181 (p-tau181) s'han replicat àmpliament en sang (Blennow et al., 2018). El p-tau181 plasmàtic pot diferenciar la malaltia d'Alzheimer de trastorns neurodegeneratius no relacionats amb la malaltia d'Alzheimer (Benussi et al., 2020; Karikari et al., 2021; Thijssen et al., 2020), pot identificar pacients amb una major retenció de A β i tau en la prova PET (Mielke et al., 2018) i pot predir la progressió de DCL a demència, de la mateixa manera que ho faria la p-tau181 en LCR (Moscoso et al., 2020). A més, altres troballes, com la fosforilació de tau en la treonina 217 (Mattsson-carlgren et al., 2020), i la fosforilació de tau a la treonina 231 (Ashton et al., 2021), també s'han associat a la malaltia d'Alzheimer i s'han replicat en plasma. L'hiperfosforilació de la proteïna tau s'ha vist relacionada amb la quinasa-glicogensintetasa-3 β (GSK-3 β) (Jellinger et al., 2008), de manera que els nivells plasmàtics d'aquesta molècula estarien significativament incrementats en pacients amb malaltia d'Alzheimer i DCL, el que també el converteix en un potencial biomarcador (Lista et al., 2015).

Per una altra banda, concentracions elevades del neurofilament lleuger (NF-L) en plasma, que és un marcador de dany neuronal de les patologies cerebrals, tenen una bona correlació amb els nivells de NF-L en LCR (Lista et al., 2015; Zetterberg, 2017). Tot i així, l'elevació dels nivells plasmàtics de NF-L no és específica de DCL ja que es detecta en altres malalties neurodegeneratives i per tant es considera un marcador de neurodegeneració (Mattsson et al., 2017).

Comparant perfils proteòmics en sang perifèrica s'ha observat una disminució de la apolipoproteïna A1 (que inhibeix l'agregació de oligòmers de A β , disminuint la seva acumulació extracel·lular) i d'Alfa-2-HS-glicoproteïna que té funcions antiinflamatòries i un efecte neuroprotector, en pacients amb DCL respecte a pacients controls (Kitamura et al., 2017). En canvi, els nivells de l'apolipoproteïna A4 i les cadenes gamma de fibrinògen, que són responsables d'anomalies vasculars, estan significativament més elevats respecte als controls (Henriksen et al., 2014; Jellinger et al., 2008; Kitamura et al., 2017). També cal esmentar, l'apolipoproteïna E (APOE) que és una proteïna codificada per un gen polimòrfic amb tres al·lels coneguts com ϵ 2, ϵ 3 i ϵ 4 que s'hereten de manera codominant. Els individus que presenten l'al·lel ϵ 4 tenen un risc més elevat de patir la malaltia d'Alzheimer de manera esporàdica i la progressió d'aquesta des d'un DCL (E.H.Corder et al., 1993; Fei & Jianhua, 2013). Per contra, l'al·lel ϵ 2 està considerat un factor protector per aquesta mateixa malaltia (E.H. Corder et al., 1994). Entre el 60 i 80% dels pacients que pateixen Alzheimer tenen el polimorfisme *APOE* ϵ 4 i s'ha observat que els adults amb aquest polimorfisme tenen majors concentracions de dipòsits de pèptid β -amiloide al cervell el que

suggereix que la proteïna APOE juga un paper important en l'eliminació d'aquest (Hanson et al., 2013; Kim et al., 2014).

Històricament, la sensibilitat i especificitat dels biomarcadors sanguinis ha estat inferior que la dels biomarcadors en LCR. La gran dificultat per reproduir i validar els resultats dels biomarcadors sanguinis ha limitat la seva aplicació en la pràctica clínica, fins al dia d'avui. No obstant, existeix evidència d'una firma biològica sanguínia específica del DCL, tot i les limitacions per a la identificació de biomarcadors sanguinis fiables. Per aquest motiu, en un futur, gràcies als estudis que estan emergent d'aproximació òmica es podran estudiar noves vies biològiques alterades en aquesta patologia que podran ser utilitzades per al descobriment de nous biomarcadors de risc i així, poder millorar el pronòstic d'aquests pacients.

1.5 Models preclínic d'ictus isquèmic i factors de risc vascular

Els models experimentals en l'estudi de l'ictus isquèmic han tingut un paper important tant per l'estudi de la fisiopatologia de l'ictus isquèmic com per al desenvolupament de noves estratègies i dianes terapèutiques (Mergenthaler et al., 2004). En l'actualitat segueix existint un important desequilibri entre l'ictus isquèmic en els models experimentals i la seva translacionalitat als pacients, ja que a excepció de la recanalització del vas oclòs, cap de les estratègies neuroprotectores experimentals han arribat fins a la pràctica clínica habitual (Jickling & Sharp, 2015).

1.5.1 Models animals preclínic d'ictus isquèmic

Els models animals grans (porcs o primats no humans) en l'estudi de l'ictus són poc utilitzats, sent els animals més generalment emprats els rosegadors (rates i ratolins) degut a la seva facilitat de manipulació, monitorització i processament de teixits, el seu menor cost i que tenen una millor acceptació ètica per la societat (Fluri et al., 2015).

Existeixen diferents models animals d'ictus tant isquèmic com hemorràgic, tot i que aquests últims han quedat exclosos de l'interès d'aquesta tesi. L'elecció del model dependrà dels objectius de l'estudi experimental. Els models experimentals murins d'ictus isquèmic es poden dividir en dos grans grups: models d'isquèmia global (tot el cervell) i models d'isquèmia focal o multifocal (que comprenen una regió concreta del cervell) (McCullough & Liu, 2011). En la isquèmia global no hi ha flux sanguini en tot el cervell i es pot dur a terme mitjançant una parada cardíaca o un lligament de les artèries caròtides comunes. Les tècniques per dur a terme una

isquèmia global són poc emprades ja que els animals presenten moltes complicacions que poden arribar a provocar la mort i també hi ha molta variabilitat en els resultats amb volums d'infart molt diferents. A més, aquests models no representen el que passa en la clínica ja que normalment en els humans es produeix una isquèmia focal, per això, els models d'isquèmia global no són utilitzats en l'estudi de l'ictus.

Els models murins més utilitzats actualment són aquells models d'isquèmia focal en els quals es fa una oclusió de l'ACM (*MCAo*, de l'anglès *Middle Cerebral Artery Occlusion*) i afecta a un hemisferi cerebral ja sigui per oclusió intravascular o proximal (oclusió de gran vas) o per oclusió extravascular o distal (oclusió de petit vas). Entre aquests models es pot trobar la MCAo amb filament intraluminal, la inducció de vasoconstricció mitjançant l'endotelina-1, l'oclusió manual de l'ACM mitjançant una craniectomia, la fototrombosis, l'electrocoagulació o els models tromboembòlics (Taula 6).

Taula 6. Models preclínics d'ictus isquèmic

Tipus d'ictus	Isquèmia cerebral	Etiologia	Models
Isquèmic	Global	Intravascular	Parada cardíaca
		Extravascular	Compressió coll o lligament d'artèries
	Focal	Intravascular	Filament intraluminal
		Extravascular	MCAo (endotelina, manual mitjançant craniectomia, fototrombosis)
	Multifocal	Intravascular	Coàguls o microsfères

Abreviatures: MCAo: oclusió de l'artèria cerebral mitja

Un factor molt important a tenir en compte en aquests models és la durada de la isquèmia que pot ser permanent o transitòria. Si la isquèmia es manté fins a l'eutanàsia de l'animal es tracta d'un model d'oclusió permanent, en canvi, si revertim l'oclusió de l'artèria permetent una reperfusió de la zona infartada, serà una isquèmia transitòria. La lesió produïda dependrà de molts factors com el temps d'oclusió de l'ACM, el moment de sacrifici de l'animal després de la cirurgia, el sexe, la soca de l'animal, la temperatura corporal, la durada de la cirurgia i l'edat dels animals (Shimin Liu et al., 2009).

El model murí utilitzat en aquesta tesi és el model d'oclusió transitòria mitjançant craniectomia amb oclusió manual de l'ACM. Aquest model, encara que sigui invasiu i es necessiti un alt grau de coneixements quirúrgics, presenta una baixa mortalitat a llarg termini, una reperfusió controlable i una lesió amb una zona peri-infart molt definida. A més, té una alta reproductibilitat tant en la mida de l'infart com en el dèficit neurològic (Carmichael, 2005). En la literatura ja s'havia descrit el model murí d'ictus isquèmic establert en el qual s'utilitzaven ratolins de la soca CD1 i es feia una oclusió transitòria de l'ACM de 60 minuts de durada mitjançant una craniectomia (Cambray et al., 2018) però, es va observar que encara no s'havia descrit un model animal d'IM en el qual el ratolí presentés teixit cerebral infartat (diagnòstic diferencial de l'AIT) amb un volum d'infart petit i per altra banda que tingués un dèficit neurològic lleu i que aquest millorés amb el temps.

1.5.2 Models animals preclínic de factors de risc vasculars

La diabetis mellitus tipus 2 (DMT2) és un important factor de risc de la MCV, ja que un mal control de la hiperglucèmia pot causar complicacions tant microvasculars com macrovasculars que poden causar una elevada morbiditat i mortalitat (Orasanu & Plutzky, 2009). Diversos estudis, han manifestat que durant la diabetis es produeix una disminució de prostaciclina i un augment del tromboxà, provocant un desequilibri en la vasoconstricció/vasodilatació dels vasos sanguinis que pot contribuir a una disfunció endotelial, hipercoagulabilitat, aterosclerosi i trombosi (Stitham J, 2016). Aquestes alteracions poden tenir un paper important en la regulació fisiològica de la perfusió cerebral i en la patogènesi de les complicacions cerebrovasculars de la diabetis com és l'ictus.

La diabetis i l'ictus tenen una relació bidireccional: la diabetis és un important factor de risc per patir un ictus i a més, està associada amb un empitjorament funcional i una elevada taxa de mortalitat i per una altra banda, més d'un terç dels pacients amb ictus agut presenten nivells elevats d'hiperglucèmia, molts dels quals no tenien un diagnòstic previ conegut de diabetis. De manera que la DMT2, és una patologia de mal pronòstic en els pacients que han patit un ictus ja que com van observar Mora Mendoza i col·laboradors, un 50% dels pacients presentaven un dèficit neurològic més greu a l'alta (Mendoza AM et al., 2020). També es va associar una major mortalitat a l'ictus en relació a la DMT2 en aquells pacients que presentaven una hiperglucèmia en el moment de l'ingrés.

La HTA és el factor de risc modificable de l'ictus més prevalent i un dels que contribueix més en el desenvolupament de les MCV. La definició d'HTA ha anat canviant al llarg dels anys, degut a què s'ha anat coneixent més a fons quin és l'efecte de la pressió arterial sobre el risc vascular. Als anys 50 es considerava HTA xifres de pressió arterial sistòlica (PAS) >180 mmHg i de pressió arterial diastòlica (PAD) >100 mmHg. Actualment, les xifres establertes són més baixes amb una PAS per sota de 120 mmHg i una PAD per sota de 80 mmHg, considerant-se les xifres de PAS entre 120-129 mmHg com a elevades (Whelton et al., 2017).

Existeix una relació directa entre els valors de la pressió arterial i el risc vascular. Un estudi observacional que va incloure 1 milió d'individus va mostrar que per cada 20 mmHg d'increment de la PAS o 10 mmHg d'increment de la PAD es duplica el risc de mortalitat per ictus i s'associa a un pitjor pronòstic a llarg termini (Lewington et al., 2002). També, està àmpliament demostrat que el control de la pressió arterial tant primària com secundària disminueix el risc de patir malalties vasculares. En un metanàlisi de l'any 2016 en el que es van incloure més de 600.000 pacients es va demostrar que per cada 10 mmHg que es disminueix els valors de PAS s'aconsegueix disminuir un 27% el risc de patir un ictus isquèmic (Ettehad et al., 2016).

Els models preclínic d'ictus que utilitzen ratolins sans no fan un abordatge translacional idoni cap a la patologia d'ictus en humans ja que els humans presenten una alta morbiditat presentant diversos FRV com poden ser la DMT2 i la HTA. Per aquest motiu, és important utilitzar models animals experimentals que presentin aquestes patologies per observar quin efecte tenen sobre l'ictus isquèmic.

1.5.2.1 Models animals de diabetis mellitus tipus 2

Encara hi ha moltes incògnites sobre els mecanismes patogènics d'una malaltia tant prevalent com és la DM. L'avenç en la prevenció i el tractament d'aquesta patologia depèn de la comprensió d'aquests mecanismes i per això és imprescindible utilitzar models animals per poder-los estudiar.

La DMT2 és una malaltia molt heterogènia la qual es veu reflectida en la gran varietat de models animals útils per al seu estudi. La decisió sobre quin model utilitzar per un experiment en particular dependrà de molts factors. De manera ideal, els experiments s'haurien de dur a terme en diferents models, tenint en compte que cap d'ells reflecteix per complet la complexitat de la DMT2 humana. Es poden dividir els models de DMT2 segons el seu mecanisme de producció, en models espontanis com per exemple el ratolí *ob/ob* (ratolí genèticament mutat que no produeix l'hormona leptina) o en models induïbles mitjançant la inducció hormonal, l'administració de fàrmacs o la manipulació genètica. La inducció hormonal es pot dur a terme amb l'administració

de corticoides en diversos períodes de la vida de l'animal causant un estat similar a la DMT2 humana (Stojanovska et al., 1990). Aquest model seria apropiat per a l'estudi de la DMT2 que apareix en humans trasplantats o en tractament esteroideu crònic. També hi ha altres hormones que poden causar hiperglucèmia en animals com són la somatostatina, el glucagó, les catecolamines i la tiroxina.

Un dels altres models més utilitzats en l'administració de substàncies amb efectes tòxics sobre les cèl·lules B-pancreàtiques és l'administració d'un fàrmac anomenat estreptozotocina (STZ). L'STZ és un derivat de la nitrosourea aïllat del *Streptomyces achromogenes* que té activitat antibiòtica i antineoplàstica d'ampli espectre (Bono VH, 1976). És un potent agent alquilant que interfereix amb el transport de glucosa (Z. Wang & Gleichmann, 1998) i la funció de la glucoquinasa (Zahner D, 1990). La sensibilitat a l'STZ varia segons l'espècie animal, la soca, el sexe, l'edat i l'estat nutricional, de manera que una única dosi elevada d'STZ (160mg/Kg) pot produir DMT1 en la qual hi haurà una destrucció total de les cèl·lules B-pancreàtiques, tenint una falta absoluta de insulina. Per una altra banda, si s'administren múltiples dosis d'STZ, més baixes (40mg/kg durant 5 dies consecutius) es produirà DMT2 ja que hi haurà una falta relativa d'insulina i no es produirà la destrucció total d'aquest tipus de cèl·lules (García C. et al., 1994; Portha B. et al., 1989). Aquests models tenen l'avantatge que el grau d'alteració de les cèl·lules B-pancreàtiques pot ser regulat segons la dosi del fàrmac administrat.

Per una altra banda, la introducció de les tècniques de biologia molecular va donar lloc a l'aparició d'un gran nombre de models animals, mitjançant la manipulació genètica, per a l'estudi de la DMT2. Els tipus de manipulacions afecten un gen específic, el qual pot estar sobre-expressat (animals transgènics), eliminat (animals "knock-out") o reemplaçant (animals "knock-in"). No totes aquestes modificacions resulten amb animals viables de manera que s'han estudiat els models animals genètics condicionals que consisteixen en l'expressió del gen modificat solament en teixits específics o en determinats moments del desenvolupament de l'animal.

1.5.2.2 Models animals d'hipertensió arterial

La HTA és una de les patologies amb més prevalença en la societat desenvolupada, de manera que la utilització de models animals experimentals ha proporcionat molta informació sobre la seva etiologia, fisiopatologia, pronòstic i tractament. Donat que la HTA és molt heterogènia molts dels animals s'han desenvolupat per imitar diferents fases de la HTA humana, tant en la seva forma primària com secundària, dividint els models en genètics i no genètics (Figura 6).

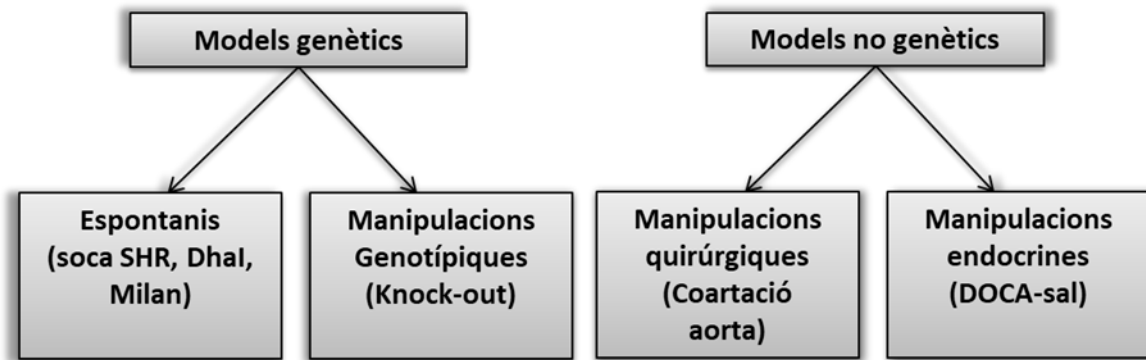


Figura 6. Models animals d'hipertensió arterial, tant genètics com no genètics.

Dins dels models obtinguts per manipulació genètica es podrien considerar dos subgrups: les soques de ratolins que desenvolupen HTA de manera espontània (SHR, Dhal, Milan) i els obtinguts per alteracions genòmiques (ratolins “*knock-out*”). Dins dels models no genètics també es poden classificar en dos grups: els produïts quirúrgicament mitjançant una coartació aòrtica i els que modifiquen les característiques endocrines de l'animal a través de l'administració de diferents fàrmacs com el model DOCA-sal. Encara que la majoria de models experimentals són semblants a la patologia humana es precis senyalar que encara existeixen importants diferències entre la patologia i fisiopatologia que es produeixen en aquests models i la malaltia humana (McGiff & Quilley, 1981).

La HTA per augment de la ingesta de sal és un tipus d'hipertensió dosi-depenent que va ser investigada per primera vegada pel grup de Guyton l'any 1963 (Langstan et al., 1963). L'administració del mineralcorticoide acetat de desoxicorticoesterona (DOCA), semblant a la situació clínica d'excés d'aldosterona, juntament amb un excés de la ingesta de sal, provoca un estat hipertensiu, acompanyat d'una disminució dels nivells del peptid natriurètic atrial (PNA) i de l'activitat del sistema Renina-Angiotensina (SRA). El grup de Schiffrin també va demostrar que en aquest model experimental, el principal mecanisme fisiopatològic implicat és l'augment de la endotelina-1, que és un potent vasoconstrictor (Schiffrin, 2005).

Durant els últims anys, l'ús de diferents models animals per l'estudi de la HTA, per establir les seves causes, la fisiopatologia, les complicacions i les opcions de tractament, han aportat molta informació sobre aquesta malaltia però, tot i que hi ha una gran varietat de models animals, no existeix encara cap model que inclogui tots els trets de la HTA humana.

1.6 Justificació de la tesi

L'ictus és una emergència mèdica mundial que afecta a 15 milions de persones a tot el món esdevenint la tercera causa de discapacitat i la segona causa de mort i de demència en la població adulta. Tot i que hi ha molts estudis que avaluen les alteracions afectives i cognitives després d'un ictus isquèmic, n'hi ha pocs que es centrin només en pacients amb IM. Aquesta situació es pot explicar perquè al tenir simptomatologia neurològica focal lleu i fins i tot de curta durada s'han considerat pacients amb baix risc per desenvolupar les citades alteracions. Tot i així,, aquest grup de pacients són d'interès per tenir un major risc de recurrència de patir un ictus isquèmic més greu i per acumular controvèrsies sobretot en el maneig en la fase aguda al no haver estat inclosos en els principals assaigs de tractament fibrinolític i de trombectomia. A dia d'avui, es considera que han de ser tractats en la fase aguda de la isquèmia cerebral aquells pacients amb IM amb simptomatologia associada a discapacitat. Així, la identificació de factors relacionats amb el desenvolupament d'alteracions afectives com la depressió i l'apatia i, de deteriorament cognitiu seria de gran valor per a la presa de decisions en les primeres hores després de patir un IM, i també en el maneig terapèutic i diagnòstic d'aquests pacients més enllà de la fase aguda. A més, el desenvolupament de símptomes afectius té una relació inversa amb la recuperació funcional dels pacients. D'altra banda, malgrat la seva rellevància la simptomatologia afectiva i cognitiva no és avaluada rutinàriament. Així, l'establiment d'un protocol inicial de cribatge i de posterior confirmació en la pràctica clínica habitual suposaria una important millora en la qualitat assistencial d'aquests pacients i permetria establir noves estratègies de tractament farmacològic i no farmacològic. Per tot això, interessa conèixer quins són els factors predictius clínics, neuropsicològics, bioquímics, de neuroimatge i de biomarcadors circulants de pronòstic de les alteracions afectives i cognitives després d'un IM.

Finalment, segons la literatura actual, no hi ha cap model animal establert d'IM, per això és necessari i interessant generar i caracteritzar un model preclínic per poder estudiar millor quins són els mecanismes fisiopatològics, i com afecten els FRV com la HTA i la DMT2 en el diagnòstic i pronòstic d'aquesta malaltia.

2. HIPÒTESIS I OBJECTIUS

2. Hipòtesis i objectius

Les principals hipòtesis plantejades en aquest estudi es descriuen a continuació:

- Els pacients amb diagnòstic d'IM, malgrat presentar una simptomatologia neurològica focal lleu, presentaran alteracions afectives i/o cognitives després d'un IM.
- Els pacients amb DCL post-IM tindran un perfil cognitiu amb més afectació de les funcions executives i de l'atenció i VPI al tractar-se d'un DCL d'origen vascular.
- Els pacients amb IM sense alteracions, els pacients amb IM amb alteracions afectives i/o els pacients amb IM amb alteracions cognitives tindran un perfil clínic, bioquímic, radiològic i de biomarcadors metabòlics i lipídics circulants, propi i específic.
- Els pacients amb un genotip del *gen APOE 4/4* tindran més predisposició a patir alteracions cognitives després de patir un IM.
- Un model preclínic d'IM haurà de tenir un volum petit d'infart cerebral i una afectació neurològica lleu i transitòria.

L'objectiu principal de l'estudi PSICOICTUS és descriure les alteracions afectives i cognitives de pacients amb diagnòstic d'IM ingressats a l'Hospital Universitari Arnau de Vilanova de Lleida (HUAV), donant-li una entitat simptomatològica concreta a través de predictors clínics, bioquímics, radiològics i de biomarcadors circulants, per tal d'estratificar els pacients i així poder millorar la presa de decisions tant en la fase aguda de la malaltia com durant el seu seguiment.

Els objectius específics són els següents:

1. Descriure les característiques clíniques i sociodemogràfiques dels pacients amb IM.
2. Avaluar les alteracions afectives i cognitives després d'un IM, així com avaluar la seva evolució durant el primer any post-ictus.
3. Descriure el perfil bioquímic dels pacients amb IM a partir d'una analítica de sang extreta el dia de les proves de cribatge.

2. Hipòtesis i objectius

4. Descriure les característiques neuroradiològiques i la signatura de la neuroimatge de persones amb IM, per tal de millorar el pronòstic dels pacients.
5. Avaluar la contribució dels genotips relacionats amb el gen *APOE* en pacients amb IM, així com definir la seva relació en el desenvolupament de deteriorament cognitiu.
6. Descriure biomarcadors circulants i signatures òmiques que estratifiquin els pacients amb IM sense o amb alteracions afectives i/o cognitives.
7. Definir les possibles relacions entre les variables clíniques, bioquímiques, radiològiques i òmiques per tal de descriure factors predictius del desenvolupament d'alteracions afectives i cognitives després d'un IM.
8. Generar i caracteritzar un model animal d'IM, així com un model animal d'IM i dos FRV (DMT2 i HTA).

3. MATERIALS I MÈTODES

3. Materials i mètodes

A continuació es desenvolupa la metodologia de les dues parts de la tesi. Primer, s'explica el reclutament i seguiment d'una cohort de pacients amb diagnòstic d'IM i posteriorment, la metodologia de la investigació translacional mitjançant un model animal d'IM i factors de risc vasculars.

3.1 Cohort PSICOICTUS

El projecte PSICOICTUS consisteix en un estudi observacional, longitudinal i prospectiu de pacients que van patir un IM i van romandre ingressats a l'HUAV de Lleida, des del mes de gener de 2018 fins al mes de març de 2020.

L'IM es va definir com un episodi de simptomatologia neurològica focal en el que s'observaven lesions isquèmiques agudes en la neuroimatge segons la definició tissular d'Easton i els seus col·laboradors l'any 2009 (Easton et al., 2009). Té una puntuació menor o igual a 5 a l'escala NIHSS (National Institute of Health Stroke Scale) i en tots els casos es va realitzar una TC cranial i una analítica sanguínia en el moment de la primera avaluació a urgències per tal de descartar condicions clíniques que simulessin un ictus isquèmic. Un neuròleg amb expertesa en el maneig de la patologia cerebrovascular va fer la valoració del pacient a urgències. No es van incloure a l'estudi pacients amb temps d'evolució dels símptomes o del darrer cop vistos asimptomàtics superiors a les 24 hores. Tots els casos van ser revisats per un neuròleg sènior (FP).

Els pacients es van reclutar de manera consecutiva tenint en compte els següents criteris d'inclusió i exclusió.

Els criteris d'inclusió van ser:

- Edat entre 18 i 85 anys.
- Puntuació igual o inferior a 5 en l'escala NIHSS (definició IM).
- Puntuació igual o inferior a 3 en l'escala mRS, per tant, una bona funcionalitat post-ictus.
- Tenir una fluïdesa en la llengua catalana i/o castellana per poder dur a terme les proves de cribratge i l'entrevista semi-estructurada.

Els criteris d'exclusió van ser:

- Pacients amb DCL i/o demència prèviament diagnosticada.
- Pacients amb barrera idiomàtica que dificultés realitzar l'avaluació neuropsicològica.
- Pacients analfabets.
- Pacients amb comorbiditat mèdica important que comprometés l'esperança de vida en menys d'1 any a criteri de l'investigador.
- Pacients amb una afectació greu del llenguatge definit amb una puntuació igual o superior a 2 a l'ítem del llenguatge en l'escala NIHSS.

Els pacients van ser avaluats en l'etapa post-aguda als 5 ± 2 dies de l'inici dels símptomes o del darrer cop vistos asimptomàtics. A partir d'ara, aquest moment l'anomenarem moment basal. L'avaluació va consistir en la determinació de la puntuació en l'escala NIHSS, la verificació dels criteris d'inclusió i exclusió de l'estudi i la realització de proves de cribratge cognitiu i afectiu. A més, es van registrar les variables clíniques d'interès que posteriorment s'enumeren. Els pacients sense alteracions en el cribratge inicial van ser re-avaluats un any ± 14 dies post-ictus mitjançant una trucada telefònica estructurada. Aquesta trucada consistia en l'administració de les proves de cribratge basals, amb la diferència d'utilitzar pel cribratge cognitiu, en aquest cas, el test Montreal Cognitive Assessment 5-min telephone (MoCA 5-min telephone) (Wong, A et al., 2015). Els pacients amb trastorns afectius (depressió i/o apatia) se'ls hi va fer un seguiment als 6 i 12 mesos després de l'ictus utilitzant les mateixes proves del cribratge basal. Els pacients amb deteriorament cognitiu van ser re-avaluats als 15 dies, 6 i 12 mesos després de l'ictus amb l'administració d'una BNPC. Finalment, els subjectes amb deteriorament cognitiu i, a més a més, trastorns afectius van ser re-avaluats mitjançant els tests de cribratge i la BNP als 15 dies, 6 i 12 mesos post-ictus (Figura 7). Els detalls del cribratge afectiu i cognitiu així com de la BNP es detallen a continuació.

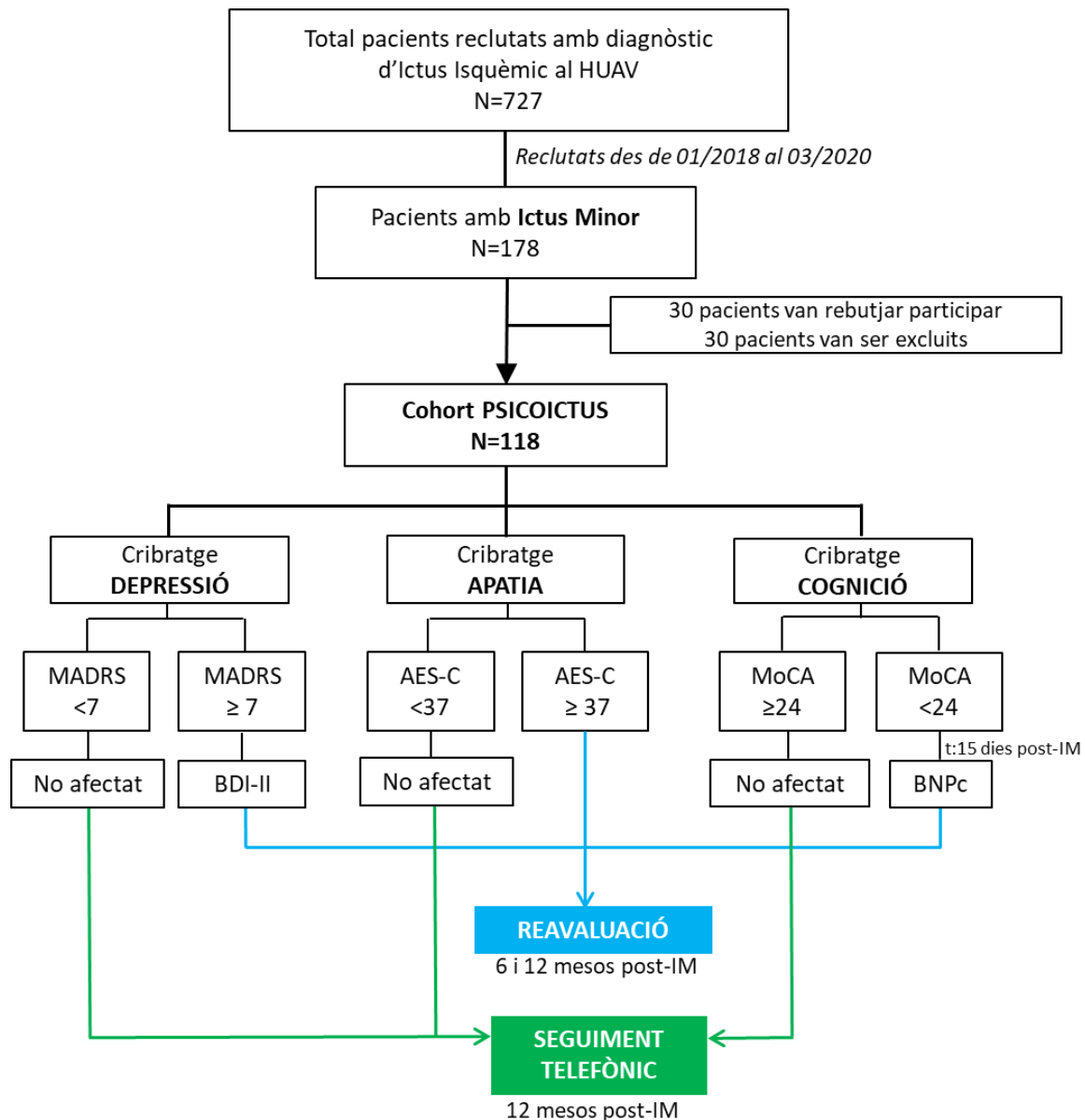


Figura 7. Selecció de pacients i disseny de l'estudi pel cribratge de les alteracions afectives (depressió i apatia) i cognitives després de patir un Ictus Minor a través de diferents tests i els seus respectius punts de tall per esdevenir positius o patològics. Abreviatures: HUAV: Hospital Universitari Arnau de Vilanova de Lleida; MADRS: Montgomery-Asberg Depression Rating Scale; BDI-II: Inventari de depressió de Beck – II; AES-C: Clinician Apathy Evaluation Scale; MoCA: Montreal Cognitive Assessment; BNPc: Bateria neuropsicològica completa.

3.1.1 Aspectes ètics de l'estudi

Tots els pacients van ser informats de les característiques, els objectius i les fases de l'estudi. Se'ls hi va entregar una fulla complementària amb informació sobre l'estudi (Annex 1) i van firmar el consentiment informat (Annex 2) abans de participar en el projecte. L'estudi va ser aprovat pel Comitè d'Ètica i Investigació Clínica (CEIC) de l'HUAV de Lleida (Codi CEIC 1838). L'estudi va seguir les normes de les bones pràctiques clíniques i va complir amb la Declaració de Helsinki de l'Associació Mèdica Mundial per a la investigació que involucra l'ésser humà.

També es va assignar un codi a cada pacient per tal de garantir la seva confidencialitat i la protecció de les dades personals. En tot moment, el tractament, la comunicació i la utilització de la informació de tots els participants de l'estudi es va ajustar a les disposicions publicades a la "Ley Orgánica 3/2018, del 5 de diciembre de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales".

3.1.2 Recollida de dades

Les dades sociodemogràfiques, clíniques i de cribratge es van recollir a través d'una entrevista semi-estructurada (Annex 3), en el moment basal.

3.1.2.1 Variables sociodemogràfiques

Les variables sociodemogràfiques recollides van ser les següents: edat, data de naixement, àmbit demogràfic de residència, sexe, estat civil, número de fills, persones amb les que conviu, nivell d'estudis, situació laboral abans de patir l'IM, hàbits tòxics (alcoholisme i tabaquisme), factors de risc vascular (hipertensió arterial, diabetis mellitus, dislipèmia i fibril·lació auricular), altres comorbiditats (cardiopatia isquèmica, hiperuricèmia, valvulopatia, obesitat, malalties hematològiques, malalties autoimmunes, malaltia tiroidea, insuficiència renal, traumatismes cranioencefàlics greus previs, migranya, patologia oncològica, epilèpsia, insuficiència cardíaca, malaltia arterial perifèrica i altres cardiopaties), antecedents psiquiàtrics i neurològics del pacient i antecedents familiars rellevants.

3.1.2.2 Variables clíniques neurològiques i farmacològiques

Les variables clíniques directament relacionades amb l'IM recollides van ser les següents: data d'inici de la simptomatologia, data d'ingrés, data d'alta hospitalària, puntuació total a l'escala NIHSS en el moment del cribatge i classificació etiològica de l'ictus segons la classificació TOAST (Trial of Org 10172 in Acute Stroke treatment Subtype Classification) (Adams et al., 1993).

Pel que fa a les variables farmacològiques, es va recollir informació sobre el tractament farmacològic previ a l'ictus i del tractament antidepressiu i/o psicoafectiu posterior a l'ictus.

3.1.2.3 Cribatge del perfil afectiu i d'apatia

El cribatge afectiu i d'apatia es va realitzar en el moment basal. Per a l'avaluació de la depressió es va utilitzar l'Escala de Depressió de Montgomery-Asberg (MADRS) (Montgomery & Asberg, 1979). El MADRS és una escala hetero-aplicada de 10 ítems tipus Likert (entre 0 i 6), en la qual l'investigador fa les preguntes de forma oral i recull les respostes del subjecte. El seu rang de puntuació oscil·la entre 0 i 60 punts. Els punts de tall establerts són els següents:

- Puntuació entre 0 i 6: indica que no hi ha depressió.
- Puntuació entre 7 i 19: indica depressió menor.
- Puntuació entre 20 i 34: indica depressió moderada
- Puntuació entre 35 i 60: indica depressió greu.

D'acord amb estudis previs del grup una puntuació igual o superior a 7 es va considerar positiva o patològica (Carnés-Vendrell A. et al, 2016).

En els casos en què el cribatge de MADRS va ser positiu es va afegir de manera addicional l'Inventari de Depressió de Beck II (BDI-II) (Beck A, Steer R, 1996) en l'avaluació del pacient. El BDI-II és una escala auto-aplicada de 21 ítems tipus Likert entre 0 i 3. El seu rang de puntuació oscil·la entre 0 i 63 punts. Els punts de tall establerts són:

- Puntuació entre 0 i 13: indica depressió mínima.
- Puntuació entre 14 i 19: indica depressió lleu.
- Puntuació entre 20 i 28: indica depressió moderada.
- Puntuació entre 29 i 63: indica depressió greu.

Per a l'avaluació de l'apatia es va utilitzar l'escala d'Avaluació de l'Apatia clínica (AES-c) (Marin et al., 1991). L'AES-c és una escala hetero-aplicada en format d'entrevista semi-estructurada de 18 ítems tipus Likert (entre 1 i 4). El seu rang de puntuació oscil·la entre 18 i 72 punts. A major puntuació, major grau d'apatia. El punt de tall utilitzat va ser una puntuació igual o superior a 37 (Carnés Vendrell et al., 2016)

3.1.2.4 Cribratge de la funció cognitiva i bateria neuropsicològica

La prova de cribratge de deteriorament cognitiu utilitzada en el moment basal va ser el MoCA (Ziad S. Nasreddine et al., 2005). El MoCA és un test que ha estat aprovat per avaluar l'estat cognitiu post-ictus (Pendlebury et al., 2013) i el valor de tall considerat positiu o patològic va ser una puntuació inferior a 24. Es va utilitzar aquest valor perquè és el que classificava millor els pacients amb deteriorament cognitiu comparat amb els pacients sense alteració, ajustats per edat i nivell educatiu (S.N. McLennan et al., 2011).

Els pacients amb una puntuació inferior a 24 punts en el test de MoCA van ser avaluats amb una BNP completa per analitzar amb més profunditat els possibles dominis cognitius afectats. Així, es van avaluar cinc dominis cognitius diferents: memòria verbal, memòria visual, apràxia constructiva, atenció i VPI i funcions executives. La BNP es va realitzar als 15±2 dies post-IM. Posteriorment, es va repetir als 6 mesos ± 7 dies i als 12 mesos ±7 dies.

A continuació es detallen les proves neuropsicològiques emprades per a avaluar cada un dels cinc dominis cognitius, que també es descriuen de manera resumida en la taula 7:

- **Memòria verbal:** es va utilitzar el Free and Cued Selective Reminding Test (FCSRT) també anomenat Test de Buschke (Buschke & Fuld, 1974). Existeix una versió espanyola de la prova amb dades normatives provinents del projecte NEURONORMA.ES (Peña-Casanova, Gramunt-Fombuena, et al., 2009). El test de Buschke és una prova de memòria verbal episòdica que va ser dissenyada per dissociar els diferents processos implicats en la formació de noves memòries. El test utilitza un procés d'aprenentatge en el qual es controla la codificació de les paraules a recordar induint una codificació semàntica. Hi ha una tasca inicial de classificació de les paraules en categories semàntiques preestablertes. Aquestes mateixes categories s'utilitzen més tard per facilitar aquelles paraules que no han sigut recordades de manera lliure. Aquesta forma d'aprenentatge ens assegura que l'absència del record és degut a un problema de consolidació i no per falta d'atenció o dificultat de l'evocació lliure de la informació. Aquest test avalua la capacitat d'aprenentatge, la memòria verbal immediata i la memòria verbal diferida.

- **Memòria visual:** es va utilitzar la Figura Complexa de Rey-Osterrieth (FCRO) (Rey A, 2003). La FCRO és un test psicomètric que ens dóna informació sobre el funcionament neuropsicològic d'una persona. Consisteix en copiar un dibuix geomètric complex a mà en un temps variable. A continuació, la persona avaluada ha de reproduir la figura que ha copiat inicialment, però sense l'ajuda del dibuix model, tant en el moment immediat com diferit. Per tant, avalua la capacitat de record visual que té la persona.
- **Apràxia constructiva:** el test utilitzat per avaluar l'apràxia constructiva va ser la còpia de la FCRO (Rey A, 2003), test descrit anteriorment. Aquesta variació de la FCRO permet determinar les dificultats que té la persona en la planificació d'accions que porta a terme per realitzar el dibuix de manera detallada i seqüencial. Les possibles dificultats en l'execució no estan relacionades amb problemes motors ni visuals i tampoc hi ha pèrdua de força o coordinació muscular.
- **Atenció i VPI:** per avaluar aquesta funcionalitat cognitiva es van fer servir les següents proves que inclouen l'avaluació diferents tipus d'atenció:
 - El subtest de dígit en ordre directe del WAIS-IV (Wechsler D, 1999) que mesura l'atenció verbal. Aquest test consisteix en repetir verbalment una seqüència de números en ordre directe, augmentant la dificultat progressivament.
 - El subtest de localització espacial directa del Test Barcelona (Peña-Casanova, 2005) que avalua l'atenció sostinguda i la VPI. Aquest test consisteix en la capacitat per mantenir la identitat d'uns cubs situats en un ordre i espai específic i que el subjecte senyali les figures en el mateix ordre en què són presentades per l'examinador, augmentant la dificultat progressivament.
 - El subtest de clau de números del WAIS-IV (Wechsler D, 1999) en el qual s'han de substituir símbols per dígit. Mesura la rapidesa i precisió perceptiva i la VPI visual simple.
 - El Trail Making Test A (TMT A) (Tombaugh T, Rees L, 1996) que mesura l'atenció sostinguda i la VPI, i el TMT B que permet mesurar l'atenció alternant i la flexibilitat cognitiva. És un test psicomètric que també forma part del projecte NEURONORMA per validar els test en la població espanyola (Peña-Casanova et

al., 2009). Aquest consisteix en dues parts en les quals s'indica al subjecte que connecti un conjunt de 25 punts el més ràpidament possible mantenint la màxima precisió.

➤ **Funcions executives:** les funcions executives són un conjunt de capacitats cognitives necessàries per controlar i autoregular la pròpia conducta. Existeixen diferents processos englobats en aquest concepte general com són: la flexibilitat cognitiva, la memòria de treball, l'organització i la planificació. Per aquest motiu per avaluar aquest domini cognitiu es van realitzar les següents proves:

- El subtest de dígit en ordre invers del WAIS-IV (Wechsler D, 1999) que mesura la memòria de treball verbal simple. Aquest test consisteix en repetir verbalment una seqüència de números en ordre invers al que ha dit l'examinador, augmentant la dificultat progressivament.
- El subtest de localització espacial indirecta del Test Barcelona (Peña-Casanova, 2005) que avalua la memòria de treball visual. Aquest test consisteix en la capacitat per mantenir la identitat d'uns cubs situats en un ordre i espai específic i que el subjecte senyali les figures en l'ordre invers en què són presentades per l'examinador, augmentant la dificultat progressivament.
- Les proves de fluència verbal fonètica en la qual el pacient haurà de dir paraules que comencin per les lletres P, M i R i la fluència verbal semàntica en la qual el pacient ha de dir paraules que pertanyin a una categoria determinada, en aquest cas, animals, en un minut. És una mesura d'accés al lèxic i té unes bones propietats psicomètriques i valors normatius adaptats a la població espanyola (Peña-Casanova et al., 2009).

Taula 7. Proves utilitzades per avaluar els 5 dominis cognitius específics mitjançant una bateria neuropsicològica completa.

Domini cognitiu	Proves utilitzades per a l'avaluació del domini
Memòria verbal	Amplitud amnèsica - Primer intent del record lliure del Test de Buschke Immediata - Record lliure a curt termini del Test de Buschke Immediata – Reconeixement - Record total a curt termini del Test de Buschke Diferida - Record lliure a llarg termini del Test de Buschke Diferida – Reconeixement - Record total a llarg termini del Test de Buschke
Memòria visual	Immediata - FCRO immediata Diferida - FCRO diferida
Apràxies	Constructiva - Còpia FCRO
Atenció i VPI	Atenció sostinguda - TMTA - Dígits directes del WAIS-IV - Localització espacial directa del Test Barcelona Atenció alternant - TMTB Velocitat de processament de la informació - Clau de números del WAIS-IV - Temps còpia FCRO - TMTA - Localització espacial directa del Test Barcelona
Funcions executives	Accés al lèxic - Fluència fonètica - Fluència semàntica Memòria de treball verbal - Dígits indirectes del WAIS-IV Memòria de treball visual - Localització espacial indirecta del Test Barcelona

Abreviatures: FCRO: Figura complexa de Rey-Osterrieth; TMTA: Trail Making Test part A; WAIS-IV: escala de intel·ligència per adults Wechsler versió IV; TMTB: Trail Making Test part B; VPI: velocitat i processament de la informació.

3.1.2.5 Avaluació de la qualitat de vida i la funcionalitat post-ictus

Per avaluar la qualitat de vida dels pacients es va utilitzar l'Escala de Qualitat de vida per a l'Ictus (ECVI-38) (Fernández Concepción et al., 2008). L'ECVI-38 és una escala autoaplicada de 38 preguntes tipus Likert (entre 1 i 5) agrupades en 8 ítems: estat físic, comunicació, cognició, emocions, sentiments, ABVD, activitats comuns de la vida diària i funcionament socio-familiar. Al ser una escala que avalua el grau de dificultat pels diferents ítems, a major puntuació de l'escala, indica una major dificultat i, per tant, una pitjor qualitat de vida.

Pel que fa a l'avaluació de la funcionalitat es va utilitzar l'escala mRS (Keun-Sik Hong, 2009). Aquesta escala permet valorar el grau d'incapacitat funcional de la persona mitjançant una escala de 7 nivells de gravetat (del 0 al 6). A menor puntuació, major funcionalitat i autonomia, essent la puntuació de 6, la mort. La persona encarregada de determinar aquesta puntuació va ser el neuròleg de referència (FP).

A banda, es va registrar la recurrència d'ictus. Es va considerar una recurrència un nou dèficit de focalitat neurològica amb evidència de lesió isquèmica aguda associada (Easton et al., 2009).

3.1.2.6 Extracció, recollida i emmagatzematge de mostres

Una diplomada universitària d'infermeria va realitzar l'extracció de sang a tots aquells pacients inclosos a l'estudi que van firmar el consentiment informat per tal fi. Aquesta extracció es va realitzar en el moment basal coincidint amb el cribratge. Després de l'extracció i protocol de centrifugat es van emmagatzemar totes les alíquotes (8 vials de sèrum, 4 vials de plasma i 2 vials de buffy coat) a -80°C al SCT de Biobanc de l'Institut de Recerca Biomèdica de Lleida fins a la seva posterior utilització (Xarxa de Biobancs de l'Institut de Salut Carlos III, certificat UNE EN ISO 9001:2008).

3.1.2.7 Perfil bioquímic dels pacients inclosos a l'estudi

En els pacients inclosos a l'estudi i que van acceptar participar-hi es va registrar les dades del perfil bioquímic a partir de l'anàlisi de sang extreta de forma habitual quan els pacients estaven ingressats a planta, el mateix dia que es van dur a terme les proves de cribratge. Les dades recollides van ser: colesterol total (mg/dL), colesterol LDL (mg/dL), triglicèrids (mg/dL), glucosa en sang (mg/dL), creatinina (mg/dL) i leucòcits ($\times 10^9/L$).

3.1.3 Anàlisi dades de neuroimatge

Segons la pràctica clínica habitual, a tots els pacients se'ls hi va realitzar una TC durant la seva estada a urgències. Els pacients amb diagnòstics alternatius a un ictus isquèmic van ser exclosos. Posteriorment, a tots els pacients sense contraindicacions se'ls hi va fer una RM cranial dins la setmana posterior a l'ingrés hospitalari (5 dies, RIQ 4,0 – 6,0). La RM es va dur a terme amb un equip de 1,5 Teslas de cos sencer amb una força de 24mT/m i un temps de pujada de 300ms (Philips Intera 1.5 T, MRI scanner). Es van incloure varies seqüències: sagital SE T1 (TR/TE 500/12), matriu de 228x229, camp de visió de 252mm, amb un gruix del tall de 5 mm i 1 mm de distància entre talls; Axial SE T1 (TR/TE 500/15), matriu de 264x200, camp de visió de 220mm amb un gruix de tall de 4 mm i 0,4 mm de distància entre talls; Axial SE T2 (TR/TE 6044/100), matriu de 328 x 210, camp de visió de 230 mm i un gruix de tall de 5 mm i 0,6 mm de distància entre els talls; Axial i coronal FLAIR (*Fluid Attenuated Inversion Recovery*) (TR/TE/TI 1100/140/2800), matriu de 256 x 117, camp de visió de 230 mm i un gruix de tall de 4 mm i 1,2 mm de distància de talls. També es va realitzar la seqüència de Difusió (b=1000) (TR/TE 4600/71), matriu 164X182, camp de visió de 230, amb un gruix de tall de 5 mm i 1mm de distància entre els talls i la seqüència BOLD (*Blood oxygen level dependent*) que està potenciada amb T2 (TR/TE 35/50), matriu 232X167.

L'anàlisi de les proves de neuroimatge es va realitzar sota el criteri d'una neuroradiòloga amb experiència. Primerament es va visualitzar la seqüència de difusió per determinar si hi havia lesió isquèmica aguda, definida per l'observació de zones hiperintenses que es correlacionen amb una hiposenyal en el mapa ADC (*Apparent Difussion Coefficient*), per tal de descartar zones artefactades.

En els casos que s'observava lesió isquèmica aguda es va definir el patró de la lesió diferenciant entre una lesió única o múltiple i si afectava a un sol territori o més d'un territori vascular. Es van definir els següents territoris vasculars: territori artèria cerebral anterior, artèria cerebral posterior, artèria cerebral mitja cortical i subcortical, territori vertebro-basilar, artèries penetrants, artèria coroidea anterior i territori frontera. En la classificació de la lesió isquèmica també es va tenir en compte la seva localització anatòmica: lòbul frontal, parietal, temporal, occipital, tàlem, ganglis basals, cerebel, tronc cerebral i corona radiada.

L'anàlisi de la seqüència FLAIR es va utilitzar per a determinar el grau de leucaraiosis segons l'escala Fazekas (Wahlund et al., 2001) i per determinar la presència de lesions isquèmiques cròniques. La leucaraiosis és una alteració de la substància blanca que es tradueix amb zones hiperintenses periventriculars i en àrees subcorticals. L'escala Fazekas quantifica el grau de

leucaraïosis en: 0. absent, 1. focus puntiformes, 2. inici de confluència i 3. confluència marcada. Aquesta seqüència també va permetre identificar infarts crònics i establir la seva localització per territoris vasculars.

Es va registrar la presència de microhemorràgies, definides com focus de pèrdua de senyal i la presència de signes de transformació hemorràgica de l'íctus agut en la seqüència BOLD (*Bold Oxygen Level Dependent*).

Finalment, es va determinar el volum de la lesió aguda en la seqüència de difusió utilitzant el programa IntelliSpace Portal Imaging (versió 10.1). Aquest programa permet fer una mesura semi-automàtica del volum de la lesió en centímetres cúbics.

3.1.4 Biomarcadors genètics de deteriorament cognitiu: gen APOE













Es va fer el genotipat del gen *APOE* en un subgrup de pacients de la cohort PSICOICTUS (n=109) per observar si hi havia una correlació entre tenir risc genètic i patir alteració cognitiva després de l'IM. La presència de l'al·lel $\epsilon 4$ de l'*APOE*, és un important factor de risc genètic per a patir la malaltia d'Alzheimer de manera esporàdica i la seva progressió des d'un deteriorament cognitiu lleu (Kim et al., 2014).

En l'extracció de sang dels pacients realitzada el mateix dia de les proves de cribatge es van obtenir vials de buffy coat. El buffy coat és la fracció sanguínia que conté principalment leucòcits i plaquetes i s'obté a partir de la centrifugació de la sang de cada pacient. A partir d'aquestes cèl·lules, es va realitzar l'extracció d'ADN genòmic de manera automatitzada mitjançant el Maxwell RSC Buffy Coat DNA Kit (Promega, Cat.#AS1540) en l'aparell Maxwell RSC Instrument (Promega Biotech Iberica, Madrid, Espanya) a partir de 250 μ l de mostra de buffy coat total. Després, es va diluir l'ADN obtingut en 120 μ l d'aigua DNAsa free. Les concentracions d'ADN van ser determinades en ng/ μ l i la seva puresa amb la ratio A260/280 en un Nanodrop ND 2000 (Thermo Fisher Scientific, Massachussets, USA). Les mostres amb una concentració superior a 50 ng/ μ l i una puresa superior a 1,8 en la ratio A260/280, van ser utilitzades per anàlisis posteriors.

Per a fer el genotipat del gen *APOE* es va utilitzar el *TaqMan SNP Genotyping Assay* (Applied Biosystems, Massachussets, USA) que permet detectar polimorfismes específics a partir d'ADN genòmic purificat. Cada assaig permet el genotipat d'un individu per un polimorfisme d'un sol nucleòtid (SNP), és a dir, una variació en la seqüència d'ADN que afecta solament a una base de la seqüència del genoma. Es van analitzar dos SNPs diferents: el codó 158 caracteritzat pel canvi de base T/C (arginina \rightarrow cisteïna) mitjançant l'assaig ID C_904973_10 (rs7412); i pel codó 112

caracteritzat pel canvi de base C/T (cisteïna → arginina) mitjançant l'assaig ID C_3084793_20 (rs429358). L'anàlisi de les mostres es va fer a l'equip Quant Studio 7 Flex (Applied Biosystems, Massachusetts, USA). Els resultats van ser visualitzats a través de les corbes d'amplificació reconegudes a partir del marcatge per les sondes VIC i FAM (taula 8). Aquestes sondes emeten una senyal fluorescent a la fase final de la PCR que indiquen la presència de les seqüències diana de la mostra (al·lel natiu, al·lel mutat o ambdós).

Taula 8. Marcatge de les sondes VIC i FAM segons l'SNP del gen *APOE*

	rs7412 (C_904973_10) Codó 158		rs429358 (C_3084793_20) Codó 112	
<i>APOE 2/2</i>	T (FAM)		T (FAM)	
<i>APOE 3/3</i>	C (VIC)		T (FAM)	
<i>APOE 4/4</i>	C (VIC)		C (VIC)	
<i>APOE 2/3</i>	T/C (VIC/FAM)		T (FAM)	
<i>APOE 2/4</i>	C/T (VIC/FAM)		C/T (VIC/FAM)	
<i>APOE 3/4</i>	C (VIC)		C/T (VIC/FAM)	

Abreviatures: APOE: apolipoproteïna E; T: timina; C: citosina

La taula 9 indica les condicions tèrmiques i la seva durada dels 40 cicles programats en la màquina Quant Studio 7 Flex. Es va utilitzar un volum de reacció final de 5 µl: 2,25µl de DNA genòmic a una concentració de 5 ng/µl, 0,25µl de primer i 2,5µl de TaqMan Master Mix.

Taula 9. Programa de PCR utilitzat per fer el genotipat del gen *APOE* mitjançant l'equip Quant Studio 7 Flex.

PAS	Condicions cicle tèrmic		
	Temp.	Temps	Cicles
Activació polimerasa	95°C	10 min	HOLD
Desnaturalització	95°C	15 sec	40
Anellament/extensió	60°C	1 min	

Abreviatures: Temp: temperatura

3.1.5 Anàlisi estadístic de les variables clíniques, el perfil neuropsicològic, el perfil bioquímic, les dades de neuroimatge, el biomarcador APOE

L'anàlisi estadístic es va realitzar utilitzant els programes GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA) i SPSS versió 20.0 (SPSS, Chicago, IL).

Per a les variables qualitatives es van obtenir les freqüències i percentatges. Les variables quantitatives es van descriure com a mitjanes i desviacions estàndard (DE) per a les dades que tenien una distribució normal i es va utilitzar la mediana i el rang interquartílic (RIQ) per a les dades no distribuïdes normalment. La normalitat de les variables quantitatives es va avaluar mitjançant la prova de Kolmogorov-Smirnov ($N \geq 30$).

Les variables amb distribució normal es van analitzar mitjançant la prova t –test (comparació entre dos grups) o ANOVA (comparació entre 3 o més grups). La prova Mann-Whitney U-test (aplicada a dos mostres independents) o la prova de Kruskal Wallis (extensió de la prova Mann-Whitney U-test per 3 o més grups) es van utilitzar per a l'anàlisi de les variables que no tenien una distribució normal. Les comparacions per a les variables categòriques es van fer a través de la chi-quadrat de Pearson.

Un cop realitzada l'anàlisi univariada per detectar variables associades a la presència d'alteracions afectives i/o cognitives després d'un IM, es van ajustar models de regressió logística multivariant per identificar predictors d'aquestes alteracions en els quals només es van incloure aquelles variables que mostraven un p-valor inferior a 0,05 en les proves univariants. La selecció de les variables explicatives es va realitzar d'una en una cap endavant basant-se en la prova de raó de versemblança ($p\text{-valor} < 0,05$). També es van explorar possibles interaccions de primer ordre. Per totes les variables resultat, es van explorar diferents models obtinguts a partir de diferents variables candidates: només les variables clíniques (Model A), les variables clíniques més les variables bioquímiques (Model B), les variables radiològiques (Model C), les variables clíniques conjuntament amb les variables bioquímiques i radiològiques (Model D) i les variables clíniques, bioquímiques, radiològiques i òmiques (Model E). Per a la discriminació entre els diferents grups es va calcular l'Odds Ratio (OR) que indica l'associació entre les dues variables, sent "protectora" si la OR és inferior a 1 o de "risc" si la OR és superior a 1.

La significació estadística es va considerar quan la p-valor era inferior a 0,05.

3.1.6 Determinació de biomarcadors metabòlics i lipídics circulants

La metabolòmica és l'estudi de les petites molècules orgàniques denominades metabòlits, que estan presents en un sistema biològic. Els metabòlits participen en les reaccions químiques que tenen lloc a nivell cel·lular, el que anomenem metabolisme cel·lular. El metabolisme cel·lular inclou la degradació de molècules per a l'obtenció d'energia (catabolisme) i la síntesi de molècules necessàries per al creixement, reproducció i reparació de les cèl·lules (anabolisme). Per una altra banda, la lipidòmica té una entitat pròpia dins de la metabolòmica i està dedicada a l'estudi i caracterització del conjunt dels lípids cel·lulars, les molècules amb les que interactuen i les seves funcions dins l'organisme. Actualment, una de les principals estratègies en aquest camp és l'anàlisi de perfils metabòlics i lipídics, ja que la comparació de perfils de diferents fenotips s'utilitza per identificar canvis metabòlics que ajuden a conèixer la fisiopatologia d'una malaltia com pot ser l'ictus isquèmic.

Una branca de la metabolòmica i lipidòmica és l'anàlisi no dirigida (*untargeted metabolomics*) on l'objectiu és mesurar simultàniament la majoria de metabòlits i lípids possibles presents en el metaboloma humà sense la necessitat de tenir una hipòtesi preestablerta. Aquesta tècnica ens permet fer una quantificació aproximada de la presència del metabòlit, encara que no de manera precisa. Aquesta quantificació és útil en la comparació entre diferents individus o grups experimentals perquè cada un pot tenir una signatura metabòlica /lipídica específica ajudant en la recerca de nous biomarcadors.

En la figura 8 es pot veure un esquema simplificat dels passos a seguir en una anàlisi de metabolòmica no dirigida.

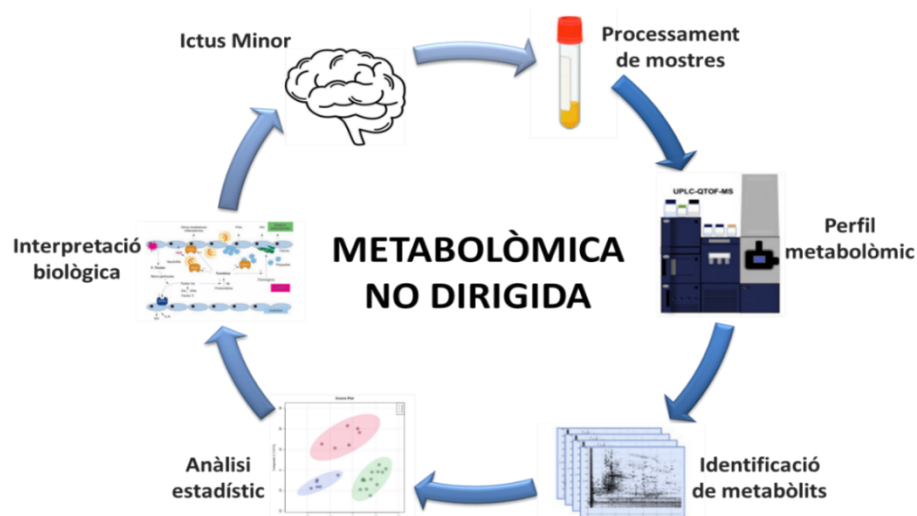


Figura 8. Esquema simplificat dels passos a seguir en un anàlisi de metabolòmica no dirigida.

El disseny experimental utilitzat en aquesta tesi va consistir en dues fases diferencials: fase de descobriment (*discovery*) i fase de validació (*validation*). En la fase de descobriment es van utilitzar mostres de plasma recollides a temps basal (3-5 dies post-IM) de 25 pacients de la cohort PSICOICTUS. Es van incloure 13 pacients que havien patit un IM i no tenien cap alteració afectiva ni cognitiva en les proves de cribratge inicial (puntuació MOCA ≥ 24 , puntuació MADRS < 7 i puntuació AES-C < 37), 6 pacients amb IM i amb alteracions afectives (puntuació MOCA ≥ 24 , puntuació MADRS ≥ 7 i/o puntuació AES-C ≥ 37) i 6 pacients amb IM amb alteracions cognitives (puntuació MOCA < 24 , puntuació MADRS < 7 i puntuació AES-C < 37).

En aquesta primera fase de descobriment es van identificar mitjançant la tècnica de metabolòmica i lipidòmica no dirigida les molècules expressades diferencialment entre els diferents grups experimentals.

Posteriorment, en la fase de validació es va incloure una mostra més gran de pacients de la cohort PSICOICTUS (n= 90). En aquest punt, al no disposar d'estàndards específics es va fer un altre anàlisi de metabolòmica/ lipidòmica no dirigida anant directament a identificar i observar el patró d'expressió de les molècules identificades en la fase de descobriment.

Els grups experimentals analitzats en la fase de validació es mostren en la figura 9, conjuntament amb els pacients inclosos en la fase de descobriment.

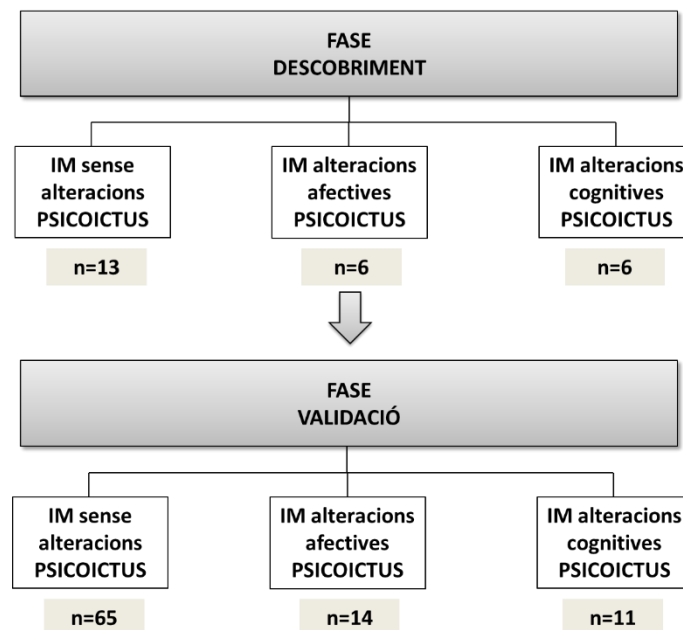


Figura 9. Esquema dels pacients inclosos segons els grups experimentals en la fase de descobriment i la fase de validació de l'anàlisi de metabolòmica i lipidòmica no dirigida. Abreviatures: IM: ictus minor.

Les molècules identificades en la fase de descobriment que estaven expressades diferencialment entre els grups experimentals, es van validar i quantificar en aquesta nou grup de pacients.

3.1.6.1 Preparació de les mostres

Les mostres plasmàtiques basals van ser sotmeses a una anàlisi metabolòmica no dirigida. Els metabòlits presents en les mostres d'estudi es van extreure amb 90 µl de metanol fred (que contenia fenilalanina-C31 com a estàndard intern i BHT (butil-hidroxi-tolué) per evitar que s'oxidés la mostra) que es van afegir a 30 µl de plasma seguit d'una incubació d'1 hora a -20°C. Es van centrifugar les mostres durant 3 minuts a 13000rpm perquè es precipités la proteïna i es va recuperar el sobrenedant filtrant-lo amb un Eppendorf amb un filtre de 0,2 µm i posteriorment es va tornar a centrifugar durant 10 minuts a 3000rpm a 4°C.

Les mateixes mostres també es van sotmetre a una anàlisi de lipidòmica no dirigida. L'extracció dels lípids de les mostres d'estudi es va realitzar amb metil-tert-butil éter (MTBE). Primerament per precipitar la fracció proteica, es van afegir 5 µl d'aigua miliQ i 20 µl de metanol fred a 10 µl de mostra de plasma. Seguidament es va fer un vòrtex de les mostres durant 2 minuts i es van afegir 250 µl del estàndard intern amb MTBE. Les mostres es van submergir en un "bany maria" d'ultrasons (ATU ultrasonidos, València, Espanya) amb una freqüència de 40 kHz i una potència de 100 W a 15°C durant 30 minuts. Finalment, es van afegir 25 µl d'aigua miliQ a la barreja, es va centrifugar a 3000rpm a 10°C durant 10 minuts i es van recollir els extractes de lípids continguts en la fase superior del tub.

Els vials per fer els controls de qualitat (QC) es van preparar barrejant 30 µl de l'extracte de metabòlits de cada una de les mostres d'estudi per l'anàlisi de metabolòmica i 60 µl de l'extracte de lípids de cada una de les 25 mostres per l'anàlisi de lipidòmica. Els vials de QC es van injectar de manera contínua al principi de cada anàlisi fins a equilibrar el sistema i després es van intercalar entre les mostres amb intervals regulars per tenir una evidència del bon funcionament i estabilitat de la tècnica.

3.1.6.2 Identificació dels metabòlits i lípids expressats diferencialment segons el perfil afectiu i cognitiu després d'un ictus minor.

Els productes resultants de les dues extraccions, amb la finalitat de separar els metabòlits i els lípids segons la seva massa i temps de retenció (TR) es van injectar a un UHPLC (ultra-high-performance liquid chromatography) amb el sistema Agilent 1290 LC (Agilent Technologies, Barcelona, Espanya) equipat amb una columna de fase reserva i associat a un Q-TOF-MS

(Quadrupole time-of-flight mass Spectrometry Instrument 6520) de ionització per electrospray i treballant tant amb ionització positiva com ionització negativa (Agilent Technologies, Barcelona, Espanya). Les dades es van recollir en el mode d'electrospray amb ionització positiva i un temps de vol amb exploració completa de 50-3000 m/z en un rang dinàmic estès de 2 GHz, utilitzant N₂ com a gas nebulitzador (5 L/min, 350°C). El voltatge del capil·lar va ser de 3500 V amb una velocitat d'escaneig d'1scan/s. La font de ionització va transmetre una càrrega a les molècules i les va fragmentar seguint un patró de ionització característic per cada metabòlit, que s'utilitzava posteriorment per poder fer la seva identificació. Finalment, per a registrar les dades es va utilitzar el *MassHunter Data Analysis Software* (Agilent Technologies, Barcelona, Espanya), per obtenir les característiques moleculars de les mostres es va utilitzar el *MassHunter Qualitative Analysis Software* (Agilent Technologies, Barcelona, Espanya) i per determinar si els diferents ions eren del mateix "possible compost" es va utilitzar l'algoritme Molecular Feature Extractor (Agilent Technologies, Barcelona, España). Les mostres seleccionades van tenir un mínim de 2 ions i es va utilitzar el software professional *MassHunter Mass Profiler* (Agilent technologies, Barcelona, Espanya) per seleccionar, filtrar i alinear les característiques moleculars de cada un dels compostos. Els mateixos compostos que estaven presents en diferents mostres es van alinear mitjançant una finestra de TR del 0,1% ± 0, 25 minuts i una finestra de massa de 10 ppm ± 2 mDa. Els compostos seleccionats estaven presents en almenys el 50% de les mostres de la mateixa condició i es van corregir pel biaix individual. Una vegada confirmades les identitats dels metabòlits i lípids expressats diferencialment entre els grups experimentals en la fase de discovery es va analitzar si també es trobaven en la fase de validació acceptant una diferència de m/z de 30 ppm i una diferència de TR de 0,8 minuts, per al mateix compost.

Les identitats es van confirmar per la seva massa exacta, el seu TR, la seva distribució isotòpica i/o l'espectre MS/MS en dues bases de dades públiques: Human Metabolome Database (HMDB, <http://www.hmdb.ca>) i LipidMatch (<http://secim.ufl.edu/secim-tools/lipidmatch/>).

3.1.6.3 Anàlisi estadístic dels metabòlits i lípids expressats diferencialment segons el perfil afectiu i cognitiu després d'un ictus minor.

L'anàlisi estadístic es va realitzar amb la plataforma Metaboanalyst (Chong et al., 2019). Les dades dels metabòlits i lípids van ser representades a través dels PLS-DA (*Partial Least Squares regression*) i el càlcul de la AUC (*area under the curve*) de la ROC (*Receiver Operating Characteristic*). Per definir la signatura metabolòmica/lipidòmica específica per cada grup experimental es va escollir la comparació de grups següent:

- Pacients amb IM sense alteracions afectives ni cognitives (n=13) , IM amb alteracions afectives (n=6) i IM amb alteracions cognitives (n=6) de la cohort PSICOICTUS. Aquesta comparació es va dur a terme per trobar metabòlits/lípids expressats diferencialment en els tres grups experimentals de la mateixa cohort d'estudi que havien patit un IM i tenien alteracions pures. Es van descartar els pacients que patien més d'una alteració alhora per tal d'evitar un possible biaix en la identificació i quantificació dels compostos.

Per a determinar els biomarcadors expressats diferencialment relacionats amb el deteriorament cognitiu post-IM i amb la depressió post-IM en comparació al grup IM sense alteracions es va utilitzar una prova t-test de dades no aparellades. Mitjançant el test de Kolmogorov-Smirnov es va comprovar la distribució normal de les variables. L'anàlisi i el gràficat d'aquests resultats es va realitzar mitjançant el programa GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA).

En les molècules expressades diferencialment entre els grups experimentals es va avaluar el seu potencial com a biomarcador a través de l'AUC de la corba ROC, primer en la cohort de descobriment i després en la cohort de validació.

La significació estadística es va considerar quan la p-valor era inferior a 0,05.

3.2 Model animal d'Ictus Minor

Els ratolins van estar allotjats sota unes condicions de llum diürnes. Disposaven de 12 hores de llum i 12 hores de foscor amb una temperatura ambient de 18 a 21°C i una humitat relativa del 70-80%. Tenien accés a menjar i aigua *ad libitum*. Es van utilitzar ratolins mascles i femelles de la soca CD1 entre 8 i 16 setmanes d'edat, criats i subministrats per l'Estabulari de rosegadors de la Universitat de Lleida.

Tots els procediments utilitzats en aquesta tesi doctoral van ser aprovats pel Comitè Ètic d'experimentació animal de la Universitat de Lleida (CEEA - 020220) i realitzats d'acord amb la legislació espanyola (RD 1201/2005 i la llei 32/2007) i les directrius de la Unió Europea (86/609/EEC). Tots els procediments amb animals d'experimentació han seguit les directrius d'ARRIVE (Animal Research: Reporting of in Vivo Experiments, Sprague, 2020).

3.2.1 Oclusió transitòria de l'artèria cerebral mitja (tMCAo)

Es va utilitzar el model d'oclusió transitòria de l'artèria cerebral mitja (tMCAo de l'anglès: *transient medial cerebral artery occlusion*). El model de tMCAo s'ha utilitzat per modelar l'escenari clínic de reperfusió precoç després d'un infart isquèmic (Cambray et al., 2018; Torres-Querol et al., 2021). Aquesta cirurgia consisteix en l'oclusió transitòria focal de l'artèria cerebral mitja (ACM) a través de craniectomia. Concretament, els animals van ser anestesiats amb un 5 % d'isoflurà (Ecuphar, Barcelona, Espanya) per a la inducció i un 2 % d'isoflurà per al manteniment amb una barreja d'oxigen i aire comprimit (0.2/0.8 L/min). La temperatura corporal es va controlar mitjançant una sonda rectal i es va mantenir a $37,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ amb una manta tèrmica (Panlab S.L.U, Barcelona, Espanya). Els ratolins es van col·locar en una plataforma d'estereotàxia en posició prona (panxa a terra) i es va realitzar una incisió a la pell entre l'ull dret i l'orella dreta. El múscul temporal va ser disseccionat sota el microscopi fins que l'os temporal era clarament visible. Després d'identificar visualment l'ACM sota l'os temporal, es va fer un forat amb l'ajuda d'un trepant i es va extreure la capa fina d'os sobrant. Posteriorment es va col·locar el cable de fibra òptica del làser Doppler (moorVMS-LDF1, Moor Instruments) a la zona superior de l'ACM (\pm a 10mm posterior i 8mm cap al lateral) després d'haver-la llimat amb el trepant, amb molta cura de no danyar el cervell, per poder controlar el flux sanguini cerebral (FSC). El làser Doppler es va unir amb l'ajuda d'un pegament (SuperGlue). Un micro-capil·lar de vidre amb la punta roma, per tal de no danyar l'artèria, va ser utilitzat per comprimir l'ACM durant diferents temps d'oclusió. La compressió es va aplicar per aconseguir una disminució constant del flux sanguini cerebral per sota del 75-80% partint del flux sanguini cerebral basal. Un cop produïda l'oclusió es va treure el capil·lar i s'observava una pujada del flux d'almenys el 75% respecte els valors basals (Figura 10). Els animals que no van arribar a la reperfusió desitjada van ser exclosos de l'estudi.

Tots els procediments quirúrgics es van dur a terme amb l'ajuda d'una lent quirúrgica WILD M650 (Leica, Nussloch, Alemanya).

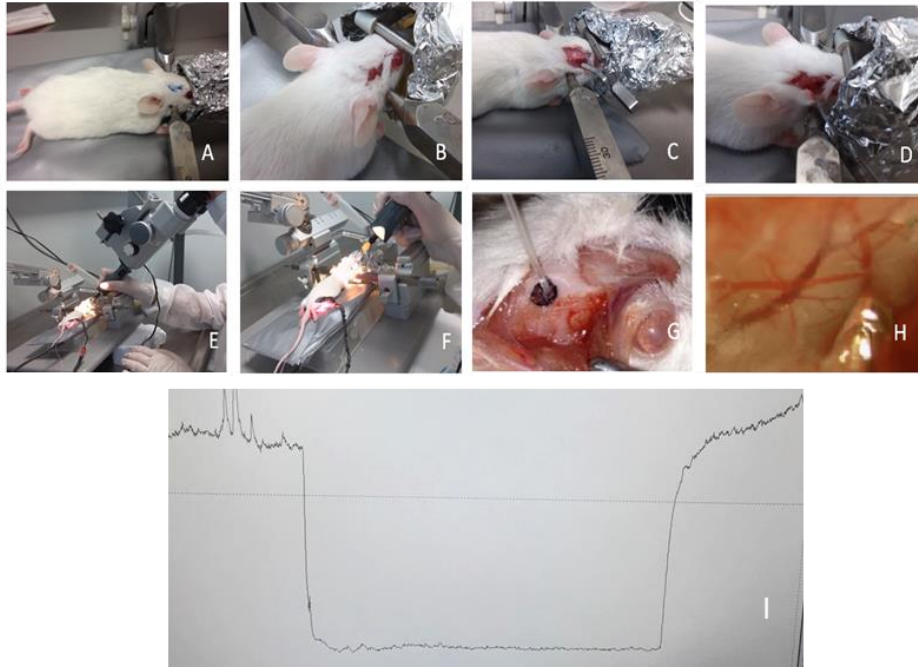


Figura 10. Procés quirúrgic de l'oclusió transitòria focal de l'ACM mitjançant craniotomia. Incisió en la pell des de l'ull fins a l'orella del costat dret (A i B). Separació del múscul temporalis i exposició de l'ACM (C i D). Extracció de l'ós cranial amb el trepant (E i F). Col·locació del làser Doppler i exposició de l'ACM (G). Oclusió manual de l'ACM. (I) Valors del flux sanguini cerebral en el model de 10 minuts d'oclusió. Abreviatures: ACM: Artèria cerebral mitja.

3.2.2 Determinació del fenotip neurològic

La determinació del perfil neurològic va consistir en un conjunt de proves conductuals i neurològiques que avaluaven els dèficits funcionals dels animals després de la cirurgia tMCAo. Les proves van ser administrades en diferents moments temporals, segons el grup experimental: basal (abans de la cirurgia tMCAo), 6 hores post-tMCAo, 24 hores post-tMCAo, 48 hores post-tMCAo, 72 hores post-tMCAo i 7 dies post-tMCAo.

Les proves administrades van ser les següents:

➤ **Modified Neurologic Severity Score (mNSS)**

Una de les escales neurològiques més comunes utilitzades en estudis amb models animals d'ictus és la mNSS (Li Zhang et al., 2002). Aquesta prova valora el funcionament neurològic en una escala que puntua de 0 a 18 i inclou una combinació de proves motrius (estat muscular i moviment anormal) i sensorials (visual, tàctil i propiocepció). També avalua els reflexes (del pavelló auricular, de l'ull i de la resposta a un so estrident) i

l'equilibri. Es dona un punt per la incapacitat de realitzar cada sub-prova i es suma per obtenir una puntuació global que determinava el grau de deteriorament. A banda, el mNSS inclou la prova de la perxa (Coat Hanger Test) amb una puntuació màxima de 6 punts. En el nostre model es va decidir avaluar de forma independent el Coat Hanger Test, pel que la puntuació màxima en els ratolins de la mNSS modificada va ser de 12 punts. Així, les puntuacions van oscil·lar entre els 0 punts en cas d'absència de deteriorament i els 12 punts en situacions de deteriorament greu.

➤ **Neuroscore**

Els dèficits sensitiv-motors es van avaluar mitjançant una adaptació de la prova Neuroscore (Bederson et al., 1986). Els resultats dels ratolins es van puntuar des de 0 (sense alteracions) a 5 (greument deteriorats) per a cadascun dels ítems següents:

- 0: comportament normal.
- 1: Quan s'agafava el ratolí per la cua menys d'un 50% dels intents es girava cap al costat contralateral o ipsilateral de la cirurgia, amb o sense rotació inconscient.
- 2: Quan s'agafava el ratolí per la cua més d'un 50% dels intents es girava cap al costat contralateral o ipsilateral de la cirurgia, amb o sense rotació inconscient.
- 3: El ratolí tenia un comportament de gir greu en el qual es mantenia entre 1-2 segons amb el nas gairebé tocant a la cua.
- 4: El ratolí tenia un comportament de gir greu en el qual adoptava una posició de barril i perdia el reflex per poder caminar o posar-se recte.
- 5: Comatós o moribund.

➤ **Coat Hanger Test/ Prova de la perxa**

Per avaluar la coordinació motora es va utilitzar la prova de la perxa (Li Zhang et al., 2002), que consisteix en col·locar el ratolí al mig d'una barra horitzontal fina (diàmetre, 2mm; llargada, 40cm; alçada des de la taula, 85cm) en posició cap per avall. Els ratolins es poden moure al llarg de la barra cap a unes de les dues barres diagonals (inclinació, 45º i 19 cm de longitud) del penjador en forma triangular. La latència de caiguda en un únic assaig de 60 segons com a màxim va ser registrada. Les puntuacions qualitatives oscil·laven entre 0 (sense alteracions) i 6 (greument afectat). Les puntuacions van ser les següents:

- 0: entre 50 i 60 segons
- 1: entre 40 i 49 segons
- 2: entre 30 i 39 segons
- 3: entre 20 i 29 segons
- 4: entre 10 i 19 segons
- 5: <10 segons
- 6: no arriba a agafar-se a la perxa.

➤ **Ladder task**

La prova es va fer utilitzant un aparell que consisteix en una escala horitzontal que consta d'unes parets laterals de Plexiglas transparent i esglaons metàl·lics (3 mm de diàmetre) inserits en el Plexiglas amb una distància mínima d'1 cm entre esglaons (Metz & Whishaw, 2002). Les parets laterals eren de 40 cm de llargada i 5 cm d'alçada. L'escala s'elevava uns 30 cm aproximadament per sobre de la taula recolzada sobre la gàbia i es col·locava el ratolí suaument sobre l'aparell per a què es pogués moure i caminar lliurement durant un minut. Es va col·locar una càmera amb un lleuger angle ventral, de manera que la posició de les quatre extremitats es podien enregistrar simultàniament i es va fer l'anàlisi revisant les gravacions de vídeo fotograma a fotograma, a una velocitat de 30 fotogrames per segon. Aquest test avalua les habilitats de motricitat fina del ratolí. Durant la prova, es va registrar quantes vegades el ratolí es va moure entre els dos extrems de l'aparell (creuaments, *crossings*) i el temps (segons) que l'animal estava en moviment. També es va registrar la col·locació de les seves extremitats en els esglaons i quant aquesta s'escapava, l'anomenat flip. Posteriorment es va corregir el número de flips segons els segons de moviment actiu del ratolí i el número de crossings a través d'una fórmula anomenada Ratio Ladder Task: (número total de flips/número total d'encreuaments) x ràtio activitat. La ràtio de l'activitat es va calcular dividint els segons que el ratolí estava actiu entre 60 segons totals que dura la prova.

3.2.3 Extracció de sang

L'extracció de sang es va realitzar mitjançant una punció submandibular a tots els ratolins en el moment basal (abans de la cirurgia tMCAo), 6 hores post-tMCAo, 24 hores post-tMCAo, 48 hores post-tMCAo, 72 hores post-tMCAo i 7 dies post-tMCAo, segons el moment de sacrifici. Es van utilitzar tubs cònics Microvette CB 300 EDTA (Sarstedt, Nümbrecht, Alemanya) i es van centrifugar

durant 5 minuts a 4,6 rpm per a l'obtenció del plasma. El dia de sacrifici del ratolí l'extracció de sang es va fer mitjançant una punció intracardíaca. En aquest cas, es van utilitzar els microtubs EDTA 1,3ml TPS (Sarstedt, Nümbrecht, Alemanya) i es van centrifugar durant 10 minuts a 2,2 rpm per a l'obtenció del plasma. Totes les mostres es van emmagatzemar a -80°C fins a la seva posterior utilització.

3.2.4 Quantificació volum d'infart

Els ratolins van ser anestesiats amb una injecció intraperitoneal del preparat ketamina (Ketolar 50, Pfizer, USA; 50mg/ml) i xylazina (Xilagesic 2%, Calier, Espanya; 20mg/ml) amb una dosis anestèsica de 100 µl ketamina/xylazina per cada 10 grams de pes del ratolí. L'efecte anestèsic es va comprovar per l'absència de reflex podal. Un cop adormit l'animal es va sacrificar mitjançant l'extracció de sang amb una punció intracardíaca (volum total obtingut: 700 µl aproximadament). El cervell va ser disseccionat i posat ràpidament en un motlle per a fer seccions coronals d'1mm de gruix (Biogen Científica S.L, Madrid, Espanya.) A continuació, els talls es van tenyir amb una solució de clorur de 2,3,5-trifeniltetrazoli (TTC; Thermo Fisher Scientific, Massachussets, USA) al 2% i es van incubar durant 5 minuts a 37°C. Amb aquesta tinció es pot observar l'activitat de la deshidrogenasa mitocondrial, de manera que es tenyirà de color rosat el teixit viu i es quedarà blanc o incolor el teixit mort, que en el nostre cas seria la zona on s'ha produït l'íctus. Els talls es van fotografiar amb una càmera digital i es van analitzar les imatges amb el programa ImageJ (National Institute of Health, versió 2.0). El volum de l'infart es va calcular sumant les àrees d'infart de tots els talls afectats i multiplicant-ho pel número de talls. La quantificació del volum d'infart com a percentatge es va calcular utilitzant la següent fórmula: $\text{àrea infart (A)} / (\text{àrea de l'hemisferi contralateral (C)} + \text{àrea de l'hemisferi ipsilateral (B)} + \text{àrea de l'infart (A)}) \times 100$ (Figura 11).

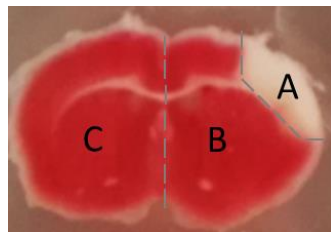


Figura 11. Parts del cervell d'un ratolí dividides per obtenir el volum de l'infart. A: àrea de l'infart; B: àrea de l'hemisferi ipsilateral; C: àrea de l'hemisferi contralateral.

3.2.5 Tècnica d'immunofluorescència i microscòpia confocal

La fixació del teixit cerebral es realitza per a preservar les característiques morfològiques i moleculars dels teixits. La perfusió amb PFA és el mètode més utilitzat per fixar els teixits, ja que el líquid fixador s'inocula en el sistema circulatori de l'ésser viu. El PFA ajuda a preservar la integritat estructural de les mostres i els permet resistir a tractaments posteriors (Hare et al., 2014).

Per realitzar la perfusió es va anestesiar el ratolí amb una injecció intraperitoneal de ketamina/Xilacina (0,1mL per cada 10 grams de ratolí). Posteriorment, s'immobilitzava el ratolí panxa amunt i es tallava la pell exposant els òrgans interns obrint la caixa toràcica perquè el cor fos més accessible. Tot seguit, es clavava una palometa amb una xeringa de 60 mL al ventricle esquerra i seguidament es tallava l'aurícula dreta. Primerament, s'administraven 60 mL de PBS 1x per netejar bé tots els teixits i eliminar tota la sang del sistema circulatori. Després es perfonia l'animal amb 60 mL d'una solució fixadora, que en el nostre cas va ser paraformaldehid al 4% en PBS 1x (Merck, Life Science, S.L.U, Alemanya). Després de la perfusió, s'extreia el cervell i es post-fixava per immersió durant 24 hores amb la mateixa solució fixadora a 4°C. A l'endemà es submergia en una solució crioprotectora de sacarosa (Merck Life Science, S.L.U, Alemanya) al 15% en PBS 1x i al dia següent en una solució de sacarosa al 30% en PBS 1x. Finalment es va posar el cervell en un criomotlle i es va cobrir d'OCT (*Optimal Cutting Temperature*) al 100%. Es va emmagatzemar a -80°C fins a la seva utilització.

Els blocs d'OCT amb el teixit cerebral es van tallar en seccions de 16 µm de gruix en un pla coronal mitjançant el criostat Leica CM1950 (Leica, Nussloch, Alemanya). Els talls es van recollir en series consecutives mitjançant un portaobjectes "Superfrost" (Thermo Fisher Scientific, Massachussets, USA) per minimitzar la pèrdua de teixit. Les mostres van ser emmagatzemades a -20°C fins a la seva utilització.

La tècnica d'immunofluorescència es va utilitzar per determinar l'expressió de proteïnes en seccions de teixit cerebral fixat amb PFA. Primer, les mostres es van temperar a temperatura ambient abans de ser utilitzades. Les seccions es van rentar 3 vegades durant 10 minuts en una solució de PBS 1X + 0,2% de tritó en agitació. Per tal d'evitar unions inespecífiques de l'anticòs es van incubar les seccions amb una solució de bloqueig (8% BSA + 0,2% tritó en PBS 1X) durant 1 hora a temperatura ambient. A continuació, es va incubar l'anticòs primari corresponent diluït en la solució de bloqueig durant 24 h a 4 °C.

A l'endemà, els talls es van rentar 3 vegades durant 10 minuts amb PBS 1x en agitació. Després, els talls es van incubar amb l'anticòs secundari durant 1 hora a 4°C a la foscor. Per eliminar l'anticòs secundari sobrant es van tornar a fer 3 rentats de 10 minuts amb PBS 1X.

Finalment, els talls es van muntar amb medi de muntatge Vectachield amb DAPI incorporat (Vector Laboratories, California, USA) per tenyir els nuclis cel·lulars i es van cobrir amb el cobreobjectes.

Les seccions es van emmagatzemar a 4°C fins a la seva posterior visualització en el microscopi confocal.

En la taula 10 es troben recollits els anticossos utilitzats en la immunofluorescència.

Taula 10. Llistat anticossos primaris i secundaris utilitzats en la tècnica d'immunofluorescència.

Anticòs primari	Host	Dilució	Casa comercial
NeuN	Mouse	1:200	Biorbyt
Iba1	Rabbit	1:1000	Biorbyt
GFAP	Chicken	1:200	Biorbyt
Anticòs secundari	Host	Dilució	Casa comercial
Donkey anti-mouse Alexa 488 (verd)	Donkey	1:500	Jackson ImmunoResearch
Donkey anti-rabbit 594 (vermell)	Donkey	1:500	Jackson ImmunoResearch
Donkey anti-chicken 647 (vermell)	Donkey	1:500	Jackson ImmunoResearch

NeuN: marcatge neuronal; Iba1: marcatge micròglia; GFAP (Proteïna àcida fibril·lar glial): marcatge d'astròcits.

Per verificar l'especificitat de la unió antígen-anticòs es van fer els següents controls:

- Eliminació de l'anticòs primari en la primera incubació, per detectar possibles unions inespecífiques del anticòs secundari al teixit.
- Omissió dels anticossos secundaris per detectar l'emissió de fluorescència inespecífica.

Les imatges de les seccions del teixit cerebral van ser captades amb el microscopi làser confocal FV1000 (Olympus, Tokio, Japó). Aquest està format per un mòdul confocal espectral, unit a un microscopi invertit IX81.

En el mode confocal, el microscopi té tres làsers que abastaven un total de 5 longituds d'ona: làser multi-línia d'Argó (457 nm, 488 nm, 515 nm), làser d'Heli-Neó (543 nm) i un làser díode d'estat sòlid (635 nm). La combinació dels làsers permetia il·luminar la mostra simultàniament amb 3 longituds d'ona. Consta de tres canals de detecció, dos d'ells espectrals. El sistema de detecció, que es troba dins de la unitat confocal, té dos sistemes de xarxa de difracció (pels dos primers canals) amb una resolució de 2 nm que treballaven en tot aspecte visible de 400 a 700 nm. Es poden generar imatges d'escombratge amb una velocitat màxima de 16 quadrats per segon, per una imatge de 256 x 256 píxels. La màxima resolució és de 4096 x 4096.

El microscopi consta de diferents objectius: 10X, 20X, 40X i 60X (UPlanSAPO, Olympus). Les imatges es van analitzar amb el software FV10 (Olympus) i posteriorment amb l'ImageJ (National Institute of Health, versió 2.0).

3.2.6 Estudi pilot model animal d'ictus Minor

Un estudi pilot va ser realitzat per determinar les conseqüències neuroanatòmiques i funcionals dels diferents temps d'oclusió de l'ACM amb el model tMCAo i tenint en compte diferents temps de sacrifici. Aquest estudi pilot ha permès caracteritzar un model animal d'IM.

El model d'IM havia de tenir teixit cerebral infartat (diagnòstic diferencial d'AIT) observar un volum d'infart reduït (aproximadament 1,5%) i per altra banda, havia de presentar una certa alteració de la funció neurològica observada en les proves conductuals i que aquestes alteracions milloressin en el temps.

Ratolins mascles de la soca CD1 entre 30 i 40 grams de pes i d'edat entre 8-16 setmanes van ser utilitzats. Els temps d'oclusió van ser: 10 minuts, 20 minuts, 30 minuts, 40 minuts i el paradigma de 5 minuts de reperfusió – 2 minuts oclusió (repetit 5 vegades). Els moments de sacrifici (endpoint) van ser: 24 hores, 48 hores, 72 hores i 7 dies (Figura 12). En total l'experiment pilot va consistir en 20 grups experimentals amb 5-8 animals per grup.

En tots els grups experimentals es va realitzar una avaluació del dèficit neurològic i extracció de sang submandibular en els temps següents: basal (just abans de cirurgia tMCAo), 6 hores, 24 hores, 48 hores, 72 hores i 7 dies post-tMCAo (segons grup experimental).

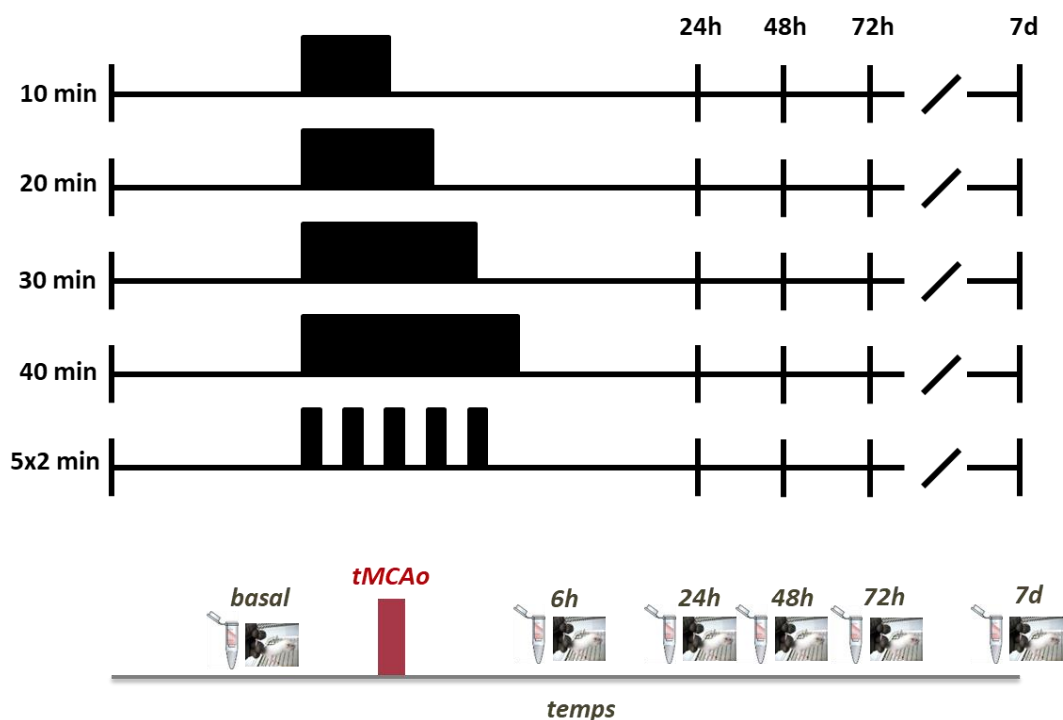


Figura 12. Protocol experimental utilitzat en el desenvolupament de l'estudi pilot per a la determinació del model animal d'ictus Minor. Abreviatures: tMCAo: oclusió transitòria de l'artèria cerebral mitja; h: hores.

Posteriorment es va determinar el grup experimental més adequat que complia els requisits per definir el model d'ictus minor i es va aplicar a un grup de ratolins femelles de la soca CD1 (n=6) entre 30 i 40 grams de pes i entre 8-16 setmanes d'edat.

3.2.7 Models experimentals de factors de risc vascular

Es van desenvolupar dos models animals amb similitud amb els principals factors de risc que presenten les persones amb malaltia cerebrovascular isquèmica.

3.2.7.1 Model animal de diabetis mellitus tipus 2

Ratolins mascle de la soca CD1 entre 30-40 grams van ser utilitzats, d'edat entre 8-16 setmanes, als quals se'ls va induir DMT2 mitjançant puncions intraperitoneals d'SZT (Merck, Life Science, S.L.U). L'SZT té un efecte citotòxic sobre les cèl·lules B-pancreàtiques provocant una disminució dels nivells d'insulina en sang i una conseqüent hiperglucèmia. L'SZT pot ser utilitzada per induir diabetis mellitus tipus 1 (DMT1) i DMT2; una única injecció a una dosi molt alta (160mg/kg) indueix DMT1 i, injeccions consecutives de dosis més baixes indueix DMT2 (Ward et al., 2001).

Per tal d'induir un model de DMT2 i no de DMT1 es van fer 5 injeccions consecutives (1 cada dia, durant 5 dies) amb una dosi de 40mg/kg. Aquest model de DMT2 resulta irreversible. La glucèmia

(nivells de glucosa en sang) es va quantificar utilitzant un equip de diagnòstic comercial (Acofar glucòmetre, Acofarma), a partir de l'extracció d'una gota de sang submandibular (5 µl aproximadament). La concentració de glucosa plasmàtica (mg/dL) s'obtenia després d'uns 15 segons.

Els valors de referència de glucosa en sang en ratolins són els següents:

- Normal: <120 mg/dl
- DMT2 moderada: 120 a 300 mg/dl
- DMT2 greu: > 300 mg/dl

En un inici es va realitzar un estudi pilot per comprovar els efectes de l'SZT en els ratolins i es van utilitzar dos grups experimentals: un grup control (n=4) en el qual s'injectava PBS 1X i un grup experimental, el grup DMT2 (n=6), en el qual s'injectava l'SZT (40mg/kg). Ambdós grups van rebre injeccions durant 5 dies consecutius i van ser sacrificats a dia 14 després d'iniciar l'administració d'SZT (Figura 13). Diàriament es van recollir les següents dades: menjar consumit, aigua consumida i nivells de glucosa.

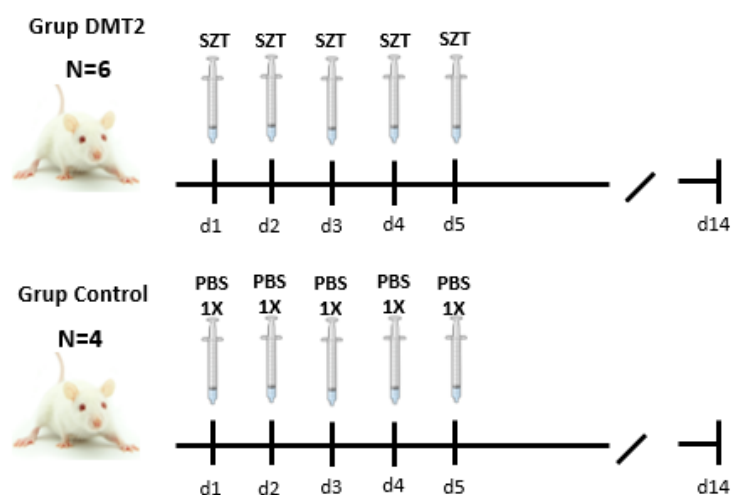


Figura 13. Disseny experimental model animal Diabetis tipus 2. Abreviatures: SZT: estreptozotocina; d: diez; DMT2: diabetes mellitus tipus 2

3.2.7.2 Model animal d'hipertensió arterial

Es van utilitzar ratolins mascles de la soca CD1 entre 30-40 grams i una edat entre 8-16 setmanes, als quals se'ls hi va induir HTA mitjançant el model DOCA-salt (Desoxicorticoesterona, Merck, Life Science, S.L.U). El DOCA és una hormona esteroide produïda per la glàndula suprarenal i actua com a precursora de l'aldosterona. Un augment de l'aldosterona provoca un augment de la

reabsorció del sodi (sal) i de l'eliminació de potassi dels ronyons, creant un desequilibri electrolític i produint hipertensió arterial (Lerman et al., 2019). El model desenvolupa una HTA reversible.

Inicialment es va realitzar un estudi pilot per comprovar els efectes de l'administració de DOCA en els ratolins en el qual es van incloure quatre grups experimentals (Figura 14):

- Grup HTA 1%: dues injeccions de DOCA intraperitoneals setmanals a una dosi de 25mg/kg diluït amb corn oil durant 3 setmanes i biberó d'aigua amb 1% de sal (n=10).
- Grup HTA 0,6%: dues injeccions de DOCA intraperitoneals setmanals a una dosi de 25mg/kg diluït amb corn oil durant 3 setmanes i biberó d'aigua amb 0,6% de sal (n=10).
- Grup Control 1%: dues injeccions de PBS1X intraperitoneals setmanals durant 3 setmanes i biberó d'aigua amb 1% de sal (n=5).
- Grup Control: dues injeccions de PBS1X intraperitoneals setmanals durant 3 setmanes i biberó amb aigua no salina (n=5).

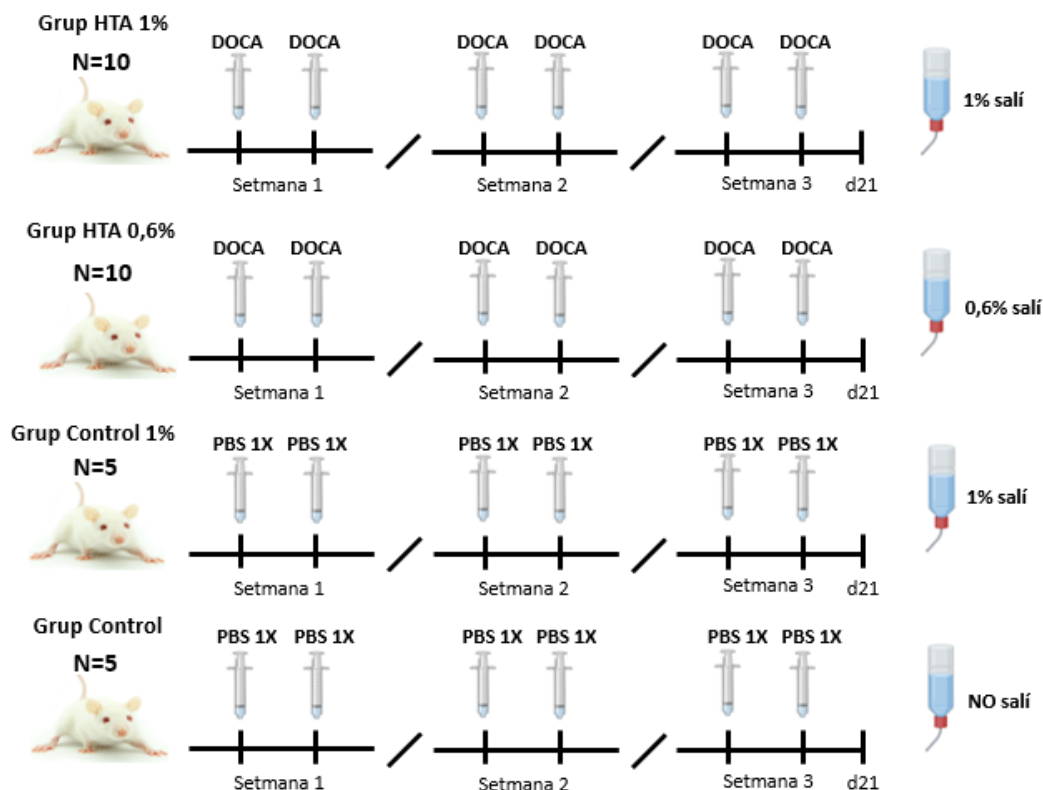


Figura 14. Disseny experimental model animal d'hipertensió arterial. Abreviatures: DOCA: Desoxicorticoesterona; HTA: hipertensió arterial; d: dies.

3.2.8 Estudi translacional de factors de risc vascular i ictus minor

3.2.8.1 Model doble de diabetis mellitus tipus 2 i Ictus Minor

El model experimental doble de Diabetis Mellitus tipus 2 i Ictus Minor (model DMT2 + IM) es va realitzar en ratolins mascles diabètics de la soca CD1 entre 30-40 grams i una edat entre 8-16 setmanes. Donat que els animals amb DMT2 establerta per injeccions consecutives d'SZT esdevenien fràgils, es van realitzar dos grups experimentals amb una n=3 cadascun per establir el millor moment per a induir la isquèmia cerebral. Es va desenvolupar un grup en el qual l'ictus minor es produïa el dia 2 post-injecció d'SZT (DMT2 + IMd2) i un altre en el qual es produïa l'ictus minor el dia 3 post-injecció (DMT2 + IMd3) (Figura 15). Els ratolins van ser sacrificats a les 48 hores de la cirurgia tMCAo.

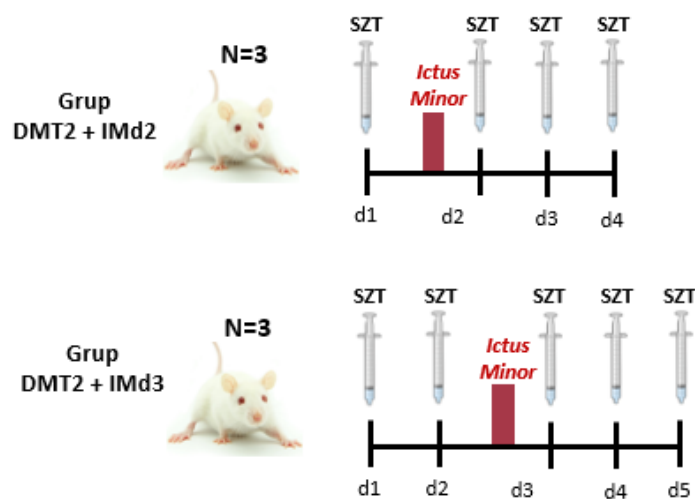


Figura 15. Disseny experimental model animal Diabetis tipus 2 més Ictus Minor segons el dia de la cirurgia. Abreviatures: SZT: estreptozotocina; DMT2: diabetis mellitus tipus 2; IM: ictus minor; d: dia

En tots els animals es van recollir les dades diàries següents: pes del ratolí, menjar consumit, aigua consumida i nivells de glucosa. També es va fer una avaluació del dèficit neurològic i una extracció de sang submandibular en els temps següents: basal (just abans tMCAo), 6 hores, 24 hores i 48 hores post-tMCAo.

3.2.8.2 Model doble d'hipertensió arterial i ictus isquèmic establert

El model experimental doble d'hipertensió arterial i ictus isquèmic establert (model HTA + ICTUS) es va realitzar en ratolins mascles hipertensos de la soca CD1 entre 30-40 grams i una edat entre 8-16 setmanes.

Es van incloure quatre grups experimentals: ratolins hipertensos amb una cirurgia tMCAo de 60 minuts (grup HTA ICTUS, n=6); ratolins hipertensos SHAM, sotmesos al procediment quirúrgic però sense oclusió de l'ACM (grup HTA SHAM, n=6); ratolins sense hipertensió i amb cirurgia tMCAo de 60 minuts (Grup ICTUS, n=6) i ratolins hipertensos sense cap procediment quirúrgic (Grup HTA, n=6). Els ratolins van ser sacrificats als 7 dies post-ictus per avaluar el volum de l'infart (Figura 16).

En tots els animals es van recollir les dades diàries següents durant 14 dies: pes del ratolí, menjar consumit i aigua consumida. També es fer una avaluació del dèficit neurològic en el moment basal (abans tMCAo), 24 hores, 48 hores, 72 hores, 4 dies, 5 dies, 6 dies i 7 dies post-tMCAo i una extracció de sang intracardíaca el dia 7 post-tMCAo.

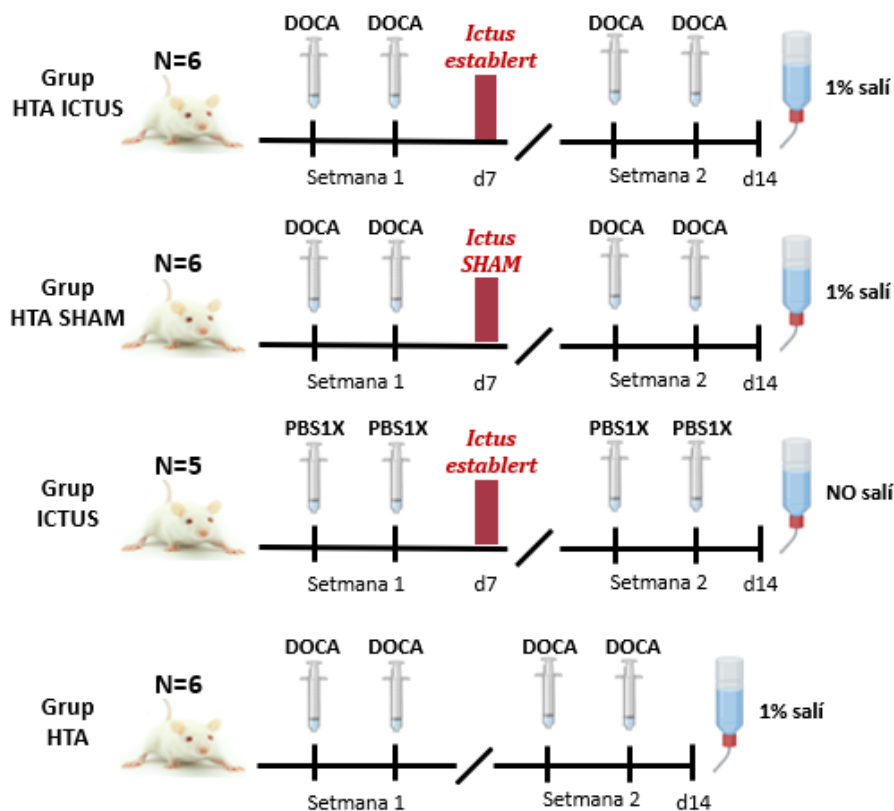


Figura 16. Disseny experimental model animal hipertensió arterial més ictus establert. Abreviatures: DOCA: Desoxicorticoesterona; HTA: hipertensió arterial; d: dia

3.2.8.3 Model triple de diabetis mellitus tipus 2, hipertensió arterial i ictus minor

El model experimental objecte d'aquesta tesi és el model triple (diabetis mellitus tipus 2, hipertensió arterial i Ictus Minor). En l'establiment d'aquest model es van utilitzar ratolins mascles diabètics i hipertensos de la soca CD1 entre 30-40 grams i una edat entre 8-16 setmanes. L'experiment va tenir una durada de 21 dies des de l'inici de la recollida de dades fins al moment del sacrifici del ratolí. Es va considerar un ratolí hipertens i diabètic quan tenia valors de pressió sistòlica superiors a 140 mmHg i valors de glucosa en sang superiors a 120mg/dl durant 2 dies consecutius.

Es van incloure 4 grups experimentals diferents (Figura 17):

- Grup HTA DMT2 IM: ratolins hipertensos i diabètics amb una cirurgia d'IM. En aquest grup, durant les tres setmanes que va durar l'experiment es van fer dues injeccions de DOCA intraperitoneals setmanals a una dosi de 25 mg/kg diluït amb corn oil i manteniment d'aigua salina a l'1%. El dia 18 es va començar la injecció intraperitoneal amb SZT a una dosi de 40mg/kg i es van fer injeccions consecutives diàries fins el dia 21. La cirurgia d'ictus minor (oclusió ACM durant 2 minuts i reperfusió durant 5 minuts, repetit 5 vegades), es va aplicar el dia 2 post-injecció d'SZT (dia 19 experiment). Els ratolins van ser sacrificats a les 48 hores post-IM (n=13).
- Grup HTA DMT2 SHAM: ratolins hipertensos i diabètics SHAM. Durant les tres setmanes que va durar l'experiment es van fer dues injeccions de DOCA intraperitoneals setmanals a una dosi de 25 mg/kg diluït amb corn oil i manteniment d'aigua salina a l'1%. El dia 18 es va començar la injecció intraperitoneal amb SZT a una dosi de 40mg/kg i es van fer injeccions consecutives diàries fins el dia 21. En aquest cas els ratolins van ser sotmesos al procediment quirúrgic el dia 19 d'experiment però sense oclusió de l'ACM. Els ratolins van ser sacrificats a les 48 hores post-cirurgia (n=5).
- Grup HTA DMT2: Ratolins hipertensos i diabètics. Durant les tres setmanes que va durar l'experiment es van fer dues injeccions de DOCA intraperitoneals setmanals a una dosi de 25 mg/kg diluït amb corn oil i manteniment d'aigua salina a l'1%. El dia 18 es va començar la injecció intraperitoneal amb SZT a una dosi de 40mg/kg i es van fer injeccions consecutives diàries fins el dia 21, moment del sacrifici del ratolí. En aquest grup no es va aplicar cap tipus de cirurgia (n=6).
- Grup control: ratolins controls sense cap factor de risc vascular i sense cap procediment quirúrgic. En aquest grup es va seguir el mateix procediment experimental que el grup anterior però injectant PBS 1X en comptes de DOCA i SZT. Els ratolins van ser sacrificats el dia 21 (n=5).

En tots els animals es van recollir les dades diàries següents: pes del ratolí, menjar consumit i aigua consumida. Els valors de glucosa en sang només es van recollir els 4 dies en els quals es va fer la injecció d'SZT. També es fer una avaluació del dèficit neurològic i una extracció de sang submandibul·lar en els següents temps: basal (abans tMCAo), 6 hores, 24 hores i 48 hores post-tMCAo.

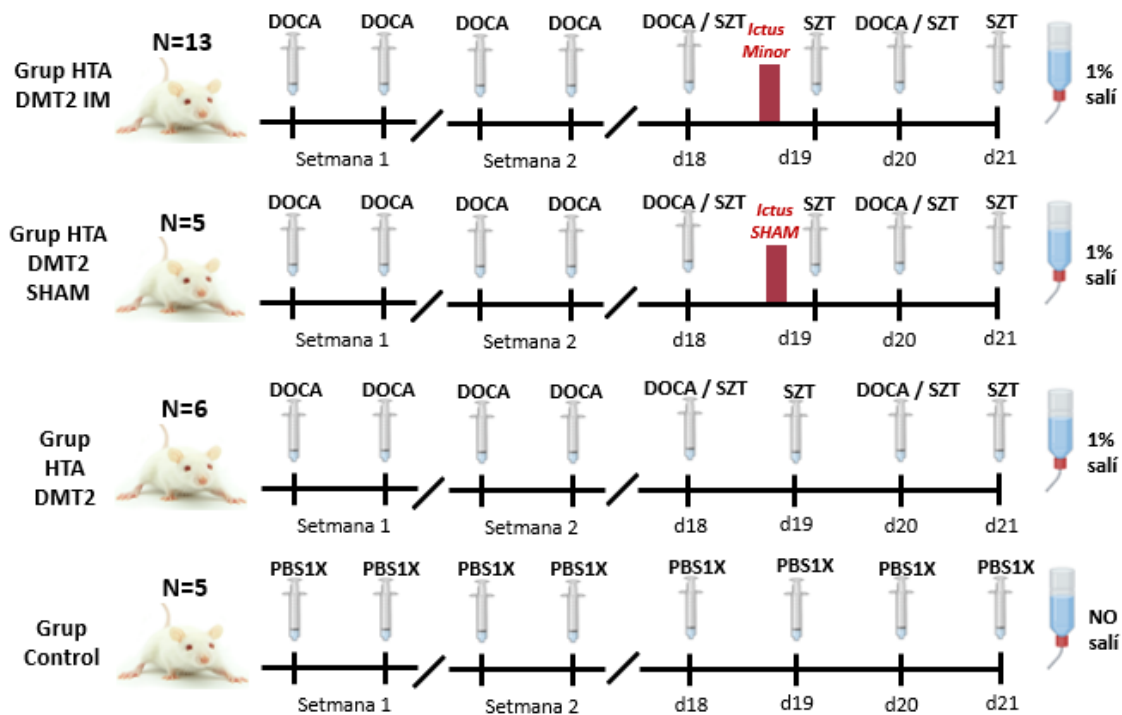


Figura 17. Disseny experimental model animal Diabetis Mellitus tipus 2, hipertensió arterial més Ictus Minor. Abreviatures: DOCA: Desoxicorticoesterona; SZT: Estreptozotocina; DMT2: diabetis mellitus tipus 2; HTA: hipertensió arterial; d: dia

3.2.9 Anàlisi estadístic models experimentals

L'anàlisi estadístic i el gràficat dels resultats es va realitzar mitjançant el programa GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA).

Les variables quantitatives es van descriure com a mitjanes i desviacions estàndard. Aquestes variables es van analitzar mitjançant la prova t –test (comparació entre dos grups) o ANOVA (comparació entre 3 o més grups).

El grau en què dues variables tendeixen a canviar al mateix temps, però no de manera constant, es va calcular amb la correlació d'Spearman que avalua la relació entre dues variables contínues.

La significació estadística es va considerar quan $p < 0,05$.

4. RESULTATS

4. Resultats

4. 1 Cohort PSICOICTUS

Durant el període comprés entre el mes de gener de 2018 i el mes de març de 2020 es van identificar un total de 727 pacients consecutius amb MCV isquèmica que van ser ingressats al servei de Neurologia de l'HUAV de Lleida. D'aquests, 178 pacients (24,5%) van complir els criteris diagnòstics d'IM. D'ells, 30 pacients van ser exclosos de l'estudi per als següents motius: 8 pacients per tenir deteriorament cognitiu previ, 11 pacients per presentar barrera idiomàtica, 5 pacients per afectació greu del llenguatge, 2 pacients per depressió de llarga durada i seguiment psiquiàtric previ, 1 pacient per patir hipoacúsia greu, 1 pacient per tenir ceguera i 2 pacients per presentar alcoholisme establert. A més, 30 pacients van declinar participar a l'estudi per la impossibilitat de poder anar a l'hospital a fer les visites de seguiment. Finalment, es van incloure un total de 118 pacients distribuïts en 4 grups experimentals segons les puntuacions obtingudes en les proves de cribratge afectiu i cognitiu durant l'etapa post-aguda (3-5 dies post-ictus). Els grups van ser els següents: 70 pacients amb IM sense alteracions (puntuació MOCA ≥ 24 , puntuació MADRS < 7 i puntuació AES-C < 37), 20 pacients amb IM amb alteracions afectives (puntuació MOCA ≥ 24 , puntuació MADRS ≥ 7 i/o puntuació AES-C ≥ 37), 11 pacients amb IM amb alteracions cognitives (puntuació MOCA < 24 , puntuació MADRS < 7 i puntuació AES-C < 37) i 17 pacients amb IM amb alteracions afectives i cognitives (puntuació MOCA < 24 , puntuació MADRS ≥ 7 i/o puntuació AES-C ≥ 37). Degut a la pandèmia mundial de COVID-19, es va tancar el reclutament de pacients abans d'assolir el nombre total de pacients previst (N=200) amb diagnòstic d'IM. Durant el seguiment hi va haver 11 abandonaments voluntaris (9,3%): 4 pacients del grup IM sense alteracions, 1 pacient del grup IM amb alteracions afectives, 2 pacients del grup IM amb alteracions cognitives i 4 pacients del grup IM amb alteracions afectives i cognitives. També hi va haver un total de 6 èxits (5,1%), dels quals dos van ser per causes relacionades amb l'ictus. Finalment, un total de 100 pacients van completar el seguiment longitudinal (Figura 18).

Durant l'estat d'alarma pel Covid-19 (14/03/2020 – 22/06/2020) tots els seguiments de 6 i 12 mesos post-IM que s'havien de fer presencialment dels grups IM amb alteracions afectives, IM amb alteracions cognitives i IM amb alteracions afectives i cognitives es van adaptar i van passar a fer-se de manera telefònica, aplicant el mateix protocol. En el cas de la BNPC que s'havia d'avaluar en aquells pacients amb alteracions cognitives, no es va poder dur a terme, per tant aquestes dades no van poder ser recollides.

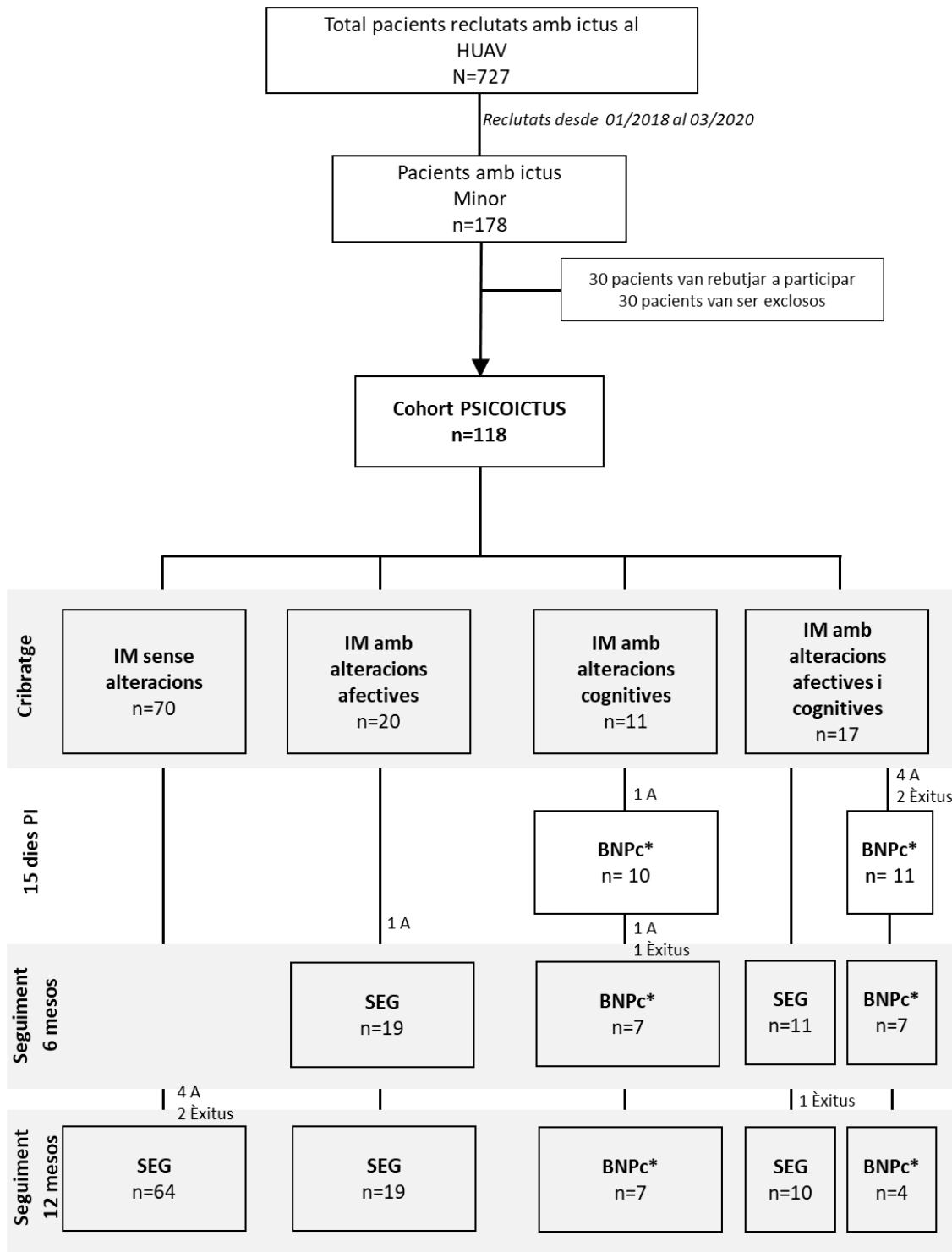


Figura 18. Diagrama de l'estudi PSICOICTUS. Abreviatures: HUAV: Hospital Universitari Arnau de Vilanova; IM: Ictus Minor; BNPc: Bateria neuropsicològica completa; SEG: seguiment; A: abandonament; PI: post-ictus; * Època covid.

4.1.1 Descripció de la cohort PSICOICTUS

Les dades descriptives de la cohort es poden veure a la taula 11. Del total de pacients, 81 (68,6%) eren homes amb una edat mitjana de $67,06 \pm 11,92$ anys. Relacionat amb l'edat avançada de la cohort, 78 subjectes (66,1%) estaven jubilats i només un 25,4% dels pacients (N= 30) estaven actius laboralment abans de patir l'ictus. Un 68,6% tenien estudis primaris o secundaris acabats i només un 11,9% dels subjectes tenien estudis universitaris superiors.

Seguint la classificació etiològica TOAST (Adams et al., 1993), un 44,1 % dels ictus es van classificar com a indeterminats, un 20,3% com a cardioembòlics, un 19,5% van ser aterotrombòtics i un 16,1% lacunars. La gravetat de l'ictus en el moment del cribratge mesurada a través de l'escala NIHSS va ser de 2,0 (RIQ= 1,0 – 3,0), mentre que l'estat funcional mesurat a partir del mRS va ser de 1,0 (RIQ= 1,0 – 2,0). El FRV més prevalent va ser la HTA (83,1%) seguit de la dislipèmia (61%), la DMT2 (35,6%) i la FA (10,2%). 12 pacients (10,2%) havien patit un ictus previ. Pel que fa als antecedents personals d'ansietat i depressió, 25 pacients (21,2%), havien patit la primera patologia i 24 pacients (20,3%) la segona, respectivament. 11 subjectes (9,3%) de la mostra havien rebut tractament psicofarmacològic prèviament a l'IM.

Pel que fa al consum de tòxics, 55 subjectes (46,6%) bevien alcohol de manera ocasional i 27 pacients (22,9%) eren fumadors actius en el moment de patir l'ictus.

Taula 11. Variables clíniques i sociodemogràfiques dels pacients de la cohort PSICOICTUS

Variables		Total (N=118)
Edat, mitjana (DE)		67,06 \pm 11,92
Sexe, homes (%)		81 (68,6)
Fills, mitjana (DE)		2,14 \pm 1,43
Estat civil (%)	Casat/parella	87 (73,3)
	Vidu/Separat	31 (27,3)
Situació laboral (%)	Actiu	30 (25,4)
	Aturat	4 (3,4)
	Inhabilitat	6 (5,1)
	Jubilat	78 (66,1)
Estudis (%)	Estudis p. no acabats	23 (19,5)
	Estudis primaris/secundaris	81 (68,6)
	Estudis universitaris	14 (11,9)

Continuació taula 11

Variables		Total (N=118)
Conviu amb (%)	Parella i/o fills	85 (72)
	Altres familiar	12 (10,2)
	Sol	21 (17,8)
Cuidador principal (%)	Parella	73 (61,9)
	Altres familiar	29 (24,6)
	Ningú	16 (13,6)
Història familiar (%)	Neurològica	28 (23,7)
	Risc vascular	56 (47,5)
Alcohol ocasional (%)		55 (46,6)
Hàbits tabac (%)	Fumador actiu	27 (22,9)
	Ex-fumador	40 (33,9)
Hipertensió arterial (%)		98 (83,1)
Diabetis mellitus 2 (%)		42 (35,6)
Dislipèmia (%)		72 (61)
Fibril·lació auricular (%)		12 (10,2)
Ictus previ (%)		12 (10,2)
Història d'ansietat abans de l'ictus (%)		25 (21,2)
Història de depressió abans de l'ictus (%)		24 (20,3)
Tractament psiquiàtric previ (%)		11 (9,3)
NIHSS al cribatge, RIQ		2,0 [1,0-3,0]
mRS al cribatge, RIQ		1,0 [1,0-2,0]
Etiologia ictus (TOAST) (%)	Aterotrombòtic	23 (19,5)
	Cardioembòlic	24 (20,3)
	Llacunar	19 (16,1)
	Indeterminat	52 (44,1)

Abreviatures: Abreviatures: DE: desviació estàndard; NIHSS: National institute of Health Stroke Scale; RIQ: rang interquartílic; mRS: modified Rankin Scale; TOAST: Trial of ORG-10172 in Acute Stroke Treatment

4.1.2 Descripció de la cohort PSICOICTUS segons el perfil afectiu i de funció cognitiva després d'un ictus minor

Del total de 118 pacients, després de fer les proves de cribatge en el moment basal, es van identificar 20 pacients (17%) amb alteracions afectives (depressió i/o apatia), 11 pacients (9,3%) amb alteracions cognitives i 17 pacients (14,4%) amb alteracions tant afectives com cognitives. Així, 37 pacients (31,4%) presentaven alteracions afectives i 28 (23,7%) alteracions cognitives. En 70 pacients (59,3%) no es va observar cap mena d'alteració.

La figura 19 mostra la distribució de les alteracions afectives i cognitives entre els pacients. 2 pacients (1,7%) només presentaven apatia, 10 pacients (8,5%) només tenien puntuacions patològiques en els ítems de depressió i 8 pacients (6,8%) presentaven apatia i depressió alhora. Aquests 20 pacients en total van formar part del subgrup d'IM amb alteracions afectives. Com ja s'ha descrit anteriorment, en 11 pacients (9,3%) només es van identificar alteracions cognitives en el cribratge. Finalment, 2 persones (1,7%) amb alteracions depressives, 4 persones (3,4%) amb alteracions en l'escala d'apatia i 11 persones (9,3%) amb alteracions en depressió i apatia van presentar també alteracions cognitives, formant un subgrup de 17 pacients (14,4%) amb IM amb alteracions afectives i cognitives.

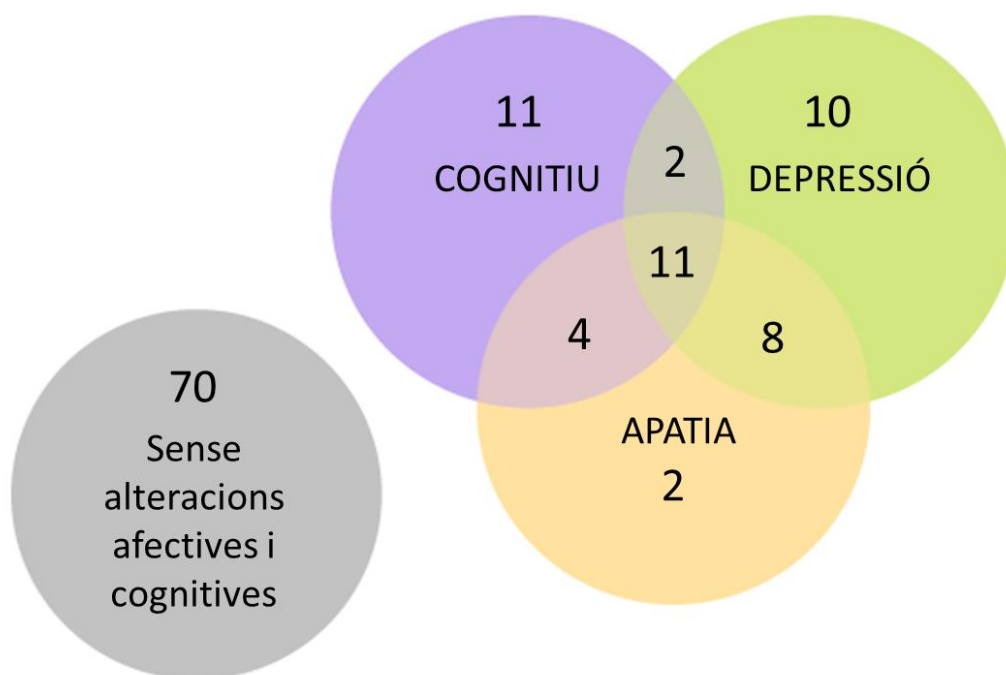


Figura 19. Diagrama de Venn de la distribució dels pacients de la cohort PSICOICTUS segons les alteracions que presentaven després del cribratge en el moment basal

La taula 12 mostra la distribució de les variables clíniques i sociodemogràfiques entre els diferents subgrups. L'edat mitjana del subgrup de pacients amb IM i alteracions cognitives va ser significativament més elevada ($p=0,002$). El grup amb IM i alteracions afectives aïllades va ser més jove. D'altra banda, van haver diferències en la distribució de sexes entre els diferents subgrups, sent el grup amb IM i alteracions afectives el que va tenir una proporció més elevada de dones ($p=0,002$). Com era d'esperar, la proporció de jubilats va ser més elevada en els subgrups de pacients amb IM i alteracions cognitives ($p=0,002$).

Per altra banda, en els subgrups de pacients amb IM amb alteracions afectives es va observar una major proporció de pacients amb antecedents d'ansietat ($p= 0,028$), depressió ($p< 0,001$) i tractament psiquiàtric ($p< 0,001$) previs a l'ictus. Va haver una proporció inversa entre el consum d'alcohol ocasional i els subgrups amb alteracions afectives i/o cognitives ($p= 0,049$).

Taula 12. Variables clíniques i sociodemogràfiques dels pacients de la cohort PSICOICTUS segons els perfil afectiu i cognitiu.

	Total	IM sense alteracions	IM amb alteracions afectives	IM amb alteracions cognitives	IM amb alteracions afectives i cognitives	p-valor
Total, n	118	70	20	11	17	
Edat, mitjana (DE)	67,1 ±11,9	65,2 ± 12,0	63,5 ±12,2	75 ±7,0	73,8 ±9,3	0,002
Característiques basals						
Sexe: homes, n (%)	81 (68,6)	57 (81,4)	10 (50)	7 (63,6)	7 (41,2)	0,002
Fills, mitjana (DE)	2,1 ±1,4	1,9 ± 1,4	2,3 ± 1,7	2,6 ± 0,9	2,7 ± 1,3	0,108
Estat civil, n (%)						
Casat/parella	87 (73,3)	50 (71,4)	14 (70)	10 (90,9)	13 (76,5)	0,202
Vidu/Separat	31 (27,3)	20 (28,6)	6 (30)	1 (9,1)	4 (23,5)	
Situació laboral, n (%)						
Actiu	30 (25,4)	25 (35,7)	5 (25)	0 (0)	0 (0)	0,002
Aturat	4 (3,4)	2 (2,8)	1 (5)	2 (18,2)	2 (11,8)	
Inhabilitat	6 (5,1)	2 (2,9)	4 (20)	0 (0)	0 (0)	
Jubilat	78 (66,1)	41 (58,6)	10 (50)	9 (81,8)	15 (88,2)	
Estudis, n (%)						
Estudis p. no acabats	23 (19,5)	10 (14,3)	4 (20)	4 (36,4)	5 (29,4)	0,245
Estudis 1ar/2ar	81 (68,6)	49 (70)	13 (65)	7 (63,6)	5 (29,4)	
Estudis universitaris	14 (11,9)	11 (15,7)	3 (15)	0 (0)	0 (0)	
Conviu amb, n (%)						
Parella i/o fills	85 (72)	50 (71,4)	12 (60)	10 (90,9)	13 (76,5)	0,281
Altres familiar	12 (10,2)	5 (7,1)	3 (15)	1 (9,1)	3 (17,6)	
Sol	21 (17,8)	15 (21,4)	5 (25)	0 (0)	1 (5,9)	
Cuidador principal, n (%)						
Parella	73 (61,9)	44 (62,9)	14 (70)	8 (72,7)	7 (41,2)	0,056
Altres familiar	29 (24,6)	15 (21,4)	2 (10)	3 (27,3)	9 (52,9)	
Ningú	16 (13,6)	11 (15,7)	4 (20)	0 (0)	1 (5,9)	

Continuació taula 12

	Total	IM sense alteracions	IM amb alteracions afectives	IM amb alteracions cognitives	IM amb alteracions afectives i cognitives	p-valor
Història familiar, n (%)						
Neurològica	28 (23,7)	15 (21,4)	5 (25)	4 (36,4)	4 (23,5)	0,755
Risc vascular	56 (47,5)	34 (48,6)	12 (60)	2 (18,2)	8 (47,1)	0,166
Alcohol ocasional, n (%)	55 (46,6)	40 (57,1)	7 (35)	3 (27,3)	5 (29,4)	0,049
Hàbits tabac, n (%)						
Fumador actiu	27 (22,9)	20 (28,6)	3 (15)	2 (18,2)	2 (11,8)	0,199
Ex-fumador	40 (33,9)	25 (35,7)	7 (35)	5 (45,5)	3 (17,6)	
Hipertensió arterial, n (%)	98 (83,1)	56 (80)	16 (80)	10 (90,9)	16 (94,1)	0,465
Diabetis mellitus 2, n (%)	42 (35,6)	26 (37,1)	7 (35)	1 (9,1)	8 (47,1)	0,219
Dislipèmia, n (%)	72 (61)	45 (64,3)	11 (55)	3 (27,3)	13 (76,5)	0,222
Fibril·lació auricular, n (%)	12 (10,2)	5 (7,1)	3 (15)	3 (27,3)	1 (5,9)	0,166
Ictus previ, n (%)	12 (10,2)	7 (10)	2 (10)	1 (9,1)	2 (11,8)	0,996
Hª ansietat prèvia ictus, n (%)	25 (21,2)	11 (15,7)	9 (45)	1 (9,1)	4 (23,5)	0,028
Hª depressió prèvia ictus, n (%)	24 (20,3)	7 (10)	9 (45)	0 (0)	8 (47,1)	<0,001
Ttment. psiquiàtric previ, n (%)	13 (11)	2 (2,9)	6 (30)	0 (0)	5 (29,4)	<0,001
Gravetat ictus, RIQ						
NIHSS						
Al cribratge	2,0 [1,0-3,0]	2,0 [1,0-3,0]	2,0 [1,0-3,0]	1,0 [1,0-3,0]	2,0 [1,0-3,0]	0,717
mRS						
Al cribratge	1,0 [1,0-2,0]	1,0 [1,0-2,0]	2,0 [1,0-2,0]	1,0 [1,0-2,0]	2,0 [1,0-2,0]	0,348
Etiologia ictus (TOAST), n (%)						
Aterotrombòtic	23 (19,5)	14 (20)	5 (25)	3 (27,3)	1 (5,9)	0,382
Cardioembòlic	24 (20,3)	11 (15,7)	4 (20)	5 (45,5)	4 (23,5)	
Llacunar	19 (16,1)	13 (18,6)	2 (10)	1 (9,1)	3 (17,6)	
Indeterminat	52 (44,1)	32 (45,7)	9 (45)	2 (18,2)	9 (52,9)	

Abreviatures: IM: ictus minor; DE: desviació estàndard; RIQ: rang interquartílic; NIHSS: National institute of Health Stroke Scale; mRS: modified Rankin Scale; TOAST: Trial of ORG-10172 in Acute Stroke Treatment.

4.1.3 Descripció i evolució de la depressió i l'apatia post-ictus minor.

Com ja s'ha indicat, 37 pacients (31,4%) van presentar alteracions afectives, ja fos amb la seva forma pura o amb DCL associat. Les puntuacions mitjanes de l'escala MADRS, del BDI-II i l'AES-c van ser de 4,0 (RIQ= 2,0 - 7,0), 0,0 (RIQ= 0,0 - 4,5) i 29,5 (RIQ= 26,0 - 35,0), respectivament.

Com mostra la taula 13 va haver-hi diferències significatives en les puntuacions de les escales entre els diferents subgrups. Així, la puntuació en l'escala MADRS va ser significativament més elevada en el grup de pacients amb alteracions afectives (11,0 [RIQ= 8,0 - 17,0]) i el d'ambdues alteracions (11,0 [RIQ= 7,0 - 15,0]) que en el grup sense alteracions afectives ni cognitives (3,0 [RIQ= 1,0 - 5,0]) i el grup amb alteracions cognitives pures (2,0 [RIQ= 1,0 - 4,0]); $p < 0,001$. El mateix va succeir amb l'escala BDI-II, on es van observar puntuacions més elevades en el grup amb alteracions afectives (11,0 [RIQ= 8,5 - 18,0]) i en el d'ambdues alteracions (11,0 [RIQ= 3,5 - 23,5]) que en el grup sense alteracions (0 [RIQ= 0 - 0]) i el grup d'alteració cognitiva aïllada (0 [0,0]); $p < 0,001$. Finalment, en l'escala AES-c la puntuació màxima es va observar en el grup amb alteracions afectives i cognitives (45,0 [RIQ= 38,0 - 47,0]), seguida per la del grup d'alteració afectiva (36,5 [RIQ= 30,0 - 45,0]). Les puntuacions d'aquests dos grups van ser significativament majors, p -valor $< 0,001$, que les obtingudes al grup sense alteracions (28,0 [RIQ= 25,0 - 31,0]) i al grup amb alteració cognitiva (30,0 [RIQ= 25,5 - 33,5]).

Taula 13. Puntuacions directes dels tests de cribratge afectiu en el moment basal segons el grup experimental

Basal	Total	IM sense alteracions	IM amb alteracions afectives	IM amb alteracions cognitives	IM amb alteracions afectives i cognitives	p-valor
Total n	118	70	20	11	17	
Puntuació directa MADRS,	4,0	3,0	11,0	2,0	11,0	<0,001
RIQ	[2,0-7,0]	[1,0-5,0]	[8,0-17,0]	[1,0-4,0]	[7,0-15,0]	
Puntuació directa BDI-II,	0,0	0,0	11,0	0,0	11,0	<0,001
RIQ	[0,0-4,5]	[0,0-0,0]	[8,5-18,0]	[0,0-0,0]	[3,5-23,5]	
Puntuació directa AES-C,	29,5	28,0	36,5	30,0	45,0	<0,001
RIQ	[26,0-35,0]	[25,0-31,0]	[30,0-45,0]	[25,5-33,5]	[38,0-47,0]	

Abreviatures: IM: ictus minor; RIQ: rang interquartílic; MADRS: Montgomery Asberg Depression Rating Scale; BDI-II: Inventari de depressió de Beck II; AES-c: escala avaluació de l'apatia clínica.

En finalitzar el seguiment als 12 mesos, es va observar una tendència a la millora en la puntuació en l'escala MADRS sense arribar a ser significativa en el grup de pacients amb alteració afectiva (n=19) amb una puntuació de 11,0 (RIQ= 8,0 - 17,0) en el moment basal i una puntuació de 8,0 (RIQ= 5,0 - 24,0) als 12 mesos post-IM, i en el grup de pacients amb ambdues alteracions (n=10) amb una puntuació de 11,0 (RIQ= 8,0 - 17,0) al moment basal i una puntuació de 8,0 (RIQ= 2,8 - 9,3) als 12 mesos. En canvi, el grup de pacients amb alteració cognitiva (n=4) va tendir a presentar un empitjorament: 2,0 (RIQ= 1,0 - 4,0) vs. 4,0 (RIQ= 3,0 - 12,0) (Figura 20).

Pel que fa a l'evolució en l'escala AES-c, en el grup de pacients amb alteració afectiva les puntuacions es van mantenir estables, 36,5 (RIQ= 30,0 - 45,0) vs. 35,0 (RIQ= 27,0 - 48,0). En canvi, el grup amb alteració afectiva i cognitiva va tendir a presentar una millora: 45,0 (RIQ= 37,5 - 49,0) vs. 38,0 (RIQ= 27,0 - 42,8). Per contra, el grup amb alteració cognitiva va millorar significativament en la puntuació: 30,0 (RIQ= 25,0 - 35,0) vs. 28,0 (26,0 - 40,0); p=0,041 (Figura 21). En l'evolució de la puntuació de l'escala BDI-II va haver-hi una tendència a la millora en el grup d'alteració afectiva: 11,0 (RIQ= 8,3 - 18,5) vs. 5,0 (RIQ= 0 - 23) (Figura 22). La resta de grups es van mostrar estables.

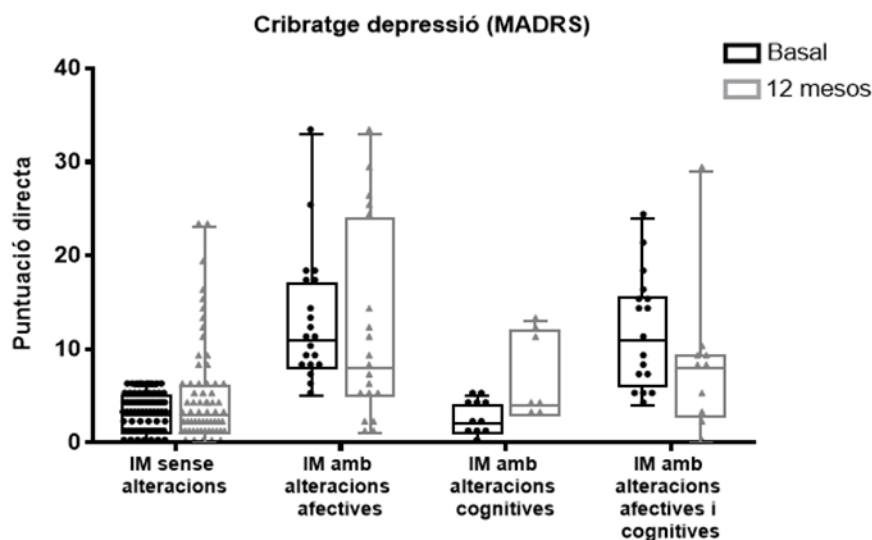


Figura 20. Evolució de la depressió post-ictus segons el MADRS. Abreviatures: MADRS: Montgomery Asberg Depression rating scale; IM: ictus minor

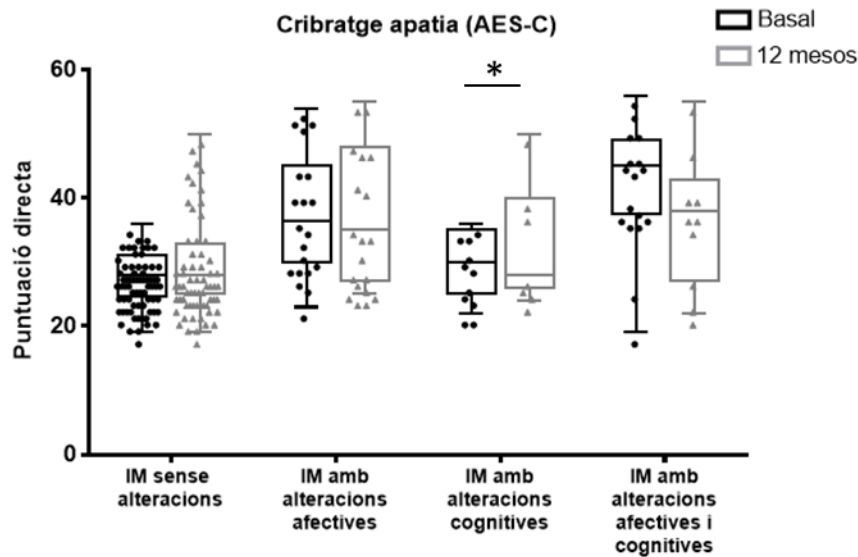


Figura 21. Evolució de l'apatia post-IM segons l'AES-c. Abreviatures: AES-C: escala d'avaluació de l'apatia clínica; IM: ictus minor. *: p-valor <0,05

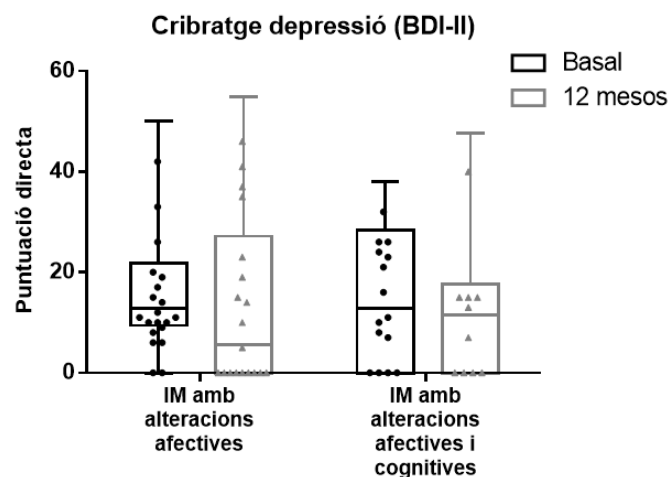


Figura 22. Evolució de la depressió post-IM segons el BDI-II. Abreviatures: BDI-II: Inventari de depressió de Beck-II; IM: ictus minor

4.1.4 Descripció i evolució del deteriorament cognitiu post-ictus minor

En el cribratge inicial, 11 pacients (9,3%) presentaven deteriorament cognitiu i 17 pacients (14,4%) alteracions afectives i cognitives, tal i com s'ha descrit anteriorment. La puntuació mitjana del MoCA va ser significativament menor en tots dos grups (20,0 [RIQ= 16,0 – 22,5] i 21,0 [RIQ= 18,0 – 23,0]) que en el grup de pacients sense alteracions (27,0 [RIQ= [26,0 – 28,0]) i el grup amb alteracions afectives aïllades (27,0 [RIQ= 26,0 – 28,0]), $p < 0,001$. Les puntuacions entre el grup amb alteració cognitiva i el grup d'alteració cognitiva associat a alteració afectiva van ser similars (Figura 23).

Les puntuacions en l'escala MOCA als 12 mesos post-IM van ser significativament millors en el grup de pacients amb ambdues alteracions (n=11): 21,0 (RIQ= 16,0 - 23,0) vs. 22,8 (RIQ= 19,4 - 28,3); p=0,028. En el grup de 4 pacients amb seguiment anual amb alteració cognitiva inicial es va observar una tendència a la millora: 20,0 (RIQ= 14,0 - 23,0) vs. 22,5 (RIQ= 19,5 - 24,0); p=0,611. En la resta de grups la puntuació es va mantenir estable.

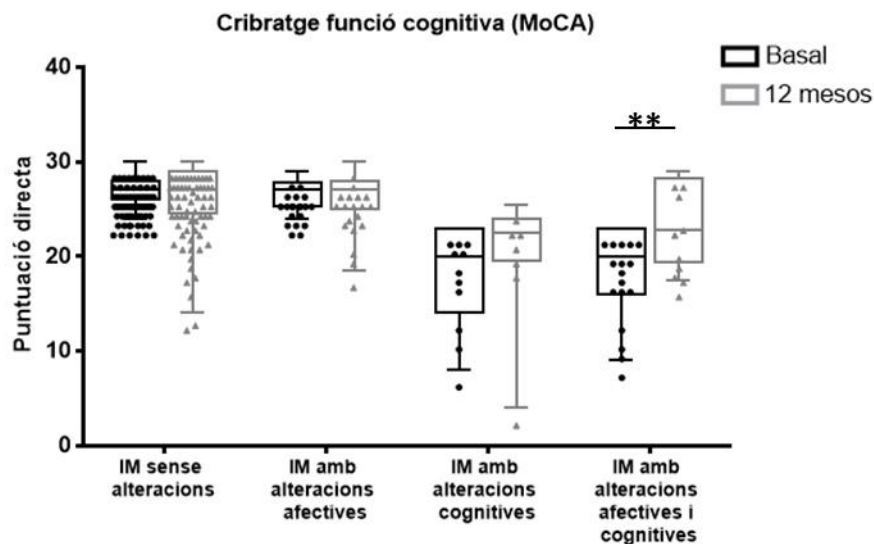


Figura 23. Evolució del deteriorament cognitiu post-IM segons el MoCA Abreviatures: MoCA: Montreal Cognitive Assessment; IM: ictus minor. **: p-valor <0,01

A aquells pacients amb alteració cognitiva en el moment basal també se'ls hi va realitzar una BNPC que avaluava cinc dominis cognitius diferents. Hi va haver una disfunció cognitiva en almenys un domini cognitiu en tots els pacients avaluats. Els dèficits més freqüents van ser en l'àmbit de l'atenció i VPI (90,4%) i en les funcions executives (90,4%), seguit per la memòria verbal (42,8%). L'apràxia constructiva (28,6%) i la memòria visual (23,8%) van ser els dominis cognitius amb menys afectació.

De forma global, com es pot observar en la figura 24 l'avaluació cognitiva seriada als 6 mesos i 12 mesos post-IM va mostrar una millora en tots els dominis cognitius avaluats, en comparació amb l'avaluació basal. Aquesta millora cognitiva va arribar a ser estadísticament significativa entre el moment basal i els 6 mesos (p= 0,0236) i entre el moment basal i els 12 mesos (p= 0,0093) en el domini cognitiu de les funcions executives i entre el moment basal i els 12 mesos en el domini cognitiu de l'atenció i VPI (p= 0,0147).

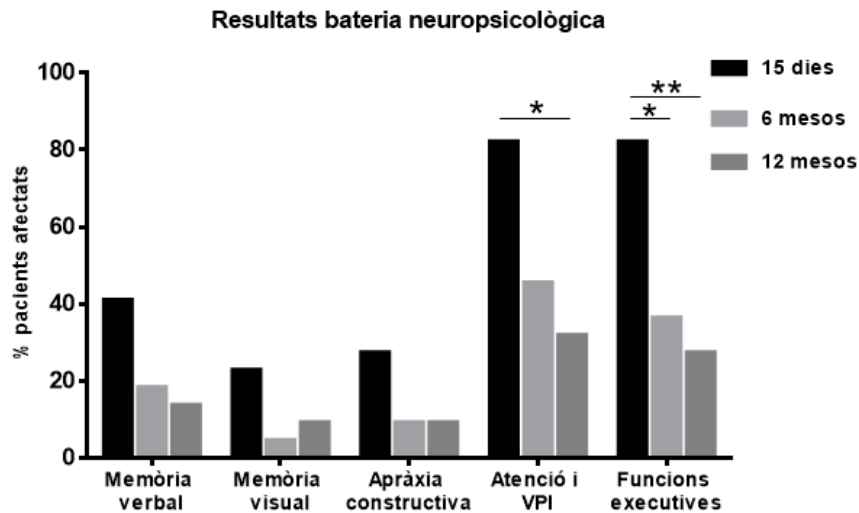


Figura 24. Resultats bateria neuropsicològica completa als 15 dies, 6 mesos i 12 mesos post-IM. Abreviatures: VPI: velocitat processament de la informació.

En la figura 25 es mostra la distribució dels pacients segons el grup experimental al qual formaven part al moment del cribratge basal: IM sense alteracions (n=70), IM amb alteració afectiva (n=20), IM amb alteració cognitiva (n=11) i IM amb alteració afectiva i cognitiva (n=17), i la distribució dels pacients al seguiment longitudinal als 12 mesos post-IM: IM sense alteracions (n=51), IM amb alteració afectiva (n=24), IM amb alteració cognitiva (n=12) i IM amb alteració combinada (n=13). En 18 pacients (15,2%) no es van obtenir les dades de la visita de seguiment a l'any post-IM.

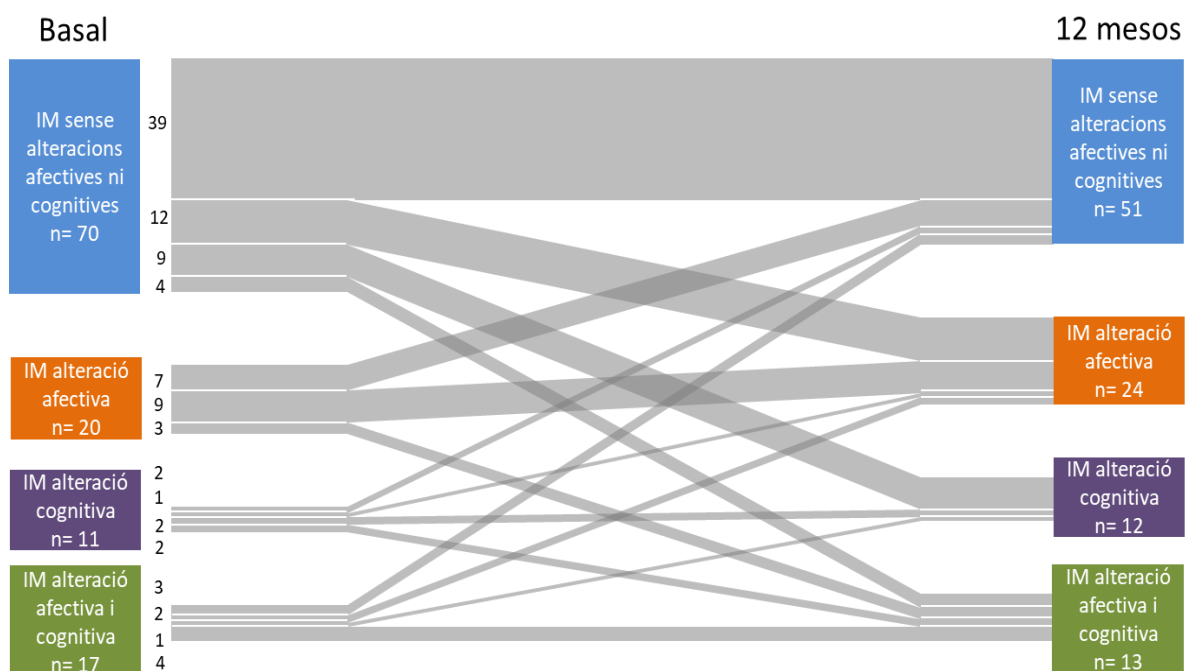


Figura 25. Gràfic de migració dels pacients inclosos a l'estudi PSICOICTUS segons el grup experimental al qual pertanyien al moment basal i al seguiment longitudinal als 12 mesos post-IM.

4.1.5 Descripció i evolució de la funcionalitat i la qualitat de vida post-ictus minor

Per avaluar la funcionalitat del pacient després de patir un IM es va utilitzar l'escala mRS on la puntuació mitjana de la cohort va ser de 1,0 (RIQ= 1,0 – 2,0). No hi va haver diferències en les puntuacions entre els diferents subgrups.

La qualitat de vida després de l'IM es va avaluar amb l'escala ECVI-38 que està agrupada en 8 ítems diferents: estat físic, comunicació, cognició, emocions, sentiments, ABVD, activitats comunes de la vida diària i funcionament socio-familiar. En el moment basal, hi va haver diferències estadísticament significatives en l'ítem 4 (emocions) entre el grup amb IM i alteracions afectives i el grup amb IM sense alteracions ($p=0,0063$) i amb el grup amb IM i alteracions cognitives ($p=0,0023$). En el mateix ítem també hi va haver diferències entre el grup amb IM i alteracions afectives i cognitives i el grup amb IM sense alteracions ($p=0,0294$) i amb el grup amb IM i alteracions cognitives ($p=0,011$) (Figura 26 A). Als 12 mesos post-IM, en l'ítem 4, encara hi havia diferències estadísticament significatives entre el grup amb IM i alteracions afectives i el grup amb IM sense alteracions ($p=0,029$) i amb el grup amb IM i alteració cognitiva ($p=0,0306$) i, a més, també hi havia diferències estadísticament significatives en l'ítem 5 (sentiments), entre el grup amb alteracions afectives i el grup sense alteracions ($p= 0,013$) (Figura 26 B).

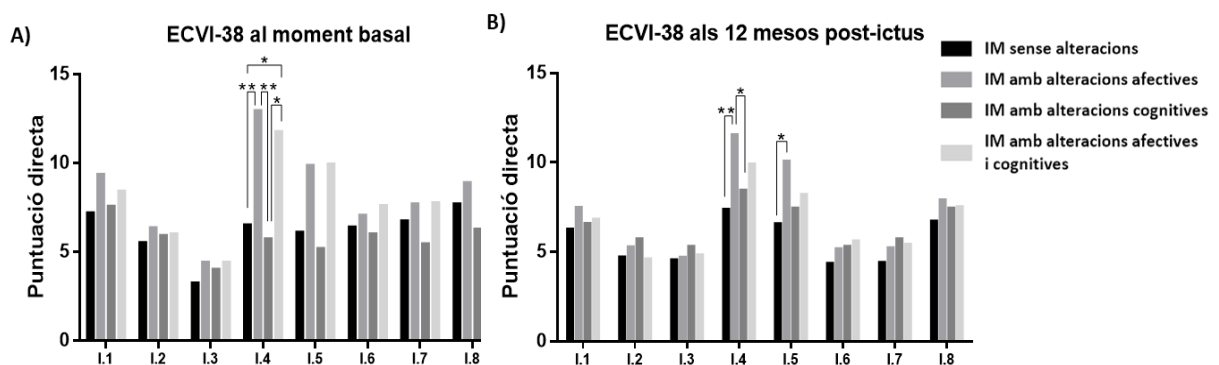


Figura 26. Puntuacions directes dels 8 ítems de l'escala ECVI-38 segons el grup experimental en el moment basal (A) i als 12 mesos post-IM (B). Ítem 1: estat físic; Ítem 2: comunicació; Ítem 3: cognició; Ítem 4: emocions; Ítem 5: sentiments; Ítem 6: ABVD; Ítem 7: activitats comunes de la vida diària; Ítem 8: funcionament sociofamiliar. Abreviatures: ECVI-38: escala qualitat de vida per a l'íctus 38; IM: ictus minor; ítem. *: p-valor <0,05; **: p-valor <0,01.

Com es pot observar en la figura 27 el grup amb alteracions afectives va tenir la puntuació total directa més alta (66,5 [RIQ= 52,5 – 79,0]) i per tant, una pitjor percepció de la qualitat de vida, seguit del grup amb alteracions afectives i cognitives (61,0 [RIQ= 55,0 – 69,0]). Tots els grups van mostrar una millora de la qualitat de vida als 12 mesos post-IM, encara que no significativa, excepte el grup amb alteracions cognitives.

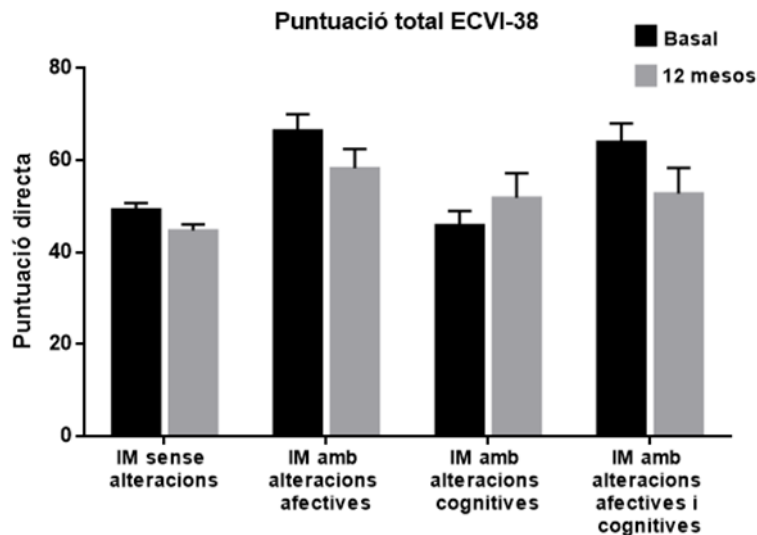


Figura 27. Evolució de la qualitat de vida després d'un IM mitjançant el ECVI-38, segons el grup experimental. Abreviatures: ECVI-38: escala qualitat de vida per a l'ictus 38; IM: ictus minor

4.1.6 Descripció perfil bioquímic

El perfil bioquímic va incloure les dades de glucosa, creatinina, colesterol total, colesterol LDL i triglicèrids en sèrum (mg/dL) i també el número de leucòcits ($\times 10^9/L$) obtingudes de l'anàlisi de sang extreta el dia de l'ingrés a planta. Les variables del perfil bioquímic es mostren a la taula 14. S'observen diferències estadísticament significatives entre els 4 grups en la distribucions de les concentracions de creatinina i triglicèrids. Així, el grup amb IM amb alteracions cognitives va ser el que va tenir una concentració mitjana més elevada de creatinina ($p= 0,009$) associada a una concentració de triglicèrids més baixa ($p= 0,029$).

Taula 14. Perfil bioquímic dels pacients de la cohort PSICOICTUS segons l'alteració afectiva i cognitiva.

Mitjanes (DE)	TOTAL	IM sense alteracions	IM amb alteracions afectives	IM amb alteracions cognitives	Ictus M amb alteracions afectives i cognitives	p-valor
Total n (%)	114	66 (57,9%)	20 (17,6%)	11 (9,6%)	17 (14,9%)	
Valors glucosa sèrum (mg/dL)	120,4 (43,6)	122,2 (43,4)	114,5 (42,5)	101,6 (20,1)	132,8 (53,8)	0,275
Valors creatinina sèrum (mg/dL)	0,9 (0,5)	0,9 (0,3)	0,8 (0,2)	1,4 (1,4)	0,8 (0,3)	0,009
Valors colesterol total sèrum (mg/dL)	183 (40,3)	188 (38,9)	182 (46,9)	169 (33,9)	171 (41,7)	0,286
Valors colesterol LDL sèrum (mg/dL)	111 (34,3)	114 (32,8)	110 (42,5)	105 (28,7)	100 (34,8)	0,460
Valors Triglicèrids sèrum (mg/dL)	140 (53,1)	151 (51,7)	127 (51,3)	106 (25,8)	132 (63,8)	0,029
Valors leucòcits ($\times 10^9/L$)	7,9 (3,0)	7,6 (1,7)	7,8 (2,0)	8,7 (7,4)	8,4 (3,7)	0,644

Abreviatures: DE: desviació estàndard; IM: ictus minor.

4.1.7 Descripció de les dades de neuroimatge

En 93 (78,8%) dels 118 pacients inclosos en la cohort PSICOICTUS se'ls hi va fer una RM cranial segons els criteris de l'estudi al cap de $5,0 \pm 1,9$ dies després de l'IM.

La mitjana de volum d'infart en la seqüència de DWI va ser de $1,629 \text{ cm}^3$ (RIQ= 0,83 – 8,3) i es van observar diferències significatives entre els grups experimentals ($p=0,025$). El grup amb un volum d'infart més gran va ser el grup amb alteracions cognitives ($10,85$ [RIQ= 2,82 – 23,6] cm^3) seguit del grup amb alteracions afectives i cognitives ($8,11$ [RIQ= 1,41 – 9,03] cm^3) (Figura 28)

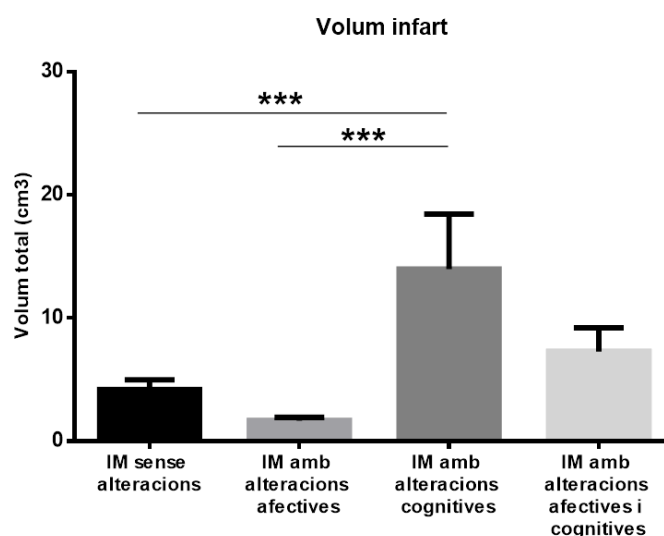


Figura 28. Volum infart en cm^3 segons el perfil afectiu i cognitiu. ***: p -valor $<0,001$.

La majoria de pacients van patir lesions agudes múltiples (59,1%) que afectaven només a un territori vascular (86%), sent el més predominant el territori de les artèries penetrants (44,1%) seguit del territori cortical de l'ACM (39,8%).

La taula 15 mostra la distribució de les característiques radiològiques en funció dels subgrups. Així, els grups es van diferenciar significativament en el número d'infarts isquèmics crònics que era més elevat en el grup de pacients amb alteracions afectives i cognitives ($p=0,007$). Els pacients amb alteracions cognitives aïllades tenien una major proporció de transformació hemorràgica ($p=0,005$) i una tendència a tenir més microhemorràgies ($p=0,069$).

Malgrat no arribar al nivell de significació, com mostren la figura 29 i la taula 15, les lesions en el territori cortical de l'ACM es van relacionar amb la presentació d'alteracions cognitives en la visita basal, mentre que les lesions en el territori de les artèries penetrants es va relacionar amb la disfunció afectiva. En el territori cortical de l'ACM les diferències van arribar a ser significatives quan es van comparar directament el grup sense alteracions amb el grup amb alteració cognitiva ($p=0,032$).

Taula 15. Anàlisi de la prova de neuroimatge dels pacients de la cohort PSICOICTUS segons el perfil afectiu i cognitiu.

	TOTAL	IM sense alteracions	IM amb alteracions afectives	IM amb alteracions cognitives	IM amb alteracions afectives i cognitives	p-valor
Total n	93	62	12	8	11	
Variables de Neuroimatge						
Volum infart, RIQ	1,6 [0,8-8,3]	1,4 [0,7-5,8]	1,5 [1,0-2,7]	10,9 [2,8-23,6]	8,1 [1,4-9,0]	0,025
Lesió múltiple o única, n (%)						
Múltiple	55 (59,1)	36 (58,1)	6 (50)	6 (75)	7 (63,6)	0,713
Única	38 (40,9)	26 (41,9)	6 (50)	2 (25)	4 (36,4)	
Lesió uni/multiterritorial, n (%)						
Uniterritorial	80 (86)	56 (90,3)	8 (66,7)	6 (75)	10 (90,9)	0,126
Multiterritorial	13 (14)	6 (9,7)	4 (33,3)	2 (25)	1 (9,1)	
Territori lesió, n (%)						
ACA	1 (1,1)	1 (1,6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,918
ACP	2 (2,2)	1 (1,6)	1 (8,3)	0 (0)	0 (0)	0,443
Cortical ACM	37 (39,8)	23 (37,1)	3 (25)	6 (75)	5 (45,5)	0,116
Subcortical ACM	19 (20,4)	14 (22,6)	1 (8,3)	1 (12,5)	3 (27,3)	0,597
Territori ACM (cor/sub)	47 (50,5)	30 (48,4)	4 (33,3)	7 (87,5)	6 (54,5)	0,113
Territori vertebro-basilar	19 (20,4)	13 (21)	1 (8,3)	2 (25)	3 (27,3)	0,680
Artèries penetrants	41 (44,1)	27 (43,5)	8 (66,7)	2 (25)	4 (36,4)	0,268
Artèria coroidea anterior	1 (1,1)	1 (1,6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,918

Continuació taula 15

	TOTAL	IM sense alteracions	IM amb alteracions afectives	IM amb alteracions cognitives	IM amb alteracions afectives i cognitives	p-valor
Total n	93	62	12	8	11	
Localització lesió, n (%)						
Lòbul frontal	13 (14)	9 (14,5)	2 (16,7)	1 (12,5)	1 (9,1)	0,956
Lòbul fronto-parietal	20 (21,5)	12 (19,4)	3 (25)	4 (50)	1 (9,1)	0,164
Lòbul fronto-insular	8 (8,6)	3 (4,8)	1 (8,3)	2 (25)	2 (18,2)	0,162
Lòbul temporal	8 (8,6)	6 (9,7)	0 (0)	0 (0)	2 (18,2)	0,354
Lòbul parietal	12 (12,9)	7 (11,3)	2 (16,7)	0 (0)	3 (27,3)	0,321
Lòbul occipital	12 (12,9)	5 (8,1)	2 (16,7)	2 (25)	3 (27,3)	0,212
Tàlem	9 (9,7)	6 (9,7)	0 (0)	1 (12,5)	2 (18,2)	0,519
Ganglis basals	21 (22,6)	13 (21,0)	5 (41,7)	1 (12,5)	2 (18,2)	0,365
Trons cerebral	15 (16,1)	11 (17,7)	1 (8,3)	0 (0)	3 (27,3)	0,361
Cerebel	5 (5,4)	4 (6,5)	0 (0)	0 (0)	1 (9,1)	0,665
Corona radiata	4 (4,3)	2 (3,2)	2 (16,7)	0 (0)	0 (0)	0,139
Tronc cerebral-cerebel	4 (4,3)	4 (6,5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,554
Càpsula interna	1 (1,1)	1 (1,6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,918
Transformació hemorràgica, n (%)	16 (17,2)	8 (12,9)	1 (8,3)	5 (62,5)	2 (18,2)	0,005
Leucaraiosis (Escala Fazekas), n (%)						
Grau 0	21 (22,6)	15 (24,2)	2 (16,7)	2 (25)	2 (18,2)	0,926
Grau 1	43 (46,2)	27 (43,5)	7 (58,3)	4 (50)	5 (45,5)	
Grau 2	21 (22,6)	15 (24,2)	1 (8,3)	2 (25)	3 (27,3)	
Grau 3	8 (8,6)	5 (8,1)	2 (16,7)	0 (0)	1 (9,1)	
Microhemorràgies, n (%)						
0	50 (53,8)	37 (59,7)	6 (50)	4 (50)	3 (27,3)	0,069
1-5	31 (33,3)	21 (33,9)	4 (33,3)	3 (37,5)	3 (27,3)	
6-10	4 (4,3)	1 (1,6)	0 (0)	1 (12,5)	2 (18,2)	
>10	5 (5,4)	1 (1,6)	2 (16,7)	0 (0)	2 (18,2)	
Nº infarts crònics, mitjana (DE)	1,45 (2,412)	1,13 (1,604)	0,92 (1,084)	1,63 (3,42)	3,73 (4,65)	0,007

Abreviatures: IM: ictus minor; RIQ: rang interquartílic; ACA: artèria cerebral anterior; ACP: artèria cerebral posterior; ACM: artèria cerebral mitja; DE: desviació estàndard; cor: cortical; sub: subcortical.

En el cas de comparar el territori de la lesió de l'ictus en territori cortical de l'ACM, artèries penetrants i altres territoris que inclou el territori de l'ACA, ACP, vertebro-basilar, subcortical ACM i artèria coroidea anterior, l'anàlisi entre el grup sense alteracions i el grup amb alteracions cognitives va arribar a una $p=0,099$ (Figura 29).

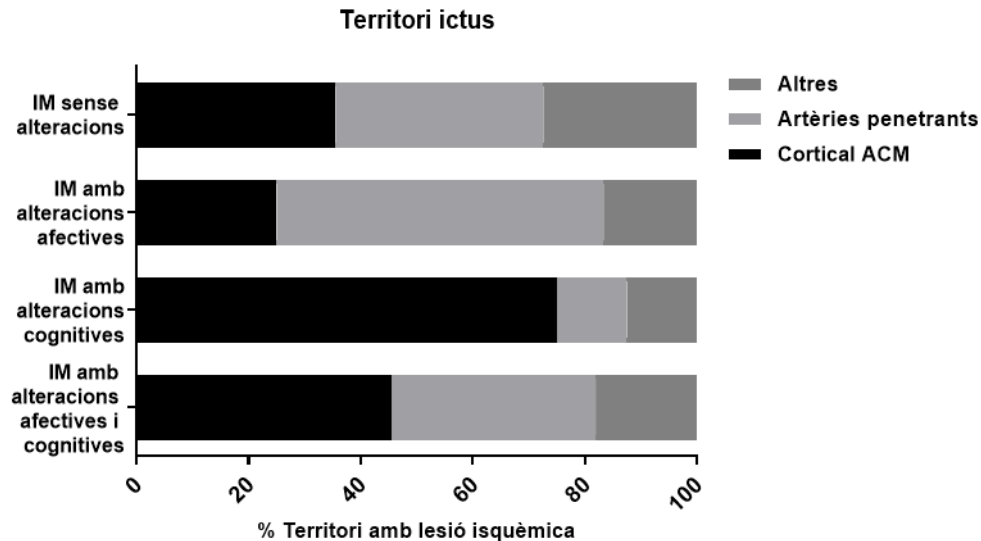


Figura 29. Territori de la lesió isquèmica aguda segons el perfil afectiu, d'apatia i funció cognitiva. El grup denominat "Altres" inclou els següents territoris: ACA, ACP, vertebro-basilar, subcortical ACM i artèria coroïdea anterior.

4.1.8 Biomarcador genètic de deteriorament cognitiu: rol del gen *APOE*

Les dades del genotipat del gen *APOE* es troben en la taula 16. Dels 118 pacients que es van incloure en la cohort PSICOICTUS, es va poder fer l'extracció d'ADN i el TaqMan SNP genotyping assay, a partir de mostres de buffy coat, de 109 (92,4%) pacients.

Es va observar que el 64,4 % de la cohort tenia el genotip 3/3, el 14,4% el genotip 3/4 i el 12,7% el genotip 2/3. Només un pacient va tenir el genotip 2/2 i cap pacient el genotip 4/4.

No hi va haver diferències estadísticament significatives en la distribució dels genotips i els diferents grups segons alteració afectiva i/o cognitiva ($p=0,386$). Així, el DCL post-IM no estava associat a una predisposició genètica.

Taula 16. Genotip del gen *APOE* en la cohort PSICOICTUS segons el perfil afectiu, d'apatia i funció cognitiva

	Total	IM sense alteracions	IM amb alteracions afectives	IM amb alteracions cognitives	IM amb alteracions afectives i cognitives	p-valor
Total, n	n= 118	n= 70	n= 20	n= 11	n= 17	
Genotip <i>APOE</i> (%)						
2/2	1 (0,8)	0 (0)	1 (5)	0 (0)	0 (0)	0,386
2/3	15 (12,7)	10 (14,3)	1 (5)	2 (18,2)	2 (11,8)	
3/3	76 (64,4)	43 (61,4)	16 (80)	8 (72,7)	9 (52,9)	
3/4	17 (14,4)	12 (17,1)	1 (5)	1 (9,1)	3 (17,6)	
4/4	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
NO DADES	9 (7,6)	5 (7,1)	1 (5)	0 (0)	3 (17,6)	

Abreviatures: IM: ictus minor; APOE: apolipoproteïna E.

4.1.9 Determinació de biomarcadors metabòlics i lipídics circulants

4.1.9.1 Característiques dels pacients inclosos en l'estudi de biomarcadors circulants

En la primera anàlisi òmica de descobriment es va incloure un total de 25 pacients de la cohort PSICOICTUS: 13 pacients amb IM sense alteracions afectives ni cognitives, 6 pacients amb IM i alteracions afectives i 6 pacients amb IM i alteracions cognitives.

Les característiques basals (edat i sexe), de FRV (HTA, DMT2, dislipèmia i FA) i de neuroimatge (volum infart, territori lesió aguda, presència de microhemorràgies i transformació hemorràgica de l'ictus agut i número d'infart crònics i el seu territori) es mostren en la taula 17.

Un 44% dels pacients (n= 11) eren homes i la mitjana d'edat dels subjectes de la cohort va ser de 67,4 (\pm 11,0 anys). El FRV més prevalent era la HTA (84%), seguit de la dislipèmia (60%), la DMT2 (28%) i la FA (28%). Pel que fa a l'anàlisi de la neuroimatge, la mitjana de volum d'infart va ser de 6,6 mm³ (\pm 9,4) i el territori de lesió més predominant va ser el territori cortical de l'ACM amb un 40 % dels casos. 6 pacients (24%) van patir transformació hemorràgica de la lesió aguda i 8 pacients (32%) tenien focus de microsagnat crònic. En l'anàlisi de les lesions cròniques el territori més predominant va ser les artèries penetrants.

En totes aquestes variables no hi va haver diferències estadísticament significatives entre els 3 grups experimentals.

Posteriorment es va realitzar la validació dels resultats obtinguts a la fase de descobriment en una mostra més gran de pacients de la cohort PSICOICTUS (n= 90). Es van incloure els següents pacients en cada grup experimental: 65 pacients amb IM sense alteracions afectives ni cognitives, 14 pacients amb IM i alteracions afectives i 11 pacients amb IM i alteracions cognitives.

Les característiques de la cohort de validació es mostren en la taula 17 juntament amb les dades de la cohort de descobriment.

En aquesta fase de validació un 73,3% dels pacients (n= 66) eren homes i s'observava una distribució diferent entre els grups (p=0,009), amb un percentatge més elevat d'homes al grup IM amb alteracions cognitives. L'edat mitjana d'aquesta cohort va ser de 66,5 anys ($\pm 11,8$), amb una mitjana d'edat més avançada al grup IM amb alteracions cognitives (p= 0,036). Igual que en la cohort de descobriment el FRV més prevalent era la HTA (82,2%), seguit de la dislipèmia (65,1%), la DMT2 (34,4%) i la FA (12,2%). La dislipèmia es presentava en un percentatge més elevat en el grup IM amb depressió (p= 0,044). Pel que fa a l'anàlisi de neuroimatge, es va observar una major transformació hemorràgica de la lesió aguda en el grup IM amb alteracions cognitives (p= 0,001).

Taula 17. Variables clíniques, de FRV, de cribratge cognitiu i de neuroimatge dels pacients inclosos en la primera anàlisi de descobriment de metabòlica i lipídica.

	Total		IM sense alteracions		IM amb alteracions afectives		IM amb alteracions cognitives		p-valor	
	Des	Val	Des	Val	Des	Val	Des	Val	Des	Val
Total n	25	90	13	65	6	14	6	11		
Característiques basals										
Edat, mitjana (DE)	67,4 \pm 11,0	66,5 \pm 11,8	67,9 \pm 10,2	65,5 \pm 11,7	62,5 \pm 14,9	64,8 \pm 13,1	71,5 \pm 7,5	75 \pm 7	0,373	0,036
Sexe: homes, n (%)	11 (44)	66 (73,3)	7 (53,8)	53 (81,5)	1 (16,7)	6 (42,9)	3 (50)	7 (63,6)	0,298	0,009
HTA, n (%)	21 (84)	74 (82,2)	12 (92,3)	52 (80)	4 (66,7)	12 (85,7)	5 (83,3)	10 (90,9)	0,366	0,636
DMT2, n (%)	7 (28)	31 (34,4)	4 (30,8)	24 (36,9)	2 (33,3)	6 (42,9)	1 (16,7)	1 (9,1)	0,772	0,154
Dislipèmia, n (%)	15 (60)	55 (65,1)	9 (69,2)	42 (64,6)	4 (66,7)	10 (71,4)	2 (33,3)	3 (27,3)	0,309	0,044
FA, n (%)	7 (28)	11 (12,2)	2 (15,4)	5 (7,7)	2 (33,3)	3 (21,4)	3 (50)	3 (27,3)	0,279	0,097

Continuació taula 17

	Total		IM sense alteracions		IM amb alteracions afectives		IM amb alteracions cognitives		p-valor	
	Des	Val	Des	Val	Des	Val	Des	Val	Des	Val
Total n	25	90	13	65	6	14	6	11		
Anàlisi neuroimatge										
Total n	23	78	13	60	5	10	5	8		
Volum infart, mitjana (DE)	6,6 ± 9,4	6,6 ± 12,6	5,4 ± 7,3	6,4 ± 13,3	1,3 ± 0,8	1,7 ± 0,9	15,0 ± 14,3	14 ± 12,6	0,050	0,119
Territori lesió, n (%)										
Territori cortical	10 (40)	31 (34,4)	5 (38,5)	23 (35,4)	1 (16,7)	2 (14,3)	4 (66,7)	6 (54,5)	0,201	0,023
Territori subcortical ACM	3 (12)	14 (15,6)	2 (15,4)	12 (18,5)	0 (0)	1 (7,1)	1 (16,7)	1 (9,1)	0,510	0,129
Micro-hemorràgies, n (%)	8 (32)	32 (35,6)	4 (16)	23 (35,4)	3 (50)	5 (35,6)	1 (16,7)	4 (36,4)	0,608	0,263
Transformació hemorràgica, n (%)	6 (24)	13 (14,4)	3 (23,1)	8 (12,3)	0 (0)	0 (0)	3 (50)	5 (45,5)	0,151	0,001
Nº infarts crònics, mitjana (DE)	0,9 ± 1,5	1,2 ± 1,8	1,2 ± 1,9	1,2 ± 1,6	0,6 ± 0,9	0,8 ± 0,9	0,6 ± 0,5	1,6 ± 3,4	0,702	0,630

Abreviatures: Des: cohort descobriment; Val: cohort validació; ACM: Artèria cerebral mitja; IM: ictus minor; DE: desviació estàndard; DCL: deteriorament cognitiu lleu; HTA: hipertensió arterial; DMT2: diabetis mellitus tipus 2; FA: fibril·lació auricular

4.1.9.2 Identificació dels metabòlits i lípids diferencialment expressats

L'estudi de metabolòmica i lipidòmica no dirigida va permetre fer una anàlisi estadística mitjançant la plataforma Metaboanalyst on les dades dels metabòlits i lípids van ser representades a través dels PLS-DA. Es va identificar amb bona precisió una signatura específica de cada grup experimental, tant de metabolòmica com lipidòmica, amb un valor R2 de 0,93 però un Q2 negatiu degut molt probablement a la diferència entre el número de casos entre els diferents grups d'estudi.

Com es pot observar en la figura 30 aquestes signatures van permetre diferenciar entre aquells pacients que havien patit un IM i no tenien cap alteració afectiva ni cognitiva després de l'ictus (color verd), els pacients amb IM que presentaven depressió (color blau fort) i els pacients amb IM que presentaven DCL (color vermell).

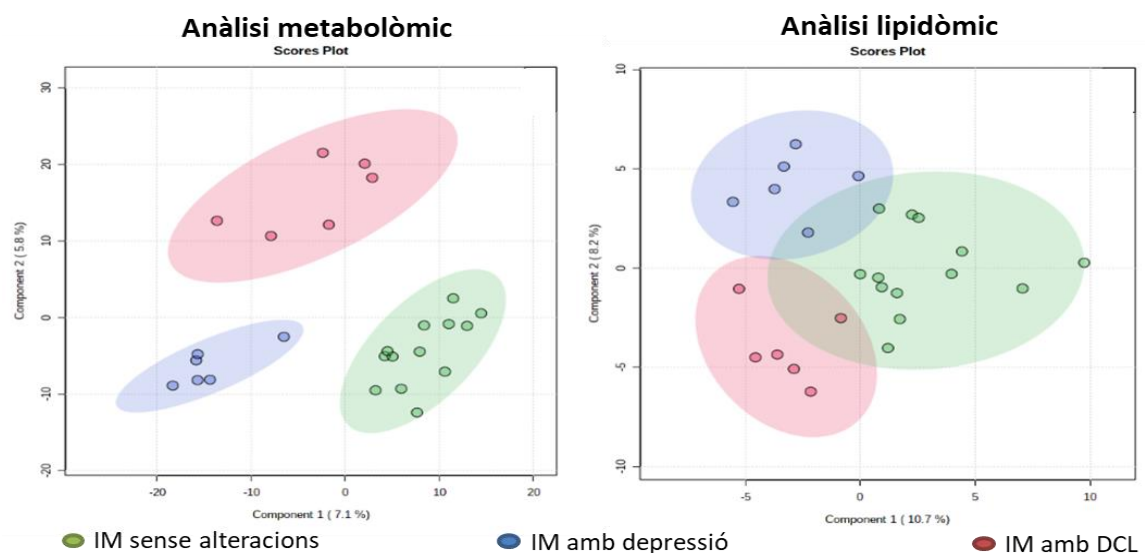


Figura 30. Gràfics tridimensionals dels PLS-DA on es mostra el perfil dels metabòlits i dels lípids plasmàtics segons el perfil afectiu i de funció cognitiva dels pacients inclosos de la cohort PSICOICTUS. Color verd: IM sense alteracions; Color blau fort: IM amb depressió; Color vermell: IM amb alteració cognitiva. Abreviatures: IM: ictus minor; DCL: deteriorament cognitiu lleu.

Posteriorment, a partir de la base de dades HMDB es van identificar els metabòlits i lípids que estaven expressats diferencialment. Mitjançant una anàlisi estadística univariada es va observar que hi havia 6 metabòlits; [2-Hydroxyhexadecanoylcarnitine, DG(36:7), PE(13D5/13M5), PE-NMe(40:4), Tocophersolan i PG(34:0)] i 1 lípid; [PC-P(38:4)] que s'expressaven diferencialment entre el grup de pacients amb IM sense alteracions afectives ni cognitives i el grup de pacients amb IM amb alteracions cognitives (Taula 18).

Taula 18. Metabòlits i lípids expressats diferencialment entre els pacients amb IM sense alteracions afectives ni cognitives i els pacient amb IM amb alteracions cognitives.

Sense alteracions afectives ni cognitives post IM vs alteracions cognitives post IM							
Classe	Identificació	m/z	TR	p-valor	FDR p-valor	Regulació	Detecció
FA	2-Hydroxyhexadecanoylcarnitine	426.35	10.02	0,007	0,770	Up	MET
GL	DG(36:7)	609.46	11.59	0,013	0,568	Down	MET
GP	PE(13D5/13M5)	922.66	11.34	0,028	0,770	Up	MET
GP	PE-NMe(40:4)	808.59	9.08	0,017	0,568	Up	MET
PR	Tocophersolan	575.41	11.20	0,016	0,671	Down	MET
GP	PG(34:0)	749.52	11.60	0,030	0,577	Up	MET
PE	PC-P (38:4)	794,60	7.39	0,036	0,642	Up	LIPI

Abreviatures: IM: ictus minor; FA: àcids grassos GL: Glicerolípid; GP: Glicerofosfolípids; PR: lípids prenols; PC: fosfatidilcolina; PE: fosfatidiletanolamina; PG: fosfoglicèric; DG: diacilglicèrid; m/z: massa/càrrega; TR: temps de retenció; MET: metabòmica; LIPI: lipídica; FDR: False Discovery Rate

Per una altra banda, fent el mateix tipus d'anàlisi es van poder identificar 6 metabòlits; [DG(36:7), PS(40:6), *Isoleucyl-Isoleucine*, PC (38:4), PG (34:0)] i *N-Decanoylglycine* i 2 lípids; [PC-P(38:4) i PC (38:2)] que s'expressaven diferencialment entre el grup de pacients amb IM sense alteracions afectives ni cognitives i el grup de pacients amb IM amb alteracions afectives (Taula 19).

Taula 19. Metabòlits expressats diferencialment entre els pacients amb IM sense alteracions afectives ni cognitives i el grup de pacients amb IM amb depressió.

Sense alteracions afectives ni cognitives post-IM vs Depressió post IM							
Classe	Identificació	m/z	TR	p-valor	FDR p-valor	Regulació	Detecció
GL	DG(36:7)	609.46	11.59	0,013	0,568	Down	MET
GP	PS(40:6)	834.55	11.40	0,011	0,568	Up	MET
AA	<i>Isoleucyl-Isoleucine</i>	245.18	1.50	0,024	0,671	Down	MET
GP	PC(38:4)	794.60	13.40	0,017	0,671	Down	MET
GP	PG(34:0)	749.52	11.60	0,030	0,577	Up	MET
AA	<i>N-Decanoylglycine</i>	230.17	6.64	0,032	0,671	Down	MET
PC	PC(38:2)	836.61	7.57	0,008	0,642	Down	LIPI
PE	PC-P(38:4)	794.60	7.39	0,036	0,642	Up	LIPI

Abreviatures: IM: ictus minor; GL: Glicerolípids; GP: Glicerofosfolípids; AA: aminoàcid; PC: fosfatidilcolina; PE: fosfatidiletanolamina; DG: diacilglicèrid; PS: fosfatidilserina; m/z: massa/càrrega; TR: temps de retenció; MET: metabolòmica; LIPI: lipidòmica; FDR: False Discovery Rate

En la figura 31 es mostra un resum dels metabòlits i lípids expressats diferencialment al grup IM amb alteracions cognitives i al grup IM amb alteracions afectives respecte al grup IM sense alteracions.

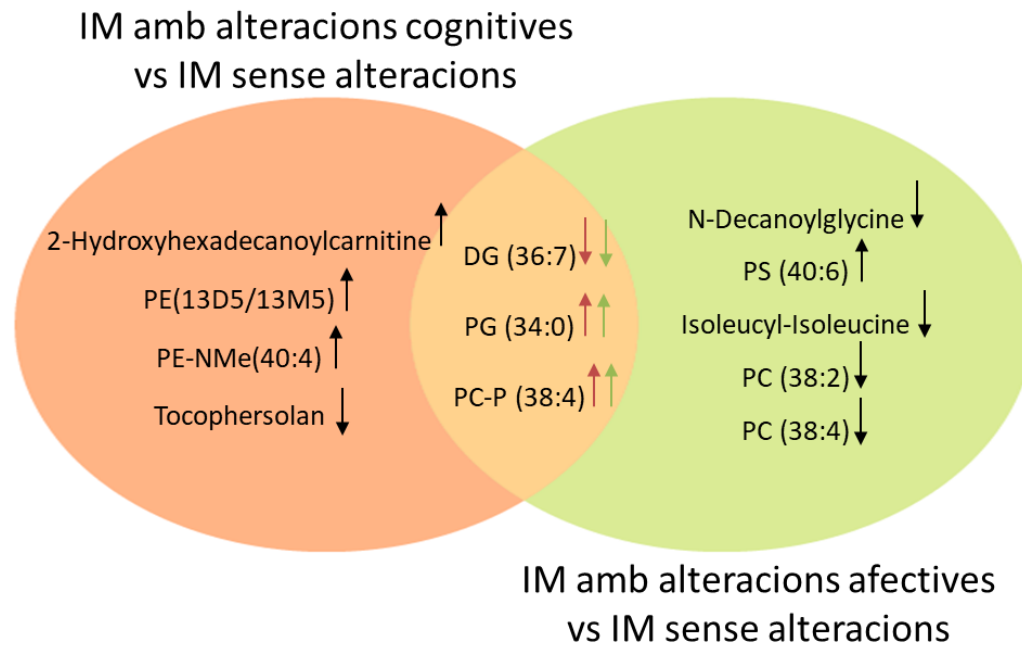


Figura 31. Metabòlits i lípids expressats diferencialment en la fase de descobriment al grup IM amb alteracions cognitives i al grup IM amb alteracions afectives respecte al grup IM sense alteracions. Les fletxes indiquen si estan regulats a l'alça o a la baixa. La fletxa de color vermell fa referència a l'expressió diferencial entre el grup IM amb alteracions cognitives vs IM sense alteracions i la fletxa de color verd fa referència a l'expressió diferencial entre el grup IM amb alteracions afectives i el grup IM sense alteracions. Abreviatures: IM: ictus minor; PE: fosfatidiletanolamina; PS: fosfatidilserina; PC: fosfatidilcolina; DG: diacilglicèrid; PG: fosfoglicèrid.

4.1.9.3 Validació dels resultats amb la resta de la cohort PSICOICTUS

Els resultats obtinguts en la fase de descobriment es van validar a través de l'anàlisi d'una mostra més gran de la cohort PSICOICTUS (n=90), descrita anteriorment.

Dels metabòlits i lípids identificats i expressats diferencialment en la cohort de descobriment es van tornar a identificar en la cohort de validació els metabòlits *2-Hydroxyhexadecanoylcarnitine* i el *Tocophersolan* que s'expressaven diferencialment entre els pacients amb IM sense alteracions i els pacients amb IM amb alteracions cognitives i els metabòlits *Isoleucyl-Isoleucine*, *N-Decanoylglycine*, *DG(36:7)* i *PC(38:4)* que s'expressaven diferencialment entre els pacients amb IM sense alteracions i els pacients amb IM i alteracions afectives.

Els valors de les masses i els TR dels metabòlits identificats en la cohort de descobriment i la cohort de validació es mostren en la taula 20. La diferència de massa acceptada va ser de 30 ppm i un TR de 0,8 minuts.

Taula 20. Comparació de les masses i els temps de retenció dels metabòlits identificats obtinguts en la cohort de descobriment (Mass 1/TR1) i la cohort de validació (Mass2/TR2).

Metabòlit	Mass1	TR1	Mass2	TR2	dDA Mass	dppm Mass	dTR (min)
2hydroxyhexadecanoylcarnitine	425,35	10,02	425,35	10,75	0,00	2,59	-0,73
Tocophersolan	574,41	11,20	574,41	11,59	0,00	2,96	-0,38
Isoleucyl-Isoleucine	244,18	1,50	244,18	1,86	0,00	7,78	-0,36
N-Decanoylglycine	229,17	6,64	229,17	7,14	0,00	7,85	-0,50
PC (38:4)	793,60	13,40	793,60	13,83	0,00	0,00	-0,43
DG (36:7)	610,46	11,59	610,45	11,88	0,01	28,67	-0,29

Abreviatures: TR: temps de retenció; d: diferència; DA: daltons; ppm: parts per milió; DG: diacilglicèrid; PC: fosfatidilcolina.

En la figura 32 es quantifiquen els valors dels metabòlits expressats diferencialment entre el grup IM sense alteracions i el grup IM amb alteracions cognitives. S'observa que la *2-hydroxyhexadecanoylcarnitine* està regulada a l'alça tant en la cohort de descobriment com en la cohort de validació. Pel que fa al *Tocophersolan* està regulada a la baixa en les dues cohorts, però només s'observen diferències estadísticament significatives en la cohort de descobriment. Per tant, el metabòlit *2-hydroxyhexadecanoylcarnitine* podria ser un bon biomarcador de les alteracions cognitives post-IM.

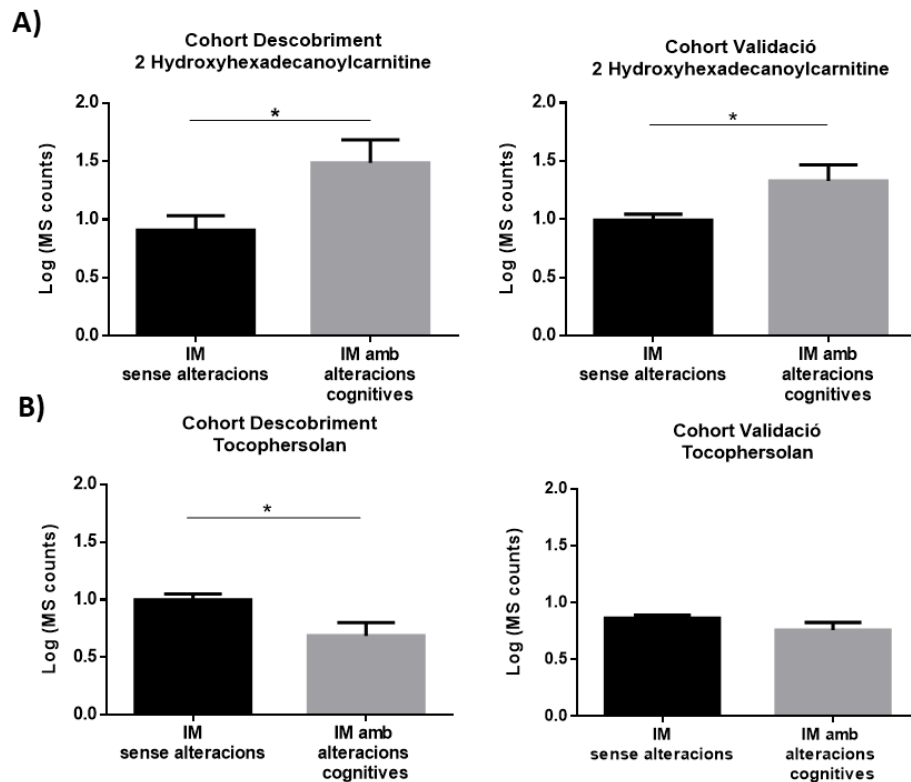


Figura 32. Quantificació de l'expressió dels metabòlits identificats en la fase de descobriment i la fase de validació que s'expressen diferencialment entre el grup IM sense alteracions i el grup IM amb alteracions cognitives. A) Expressió diferencial del 2-Hydroxyhexadecanoylcarnitine; B) Expressió diferencial del Tocophersolan. *: p-valor <0,05. Abreviatures: IM: ictus minor; MS: massa

Per altra banda, en la figura 33 es quantifiquen els valors dels metabòlits expressats diferencialment entre el grup IM sense alteracions i el grup IM amb alteracions afectives. En aquesta anàlisi totes les molècules es troben regulades a la baixa respecte al grup IM sense alteracions. Les molècules *Isoleucyl-Isoleucine*, PC(38:4) i DG(36:7) mostren diferències estadísticament significatives en la seva expressió diferencial entre els dos grups en les dues cohorts d'estudi, per contra, el metabòlit *N-Decanoylglycine*, tot i que mostra la mateixa tendència en les dues cohorts, no s'observen diferències significatives en la seva expressió en la cohort de validació. Per tant l'*Isoleucyl-Isoleucine*, el PC(38:4) i el DG(36:7) podrien ser bons biomarcadors de les alteracions afectives post-IM.

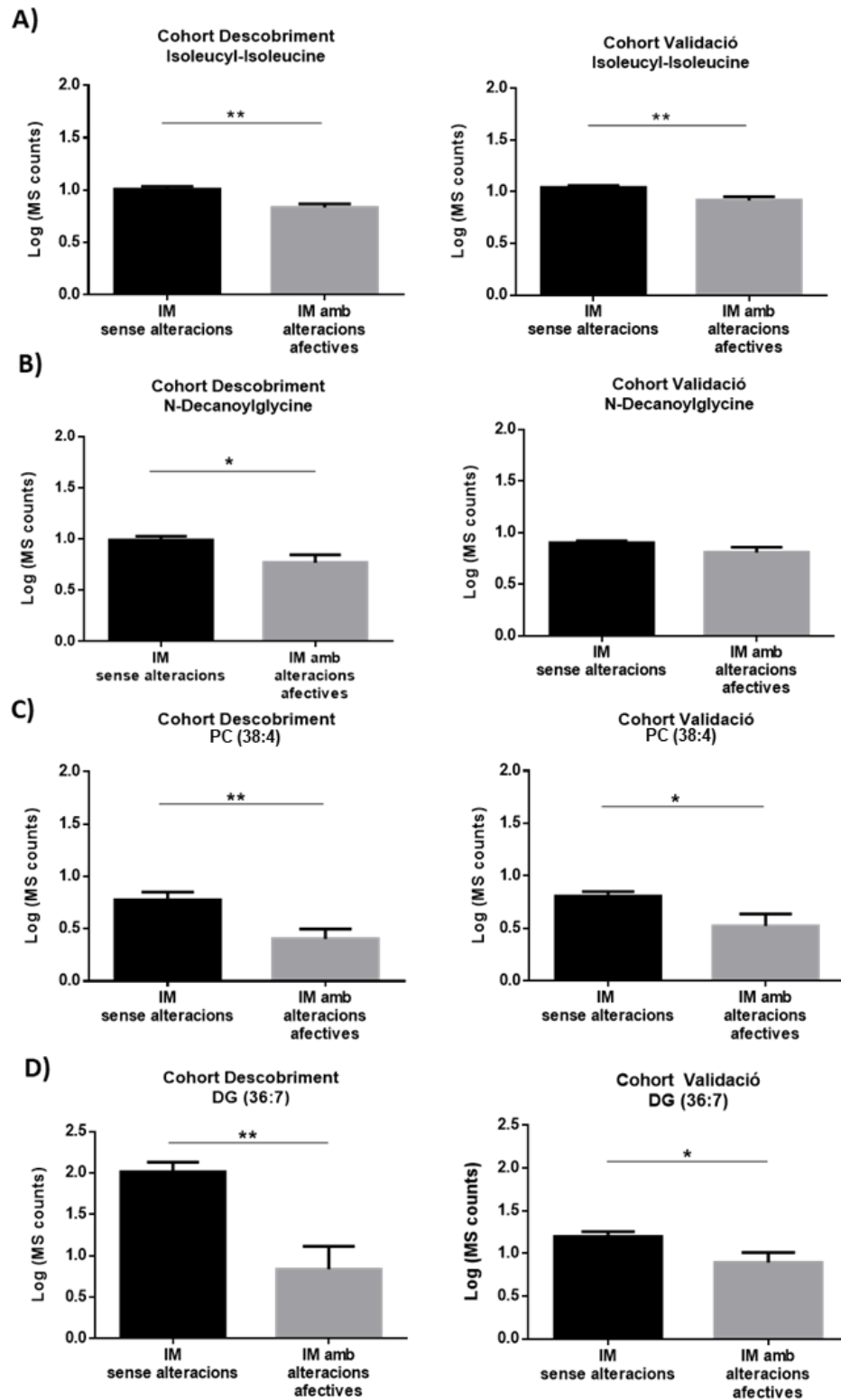


Figura 33. Quantificació de l'expressió dels metabòlits identificats en la fase de descobriment i la fase de validació que s'expressen diferencialment entre el grup IM sense alteracions i el grup IM amb alteracions afectives. A) Expressió diferencial de l'Isoleucyl-Isoleucine; B) Expressió diferencial del N-Decanoylglycine; C) Expressió diferencial del PC (38:4); D) Expressió diferencial del DG (36:7). *: p-valor <0,05; **: p-valor <0,01. Abreviatures: IM: ictus minor; PC: fosfatidilcolina; DG: diacilglicèrid; MS: massa.

Posteriorment, amb el programa MetaboAnalyst es va realitzar una anàlisi de l'enriquiment que proporciona una interpretació exhaustiva de les rutes metabòliques involucrades amb els metabòlits expressats diferencialment. En concret, aquesta anàlisi indica que els metabòlits identificats en la cohort PSICOICTUS, estan relacionats amb el metabolisme dels aminoàcids i pèptids, seguit dels àcids grassos, els lípids de prenoi, els diacilglicèrids i en menor proporció els glicerofosfolípids (Figura 34). Per tant, estan implicats majoritàriament en la síntesi de proteïnes.

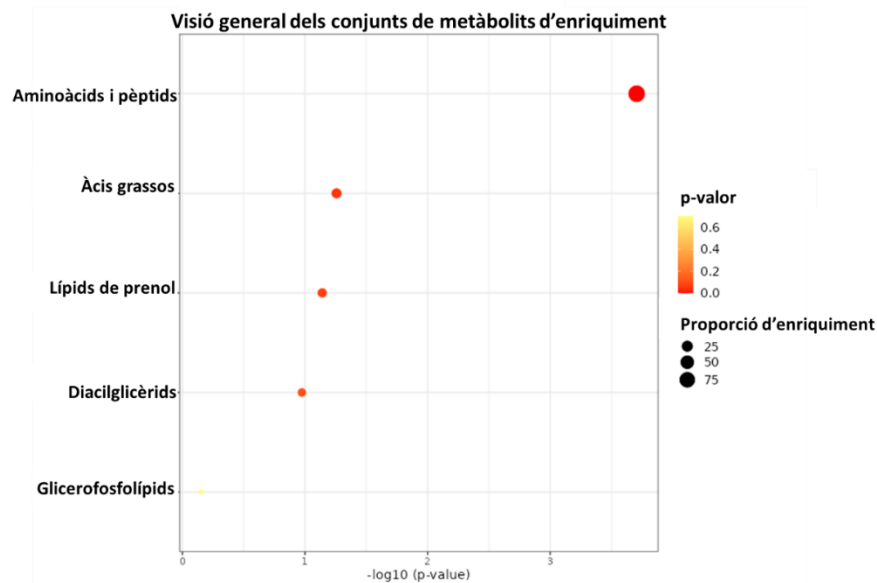


Figura 34. Vies metabòliques involucrades en els metabòlits expressats diferencialment de la cohort PSICOICTUS observades a través d'una anàlisi d'enriquiment.

4.1.9.4 Estudi de la capacitat predictiva dels metabòlits expressats diferencialment

La capacitat predictiva dels metabòlits que podrien ser biomarcadors de pronòstic de les alteracions afectives i cognitives després de patir un IM es va calcular a través de les AUCs i els p-valors en la cohort de descobriment i en la cohort de validació (Taula 21).

Taula 21. Valors de les AUCs dels metabòlits identificats en la cohort de descobriment i validats en la cohort de validació.

Metabòlit	(Up or down) Cohort Des	AUC ROC Cohort Des	p-valor Cohort Des	(Up or down) Cohort Val	AUC ROC Cohort Val	p-valor Cohort Val
2-hydroxyhexadecanoylcarnitine	Up	0,821	0,028	Up	0,725	0,018
Tocophersolan	Down	0,865	0,012	Down	0,632	0,165
Isoleucyl-Isoleucine	Down	0,936	0,003	Down	0,744	0,004
N-Decanoylglycine	Down	0,885	0,008	Down	0,634	0,116
PC (38:4)	Down	0,846	0,018	Down	0,716	0,028
DG (36:7)	Down	0,923	0,004	Down	0,692	0,025

Abreviatures: AUC: àrea sota la corba ROC; Des: Descobriment; Val: Validació; PC: fosfatidilcolina; DG: diacilglicèrid.

Destacar el valor predictiu en la cohort de descobriment del metabòlit *Isoleucyl-isoleucine* amb una AUC de 0,936 i, del metabòlit DG(36:7), amb una AUC de 0,923, per a la comparació del grup IM sense alteracions i el grup IM amb alteracions afectives. Per a la comparació dels pacients amb IM sense alteracions i els pacients amb IM i alteracions cognitives el metabòlit amb una millor capacitat predictiva va ser el *Tocophersolan*, amb una AUC de 0,865. Malauradament, la capacitat predictiva dels mateixos metabòlits en la cohort de validació va disminuir en tots els casos.

4.1.10 Predictors clínics, bioquímics, radiològics i òmics de les alteracions cognitives i afectives després d'un ictus minor.

Per identificar predictors de risc de les alteracions afectives i/o cognitives després d'un IM es van fer models de regressió logística multivariant. Es van dur a terme diferents models predictius a partir de diferents variables candidates: només les variables clíniques (Model A), les variables clíniques més les variables bioquímiques (Model B), les variables radiològiques (Model C), les variables clíniques conjuntament amb les variables radiològiques (Model D) i les variables clíniques, bioquímiques, radiològiques i òmiques (Model E) (Taula 22).

Segons el model predictiu A, l'edat superior a 70 anys es va comportar com a predictor d'alteracions cognitives post-IM (OR: 15,93; IC 95% 1,93-131,52). El sexe femení i els antecedents de síndrome depressiva van esdevenir predictors d'alteracions afectives (OR: 3,33; IC 95% 1,04-10,70 i OR: 7,42; IC 95% 2,20-25,07, respectivament) i d'alteracions afectives i cognitives (OR: 6,27; IC 95% 1,80-21,89 i OR: 8,01; IC 95% 2,07-31,01, respectivament).

En el model predictiu B, l'edat superior a 70 anys seguia sent un predictor de risc d'alteració cognitiva post-IM, i a més, nivells baixos de triglicèrids van esdevenir com un factor de protecció (OR: 0,97; IC 95% 0,95-0,99). Pel que fa a les alteracions afectives post-IM cap variable bioquímica es va comportar com a predictora de risc.

El model predictiu C va mostrar que la localització de la lesió isquèmica aguda en el territori cortical de l'ACM era un factor de risc de patir alteracions cognitives post-IM (OR: 5,47; IC 95% 1,01-29,35). Un major número d'infarts crònics va esdevenir predictor de risc de patir tant alteracions afectives com cognitives després d'un IM (OR: 1,52; IC 95% 1,09-2,13).

Segons el model predictiu D, l'edat superior a 70 anys, la presència de lesions isquèmiques en el territori cortical de l'ACM i, a més, els nivells elevats de creatinina (OR: 2,62; IC 95% 0,85-8,07) es van comportar com a predictors d'alteració cognitiva després de patir un IM. Pel que fa a les alteracions afectives i les alteracions afectives i cognitives combinades, el sexe femení i els antecedents de síndrome depressiva, seguien sent predictors de risc i, a més, en aquest últim grup també un major número d'infarts crònics.

Finalment, en l'anàlisi del model E en el qual es van incloure les variables òmiques, l'edat superior a 70 anys (OR: 34,34; IC 95% 2,16-545,62), la presència de lesions isquèmiques en el territori cortical de l'ACM (OR: 17,05; IC 95% 1,52-191,31) i les concentracions superiors a 1,05 del metabòlit *2-hydroxyhexadecanoylcarnitine* (OR: 11,0; IC 95% 1,06-113,81) es van mostrar com a predictores de risc d'alteració cognitiva. Els predictors d'alteracions afectives post-IM van ser tenir antecedents de síndrome depressiva prèvia (OR: 6,89; IC 95% 1,80-26,37), concentracions inferiors a 0,90 del metabòlit *Isoleucyl-Isoleucine* (OR: 5,46; IC 95% 1,48-20,22) i concentracions superiors a 1,19 de la PC (38:4) (OR: 4,52; IC 95% 1,23-16,61). En aquest model, cap variable es va comportar com a predictora d'alteració afectiva i cognitiva ja que aquest grup de pacients no es va incloure en l'anàlisi de metabolòmica/lipidòmica no dirigida.

Taula 22. Anàlisi multivariat per a les alteracions afectives i cognitives després d'un IM

	IM sense alteracions vs. IM alteració afectiva	IM sense alteracions vs. IM alteració cognitiva	IM sense alteracions vs. IM alteració afectiva/cognitiva
	OR (IC 95%) p-valor	OR (IC 95%) p-valor	OR (IC 95%) p-valor
Model A: Variables clíniques			
Edat >70 anys	-	OR 15,93 (1,93-131,52) p= 0,010	-
Sexe femení	OR: 3,33 (1,04-10,70) p= 0,043	-	OR: 6,27 (1,80-21,89) p= 0,004
Antecedents de sd. depressiva	OR: 7,42 (2,20-25,07) p= 0,001	-	OR: 8,01 (2,07-31,01) p= 0,003
Model B: Variables clíniques i bioquímiques			
Edat >70 anys	-	OR 14,63 (1,60-133,77) p= 0,023	-
Sexe femení	-	-	OR: 7,09 (1,87-26,92) p= 0,004
Antecedents de sd. depressiva	OR: 10,0 (2,87-34,84) p < 0,001	-	OR: 10,45 (2,46-44,39) p= 0,001
Nivells baixos triglicèrids	-	OR 0,97 (0,95-0,99) p= 0,023	-
Model C: Variables radiològiques			
Afectació territori cortical ACM	-	OR: 5,47 (1,01-29,35) p= 0,048	-
Número infarts crònics	-	-	OR: 1,52 (1,09-2,13) p= 0,015
Model D: Variables clíniques, bioquímiques i radiològiques			
Edat > 70 anys	-	OR: 11,52 (1,18-112,91) p= 0,036	-
Sexe femení	OR: 4,49 (1,09-18,61) p= 0,038	-	OR: 15,84 (2,50-100,29) p= 0,001
Antecedents de sd. depressiva	OR: 6,58 (1,48-29,34) p= 0,013	-	OR: 6,43 (0,94-43,92) p= 0,058
Nivells elevats creatinina	-	OR: 2,62 (0,85-8,07) p= 0,090	-
Afectació territori cortical ACM	-	OR: 11,53 (1,35-98,38) p= 0,025	-
Número infarts crònics	-	-	OR: 1,54 (1,03-2,31) p= 0,034

Continuació taula 22

	IM sense alteracions vs. IM alteració afectiva	IM sense alteracions vs. IM alteració cognitiva	IM sense alteracions vs. IM alteració afectiva/cognitiva
	OR (IC 95%) p-valor	OR (IC 95%) p-valor	OR (IC 95%) p-valor
Model E: Variables clíniques, bioquímiques, radiològiques i òmiques			
Edat > 70 anys	-	OR: 34,34 (2,16-545,62) p= 0,012	-
Sexe femení	-	-	-
Antecedents de sd. depressiva	OR: 6,89 (1,80-26,37) p= 0,005	-	-
Nivells elevats creatinina	-	-	-
Afectació territori cortical ACM	-	OR: 17,05 (1,52-191,31) p= 0,021	-
Número infarts crònics	-	-	-
2-hydroxyhexadec anoylcarnitine > 1,05	-	OR: 11,0 (1,06-113,81) p= 0,044	-
Isoleucyl-isoleucine < 0,90	OR: 5,46 (1,48-20,22) p= 0,011	-	-
PC (38:4) > 1,19	OR: 4,52 (1,23-16,61) p= 0,023	-	-

Abreviatures: IM: ictus minor; OR: odds ratio; sd: síndrome.

Posteriorment, es van fer les corbes ROC per avaluar la capacitat discriminativa de les variables predictores de risc obtingudes en els models de regressió multivariant, per diferenciar els pacients amb IM sense alteracions i els pacients amb IM i alteracions cognitives. Es van tenir en compte les variables edat > 70 anys, lesió isquèmica aguda en el territori de l'ACM i concentració superior a 1,05 del metabòlit *2-hidroxyhexadecanoylcarnitine* (Sensibilitat de 0,727 i especificitat de 0,667) per separat i, per altra banda, l'edat i el territori de l'ACM i, l'edat, el territori de l'ACM i la concentració de la *2-hidroxyhexadecanoylcarnitine*, conjuntament. L'anàlisi de les AUCs de les variables per separat van mostrar una pitjor capacitat de discriminació entre els pacients amb i sense alteracions cognitives. Al fer l'estudi de les variables edat i lesió en el territori de l'ACM alhora l'AUC va augmentar fins a 0,820 (IC 95% 0,68-0,96). Tot i així, el model que va tenir una millor capacitat discriminativa era aquell en el que es van analitzar l'edat, el patró de lesió i la concentració del metabòlit al mateix temps amb una AUC de 0,875 (IC 95% 0,78-0,97).

Finalment, es van fer les corbes ROC per avaluar la capacitat discriminativa de les variables predictorres de risc obtingudes en els models de regressió multivariant, per diferenciar els pacients amb IM sense alteracions i els pacients amb IM i alteracions afectives. Les variables analitzades per separat van ser el sexe femení, els antecedents de síndrome depressiva abans de l'íctus, una concentració inferior a 0,9 del metabòlit *Isoleucyl-isoleucine* (Sensibilitat: 0,526 i especificitat: 0,136), una concentració superior a 1,1 de la PC (38:4) (Sensibilitat: 0,474 i especificitat: 0,864) i una concentració superior a 1,1 del DG (36:7) (Sensibilitat: 0,632 i -especificitat: 0,485). A més, es van analitzar el sexe femení i els antecedents de síndrome depressiva i, les concentracions dels tres metabòlits, conjuntament. En aquest cas, l'anàlisi de les AUCs de les variables per separat també van mostrar una pitjor capacitat de discriminació entre els pacients amb i sense alteracions afectives. Al fer l'estudi de les variables sexe femení i antecedents de síndrome depressiva al mateix temps l'AUC va ser de 0,737 (IC 95% 0,60-0,88). No obstant, el model que va tenir una millor capacitat discriminativa va ser aquell en el que es tenia en compte la concentració dels tres metabòlits alhora amb una AUC de 0,753 (IC 95% 0,61-0,90).

4.2 Model animal d'ictus minor

4.2.1 Estudi pilot model animal d'Ictus Minor

Un estudi pilot va ser dissenyat per determinar les conseqüències neuroanatòmiques i funcionals del diferents temps d'oclusió de l'ACM amb el model tMCAo i tenint en compte diferents temps de sacrifici. Els temps d'oclusió de l'ACM van ser: 10 minuts, 20 minuts, 30 minuts, 40 minuts i el paradigma de 5 minuts reperfusió – 2 minuts oclusió (repetit 5 vegades). Els moments de sacrifici (endpoint) van ser: 24 hores, 48 hores, 72 hores i 7 dies POST-CIRURGIA.

El model d'IM havia de presentar teixit cerebral infartat (diagnòstic diferencial d'AIT), observar un volum d'infart reduït i per altra banda, havia de presentar una certa alteració de la funció neurològica observada en les proves conductuals i que aquestes alteracions milloressin amb el temps.

Dels 127 animals utilitzats en aquest estudi es van haver d'excloure tres ratolins (2,36%) per no arribar als valors de reperfusió adequats (>75%), probablement degut a un dany de l'ACM durant la cirurgia. Per una altra banda, durant l'operació es van morir quatre ratolins (3,1%) degut a raons tècniques intrínseques de la cirurgia.

L'anàlisi estadístic no va mostrar diferències significatives en el patró d'isquèmia-reperfusió entre els cinc grups d'estudi: 10 minuts tMCAo (n=20), 20 minuts tMCAo (n=20), 30 minuts tMCAo (n=28), 40 minuts tMCAo (n=28) i 5x2 minuts tMCAo (N=26) (Figura 35.A). Els valors mitjans basals de flux sanguini cerebral van estar entre 75,68 PU (grup 30 minuts tMCAo) i 99,225 PU (grup 10 minuts tMCAo). Els valors d'oclusió de l'ACM van ser significativament menors que els valors basals, amb una reducció del flux sanguini cerebral del 75-85% segons el grup experimental (Figura 35.B). Durant la reperfusió, el flux sanguini cerebral va augmentar amb valors més elevats que els valors basals en tots els grups, excepte en el grup 5x2 tMCAo. Aquest fenomen s'anomena hiper-reperfusió.

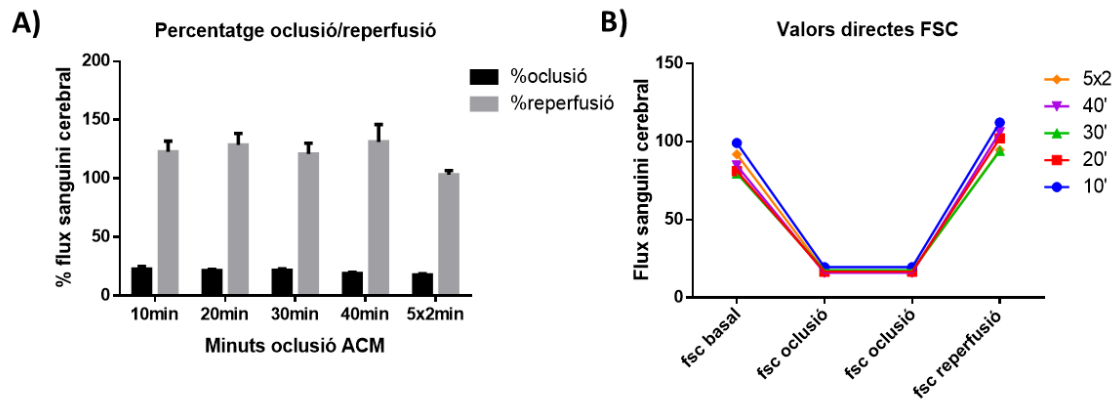


Figura 35. Mitjana del percentatge d'oclusió-reperfusió durant la cirurgia segons el grup experimental (A) i mitjana dels valors directes del flux sanguini cerebral en PU en el moment basal, l'isquèmia i la reperfusió segons el grup experimental (B). Abreviatures: ACM: artèria cerebral mitja; FSC: flux sanguini cerebral; min: minuts.

El percentatge del volum d'infart de tots els ratolins es va calcular segons el temps d'oclusió de l'ACM i l'endpoint. Els valors es van representar en mitjanes i SEM (*Standard error of mean*).

En la figura 36.A es pot observar els valors del grup 10 minuts tMCAo en el qual els percentatges de volum d'infart van ser molt petits, sent a les 24 hores post-tMCAo (n=5) ($0,12\% \pm 0,12$), a les 48 hores post-tMCAo (n=5) ($0,29\% \pm 0,16$), a les 72 hores post-tMCAo (n=5) (0%) i als 7 dies post-tMCAo (n=5) ($0,21\% \pm 0,21$). No es van observar diferències estadísticament significatives segons l'endpoint. En la figura 36.B es poden veure els valors del grup 20 minuts tMCAo amb una n=5 per cada endpoint. En aquest grup experimental els valors del percentatge del volum d'infart van ser semblants al grup 10 min tMCAo sent a les 72 hores post-tMCAo el volum més gran ($0,21\% \pm 0,18$). Tampoc hi van haver diferències estadísticament significatives entre els diferents endpoints. En el grup de 30 minuts tMCAo ja es va començar a observar volums d'infart més grans (Figura 36.C), encara que hi havia més variabilitat. Les mitjanes segons l'endpoint van ser a les 24 hores post-tMCAo (n=8) de $1,9\% \pm 1,02$, a les 48 hores post-tMCAo (n=7) de $1,61\% \pm 0,92$, a les 72 hores post-tMCAo (n=8) de $2,3\% \pm 1,16$ i als 7 dies (n=5) de $1,1\% \pm 0,75$. En aquest grup, tant a les 24 hores, com a les 48 i 72 hores hi va haver ratolins amb volums d'infart superiors al 6%. La figura 36.D mostra els valors del grup 40 min tMCAo sent el volum més elevat en l'endpoint de les 48 hores post-tMCAo (n=7) ($3,67\% \pm 1,28$), seguit de les 24 hores post-tMCAo (n=8) ($2,85\% \pm 1,26$). En aquest grup també hi va haver molta variabilitat amb percentatges de volum d'infart superiors al 8% a les 24, 48 i 72 hores post-tMCAo. No hi havia diferències estadísticament significatives entre els diferents endpoints. Finalment, en la figura 36.E es mostra els resultats del grup de 5 minuts reperfusió – 2 minuts oclusió de l'ACM (repetit 5 vegades) en el qual el

percentatge de volum d'infart més elevat va ser en l'endpoint de les 48 hores post-tMCAo (n=7) amb un percentatge de $1,74\% \pm 0,94$, seguit de les 24 hores post-tMCAo (n=7) amb un valor de $0,4\% \pm 0,29$, sense diferències estadísticament significatives entre els diferents endpoints.

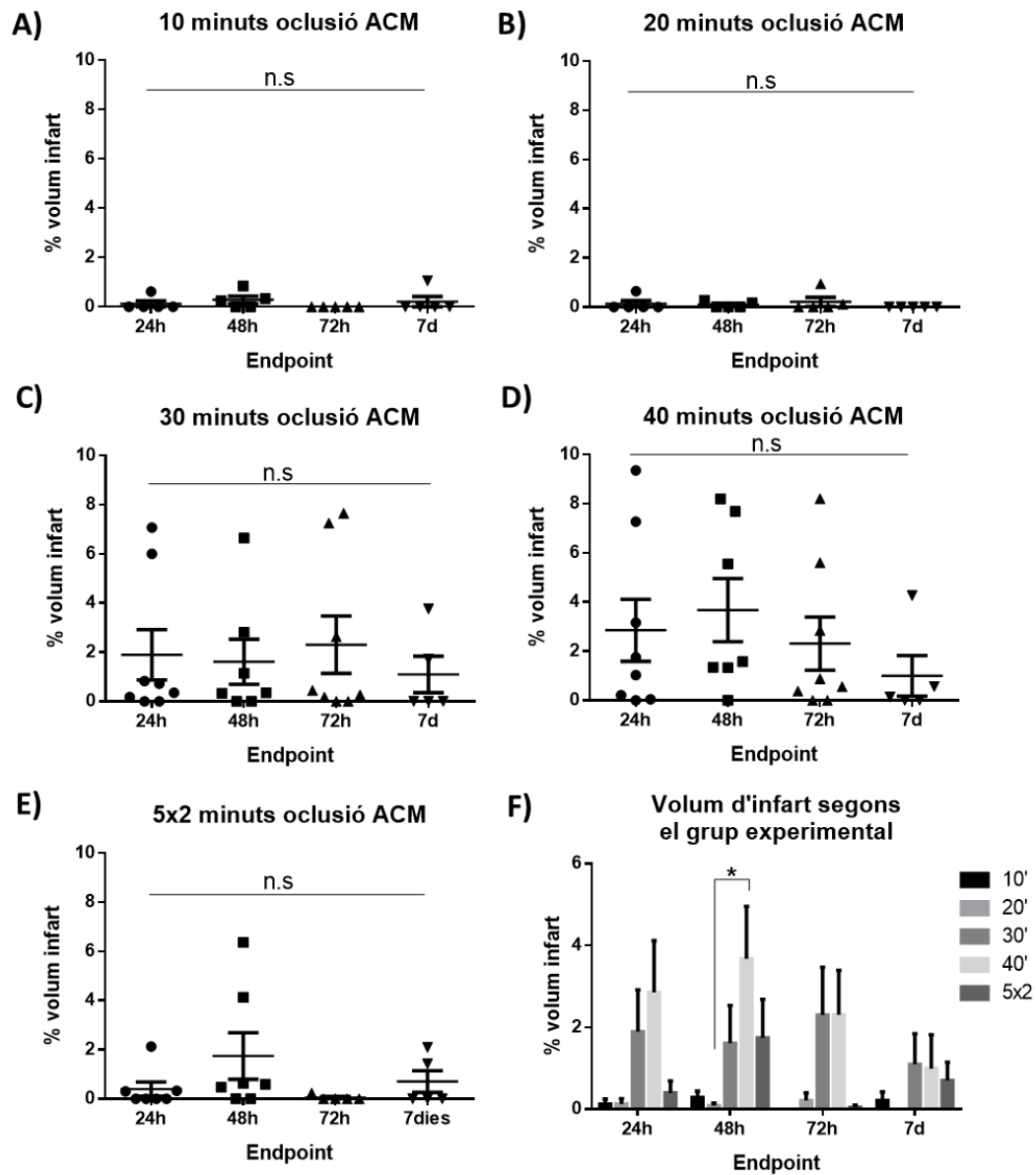


Figura 36. Percentatges volum d'infart segons el temps d'oclusió de l'ACM i l'endpoint. A) 10 minuts tMCAo, B) 20 minuts tMCAo, C) 30 minuts tMCAo, D) 40 minuts tMCAo, E) 5x2 minuts tMCAo i F) Comparació dels vint grups experimentals segons el temps d'oclusió de l'ACM i el moment de sacrifici. *: p-valor <0,05. Abreviatures: n.s: no significatiu; h: hores; d: dies; ACM: artèria cerebral mitja.

En la figura 36.F es mostra el percentatge de volum d'infart segons l'endpoint i els minuts d'oclusió de l'ACM comparant els cinc grups experimentals. Es pot observar que el percentatge de volum d'infart va anar augmentant progressivament a mesura que s'anava augmentant els minuts d'oclusió de l'ACM, sent el grup de 40 minuts el que va tenir percentatges més elevats, seguit del grup de 30 minuts i el grup 5x2 minuts. Els volums d'infart més elevats es van observar en l'endpoint de 48 hores post-tMCAo, excepte en el grup de 20 minuts i 30 minuts d'oclusió de l'ACM on els percentatges més elevats van ser a les 72 hores post-tMCAo. Hi va haver diferències estadísticament significatives entre el grup de 20 minuts d'oclusió de l'ACM i el grup de 40 minuts d'oclusió de l'ACM a les 48 hores post-tMCAo ($p=0,0434$).

La figura 37 mostra un exemple de tall coronal de cervell de ratolí segons el temps d'oclusió de l'ACM i l'endpoint. Els cervells es van submergir en una tinció al 2% de TTC, en la qual les cèl·lules vives es tenyien de color rosa i la zona infartada, amb cèl·lules mortes, es veia de color blanc. El diagrama anatòmic del cervell mostra la zona de l'escorça cerebral afectada per la isquèmia.

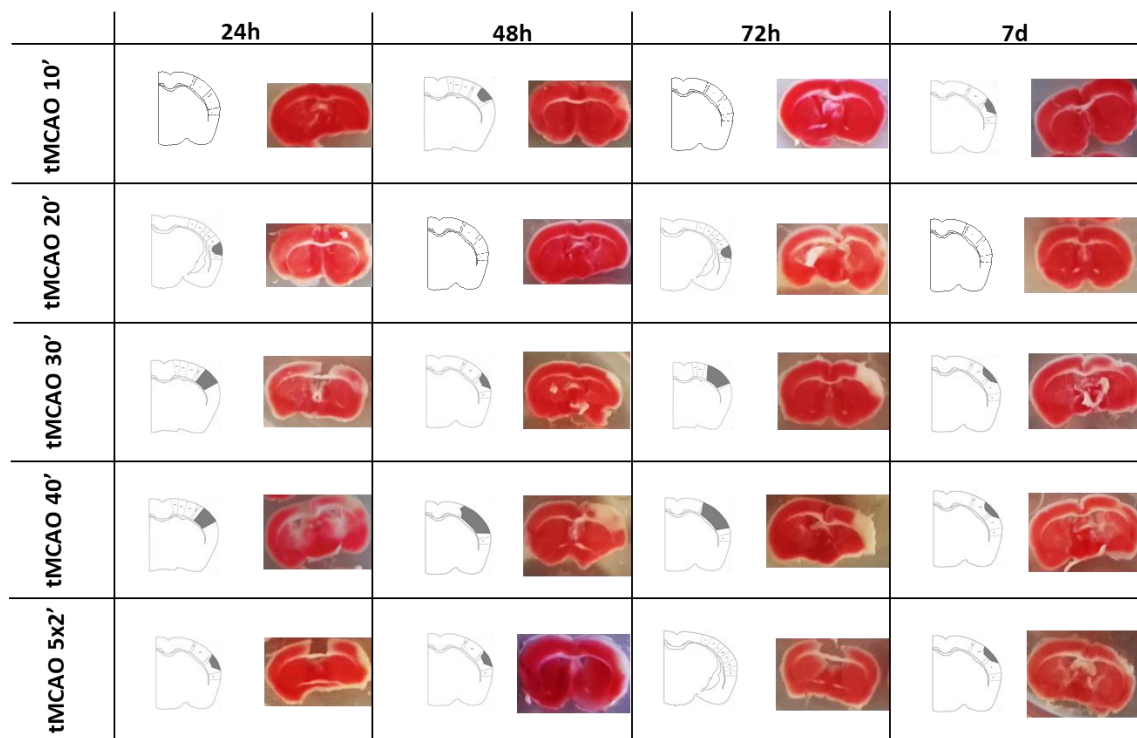


Figura 37. Talls coronals de cervells de ratolí segons el temps d'oclusió de l'ACM i l'endpoint tenyits amb TTC al 2% i diagrames anatòmics del cervell que mostren la zona de l'escorça afectada per la isquèmia cerebral. Abreviatures: tMCAo: oclusió transitòria de l'artèria cerebral mitja; TTC: clorur de 2,3,5-trifeniltetrazoli; h: hores; d: dies.

La determinació del perfil neurològic es va dur a terme mitjançant un conjunt de proves conductuals que avaluen els dèficits funcionals dels animals després de la cirurgia tMCAo. Les proves utilitzades van ser: l'escala mNSS, el Neuroscore, el Coat Hanger Test (prova de la perxa) i el Ladder Task.

Les puntuacions de l'escala mNSS i del Neuroscore es van graficar de manera conjunta, on la puntuació podia oscil·lar entre 0 punts (sense alteracions) i 17 punts (greument deteriorat). En el moment basal (abans de la cirurgia) tots els ratolins de tots els grups experimentals van obtenir una puntuació de 0. En els grups de 10 minuts i 20 minuts d'oclusió de l'ACM la puntuació va augmentar a partir de les 6 hores post-tMCAo, mantenint-se fins a les 48 hores post-tMCAo. A partir de les 72 hores i als 7 dies post-tMCAo hi va haver una recuperació funcional total en casi tots els ratolins. No hi havia diferències estadísticament significatives entre els diferents temps (Figura 38.A i B). En la figura 38.C es mostren els resultats del grup de 30 minuts d'oclusió de l'ACM on les puntuacions van augmentar a partir de les 6 hores post-tMCAo, mantenint-se fins als 7 dies post-tMCAo, de manera que en aquest cas no es va produir una recuperació neurològica després de la cirurgia. No hi havia diferències estadísticament significatives entre els diferents temps. En el grup de 40 minuts d'oclusió de l'ACM (Figura 38.D) hi havia diferències estadísticament significatives entre el temps basal i els 7 dies post-tMCAo ($p=0,0007$) sent la puntuació mitjana en aquest temps de 1,2 punts esdevenint la més alta de tots els grups experimentals i temps d'avaluació. Finalment, en el grup de 5x2 minuts d'oclusió de l'ACM hi va haver diferències estadísticament significatives entre el moment basal i les 6 hores post-tMCAo ($p=0,038$) i entre el moment basal i les 48 hores post-tMCAo ($p=0,0178$). A partir de les 72 hores la mitjana de la puntuació va disminuir lleugerament fins que als 7 dies post-tMCAo es va produir una recuperació neurològica total, obtenint puntuacions iguals al moment previ a la cirurgia (Figura 38.E).

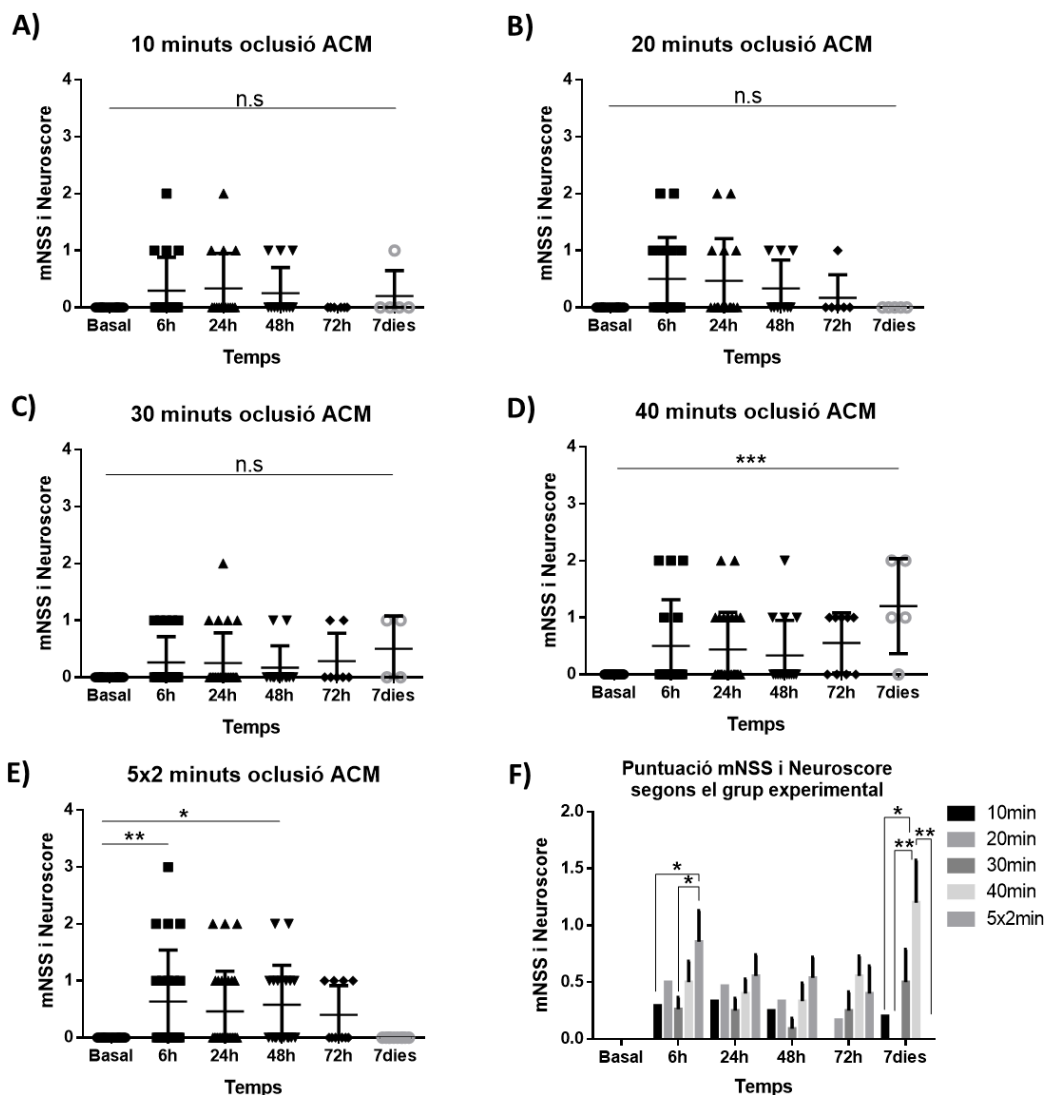


Figura 38. Puntuació directa del mNSS i el Neuroscore segons el temps d'oclusió de l'ACM i el moment en el qual va ser administrada la prova. A) 10 minuts tMCAo, B) 20 minuts tMCAo, C) 30 minuts tMCAo, D) 40 minuts tMCAo, E) 5x2 minuts tMCAo i F) Comparació dels 5 grups experimentals segons els minuts d'oclusió de l'ACM. *: p-valor <0,05; **: p-valor < 0,01; ***: p-valor <0,001. Abreviatures: n.s: no significant; ACM: artèria cerebral mitja; mNSS: modified Neurological severity score; h: hores; d: dies; min: minuts

En la figura 38.F es mostra la puntuació directa de l'escala mNSS i el Neuroscore en els diferents temps en què van ser avaluades les proves comparant els cinc grups experimentals segons els minuts d'oclusió de l'ACM. A les 6 hores post-tMCAo el grup amb més deteriorament neurològic va ser el de 5x2 minuts d'oclusió de l'ACM, observant diferències estadísticament significatives entre aquest grup i els 10 minuts d'oclusió de l'ACM ($p=0,0272$) i els 30 minuts d'oclusió de l'ACM ($p=0,0131$). Als 7 dies post-tMCAo el dèficit neurològic més greu es va observar en el grup de 40 minuts d'oclusió de l'ACM, on hi havia diferències estadísticament significatives entre aquest grup i el grup de 10 minuts, el grup de 20 minuts i el grup de 5x2 minuts d'oclusió de l'ACM ($p=0,0242$; $p=0,0034$; $p=0,0034$, respectivament). En la resta de temps (basal, 24 hores, 48 hores i 72 hores

post-tMCAo) no es van observar diferències en les puntuacions del test entre els diferents grups experimentals, tenint un grau d'afectació neurològica equiparable.

Per avaluar la coordinació motora es va utilitzar el Coat Hanger Test. No hi va haver diferències estadísticament significatives en les puntuacions d'aquesta prova en els diferents temps post-cirurgia, en cap dels cinc grups experimentals segons els minuts d'oclusió de l'ACM. En els grups de 10 minuts, 30 minuts i 5x2 minuts d'oclusió de l'ACM les puntuacions més elevades es van obtenir el dia 7 post-tMCAo, tenint una coordinació motora alterada en aquest temps, en canvi, en el grup de 20 minuts d'oclusió de l'ACM el pic va ser a les 72 hores post-tMCAo. Paradoxalment, el grup que va obtenir unes puntuacions més baixes i per tant, una millor coordinació motora va ser el grup de 40 minuts d'oclusió de l'ACM.

Finalment, el Ladder Task es va utilitzar per avaluar la motricitat fina a través del registre del número d'encreuaments (crossings), el percentatge de temps que l'animal estava en moviment en un màxim de 60 segons, el número de flips i la Ratio Ladder Task [(número total de flips/número total d'encreuaments) x ràtio activitat]. Pel que fa al número de crossings, com més alta era aquesta puntuació millor funcionalitat motora tenia el ratolí. En tots els grups experimentals la puntuació més elevada es va observar en el moment basal ($3,1 \pm 0,166$) i va haver una disminució rellevant a partir de les 6 hores post-cirurgia. El grup de 10 minuts d'oclusió de l'ACM no va tenir diferències estadísticament significatives entre el diferents temps (Figura 39.A), al contrari del grup de 20 minuts d'oclusió de l'ACM en el qual hi havia diferències estadísticament significatives entre el moment basal i les 6 hores, 24 hores i 48 hores post-tMCAo ($p=0,0028$; $p=0,0015$; $p=0,0008$, respectivament). A partir de les 72 hores i 7 dies post-tMCAo hi va haver una millora recuperant els nivells de funcionalitat basals (Figura 39.B). En el grup de 30 minuts d'oclusió de l'ACM es va observar un empitjorament de la funcionalitat a les 24 hores ($p=0,0076$) i a les 48 hores post-tMCAo ($p=0,0446$), respecte al moment basal (Figura 39.C). El grup de 40 minuts d'oclusió de l'ACM no va tenir diferències estadísticament significatives entre el moment basal i els altres temps d'avaluació, tot i que es pot observar que es va produir una disminució progressiva del número de crossings fins al dia 7 post-tMCAo (Figura 39.D). Finalment en el grup de 5x2 minuts d'oclusió de l'ACM hi va haver un major empitjorament a les 6 hores post-cirurgia ($p=0,0033$) respecte el moment basal, seguit de les 24 hores post-cirurgia ($p=0,0052$). A partir de les 48 hores hi va haver una millora gradual fins als 7 dies post-tMCAo (Figura 39.E).

En la figura 39.F es mostra el número de crossings en els diferents temps d'avaluació comparant els cinc grups experimentals segons els minuts d'oclusió de l'ACM i es pot observar que no hi havia diferències estadísticament significatives entre els grups

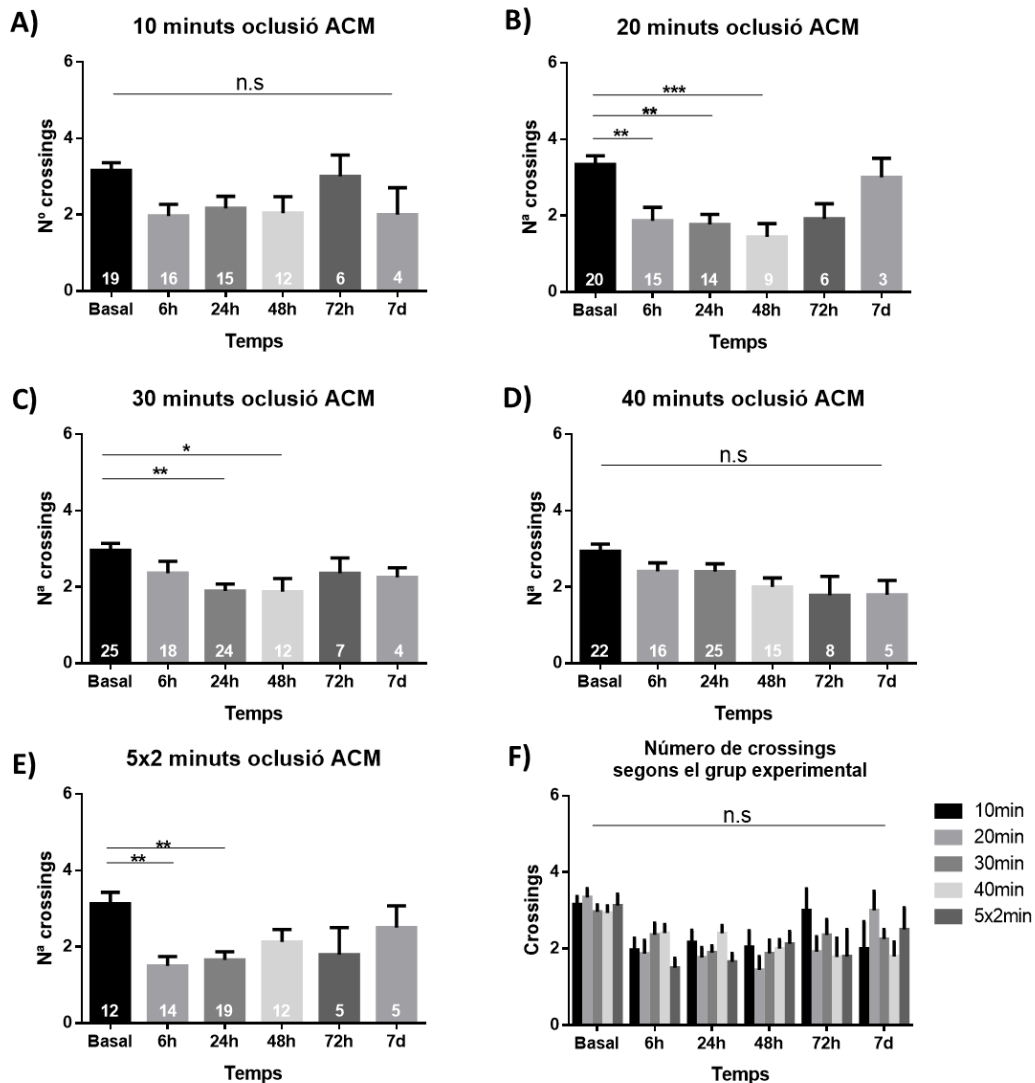


Figura 39. Número de crossings totals durant 1 minut segons el temps d'oclusió de l'ACM i el moment en el qual es va administrar la prova. A) 10 minuts tMCAo, B) 20 minuts tMCAo, C) 30 minuts tMCAo, D) 40 minuts tMCAo, E) 5X2 minuts tMCAo i F) Comparació dels 5 grups experimentals. *: p-valor <0,05; **: p-valor <0,01; ***: p-valor <0,001. Abreviatures: n.s: no significant; Nº: número; ACM: artèria cerebral mitja; h: hores; d: dies; min: minuts.

En tots els grups experimentals el percentatge d'activitat (percentatge dels segons totals que el ratolí estava actiu durant un minut) més elevat es va observar en el moment basal amb una mitjana de $52,62\% \pm 1,46$ i es va produir una reducció rellevant dels segons que el ratolí estava en moviment a partir de les 6 hores post-tMCAo.

En el grup de 10 minuts d'oclusió de l'ACM hi va haver diferències estadísticament significatives entre el moment basal i les 6 hores ($p=0,0016$), les 24 hores ($p=0,0018$) i les 48 hores post-tMCAo ($p=0,0055$). A partir de les 72 hores hi va haver una millora en el percentatge d'activitat de l'animal (Figura 40.A). En el grup de 20 minuts d'oclusió de l'ACM també hi va haver diferències estadísticament significatives entre el moment basal i les 6 hores ($p=0,0008$), les 24 hores

($p < 0,0001$), les 48 hores ($p < 0,0001$) i a més, a les 72 hores post-tMCAo ($p = 0,0113$) (Figura 40.B). En el grup de 30 minuts d'oclusió de l'ACM no hi va haver diferències entre el moment basal i les 6 hores post-tMCAo, però sí entre el moment basal i les 24 hores ($p = 0,0004$), les 48 hores ($p = 0,0117$) i les 72 hores post-tMCAo ($p = 0,0268$) (Figura 40.C). Per una altra banda, el grup de 40 minuts d'oclusió de l'ACM va tenir diferències estadísticament significatives en el percentatge de l'activitat entre el moment basal i les 6 hores ($p = 0,02$), les 24 hores ($p = 0,0024$), les 48 hores ($p < 0,0001$) i les 72 hores post-tMCAo ($p < 0,0001$). En aquest últim temps es va produir la major afectació (Figura 40.D). Finalment, el grup de 5x2 minuts d'oclusió de l'ACM va tenir diferències estadísticament significatives entre el moment basal i les 6 hores ($p = 0,0251$), les 24 hores ($p = 0,0091$) i les 72 hores post-cirurgia ($p = 0,0154$). En aquest grup hi va haver un pic de recuperació funcional a les 48 hores i als 7 dies post-tMCAo (Figura 40.E).

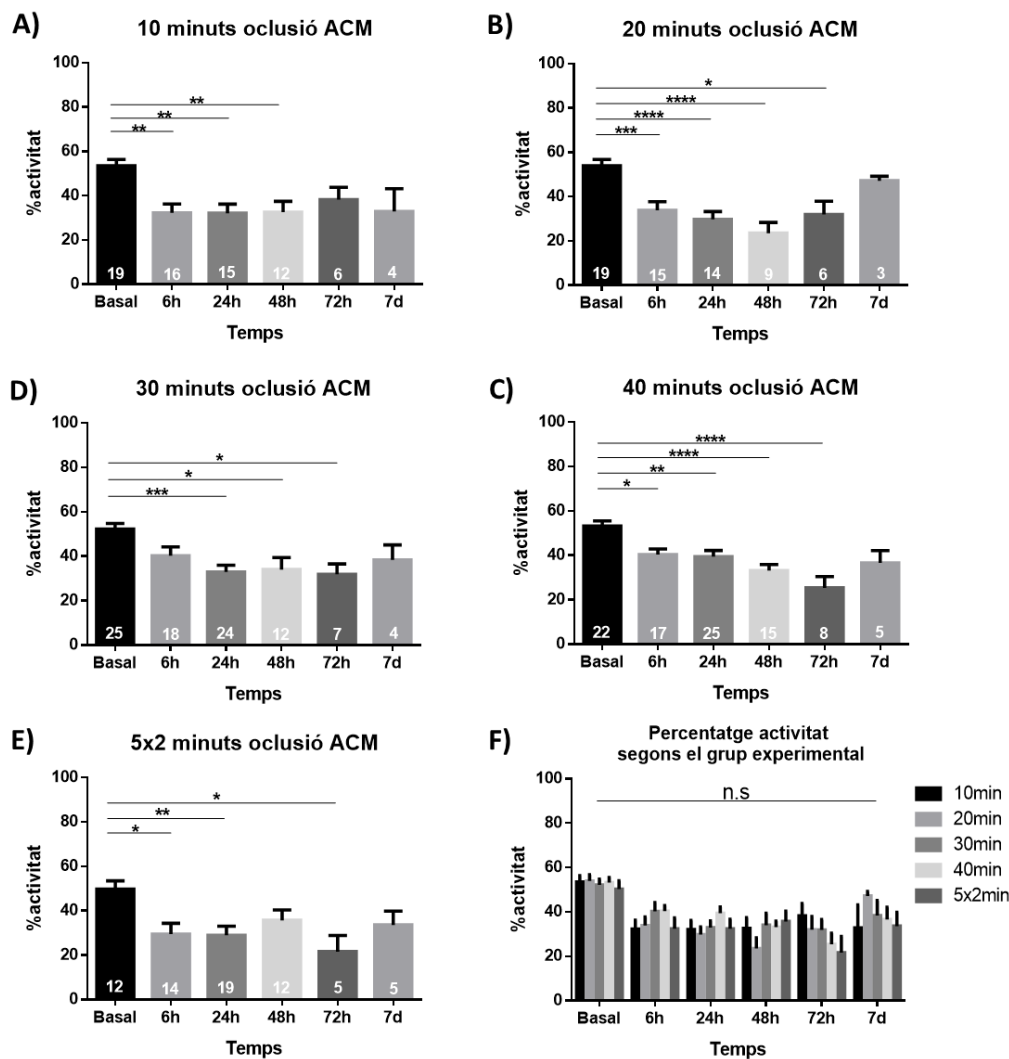


Figura 40. Percentatge d'activitat segons els minuts d'oclusió de l'ACM i el moment de l'administració de la prova. A) 10 minuts tMCAo, B) 20 minuts tMCAo, C) 30 minuts tMCAo, D) 40 minuts tMCAo, E) 5x2 minuts tMCAo i F) Comparació dels 5 grups experimentals. *: p-valor $< 0,05$; **: p-valor $< 0,01$; ***: p-valor $< 0,001$; ****: p-valor $< 0,0001$. Abreviatures: n.s: no significat; ACM: artèria cerebral mitja; h: hores; d: dies; min: minuts.

En la figura 40.F es mostra el percentatge de l'activitat en els diferents temps d'avaluació de la prova comparant els cinc grups experimentals segons els minuts d'oclusió de l'ACM i es pot observar que no hi havia diferències estadísticament significatives entre els grups.

Finalment, es va corregir el número de flips (quan s'escapava la pota del ratolí per l'esglaió del Ladder) segons l'activitat i el número de crossings a través de la fórmula Ratio Ladder Task: $[(\text{número total de flips}/\text{número total de crossings}) \times \text{ràtio activitat}]$. No es van observar diferències estadísticament significatives en les puntuacions directes de la Ratio Ladder Task en cap dels cinc grups experimentals segons els minuts d'oclusió de l'ACM i a més, les puntuacions es van mantenir més o menys estables al llarg de les avaluacions post-cirurgia, de manera que en cap grup es va observar un empitjorament de la capacitat de la motricitat fina.

La correlació d'Spearman es va dur a terme per avaluar l'associació entre dues variables contínues. Per una banda, les proves neurològiques (mNSS + Neuroscore, Coat Hanger Test, Nº crossings, % activitat i Ratio Ladder Task) i per una altra, el volum d'infart per cada grup experimental. No es va observar una correlació positiva ni negativa estadísticament significativa, encara que en el grup experimental de 5x2 minuts d'oclusió de l'ACM hi va haver una tendència positiva en la puntuació del Coat Hanger Test i el percentatge de volum d'infart ($r=0,8$; $p=0,1667$), de manera que si hi havia un augment del volum d'infart es produïa un augment de la puntuació de la prova i per tant una alteració en la coordinació motora (Figura 41).

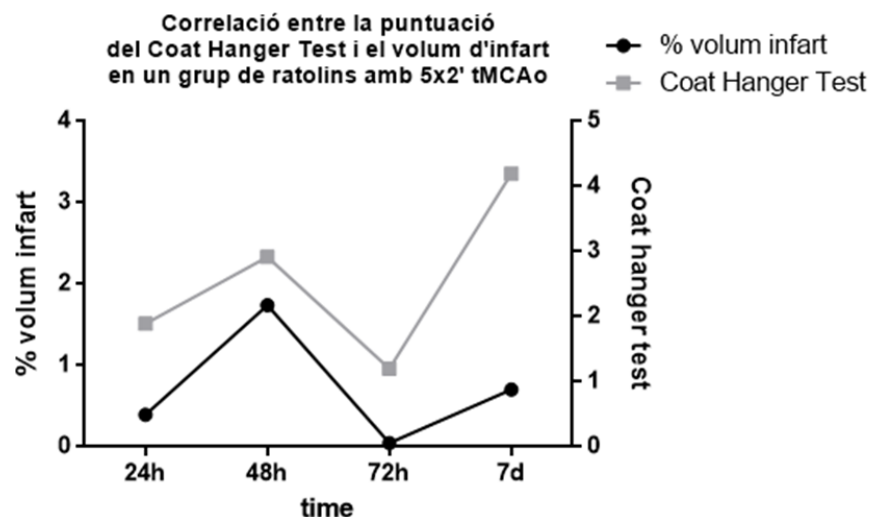


Figura 41. Correlació d'Spearman entre la puntuació del Coat Hanger Test i el volum d'infart en el grup de 5x2 minuts d'oclusió de l'ACM. Abreviatures: tMCAo: oclusió transitòria de l'artèria cerebral mitja.

Després d'analitzar totes les dades es va escollir que el model animal més idoni d'IM era el de 5 minuts reperfusió – 2 minuts oclusió de l'ACM (repetit 5 vegades) sacrificat a les 48 hores post-tMCAo. Els grups experimentals de 10 i 20 minuts d'oclusió de l'ACM no tenien infart o tenien volums molt petits en tots els endpoints, tenint un major volum a les 48 hores ($0,2853\% \pm 0,34$) i a les 72 hores ($0,2111\% \pm 0,41$), respectivament. Degut a la definició tissular d'ictus (Easton et al., 2009) que diu que hi ha d'haver lesió isquèmica observable, aquests dos grups es van descartar tot i que tenien una afectació neurològica lleu i transitòria. Per altra banda, els grups experimentals de 30 minuts i 40 minuts d'oclusió de l'ACM tenien percentatges d'infart grans en la majoria d'endpoints, tenint el volum més gran a les 72 hores ($2,3037\% \pm 3,29$) i a les 48 hores ($3,6709\% \pm 3,38$), respectivament. A més, en aquests grups es produïa un grau d'afectació moderada i aquesta estava mantinguda en el temps quan es feia el seguiment als 7 dies post-tMCAo, de manera que també es van descartar. Finalment, el grup de 5 minuts reperfusió – 2 minuts d'oclusió de l'ACM (repetit 5 vegades) tenia un volum d'infart petit però detectable a les 48 hores post-tMCAo ($1,7417\% \pm 2,49$) i a més tenia un grau d'afectació neurològica lleu i aquesta millorava amb el temps (72 hores i 7 dies post-cirurgia), per tant aquest model complia els criteris de la definició d'IM (Taula 23).

Taula 23. Taula resum del compliment dels criteris del model animal d'ictus minor segons el temps d'oclusió de l'ACM i l'endpoint.

Criteris model animal Ictus Minor							
Minuts oclusió ACM	Presència volum infart reduït (~ 1,5%)				Alteració neurològica lleu	Alteració neurològica transitòria	
	Endpoint	24h	48h	72h			7d
10 minuts	NO	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	
20 minuts	NO	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	
30 minuts	SÍ	SÍ	NO	NO	NO	NO	
40 minuts	NO	NO	NO	NO	NO	NO	
5 x 2 minuts	NO	SÍ	NO	NO	SÍ	SÍ	

Abreviatures: ACM: artèria cerebral mitja

4.2.1.1 Caracterització morfològica de la lesió isquèmica cerebral en un ratolí amb ictus minor

La caracterització morfològica de la lesió isquèmica cerebral en un ratolí amb IM es va analitzar mitjançant la tècnica d'immunofluorescència de detecció de proteïnes a través de la unió antigen-anticòs de la proteïna NeuN (marcatge neurones), Iba-1 (marcatge micròglia) i GFAP (marcatge glia/astrocits). Els nuclis de les cèl·lules es van tenyir amb DAPI. Les imatges es van adquirir amb microscòpia confocal de la zona contralateral i la zona ipsilateral (zona de la lesió isquèmica) en talls de cervells de ratolí amb IM (Figura 42).

El NeuN (*Neuronal Nuclei*) proporciona una marcció selectiva dels nuclis i els somes de les neurones i el seu patró d'immunoreactivitat permet caracteritzar la morfologia cel·lular en tot el teixit del SNC (R J Mullen, C R Buck, 1992). En les imatges captades de la zona ipsilateral es va observar que en la zona del core isquèmic no hi ha havia marcatge positiu per NeuN i sí que n'hi havia en la zona de penombra (límitrof amb el core) i en la zona contralateral.

El marcador Iba-1 (*Ionized calcium binding adapter molecule 1*) és una proteïna d'unio al calci específica de la micròglia i els macròfags (Daisuke Ito et al., 1998). Es va observar un augment de la micròglia i un canvi de morfologia més ameboide (macròfags activats) en la zona ipsilateral segurament per afavorir la resposta inflamatòria deguda a la lesió isquèmica.

Finalment, es va utilitzar el GFAP (*Glial Fibrillary Acidic Protein*) que és un marcador d'astrocits expressat en la glia limitant (Hol & Pekny, 2015). La glia limitant és una fina capa formada per les prolongacions dels astrocits que estan associats a la làmina basal del parènquima i que juntament amb les cèl·lules endotelials dels vasos sanguinis cerebrals formen part de la BHE. Quan es produeix una isquèmia cerebral hi ha una major activitat astrogliàl en les regions que envolten el core isquèmic i els astrocits agafen una morfologia més filamentosa amb les prolongacions dirigides cap a la zona de mort neuronal formant l'anomenada cicatriu glial.

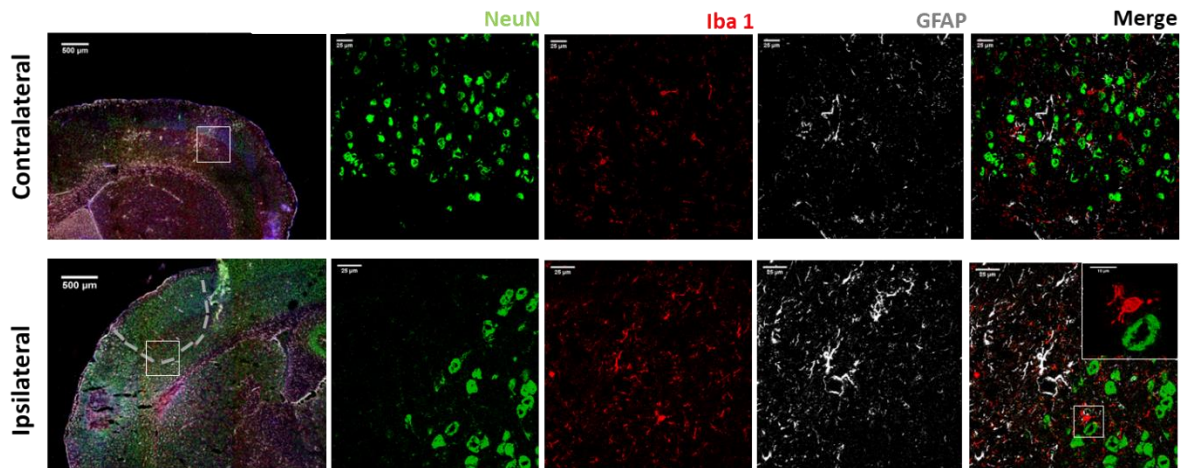


Figura 42. Tècnica d'immunofluorescència de la zona contralateral i la zona ipsilateral d'un tall de cervell de ratolí amb IM. NeuN (verd), Iba-1 (vermel), GFAP (gris) i DAPI (blau). Les primeres imatges van ser adquirides amb la tècnica del mosaic a 10x i la resta d'imatges van ser adquirides a 60x al microscopi confocal.

En resum, en la zona del core isquèmic es va observar un marcatge negatiu de NeuN i un augment de la micròglia amb una morfologia més ameboide. En la zona limítrof amb la penombra hi havia una major activitat dels astròcits formant una cicatriu glial. Aquests fets van indicar que en el model animal d'IM encara que la lesió isquèmica és petita amb una afectació neurològica lleu i transitòria es produeixen alteracions morfològiques a nivell cel·lular.

4.2.1.2 Estudi pilot model animal ictus minor en femelles

Una vegada definit el model animal translacional d'IM, el de 5 minuts reperfusió – 2 minuts oclusió de l'ACM (repetit 5 vegades) sacrificat a les 48 hores post-tMCAo, es va aplicar en un grup de ratolins femelles de la soca CD1 (n=6) entre 30-40 grams de pes i entre 8-16 setmanes, per tal de veure que no hi havia diferències entre els sexes.

El percentatge d'oclusió del flux sanguini cerebral respecte als valors basals va ser de 17,84% (\pm 5,29) i el percentatge de reperfusió va ser de 96,26% (\pm 7,27) (Figura 43.A). No es va haver de descartar cap animal per no arribar als valors adequats de reperfusió (>75%).

Com es pot veure en la figura 43.B no hi va haver diferències estadísticament significatives ni en el percentatge d'oclusió de l'ACM ni en el percentatge de reperfusió entre mascles i femelles que pogués condicionar el volum d'infart.

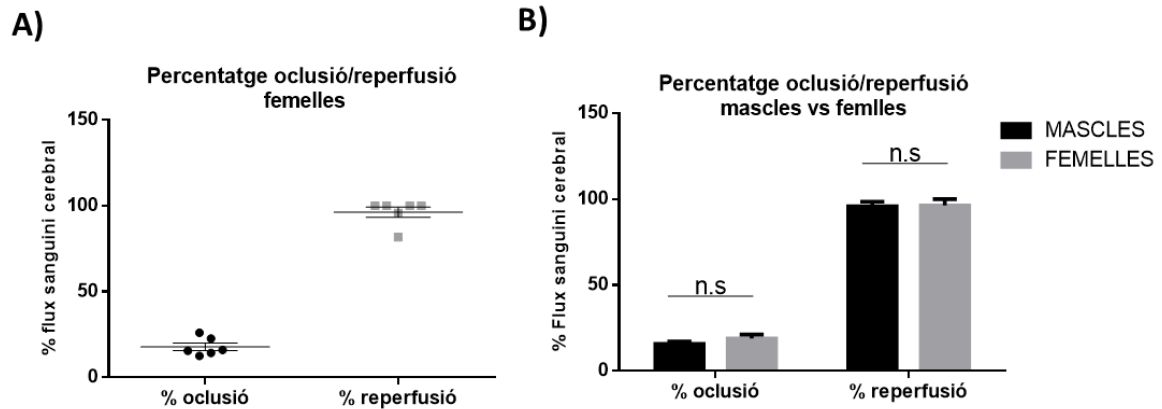


Figura 43. A) Percentatge d'oclusió-reperfusió durant la cirurgia de 5x2 tMCAo en un grup de 6 femelles. (B) Comparació dels percentatges d'oclusió-reperfusió entre mascles (N=7) i femelles (N=6). Abreviatures: n.s: no significat

La mitjana del percentatge de volum d'infart dels 6 ratolins femelles després d'aplicar el model d'IM escollit va ser de $0,4246\% \pm 0,461$. Aquesta, era més petita que en el grup de mascles ($1,74\% \pm 2,49$), tot i així, no hi havia diferències estadísticament significatives entre els dos sexes (Figura 44.A).

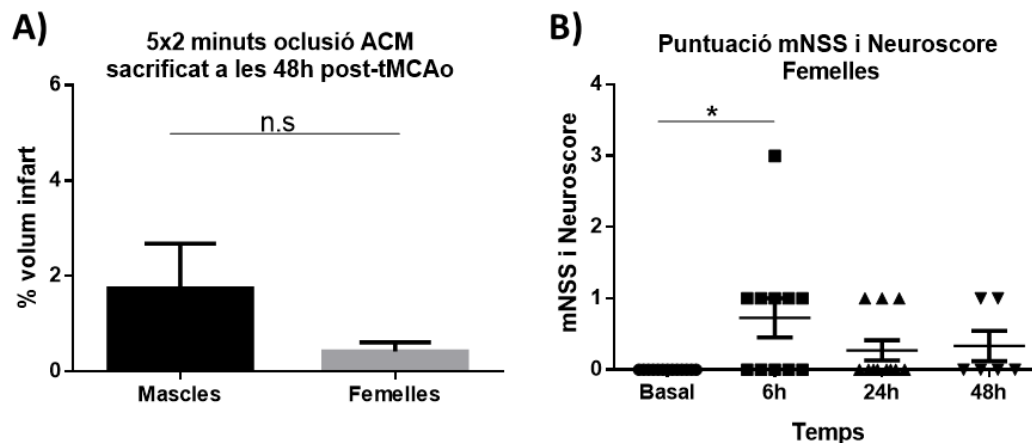


Figura 44. Comparació del percentatge del volum d'infart entre mascles (n=7) i femelles (n=6) en el model d'ictus minor (5x2 minuts tMCAo) (A) i puntuacions del mNSS i el Neuroscore d'un grup de femelles amb ictus minor segons el temps d'avaluació. Abreviatures: n.s: no significat; ACM: artèria cerebral mitja; tMCAo: oclusió transitòria artèria cerebral mitja; mNSS: modified Neurologic Severity Score; h: hores.

La determinació del perfil neurològic es va dur a terme mitjançant les mateixes proves conductuals i neurològiques que en el grup de ratolins mascles. Les proves utilitzades van ser: l'escala mNSS, el Neuroscore, el Coat Hanger Test (prova de la perxa) i el Ladder Task.

Les puntuacions de l'escala mNSS i del Neuroscore es van graficar de manera conjunta i com es mostra en la figura 44.B, hi va haver diferències estadísticament significatives entre el moment basal i les 6 hores post-tMCAo ($p=0,016$), sent aquest temps el pic de més afectació neurològica. A partir de les 24 hores s'observava una recuperació funcional, encara que no era total a les 48 hores post-tMCAo.

En la resta de proves neurològiques (Coat Hanger Test i Ladder Task) no hi havia diferències estadísticament significatives entre els diferents temps d'avaluació, tot i que, s'observava una pèrdua de la funció neurològica, la coordinació motora i la motricitat fina a les 6 i 24 hores post-tMCAo amb una recuperació a les 48 hores post-tMCAo.

Finalment, les puntuacions obtingudes en els diferents temps d'avaluació (Basal, 6h, 24h i 48h post-cirurgia) del mNSS+Neuroscore, el Coat Hanger Test i el número de crossings, el percentatge d'activitat i la ratio del Ladder Task es van comparar entre mascles i femelles i no hi van haver diferències rellevants entre els dos grups en cap de les proves neurològiques i conductuals, de manera que el model animal escollit d'IM no presentava diferències entre els sexes.

4.2.2 Models experimentals de factors de risc vascular i ictus minor

4.2.2.1 Model murí de diabetis mellitus tipus 2 i ictus minor

La DMT2 és un FRV rellevant de la MCV, ja que valors elevats de glucosa en sang produeixen inflamació i dany a les artèries augmentant entre 2 i 4 vegades les probabilitats de patir un ictus (Santos Lasaosa et al., 2000). De fet, en la cohort PSICOICTUS un 35,6% dels pacients patien DMT2, per això, tenir models experimentals amb aquest FRV era important per poder investigar com aquest afecta en l'ictus.

Per aquest estudi, es van incloure dos grups experimentals: ratolins mascles de la soca CD1 punxats intraperitonealment amb SZT durant 5 dies consecutius (grup DMT2) i ratolins mascles CD1 punxats intraperitonealment amb PBS 1X (grup control). Diàriament durant 14 dies (dia de sacrifici) es van recollir les següents dades: valors de menjar total consumit (g), aigua total consumida (mL) i pes perdut (g).

Una de les complicacions que pot presentar la DMT2 és la deshidratació ja que quan els nivells de glucosa en sang són molt elevats, el cos intenta expulsar la glucosa sobrant incrementant la secreció d'orina, de manera que es disminueix de forma dràstica la quantitat d'aigua que hi al cos. Per aquest motiu, les persones diabètiques han de beure quantitats més elevades d'aigua, per intentar pal·liar aquest dèficit. Com es mostra en la figura 45.A, en aquest estudi, els animals del grup DMT2 van consumir de mitjana durant 14 dies 316,12 mL ($\pm 35,07$) d'aigua comparat amb els 104,8 mL ($\pm 2,79$) que van consumir el grup control ($p=0,0013$). Pel que fa al menjar total ingerit no hi va haver diferències estadísticament significatives entre el grup DMT2 ($63,09 \pm 11,06$) i el grup control ($59,26 \pm 1,29$).

La insulina és una hormona alliberada pel pàncrees com a resposta a la presència de glucosa en sang i permet que aquesta entri dins les cèl·lules per ser utilitzada com a font d'energia. En la malaltia de DMT2 les cèl·lules no responen a la insulina com ho haurien de fer, creant una resistència. Donat que les cèl·lules no poden obtenir l'energia necessària que necessiten de la glucosa, el cos comença a descompondre la grassa i el múscul per utilitzar-la com a energia, produint una pèrdua de pes dràstica. En la figura 45.B s'observa els grams de pes totals perduts durant 14 dies, on el grup DMT2 va perdre una mitjana de 7,33 grams ($\pm 1,52$) en comparació al grup control que en va perdre 0,5 grams ($\pm 0,28$) ($p= 0,0073$).

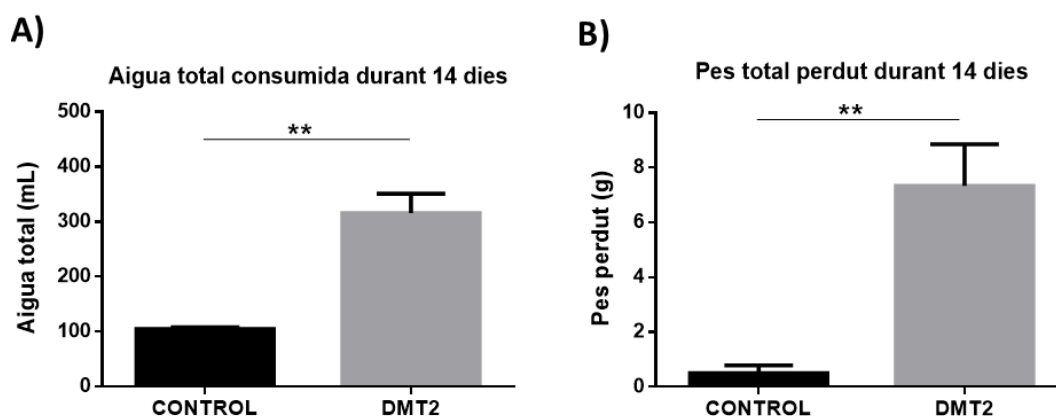


Figura 45. Dades recollides diàriament durant 14 dies d'un grup de ratolins controls (n=4) i un grup de ratolins amb DMT2 (n=6). A) Aigua total consumida i B) Grams perduts de pes. **: p-valor <0,01. Abreviatures: DMT2: Diabetes Mellitus tipus 2.

Els nivells de glucosa en sang (glucèmia) es van determinar a partir de l'extracció d'una gota de sang submandibular de tots els ratolins i es van obtenir les dades tres cops al dia (09:00h, 13:00h, 17:00h) durant els cinc dies consecutius en que es va dur a terme la punció d'SZT. Per cada dia es va fer la mitjana dels tres valors. A partir del dia 6 i fins al dia 14 la glucèmia en sang es va quantificar durant una vegada al dia.

La figura 46.A mostra la mitjana dels tres valors de glucosa en sang obtinguts en mg/dL del dia 1 al dia 5 (dies d'injecció d'SZT) comparant el grup d'animals control amb el grup d'animals DMT2. Es pot observar que els nivells de glucosa en sang dels animals controls es mantenen estables durant els 5 dies (134,11 mg/dL \pm 10,6), tot i que tenen nivells lleugerament superiors als normals per ratolins no diabètics (<120mg/dL). En el grup d'animals DMT2, els nivells de glucosa en sang van començar a augmentar lleugerament a partir del segon dia, observant una pujada significativa el dia 3 d'injecció d'SZT ($p=0,0333$). En aquest moment, els ratolins ja presentaven una DMT2 moderada amb valors compresos entre 120-300 mg/dL (236,11 mg/dL \pm 77,48). A partir del dia 3 i fins el dia 5 els nivells de glucosa van anar augmentant progressivament fins a obtenir un valor mitjà de 453 mg/dL (\pm 200,87) i tenint una DMT2 greu amb valors superiors a 300mg/dL.

Posteriorment, es va fer la mitjana de la glucèmia dels 14 dies totals d'experiment (Figura 46.B). Hi va haver diferències estadísticament significatives entre els dos grups ($p<0,0001$) amb valors mitjans de 423,12 mg/dL (\pm 170,93) en el grup de ratolins DMT2 i 136,95 mg/dL (\pm 8,78) en el grup de ratolins control.

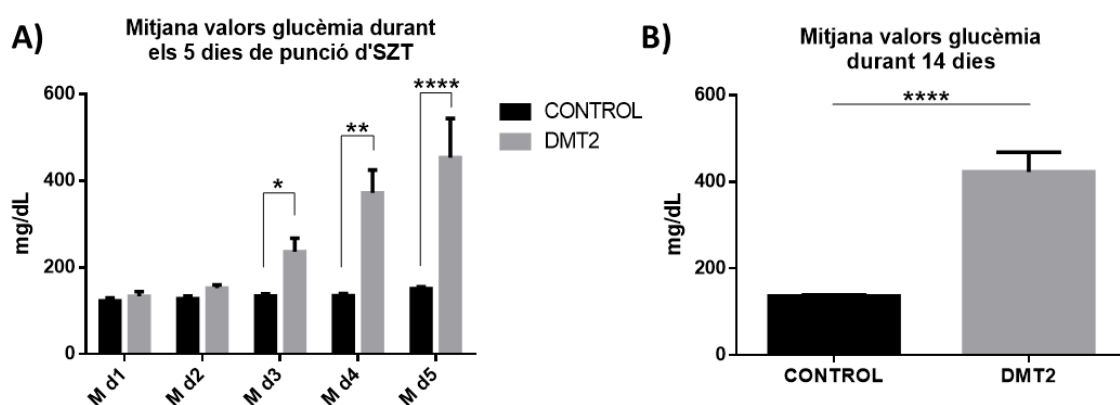


Figura 46. Nivells de glucosa en sang en un grup de ratolins control (n=4) i un grup de ratolins amb DMT2 (n=6). A) Mitjana dels tres valors diaris de glucosa en sang en mg/dL dels 5 dies de punció d'SZT; B) Mitjana dels valors de glucosa en sang en mg/dL dels 14 dies que va durar l'experiment, desde la primera punció d'SZT fins el moment de sacrifici. *: p-valor <0,05; **: p-valor <0,01; ****: p-valor <0,0001. Abreviatures: DMT2: Diabetis Mellitus tipus 2; M: mitjana; d: dies; SZT: estreptozotocina.

Posteriorment, es van utilitzar ratolins mascles de la soca CD1 amb DMT2 induïda als qual se'ls hi va produir un IM. Donat que els animals amb DMT2 establerta per injeccions consecutives d'SZT es delibitaven, es van fer dos grups experimentals diferents per observar quin tenia una major supervivència després de relitzar la cirurgia d'IM. Els dos grups experimentals van ser: ratolins amb DMT2 als qual se'ls hi realitzava la cirurgia d'IM el dia 2 post-injecció d'SZT (DMT2 + IMd2) (n=3) i ratolins amb DMT2 als quals se'ls hi realitzava la cirurgia d'IM el dia 3 post-injecció d'SZT (DMT2 + IMd3) (n=3). Els ratolins es van sacrificar a les 48 hores post-IM.

Diàriament durant 4 dies consecutius es van recollir les següents dades: valors de menjar total consumit (g), aigua total consumida (mL), pes perdut (g) i nivells de glucosa en sang (mg/dL). Les dades obtingudes en el grup DMT2 + IMd2 i en el grup de DMT2 + IMd3 es van comparar amb un un grup de ratolins amb DMT2 sense cirurgia i un grup de ratolins control (ratolins de la soca CD1 sense cap FRV ni IM)

En la figura 47.A, es pot observar que hi havia diferències estadísticament significatives en el menjar total consumit durant 4 dies entre el grup DMT2 i el grup DMT2 + IMd3 ($p=0,0455$), sent aquest segon grup el que va menjar menys de mitjana ($6 \text{ g} \pm 1,12$). Pel que fa a l'aigua total consumida el grup DMT2 va ser el que va beure més ($98,78 \text{ mL} \pm 13,65$), en comparació al grup control ($p=0,041$, 95% IC= $-86,17$, $-1,640$), al grup DMT2 + IMd2 ($p=0,0015$) i al grup DMT2 + IMd3 ($p=0,0009$) (Figura 47.B). Tot i que els ratolins amb DMT2 induïda consumeixen més aigua, en el cas dels ratolins amb DMT2 i IM (independentment del dia de la cirurgia) en van consumir menys, segurament degut al grau d'afectació funcional i neurològica després de l'IM. Per altra banda, tots els ratolins diabètics van perdre més grams de pes que el grup control, observant la major pèrdua de pes en el grup DMT2 + IMd3 ($5,0 \text{ g} \pm 1,0$) (Figura 47.C). Aquest fet ens indica, que al realitzar la cirurgia tMCAo els animals perdien més pes en comparació als grups d'animals sense operar i a més, si aquesta cirurgia es duia a terme el dia 3 post-injecció d'SZT, en el qual els ratolins ja tenien nivells de glucosa en sang molt elevats, aquesta pèrdua de pes era més accentuada. Els nivells de glucosa en sang es van quantificar 3 vegades al dia (09:00h, 13:00h, 17:00h) durant 4 dies consecutius des de la primera injecció d'SZT i es va fer la mitjana de la glucèmia en mg/dL. Hi va haver diferències estadísticament significatives entre el grup control i el grup DMT2 ($p=0,0381$) i el grup DMT2 + IMd3 ($p=0,0134$). No hi va haver diferències amb el grup DMT2 + IMd2 tot i que tenia valors més elevats de glucosa en sang ($194,14 \pm 19,12$) en comparació amb el grup control ($128,65 \pm 2,8$). Tampoc hi va haver diferències entre els tres grups amb DMT2 (Figura 47.D)

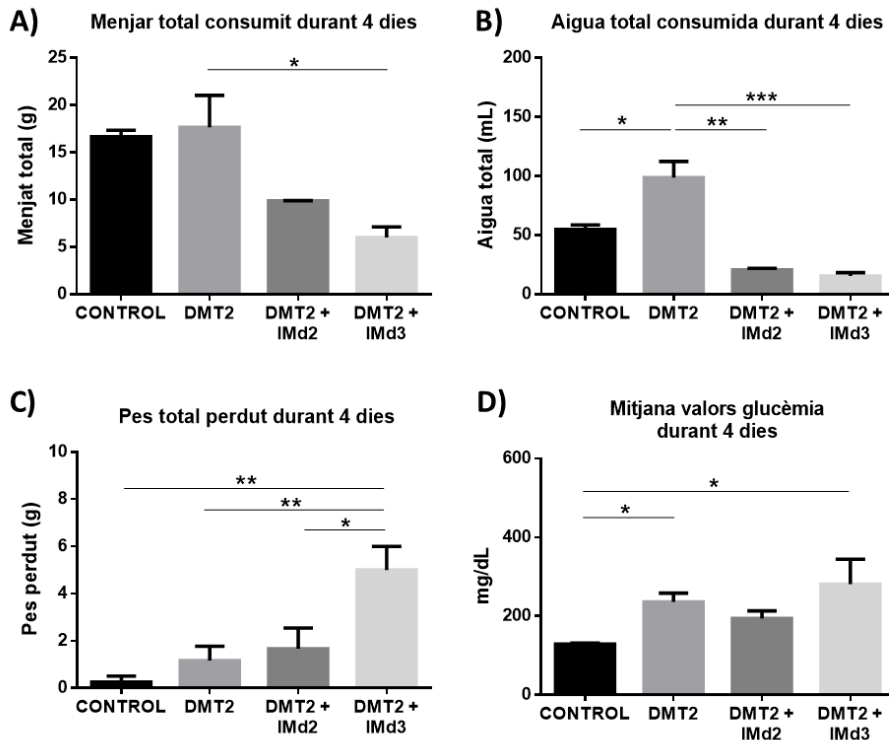


Figura 47. Dades recollides diàriament durant 4 dies consecutius d'un grup de ratolins controls (n=4), un grup de ratolins amb DMT2 (n=6), un grup de ratolins diabètics amb IM el dia 2 post-injecció d'SZT (DMT2 + IMd2, n=3) i un grup de ratolins diabètics amb IM el dia 3 post-injecció d'SZT (DMT2 + IMd3, n=3). A) Menjar total consumit en grams, B) aigua total consumida en mL, C) Grams perduts de pes i D) Mitjana dels nivells de glucosa en sang en mg/dL. *: p-valor <0,05; **: p-valor <0,01; ***: p-valor <0,001. Abreviatures: DMT2: Diabetes Mellitus tipus 2; IM: ictus minor; d: dies.

El percentatge de volum d'infart del grup DMT2 + IMd2 (n=3) es va quantificar a les 48 hores post-IM. En el grup DMT2 + IMd3 (n=3), dos ratolins van morir a les 24 hores post-cirurgia degut a l'alt grau de debilitat causat per la DMT2 i la cirurgia i 1 ratolí es va sacrificar a les 48 hores post-tMCAo (endpoint establert).

El volum d'infart de ratolins amb IM (n=7) es va comparar amb el volum d'infart del grup de ratolins DMT2 + IMd2 (n=3). En la figura 48.A s'observa que el grup DMT2 + IMd2 tenia una mitjana de volum d'infart més elevada ($2,47 \pm 1,6$) respecte al grup IM ($1,74 \pm 0,94$), encara que aquesta no era significativa. Per altra banda, no es va poder dur a terme la comparació del grup IM amb el grup DMT2 + IMd3 perquè només un ratolí va sobreviure fins a l'endpoint establert en aquest experiment. Aquest animal va tenir un volum d'infart de 13,49%, molt superior als ratolins sense DMT2.

Finalment, en la figura 48.B es va comparar el volum d'infart entre el grup d'animals amb IM (n=7) i el grup d'animals amb DMT2 + IM (independentment del dia de la cirurgia, n=4) i s'observava que els ratolins que presentaven aquest FRV tenien una tendència a tenir un percentatge de volum d'infart més elevat, encara que no hi havia diferències estadísticament significatives entre els dos grups.

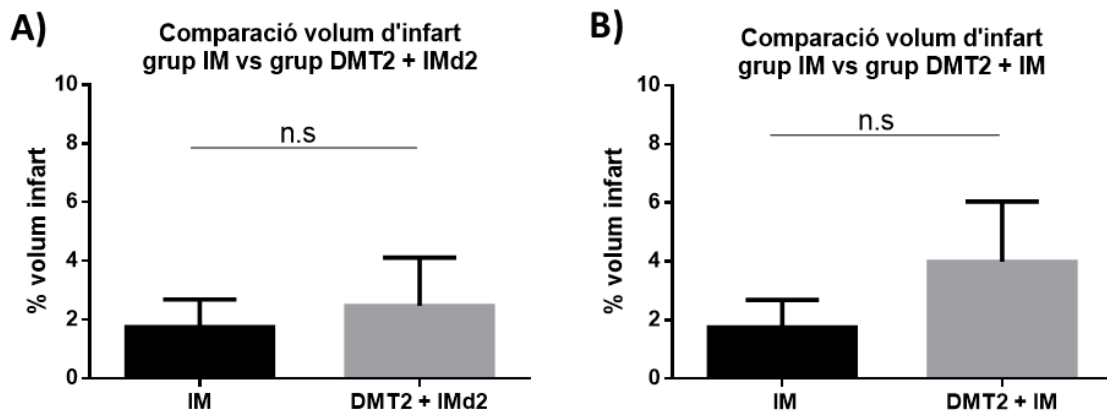


Figura 48. Comparació del percentatge del volum d'infart entre un grup de ratolins amb IM i un grup de ratolins amb DMT2 i IM. A) Comparació d'un grup de ratolins amb IM (n=7) amb un grup de ratolins diabètics operats el dia 2 post-injecció SZT (DMT2 + IMd2, n=3) i B) Comparació d'un grup d'animals amb IM (n=7) amb un grup d'animals diabètics amb IM, independentment del dia de la cirurgia (DMT2 + IM, n=4). *: p-valor <0,05; ****: p-valor<0,0001. Abreviatures: n.s: no significant; IM: ictus minor; DMT2: diabetes mellitus tipus 2; d: dia.

Les dades del perfil neurològic dels ratolins del grup DMT2 + IM es van recollir en el temps basal (abans de la cirurgia), 6 hores, 24 hores i 48 hores post-tMCAo i es van comparar amb un grup de ratolins amb IM. Les proves administrades van ser: l'escala mNSS, el Neuroscore, el Coat Hanger Test (prova de la perxa) i el Ladder Task (nº crossings, percentatge activitat i Ratio Ladder Task).

Les puntuacions del test mNSS i el Neuroscore es van graficar de manera conjunta i encara que no hi van haver diferències entre els dos grups es va observar una tendència a tenir puntuacions més altes i per tant una pitjor funció neurològica a les 6 hores post-IM en el grup de ratolins DMT2 + IM ($1,67 \pm 1,5$) en comparació al grup IM ($0,75 \pm 0,96$). En la resta de tests neurològics no hi va haver diferències rellevants en cap temps d'avaluació entre els dos grups.

L'objectiu d'aquest estudi era determinar quin dia post-injecció d'SZT (dia 2 o dia 3) s'havia d'aplicar la cirurgia d'IM en ratolins diabètics, ja que aquests es debilitaven molt. Tenint en compte totes les dades presentades prèviament es va escollir que el dia més adequat per realitzar la tMCAo en un ratolí diabètic era el dia 2 post-injecció d'SZT (grup DMT2 + IMd2), ja que augmentava molt la supervivència.

4.2.2.2 La hipertensió arterial com a factor de risc vascular en un model d'ictus isquèmic establert

Un model experimental amb ratolins hipertensos als qual se'ls hi va produir una oclusió de l'ACM de 60 minuts sacrificat als 7 dies post-cirurgia es va dur a terme per tal d'obtenir informació rellevant de les complicacions de l'ictus en ratolins amb aquest FRV. Els grups experimentals inclosos en aquest estudi van ser: ratolins hipertensos amb una cirurgia tMCAo de 60 minuts (grup HTA ICTUS, n=6); ratolins hipertensos SHAM, sotmesos al procediment quirúrgic però sense oclusió de l'ACM (grup HTA SHAM, n=6); ratolins sense hipertensió i amb cirurgia tMCAo de 60 minuts (Grup ICTUS, n=6) i ratolins hipertensos sense cap procediment quirúrgic (Grup HTA, n=6).

Diàriament durant 14 dies consecutius es van recollir les següents dades: valors de menjar total consumit (g), aigua total consumida (mL) i pes total perdut (g). No hi va haver diferències estadísticament significatives entre el menjar i l'aigua total consumida durant els 14 dies que va durar l'experiment entre cap dels grups. En fer la comparació de la pèrdua de pes total, com es mostra en la figura 49.A, sí que hi va haver diferències estadísticament significatives entre el grup HTA ICTUS i el grup HTA SHAM ($p=0,0054$) amb una pèrdua de pes més elevada en el grup HTA ICTUS ($2,20 \pm 0,58$).

Els ratolins van ser sacrificats el setè dia post-cirurgia (14è dia d'experiment) per poder quantificar el volum d'infart i poder-lo comparar entre els 4 grups experimentals (Figura 49.B). El grup amb un percentatge de volum d'infart més elevat va ser el grup ICTUS ($1,57 \pm 0,2$) en comparació al grup HTA ICTUS ($0,44\% \pm 0,32$; $p=0,0135$), al grup HTA SHAM ($0,06\% \pm 0,06$; $p=0,0013$) i al grup HTA (0% ; $p= 0,0127$).

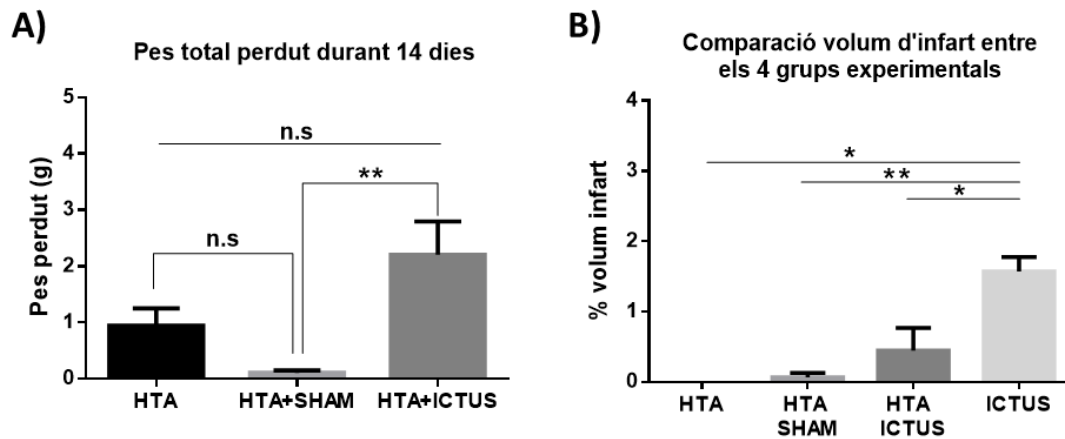


Figura 49. A) Pes total perdut durant 14 dies d'un grup de ratolins hipertensos (HTA, n=6), un grup de ratolins hipertensos SHAM (HTA + SHAM, n=6) i un grup de ratolins hipertensos amb ictus isquèmic establert (HTA + ICTUS, n=6). B) Comparació percentatge volum d'infart entre el grup HTA (n=2), el grup HTA SHAM (n=6), el grup HTA ICTUS (n= 6) i el grup ICTUS (n=5). *: p-valor <0,05; **: p-valor <0,01. Abreviatures: HTA: hipertensió arterial; n.s: no significat

El perfil neurològic es va avaluar mitjançant els tests mNSS, Neuroscore, Coat Hanger Test i Ladder Task en el moment basal (abans de la cirurgia), 24 hores, 48 hores, 72 hores, 4 dies, 5 dies i 7 dies post-cirurgia (moment de sacrifici). No es van observar diferències rellevants en el grau d'afectació neurològica i funcional entre els quatre grups experimentals en cap dels test.

Al no observar un augment en el volum d'infart ni una afectació neurològica i funcional més greu en el grup HTA ICTUS en comparació al grup ICTUS, ja no es va dur a terme el mateix experiment en ratolins hipertensos però amb una cirurgia d'IM en comptes de 60 minuts d'oclusió de l'ACM, ja que en aquest model el temps d'oclusió de l'ACM és menor.

4.2.2.3 La hipertensió arterial i la diabetis mellitus tipus 2 en un model murí d'ictus minor

Per fer el model experimental objecte d'aquesta tesi es van utilitzar ratolins mascles diabètics i hipertensos als quals se'ls hi va produir una cirurgia d'IM definida com una oclusió transitòria de l'ACM de 2 minuts i una reperfusió de 5 minuts (repetit 5 vegades) sacrificat a les 48 hores post-cirurgia.

Diàriament durant 21 dies consecutius es van recollir les següents dades: valors de menjar total consumit (g), aigua total consumida (mL), pes total perdut (g) i nivells de glucosa en sang (mg/dL). Les dades obtingudes es van comparar entre el grup control, el grup HTA DMT2, el grup HTA DMT2 SHAM i el grup HTA DMT2 ICTUS.

Després de fer l'anàlisi de les dades es va observar que no hi havia diferències entre els 4 grups experimentals en el menjar total consumit i en el total de pes perdut en grams durant 21 dies. Pel que fa a l'aigua total consumida, al contrari del que s'esperava tenint en compte els resultats previs en els quals els ratolins diabètics consumien més aigua, en aquest experiment va ser el grup control el que en va consumir més (104,8 mL \pm 2,79) seguit del grup HTA DMT2 SHAM (86 mL) (Figura 50.A). També cal destacar, que els ratolins diabètics amb la cirurgia d'IM consumien menys aigua degut a una major afectació funcional, tal i com s'havia observat en l'experiment de DMT2 IM, explicat anteriorment.

Els nivells de glucosa en sang es van quantificar una vegada al dia (a les 09:00h, aproximadament) durant els 4 dies consecutius que es va fer la injecció d'SZT i es va fer la mitjana en mg/dL de tots els ratolins en cada grup experimental. Hi va haver diferències estadísticament significatives entre el grup control i el grup HTA DMT2 ($p=0,0002$), el grup HTA DMT2 SHAM ($p<0,0001$) i el grup HTA DMT2 IM ($p<0,0001$). No hi va haver diferències en els valors de la glucèmia entre els tres grups amb DMT2 (Figura 50.B).

El percentatge de volum d'infart del grup HTA DMT2 IM ($n=7$) es va quantificar després de fer la cirurgia el dia 2 post-injecció d'SZT i ser sacrificat a les 48 hores post-tMCAo (1,44% \pm 1,14). El volum d'infart d'aquest grup de ratolins es va comparar amb un grup de ratolins només amb DMT2 i IM (grup DMT2 IM, $n=6$) i un grup de ratolins només amb IM (Grup IM, $n=7$) per veure com afectaven els FRV en el volum de la isquèmia cerebral. Com es pot observar en la figura 50.C no hi havia diferències estadísticament significatives entre els tres grups, tot i que el grup DMT2 IM tenia volums d'infart més elevats (3,99 % \pm 2).

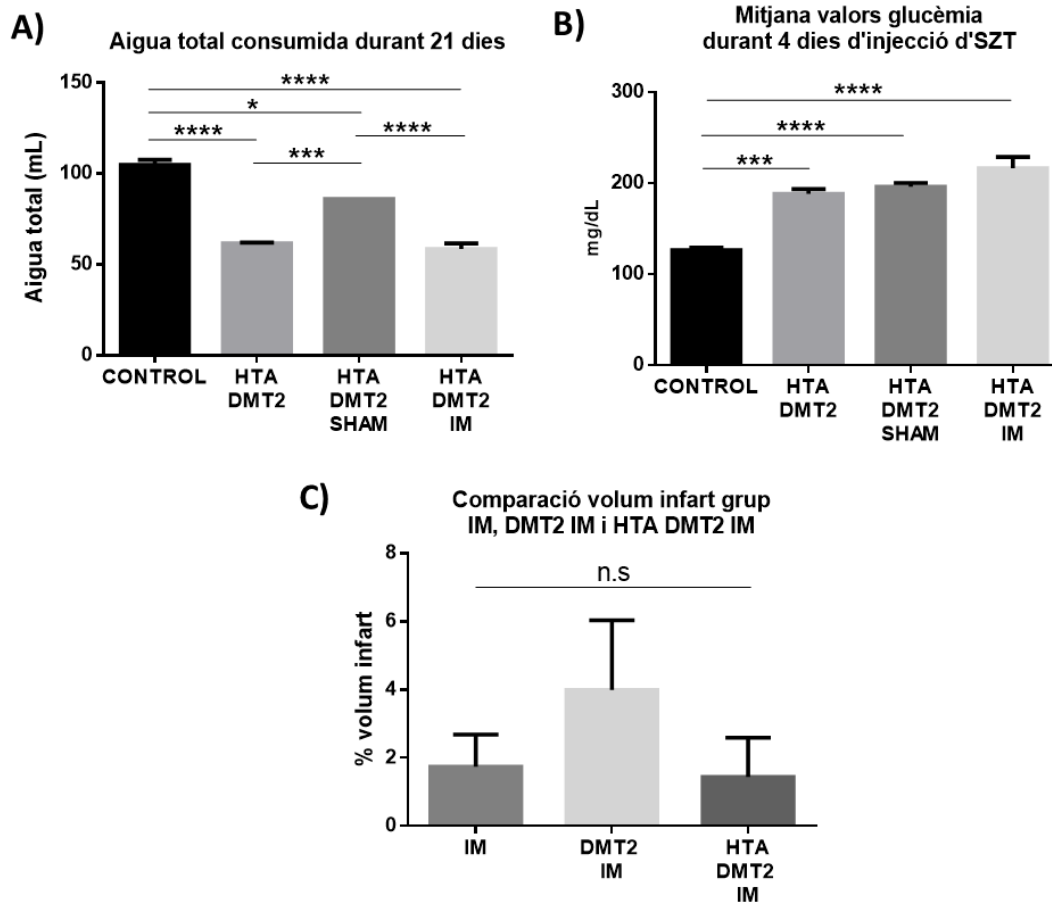


Figura 50. Dades recollides diàriament durant 21 dies d'un grup de ratolins control (n=5), un grup de ratolins hipertensos i diabètics (HTA DMT2, n=5), un grup de ratolins hipertensos i diabètics SHAM (HTA DMT2 SHAM, n=5) i un grup de ratolins hipertensos i diabètics amb IM el dia 2 post-injecció d'SZT (HTA DMT2 IM, n=13). A) Aigua total consumida durant 21 dies B) Mitjana dels nivells de glucosa en mg/dL durant els 4 dies d'injecció d'SZT. C) Comparació del volum d'infart entre el grup IM (n=7), el grup DMT2 IM (n=6) i el grup HTA DMT2 IM (n=7). *: p-valor <0,05; ***: p-valor <0,001; ****: p-valor <0,0001. Abreviatures: HTA: hipertensió arterial; DMT2: Diabetes Mellitus tipus 2; IM: ictus minor; n.s: no significant; SZT: estreptozotocina.

El perfil neurològic es va determinar mitjançant l'administració de les proves neurològiques mNSS, Neuroscore, Coat Hanger Test i Ladder Task en els temps d'avaluació següents: moment basal (abans de la cirurgia), 6 hores, 24 hores i 48 hores post-IM, en aquells grups experimentals als quals es va fer la cirurgia tMCAo. Posteriorment, es van comparar les puntuacions obtingudes en els tests entre el grup d'animals amb IM (n=7), el grup d'animals amb DMT2 IM (n=4) i el grup d'animals HTA DMT2 IM (n=7).

Les puntuacions del mNSS i el Neuroscore es van graficar de manera conjunta i es van observar diferències estadísticament significatives a les 6 hores post-cirurgia entre els tres grups. El grup DMT2 IM va tenir puntuacions més elevades ($1,66 \pm 1,5$) i per tant una major afectació neurològica i funcional, en comparació al grup IM ($0,66 \pm 0,9$; $p=0,014$) i al grup HTA DMT2 IM ($0,7 \pm 1$; $p=0,0295$) (Figura 51.A).

En la figura 51.B es pot observar que en el Coat Hanger Test hi va haver diferències a les 48 hores post-cirurgia, entre el grup IM i el grup DMT2 IM ($p=0,003$) i entre el grup IM i el grup HTA DMT2 IM ($p=0,0005$), amb puntuacions molt més elevades en el grup sense cap FRV ($2,91 \pm 2$).

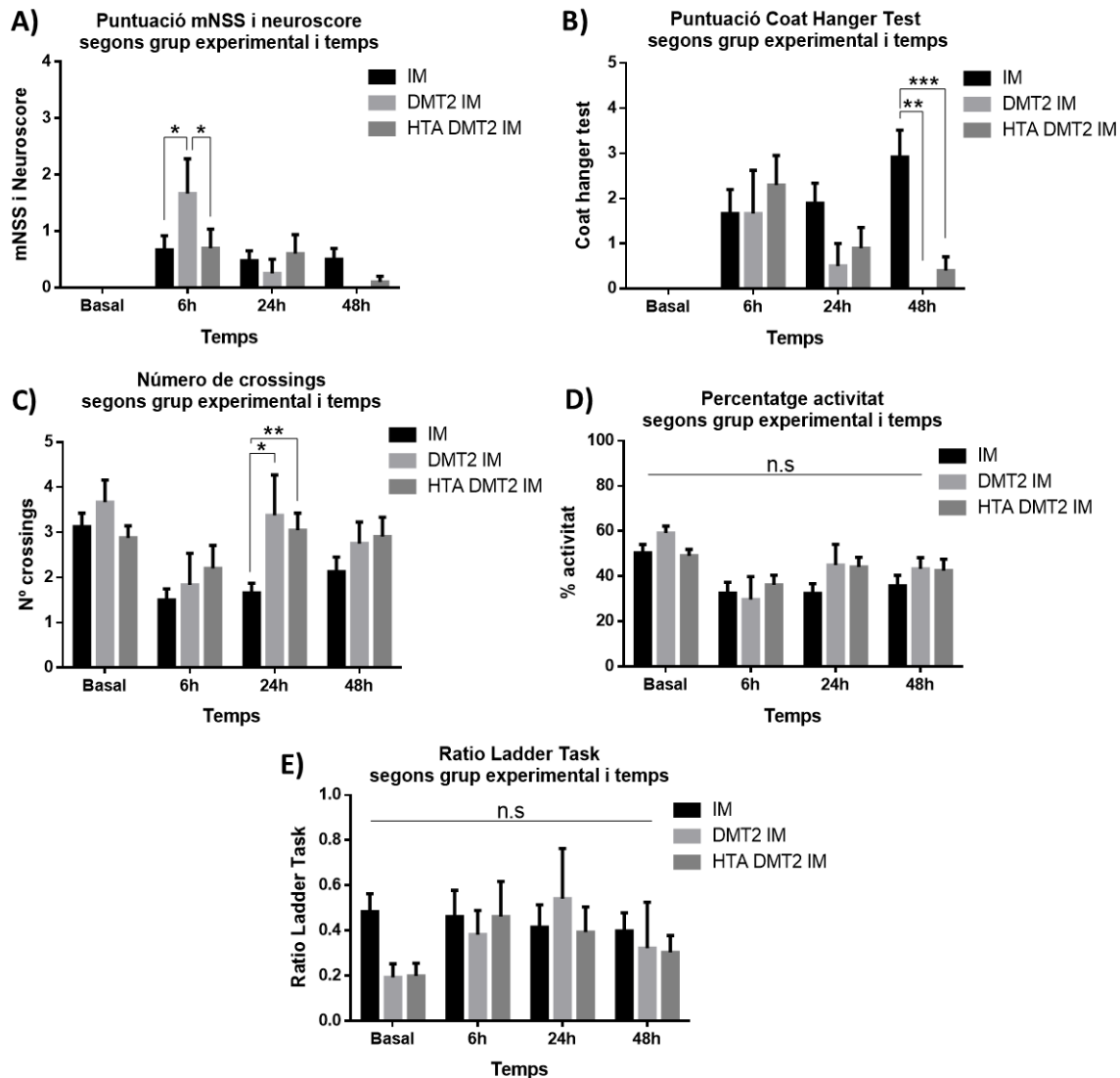


Figura 51. Comparació del perfil neurològic d'un grup de ratolins amb ictus minor (IM, $n=7$), un grup de ratolins diabètics amb ictus minor (DMT2 IM, $n=6$) i un grup de ratolins hipertensos i diabètics amb ictus minor (HTA DMT2 IM, $n=13$). Dades recollides en el moment basal (abans de la cirurgia), les 6 hores, 24 hores i 48 hores. A) Puntuació directa mNSS i Neuroscore, B) Puntuació directa Coat Hanger Test, C) Número total de crossings en el Ladder Task, D) Percentatge de l'activitat en el Ladder Task i E) Puntuació Ratio Ladder Task. *: p -valor $<0,05$; **: p -valor $<0,01$; ***: p -valor $<0,001$. Abreviatures: mNSS: Modified Neurological Severity Score; IM: ictus minor; DMT2: diabetis mellitus tipus 2; HTA: hipertensió arterial; n.s: no significant; h: hores.

En la figura 51.C, D i E es mostra els resultats del Ladder Task on només s'observaven diferències en el número total de crossings a les 24 hores post-cirurgia entre el grup IM i el grup DMT2 IM ($p=0,0256$) i entre el grup IM i el grup HTA DMT2 IM ($p=0,009$). En el percentatge de l'activitat i la Ratio Ladder Task no hi van haver diferències entre els 3 grups d'estudi i a més s'observa que presentaven el mateix patró d'afectació més pronunciada a les 6 hores post-IM i una recuperació a partir de les 24 i 48 hores post-cirurgia.

5. DISCUSSIÓ

5. Discussió

Aquesta tesi doctoral s'ha centrat en avaluar i definir les variables predictores de les alteracions afectives, concretament la depressió i l'apatia, i les alteracions cognitives després de patir un IM. L'avaluació s'ha dut a terme mitjançant la identificació de les variables clíniques, la descripció del perfil neuropsicològic, la signatura radiològica i la recerca de biomarcadors circulants de pronòstic. A més, s'ha fet un abordatge translacional, generant i caracteritzant un model animal preclínic d'IM per primera vegada.

La discussió dels resultats es realitzarà en les següents parts: 1. Predictors de les alteracions afectives després d'un IM, 2. Predictors de les alteracions cognitives després d'un IM i 3. Caracterització d'un model animal diabètic-hipertens amb IM.

5.1 Predictors de les alteracions afectives després d'un ictus minor

L'estat d'ànim, juntament amb l'estat cognitiu és un factor clau que influeix en la recuperació del pacient després d'un ictus (Pohjasvaara et al., 2001). Encara que la depressió és una important seqüela de l'ictus, hi ha incertesa respecte la seva incidència, rellevància i correlació amb la localització de la lesió en l'IM. En l'estudi PSICOICTUS, un 26,3% dels pacients van presentar aquest trastorn afectiu en el moment del cribratge basal (3-5 dies post-IM), ja fos de manera aïllada (8,5%), presentant depressió i a més, un altre trastorn afectiu com l'apatia (6,8%) o presentant depressió i alteracions cognitives alhora (11%). La depressió es pot valorar segons diversos criteris ja sigui utilitzant la classificació del DSM-V o utilitzant una escala de valoració psiquiàtrica com pot ser el MADRS, entre d'altres. En el nostre estudi es va aplicar aquesta última escala ja que permet realitzar una monitorització simptomàtica, avalua la gravetat de la depressió i la resposta al tractament i, a més, està validada a l'espanyol des de 2002 (Lobo et al., 2002).

Per altra banda, l'apatia és una condició psicològica que no ha plantejat gaire interès als investigadors en comparació a altres alteracions que apareixen després d'un ictus, com el deteriorament cognitiu i la depressió, malgrat la seva alta incidència. A més, també afecta negativament al procés de recuperació funcional i de readaptació social i familiar del pacient (van Dalen et al., 2013). Aquest fet pot ser degut a què no hi ha suficients instruments adequats per a la seva valoració i, a part, que en ocasions apareix com un símptoma de la depressió o el deteriorament cognitiu, i no com una entitat clínica independent (Jorge et al., 2010). De fet, en l'estudi PSICOICTUS només es van identificar 2 pacients (1,7%) que tinguessin apatia aïllada en el cribratge basal, 8 pacients (6,8%) presentaven apatia i depressió alhora i 4 pacients (3,4%)

presentaven apatia i alteracions cognitives. Per fer el diagnòstic de l'apatia en aquest estudi es va utilitzar l'AES-C que avalua i quantifica la seva dimensió afectiva, conductual i cognitiva (Marin RS, 1996) i que pot estar complementada per un familiar o un cuidador, presentant una bona fiabilitat (Diana E. Clarke et al., 2011). A més, va ser validada en pacients amb demència, ictus i depressió major (Marin RS et al., 1991).

Per altra banda, també s'ha observat una relació entre l'apatia i la depressió, de manera que els pacients amb API presenten depressió amb major freqüència i gravetat que els subjectes que no la tenen (Van Dalen et al., 2013). Tot i així, l'apatia pot ser un símptoma de depressió i moltes escales que avaluen la depressió també contenen ítems que valoren l'apatia. Per aquest motiu, en la present tesi els pacients amb depressió aïllada, apatia aïllada i depressió i apatia es van tractar de manera conjunta dins del grup IM amb alteracions afectives.

En l'estudi PSICOICTUS 17 pacients (14,4%) presentaven al mateix temps alteracions afectives (depressió i/o apatia) i cognitives en el moment basal, tot i així, no es va observar una correlació significativa entre puntuacions baixes en l'escala de MoCA i el risc de patir alteracions afectives després d'un IM. En estudis anteriors es va observar que un dels factors de risc de presentar alteracions afectives post-ictus és presentar deteriorament cognitiu, és a dir, menors puntuacions en l'escala de cribratge cognitiu MoCA, on hi ha una correlació positiva entre la presència d'alteracions afectives i la gravetat d'aquest deteriorament, sobretot de les funcions executives (Van Reekum, 2005). No obstant, aquests resultats podrien estar esbiaixats perquè els subjectes que presenten depressió i/o apatia mostren una falta d'interès i s'esforcen menys a l'hora de realitzar els tests cognitius, de manera que obtenen puntuacions més baixes (Dean AC. et al., 2009). Per contra, en un altre estudi, es va observar que al voltant del 50% dels pacients amb problemes cognitius no desenvolupen alteracions afectives, de manera que la presència de deteriorament cognitiu no és suficient per l'aparició de l'apatia i/o depressió (Starkstein SE et al., 2005), com corroboren els nostres resultats.

En fer el seguiment longitudinal a l'any post-IM de la depressió es va observar que hi havia una tendència a la millora tant en el grup IM amb alteracions afectives com en el grup IM amb alteracions afectives i cognitives. Cal destacar que només dos pacients que patien depressió al moment basal però no als 12 mesos post-IM van rebre tractament psicofarmacològic. Com afirmen Towfighi i col·laboradors, estudis longitudinals de DPI han descrit una evolució natural dinàmica amb recuperacions al llarg del temps, però encara hi ha poca informació de si el curs de la DPI és diferent del curs de la depressió sense història d'ictus (Towfighi et al., 2017). Pel que fa a l'evolució de l'apatia es va mantenir estable en el grup amb alteracions afectives i va tendir a presentar una millora, encara que no significativa, en el grup amb alteracions afectives i

cognitives. Això pot ser degut possiblement a les dificultats per diagnosticar i tractar eficaçment l'apatia. Per altra part, hi va haver una millora del rendiment cognitiu al grup IM i alteracions afectives i cognitives explicada segurament a la disminució de la DPI i API en aquests pacients (Terroni et al., 2012).

La qualitat de vida relacionada amb la salut actualment és clau en l'avaluació d'assaigs clínics per a l'ictus (Mahesh P.K.B et al., 2018). La primera escala desenvolupada i validada a l'espanyol per avaluar la qualitat de vida en supervivents d'ictus va ser la ECVI-38 (Fernández Concepción et al., 2008). Els subjectes amb alteracions afectives van obtenir puntuacions més elevades en l'escala d'ECVI-38, el que indicava que aquests pacients van tenir una pitjor percepció de la qualitat de vida. Una puntuació elevada en l'ítem 4 (emocions) en el moment basal i una puntuació elevada en l'ítem 4 i l'ítem 5 (sentiments) als 12 mesos post-IM van presentar diferències significatives en l'anàlisi univariada entre el grup IM amb alteracions afectives i la resta de grups. Pocs estudis han identificat factors associats amb la qualitat de vida en supervivents d'ictus en la fase aguda (Carod-Artal, 2012), tot i així, un estudi dut a terme per Carod-Artal, l'any 2005, va definir la depressió com un factor predictor d'una pitjor qualitat de vida i recuperació funcional després d'un ictus (Carod-Artal et al., 2005).

En l'anàlisi univariada hi va haver diferències estadísticament significatives en la variable edat entre els diferents grups experimentals, sent els pacients més joves ($63,5 \pm 12,2$ anys) els que presentaven més alteracions afectives. No obstant, no va aparèixer com a factor predictor de les alteracions afectives després d'un IM. En treballs previs es va observar un major risc de DPI i API en pacients d'edat avançada (Ayerbe et al., 2011; Espárrago Llorca et al., 2015; Chao Feng et al., 2014; Fernández C. et al., 2012 ; Vojtkiv-Samoilovska & Arsovska, 2018), resultats contraris als obtinguts per nosaltres, degut, possiblement, a què en la cohort PSICOICTUS els pacients més joves encara estaven en edat laboral, i al patir l'ictus la majoria desenvolupaven una incapacitat que no els permetia fer la seva funció professional. De fet, la incapacitat laboral és un factor predictor de depressió a l'any post-ictus (Carod Artal et al., 2002). Per altra banda, pel que fa al sexe, es va trobar una major proporció de dones en el grup de pacients amb alteracions afectives després de patir un IM i el sexe femení va esdevenir com a factor predictor de patir alteracions afectives en l'anàlisi multivariada. Wade i col·laboradors van ser un dels primers autors en observar la relació entre el sexe femení i la DPI, entre altres factors com la pèrdua de la independència funcional, viure sol i tenir una baixa freqüència d'activitats socials (D.T Wade, J. Legh-Smith, 1987). Un metanàlisi dut a terme l'any 2017 també va concloure que el sexe femení era una factor de risc significatiu de DPI en la fase aguda i subaguda (≤ 3 mesos), tal i com havien recolzat investigacions prèvies (Y. Shi et al., 2017). Alguns estudis consideren que els canvis

hormonals potser tenen un paper important en l'aparició de DPI degut al seu impacte en l'estat d'ànim de les dones (Katona & Livingston, 2000).

En l'anàlisi univariada els antecedents psiquiàtrics previs (ansietat i depressió, diagnosticats prèviament a l'ictus) i haver pres tractament psicofarmacològic van mostrar diferències significatives entre els diferents grups i, concretament, la història de síndrome depressiva abans de l'ictus es va mostrar com a factor predictor d'alteracions afectives en l'anàlisi multivariada. Aquesta relació està recolzada per la literatura com mostren algunes revisions sistemàtiques (Carod Artal, 2006; De Ryck et al., 2014), en les quals es demostra que en diversos estudis els antecedents de depressió o trastorn mental són factors de risc de la DPI.

En l'anàlisi univariada i multivariada cap variable radiològica va mostrar diferències estadísticament significatives entre el grup IM amb alteracions afectives i la resta de grups. Hi ha dades controvertides sobre les troballes en la neuroimatge i la relació amb les alteracions afectives després d'un ictus. Un percentatge de volum de la lesió isquèmica més elevat i focus d'isquèmia cerebral múltiples són factors predictors de freqüències més altes de DPI en pacients que pateixen un ictus isquèmic (W. N. Zhang et al., 2013), fet que suggereix que una major pèrdua de teixit neural pot ser un factor de risc per la DPI. A més, estudis recents també han relacionat un major risc de DPI per un efecte acumulatiu d'una malaltia de petit vas o infarts llacunars i també per una alteració de la substància blanca com la leucaraiosis (Liang et al., 2018; Y. Shi et al., 2017; X. Zhang et al., 2017). Tradicionalment, també s'havia observat que existia una relació entre la localització de l'ictus isquèmic en zones frontals/anteriors o lesions en els ganglis basals, amb una major taxa de DPI en comparació amb els ictus en altres àrees del cervell i amb lesions específiques de l'hemisferi esquerre (Robinson & Jorge, 2016). Tot i així, altres estudis conclouen que la simptomatologia afectiva pot ser reactiva a factors externs, i no secundària a una lesió topogràfica concreta (Altieri et al., 2012), com s'ha pogut observar en els resultats de la present tesi.

Actualment, la investigació de biomarcadors circulants en sang com són els metabòlits i els lípids és una branca important de la ciència ja que la seva expressió es pot veure alterada quan es produeixen diferents condicions fisiopatològiques com pot ser un ictus (Mauri Capdevila et al., 2013). El cribratge dels perfils d'expressió d'aquestes biomolècules amb la finalitat d'identificar biomarcadors relacionats amb les alteracions afectives després d'un ictus és molt rellevant per poder millorar el diagnòstic, el pronòstic i la monitorització de l'evolució clínica d'aquests pacients. Concretament, la recerca de metabòlits mitjançant l'anàlisi de metabolòmica/lipidòmica no dirigida permet mesurar simultàniament la majoria de metabòlits i lípids possibles presents en el metaboloma humà sense la necessitat de tenir una hipòtesi preestablerta. Aquesta tècnica ens

permet fer una quantificació aproximada de la presència del metabòlit i és útil en la comparació entre diferents individus o grups experimentals perquè cada un pot tenir una signatura metabòlica /lipídica específica. Malauradament, fins al dia d'avui no s'ha trobat cap biomarcador ideal que diferenciï els pacients amb IM sense alteracions i els pacients amb IM i alteracions afectives.

En el present estudi, després de fer l'anàlisi de descobriment i validació de biomarcadors circulants mitjançant l'anàlisi de metabolòmica i lipidòmica no dirigida a partir de mostres de plasma dels pacients, els metabòlits *Isoleucyl-isoleucine*, *N-decanoylglycine*, DG (36:7) i PC (38:4) es van relacionar amb presentar alteracions afectives després d'un IM. Concretament, la expressió dels tres primers estava disminuïda respecte al grup IM sense alteracions i la expressió de l'últim es trobava augmentada. Després de fer una recerca d'informació, sota el nostre coneixement no hi ha estudis previs que relacionin aquestes 4 metabòlits amb l'ictus isquèmic o amb patir alteracions afectives com la depressió i l'apatia després de l'ictus.

L'*Isoleucyl-isoleucine* és un dipèptid compost per dos residus d'isoleucina i és el producte de la degradació incompleta de la digestió o catabolisme de les proteïnes. Es sap que alguns dipèptids tenen efectes fisiològics o de senyalització cel·lular, tot i que la majoria són intermediaris de vies específiques de degradació d'aminoàcids. Aquest dipèptid encara no s'havia identificat en teixits o biofluids humans tot i que hi ha diferents estudis que han detectat concentracions anormals d'aquest metabòlit en adults d'ambdós sexes, en femta de pacients amb càncer colorectal (Brown et al., 2016; Goedert et al., 2014; Sinha et al., 2016). El càncer colorectal és un dels càncers més comuns tant en homes com en dones a nivell mundial (Bray et al., 2018) i els seus supervivents poder desenvolupar diferents problemes psicoafectius. En una revisió sistemàtica de l'any 2013, es va indicar que la prevalença de depressió en aquest tipus de pacients podia oscil·lar entre el 13 i el 57% (Walker et al., 2013). Això ens podria indicar, que aquest metabòlit podria estar implicat en la depressió, independent de la patologia subjacent per la qual el pacient presenta aquesta alteració afectiva.

Per altra banda, la *N-Decanoylglycina* és una acilglicina que és un metabòlit dels àcids grassos. Poden aparèixer nivells elevats de certes acilglicines en orina i sang de pacients amb trastorns de l'oxidació dels àcids grassos i aquest metabòlit en concret es va relacionar amb la deficiència de l'AcilCoA deshidrogenasa de cadena molt llarga (VLCAD) (Gregersen, 1983). La VLCAD és un trastorn congènit d'herència autosòmica recessiva que no permet la degradació dels àcids grassos de cadena molt llarga el que provocarà el desencadenament de crisis metabòliques causades per hipoglucèmies i acumulació de substàncies tòxiques en sang. Fins al moment, aquesta malaltia no ha estat relacionada amb desordres afectius.

El metabòlit DG (36:7) és un diacilglicèrid format per dues cadenes d'àcids grassos unides a una molècula de glicerol. Aquest metabòlit ha estat detectat en sang en condicions normals en adults d'ambdós sexes, però fins al moment no hi ha cap estudi que l'hagi relacionat amb cap malaltia. Els nostres resultats van demostrar que aquest metabòlit es troba en concentracions més baixes en els pacients amb alteracions afectives post-IM en comparació als pacients sense alteracions.

Finalment, la PC (38:4) és una fosfatidilcolina que és un tipus de fosfolípid present en la bicapa lipídica de les cèl·lules i intervé en diferents vies metabòliques i de senyalització. Un estudi realitzat per Zordoky i els seus col·laboradors l'any 2015, va relacionar nivells baixos en sang d'aquest tipus de fosfatidilcolina amb una insuficiència cardíaca amb la fracció d'ejecció preservada en persones adultes d'ambdós sexes (Zordoky et al., 2015). En un altre estudi, dut a terme en nens i nenes d'1 a 13 anys es va observar que la presència d'aquesta biomolècula en sang en majors o menors concentracions determinava la pèrdua de pes durant la intervenció de l'estil de vida en nens i nenes obesos/ses (Wahl S. et al., 2013). En un altre projecte, es va obtenir un perfil metabòlic concret per a la predicció d'un defecte cardíac congènit fetal en dones embarassades durant el primer trimestre, en el qual la PC (38:4) es trobava en baixes concentracions (Bahado-Singh et al., 2014). En un estudi dut a terme l'any 2013 es van relacionar les concentracions plasmàtiques de fosfatidilcolines i esfingomielines amb la depressió i l'ansietat en un anàlisi de lipidòmica en el qual es va analitzar l'expressió de més de 148 lípids diferents d'aquesta família. Sota el nostre coneixement no hi ha cap investigació que hagi relacionat aquesta fosfatidilcolina en concret amb l'ictus isquèmic o la depressió, fet que fa que les nostres troballes siguin de gran interès.

En el nostre estudi, encara que es van tornar a identificar aquests 4 metabòlits en la cohort de validació, la *N-Decanoylglycina* no va mostrar diferències significatives en la seva expressió diferencial entre el grup IM sense alteracions i el grup IM amb alteracions afectives en aquesta cohort, de manera que es va descartar a l'hora de fer els models predictius.

Finalment, a mode de resum, en les figures 52, 53, 54 i 55 es mostren els principals factors de risc que van esdevenir predictors d'alteració afectiva després d'un IM en aquesta tesi (sexe femení, antecedents de síndrome depressiva prèvia a l'ictus i les concentracions dels metabòlits expressats diferencialment) i el percentatge de pacients que complien aquell factor de risc segons el grup experimental.

Dels 3 metabòlits expressats diferencialment, l'*Isoleucyl-isoleucine* va ser el metabòlit que tenia una millor capacitat discriminativa entre els pacients amb IM i alteracions afectives i els pacients amb IM sense alteracions tenint en compte l'AUC i utilitzant un punt de tall inferior a 0,9 (Sensibilitat: 0,526 i especificitat: 0,136). En la figura 52 es mostra el percentatge de pacients de la cohort PSICOICTUS que complien els factors de risc que van esdevenir predictors (sexe femení i antecedents de síndrome depressiva) conjuntament amb les concentracions d'aquest metabòlit. Es pot observar que un 39,1% dels pacients que tenien concentracions inferiors a 0,9 pertanyien al grup IM amb alteracions afectives, però si s'analitzava els pacients que a més eren dones i havien patit depressió prèviament a l'ictus aquest percentatge augmentava fins al 66,7%.

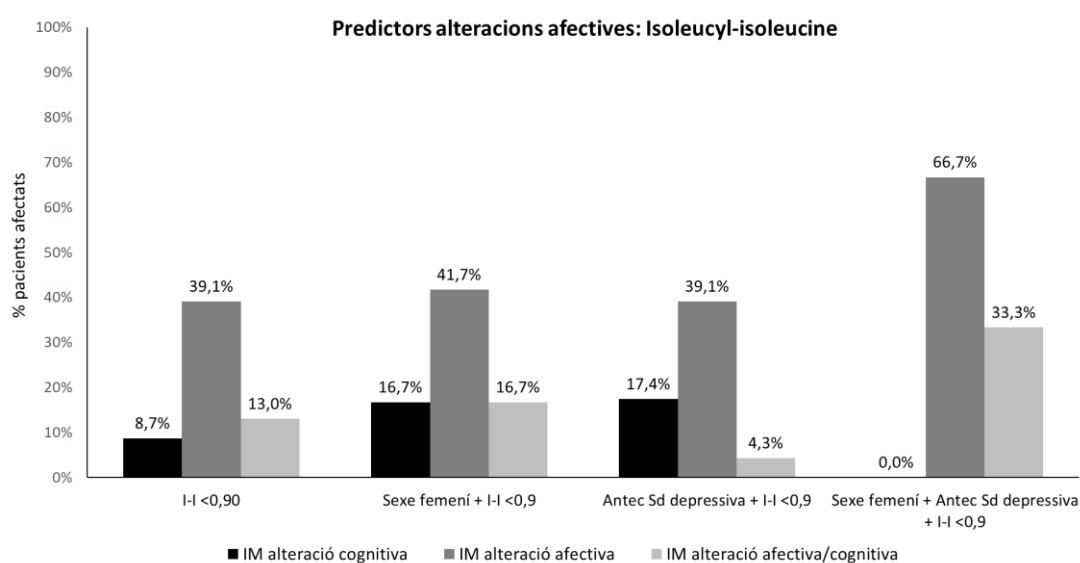


Figura 52. Predictors de les alteracions afectives després d'un IM segons la concentració del metabòlit Isoleucyl-isoleucine. Abreviatures: I-I: Isoleucyl-isoleucine; Antec: antecedents; Sd: síndrome

Posteriorment, es va dur a terme el mateix procediment amb el DG (36:7), amb un punt de tall amb concentracions superiors a 1,1 (Sensibilitat: 0,632 i especificitat: 0,485). En aquest cas, també un 39,1% dels pacients pertanyien al grup IM amb alteracions afectives. Si a part de la concentració del metabòlit, s'observava els pacients que tenien antecedents de síndrome depressiva prèvia a l'ictus aquest percentatge augmentava fins al 55,6% i, si a més, s'inclouïen els pacients del sexe femení el percentatge arribava fins al 75% (Figura 53). Tot i així, aquest biomarcador no va esdevenir com a factor predictor en el model multivariat.

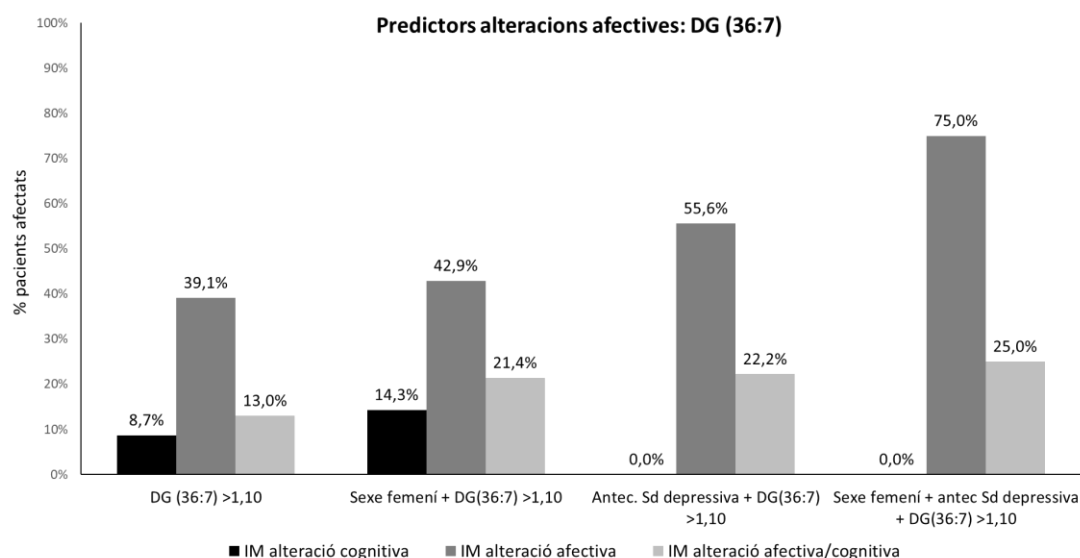


Figura 53. Predictors de les alteracions afectives després d'un IM segons la concentració del metabòlit DG (36:7). Abreviatures: Antec: antecedents; Sd: síndrome

Amb el lípid PC (38:4) es va utilitzar com a punt de tall una concentració superior a 1,19 (Sensibilitat: 0,474 i especificitat: 0,864). En aquest cas, quan es va ajuntar aquest criteri amb tenir antecedents de síndrome depressiva, es va obtenir el percentatge més elevat de pacients (66,7%) (Figura 54).

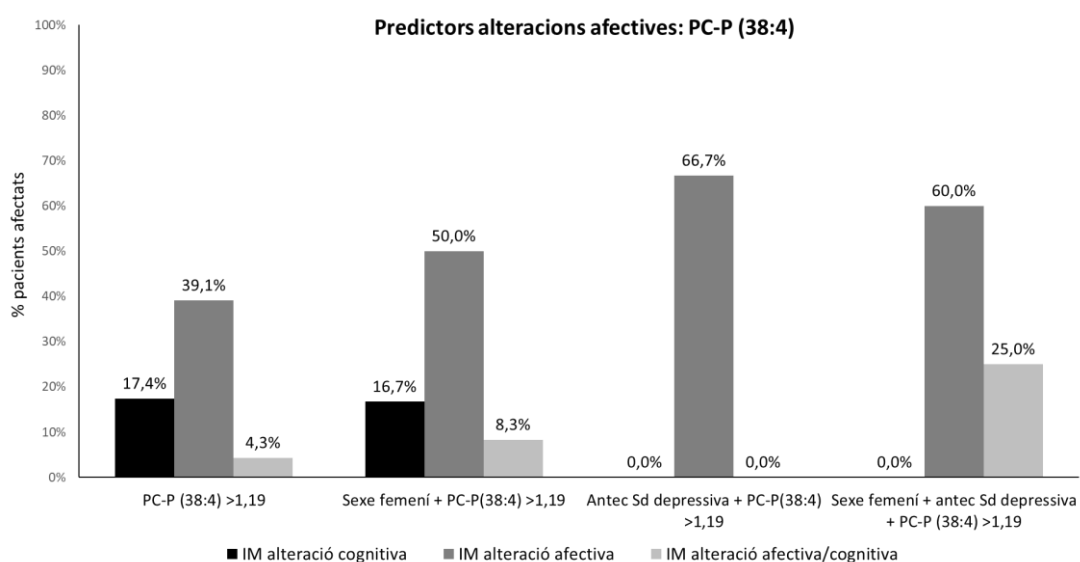


Figura 54. Predictors de les alteracions afectives després d'un IM segons la concentració del lípid PC (38:4). Abreviatures: Antec: antecedents; Sd: síndrome.

Finalment, es va fer una anàlisi tenint en compte els 3 metabòlits alhora en un panell de biomarcadors, obtenint una AUC superior que analitzant els metabòlits per separat, amb una AUC de 0,753 (IC 95% 0,61-0,90). A més, es va observar que un 100% dels pacients que pertanyien al grup IM amb alteració afectiva complien els criteris de concentració dels 3 metabòlits alhora (Figura 55). En aquesta figura també es mostra el percentatge dels pacients que patien alteracions afectives després d'un IM i eren dones i/o havien patit una síndrome depressiva prèvia, sense tenir en compte els metabòlits i es pot observar que el percentatge era inferior, demostrant així que la inclusió dels metabòlits al model augmenta la capacitat predictiva de les alteracions afectives després d'un IM.

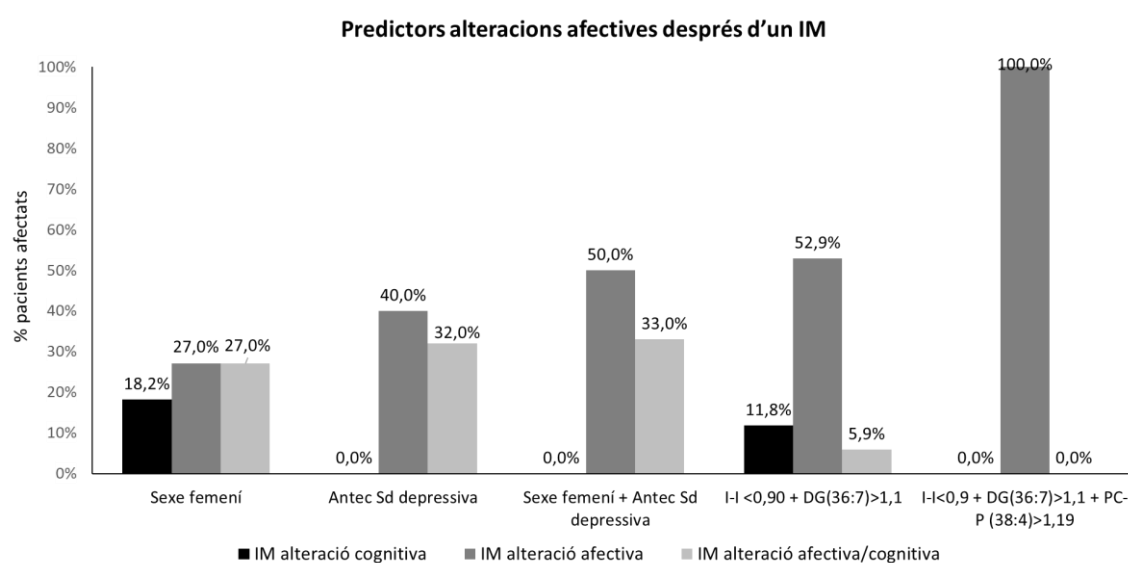


Figura 55. Predictors de les alteracions afectives després de patir un IM. Abreviatures: Sd: síndrome; Antec: antecedents; I-I: Isoleucyl-isoleucine

Encara queda molta feina per entendre millor les raons de perquè després d'un ictus es pot desenvolupar depressió i/o apatia, tot i que les troballes descrites en aquesta tesi mostren una evidència científica sobre els factors predictius de risc per desenvolupar alteracions afectives, sent els més importants el sexe femení, els antecedents de síndrome depressiva prèvia a l'ictus, concentracions inferiors a 0,9 en plasma del metabòlit *Isoleucyl-Isoleucine* i concentracions superiors a 1,19 en plasma de la PC (38:4). Per tant, els resultats d'aquesta tesi han posat de manifest la presència de factors predictors per a la detecció d'aquestes alteracions de manera precoç i poder fer un tractament personalitzat per a cada pacient per tal de millorar el seu pronòstic.

5.2 Predictors de les alteracions cognitives després d'un ictus minor

Després d'un ictus els pacients poden desenvolupar deteriorament cognitiu afectant negativament en la seva recuperació funcional i augmentant el risc de mortalitat (S Melkas. et al., 2009). Aquesta afecció ha estat àmpliament estudiada en pacients que han patit un ictus isquèmic però hi ha menys estudis que s'hagin centrat concretament en l'estudi del deteriorament cognitiu després d'un IM. En una revisió sistemàtica de l'any 2016 en la qual es van incloure estudis que van utilitzar bateries neuropsicològiques per l'avaluació de la cognició i no només proves de cribratge es va senyalar que hi havia entre un 29 i 68% dels pacients que patien DCL després d'un IM o AIT (Van Rooij et al., 2016). A més, en estudis previs es va observar que un 55% dels subjectes tenien alteracions en almenys un domini cognitiu (Madureira et al., 2001), un 51 % tenien síndromes frontals (Hoffmann M. et al., 2009) i entre un 18 i un 40% tenien disfunció executiva (Nys GM. et al., 2007), després de patir un ictus isquèmic. Tot i així, aquests resultats poden variar d'un estudi a un altre per diferències en la composició de les cohorts de l'estudi, la varietat dels dissenys experimentals i les característiques dels tests utilitzats per fer l'avaluació.

En la cohort PSICOICTUS, un total de 11 pacients (9,3%) van presentar deteriorament cognitiu i 17 pacients (14,4%) van presentar alteracions cognitives i, a més, alteracions afectives després de patir un IM. Els pacients d'aquests dos grups van tenir una pitjor cognició global avaluada amb l'escala de cribratge cognitiu MoCA, obtenint unes puntuacions més baixes que els altres grups d'estudi. Aquest test, juntament amb el MMSE s'utilitzen com a instruments per al cribratge cognitiu, però no permeten l'avaluació de dèficits cognitius específics (Nys et al., 2005). Per això, és important aplicar de manera addicional una BNPC per avaluar concretament els dominis cognitius que poden estar afectats com la memòria verbal, la memòria visual, l'apràxia constructiva, l'atenció i la VPI i les funcions executives. En la present tesi, en tots els subjectes als quals se'ls va administrar una BNPC es va observar una disfunció cognitiva en almenys un domini cognitiu, sent els dominis més afectats l'atenció i VPI i les funcions executives. Segons Petersen i els seus col·laboradors el DCL no-amnèsic de domini múltiple és el que està més relacionat amb la patologia vascular (Petersen, 2003), fet que es corrobora en les nostres troballes.

Els resultats d'aquesta tesi no van mostrar diferències en el perfil neuropsicològic dels pacients que presentaven problemes cognitius segons si tenien alteracions afectives o no, ja que es va observar que en els dos grups els dominis cognitius amb més i menys afectació eren els mateixos. L'associació entre el deteriorament cognitiu i la depressió està extensament demostrada en pacients després d'un ictus (Terroni et al., 2012). Nys et al. van caracteritzar el perfil neuropsicològic en pacients amb símptomes depressius en la fase inicial de l'ictus i van examinar

la relació entre les característiques d'una lesió cerebral aguda i la presència de lesions isquèmiques cròniques. Van demostrar que en pacients que havien patit un ictus i tenien símptomes depressius des del principi s'observava un perfil neuropsicològic específic amb afectació de les habilitats visoperceptives, la memòria i el llenguatge, sobretot en aquells subjectes amb símptomes depressius moderats-greus. En canvi, en els pacients amb depressió sense història d'ictus predominaven les dificultats de concentració i VPI (Nys et al., 2005). Tot i així, al tenir problemes cognitius derivats d'una patologia vascular, independentment de la simptomatologia afectiva, el perfil cognitiu dels dos grups de pacients va ser no-amnèsic de domini múltiple (Petersen, 2003).

En fer el seguiment longitudinal a l'any post-IM del grup de pacients amb IM i alteracions cognitives es va observar una major prevalença de depressió. En un estudi dut a terme l'any 2006 els autors van demostrar el valor predictiu del DCL en la fase aguda post-ictus com a factor de risc a llarg termini per al desenvolupament de símptomes depressius i una pitjor qualitat de vida (Nys et al., 2006). En el mateix grup de pacients també es va observar una disminució de l'apatia associada a una millora cognitiva als 12 mesos post-IM. L'associació entre la presència d'apatia i una reduïda funció cognitiva ha estat demostrada en diferents estudis (Greenop et al., 2009; Mayo et al., 2009). Aquesta relació podria explicar-se per diversos factors, un dels quals seria que la incapacitat de pensaments orientats a objectius podria conduir a una pèrdua d'interès i falta d'esforç en fer les proves cognitives, obtenint pitjors puntuacions (Dean et al., 2009; Whitney et al., 2007). Per això, aquest grup de pacients, al obtenir millors puntuacions en l'escala AES-c van tenir més motivació a l'hora de fer la prova de cribratge cognitiu, mostrant una millora.

L'edat avançada va esdevenir com a predictor de risc de deteriorament cognitiu post-ictus. En les últimes dècades l'esperança de vida ha augmentat considerablement tant en països desenvolupats com en països en vies de desenvolupament, de manera que també ha augmentat la prevalença de demència i problemes cognitius en la població adulta (Imtiaz et al., 2014). La majoria de revisions sistemàtiques sobre predictors de deteriorament cognitiu post-ictus coincideixen en què l'edat és un dels factors de risc més importants (Gottesman & Hillis, 2010; Kalaria et al., 2016; Mijajlović et al., 2017). A més, els pacients d'edat avançada, en general, tenen menys estudis i la relació entre el nivell d'estudis i la cognició ha estat àmpliament observada. Diferents treballs conclouen que tenir un baix nivell d'estudis és un factor de risc per patir deteriorament cognitiu i demència post-ictus (Brainin et al., 2015; X. Chen et al., 2016; Pendlebury & Rothwell, 2009), tot i així, en la present tesi no es va observar que un baix nivell d'estudis fos un factor predictor del baix nivell cognitiu. A part, a conseqüència de l'elevada mitjana d'edat dels pacients que presentaven alteracions cognitives (75 ± 7 anys), es va observar que una proporció

gran d'aquests pacients tenien una situació laboral de jubilació, mostrant diferències significatives en l'anàlisi univariada però sense esdevenir com a factor de risc predictor en l'anàlisi multivariada. Per tant, l'edat més gran de 70 anys és un factor de risc de presentar alteracions cognitives després d'un IM, independentment del nivell d'estudis i la situació laboral del pacient.

La relació entre el sexe i el DCL no està ben establida ja que la major esperança de vida de les dones pot variar els anàlisis estadístics d'alguns projectes perquè al patir l'ictus isquèmic en edats més avançades presenten una pitjor evolució i més seqüeles cognitives (Purroy et al., 2019). Tot i així, degut a què el 68,6% de la cohort PSICOICTUS eren homes, i concretament en el grup IM amb alteracions cognitives el percentatge era del 63,6%, es va observar que el sexe masculí tenia una major predisposició a patir alteracions cognitives després d'un IM en l'anàlisi univariada però no va esdevenir com a predictor de risc en l'anàlisi multivariada.

En fer l'anàlisi del perfil bioquímic dels pacients els nivells elevats de creatinina van esdevenir com a factor predictor a patir alteracions cognitives post-IM, i els nivells alts de triglicèrids van esdevenir com a factor protector. La creatinina és un compost orgànic generat a partir de la degradació de la creatina. En general, nivells alts de creatinina en sang i baixos en orina indiquen una malaltia renal. En pacients amb malaltia renal crònica (MRC) avançada, les alteracions del sistema nerviós constitueixen una de les majors causes de discapacitat. Així mateix, el tractament dialític s'associa principalment amb 3 desordres del SNC: la síndrome de desequilibri dialític, demència per diàlisi i disfuncions intel·lectuals progressives. Aquestes disfuncions intel·lectuals es veuen reflectides en alteracions de la funció cognitiva global, en la funció executiva, el llenguatge, la memòria i atenció, la fatiga mental i els trastorns afectius (Murtaza & Dasgupta, 2021). Segons Elias i col·laboradors, les funcions cognitives ja es veuen afectades en una fase primerenca de la insuficiència renal crònica (Elias et al., 2009) i la prevalença de DCL i demència en pacients amb MRC en fase V supera el doble que en la població general (Burns et al., 2018). A més, diferents estudis de la literatura també han associat la MRC amb valors de filtrat glomerular per sota de 60 ml/min/1,73m² amb un increment del risc de patir ictus isquèmic i hemorràgic (Lee et al., 2010; Toyoda & Ninomiya, 2014). Els resultats d'aquesta tesi també associen nivells elevats de creatinina amb problemes cognitius, corroborant les troballes de la literatura. Per altra banda, nivells elevats de triglicèrids que són una important font d'energia i estan presents en els teixits adiposos i el torrent sanguini s'han correlacionat amb un major risc d'arterioesclerosi, HTA, DM, malaltia cardíaca i MCV (Freiberg et al., 2008). No hi ha estudis en la literatura en els quals s'hagi descrit una relació entre nivells baixos de triglicèrids en sang i un major risc de patir deteriorament cognitiu, tot i que en un estudi recent s'ha observat que nivells baixos de triglicèrids en dones pot incrementar el risc de patir un ictus hemorràgic (Rist et al., 2019).

Entre les malalties que causen demència hi ha la malaltia d'Alzheimer, la demència vascular, la demència per cossos de Lewy i la demència fronto-temporal (Prince & Jackson, 2009). Concretament, la prevalença de la malaltia d'Alzheimer ha augmentat de forma alarmant en els últims anys representant entre el 50 al 70% dels casos de demència (Amemori et al., 2015) i les causes que la originen encara no han sigut del tot establertes. Alguns dels factors de risc que han estat associats a la malaltia d'Alzheimer són els esdeveniments vasculars i els factors genètics (Barnard et al., 2014), sent un dels més importants la presència de l'al·lel $\epsilon 4$ del gen *APOE* (Kim et al., 2014). L'*APOE* és un gen polimòrfic amb tres al·lells coneguts com $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ i $\epsilon 4$ que s'hereten de manera codominant. L'al·lel $\epsilon 4$ és un dels factors genètics més fermament associats amb el risc de patir la malaltia d'Alzheimer de manera esporàdica i la progressió d'aquesta des d'un DCL (E.H.Corder et al., 1993; Fei & Jianhua, 2013) i, per contra, l'al·lel $\epsilon 2$ està considerat un factor protector contra aquesta mateixa malaltia (E.H. Corder et al., 1994). Entre el 60 i 80% dels pacients que pateixen Alzheimer tenen el polimorfisme *APOE* $\epsilon 4$ i s'ha observat que els adults amb aquest polimorfisme tenen majors concentracions de β -amiloide en el cervell el que suggereix que l'*APOE* juga un paper important en l'eliminació del pèptid β -amiloide (Hanson et al., 2013; Kim et al., 2014). Es va fer el genotipat del gen *APOE* en la cohort PSICOICTUS per observar si hi havia algun pacient amb predisposició genètica a patir la malaltia d'Alzheimer. En fer l'anàlisi, no hi va haver diferències estadísticament significatives entre els diferents genotips del gen *APOE* i els diferents grups experimentals formats segons els resultats de les proves de cribratge en el moment basal. Cal destacar, que cap pacient va tenir el genotip 4/4 i per tant no tenien una predisposició genètica a patir la malaltia d'Alzheimer i problemes cognitius.

La bibliografia que parla sobre la relació entre el deteriorament cognitiu post-ictus i les troballes en l'anàlisi de la neuroimatge és una mica controvertida. Segons els resultats obtinguts en aquesta tesi, la presència de lesions isquèmiques agudes en el territori cortical de l'ACM va ser un factor predictor de risc de la presència de deteriorament cognitiu post-IM en el model multivariat. La localització de la lesió isquèmica en el territori de l'ACM s'ha associat amb un baix nivell d'independència funcional després de l'ictus i en diferents estudis també ha esdevingut com a factor predictor de deteriorament post-ictus (Ng et al., 2007; Jaillard et al., 2010), resultats que es corroboren en el nostre estudi. Per altra banda, volums més grans d'infart es van associar amb alteracions cognitives post-IM en l'anàlisi univariada. Alguns autors, confirmen que la mida i la localització de la lesió isquèmica no es conclouent per l'aparició de deteriorament cognitiu (Gottesman & Hillis, 2010). Tot i així, alguns estudis han mostrat que lesions isquèmiques amb volums petits però situats en llocs estratègics com la circumval·lació angular o el fòrnix de l'hipocamp, poden causar alteracions cognitives molt greus al interrompre circuits fronto-subcorticals fonamentals (O'Brien & Thomas, 2015). Mandzia i col·laboradors també van afirmar

que els pacients amb infarts corticals crònics previs i amb infarts bilaterals aguts observats en la DWI tenien un pitjor rendiment en les funcions executives i la VPI (Mandzia et al., 2016). Els resultats d'aquesta tesi van mostrar que la presència d'infarts crònics previs era un factor de risc de presentar alteracions afectives i cognitives combinades amb un perfil neuropsicològic amb un pitjor rendiment en les funcions executives i l'atenció i VPI.

Quan en un organisme es produeix una lesió o un dany, hi ha diferents tipus de substàncies que són alliberades al torrent sanguini des dels diferents òrgans o teixits. Depenent de la zona on es produeixi la lesió, la gravetat i la intensitat, s'alliberen un tipus o un altre de substàncies que estaran implicades de forma directa en el desenvolupament i l'evolució del dany. Aquestes molècules són conegudes com a biomarcadors circulants. Fins al moment, la principal limitació dels biomarcadors clàssics de deteriorament cognitiu ha estat la seva recerca en LCR i la utilització de la tècnica PET per veure el metabolisme de la glucosa i el dipòsit de β -amiloide al cervell. La primera tècnica és molt invasiva i la segona molt costosa dificultant la seva aplicació en la pràctica clínica habitual. Actualment, els avenços tecnològics han permès utilitzar tècniques noves com la metabolòmica i la lipidòmica que permeten la mesura de múltiples biomarcadors en el plasma sanguini que són potencials per al diagnòstic, el pronòstic i el seguiment del deteriorament cognitiu, així com la capacitat de predir la seva reversió cap a una demència (O'Bryant et al., 2017).

En la present tesi es van identificar i validar 2 metabòlits mitjançant metabolòmica no dirigida que es trobaven sobre-expressats en els pacients amb IM amb alteracions cognitives respecte els pacients amb IM sense cap alteració. Aquests metabòlits són el *Tocofersolan* i la *2-hydroxyhexadecanoylcarnitina*.

El *Tocofersolan* pertany a una classe de compostos orgànics coneguts com a compostos de la vitamina E i són molècules liposolubles que contenen o deriven d'un esquelet de tocoferol o tocotrienol. Tot i que no hi ha estudis previs que impliquin aquest metabòlit en alguna patologia concreta, des de mitjans del segle passat, s'ha fet evident que moltes molècules presents en la dieta com poden ser les vitamines poden influenciar en el bon funcionament cerebral. És conegut que les vitamines del complex B participen com a cofactors en reaccions importants del SNC com la síntesi de neurotransmissors, la síntesi de mielina i l'obtenció d'energia (Fernstrom, 2000). Per aquest motiu, la seva deficiència clínica està implicada en desordres del cervell relacionats amb la funció cognitiva. El SNC és particularment vulnerable al dany per radicals lliures degut a l'alt consum d'oxigen del cervell i la relativa escassetat d'enzims antioxidants comparat amb altres òrgans del cos (C N Bassett, 2003; Engelhart & Breteler, 2002), per això, tenint en compte les capacitats antioxidants de les vitamines A, E i C, aquestes han estat objectiu de molts estudis

relacionats amb la malaltia d'Alzheimer i el DCL (Farina et al., 2017; Monacelli et al., 2017; Wołoszynowska-Fraser et al., 2020). En diverses investigacions, es va observar que les concentracions sèriques de la vitamina E i el β -carotè van ser significativament més baixes en pacients amb malaltia d'Alzheimer i demència multi-infart comparat amb pacients controls (Schürks et al., 2010). Encara que no tots els estudis d'aquesta vitamina han estat associats al DCL, gran part dels resultats han demostrat que es troben en menors concentracions en individus malalts que en subjectes sans, indicant que han pogut ser consumides com el resultat d'una excessiva producció de ROS, pel que la seva ingesta procedent de la dieta o de suplementes vitamínics pot exercir un efecte protector enfront el DCL (Petersen et al., 2005). De manera similar, es va poder demostrar que aquells pacients que tenien una ingesta més gran de vitamina E procedent dels aliments tenien un menor risc a desenvolupar problemes cognitius (Morris et al., 2002).

El *Tocophersolan* tot i que es va tornar a identificar en la cohort de validació, en aquest cas no es va obtenir una expressió diferencial estadísticament significativa, de manera que es va excloure de l'anàlisi dels models predictius.

La *2-hydroxyhexadecanoylcarnitina* pertany a la família de les acilcarnitines que es van descobrir per primera vegada fa més de 70 anys (Fritz, 1959) i la seva funció principal és transportar àcids orgànics i àcids grassos des del citoplasma als mitocondris perquè es puguin descompondre i produir energia (Reuter & Evans, 2012). S'ha demostrat que nombrosos trastorns que provoquen alteracions en la producció d'energia i el metabolisme en l'organisme es caracteritzen per la producció i excreció d'acilcarnitines inusuals. L'augment de la *2-hydroxyhexadecanoyl carnitina* es va relacionar amb la malaltia VLCAD (Karall et al., 2015), igual que la *N-Decanoylglycina*, metabòlit de la mateixa família explicat anteriorment. A més, també es troba elevada en sang en pacients amb DMT2 (Hameed et al., 2020; M. Mai et al., 2013; X. Zhang et al., 2014). Les concentracions sèriques elevades d'acilcarnitines de cadena llarga són marcadors de resistència a la insulina i sorgeixen de la incapacitat de la insulina per inhibir el metabolisme dels àcids grassos dependent de la carnitina palmitoiltransferasa 1 (CPT-1) als músculs i al cor (Bruce et al., 2009). No obstant, en el nostre anàlisi no es va associar la presència de DMT2 amb problemes cognitius o amb un augment de la concentració d'aquest metabòlit. Altes concentracions en sang, també han estat relacionades amb la deficiència de la proteïna trifuncional mitocondrial (Park et al., 2009). La disfunció de les mitocòndries pot contribuir a l'expressió i incorrecte processament de la proteïna precursora de β -amiloide, de manera que podria actuar com a impulsor de DCL i malaltia d'Alzheimer (C. Sharma et al., 2021). Per altra banda, la seva sobre-expressió també s'ha observat en pacients amb insuficiència cardíaca crònica (Ahmad et al., 2016). Els problemes cognitius s'han

associat amb gran varietat de trastorns cardiovasculars i la presència de diferents comorbiditats com la HTA i la FA s'han relacionat amb el DCL. (Cannon et al., 2017). Per contra, en un estudi recent s'ha observat un decreixement en sang o plasma d'aquest metabòlit en pacients que pateixen psoriasis (C. Chen et al., 2020). En una revisió sistemàtica recent que va incloure 11 estudis diferents es va observar que en 9 d'ells hi ha havia una associació significativa entre la psoriasis i patir DCL o malaltia d'Alzheimer (Yen et al., 2021).

L'estudi de les acilcarnitines és una àrea molt activa en la recerca i és probable que en els propers anys es descobreixin noves acilcarnitines relacionades amb diferents patologies. Tot i que en la bibliografia actual no hi ha cap investigació que relacioni directament la *2-hydroxyhexadecanoylcarnitina* amb el DCL o amb l'íctus isquèmic minor, si que s'ha observat que està relacionada amb diferents patologies que poden cursar amb problemes cognitius. Els resultats d'aquesta tesi podrien obrir una nova porta d'investigació que podria millorar el diagnòstic i el pronòstic dels pacients amb IM.

Finalment, a mode resum, en la figura 56 es mostren els principals factors de risc que van esdevenir predictors d'alteració cognitiva després d'un IM en aquesta tesi (edat > a 70 anys, lesions isquèmiques agudes en el territori cortical de l'ACM i concentracions elevades en plasma de 2-hydroxyhexadecanoyl carnitina) i el percentatge de pacients que complien aquell factor de risc segons el grup experimental. Es pot observar que un 31,3% dels pacients amb edat avançada i lesió isquèmica al territori cortical de l'ACM pertanyien al grup IM amb alteració cognitiva i que si, a més, s'inclouïen aquells pacients que tenien concentracions superiors a 1,05 en plasma de la *2-hydroxyhexadecanoylcarnitine*, aquest percentatge augmentava fins al 50%, esdevenint un bon model predictiu de discriminació de pacients amb IM amb o sense alteracions cognitives amb una AUC de 0,875.

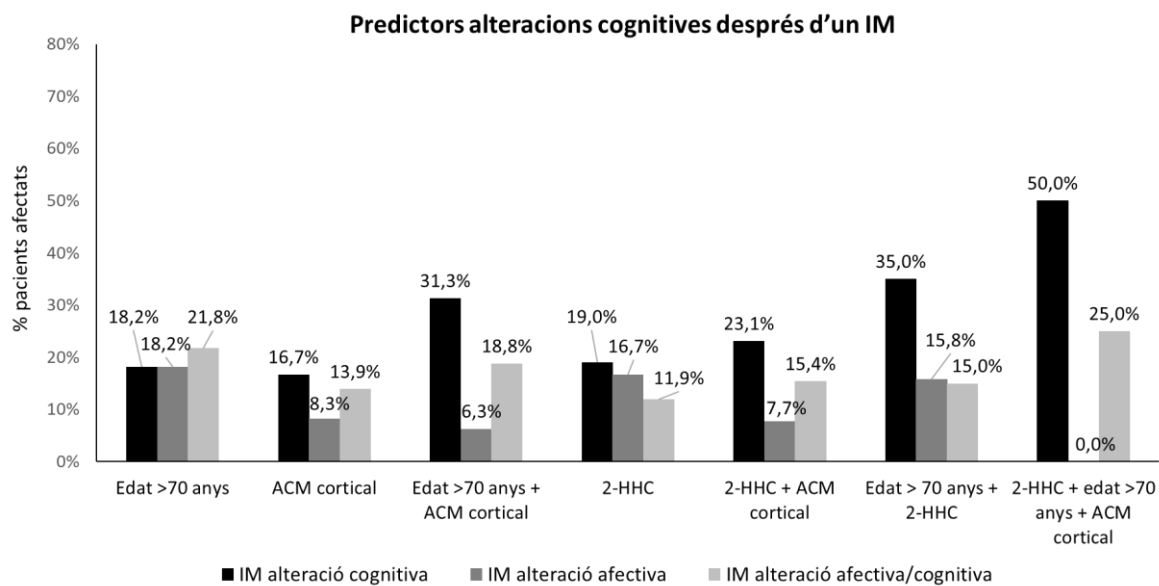


Figura 56. Predictors de les alteracions cognitives després d'un IM. Abreviatures: ACM: artèria cerebral mitja; 2-HHC: 2-hydroxyhexadecanoylcarnitine

5.3 Abordatge translacional: model animal ictus minor

Aquesta tesi s'ha centrat en l'estudi de l'ictus isquèmic i concretament de l'IM. Per tal d'entendre quines vies estan implicades en la fisiopatologia d'aquesta malaltia i poder desenvolupar noves estratègies en el seu diagnòstic i pronòstic és primordial utilitzar models experimentals preclínic en l'ictus isquèmic (Mergenthaler et al., 2004). En l'actualitat, segueix existint un important desequilibri entre les troballes relacionades amb l'ictus isquèmic en els models experimentals i la seva translacionalitat als pacients, ja que a excepció de la recanalització del vas oclòs, cap de les estratègies de tractament experimentals han arribat fins a la pràctica clínica habitual (Jickling & Sharp, 2015).

En l'estudi de l'ictus isquèmic, els models preclínic més generalment utilitzats són els rosegadors degut a la seva facilitat de manipulació, monitorització i processament de teixits, el seu menor cost i que tenen una millor acceptació ètica per la societat (Fluri et al., 2015). Els models murins més utilitzats són aquells models d'isquèmia focal en els quals s'ocloca l'ACM i concretament, en aquesta tesi s'ha emprat el model tMCAo mitjançant una craniectomia en el qual es fa una oclusió manual de l'artèria.

Fent una recerca en la literatura, es va observar que encara no s'ha descrit un model animal d'IM en el qual el ratolí presentés teixit cerebral infartat (diagnòstic diferencial de l'AIT), amb un volum d'infart petit i per altra banda que tingués un dèficit neurològic lleu i que aquest millorés en el temps. Per aquest motiu, es va decidir fer un estudi pilot mitjançant una tMCAo per trobar el model murí més idoni que tingués aquestes característiques. Després d'analitzar totes les dades, el model escollit va ser el de 5 minuts reperfusió/2 minuts oclusió de l'ACM, repetit durant 5 vegades i sacrificat a les 48 hores post-tMCAo, ja que complia tots els criteris de la definició d'IM, tenint un percentatge de volum d'infart petit i una afectació neurològica lleu i transitòria. Els models de 10 i 20 minuts de tMCAo es van descartar per no observar lesió isquèmica aguda tot i que complien el perfil neurològic. Per altra banda, els models de 30 i 40 minuts tMCAo van presentar volums d'infart grans i un grau d'afectació neurològica moderada i mantinguda en el temps, de manera que tampoc van complir els criteris de la definició d'IM. Cal destacar que el model escollit és un model de tolerància isquèmica (TI). La TI és un mecanisme intrínsec a través del qual el cervell, enfront un episodi d'isquèmia subletal, adquireix una resistència a possibles lesions isquèmiques posteriors (Xing et al., 2018). Aquesta forma d'estat adaptatiu està induït pel pre-condicionament isquèmic en el qual augmenta la resistència de les cèl·lules neuronals a una isquèmia severa degut a la pre-exposició d'episodis curts d'isquèmia/reperfusió, és a dir, a un estímul estressant controlat i moderat (Lim & Hausenloy, 2012). Alguns estudis diuen que l'AIT és

una correlació clínica de la tolerància isquèmica que podria conduir a una reducció de la gravetat d'un ictus posterior (Schaller, 2005). De fet, en el nostre model es produeixen 5 cicles de 2 minuts d'oclusió amb 5 minuts de reperfusió entre ells, el que suposa un fenomen de pre-condicionament isquèmic ja que hi ha una exposició d'episodis curts d'oclusió/reperfusió. Això, podria explicar l'afectació neurològica lleu i transitòria i un menor volum d'infart, ja que l'evidència clínica suggereix que un AIT previ a una MCV podria millorar el perfil neurològic i el dany de la lesió isquèmica després de l'ictus (Cameron Dezfulian, 2013).

Tot i que l'ictus isquèmic té un major risc d'incidència en homes (Brea et al., 2013), a l'estat espanyol és la primera causa de mort en dones. Segons dades del *Ministeri de Sanitat* tenen pitjors resultats funcionals presentant una major discapacitat. A més, un estudi desenvolupat per investigadors de l'Institut George per la Salut Global a Sidney (Austràlia), demostra que les dones estan infra-representades en els assaigs clínics sobre ictus en relació amb el número de persones que el pateixen en la població general (Cheryl Carcel et al., 2021). Pel que fa als projectes de ciència bàsica, s'observa la mateixa situació ja que la falta de femelles en els diferents estudis és alarmant i amenaça en fer menys fiables els resultats de la investigació biomèdica. Per això, en aquesta tesi, un cop escollit el model murí més idoni d'IM es va replicar en un grup de femelles per veure que no es produïen diferències entre els sexes. Al fer l'anàlisi no es van observar diferències estadísticament significatives entre mascles i femelles ni en el percentatge de volum d'infart ni en el grau d'afectació neurològica, de manera que aquest model animal permetrà ser utilitzat per estudiar els mecanismes subjacents de la malaltia i així poder garantir en un futur, una millor estratègia terapèutica adaptada per a cada individu.

Els models preclínics d'ictus que utilitzen ratolins sans no fan un abordatge translacional idoni cap a la patologia d'ictus en humans ja que els humans presenten una alta morbiditat presentant diversos FRV com poden ser la DMT2 i la HTA. Per això, segons l'*STAIR* (sigles del anglès: *Stroke Therapy Academic Industry Roundtable*) és important utilitzar models animals experimentals que presentin aquestes patologies per observar quin efecte tenen sobre l'ictus isquèmic. En aquesta tesi, es va utilitzar el model d'administració del fàrmac SZT en dosis baixes durant 5 dies consecutius per instaurar el model experimental de DMT2, i el model DOCA-salt per dur a terme el model experimental d'HTA.

Els resultats obtinguts en aquest estudi van mostrar que els ratolins diabètics tenien una tendència a presentar percentatges de volum d'infart més elevats que els ratolins no diabètics després d'un IM, tot i que aquesta no era significativa. A més, els ratolins diabètics tenien una afectació neurològica més greu a les 6h post-IM mesurada amb el mNSS i el Neuroscore.

Tenint en compte l'augment del nombre de persones diabètiques arreu del món, l'augment de la incidència d'ictus isquèmic en persones diabètiques i l'impacte de la diabetis en el dany cerebral isquèmic és necessari el desenvolupament de nous enfocaments terapèutics mitjançant models animals amb aquestes dues patologies. Per una banda, Chen i col·laboradors van demostrar que les rates desenvolupen hiperglucèmia, hiperinsulinèmia, intolerància a la glucosa i resistència a la insulina després de l'exposició a un ictus, sense la inducció de DMT2 prèviament (W. Y. Chen et al., 2016). També s'ha observat que l'envelliment pot alterar substancialment la fisiopatologia de la progressió de la diabetis augmentant el risc de patir una MCV (Abbatecola et al., 2015). Un dels models animals més àmpliament utilitzat per l'estudi de la relació entre la DMT2 induïda i el dany cerebral isquèmic és el model basat en la combinació de dosis baixes d'SZT i una dieta rica en greixos (Ding et al., 2017). MacDougall i Muir, l'any 2011 van dur a terme una revisió sistemàtica en la qual van observar que l'efecte de l'SZT induïa una hiperglucèmia aguda i això promovia un augment de la mida de la lesió isquèmica. Aquest fet va donar suport a la visió que la hiperglucèmia és un factor clau que provoca l'agreujament de les lesions cerebrals isquèmiques en pacients que pateixen diabetis (MacDougall & Muir, 2011). A més, la hiperglucèmia s'associa a un empitjorament en el perfil neurològic dels pacients, particularment en aquells que no han estat diagnosticats amb DMT2 (Yong & Kaste, 2008). En un estudi dut a terme l'any 2013, es va observar que hi havia una pitjor recuperació funcional després de l'ictus en rates diabètiques en comparació amb rates no diabètiques degut a un patró de vascularització i angiogènesis diferent en ambdós casos (Prakash et al., 2013). Per altra part, en un altre estudi es van descriure que la hiperglucèmia induïda per SZT tres dies abans de l'ictus augmentava la producció de ROS i l'activació de MMP-9 el que conduïa a un major dany a la BHE i a un augment de l'edema vasogènic després d'una isquèmica cerebral focal (Kamada H. et al., 2007). Estudis més recents, han demostrat que la MMP-3 i la MMP-9 juguen un paper important en el dany a la UNV després d'una isquèmia cerebral focal en animals diabètics (Hafez et al., 2018; Hafez et al., 2016).

En aquesta tesi es va utilitzar un model d'isquèmia cerebral que simulava un IM amb volums d'infart petits. En ratolins diabètics amb IM es va observar una tendència a presentar volums d'infart més grans que en ratolins sense DMT2 i IM, però aquesta no va ser significativa. No es van obtenir els mateixos resultats que en estudis previs possiblement degut a què en el nostre cas es va fer una tMCAo de poca durada. A part, els ratolins amb IM tenien una afectació neurològica lleu i transitòria amb una major alteració a les 6 hores post-IM, resultats observats també en ratolins diabètics amb IM però amb una alteració neurològica més greu en aquest grup d'animals. Cal tenir en compte, que els estudis fets fins al moment només inclouen models animals de tMCAo amb oclusions de l'ACM més llargues que produïen una afectació neurològica més greu i volums d'infart més grans. Tot i així, els nostres resultats demostren que encara que es produeixen

oclusions de l'ACM de menys temps la presència de comorbiditats com la DMT2 poden causar un pitjor dany cerebral i funcional després d'un IM.

Per contra, en el model de ratolins hipertensos es van observar percentatges de volum d'infart inferiors als de ratolins no hipertensos després de patir un ictus isquèmic i no hi va haver diferències rellevants pel que fa al perfil neurològic. La HTA indueix disfunció endotelial i angiopatia en els vasos sanguinis i és més freqüent en persones grans (> 60 anys), augmentant substancialment les lesions isquèmiques cerebrals tant en humans com en models animals (Benjamin et al., 2017). Tenint en compte que aproximadament un 75 % dels pacients que pateixen un ictus són hipertensos és sorprenent que només un 10 % dels estudis preclínic d'ictus isquèmic utilitzin animals hipertensos per provar possibles noves teràpies de tractament (Van der Worp et al., 2010). Molts estudis suggereixen que la HTA està caracteritzada per un entorn alt en citoquines pro-inflamatòries i aquest fet contribueix a que hi hagi un pitjor dany tissular i una recuperació funcional limitada en pacients hipertensos que pateixen un ictus isquèmic (Ahmari et al., 2019; Ganta et al., 2006; Santisteban et al., 2015). Per això, incorporar la HTA como una patologia comòrbida és crucial per fer un bon model preclínic i així augmentar la translacionalitat de les potencials estratègies de diagnòstic, pronòstic i tractament de l'ictus isquèmic. El model preclínic de DOCA-salt es va utilitzar per primera vegada per estudiar la HTA en la dècada de 1970 i ha anat millorant fins al dia d'avui convertint-se en un dels millors models translacionals d'HTA (Yemane et al., 2010). Estudis fets en rates sotmeses a una tMCAo d'1 hora van demostrar que la mida de l'infart era dos vegades major en rates hipertenses que en normotenses i a més, mostraven una recuperació neurològica menor a llarg termini (McCabe et al., 2009; McGill et al., 2005). Cal tenir en compte que la majoria d'estudis d'HTA i ictus isquèmic utilitzen la rata com a model animal, i no utilitzen el ratolí, com en el nostre cas (Candelario-Jalil & Paul, 2021). A part, el model d'isquèmia cerebral més utilitzat és el model intraluminal que produeix volums d'infart més elevats i té una major taxa de mortalitat que el model de la craniectomia, sobretot en animals d'avançada edat (Crapser et al., 2016). Per aquests motius, els resultats obtinguts per nosaltres en els quals es va utilitzar un model de ratolí amb una tMCAo de 60 minuts mitjançant craniectomia, no van mostrar les mateixes troballes que ens els estudis previs. A més, en el nostre model el moment de sacrifici va ser als 7 dies post-tMCAo, i en estudis previs s'havia descrit que el moment de sacrifici on s'observava un major volum d'infart era a les 72 hores post-cirurgia (Arsava et al., 2009).

Finalment, els resultats del model animal diabètic-hipertens amb IM no van mostrar un augment del volum de la lesió isquèmica ni majors alteracions del perfil neurològic en aquests animals en comparació als animals amb un sol FRV i IM o als animals sense FRV i IM. Estudis previs, havien vist que la coexistència de la diabetis amb altres comorbiditats com la HTA i la dislipèmia també podien contribuir a l'agreujament del dany cerebral isquèmic entre els diabètics (Alonso-Morán et al., 2015; Grabowski et al., 1988; Herz et al., 2014, 2015; Zhao et al., 2015). A més, es va observar que la utilització del model d'isquèmia cerebral intraluminal en animals amb diferents comorbiditats augmentava molt el risc de mortalitat degut a la deshidratació i a la pèrdua de pes excessiva. Acurtar el temps d'oclusió de l'ACM en aquests animals, com en el cas d'un IM, i la utilització del model tMCAo distal, com en el cas del model de craniectomia, disminueix significativament la taxa de mortalitat (Hermann et al., 2019), fets que es van corroborar en els nostres resultats on la taxa de mortalitat va ser molt baixa. Les diferències en els resultats de la literatura publicada fins al moment i els resultats obtinguts en aquesta tesi poden ser deguts a la selecció de models diabètics/hipertensos diferents, a la utilització de diversos models d'isquèmia cerebral, a la gravetat de la lesió isquèmica determinada per la duració de la MCAo i al grau de reperfusió post-oclusió (oclusió transitòria o permanent) (Candelario-Jalil & Paul, 2021).

Per últim, per poder validar satisfactòriament els resultats del nostre model animal d'IM, són necessàries més investigacions augmentant el número d'animals, utilitzant animals d'edat més avançada, la utilització de femelles en els experiments de comorbiditats i tenir en compte l'ús d'altres models d'isquèmia cerebral.

5.4 Limitacions

Tot i els resultats obtinguts en aquest treball, l'estudi presenta una sèrie de limitacions.

La principal limitació d'aquesta investigació ha estat la mida de la mostra de la cohort PSICOICTUS ja que el reclutament de l'estudi es va haver d'aturar al març de 2020 degut a la pandèmia mundial de la COVID-19, limitant la potència estadística. La mostra obtinguda va limitar l'estudi de subgrups i es van haver d'unificar els pacients en 4 grups experimentals per fer l'anàlisi de les dades: IM sense alteracions, IM amb alteracions afectives (depressió i/o apatia), IM amb alteracions cognitives i IM amb alteracions afectives i cognitives. A més, tots els seguiments longitudinals que s'havien de fer de manera presencial als 6 i 12 mesos post-ictus que van coincidir durant la època de tancament per la pandèmia, van passar a fer-se de manera telefònica en els casos que era viable i en els que no, es van perdre els resultats.

Una altra limitació de l'estudi ha sigut l'absència d'un grup control sa que no hagués patit un IM. No obstant, per mirar el rendiment cognitiu en els diferents dominis avaluats en la BNPC es van utilitzar els barems poblacionals ajustats per edat i nivell educatiu del projecte Neuronorma, el que va permetre establir uns resultats fiables.

En l'estudi de biomarcadors, a 25 pacients (21,2%) no se'ls hi va poder fer la RM degut a diferents contraindicacions, de manera que en aquests subjectes no es va poder corroborar que tenien presència de lesió isquèmica aguda en la DWI per poder fer el diagnòstic diferencial amb l'AIT i no es van poder incloure en l'anàlisi de les variables de neuroimatge. Per altra banda, en la recerca de biomarcadors circulants els grups experimentals no estaven representats equitativament. A part, pel que fa a la fase de validació dels resultats obtinguts en la cohort de descobriment la tècnica idònia per dur-la a terme hagués sigut una anàlisi de metabolòmica/lipidòmica dirigida mitjançant estàndards. A més, un dels objectius inicials de la tesi també era fer un estudi de biomarcadors en LCR d'aquells pacients amb IM i alteracions cognitives. Degut a la situació pandèmica de la COVID-19 i a diferents contraindicacions aquest anàlisi no es va poder completar per la manca de mostres.

En l'estudi pilot del model animal d'IM es va observar una alta variabilitat en el volum de la isquèmia cerebral dins del mateix grup experimental fet que podia provocar un biaix estadístic. A part, tot i que es va utilitzar un grup de femelles per validar els resultats obtinguts del model murí d'IM en mascles, en el qual no hi ha haver diferències estadísticament significatives pel que fa al volum de l'infart i el perfil neurològic entre ambdós sexes, no es van utilitzar femelles en l'estudi

pilot i en l'estudi de comorbiditats d'HTA i DMT2. A més, tots els animals utilitzats tenien entre 2-4 mesos i potser s'hauria de proposar fer un altre estudi en ratolins d'edat més avançada.

Tot i aquestes limitacions, els resultats d'aquesta tesi demostren que els pacients amb IM també són una població de risc de patir depressió, apatia i DCL de manera que encara que es produeixi una resolució total de la simptomatologia neurològica focal i tinguin puntuacions baixes en l'escala de severitat d'ictus NIHSS, en la pràctica clínica habitual hi ha d'haver una millora en l'atenció assistencial i s'ha de tenir en compte l'avaluació, el diagnòstic, el pronòstic i el tractament d'aquests tipus de patologies després d'un IM.

5.5 Propostes de futur

Després de patir un IM, més enllà dels tractaments en la fase aguda també és essencial prestar atenció a altres aspectes que millorin el pronòstic i la qualitat de vida d'aquests pacients, com el tractament de l'estat emocional i el deteriorament cognitiu ja que aquestes alteracions poden repercutir en la recuperació i rehabilitació d'aquests pacients. Per aquests motius, és necessari ampliar la investigació amb nous estudis que no excloguin els pacients amb IM tot i tenir una simptomatologia neurològica lleu.

En la pràctica clínica habitual seria essencial poder fer proves de cribatge de depressió, apatia i deteriorament cognitiu als pacients que han patit un IM i en aquells que donessin positiu en DCL s'hauria d'aplicar una BNPC per tal d'estudiar quins són els dominis cognitius específics més afectats. A més, també seria molt important poder establir una continuïtat assistencial d'aquests pacients i poder elaborar programes de neurorehabilitació per poder minimitzar o compensar els possibles dèficits funcionals derivats de la isquèmia cerebral, així com programes de psicoteràpia per a aquelles persones amb alteracions afectives.

Per altra banda, la recerca de nous biomarcadors tant de neuroimatge com circulants és una àrea de investigació emergent, ja que poden arribar a predir el risc de patir un esdeveniment patològic en una persona sana. En aquesta tesi, s'han pogut establir diferents patrons en la localització i el volum de la lesió isquèmica segons el perfil afectiu i/o cognitiu dels pacients després de patir un IM. De fet, les nostres dades fiquen de relleu la necessitat de tractar amb teràpia de reperfusió les persones amb IM en el territori de l'ACM per tal d'evitar alteracions cognitives. També s'han identificat diferents molècules amb canvis d'expressió diferencials relacionats amb persones que han patit un IM i poden desenvolupar alteracions afectives i/o cognitives. Tot i així, per tal de poder completar l'estudi, seria de gran interès poder reclutar una altra cohort de pacients més

gran amb les mateixes característiques i poder determinar i validar de manera paral·lela els mateixos biomarcadors trobats en la nostra cohort d'estudi. Pensant a llarg termini, seria molt interessant que la utilització d'aquests biomarcadors pogués arribar a la clínica habitual, de manera que fent una anàlisi de sang a pacients amb IM es podria predir, juntament amb altres factors, el risc de patir alteracions afectives i/o cognitives. Això, permetria fer un millor diagnòstic i pronòstic d'aquests pacients i facilitaria la presa de decisions en el tractament de la fase aguda, així com es podria fer un tractament de neurorehabilitació i de psicoteràpia de manera més precoç i individualitzada.

Finalment, en la literatura actual no estava caracteritzat un model animal d'IM però amb els resultats d'aquesta tesi s'ha pogut proposar i determinar un model d'aquesta patologia a través d'una tMCAo mitjançant una craniectomia en ratolins de la soca CD1 (mascles i femelles). Tot i així, per tal de poder-lo validar són necessàries més investigacions tenint en compte l'ús d'altres soques de ratolins, d'altres models d'isquèmia cerebral i d'animals d'edat més avançada. També s'hauria de dur a terme l'estudi de comorbiditats (HTA i DMT2) en un grup de ratolins femelles, i augmentar més la mida mostral de cada grup per poder obtenir resultats més conclouents.

6. CONCLUSIONS

6. Conclusions

A continuació s'enumeren les conclusions finals derivades d'aquesta tesi doctoral alineades amb els objectius inicialment plantejats:

Objectiu 1: Descriure les característiques clíniques i sociodemogràfiques dels pacients amb IM.

1. Els pacients amb IM eren majoritàriament homes, jubilats i amb estudis primaris i/o secundaris acabats. El FRV més predominant va ser la HTA seguit de la dislipèmia i segons la classificació TOAST l'etiologia de l'ictus més predominant va ser la ideterminada seguida de la cardioembòlica.

Objectiu 2: Avaluar les alteracions afectives i cognitives després d'un IM, així com avaluar la seva evolució durant el primer any post-ictus.

2. La prevalença observada d'alteracions afectives pures definides com depressió i/o apatia en els 5 primers dies després d'un IM va ser del 17%. A més, un 14,4% dels pacients van presentar tant alteracions afectives com cognitives, per tant un 31,4% de la cohort van presentar alteracions afectives en el moment basal.

3. La prevalença observada d'alteracions cognitives pures en els primers 5 dies després d'un IM va ser del 9,3%. A més, un 14,4% dels pacients van presentar tant alteracions cognitives com afectives alhora, de manera que un 23,7% de la cohort van presentar alteracions cognitives en el moment basal.

4. En fer el seguiment longitudinal a l'any post-IM de la depressió es va observar que hi havia una tendència a la millora tant en el grup amb alteracions afectives com en el grup amb alteracions afectives i cognitives. En canvi el grup amb alteracions cognitives va tendir a presentar un empitjorament.

5. Pel que fa a l'evolució de l'apatia, el grup de pacients amb alteracions afectives es va mantenir estable, en canvi, el grup de pacients amb alteracions afectives i cognitives va tendir a presentar una millora. Per contra, el grup amb alteració cognitiva va millorar significativament.

6. Els pacients amb alteracions cognitives i afectives van obtenir puntuacions significativament millors en el test de cribratge cognitiu MoCA a l'any post-IM. En el grup amb alteracions cognitives pures es va observar una tendència a la millora. En la resta de grups la puntuació es va mantenir estable.

7. Els pacients amb alteracions cognitives post-IM en el moment basal, van tenir més dèficits en l'atenció i VPI, les funcions executives i la memòria verbal. L'apràxia constructiva i la memòria visual van ser els dominis cognitius amb menys afectació. L'avaluació cognitiva que es va realitzar als 6 i 12 mesos post-IM va indicar una millora en tots els dominis cognitius avaluats, respecte al moment basal.

Objectiu 4: Descriure les característiques neuroradiològiques i la signatura de la neuroimatge de persones amb IM, per tal de millorar el pronòstic dels pacients.

8. Després de fer l'anàlisi de les dades de neuroimatge es va observar que els pacients amb alteracions cognitives post-IM presentaven volums d'infart més grans majoritàriament al territori cortical de l'ACM, tenien més transformació hemorràgica i una tendència a presentar més microhemorràgies. En el grup de pacients amb alteracions afectives i cognitives simultànies s'observava un major nombre d'ictus crònics.

Objectiu 6: Descriure biomarcadors circulants i signatures òmiques que estratifiquin els pacients amb IM sense o amb alteracions afectives i/o cognitives.

9. En la fase de validació, es va corroborar que el metabòlit *2-hydroxyhexadecanoylcarnitina* estava sobre-expressat en el grup IM amb alteracions cognitives respecte el grup IM sense alteracions i que, *l'Isoleucyl-Isoleucine*, el DG (36:7) i el PC (38:4) tenien concentracions més baixes en el grup IM amb alteracions afectives que en el grup IM sense alteracions.

Objectiu 7: Definir les possibles relacions entre les variables clíniques, bioquímiques, radiològiques i òmiques per tal de descriure factors predictius del desenvolupament d'alteracions afectives i cognitives després d'un IM.

10. En el grup IM amb alteracions afectives, el sexe femení i els antecedents personals de síndrome depressiva prèvia a l'ictus van ser els principals predictors d'alteració afectiva. Tenint en compte les variables òmiques, concentracions inferiors a 0,9 del metabòlit *Isoleucyl-isoleucine* i concentracions superiors a 1,19 de la PC (38:4) també es van mostrar com a predictors.

11. L'edat superior a 70 anys i la presència de lesions isquèmiques agudes en el territori cortical de l'ACM es van comportar com a predictors d'alteració cognitiva després d'un IM. Concentracions més elevades a 1,05 del metabòlit *2-hydroxyhexadecanoylcarnitine* també es va mostrar com a predictor, millorant la capacitat predictiva del model tenint en compte aquesta variable òmica.

12. El sexe femení, els antecedents personals de síndrome depressiva prèvia a l'ictus i la presència d'un major nombre d'infarts crònics previs en la RM van ser predictors de la combinació d'alteracions afectives i cognitives.

Objectiu 8: Generar i caracteritzar un model animal d'IM, així com un model animal d'IM i dos FRV (DMT2 i HTA).

13. EL model animal preclínic d'IM escollit va ser el de 5 minuts reperfusió – 2 minuts oclusió de l'ACM (repetit durant 5 vegades) sacrificat a les 48 hores post-cirurgia. Aquest model presentava un volum d'infart petit i tenia un grau d'afectació neurològica lleu i transitòria.

14. No es van observar diferències estadísticament significatives pel que fa al volum d'infart i a l'afectació neurològica entre els ratolins amb IM i els ratolins amb IM i FRV, tot i que els ratolins amb IM i DMT2 tenien una tendència a presentar volums d'infart més elevats i un pitjor perfil neurològic a les 6 hores post-cirurgia.

7. BIBLIOGRAFIA

7. Bibliografía

- A, R. (2003). Test de copia y de reproducción de memoria de figuras geométricas complejas. In *Tea Ediciones*.
- Abbatecola, A. M., Paolisso, G., & Sinclair, A. J. (2015). Treating diabetes mellitus in older and oldest old patients. *Current Pharmaceutical Design*, 21(13), 1665–1671. <https://doi.org/10.2174/1381612821666150130120747>
- Abbott, N. J., Rönnbäck, L., & Hansson, E. (2006). Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(1), 41–53. <https://doi.org/10.1038/nrn1824>
- Adams, H. ., Bendixen, B. ., Kappelle, L. ., Biller, J., Love, B. ., Gordon, D. ., & Marsh, E. . (1993). Classification of Subtype of Acute Ischemic Stroke. *Stroke*, 23(1), 35–41.
- Adams, H. P., Del Zoppo, G., Alberts, M. J., Bhatt, D. L., Brass, L., Furlan, A., Grubb, R. L., Higashida, R. T., Jauch, E. C., Kidwell, C., Lyden, P. D., Morgenstern, L. B., Qureshi, A. I., Rosenwasser, R. H., Scott, P. A., & Wijdicks, E. F. M. (2007). Guidelines for the early management of adults with ischemic stroke: A guideline from the American heart association/American stroke association stroke council, clinical cardiology council, cardiovascular radiology and intervention council, and the atheros. *Stroke*, 38(5), 1655–1711. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.107.181486>
- Adamson, J., Beswick, A., & Ebrahim, S. (2004). Is stroke the most common cause of disability? *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 13(4), 171–177. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2004.06.003>
- Ahmad, T., Kelly, J. P., McGarrah, R. W., Hellkamp, A. S., Fiuzat, M., Testani, J. M., Wang, T. S., Verma, A., Samsky, M. D., Donahue, M. P., Ilkayeva, O. R., Bowles, D. E., Patel, C. B., Milano, C. A., Rogers, J. G., Felker, G. M., O'Connor, C. M., Shah, S. H., & Kraus, W. E. (2016). Prognostic implications of long-chain acylcarnitines in heart failure and reversibility with mechanical circulatory support. *Journal of the American College of Cardiology*, 67(3), 291–299. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2015.10.079>
- Ahmari, N., Santisteban, M. M., Miller, D. R., Geis, N. M., Redler, T., Denson, H., Khoshbouei, H., Baekey, D. M., & Zubcevic, J. (2019). *Downloaded from www.physiology.org/journal/ajpheart at Boston Univ (128.197.229.194) on www.physiology.org/journal/ajpheart*
- Alejandra Mora Mendoza, Francisca Pereyra-García Castro, José Gregorio Oliva García, José Pablo Suárez Llanos, Antonio Medina Rodríguez, Nieves Caracena Castellanos, María Aracelí García Nuñez, J. E. P. A. (2020). Impact of early nutritional support and presence of diabetes mellitus in patients with acute stroke. *Nutricion Hospitalaria.*, 37(2), 233–237.
- Alonso-Morán, E., Orueta, J. F., Esteban, J. I. F., Axpe, J. M. A., González, M. L. M., Polanco, N. T., Loiola, P. E., Gaztambide, S., & Nuño-Solinís, R. (2015). Multimorbidity in people with type 2 diabetes in the Basque Country (Spain): Prevalence, comorbidity clusters and comparison with other chronic patients. *European Journal of Internal Medicine*, 26(3), 197–202. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2015.02.005>
- Altieri, M., Maestrini, I., Mercurio, A., Troisi, P., Sgarlata, E., Rea, V., Piero, V. Di, & Lenzi, G. L. (2012). *Depression after minor stroke : prevalence and predictors*. 517–521. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2011.03583.x>
- Amarenco, P., Denison, H., Evans, S. R., Himmelmann, A., James, S., Knutsson, M., Ladenvall, P.,

- Molina, C. A., Wang, Y., & Johnston, S. C. (2021). Ticagrelor Added to Aspirin in Acute Ischemic Stroke or Transient Ischemic Attack in Prevention of Disabling Stroke: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Neurology*, *78*(2), 177–185. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2020.4396>
- Amemori, T., Jendelova, P., Ruzicka, J., Urdzikova, L. M., & Sykova, E. (2015). Alzheimer's disease: Mechanism and approach to cell therapy. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 16, Issue 11, pp. 26417–26451). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms161125961>
- Andrew Evans, Farzaneh Harraf, Nora Donaldson, L. K. (2002). Randomized controlled study of stroke unit Care versus stroke team care in different stroke subtypes. *Stroke*, *33*(7), 1740–1741. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000021671.03669.5D>
- Angelelli, P., Paolucci, S., Bivona, U., Piccardi, L., Ciurli, P., Cantagallo, A., Antonucci, G., Fasotti, L., Di Santantonio, A., Grasso, M. G., & Pizzamiglio, L. (2004). Development of neuropsychiatric symptoms in poststroke patients: A cross-sectional study. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *110*(1), 55–63. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.2004.00297.x>
- Arsava, E. M., Gurer, G., Gursoy-Ozdemir, Y., Karatas, H., & Dalkara, T. (2009). A new model of transient focal cerebral ischemia for inducing selective neuronal necrosis. *Brain Research Bulletin*, *78*(4–5), 226–231. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2008.11.005>
- Ashton, N. J., Pascoal, T. A., Karikari, T. K., Benedet, A. L., Lantero-Rodriguez, J., Brinkmalm, G., Snellman, A., Schöll, M., Troakes, C., Hye, A., Gauthier, S., Vanmechelen, E., Zetterberg, H., Rosa-Neto, P., & Blennow, K. (2021). Plasma p-tau231: a new biomarker for incipient Alzheimer's disease pathology. *Acta Neuropathologica*, *141*(5), 709–724. <https://doi.org/10.1007/s00401-021-02275-6>
- Atlantis, T., Study, P. A., & Investigators, G. (2004). Association of outcome with early stroke treatment: Pooled analysis of ATLANTIS, ECASS, and NINDS rt-PA stroke trials. *Lancet*, *363*(9411), 768–774. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)15692-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)15692-4)
- Ayerbe, L., Ayis, S., Rudd, A. G., Heuschmann, P. U., & Wolfe, C. D. A. (2011). Natural history, predictors, and associations of depression 5 years after stroke: The South London stroke register. *Stroke*, *42*(7), 1907–1911. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.605808>
- B., P. A. (2010). *Contribución de la adaptación y validación de la escala SIS-16 (Stroke Impact Scale) en el manejo de la rehabilitación de pacientes con ictus*. UCM.
- Bahado-Singh, R. O., Ertl, R., Mandal, R., Bjorndahl, T. C., Syngelaki, A., Han, B., Dong, E., Liu, P. B., Alpay-Savasan, Z., Wishart, D. S., & Nicolaidis, K. H. (2014). Metabolomic prediction of fetal congenital heart defect in the first trimester. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, *211*(3), 240.e1-240.e14. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2014.03.056>
- Bamford J, Sandercock P, Dennis M, Burn J, W. C. (1991). Classification and natural history of clinically identifiable subtypes of cerebral infarction. *Lancet*, *337*, 1521–1526.
- Barnard, N. D., Bush, A. I., Ceccarelli, A., Cooper, J., de Jager, C. A., Erickson, K. I., Fraser, G., Kesler, S., Levin, S. M., Lucey, B., Morris, M. C., & Squitti, R. (2014). Dietary and lifestyle guidelines for the prevention of Alzheimer's disease. In *Neurobiology of Aging* (Vol. 35, Issue SUPPL.2). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.03.033>
- Baron, J. C. (2021). The core/penumbra model: implications for acute stroke treatment and patient selection in 2021. *European Journal of Neurology*, *28*(8), 2794–2803. <https://doi.org/10.1111/ene.14916>

- Bart van der Worp, H., Howells, D. W., Sena, E. S., Porritt, M. J., Rewell, S., O'Collins, V., & Macleod, M. R. (2010). Can animal models of disease reliably inform human studies? *PLoS Medicine*, 7(3), 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000245>
- Beck A, Steer R, B. G. (1996). Beck Depression Inventory (BDI-II) versión española. *Madrid: Tea Ediciones*.
- Bederson, J. B., Pitts, L. H., Tsuji, M., Nishimura, M. C., Davis, R. L., & Bartkowski, H. (1986). Rat middle cerebral artery occlusion: Evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke*, 17(3), 472–476. <https://doi.org/10.1161/01.STR.17.3.472>
- Béjot, Y., Bailly, H., Durier, J., & Giroud, M. (2016). Epidemiology of stroke in Europe and trends for the 21st century. *Presse Medicale*, 45(12), e391–e398. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2016.10.003>
- Benjamin, E. J., Blaha, M. J., Chiuve, S. E., Cushman, M., Das, S. R., Deo, R., De Ferranti, S. D., Floyd, J., Fornage, M., Gillespie, C., Isasi, C. R., Jim'nez, M. C., Jordan, L. C., Judd, S. E., Lackland, D., Lichtman, J. H., Lisabeth, L., Liu, S., Longenecker, C. T., ... Muntner, P. (2017). Heart Disease and Stroke Statistics'2017 Update: A Report from the American Heart Association. In *Circulation* (Vol. 135, Issue 10, pp. e146–e603). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000485>
- Benussi, A., Karikari, T. K., Ashton, N., Gazzina, S., Premi, E., Benussi, L., Ghidoni, R., Rodriguez, J. L., Emeršič, A., Simrén, J., Binetti, G., Fostinelli, S., Giunta, M., Gasparotti, R., Zetterberg, H., Blennow, K., & Borroni, B. (2020). Diagnostic and prognostic value of serum NFL and p-Tau 181 in frontotemporal lobar degeneration. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 91(9), 960–967. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2020-323487>
- Berge, E., Whiteley, W., Audebert, H., Marchis, G. M. De, Fonseca, A. C., Padiglioni, C., Ossa, N. P. de la, Strbian, D., Tsvigoulis, G., & Turc, G. (2021). European Stroke Organisation (ESO) guidelines on intravenous thrombolysis for acute ischaemic stroke. In *European Stroke Journal* (Vol. 6, Issue 1). <https://doi.org/10.1177/2396987321989865>
- Berkhemer, O. A., Fransen, P. S. S., Beumer, D., van den Berg, L. A., Lingsma, H. F., Yoo, A. J., Schonewille, W. J., Vos, J. A., Nederkoorn, P. J., Wermer, M. J. H., van Walderveen, M. A. A., Staals, J., Hofmeijer, J., van Oostayen, J. A., Lycklama à Nijeholt, G. J., Boiten, J., Brouwer, P. A., Emmer, B. J., de Bruijn, S. F., ... Dippel, D. W. J. (2015). A Randomized Trial of Intraarterial Treatment for Acute Ischemic Stroke. *New England Journal of Medicine*, 372(1), 11–20. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1411587>
- Blann, A. . K. P. . K. J. . M. C. . B. D. G. . L. G. Y. H. (1999). *00001721-199907000-00009*.
- Blennow, K., Zetterberg, H., & Blennow, K. (2018). Biomarkers for Alzheimer disease – current status and prospects for the future. *JIM*, 284(6), 643–663. <https://doi.org/10.1111/joim.12816>
- Bono VH, J. (1976). Review of mechanism of action studies of the nitrosoureas. *Cancer Treat Rep*, 60(6), 699–702.
- Bracard, S., Ducrocq, X., Mas, J. L., Soudant, M., Oppenheim, C., Moulin, T., & Guillemin, F. (2016). Mechanical thrombectomy after intravenous alteplase versus alteplase alone after stroke (THRACE): a randomised controlled trial. *The Lancet Neurology*, 15(11), 1138–1147. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)30177-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)30177-6)
- Brainin, M., Tuomilehto, J., Heiss, W. D., Bornstein, N. M., Bath, P. M. W., Teuschl, Y., Richard, E.,

- Guekht, A., Quinn, T., Auer, S., Dachenhausen, M. A., Pinter, M., Dichgans, M., Fazekas, F., Lees, K., Leys, D., Matz, K., & Reiter, M. (2015). Post-stroke cognitive decline: An update and perspectives for clinical research. In *European Journal of Neurology* (Vol. 22, Issue 2, pp. 229–238). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/ene.12626>
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(6), 394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- Brea, A., Laclaustra, M., Martorell, E., & Pedragosa, À. (2013). Epidemiología de la enfermedad vascular cerebral en España. *Clinica e Investigacion En Arteriosclerosis*, 25(5), 211–217. <https://doi.org/10.1016/j.arteri.2013.10.006>
- Brickman, A. M., Siedlecki, K. L., Muraskin, J., Manly, J. J., Luchsinger, J. A., Yeung, L. K., Brown, T. R., DeCarli, C., & Stern, Y. (2011). White matter hyperintensities and cognition: Testing the reserve hypothesis. *Neurobiology of Aging*, 32(9), 1588–1598. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2009.10.013>
- Brodaty, H., Sachdev, P. S., Withhall, A., Altendorf, A., Valenzuela, M. J., & Lorentz, L. (2005). Frequency and clinical, neuropsychological and neuroimaging correlates of apathy following stroke - The Sydney Stroke Study. *Psychological Medicine*, 35(12), 1707–1716. <https://doi.org/10.1017/S0033291705006173>
- Brouns, R., & De Deyn, P. P. (2009). The complexity of neurobiological processes in acute ischemic stroke. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 111(6), 483–495. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2009.04.001>
- Brown, D. G., Rao, S., Weir, T. L., O'Malia, J., Bazan, M., Brown, R. J., & Ryan, E. P. (2016). Metabolomics and metabolic pathway networks from human colorectal cancers, adjacent mucosa, and stool. *Cancer & Metabolism*, 4(1). <https://doi.org/10.1186/s40170-016-0151-y>
- Bruce, C. R., Hoy, A. J., Turner, N., Watt, M. J., Allen, T. L., Carpenter, K., Cooney, G. J., Febbraio, M. A., & Kraegen, E. W. (2009). Overexpression of carnitine palmitoyltransferase-1 in skeletal muscle is sufficient to enhance fatty acid oxidation and improve high-fat diet-induced insulin resistance. *Diabetes*, 58(3), 550–558. <https://doi.org/10.2337/db08-1078>
- Burns, C. M., Knopman, D. S., Tupper, D. E., Davey, C. S., Slinin, Y. M., Lakshminarayanan, K., Rossom, R. C., Pederson, S. L., Gilbertson, D. T., & Murray, A. M. (2018). Prevalence and Risk of Severe Cognitive Impairment in Advanced Chronic Kidney Disease. *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences*, 73(3), 393–399. <https://doi.org/10.1093/gerona/glx241>
- Buschke, H., & Fuld, P. A. (1974). Evaluating storage, retention, and retrieval in disordered memory and learning. *Neurology*, 24(11), 1019–1025. <https://doi.org/10.1212/wnl.24.11.1019>
- Bustamante, A., Sobrino, T., Giral, D., García-Berrocó, T., Llombart, V., Ugarriza, I., Espadaler, M., Rodríguez, N., Sudlow, C., Castellanos, M., Smith, C. J., Rodríguez-Yáñez, M., Waje-Andreassen, U., Tanne, D., Oto, J., Barber, M., Worthmann, H., Wartenberg, K. E., Becker, K. J., ... Montaner, J. (2014). Prognostic value of blood interleukin-6 in the prediction of functional outcome after stroke: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Neuroimmunology*, 274(1–2), 215–224. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2014.07.015>
- C N Bassett, T. J. M. (2003). Lipoproteins and lipid peroxidation in Alzheimer's disease. *J Nutr*

Health Aging., 7(1), 9–24.

- Cambray, S., Portero-Otin, M., Jové, M., Torreguitart, N., Colàs-Campàs, L., Sanz, A., Benabdelhak, I., Yemisci, M., Dalkara, T., Dönmez-Demir, B., Egea, J., & Purroy, F. (2018). Metabolomic Estimation of the Diagnosis and Onset Time of Permanent and Transient Cerebral Ischemia. *Molecular Neurobiology*, 55(7), 6193–6200. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0827-5>
- Cameron Dezfulian, M. G. and N. R. G. (2013). Clinical Application of Preconditioning and Postconditioning to Achieve Neuroprotection. *Translational Stroke Research*, 4(1), 19–24.
- Campbell, B. C. V., De Silva, D. A., Macleod, M. R., Coutts, S. B., Schwamm, L. H., Davis, S. M., & Donnan, G. A. (2019). Ischaemic stroke. *Nature Reviews Disease Primers*, 5(1). <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0118-8>
- Campbell, B. C. V., Mitchell, P. J., Kleinig, T. J., Dewey, H. M., Churilov, L., Yassi, N., Yan, B., Dowling, R. J., Parsons, M. W., Oxley, T. J., Wu, T. Y., Brooks, M., Simpson, M. A., Miteff, F., Levi, C. R., Krause, M., Harrington, T. J., Faulder, K. C., Steinfort, B. S., ... Davis, S. M. (2015). Endovascular Therapy for Ischemic Stroke with Perfusion-Imaging Selection. *New England Journal of Medicine*, 372(11), 1009–1018. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1414792>
- Candelario-Jalil, E., & Paul, S. (2021). Impact of aging and comorbidities on ischemic stroke outcomes in preclinical animal models: A translational perspective. In *Experimental Neurology* (Vol. 335). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2020.113494>
- Cannon, J. A., Moffitt, P., Perez-Moreno, A. C., Walters, M. R., Broomfield, N. M., McMurray, J. J. V., & Quinn, T. J. (2017). Cognitive Impairment and Heart Failure: Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Cardiac Failure*, 23(6), 464–475. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2017.04.007>
- Carcel, C., Harris, K., Peters, S. A. E., Sandset, E. C., Balicki, G., Bushnell, C. D., Howard, V. J., Reeves, M. J., Anderson, C. S., Kelly, P. J., & Woodward, M. (2021). Representation of Women in Stroke Clinical Trials: A Review of 281 Trials Involving More Than 500,000 Participants. *Neurology*, 97(18), e1768–e1774. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000012767>
- Carmichael, S. T. (2005). Rodent models of focal stroke: Size, mechanism, and purpose. *NeuroRx*, 2(3), 396–409. <https://doi.org/10.1602/neurorx.2.3.396>
- Carnés Vendrell, A., Deus Yela, J., Molina Seguin, J., Pifarré Paredero, J., & Purroy García, F. (2016). Actualización de la depresión postictus: nuevos retos en pacientes con ictus menor o ataque isquémico transitorio. *Revista de Neurología*, 62(10), 460. <https://doi.org/10.33588/rn.6210.2015473>
- Carod-Artal, F. J. (2012). Determining quality of life in stroke survivors. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res*, 12(2), 199–211.
- Carod-Artal, F. J., Medeiros, M. S. M., Horan, T. A., & Braga, L. W. (2005). Predictive factors of functional gain in long-term stroke survivors admitted to a rehabilitation programme. *Brain Injury*, 19(9), 667–673. <https://doi.org/10.1080/02699050400013626>
- Carod Artal, F. J.; González Gutiérrez, J. L; Egido Herrero, J. A; Varela de Seijas, E. (2002). Post-stroke depression: predictive factors at one year follow-up. *Rev Neurol*, 35(2), 101–106.
- Carod Artal, F. J. (2006). Depresión postictus (I). Epidemiología, criterios diagnósticos y factores de riesgo. *Revista de Neurología*, 42(03), 169. <https://doi.org/10.33588/rn.4203.2005049>

- Chen, C., Hou, G., Zeng, C., Ren, Y., Chen, X., & Peng, C. (2020). Metabolomic profiling reveals amino acid and carnitine alterations as metabolic signatures in psoriasis. *Theranostics*, *11*(2), 754–767. <https://doi.org/10.7150/thno.51154>
- Chen, S. Der, Lee, J. M., Yang, D. I., Nassief, A., & Hsu, C. Y. (2002). Combination therapy for ischemic stroke: Potential of neuroprotectants plus thrombolytics. *American Journal of Cardiovascular Drugs*, *2*(5), 303–313. <https://doi.org/10.2165/00129784-200202050-00003>
- Chen, W. Y., Mao, F. C., Liu, C. H., Kuan, Y. H., Lai, N. W., Wu, C. C., & Chen, C. J. (2016). Chromium supplementation improved post-stroke brain infarction and hyperglycemia. *Metabolic Brain Disease*, *31*(2), 289–297. <https://doi.org/10.1007/s11011-015-9749-y>
- Chen, X., Duan, L., Han, Y., Tian, L., Dai, Q., Wang, S., Lin, Y., Xiong, Y., & Liu, X. (2016). Predictors for vascular cognitive impairment in stroke patients. *BMC Neurology*, *16*(1). <https://doi.org/10.1186/s12883-016-0638-8>
- Chong, J., Wishart, D. S., & Xia, J. (2019). Using MetaboAnalyst 4.0 for Comprehensive and Integrative Metabolomics Data Analysis. *Current Protocols in Bioinformatics*, *68*(1), 1–128. <https://doi.org/10.1002/cpbi.86>
- Communication, A. (1998). *PII SOO243205(98)00357-9 PHARMACOLOGY LETTERS Accelerated Communication*. *63*(11).
- Corder, E. H., Saunders, A. M., Gaskell, P. C., Pericak-Vance, M. A., Strittmatter, W. J., Roses, A. D., Bryan Alzheimer, K., Research Center, D., Schmechel, D. E., & Bryan Alzhei-, K. (1993). *The frequency of APOE-E4 was not elevated in these and 12 other early onset families (6). Members of 42 late onset* (Vol. 261). www.sciencemag.org
- Crapser, J., Ritzel, R., Verma, R., Venna, V. R., Liu, F., Chauhan, A., Koellhoffer, E., Patel, A., Ricker, A., Maas, K., Graf, J., & McCullough, L. D. (2016). Ischemic stroke induces gut permeability and enhances bacterial translocation leading to sepsis in aged mice. *Aging*, *8*(5), 1049–1063. <https://doi.org/10.18632/aging.100952>
- Cruz-Flores, S., Rabinstein, A., Biller, J., Elkind, M. S. V., Griffith, P., Gorelick, P. B., Howard, G., Leira, E. C., Morgenstern, L. B., Ovbiagele, B., Peterson, E., Rosamond, W., Trimble, B., & Valderrama, A. L. (2011). Racial-ethnic disparities in stroke care: The American experience: A statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*, *42*(7), 2091–2116. <https://doi.org/10.1161/STR.0b013e3182213e24>
- D.T Wade, J. Legh-Smith, R. A. H. (1987). Depressed Mood After Stroke. *British Journal of Psychiatry*, *151*, 200–205.
- D, W. (1999). Wechsler Memory Scale (WMS-IV 4th Edition). 4th ed. In *Tea Editions*.
- Dafer, R. M., Rao, M., Shareef, A., & Sharma, A. (2008). Poststroke depression. *Topics in Stroke Rehabilitation*, *15*(1), 13–21. <https://doi.org/10.1310/tsr1501-13>
- Daisuke Ito, Y. I., Ohsawa, K., Kazuyuki, N., & Yasuo Fukuuchi, S. K. (1998). Microglia-specific localisation of a novel calcium binding protein, Iba1. *Molecular Brain Research*, *57*, 1–9.
- De Ryck, A., Brouns, R., Geurden, M., Elseviers, M., De Deyn, P. P., & Engelborghs, S. (2014). Risk Factors for Poststroke Depression. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, *27*(3), 147–158. <https://doi.org/10.1177/0891988714527514>
- Dean, A. C., Victor, T. L., Boone, K. B., Philpott, L. M., & Hess, R. A. (2009). Dementia and effort

- test performance. *Clinical Neuropsychologist*, 23(1), 133–152.
<https://doi.org/10.1080/13854040701819050>
- Del Zoppo, G. J., & Mabuchi, T. (2003). Cerebral microvessel responses to focal ischemia. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 23(8), 879–894.
<https://doi.org/10.1097/01.WCB.0000078322.96027.78>
- Deters, K. D., Risacher, S. L., Kim, S., Nho, K., West, J. D., Blennow, K., Zetterberg, H., Shaw, L. M., Trojanowski, J. Q., Weiner, M. W., & Saykin, A. J. (2017). Plasma Tau Association with Brain Atrophy in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 58(4), 1245–1254. <https://doi.org/10.3233/JAD-161114>
- Dharmasaroja, P. A. (2016). Fluid Intake Related to Brain Edema in Acute Middle Cerebral Artery Infarction. *Translational Stroke Research*, 7(1), 49–53. <https://doi.org/10.1007/s12975-015-0439-1>
- Diana E. Clarke, Jean Y. Ko, Emily A. Kuhl, Robert van Reekum, Rocio Salvador, R. S. M. (2011). Are the available apathy measures reliable and valid? A review of the psychometric evidence. *J Psychosom Res.*, 70(1), 73–97. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2010.01.012>.Are
- Díaz-Guzmán, J., Egido, J. A., Gabriel-Sánchez, R., Barberá-Comes, G., Fuentes-Gimeno, B., & Fernández-Pérez, C. (2012). Stroke and transient ischemic attack incidence rate in Spain: The IBERICTUS study. *Cerebrovascular Diseases*, 34(4), 272–281.
<https://doi.org/10.1159/000342652>
- Ding, G., Chen, J., Chopp, M., Li, L., Yan, T., Davoodi-Bojd, E., Li, Q., Davarani, S. P. N., & Jiang, Q. (2017). White matter changes after stroke in type 2 diabetic rats measured by diffusion magnetic resonance imaging. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 37(1), 241–251. <https://doi.org/10.1177/0271678X15622464>
- Dirnagl, U. (2012). Pathobiology of injury after stroke: The neurovascular unit and beyond. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1268(1), 21–25. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2012.06691.x>
- Douven, E., Köhler, S., Rodriguez, M. M. F., Staals, J., Verhey, F. R. J., & Aalten, P. (2017). Imaging Markers of Post-Stroke Depression and Apathy: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuropsychology Review*, 27(3), 202–219. <https://doi.org/10.1007/s11065-017-9356-2>
- Dröse, S., & Brandt, U. (2012). Molecular mechanisms of superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 748, 145–169. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-3573-0_6
- DUARTE E, ALONSO B, FERNÁNDEZ M, FERNÁNDEZ J, FLÓREZ M, GARCÍA-MONTES I, GENTIL J, HERNÁNDEZ L, JUAN F, PALOMINO B, VIDAL J, VIOSCA E, AGUILAR J, BERNABEU M, BORI I, CARRIÓN F, DÉNIZ A, DÍAZ I, FERNÁNDEZ E, FORASTERO P, IÑIGO V, JUNYENT J, LIZARRAGA N, LÓ, S. A. (2010). Rehabilitación del ictus: modelo asistencial. Recomendaciones de la Sociedad Española de Rehabilitación y Medicina Física, 2009. *Rehabilitación*, 44(1), 60–68.
- E.H. Corder, A.M. Saunders, N.J. Risch, W.J. Strittmatter, D.E. Schmechel, P.C. Gaskell, J.B. Rimmler, P.A. Locke, P.M. Conneally, K.E. Schmader, G.W. Small, A.D. Roses, J.L. Haines, M. A. P.-V. (1994). Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease. *Nature Genetics*, 7.
- Easton, J. D., Saver, J. L., Albers, G. W., Albers, M. J., Chaturvedi, S., Feldmann, E., Hatsukami, T. S., Higashida, R. T., Johnston, S. C., Kidwell, C. S., Lutsep, H. L., Miller, E., & Sacco, R. L.

- (2009). Definition and evaluation of transient ischemic attack: A scientific statement for healthcare professionals from the American heart association/American stroke association stroke council; council on cardiovascular surgery and anesthesia; council on cardio. *Stroke*, 40(6), 2276–2293. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.108.192218>
- Edwardson M, D. A. (2022). *Ischemic stroke prognosis in adults*. Up to Date.
- Eilam, R., Segal, M., Malach, R., Sela, M., Arnon, R., & Aharoni, R. (2018). Astrocyte disruption of neurovascular communication is linked to cortical damage in an animal model of multiple sclerosis. *Glia*, 66(5), 1098–1117. <https://doi.org/10.1002/glia.23304>
- Elias, M. F., Elias, P. K., Seliger, S. L., Narsipur, S. S., Dore, G. A., & Robbins, M. A. (2009). Chronic kidney disease, creatinine and cognitive functioning. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 24(8), 2446–2452. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfp107>
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicologic Pathology*, 35(4), 495–516. <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>
- Emberson, J., Lees, K. R., Lyden, P., Blackwell, L., Albers, G., Bluhmki, E., Brott, T., Cohen, G., Davis, S., Donnan, G., Grotta, J., Howard, G., Kaste, M., Koga, M., Von Kummer, R., Lansberg, M., Lindley, R. I., Murray, G., Olivot, J. M., ... Hacke, W. (2014). Effect of treatment delay, age, and stroke severity on the effects of intravenous thrombolysis with alteplase for acute ischaemic stroke: A meta-analysis of individual patient data from randomised trials. *The Lancet*, 384(9958), 1929–1935. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60584-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60584-5)
- Engelhart, M. J., & Breteler, M. M. B. (2002). *Dietary Intake of Antioxidants and Risk of Alzheimer Disease*. 287(24), 3223–3229.
- Espárrago Llorca, G., Castilla-Guerra, L., Fernández Moreno, M. C., Ruiz Doblado, S., & Jiménez Hernández, M. D. (2015). Depresión post ictus: Una actualización. In *Neurología* (Vol. 30, Issue 1, pp. 23–31). Spanish Society of Neurology. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2012.06.008>
- Etherton, M. R., Barreto, A. D., Schwamm, L. H., & Wu, O. (2018). Neuroimaging paradigms to identify patients for reperfusion therapy in stroke of unknown onset. *Frontiers in Neurology*, 9(MAY). <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00327>
- Ettehad, D., Emdin, C. A., Kiran, A., Anderson, S. G., Callender, T., Emberson, J., Chalmers, J., Rodgers, A., & Rahimi, K. (2016). Blood pressure lowering for prevention of cardiovascular disease and death: A systematic review and meta-analysis. *The Lancet*, 387(10022), 957–967. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01225-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01225-8)
- F. Purroy, N. M. (2021). Epidemiología del ictus en la última década: revisión sistemática. *Revista de Neurología*, 73, 321–336.
- Farina, N., Llewellyn, D., Isaac, M. G. E. K. N., & Tabet, N. (2017). Vitamin E for Alzheimer's dementia and mild cognitive impairment. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 4, CD002854. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD002854.pub5>
- Fei, M., & Jianhua, W. (2013). Apolipoprotein ε4-Allele as a significant risk factor for conversion from mild cognitive impairment to alzheimer's disease: A meta-analysis of prospective studies. In *Journal of Molecular Neuroscience* (Vol. 50, Issue 2, pp. 257–263). <https://doi.org/10.1007/s12031-012-9934-y>
- Feng, C., Fang, M., & Liu, X. Y. (2014). The neurobiological pathogenesis of poststroke depression. In *The Scientific World Journal* (Vol. 2014). ScientificWorld Ltd. <https://doi.org/10.1155/2014/521349>

- Fernández Concepción, O., Ramírez Pérez, E., Álvarez González, M. Á., & Buergo Zuáznabar, M. A. (2008). Validación de la escala de calidad de vida para el ictus (ECVI-38). *Revista de Neurología*, 46(03), 147. <https://doi.org/10.33588/rn.4603.2007502>
- Fernández Concepción, O., & Rojas-Fuentes, J. O. (n.d.). *Depresión post-ictus: frecuencia y factores determinantes Clinical guidelines for cerebrovascular diseases. View project Developing a National Dementia Registry in Cuba View project*. <https://www.researchgate.net/publication/262106944>
- Fernstrom, J. D. (2018). *Can nutrient supplements modify brain function ? 1 – 3*. 71(March).
- Ferrari, J., Reynolds, A., Knoflach, M., & Sykora, M. (2021). Acute Ischemic Stroke With Mild Symptoms—To Thrombolyse or Not to Thrombolyse? *Frontiers in Neurology*, 12(November), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.760813>
- Fischer, U., Baumgartner, A., Arnold, M., Nedeltchev, K., Gralla, J., De Marchis, G. M., Kappeler, L., Mono, M. L., Brekenfeld, C., Schroth, G., & Mattle, H. P. (2010). What is a minor stroke? *Stroke*, 41(4), 661–666. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.109.572883>
- Fluri, F., Schuhmann, M. K., & Kleinschnitz, C. (2015). Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research. *Drug Design, Development and Therapy*, 9, 3445–3454. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S56071>
- Foerch, C., Montaner, J., Furie, K. L., Ning, M. M., & Lo, E. H. (2009). Invited article: Searching for oracles? Blood biomarkers in acute stroke. *Neurology*, 73(5), 393–399. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181b05ef9>
- Foley, N., Salter, K., & Teasell, R. (2007). Specialized stroke services: A meta-analysis comparing three models of care. *Cerebrovascular Diseases*, 23(2–3), 194–202. <https://doi.org/10.1159/000097641>
- Frank G van Rooij 1, Roy P C Kessels, Edo Richard, Frank-Erik De Leeuw, E. J. van D. (2016). Cognitive Impairment in Transient Ischemic Attack Patients: A Systematic Review. *Cerebrovasc Dis .*, 42(1–2), 1–9.
- Freiberg, J. J., Tybjaerg-Hansen, A., Jan Skov Jensen, Dms., & Børge Nordestgaard, Dms. G. (2008). Nonfasting Triglycerides and Risk of Ischemic Stroke in the General Population. *Jama*, 300(18). <http://jama.jamanetwork.com/>
- Fritz, I. B. (1959). Action of carnitine on long chain fatty acid oxidation by liver'. *University of Michigan*. www.physiology.org/journal/ajplegacy
- Ganta, C. K., Helwig, B. G., Blecha, F., Ganta, R. R., Cober, R., Parimi, S., Musch, T. I., Fels, R. J., & Kenney, M. J. (2006). Hypothermia-enhanced splenic cytokine gene expression is independent of the sympathetic nervous system. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 291(3). <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00846.2005>
- García C, Arias-Díaz J, Villa N, Trueba V, Balibrea JL, V. E. (1994). Islets from neonatally streptozotocin treated rats display an increased in vitro sensitivity to tumour necrosis factor. *Diabetología*, 37.
- Gelderblom, M., Leyboldt, F., Steinbach, K., Behrens, D., Choe, C. U., Siler, D. A., Arumugam, T. V., Orthey, E., Gerloff, C., Tolosa, E., & Magnus, T. (2009). Temporal and spatial dynamics of cerebral immune cell accumulation in stroke. *Stroke*, 40(5), 1849–1857. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.108.534503>

- Ghandforoush-Sattari, M., Mashayekhi, S. O., Nemati, M., & Ayromlou, H. (2011). Changes in plasma concentration of taurine in stroke. *Neuroscience Letters*, 496(3), 172–175. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.04.010>
- Go, A. S., Mozaffarian, D., Roger, V. L., Benjamin, E. J., Berry, J. D., Borden, W. B., Bravata, D. M., Dai, S., Ford, E. S., Fox, C. S., Franco, S., Fullerton, H. J., Gillespie, C., Hailpern, S. M., Heit, J. A., Howard, V. J., Huffman, M. D., Kissela, B. M., Kittner, S. J., ... Turner, M. B. (2013). Executive summary: Heart disease and stroke statistics-2013 update: A Report from the American Heart Association. *Circulation*, 127(1), 143–152. <https://doi.org/10.1161/CIR.0b013e318282ab8f>
- Goedert, J. J., Sampson, J. N., Moore, S. C., Xiao, Q., Xiong, X., Hayes, R. B., Ahn, J., Shi, J., & Sinha, R. (2014). Fecal metabolomics: Assay performance and association with colorectal cancer. *Carcinogenesis*, 35(9), 2089–2096. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgu131>
- Gonul, A. S., Akdeniz, F., Taneli, F., Donat, O., Eker, Ç., & Vahip, S. (2005). Effect of treatment on serum brain-derived neurotrophic factor levels in depressed patients. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 255(6), 381–386. <https://doi.org/10.1007/s00406-005-0578-6>
- Gorelick, P. B. (2004). Epidemiology of transient ischemic attack and ischemic stroke in patients with underlying cardiovascular disease. *Clinical Cardiology*, 27(5 SUPPL. 2), 4–11. <https://doi.org/10.1002/clc.4960271403>
- Gottesman, R. F., & Hillis, A. E. (2010). Predictors and assessment of cognitive dysfunction resulting from ischaemic stroke. In *The Lancet Neurology* (Vol. 9, Issue 9, pp. 895–905). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70164-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70164-2)
- Goyal, M., Demchuk, A. M., Menon, B. K., Eesa, M., Rempel, J. L., Thornton, J., Roy, D., Jovin, T. G., Willinsky, R. A., Sapkota, B. L., Dowlathshahi, D., Frei, D. F., Kamal, N. R., Montanera, W. J., Poppe, A. Y., Ryckborst, K. J., Silver, F. L., Shuaib, A., Tampieri, D., ... Hill, M. D. (2015). Randomized Assessment of Rapid Endovascular Treatment of Ischemic Stroke. *New England Journal of Medicine*, 372(11), 1019–1030. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1414905>
- Goyal, M., Menon, B. K., Van Zwam, W. H., Dippel, D. W. J., Mitchell, P. J., Demchuk, A. M., Dávalos, A., Majoie, C. B. L. M., Van Der Lugt, A., De Miquel, M. A., Donnan, G. A., Roos, Y. B. W. E. M., Bonafe, A., Jahan, R., Diener, H. C., Van Den Berg, L. A., Levy, E. I., Berkhemer, O. A., Pereira, V. M., ... Jovin, T. G. (2016). Endovascular thrombectomy after large-vessel ischaemic stroke: A meta-analysis of individual patient data from five randomised trials. *The Lancet*, 387(10029), 1723–1731. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00163-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00163-X)
- Grabowski, M., Nordborg, C., Brundin, P., & Johansson, B. B. (1988). Middle cerebral artery occlusion in the hypertensive and normotensive rat: a study of histopathology and behaviour. *Journal of Hypertension*, 6(5), 405–411.
- Greenop, K. R., Almeida, O. P., Hankey, G. J., Van Bockxmeer, F., & Lautenschlager, N. T. (2009). Premorbid personality traits are associated with post-stroke behavioral and psychological symptoms: A three-month follow-up study in Perth, Western Australia. *International Psychogeriatrics*, 21(6), 1063–1071. <https://doi.org/10.1017/S1041610209990457>
- Gregersen, N. (1983). *General (medium-chain) acyl-CoA dehydrogenase deficiency (non-ketotic dicarboxylic aciduria) : quantitative urinary excretion pattern of 23 biologically significant organic acids in three cases.* 132, 181–191.
- Gregory W. Albers, Louis R Caplan, J. Donald Easton, Pierre B. Fayad, J.P. Mohr, Jeffrey L. Saver, D.

- G. S. (2002). TRANSIENT ISCHEMIC ATTACK — PROPOSAL FOR A NEW DEFINITION. *New England Journal of Medicine*, 347(21), 1713–1716.
- Gresham G, Duncan P, Stason W, A. E. (1995). *POST-STROKE REHABILITATION, CLINICAL PRACTICE GUIDELINES NUMBER 16: QUICK REFERENCE GUIDE NO. 16 POST-STROKE REHABILITATION: ASSESSMENT, REFERRAL, AND PATIENT MANAGEMENT: A PATIENT AND FAMILY GUIDE: RECOVERING AFTER A STROKE*.
- Hackett, M. L., Yapa, C., Parag, V., & Anderson, C. S. (2005). Frequency of depression after stroke: A systematic review of observational studies. *Stroke*, 36(6), 1330–1340. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000165928.19135.35>
- Hafez, S., Abdelsaid, M., Fagan, S. C., & Ergul, A. (2018). Peroxynitrite-Induced Tyrosine Nitration Contributes to Matrix Metalloprotease-3 Activation: Relevance to Hyperglycemic Ischemic Brain Injury and Tissue Plasminogen Activator. *Neurochemical Research*, 43(2), 259–266. <https://doi.org/10.1007/s11064-017-2411-9>
- Hameed, A., Mojsak, P., Buczynska, A., Suleria, H. A. R., Kretowski, A., & Ciborowski, M. (2020). Altered metabolome of lipids and amino acids species: A source of early signature biomarkers of T2DM. In *Journal of Clinical Medicine* (Vol. 9, Issue 7, pp. 1–46). MDPI. <https://doi.org/10.3390/jcm9072257>
- Hankey, G. J. (2003). Long-term outcome after ischaemic stroke/transient ischaemic attack. *Cerebrovascular Diseases*, 16(SUPPL. 1), 14–19. <https://doi.org/10.1159/000069936>
- Hanson, A. J., Bayer-Carter, J. L., Green, P. S., Montine, T. J., Wilkinson, C. W., Baker, L. D., Watson, G. S., Bonner, L. M., Callaghan, M., Leverenz, J. B., Tsai, E., Postupna, N., Zhang, J., Lampe, J., & Craft, S. (2013). Effect of apolipoprotein e genotype and diet on apolipoprotein e lipidation and amyloid peptides randomized clinical trial. *JAMA Neurology*, 70(8), 972–980. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.396>
- Hare, D. J., George, J. L., Bray, L., Volitakis, I., Vais, A., Ryan, T. M., Cherny, R. A., Bush, A. I., Masters, C. L., Adlard, P. A., Doble, P. A., & Finkelstein, D. I. (2014). The effect of paraformaldehyde fixation and sucrose cryoprotection on metal concentration in murine neurological tissue. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 29(3), 565–570. <https://doi.org/10.1039/c3ja50281c>
- Hebert, D., Lindsay, M. P., McIntyre, A., Kirton, A., Rumney, P. G., Bagg, S., Bayley, M., Dowlatshahi, D., Dukelow, S., Garnhum, M., Glasser, E., Halabi, M. Lou, Kang, E., MacKay-Lyons, M., Martino, R., Rochette, A., Rowe, S., Salbach, N., Semenko, B., ... Teasell, R. (2016). Canadian stroke best practice recommendations: Stroke rehabilitation practice guidelines, update 2015. *International Journal of Stroke*, 11(4), 459–484. <https://doi.org/10.1177/1747493016643553>
- Henriksen, K., O’Bryant, S. E., Hampel, H., Trojanowski, J. Q., Montine, T. J., Jeromin, A., Blennow, K., Lönnborg, A., Wyss-Coray, T., Soares, H., Bazenet, C., Sjögren, M., Hu, W., Lovestone, S., Karsdal, M. A., & Weiner, M. W. (2014). The future of blood-based biomarkers for Alzheimer’s disease. *Alzheimer’s and Dementia*, 10(1), 115–131. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2013.01.013>
- Hermann, D. M., Doepfner, T. R., & Popa-Wagner, A. (2019). Opportunities and Limitations of Vascular Risk Factor Models in Studying Plasticity-Promoting and Restorative Ischemic Stroke Therapies. *Neural Plasticity*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/9785476>
- Herz, J., Hagen, S. I., Bergmüller, E., Sabellek, P., Göthert, J. R., Buer, J., Hansen, W., Hermann, D.

- M., & Doeppner, T. R. (2014). Exacerbation of ischemic brain injury in hypercholesterolemic mice is associated with pronounced changes in peripheral and cerebral immune responses. *Neurobiology of Disease*, *62*, 456–468. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2013.10.022>
- Herz, J., Sabellek, P., Lane, T. E., Gunzer, M., Hermann, D. M., & Doeppner, T. R. (2015). Role of neutrophils in exacerbation of brain injury after focal cerebral ischemia in hyperlipidemic mice. *Stroke*, *46*(10), 2916–2925. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.115.010620>
- Hiroshi Kamada, MD, PhD, Fengshan Yu, MD, Chikako Nito, MD, PhD, and Pak H. Chan, P. (2007). Influence of Hyperglycemia on Oxidative Stress and MMP-9 Activation After Focal Cerebral Ischemia/Reperfusion in Rats: Relationship to Blood-Brain Barrier Dysfunction. *Stroke*, *38*(3), 1044–1049. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>
- Hoffmann, M., Schmitt, F., & Bromley, E. (2009). Vascular cognitive syndromes: Relation to stroke etiology and topography. *Acta Neurologica Scandinavica*, *120*(3), 161–169. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.2008.01145.x>
- Hol, E. M., & Pekny, M. (2015). Glial fibrillary acidic protein (GFAP) and the astrocyte intermediate filament system in diseases of the central nervous system. *Current Opinion in Cell Biology*, *32*, 121–130. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2015.02.004>
- Holtzheimer, P. E., & Mayberg, H. S. (2011). Stuck in a rut: Rethinking depression and its treatment. *Trends in Neurosciences*, *34*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2010.10.004>
- Huang, J., Upadhyay, U. M., & Tamargo, R. J. (2006). Inflammation in stroke and focal cerebral ischemia. *Surgical Neurology*, *66*(3), 232–245. <https://doi.org/10.1016/j.surneu.2005.12.028>
- Imtiaz, B., Tolppanen, A. M., Kivipelto, M., & Soininen, H. (2014). Future directions in Alzheimer's disease from risk factors to prevention. In *Biochemical Pharmacology* (Vol. 88, Issue 4, pp. 661–670). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2014.01.003>
- Iqbal, N., Alim, K. S., Aramin, H., Iqbal, F., Green, E., Higginbotham, E., & Maisel, A. S. (2013). Novel biomarkers for heart failure. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*, *11*(9), 1155–1169. <https://doi.org/10.1586/14779072.2013.832476>
- Jaillard, A., Grand, S., Le Bas, J. F., & Hommel, M. (2010). Predicting cognitive dysfunctioning in nondemented patients early after stroke. *Cerebrovascular Diseases*, *29*(5), 415–423. <https://doi.org/10.1159/000289344>
- Janel, N., Sarazin, M., Corlier, F., Corne, H., De Souza, L. C., Hamelin, L., Aka, A., Lagarde, J., Blehaut, H., Hindié, V., Rain, J. C., Arbones, M. L., Dubois, B., Potier, M. C., Bottlaender, M., & Delabar, J. M. (2011). Plasma DYRK1A as a novel risk factor for Alzheimer's disease. *Translational Psychiatry*, *4*(May). <https://doi.org/10.1038/tp.2014.61>
- Jauch, E. C., Saver, J. L., Adams, H. P., Bruno, A., Connors, J. J. B., Demaerschalk, B. M., Khatri, P., McMullan, P. W., Qureshi, A. I., Rosenfield, K., Scott, P. A., Summers, D. R., Wang, D. Z., Wintermark, M., & Yonas, H. (2013). Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke: A guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*, *44*(3), 870–947. <https://doi.org/10.1161/STR.0b013e318284056a>
- Jellinger, K. A., Janetzky, B., Attems, J., & Kienzl, E. (2008). Biomarkers for early diagnosis of Alzheimer disease: "ALzheimer ASSociated gene" - A new blood biomarker? *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, *12*(4), 1094–1117. <https://doi.org/10.1111/j.1582->

4934.2008.00313.x

- Jiang, Z., Sun, J., Liang, Q., Cai, Y., Li, S., Huang, Y., Wang, Y., & Luo, G. (2011). A metabonomic approach applied to predict patients with cerebral infarction. *Talanta*, *84*(2), 298–304. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.01.015>
- Jickling, G. C., Liu, D., Stamova, B., Ander, B. P., Zhan, X., Lu, A., & Sharp, F. R. (2014). Hemorrhagic transformation after ischemic stroke in animals and humans. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, *34*(2), 185–199. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.203>
- Jickling, G. C., & Sharp, F. R. (2015). Improving the translation of animal ischemic stroke studies to humans. *Metabolic Brain Disease*, *30*(2), 461–467. <https://doi.org/10.1007/s11011-014-9499-2>
- John A Bilello, Linda M Thurmond, Katie M Smith, Bo Pi, Robert Rubin, Suzin M Wright, Floyd Taub, Michael E Henry, Richard C Shelton, G. I. P. (2015). MDDScore: Confirmation of a blood test to aid in the diagnosis of major depressive disorder. *J Clin Psychiatry.*, *76*(2), 199–206.
- Johnston, S. C., Amarenco, P., Albers, G. W., Denison, H., Easton, J. D., Evans, S. R., Held, P., Jonasson, J., Minematsu, K., Molina, C. A., Wang, Y., & Wong, K. S. L. (2016). Ticagrelor versus Aspirin in Acute Stroke or Transient Ischemic Attack. *New England Journal of Medicine*, *375*(1), 35–43. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1603060>
- Johnston, S. C., Easton, J. D., Farrant, M., Barsan, W., Conwit, R. A., Elm, J. J., Kim, A. S., Lindblad, A. S., & Palesch, Y. Y. (2018). Clopidogrel and Aspirin in Acute Ischemic Stroke and High-Risk TIA. *New England Journal of Medicine*, *379*(3), 215–225. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1800410>
- Johnston, S. C., Gress, D. R., Browner, W. S., & Sidney, S. (2000). Short-term prognosis after emergency department diagnosis of TIA. *Journal of the American Medical Association*, *284*(22), 2901–2906. <https://doi.org/10.1001/jama.284.22.2901>
- Johnston, S. C., Mendis, S., & Mathers, C. D. (2009). Global variation in stroke burden and mortality: estimates from monitoring, surveillance, and modelling. *The Lancet Neurology*, *8*(4), 345–354. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70023-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70023-7)
- Jorge, R. E., Starkstein, S. E., & Robinson, R. G. (2010). Apathy following stroke. *Canadian Journal of Psychiatry*, *55*(6), 350–354. <https://doi.org/10.1177/070674371005500603>
- Jovin, T. G., Chamorro, A., Cobo, E., de Miquel, M. A., Molina, C. A., Rovira, A., San Román, L., Serena, J., Abilleira, S., Ribó, M., Millán, M., Urra, X., Cardona, P., López-Cancio, E., Tomasello, A., Castaño, C., Blasco, J., Aja, L., Dorado, L., ... Dávalos, A. (2015). Thrombectomy within 8 Hours after Symptom Onset in Ischemic Stroke. *New England Journal of Medicine*, *372*(24), 2296–2306. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1503780>
- Jung, J. Y., Lee, H. S., Kang, D. G., Kim, N. S., Cha, M. H., Bang, O. S., Ryu, D. H., & Hwang, G. S. (2011). 1 H-NMR-based metabolomics study of cerebral infarction. *Stroke*, *42*(5), 1282–1288. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.598789>
- Kalaria, R. N., Akinyemi, R., & Ihara, M. (2016). Stroke injury, cognitive impairment and vascular dementia. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, *1862*(5), 915–925. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.01.015>
- Karall, D., Brunner-Krainz, M., Kogelnig, K., Konstantopoulou, V., Maier, E. M., Möslinger, D., Plecko, B., Sperl, W., Volkmar, B., & Scholl-Bürgi, S. (2015). Clinical outcome, biochemical and therapeutic follow-up in 14 Austrian patients with Long-Chain 3-Hydroxy Acyl CoA

- Dehydrogenase Deficiency (LCHADD). *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 10(1).
<https://doi.org/10.1186/s13023-015-0236-7>
- Karege, F., Perret, G., Bondolfi, G., Schwald, M., Bertschy, G., & Aubry, J. M. (2002). Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. *Psychiatry Research*, 109(2), 143–148. [https://doi.org/10.1016/S0165-1781\(02\)00005-7](https://doi.org/10.1016/S0165-1781(02)00005-7)
- Karikari, T. K., Benedet, A. L., Ashton, N. J., Lantero Rodriguez, J., Snellman, A., Suárez-Calvet, M., Saha-Chaudhuri, P., Lussier, F., Kvartsberg, H., Rial, A. M., Pascoal, T. A., Andreasson, U., Schöll, M., Weiner, M. W., Rosa-Neto, P., Trojanowski, J. Q., Shaw, L. M., Blennow, K., & Zetterberg, H. (2021). Diagnostic performance and prediction of clinical progression of plasma phospho-tau181 in the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. *Molecular Psychiatry*, 26(2), 429–442. <https://doi.org/10.1038/s41380-020-00923-z>
- Kasai, M., Meguro, K., & Nakamura, K. (2014). Reliability and validity of the Japanese version of the Apathy Evaluation Scale. *Japanese Journal of Geriatrics*, 51(5), 445–452.
<https://doi.org/10.3143/geriatrics.51.445>
- Katona, C., & Livingston, G. (2000). Impact of screening old people with physical illness for depression? *Lancet*, 356(9224), 91–92. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)02466-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)02466-1)
- Kauhanen, M. L., Korpelainen, J. T., Hiltunen, P., Brusin, E., Mononen, H., Määttä, R., Nieminen, P., Sotaniemi, K. A., & Myllylä, V. V. (1999). Poststroke depression correlates with cognitive impairment and neurological deficits. *Stroke*, 30(9), 1875–1880.
<https://doi.org/10.1161/01.STR.30.9.1875>
- Keep, R. F., Zhou, N., Xiang, J., Andjelkovic, A. V., Hua, Y., & Xi, G. (2014). Vascular disruption and blood-brain barrier dysfunction in intracerebral hemorrhage. *Fluids and Barriers of the CNS*, 11(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/2045-8118-11-18>
- Kelly, P. J., Morrow, J. D., Ning, M. M., Koroshetz, W., Lo, E. H., Terry, E., Milne, G. L., Hubbard, J., Lee, H., Stevenson, E., Lederer, M., & Furie, K. L. (2008). Oxidative stress and matrix metalloproteinase-9 in acute ischemic stroke: The Biomarker Evaluation for Antioxidant Therapies in Stroke (BEAT-Stroke) study. *Stroke*, 39(1), 100–104.
<https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.107.488189>
- Kennedy, J., Hill, M. D., Ryckborst, K. J., Eliasziw, M., Demchuk, A. M., & Buchan, A. M. (2007). Fast assessment of stroke and transient ischaemic attack to prevent early recurrence (FASTER): a randomised controlled pilot trial. *Lancet Neurology*, 6(11), 961–969.
[https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(07\)70250-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(07)70250-8)
- Keun-Sik Hong, J. L. S. (2009). Quantifying the Value of Stroke Disability Outcomes: WHO Global Burden of Disease Project Disability Weights for Each Level of the Modified Rankin Scale. *Stroke*, 40(12), 3828–3833. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.109.561365>. Quantifying
- Khatri, P., Kleindorfer, D. O., Devlin, T., Sawyer, R. N., Starr, M., Mejilla, J., Broderick, J., Chatterjee, A., Jauch, E. C., Levine, S. R., Romano, J. G., Saver, J. L., Vagal, A., Purdon, B., Devenport, J., Pavlov, A., Yeatts, S. D., Adeoye, O., Coleman, E., ... Zaidi, S. (2018). Effect of alteplase vs aspirin on functional outcome for patients with acute ischemic stroke and minor nondisabling neurologic deficits the PRISMS randomized clinical trial. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 320(2), 156–166. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.8496>
- Khoshnam, S. E., Winlow, W., Farzaneh, M., Farbood, Y., & Moghaddam, H. F. (2017). Pathogenic mechanisms following ischemic stroke. *Neurological Sciences*, 38(7), 1167–1186.
<https://doi.org/10.1007/s10072-017-2938-1>

- Kim, J., Yoon, H., Basak, J., & Kim, J. (2014). Apolipoprotein E in synaptic plasticity and alzheimer's disease: Potential cellular and molecular mechanisms. In *Molecules and Cells* (Vol. 37, Issue 11, pp. 833–840). Korean Society for Molecular and Cellular Biology. <https://doi.org/10.14348/molcells.2014.0248>
- Kitamura, Y., Usami, R., Ichihara, S., Kida, H., Satoh, M., Tomimoto, H., Murata, M., & Oikawa, S. (2017). Plasma protein profiling for potential biomarkers in the early diagnosis of Alzheimer's disease. *Neurological Research*, *39*(3), 231–238. <https://doi.org/10.1080/01616412.2017.1281195>
- Kutlubaevev, M. A., & Hackett, M. L. (2014). Part II: Predictors of depression after stroke and impact of depression on stroke outcome: An updated systematic review of observational studies. *International Journal of Stroke*, *9*(8), 1026–1036. <https://doi.org/10.1111/ijss.12356>
- LANGSTAN, J. B., GUYTOM, A. C., DOUGLAS, B. H., DORSETT, P. E., Russel, A., & McCaa, R. E. (1963). Effect of Changes in Salt Intake on Arterial Pressure and Renal Function in Partially Nephrectomized Dogs. *Circulation Research*, *12*(5), 508–513. <https://doi.org/10.1161/01.res.12.5.508>
- Lanznaster, D., de Assis, D. R., Corcia, P., Pradat, P. F., & Blasco, H. (2018). Metabolomics biomarkers: A strategy toward therapeutics improvement in ALS. *Frontiers in Neurology*, *9*(December), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.01126>
- Laskowitz, D. T., Kasner, S. E., Saver, J., Remmel, K. S., & Jauch, E. C. (2009). Clinical usefulness of a biomarker-based diagnostic test for acute stroke: The Biomarker Rapid Assessment in Ischemic Injury (BRAIN) study. *Stroke*, *40*(1), 77–85. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.108.516377>
- Lee, M., Saver, J. L., Chang, K. H., Liao, H. W., Chang, S. C., & Ovbiagele, B. (2010). Low glomerular filtration rate and risk of stroke: Meta-analysis. *BMJ (Online)*, *341*(7776), 767. <https://doi.org/10.1136/bmj.c4249>
- Lees, R., Selvarajah, J., Fenton, C., Pendlebury, S. T., Langhorne, P., Stott, D. J., & Quinn, T. J. (2014). Test accuracy of cognitive screening tests for diagnosis of dementia and multidomain cognitive impairment in stroke. *Stroke*, *45*(10), 3008–3018. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.114.005842>
- Lei, C., Lin, S., Tao, W., Hao, Z., Liu, M., & Wu, B. (2013). Association between cerebral microbleeds and cognitive function: A systematic review. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, *84*(6), 693–697. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2012-303948>
- Lerman, L. O., Kurtz, T. W., Touyz, R. M., Ellison, D. H., Chade, A. R., Crowley, S. D., Mattson, D. L., Mullins, J. J., Osborn, J., Eirin, A., Reckelhoff, J. F., Iadecola, C., & Coffman, T. M. (2019). Animal Models of Hypertension: A Scientific Statement From the American Heart Association. In *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)* (Vol. 73, Issue 6). <https://doi.org/10.1161/HYP.0000000000000090>
- Lewington, S., Clark, R., Qizilbash, N., Peto, R., & Collins, R. (2002). Mortality: a Meta-Analysis of Individual Data for One Million Adults in 61 Prospective Studies. *Lancet*, *360*(9349), 1903–1913.
- Li, P., Stetler, R. A., Leak, R. K., Shi, Y., Li, Y., Yu, W., Bennett, M. V. L., & Chen, J. (2018). Oxidative stress and DNA damage after cerebral ischemia: Potential therapeutic targets to repair the genome and improve stroke recovery. *Neuropharmacology*, *134*, 208–217. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.11.011>

- Li Zhang, Timothy Schallert, Zheng Gang Zhang, Quan Jiang, Polly Arniego, Qingjiang Li, Mei Lu, M. C. (2002). A test for detecting long-term sensorimotor dysfunction in the mouse after focal cerebral ischemia. *Journal of Neuroscience Methods*, *117*, 207–214. www.elsevier.com/locate/jneumeth
- Liang, Y., Chan, Y. L., Deng, M., Chen, Y. K., Mok, V., Wang, D. F., Ungvari, G. S., Chu, C. wing W., & Tang, W. K. (2018). Enlarged perivascular spaces in the centrum semiovale are associated with poststroke depression: A 3-month prospective study. *Journal of Affective Disorders*, *228*, 166–172. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2017.11.080>
- Liebner, S., Dijkhuizen, R. M., Reiss, Y., Plate, K. H., Agalliu, D., & Constantin, G. (2018). Functional morphology of the blood–brain barrier in health and disease. *Acta Neuropathologica*, *135*(3), 311–336. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1815-1>
- Lim, S. Y., & Hausenloy, D. J. (2012). Remote ischemic conditioning: From bench to bedside. *Frontiers in Physiology*, *3 FEB*(February), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00027>
- Lista, S., O'Bryant, S. E., Blennow, K., Dubois, B., Hugon, J., Zetterberg, H., & Hampel, H. (2015). Biomarkers in Sporadic and Familial Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, *47*(2), 291–317. <https://doi.org/10.3233/JAD-143006>
- Liu, S., Zhen, G., Meloni, B. P., Campbell, K., & Winn, H. R. (2009). Rodent Stroke Model Guidelines for Pre-clinical Stroke Trials (1st edition). *Journal of Experimental Stroke & Translational Medicine*, *02*(02), 2–27. <https://doi.org/10.4172/1939-067x.1000108>
- Lloyd-Jones, D., Adams, R., Carnethon, M., De Simone, G., Ferguson, T. B., Flegal, K., Ford, E., Furie, K., Go, A., Greenlund, K., Haase, N., Hailpern, S., Ho, M., Howard, V., Kissela, B., Kittner, S., Lackland, D., Lisabeth, L., Marelli, A., ... Hong, Y. (2009). Heart Disease and Stroke Statistics—2009 Update. *Circulation*, *119*(3). <https://doi.org/10.1161/circulationaha.108.191261>
- Lo, R. S. K., Cheng, J. O. Y., Wong, E. M. C., Tang, W. K., Wong, L. K. S., Woo, J., & Kwok, T. (2008). Handicap and its determinants of change in stroke survivors: One-year follow-up study. *Stroke*, *39*(1), 148–153. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.107.491399>
- Lobo, A., Chamorro, L., Luque, A., Dal-Ré, R., Badia, X., Baró, E., Lacámara, C., González-Castro, G., Gurrea-Escajedo, A., Elices-Urbano, N., San-Molina, L., Ganoza-García, C., Dueñas-Herrero, R. M., Gutiérrez-Casares, J. R., Galán, F., Bustos, J., Palao-Vidal, D., Cavero-álvarez, M., Mañá-carega, S., ... Martínez-Mesas, J. (2002). Validation of the Spanish versions of the Montgomery-Asberg Depression and Hamilton Anxiety Rating Scales. *Medicina Clinica*, *118*(13), 493–499. [https://doi.org/10.1016/S0025-7753\(02\)72429-9](https://doi.org/10.1016/S0025-7753(02)72429-9)
- Lu, M., Sun, X. L., Qiao, C., Liu, Y., Ding, J. H., & Hu, G. (2014). Uncoupling protein 2 deficiency aggravates astrocytic endoplasmic reticulum stress and nod-like receptor protein 3 inflammasome activation. *Neurobiology of Aging*, *35*(2), 421–430. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.08.015>
- Lu, Y., Hajifathalian, K., Ezzati, M., Woodward, M., Rimm, E. B., Danaei, G., Selmer, R., Strand, B. H., Dobson, A., Hozawa, A., Nozaki, A., Okayama, A., Rodgers, A., Takamashi, A., Zhou, B. F., Zhou, B., Yao, C. H., Jiang, C. Q., Gu, D. F., ... Feskens, E. J. (2014). Metabolic mediators of the effects of body-mass index, overweight, and obesity on coronary heart disease and stroke: A pooled analysis of 97 prospective cohorts with 1·8 million participants. *The Lancet*, *383*(9921), 970–983. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61836-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61836-X)
- Lynch, J. R., Blessing, R., White, W. D., Grocott, H. P., Newman, M. F., & Laskowitz, D. T. (2004).

- Novel Diagnostic Test for Acute Stroke. *Stroke*, 35(1), 57–63.
<https://doi.org/10.1161/01.STR.0000105927.62344.4C>
- M., N., D., P., S., P., M., S., L., F., F., C. G., G., P., & V., D. M. (2010). Possible Anandamide and Palmitoylethanolamide involvement in human stroke. *Lipids in Health and Disease*, 47.
<http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L50914029%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1186/1476-511X-9-47%5Cnhttp://sfx.library.uu.nl/utrecht?sid=EMBASE&issn=1476511X&id=doi:10.1186%2F1476-511X-9-47&atitle=Possible+Anandamide+and+Palm>
- Ma, H., Campbell, B. C. V., Parsons, M. W., Churilov, L., Levi, C. R., Hsu, C., Kleinig, T. J., Wijeratne, T., Curtze, S., Dewey, H. M., Miteff, F., Tsai, C.-H., Lee, J.-T., Phan, T. G., Mahant, N., Sun, M.-C., Krause, M., Sturm, J., Grimley, R., ... Donnan, G. A. (2019). Thrombolysis Guided by Perfusion Imaging up to 9 Hours after Onset of Stroke. *New England Journal of Medicine*, 380(19), 1795–1803. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1813046>
- MacDougall, N. J. J., & Muir, K. W. (2011). Hyperglycaemia and infarct size in animal models of middle cerebral artery occlusion: Systematic review and meta-analysis. In *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* (Vol. 31, Issue 3, pp. 807–818).
<https://doi.org/10.1038/jcbfm.2010.210>
- Madureira, S., Guerreiro, M., & Ferro, J. M. (2001). Dementia and cognitive impairment three months after stroke. *European Journal of Neurology*, 8(6), 621–627.
<https://doi.org/10.1046/j.1468-1331.2001.00332.x>
- Mai, L. M., Sposato, L. A., Rothwell, P. M., Hachinski, V., & Pendlebury, S. T. (2016). A comparison between the MoCA and the MMSE visuoexecutive sub-tests in detecting abnormalities in TIA/stroke patients. *International Journal of Stroke*, 11(4), 420–424.
<https://doi.org/10.1177/1747493016632238>
- Mai, M., Tönjes, A., Kovacs, P., Stumvoll, M., Fiedler, G. M., & Leichtle, A. B. (2013). Serum levels of acylcarnitines are altered in prediabetic conditions. *PLoS ONE*, 8(12).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082459>
- Mandzia, J. L., Smith, E. E., Horton, M., Hanly, P., Barber, P. A., Godzwon, C., Donaldson, E., Asdaghi, N., Patel, S., & Coutts, S. B. (2016). Imaging and Baseline Predictors of Cognitive Performance in Minor Ischemic Stroke and Patients with Transient Ischemic Attack at 90 Days. *Stroke*, 47(3), 726–731. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.115.011507>
- Maria Àngels Font, Sonia María García-Sánchez, Juan José Mengual, Luis Mena, Carla Avellaneda, Joaquín Serena, Adrián Valls-Carbó, Ángel Chamorro, Xavier Ustrell, Carlos Molina, Pere Cardona, Marina Guasch-Jiménez, Francisco Purroy, Ana Rodríguez-Campello, N. P. de la O. and M. G.-C. S. fewer authors, & Consortium), and on behalf of the C. S. C. and R. C. (Cat-S. (2022). Determinants and Trends of the Use of Intravenous Thrombolysis for Minor Stroke: A Population-Based Study, 2016 to 2020. *Stroke*.
- Marin, R. S., Biedrzycki, R. C., & Firinciogullari, S. (1991). Reliability and validity of the apathy evaluation scale. *Psychiatry Research*, 38(2), 143–162. [https://doi.org/10.1016/0165-1781\(91\)90040-V](https://doi.org/10.1016/0165-1781(91)90040-V)
- Marta Olivé-Gadea, Natalia Pérez de la Ossa, Tudor Jovin, Sonia Abilleira, Xavier Jiménez, Pere Cardona, Angel Chamorro, Alan Flores, Yolanda Silva, Francesc Purroy, Joan Martí-Fabregas, Ana Rodríguez-Campello, Josep Zaragoza, Jerzy Krupinski, David Canov, M. R. B. O. T. C. S. C. A. R. C. C.-S. (2022). Evolution of quality indicators in acute stroke during the RACECAT Trial: Impact in the general population. *International Journal of Stroke*.

- Martí-Vilalta, J. L., & Arboix, A. (1999). The Barcelona Stroke Registry. *European Neurology*, 41(3), 135–142. <https://doi.org/10.1159/000008036>
- Martín-Ventura, J. L., Blanco-Colio, L. M., Tuñón, J., Muñoz-García, B., Madrigal-Matute, J., Moreno, J. A., de Céniga, M. V., & Egido, J. (2009). Biomarkers in Cardiovascular Medicine. *Revista Española de Cardiología (English Edition)*, 62(6), 677–688. [https://doi.org/10.1016/s1885-5857\(09\)72232-7](https://doi.org/10.1016/s1885-5857(09)72232-7)
- Martin Prince, J. J. (2009). *World Alzheimer Report*. www.deutsche-alzheimer.de
- Martínez Carpio, P. A., Barba, J., & Bedoya del Campillo, A. (2009). Relación entre los niveles circulatorios de colesterol y los trastornos neuropsiquiátricos. *Revista de Neurología*, 48(05), 261. <https://doi.org/10.33588/rn.4805.2008509>
- Mattson, M. P., Maudsley, S., & Martin, B. (2004). BDNF and 5-HT: A dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends in Neurosciences*, 27(10), 589–594. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2004.08.001>
- Mattsson-carlgren, N., Janelidze, S., Palmqvist, S., Cullen, N., Svenningsson, A. L., Strandberg, O., Mengel, D., Walsh, D. M., Stomrud, E., Dage, J. L., & Hansson, O. (2020). Longitudinal plasma p-tau217 is increased in early stages of Alzheimer ' s disease. *Brain*, 1–8. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa286>
- Mattsson, N., Andreasson, U., Zetterberg, H., Blennow, K., Weiner, M. W., Aisen, P., Toga, A. W., Petersen, R., Jack, C. R., Jagust, W., Trojanowki, J. Q., Shaw, L. M., Beckett, L., Green, R. C., Saykin, A. J., Morris, J. C., Khachaturian, Z., Sorensen, G., Carrillo, M., ... Fargher, K. (2017). Association of plasma neurofilament light with neurodegeneration in patients with Alzheimer disease. *JAMA Neurology*, 74(5), 557–566. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2016.6117>
- Mauri Capdevila, G., Jové, M., Suárez Luis, I., Portero Otín, M., & Purroy García, F. (2013). La metabólica en el ictus isquémico, nuevos biomarcadores diagnósticos y pronósticos. *Revista de Neurología*, 57(01), 29. <https://doi.org/10.33588/rn.5701.2013115>
- Mayo, N. E., Fellows, L. K., Scott, S. C., Cameron, J., & Wood-Dauphinee, S. (2009). A longitudinal view of apathy and its impact after stroke. *Stroke*, 40(10), 3299–3307. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.109.554410>
- McCabe, C., Gallagher, L., Gsell, W., Graham, D., Dominiczak, A. F., & MacRae, I. M. (2009). Differences in the evolution of the ischemic penumbra in stroke-prone spontaneously hypertensive and wistar-kyoto rats. *Stroke*, 40(12), 3864–3868. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.109.559021>
- McCullough, L. D., & Liu, F. (2011). Middle cerebral artery occlusion model in rodents: Methods and potential pitfalls. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2011. <https://doi.org/10.1155/2011/464701>
- McGiff, J. C., & Quilley, C. P. (1981). The rat with spontaneous genetic hypertension is not a suitable model of human essential hypertension. *Circulation Research*, 48(4), 455–464. <https://doi.org/10.1161/01.RES.48.4.455>
- McGill, J. K., Gallagher, L., Carswell, H. V. O., Irving, E. A., Dominiczak, A. F., & Macrae, I. M. (2005). Impaired functional recovery after stroke in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *Stroke*, 36(1), 135–141. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000149629.32525.b7>
- McLennan, S. N., Mathias, J. L., Brennan, L. C., & Stewart, S. (2011). Validity of the Montreal

- Cognitive Assessment (MoCA) as a screening test for Mild Cognitive Impairment (MCI) in a cardiovascular population. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 24(1), 33–38. <https://doi.org/10.1177/0891988710390813>
- Mergenthaler, P., Dirnagl, U., & Meisel, A. (2004). Pathophysiology of stroke: Lessons from animal models. *Metabolic Brain Disease*, 19(3–4), 151–167. <https://doi.org/10.1023/B:MEBR.0000043966.46964.e6>
- Metz, G. A., & Whishaw, I. Q. (2002). Cortical and subcortical lesions impair skilled walking in the ladder rung walking test: A new task to evaluate fore- and hindlimb stepping, placing, and co-ordination. *Journal of Neuroscience Methods*, 115(2), 169–179. [https://doi.org/10.1016/S0165-0270\(02\)00012-2](https://doi.org/10.1016/S0165-0270(02)00012-2)
- Mielke, M. M., Hagen, C. E., Xu, J., Chai, X., & Vemuri, P. (2018). Plasma phospho-tau181 increases with Alzheimer's disease clinical severity and is associated with tau- and amyloid-positron emission tomography. *Alzheimer's & Dementia*, April, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.02.013>
- Mijajlović, M. D., Pavlović, A., Brainin, M., Heiss, W. D., Quinn, T. J., Ihle-Hansen, H. B., Hermann, D. M., Assayag, E. Ben, Richard, E., Thiel, A., Kliper, E., Shin, Y. Il, Kim, Y. H., Choi, S. H., Jung, S., Lee, Y. B., Sinanović, O., Levine, D. A., Schlesinger, I., ... Bornstein, N. M. (2017). Post-stroke dementia - a comprehensive review. In *BMC Medicine* (Vol. 15, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12916-017-0779-7>
- Monacelli, F., Acquarone, E., Giannotti, C., Borghi, R., & Nencioni, A. (2017). Vitamin C, aging and Alzheimer's disease. *Nutrients*, 9(7), 1–26. <https://doi.org/10.3390/nu9070670>
- Montaner J, A.-S. J. (2006). La escala de ictus del National Institute of Health (NIHSS) y su adaptación al español. *Neurología*, 21(4), 192–202.
- Montgomery, S. A., & Asberg, M. (1979). A new depression scale designed to be sensitive to change. *British Journal of Psychiatry*, 134(4), 382–389. <https://doi.org/10.1192/bjp.134.4.382>
- Moran, G. M., Fletcher, B., Feltham, M. G., Calvert, M., Sackley, C., & Marshall, T. (2014). Fatigue, psychological and cognitive impairment following transient ischaemic attack and minor stroke: A systematic review. *European Journal of Neurology*, 21(10), 1258–1267. <https://doi.org/10.1111/ene.12469>
- Morris, M. C., Evans, D. A., Bienias, J. L., Tangney, C. C., Bennett, D. A., Wilson, R. S., & Scherr, P. A. (2015). *Dietary Intake of Antioxidant Nutrients and the Risk of Incident Alzheimer Disease in a Biracial Community Study*. 287(24).
- Morsund, Å. H., Ellekjær, H., Gramstad, A., Reiestad, M. T., Midgard, R., Sando, S. B., Jonsbu, E., & Næss, H. (2019). The development of cognitive and emotional impairment after a minor stroke: A longitudinal study. *Acta Neurologica Scandinavica*, 140(4), 281–289. <https://doi.org/10.1111/ane.13143>
- Moscato, A., Grothe, M. J., Ashton, N. J., Karikari, T. K., Rodriguez, J. L., Snellman, A., Sua, M., Zetterberg, H., & Scho, M. (2020). Time course of phosphorylated-tau181 in blood across the Alzheimer's disease spectrum. *Brain*, 1–15. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa399>
- Mössner, R., Mikova, O., Koutsilieri, E., Saoud, M., Ehlis, A. C., Müller, N., Fallgatter, A. J., & Riederer, P. (2007). Consensus paper of the WFSBP task force on biological markers: Biological markers in depression. *World Journal of Biological Psychiatry*, 8(3), 141–174.

<https://doi.org/10.1080/15622970701263303>

- Murtaza, A., & Dasgupta, I. (2021). Chronic Kidney Disease and Cognitive Impairment. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 30(9), 105529. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.105529>
- Murugan, M., Ling, E.-A., & Kaur, C. (2013). Glutamate Receptors in Microglia. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*, 12(6), 773–784. <https://doi.org/10.2174/18715273113126660174>
- Mvundura, M., Mcgruder, H., Khoury, M. J., Valdez, R., & Yoon, P. W. (2009). Family history as a risk factor for early-onset stroke/transient ischemic attack among adults in the United States. *Public Health Genomics*, 13(1), 13–20. <https://doi.org/10.1159/000209879>
- National Clinical Guideline Center. (2013). National Clinical Guideline Centre Stroke Rehabilitation Contents. *Brazzelli M, Saunders DH, Greig CA, Mead GE, May*, 395.
- Neher, J. J., Emmrich, J. V., Fricker, M., Mander, P. K., Théry, C., & Brown, G. C. (2013). Phagocytosis executes delayed neuronal death after focal brain ischemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(43). <https://doi.org/10.1073/pnas.1308679110>
- Ng, Y. S., Stein, J., Ning, M. M., & Black-Schaffer, R. M. (2007). Comparison of clinical characteristics and functional outcomes of ischemic stroke in different vascular territories. *Stroke*, 38(8), 2309–2314. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.106.475483>
- Nicotera, P., Leist, M., Fava, E., Berliocchi, L., & Volbracht, C. (2000). Energy requirement for caspase activation and neuronal cell death. *Brain Pathology*, 10(2), 276–282. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2000.tb00261.x>
- NINDS. (1995). TISSUE PLASMINOGEN ACTIVATOR FOR ACUTE ISCHEMIC STROKE. *New England Journal of Medicine*, 333(24).
- Nogueira, R. G., Jadhav, A. P., Haussen, D. C., Bonafe, A., Budzik, R. F., Bhuva, P., Yavagal, D. R., Ribo, M., Cognard, C., Hanel, R. A., Sila, C. A., Hassan, A. E., Millan, M., Levy, E. I., Mitchell, P., Chen, M., English, J. D., Shah, Q. A., Silver, F. L., ... Jovin, T. G. (2018). Thrombectomy 6 to 24 Hours after Stroke with a Mismatch between Deficit and Infarct. *New England Journal of Medicine*, 378(1), 11–21. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1706442>
- Nys, G. M. S., Van Zandvoort, M. J. E., De Kort, P. L. M., Jansen, B. P. W., De Haan, E. H. F., & Kappelle, L. J. (2007). Cognitive disorders in acute stroke: Prevalence and clinical determinants. *Cerebrovascular Diseases*, 23(5–6), 408–416. <https://doi.org/10.1159/000101464>
- Nys, G. M. S., van Zandvoort, M. J. E., van der Worp, H. B., de Haan, E. H. F., de Kort, P. L. M., Jansen, B. P. W., & Kappelle, L. J. (2006). Early cognitive impairment predicts long-term depressive symptoms and quality of life after stroke. *Journal of the Neurological Sciences*, 247(2), 149–156. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2006.04.005>
- Nys, G. M. S., Van Zandvoort, M. J. E., Van Der Worp, H. B., De Haan, E. H. F., De Kort, P. L. M., & Kappelle, L. J. (2005). Early depressive symptoms after stroke: Neuropsychological correlates and lesion characteristics. *Journal of the Neurological Sciences*, 228(1), 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2004.09.031>
- O'Brien, J. T., Erkinjuntti, T., Reisberg, B., Roman, G., Sawada, T., Pantoni, L., Bowler, J. V., Ballard, C., DeCarli, C., Gorelick, P. B., Rockwood, K., Burns, A., Gauthier, S., & DeKosky, S. T. (2003). Vascular cognitive impairment. *Lancet Neurology*, 2(2), 89–98.

- [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(03\)00305-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(03)00305-3)
- O'Brien, J. T., & Thomas, A. (2015). Vascular dementia. *The Lancet*, *386*(10004), 1698–1706. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00463-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00463-8)
- O'Bryant, S. E., Mielke, M. M., Rissman, R. A., Lista, S., Vanderstichele, H., Zetterberg, H., Lewczuk, P., Posner, H., Hall, J., Johnson, L., Fong, Y. L., Luthman, J., Jeromin, A., Batrla-Utermann, R., Villarreal, A., Britton, G., Snyder, P. J., Henriksen, K., Grammas, P., ... Hampel, H. (2017). Blood-based biomarkers in Alzheimer disease: Current state of the science and a novel collaborative paradigm for advancing from discovery to clinic. *Alzheimer's and Dementia*, *13*(1), 45–58. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.09.014>
- Oksala, N. K. J., Jokinen, H., Melkas, S., Oksala, A., Pohjasvaara, T., Hietanen, M., Vataja, R., Kaste, M., Karhunen, P. J., & Erkinjuntti, T. (2009). Cognitive impairment predicts poststroke death in long-term follow-up. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, *80*(11), 1230–1235. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2009.174573>
- Orasanu, G., & Plutzky, J. (2009). The Pathologic Continuum of Diabetic Vascular Disease. *Journal of the American College of Cardiology*, *53*(5 SUPPL.), S35–S42. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2008.09.055>
- Ovbiagele, B., Kidwell, C. S., Starkman, S., & Saver, J. L. (2003). Neuroprotective agents for the treatment of acute ischemic stroke. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, *3*(1), 9–20. <https://doi.org/10.1007/s11910-003-0031-z>
- P. K. B. Mahesh, M. W. Gunathunga, S. Jayasinghe, S. M. A. & S. N. L. (2018). Factors influencing pre-stroke and post-stroke quality of life among stroke survivors in a lower middle-income country. *Neurological Sciences*, *39*, 287–295.
- Park, H.-D., Kim, S. R., Ki, C.-S., Lee, S.-Y., Chang, Y. S., Jin, D.-K., & Park, W. S. (2009). *Two Novel HADHB Gene Mutations in a Korean Patient with Mitochondrial Trifunctional Protein Deficiency*. www.annclinlabsci.org
- Peña-Casanova, J. (2005). *Test Barcelona Revisado. TBR. Programa Integrado de Exploración Neuropsicológica. Normalidad, semiología y patología neuropsicológicas*. (2ª).
- Peña-Casanova, J., Gramunt-Fombuena, N., Quiñones-Úbeda, S., Sánchez-Benavides, G., Aguilar, M., Badenes, D., Molinuevo, J. L., Robles, A., Barquero, M. S., Payno, M., Antúnez, C., Martínez-Parra, C., Frank-García, A., Fernández, M., Alfonso, V., Sol, J. M., & Blesa, R. (2009). Spanish multicenter normative studies (NEURONORMA project): Norms for the rey-osterrieth complex figure (copy and memory), and free and cued selective reminding test. *Archives of Clinical Neuropsychology*, *24*(4), 371–393. <https://doi.org/10.1093/arclin/acp041>
- Peña-Casanova, J., Quiñones-Úbeda, S., Gramunt-Fombuena, N., Quintana-Aparicio, M., Aguilar, M., Badenes, D., Cerulla, N., Molinuevo, J. L., Ruiz, E., Robles, A., Barquero, M. S., Antúnez, C., Martínez-Parra, C., Frank-García, A., Fernández, M., Alfonso, V., Sol, J. M., & Blesa, R. (2009). Spanish multicenter normative studies (NEURONORMA project): Norms for verbal fluency tests. *Archives of Clinical Neuropsychology*, *24*(4), 395–411. <https://doi.org/10.1093/arclin/acp042>
- Peña-Casanova, J., Quiñones-Úbeda, S., Quintana-Aparicio, M., Aguilar, M., Badenes, D., Molinuevo, J. L., Torner, L., Robles, A., Barquero, M. S., Villanueva, C., Antúnez, C., Martínez-Parra, C., Frank-García, A., Sanz, A., Fernández, M., Alfonso, V., Sol, J. M., & Blesa, R. (2009). Spanish multicenter normative studies (NEURONORMA project): Norms for verbal Span, visuospatial Span, letter and number sequencing, trail making test, and symbol digit

- modalities test. *Archives of Clinical Neuropsychology*, 24(4), 321–341.
<https://doi.org/10.1093/arclin/acp038>
- Pendlebury, S. T., Cuthbertson, F. C., Welch, S. J. V., Mehta, Z., & Rothwell, P. M. (2010). Underestimation of cognitive impairment by mini-mental state examination versus the montreal cognitive assessment in patients with transient ischemic attack and stroke: A population-based study. *Stroke*, 41(6), 1290–1293.
<https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.579888>
- Pendlebury, S. T., Mariz, J., Bull, L., Mehta, Z., & Rothwell, P. M. (2013). Impact of different operational definitions on mild cognitive impairment rate and MMSE and MoCA performance in transient ischaemic attack and stroke. *Cerebrovascular Diseases*, 36(5–6), 355–362. <https://doi.org/10.1159/000355496>
- Pendlebury, S. T., & Rothwell, P. M. (2009). Articles Prevalence, incidence, and factors associated with pre-stroke and post-stroke dementia: a systematic review and meta-analysis. *Www.TheLancet.Com/Neurology*, 8. <https://doi.org/10.1016/S1474>
- Petersen, R. C. (2003). *Mild cognitive impairment: Aging to Alzheimer's disease*. Oxford University Press.
- Petersen, R. C., Doody, R., Kurz, A., Mohs, R. C., Morris, J. C., Rabins, P. V., Ritchie, K., Rossor, M., Thal, L., & Winblad, B. (2001). Current concepts in mild cognitive impairment. *Archives of Neurology*, 58(12), 1985–1992. <https://doi.org/10.1001/archneur.58.12.1985>
- Pilz, S., Tomaschitz, A., Meinitzer, A., Drechsler, C., Ritz, E., Krane, V., Wanner, C., Böhm, B. O., & März, W. (2011). Low serum homoarginine is a novel risk factor for fatal strokes in patients undergoing coronary angiography. *Stroke*, 42(4), 1132–1134.
<https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.603035>
- Pohjasvaara, T., Vataja, R., Leppävuori, A., Kaste, M., & Erkinjuntti, T. (2001). Depression is an independent predictor of poor long-term functional outcome post-stroke. *European Journal of Neurology*, 8(4), 315–319. <https://doi.org/10.1046/j.1468-1331.2001.00182.x>
- Portha B, Blondel O, Serradas P, McEvoy R, Giroix MH, Ker goat M. (1989). The rat models of non-insulin dependent diabetes induced by neonatal streptozotocin. *Diabete Metab*, 15(2), 61–75.
- Posada-Duque, R. A., Barreto, G. E., & Cardona-Gomez, G. P. (2014). Protection after stroke: cellular effectors of neurovascular unit integrity. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 8(August), 1–19. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00231>
- Prakash, R., Li, W., Qu, Z., Johnson, M. A., Fagan, S. C., & Ergul, A. (2013). Vascularization pattern after ischemic stroke is different in control versus diabetic rats relevance to stroke recovery. *Stroke*, 44(10), 2875–2882. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.113.001660>
- Purroy, F., Begué, R., Gil, M. I., Quílez, A., Sanahuja, J., Brieva, L., & Piñol-Ripoll, G. (2011). Patterns of diffusion-weighted magnetic resonance imaging associated with etiology improve the accuracy of prognosis after transient ischaemic attack. *European Journal of Neurology*, 18(1), 121–128. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2010.03080.x>
- Purroy, F., Montaner, J., Molina, C. A., Delgado, P., Ribo, M., & Álvarez-Sabín, J. (2007). Patterns and predictors of early risk of recurrence after transient ischemic attack with respect to etiologic subtypes. *Stroke*, 38(12), 3225–3229.
<https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.107.488833>

- Purroy, F., Vena, A., Forné, C., De Arce, A. M., Dávalos, A., Fuentes, B., Arenillas, J. F., Krupinski, J., Gómez-Choco, M., Palomeras, E., Martí-Fábregas, J., Castillo, J., Ustrell, X., Tejada, J., Masjuan, J., Garcés, M., Benabdelhak, I., & Serena, J. (2019). Age- and sex-specific risk profiles and in-hospital mortality in 13,932 Spanish stroke patients. *Cerebrovascular Diseases*, *47*(3–4), 151–164. <https://doi.org/10.1159/000500205>
- R J Mullen, C R Buck, A. M. S. (1992). NeuN, a neuronal specific nuclear protein in vertebrates. *Development*, *116*(1), 201–211.
- Rafter, D. (2001). Biochemical markers of anxiety and depression. *Psychiatry Research*, *103*(1), 93–96. [https://doi.org/10.1016/S0165-1781\(01\)00251-7](https://doi.org/10.1016/S0165-1781(01)00251-7)
- Ramón Estruch, Emilio Ros, Jordi Salas-Salvadó, Maria-Isabel Covas, Dolores Corella, Fernando, Enrique Gómez-Gracia, Valentina Ruiz-Gutiérrez, Miquel Fiol, José Lapetra, Rosa Maria Lamuela-Raventos, Lluís Serra-Majem, Xavier Pintó, Josep Basora, Miguel An, and M. A. M.-G. (2013). Primary prevention of cardiovascular disease with a mediterranean diet. *New England Journal of Medicine*, *10*(2), 28. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1200303>
- Regidor, E., Barrio, G., Bravo, M. J., & De La Fuente, L. (2014). Has health in Spain been declining since the economic crisis? *Journal of Epidemiology and Community Health*, *68*(3), 280–282. <https://doi.org/10.1136/jech-2013-202944>
- Reuter, S. E., & Evans, A. M. (2012). Carnitine and Acylcarnitines Pharmacokinetic, Pharmacological and Clinical Aspects. *Clinical Pharmacokinetics*, *51*(9), 553–572.
- Reynolds, M. A., Kirchick, H. J., Dahlen, J. R., Anderberg, J. M., McPherson, P. H., Nakamura, K. K., Laskowitz, D. T., Valkirs, G. E., & Buechler, K. F. (2003). Early biomarkers of stroke. *Clinical Chemistry*, *49*(10), 1733–1739. <https://doi.org/10.1373/49.10.1733>
- Rist, P. M., Buring, J. E., Ridker, P. M., Kase, C. S., Kurth, T., & Rexrode, K. M. (2019). Lipid levels and the risk of hemorrhagic stroke among women. *Neurology*, *92*(19), E2286–E2294. <https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000007454>
- Risto Vataja, Tarja Pohjasvaara, Riitta Mäntylä, Raija Ylikoski, Maarit Leskelä, Hely Kalska, Marja Hietanen, Hannu Juhani Aronen, Oili Salonen, Markku Kaste, Antero Leppävuori, T. E. (2005). Depression-executive dysfunction syndrome in stroke patients. *Am J Geriatr Psychiatry*, *13*(2), 99–107.
- Robinson, R. G., & Jorge, R. E. (2016). Post-stroke depression: A review. *American Journal of Psychiatry*, *173*(3), 221–231. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2015.15030363>
- Rockwood, K., & Erkinjuntti, T. (2003). Vascular Cognitive Impairment in Clinical Practice. *Alzheimer's Disease*, 121–126. <https://doi.org/10.1385/1-59259-661-4:121>
- Ronald C. Petersen, Ph.D., M.D., Ronald G. Thomas, Ph.D., Michael Grundman, M.D., M. P. H., David Bennett, M.D., Rachele Doody, M.D., Ph.D., Steven Ferris, Ph.D., Douglas Galasko, M. D., Shelia Jin, M.D., M.P.H., Jeffrey Kaye, M.D., Allan Levey, M.D., Ph.D., Eric Pfeiffer, M.D., Mary Sano, P. D., & Christopher H. van Dyck, M.D., and Leon J. Thal, M.D., for the A. D. C. S. G. (2005). Vitamin E and Donepezil for the Treatment of Mild Cognitive Impairment. *The New England Journal of Medicine*, *352*(23), 2379–2388.
- RS, M. (1996). Apathy: Concept, Syndrome, Neural Mechanisms, and Treatment. *Semin Clin Neuropsychiatry*, *1*(4), 304–314.
- S Melkas, N K J Oksala, H Jokinen, T Pohjasvaara, R Vataja, A Oksala, M Kaste, P J Karhunen, T. E. (2009). Poststroke dementia predicts poor survival in long-term follow-up: influence of

- prestroke cognitive decline and previous stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* ., 80(8), 865–870.
- Sairanen, T., Carpén, O., Karjalainen-Lindsberg, M. L., Paetau, A., Turpeinen, U., Kaste, M., & Lindsberg, P. J. (2001). Evolution of cerebral tumor necrosis factor- α production during human ischemic stroke. *Stroke*, 32(8), 1750–1757. <https://doi.org/10.1161/01.str.32.8.1750>
- Salter, K., Bhogal, S. K., Foley, N., Jutai, J., & Teasell, R. (2007). The assessment of poststroke depression. *Topics in Stroke Rehabilitation*, 14(3), 1–24. <https://doi.org/10.1310/tsr1403-1>
- Santisteban, M. M., Ahmari, N., Carvajal, J. M., Zingler, M. B., Qi, Y., Kim, S., Joseph, J., Garcia-Pereira, F., Johnson, R. D., Shenoy, V., Raizada, M. K., & Zubcevic, J. (2015). Involvement of bone marrow cells and neuroinflammation in hypertension. *Circulation Research*, 117(2), 178–191. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.305853>
- Santos Lasaosa, S., López del Val, L. J., Iñíguez Martínez, C., Ortells Ramón, M. L., Escalza Cortina, I., & Navas Vinagre, I. (2000). Diabetes mellitus e ictus. *Revista de Neurología*, 31(01), 14. <https://doi.org/10.33588/rn.3101.99458>
- Saver, J. L. (2006). Time is brain - Quantified. *Stroke*, 37(1), 263–266. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000196957.55928.ab>
- Schaller, B. (2005). Ischemic preconditioning as induction of ischemic tolerance after transient ischemic attacks in human brain: Its clinical relevance. *Neuroscience Letters*, 377(3), 206–211. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2004.12.004>
- Schiffrin, E. L. (2005). Vascular endothelin in hypertension. *Vascular Pharmacology*, 43(1), 19–29. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2005.03.004>
- Schmidt, H. D., Shelton, R. C., & Duman, R. S. (2011). Functional biomarkers of depression: Diagnosis, treatment, and pathophysiology. *Neuropsychopharmacology*, 36(12), 2375–2394. <https://doi.org/10.1038/npp.2011.151>
- Schürks, M., Glynn, R. J., Rist, P. M., Tzourio, C., & Kurth, T. (2010). Effects of vitamin E on stroke subtypes: Meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ (Online)*, 341(7781), 1033. <https://doi.org/10.1136/bmj.c5702>
- Shahjouei, S., Sadighi, A., Chaudhary, D., Li, J., Abedi, V., Holland, N., Phipps, M., & Zand, R. (2021). A 5-Decade Analysis of Incidence Trends of Ischemic Stroke after Transient Ischemic Attack: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Neurology*, 78(1), 77–87. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2020.3627>
- Sharma, A. N., Da Costa E Silva, B. F. B., Soares, J. C., Carvalho, A. F., & Quevedo, J. (2016). Role of trophic factors GDNF, IGF-1 and VEGF in major depressive disorder: A comprehensive review of human studies. *Journal of Affective Disorders*, 197, 9–20. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2016.02.067>
- Sharma, C., Kim, S., Nam, Y., Jung, U. J., & Kim, S. R. (2021). Mitochondrial dysfunction as a driver of cognitive impairment in alzheimer's disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9). <https://doi.org/10.3390/ijms22094850>
- Shekhar, S., Kumar, R., Rai, N., Kumar, V., Singh, K., Upadhyay, A. D., Tripathi, M., Dwivedi, S., Dey, A. B., & Dey, S. (2016). Estimation of Tau and phosphorylated Tau181 in serum of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment patients. *PLoS ONE*, 11(7), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159099>

- Shelagh B Coutts, Véronique Dubuc, Jennifer Mandzia, Carol Kenney, Andrew M Demchuk, Eric E Smith, Suresh Subramaniam, Mayank Goyal, Shivanand Patil, Bijoy K Menon, Philip A Barber, Dar Dowlatshahi, Thalia Field, Negar Asdaghi, Marie-Christine Camden, Mic, T.-1 I. (2015). Tenecteplase-tissue-type plasminogen activator evaluation for minor ischemic stroke with proven occlusion. *Stroke*, *46*(3), 769–774.
- Shenoda, B. (2015). The Role of Na⁺/Ca²⁺ Exchanger Subtypes in Neuronal Ischemic Injury. *Translational Stroke Research*, *6*(3), 181–190. <https://doi.org/10.1007/s12975-015-0395-9>
- Sherif Hafez, Mohammed Abdelsaid, PhD2, Sally El-Shafey, MDS2, Maribeth H. Johnson, MS3, Susan C. Fagan, PharmD1, 4, 5, and Advije Ergul, MD, PhD1, 2, z, PhD1, 2, 5, Mohammed Abdelsaid, PhD2, Sally El-Shafey, MDS2, Maribeth H. Johnson, MS3, Susan C. Fagan, 2. (2016). Matrix Metalloprotease 3 Exacerbates Hemorrhagic Transformation and Worsens Functional Outcomes in Hyperglycemic Stroke. *Stroke; a Journal of Cerebral Circulation*, *47*(3), 843–851. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.115.011258>.Matrix
- Shi, Y., Yang, D., Zeng, Y., & Wu, W. (2017). Risk factors for post-stroke depression: A meta-analysis. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *9*(JUL), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00218>
- Shi, Y. Z., Xiang, Y. T., Yang, Y., Zhang, N., Wang, S., Ungvari, G. S., Chiu, H. F. K., Tang, W. K., Wang, Y. L., Zhao, X. Q., Wang, Y. J., & Wang, C. X. (2016). Depression after minor stroke: The association with disability and quality of life - A 1-year follow-up study. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, *31*(4), 425–431. <https://doi.org/10.1002/gps.4353>
- Shimizu, E., Hashimoto, K., Okamura, N., Koike, K., Komatsu, N., Kumakiri, C., Nakazato, M., Watanabe, H., Shinoda, N., Okada, S. I., & Iyo, M. (2003). Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants. *Biological Psychiatry*, *54*(1), 70–75. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(03\)00181-1](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(03)00181-1)
- Shou, J., Zhou, L., Zhu, S., & Zhang, X. (2015). Diabetes is an Independent Risk Factor for Stroke Recurrence in Stroke Patients: A Meta-analysis. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, *24*(9), 1961–1968. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.04.004>
- Sinha, R., Ahn, J., Sampson, J. N., Shi, J., Yu, G., Xiong, X., Hayes, R. B., & Goedert, J. J. (2016). Fecal microbiota, fecal metabolome, and colorectal cancer interrelations. *PLoS ONE*, *11*(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152126>
- Smith, C. J., Emsley, H. C. A., Gavin, C. M., Georgiou, R. F., Vail, A., Barberan, E. M., del Zoppo, G. J., Hallenbeck, J. M., Rothwell, N. J., Hopkins, S. J., & Tyrrell, P. J. (2004). Erratum: Peak plasma interleukin-6 and other peripheral markers of inflammation in the first week of ischaemic stroke correlate with brain infarct volume, stroke severity and long-term outcome (BMC Neurology). *BMC Neurology*, *4*, 1–8. <https://doi.org/10.1186/1471-2377-4-5>
- Snaphaan, L., Van Der Werf, S., Kanselaar, K., & De Leeuw, F. E. (2009). Post-stroke depressive symptoms are associated with post-stroke characteristics. *Cerebrovascular Diseases*, *28*(6), 551–557. <https://doi.org/10.1159/000247598>
- Societat Catalana de Neurologia. (2018). *Protocolo de Diagnòstic i tractament de les malalties vasculars cerebrals. Guies Mèdiques de la Societat Catalana de Neurologia: 04*. 145. https://www.scneurologia.cat/wp-content/uploads/2019/03/Guia-Vascular-Societat-Catalana-de-Neurologia_2018.pdf
- Soyama, Y., Miura, K., Morikawa, Y., Nishijo, M., Nakanishi, Y., Naruse, Y., Kagamimori, S., &

- Nakagawa, H. (2003). High-density lipoprotein cholesterol and risk of stroke in Japanese men and women: The Oyabe study. *Stroke*, *34*(4), 863–868. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000060869.34009.38>
- Sprague, W. (2020). Arrive Guidelines 2.0. *Veterinary Clinical Pathology*, *49*(3), 378–379. <https://doi.org/10.1111/vcp.12886>
- Starkstein, S. E., Ingram, L., Garau, M. L., & Mizrahi, R. (2005). On the overlap between apathy and depression in dementia. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, *76*(8), 1070–1074. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2004.052795>
- Stevens E, Emmett E, Wang Y, McKeivitt C, W. C. (2017). *The burden of stroke in Europe*. London: Stroke Alliance for Europe.
- Stitham J, H. J. (2016). Prostacyclin, Atherothrombosis and Diabetes Mellitus: Physiologic and Clinical Considerations. *Curr Mol Med.*, *16*, 328–342.
- Stojanovska, L., Rosella, G., & Proietto, J. (1990). Evolution of dexamethasone-induced insulin resistance in rats. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, *258*(5 21-5). <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1990.258.5.e748>
- Stokum, J. A., Gerzanich, V., & Simard, J. M. (2016). Molecular pathophysiology of cerebral edema. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, *36*(3), 513–538. <https://doi.org/10.1177/0271678X15617172>
- Sweeney, M. D., Kisler, K., Montagne, A., Toga, A. W., & Zlokovic, B. V. (2018). The role of brain vasculature in neurodegenerative disorders. *Nature Neuroscience*, *21*(10), 1318–1331. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0234-x>
- Sweeney, M. D., Sagare, A. P., & Zlokovic, B. V. (2018). Blood-brain barrier breakdown in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders. *Nature Reviews Neurology*, *14*(3), 133–150. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.188>
- Sweeney, M. D., Zhao, Z., Montagne, A., Nelson, A. R., & Zlokovic, B. V. (2019). Blood-brain barrier: From physiology to disease and back. *Physiological Reviews*, *99*(1), 21–78. <https://doi.org/10.1152/physrev.00050.2017>
- Tao, X. G., Shi, J. H., Hao, S. Y., Chen, X. T., & Liu, B. Y. (2017). Protective effects of calpain inhibition on neurovascular unit injury through downregulating nuclear factor-kb-related inflammation during traumatic brain injury in mice. *Chinese Medical Journal*, *130*(2), 187–198. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.198001>
- Tatebe, H., Kasai, T., Ohmichi, T., Kishi, Y., Takeya, T., Waragai, M., Kondo, M., Allsop, D., & Tokuda, T. (2017). Quantification of plasma phosphorylated tau to use as a biomarker for brain Alzheimer pathology: Pilot case-control studies including patients with Alzheimer's disease and down syndrome. *Molecular Neurodegeneration*, *12*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13024-017-0206-8>
- Terroni, L., Sobreiro, M. F. M., Conforto, A. B., Adda, C. C., Guajardo, V. D., Lucia, M. C. S. de, & Fráguas, R. (2012). Association among depression, cognitive impairment and executive dysfunction after stroke. *Dementia & Neuropsychologia*, *6*(3), 152–157. <https://doi.org/10.1590/s1980-57642012dn06030007>
- Thijssen, E. H., La Joie, R., Wolf, A., Strom, A., Wang, P., Iaccarino, L., Bourakova, V., Cobigo, Y., Heuer, H., Spina, S., VandeVrede, L., Chai, X., Proctor, N. K., Airey, D. C., Shcherbinin, S., Duggan Evans, C., Sims, J. R., Zetterberg, H., Blennow, K., ... Dickerson, B. C. (2020).

- Diagnostic value of plasma phosphorylated tau181 in Alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration. *Nature Medicine*, 26(3), 387–397. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0762-2>
- Thomalla, G., Boutitie, F., Ma, H., Koga, M., Ringleb, P., Schwamm, L. H., Wu, O., Bendszus, M., Bladin, C. F., Campbell, B. C. V., Cheng, B., Churilov, L., Ebinger, M., Endres, M., Fiebach, J. B., Fukuda-Doi, M., Inoue, M., Kleinig, T. J., Latour, L. L., ... Zand, R. (2020). Intravenous alteplase for stroke with unknown time of onset guided by advanced imaging: systematic review and meta-analysis of individual patient data. *The Lancet*, 396(10262), 1574–1584. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32163-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32163-2)
- Thomalla, G., Simonsen, C. Z., Boutitie, F., Andersen, G., Berthezene, Y., Cheng, B., Cheripelli, B., Cho, T.-H., Fazekas, F., Fiehler, J., Ford, I., Galinovic, I., Gellissen, S., Golsari, A., Gregori, J., Günther, M., Guibernau, J., Häusler, K. G., Hennerici, M., ... Gerloff, C. (2018). MRI-Guided Thrombolysis for Stroke with Unknown Time of Onset. *New England Journal of Medicine*, 379(7), 611–622. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1804355>
- Tombaugh T, Rees L, M. N. (1996). *Normative data for the Trail Making Test. In: A compendium of neuropsychological tests.*
- Torregrosa G, Salom JB, Jover-Mengual T, A. E. (2008). *Fisiopatología básica: De la oclusión arterial a la muerte neuronal.* Marge Médica Books.
- Torres-Querol, C., Quintana-Luque, M., Arque, G., & Purroy, F. (2021). Preclinical evidence of remote ischemic conditioning in ischemic stroke, a metanalysis update. *Scientific Reports*, 11(1), 1–18. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-03003-6>
- Towfighi, A., Ovbiagele, B., El Hussein, N., Hackett, M. L., Jorge, R. E., Kissela, B. M., Mitchell, P. H., Skolarus, L. E., Whooley, M. A., & Williams, L. S. (2017). Poststroke Depression: A Scientific Statement for Healthcare Professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*, 48(2), e30–e43. <https://doi.org/10.1161/STR.000000000000113>
- Toyoda, K., & Ninomiya, T. (2014). Stroke and cerebrovascular diseases in patients with chronic kidney disease. In *The Lancet Neurology* (Vol. 13, Issue 8, pp. 823–833). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70026-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70026-2)
- Truelsen, T., Ekman, M., & Boysen, G. (2005). Cost of stroke in Europe. *European Journal of Neurology, Supplement*, 12(SUPPL. 1), 78–84. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2005.01199.x>
- Turc, G., Bhogal, P., Fischer, U., Khatri, P., Lobotesis, K., Mazighi, M., Schellinger, P. D., Toni, D., de Vries, J., White, P., & Fiehler, J. (2019). European Stroke Organisation (ESO) – European Society for Minimally Invasive Neurological Therapy (ESMINT) Guidelines on Mechanical Thrombectomy in Acute Ischaemic Stroke Endorsed by Stroke Alliance for Europe (SAFE). *European Stroke Journal*, 4(1), 6–12. <https://doi.org/10.1177/2396987319832140>
- Turley, K. R., Toledo-Pereyra, L. H., & Kothari, R. U. (2005). Molecular mechanisms in the pathogenesis and treatment of acute ischemic stroke. *Journal of Investigative Surgery*, 18(4), 207–218. <https://doi.org/10.1080/08941930591004449>
- Turón, A i Bas, R. (2011). *Demencia vascular por lesiones de pequeño vaso. En: R. Alberca i S. Lopez-Pousa (Ed.), Enfermedad de Alzheimer y otras demencias* (Panamerica).
- van Dalen, J. W., van Charante, E. P. M., Nederkoorn, P. J., van Gool, W. A., & Richard, E. (2013).

- Poststroke Apathy. *Stroke*, 44(3), 851–860. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.112.674614>
- Van Dalen, J. W., Van Charante, E. P. M., Nederkoorn, P. J., Van Gool, W. A., & Richard, E. (2013). Poststroke apathy. *Stroke*, 44(3), 851–860. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.112.674614>
- Van Reekum, R. (2005). Risk of dementia in people with depressive and bipolar disorders increases with increasing number of prior affective episodes: Commentary. *Evidence-Based Mental Health*, 8(2), 46. <https://doi.org/10.1136/ebmh.8.2.46>
- Van Swieten, J. C., Koudstaal, P. J., Visser, M. C., Schouten, H., & Van Gijn, J. (1988). Interobserver agreement for the assessment of handicap in stroke patients. *Stroke*, 19(5), 604–607. <https://doi.org/10.1161/01.STR.19.5.604>
- Vena, A. B., Cabré, X., Piñol, R., Molina, J., & Purroy, F. (2020). Assessment of incidence and trends in cerebrovascular disease in the healthcare district of Lleida (Spain) in the period 2010-2014. *Neurologia*. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2019.10.012>
- Verdelho, A., Hénon, H., Lebert, F., Pasquier, F., & Leys, D. (2004). Depressive symptoms after stroke and relationship with dementia: A three-year follow-up study. *Neurology*, 62(6), 905–911. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000115107.66957.8C>
- Viveca M. Bhat, John W. Cole, John D. Sorkin, Marcella A. Wozniak, Ann M. Malarcher, Wayne H Giles, Barney J. Stern, A., & Kittner, S. J. (2008). Dose-Response Relationship Between Cigarette Smoking and Risk of Ischemic Stroke in Young Women. *Stroke*, 39(9), 2439–2443. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.107.510073.Dose-Response>
- Vojtikiv-Samoilovska, D., & Arsovska, A. (2018). Prevalence and predictors of depression after stroke - Results from a prospective study. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 6(5), 824–828. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2018.182>
- Wade, D. T., Wood, V. A., & Hewer, R. L. (1985). Recovery after stroke - The first 3 months. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry*, 48(1), 7–13. <https://doi.org/10.1136/jnnp.48.1.7>
- Wahl, S., Holzapfel, C., Yu, Z., Breier, M., Kondofersky, I., Fuchs, C., Singmann, P., Prehn, C., Adamski, J., Grallert, H., Illig, T., Wang-Sattler, R., & Reinehr, T. (2013). *Metabolomics reveals determinants of weight loss during lifestyle intervention in obese Authors and Affiliations 5.*
- Wahlund, L. O., Barkhof, F., Fazekas, F., Bronge, L., Augustin, M., Sjögren, M., Wallin, A., Ader, H., Leys, D., Pantoni, L., Pasquier, F., Erkinjuntti, T., & Scheltens, P. (2001). A new rating scale for age-related white matter changes applicable to MRI and CT. *Stroke*, 32(6), 1318–1322. <https://doi.org/10.1161/01.STR.32.6.1318>
- Walker, J., Holm Hansen, C., Martin, P., Sawhney, A., Thekkumpurath, P., Beale, C., Symeonides, S., Wall, L., Murray, G., & Sharpe, M. (2013). Prevalence of depression in adults with cancer: A systematic review. *Annals of Oncology*, 24(4), 895–900. <https://doi.org/10.1093/annonc/mds575>
- Wang, Y., Wang, Y., Zhao, X., Liu, L., Wang, D., Wang, C., Wang, C., Li, H., Meng, X., Cui, L., Jia, J., Dong, Q., Xu, A., Zeng, J., Li, Y., Wang, Z., Xia, H., & Johnston, S. C. (2013). Clopidogrel with Aspirin in Acute Minor Stroke or Transient Ischemic Attack. *New England Journal of Medicine*, 369(1), 11–19. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1215340>
- Wang, Z., & Gleichmann, H. (1998). GLUT2 in pancreatic islets: Crucial target molecule in diabetes induced with multiple low doses of streptozotocin in mice. *Diabetes*, 47(1), 50–56. <https://doi.org/10.2337/diab.47.1.50>

- Ward, D. T., Yau, S. K., Mee, A. P., Mawer, E. B., Miller, C. A., Garland, H. O., & Riccardi, D. (2001). Functional, molecular, and biochemical characterization of streptozotocin-induced diabetes. *Journal of the American Society of Nephrology*, *12*(4), 779–790. <https://doi.org/10.1681/asn.v124779>
- Weimar, C., Benemann, J., Huber, R., Mieck, T., Kaendler, S., Grieshammer, S., Katsarava, Z., & Diener, H. C. (2009). Long-term mortality and risk of stroke after transient ischemic attack : AAA hospital-based cohort study. *Journal of Neurology*, *256*(4), 639–644. <https://doi.org/10.1007/s00415-009-0150-9>
- Wendel-Vos, G. C. W., Schuit, A. J., Feskens, E. J. M., Boshuizen, H. C., Verschuren, W. M. M., Saris, W. H. M., & Kromhout, D. (2004). Physical activity and stroke. A meta-analysis of observational data. *International Journal of Epidemiology*, *33*(4), 787–798. <https://doi.org/10.1093/ije/dyh168>
- Whelton, P. K., Carey, R. M., Aronow, W. S., Ovbigele, B., Casey, D. E., Smith, S. C., Collins, K. J., Spencer, C. C., Himmelfarb, C. D., Stafford, R. S., Depalma, S. M., Taler, S. J., Gidding, S., Thomas, R. J., Jamerson, K. A., Williams, K. A., Jones, D. W., Williamson, J. D., Maclaughlin, E. J., ... Pressler, S. J. (2017). 2017 High Blood Pressure Clinical Practice Guideline : Executive Summary 2017 ACC / AHA / AAPA / ABC / ACPM / AGS / APhA / ASH / ASPC / NMA / PCNA Guideline for the Prevention , Detection , Evaluation , and Management of High Blood Pressure in Adults Exec. In *Hypertension*. <https://doi.org/10.1161/HYP.000000000000066/-/DC1.The>
- Whitney, K. A., Maoz, O., Hook, J. N., Steiner, A. R., & Bieliauskas, L. A. (2007). IQ and scores on the Mini-Mental State Examination (MMSE): Controlling for effort and education among geriatric inpatients. *Aging, Neuropsychology, and Cognition*, *14*(5), 545–552. <https://doi.org/10.1080/13825580600850934>
- WHO. (2019). <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates>.
- WHO MONICA Project Principal Investigators. (1988). The world health organization monica project (monitoring trends and determinants in cardiovascular disease): A major international collaboration. *Journal of Clinical Epidemiology*, *41*(2), 105–114. [https://doi.org/10.1016/0895-4356\(88\)90084-4](https://doi.org/10.1016/0895-4356(88)90084-4)
- Wiley, J., & Ltd. (2013). Organised inpatient (stroke unit) care for stroke (Review). *Cochrane Library*, *9*, 3–18.
- Williams, L. S. (2005). Depression and stroke: Cause or consequence? *Seminars in Neurology*, *25*(4), 396–409. <https://doi.org/10.1055/s-2005-923534>
- Włoszynowska-Fraser, M. U., Kouchmeshky, A., & McCaffery, P. (2020). Vitamin A and Retinoic Acid in Cognition and Cognitive Disease. *Annual Review of Nutrition*, *40*, 247–272. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-122319-034227>
- Wong, AWong, A., Lo, E. S. K., Kwan, P. W. L., Au, L., & Yy, A. (2015). The MoCA 5-min protocol is a brief, valid, reliable and feasible cognitive screen for telephone administration. *Stroke*, *46*(4), 1059–1064. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.114.007253>. The, Lo, E. S. K., Kwan, P. W. L., Au, L., & Yy, A. (2015). The MoCA 5-min protocol is a brief, valid, reliable and feasible cognitive screen for telephone administration. *Stroke*, *46*(4), 1059–1064. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.114.007253>.The
- Xinchun Jin, Jie Liu, W. L. 1. (2014). Early ischemic blood brain barrier damage: a potential

- indicator for hemorrhagic transformation following tissue plasminogen activator (tPA) thrombolysis? *Curr Neurovascular Research*, 11(3), 254–262.
- Xing, Y., Tian, S., Dong, F., & Zhang, F. (2018). Brain ischemic tolerance and inflammation reactio. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 11(8), 7624–7627. <https://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L623714433&from=export>
- Xing, Y., Yao, X., Li, H., Xue, G., Guo, Q., Yang, G., An, L., Zhang, Y., & Meng, G. (2017). Cutting Edge: TRAF6 Mediates TLR/IL-1R Signaling–Induced Nontranscriptional Priming of the NLRP3 Inflammasome. *The Journal of Immunology*, 199(5), 1561–1566. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1700175>
- Yamazaki, Y., & Kanekiyo, T. (2017). Blood-brain barrier dysfunction and the pathogenesis of alzheimer's disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(9). <https://doi.org/10.3390/ijms18091965>
- Yemane, H., Busauskas, M., Burris, S. K., & Knuepfer, M. M. (2010). Neurohumoral mechanisms in deoxycorticosterone acetate (DOCA)-salt hypertension in rats. *Experimental Physiology*, 95(1), 51–55. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2008.046334>
- Yen, H., Yen, H., & Chi, C. C. (2021). Is psoriasis associated with dementia or cognitive impairment? A Critically Appraised Topic*. *British Journal of Dermatology*, 184(1), 34–42. <https://doi.org/10.1111/bjd.19025>
- Yiin, G. S. C., Howard, D. P. J., Paul, N. L. M., Li, L., Luengo-Fernandez, R., Bull, L. M., Welch, S. J. V., Gutnikov, S. A., Mehta, Z., & Rothwell, P. M. (2014). Age-specific incidence, outcome, cost, and projected future burden of atrial fibrillation-related embolic vascular events: A population-based study. *Circulation*, 130(15), 1236–1244. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.010942>
- Yong, M., & Kaste, M. (2008). Dynamic of hyperglycemia as a predictor of stroke outcome in the ECASS-II trial. *Stroke*, 39(10), 2749–2755. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.108.514307>
- Yuan, J., & Yankner, B. A. (2000). Apoptosis in the nervous system. *Nature*, 407(6805), 802–809. <https://doi.org/10.1038/35037739>
- Zahner D, M. W. (1990). Kinetic behaviour of liver glucokinase in diabetes. I. Alteration in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetes Res*, 14(3), 101–108.
- Zetterberg, H. (2017). Applying fluid biomarkers to Alzheimer's disease. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 313(1), C3–C10. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00007.2017>
- Zeugmann S, Quante A, Heuser I, Schwarzer R, A. I. (2010). Inflammatory biomarkers in 70 depressed inpatients with and without the metabolic syndrome. *J Clin Psychiatry*, 71(8), 1007–1016.
- Zhang, W. N., Pan, Y. H., Wang, X. Y., & Zhao, Y. (2013). A prospective study of the incidence and correlated factors of post-stroke depression in china. *PLoS ONE*, 8(11), 1–5. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078981>
- Zhang, W. W., Speare, S., Churilov, L., Thuy, M., Donnan, G., & Bernhardt, J. (2014). Stroke rehabilitation in China: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Stroke*, 9(4), 494–502. <https://doi.org/10.1111/ijss.12029>
- Zhang, X., Tang, Y., Xie, Y., Ding, C., Xiao, J., Jiang, X., Shan, H., Lin, Y., Li, C., Hu, D., Li, T., & Sheng,

- L. (2017). Total magnetic resonance imaging burden of cerebral small-vessel disease is associated with post-stroke depression in patients with acute lacunar stroke. *European Journal of Neurology*, 24(2), 374–380. <https://doi.org/10.1111/ene.13213>
- Zhang, X., Zhang, C., Chen, L., Han, X., & Ji, L. (2014). Human serum acylcarnitine profiles in different glucose tolerance states. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 104(3), 376–382. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2014.04.013>
- Zhao, Y. N., Li, J. M., Chen, C. X., Zhang, P., & Li, S. X. (2015). Hypertension-mediated enhancement of JNK activation in association with endoplasmic reticulum stress in rat model hippocampus with cerebral ischemia-reperfusion. *Genetics and Molecular Research*, 14(3), 10980–10990. <https://doi.org/10.4238/2015.September.21.10>
- Ziad S. Nasreddine, Natalie A. Phillips, Valerie Bedirian, Simon Charbonneau, Victor Whitehead, Isabelle Collin, Jeffrey L. Cummings, and H. C. (2005). The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: A Brief Screening Tool For Mild Cognitive Impairment Ziad. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 53(4), 695–699. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2005.53221.x>
- Zlokovic, B. V. (2008). The Blood-Brain Barrier in Health and Chronic Neurodegenerative Disorders. *Neuron*, 57(2), 178–201. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.01.003>
- Zordoky, B. N., Sung, M. M., Ezekowitz, J., Mandal, R., Han, B., Bjorndahl, T. C., Bouatra, S., Anderson, T., Oudit, G. Y., Wishart, D. S., & Dyck, J. R. B. (2015). Metabolomic fingerprint of heart failure with preserved ejection fraction. *PLoS ONE*, 10(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124844>

ÍNDEX DE TAULES

Índex de taules

Taula 1. Factors de risc no modificables , modificables i genètics relacionats amb l'ictus isquèmic.	38
Taula 2. Proves complementàries del diagnòstic de l'ictus	39
Taula 3. Resum de les tècniques d'imatge per a la recerca de biomarcadors de neuroimatge.....	50
Taula 4. Principals panells de biomarcadors utilitzats per al diagnòstic d'un ictus isquèmic.	52
Taula 5. Metabòlits relacionats amb l'ictus isquèmic.....	53
Taula 6. Models preclínics d'ictus isquèmic.....	66
Taula 7. Proves utilitzades per avaluar els 5 dominis cognitius específics mitjançant una bateria neuropsicològica completa.	88
Taula 8. Marcatge de les sondes VIC i FAM segons l'SNP del gen <i>APOE</i>	92
Taula 9. Programa de PCR utilitzat per fer el genotipat del gen <i>APOE</i> mitjançant l'equip Quant Studio 7 Flex.	92
Taula 10. Llistat anticossos primaris i secundaris utilitzats en la tècnica d'immunofluorescència.	105
Taula 11. Variables clíniques i sociodemogràfiques dels pacients de la cohort PSICOICTUS	119
Taula 12. Variables clíniques i sociodemogràfiques dels pacients de la cohort PSICOICTUS segons els perfil afectiu i cognitiu.	122
Taula 13. Puntuacions directes dels tests de cribratge afectiu en el moment basal segons el grup experimental	124
Taula 14. Perfil bioquímic dels pacients de la cohort PSICOICTUS segons l'alteració afectiva i cognitiva.	131
Taula 15. Anàlisi de la prova de neuroimatge dels pacients de la cohort PSICOICTUS segons el perfil afectiu i cognitiu.	132
Taula 16. Genotip del gen <i>APOE</i> en la cohort PSICOICTUS segons el perfil afectiu, d'apatia i funció cognitiva	135
Taula 17. Variables clíniques, de FRV, de cribratge cognitiu i de neuroimatge dels pacients inclosos en la primera anàlisi de descobriment de metabòmica i lipídica.	136
Taula 18. Metabòlits i lípids expressats diferencialment entre els pacients amb IM sense alteracions afectives ni cognitives i els pacient amb IM amb alteracions cognitives.	138
Taula 19. Metabòlits expressats diferencialment entre els pacients amb IM sense alteracions afectives ni cognitives i el grup de pacients amb IM amb depressió.....	139

Taula 20. Comparació de les masses i els temps de retenció dels metabòlits identificats obtinguts en la cohort de descobriment (Mass 1/TR1) i la cohort de validació (Mass2/TR2). 141

Taula 21. Valors de les AUCs dels metabòlits identificats en la cohort de descobriment i validats en la cohort de validació. 145

Taula 22. Anàlisi multivariat per a les alteracions afectives i cognitives després d'un IM 147

Taula 23. Taula resum del compliment dels criteris del model animal d'ictus minor segons el temps d'oclusió de l'ACM i l'endpoint. 160

ÍNDEX DE FIGURES

Índex de figures

Figura 1. Classificació dels principals tipus d'ictus.....	32
Figura 2. Classificació de l'ictus segons la seva etiologia mitjançant el TOAST (Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment) i la classificació de l'ictus segons la seva localització anatòmica i simptomatologia clínica mitjançant la OSPC (Oxfordshire Stroke Project Classification).....	35
Figura 3. Components de la unitat neurovascular: unitat estructural i funcional del SNC format per cèl·lules endotelials, perícits, astròcits, micròglia i neurones.	45
Figura 4. Seqüència temporal dels successos que tenen lloc durant la cascada isquèmica. La cascada isquèmica és un procés on es produeix un fallada energètica, seguida de excitotoxicitat, estrès oxidatiu, lesions microvasculars, inflamació i pèrdua de la funcionalitat de la BHE. Figura adaptada de: (Brouns & De Deyn, 2009).....	46
Figura 5. Puntuacions del 0 al 42 en l'escala de severitat de l'ictus NIHSS (National Institute of Health Stroke Scale). El NIHSS és una eina que quantifica objectivament el deteriorament funcional causat per un ictus isquèmic. L'IM, en aquest cas, es classifica amb una puntuació \leq a 5.	54
Figura 6. Models animals d'hipertensió arterial, tant genètics com no genètics.	70
Figura 7. Selecció de pacients i disseny de l'estudi pel cribratge de les alteracions afectives (depressió i apatia) i cognitives després de patir un Ictus Minor a través de diferents tests i els seus respectius punts de tall per esdevenir positius o patològics. Abreviatures: HUAV: Hospital Universitari Arnau de Vilanova de Lleida; MADRS: Montgomery-Asberg Depression Rating Scale; BDI-II: Inventari de depressió de Beck – II; AES-C: Clinician Apathy Evaluation Scale; MoCA: Montreal Cognitive Assessment; BNPC: Bateria neuropsicològica completa.	82
Figura 8. Esquema simplificat dels passos a seguir en un anàlisi de metabòmica no dirigida.	94
Figura 9. Esquema dels pacients inclosos segons els grups experimentals en la fase de descobriment i la fase de validació de l'anàlisi de metabòmica i lipídica no dirigida.	95
Figura 10. Procés quirúrgic de l'oclusió transitòria focal de l'ACM mitjançant craniotomia. Incisió en la pell des de l'ull fins a l'orella del costat dret (A i B). Separació del múscul temporalis i exposició de l'ACM (C i D). Extracció de l'ós cranial amb el trepant (E i F). Col·locació del làser Doppler i exposició de l'ACM (G). Oclusió manual de l'ACM. (I) Valors del flux sanguini cerebral en el model de 10 minuts oclusió. Abreviatures: ACM: Artèria cerebral mitja.	100
Figura 11. Parts del cervell d'un ratolí dividides per obtenir el volum de l'infart. A: àrea de l'infart; B: àrea de l'hemisferi ipsilateral; C: àrea de l'hemisferi contralateral.	103
Figura 12. Protocol experimental utilitzat en el desenvolupament de l'estudi pilot per a la determinació del model animal d'Ictus Minor. Abreviatures: tMCAo: oclusió transitòria de l'artèria cerebral mitja.	107

Figura 13. Disseny experimental model animal Diabetes tipus 2. Abreviatures: SZT: estreptozotocina.	108
Figura 14. Disseny experimental model animal hipertensió arterial. Abreviatures: DOCA: Desoxicorticoesterona	109
Figura 15. Disseny experimental model animal Diabetes tipus 2 més Ictus Minor segons el dia de la cirurgia. Abreviatures: SZT: estreptozotocina; DMT2: diabetes mellitus tipus 2; IM: ictus minor; d: dia.....	110
Figura 16. Disseny experimental model animal hipertensió arterial més ictus establert. Abreviatures: DOCA: Desoxicorticoesterona; HTA: hipertensió arterial; d: dia.....	111
Figura 17. Disseny experimental model animal Diabetes Mellitus tipus 2, hipertensió arterial més Ictus Minor. Abreviatures: DOCA: Desoxicorticoesterona; SZT: Estreptozotocina.....	113
Figura 18. Diagrama de l'estudi PSICOICTUS. Abreviatures: HUAV: Hospital Universitari Arnau de Vilanova; IM: Ictus Minor; BNPC: Bateria neuropsicològica completa; SEG: seguiment; A: abandonament; PI: post-ictus; * Època covid.....	118
Figura 19. Diagrama de Venn de la distribució dels pacients de la cohort PSICOICTUS segons les alteracions que presentaven després del cribratge en el moment basal	121
Figura 20. Evolució de la depressió post-IM segons el MADRS Abreviatures: MADRS: Montgomery Asberg Depression rating scale; IM: ictus minor.....	125
Figura 21. Evolució de l'apatia post-IM segons l'AES-c. Abreviatures: AES-C: escala d'avaluació de l'apatia clínica; IM: ictus minor. *: p-valor <0,05	126
Figura 22. Evolució de la depressió post-IM segons el BDI-II. Abreviatures: BDI-II: Inventari de depressió de Beck-II; IM: ictus minor.....	126
Figura 23. Evolució del deteriorament cognitiu post-IM segons el MoCA Abreviatures: MoCA: Montreal Cognitive Assessment; IM: ictus minor. **: p-valor <0,01.....	127
Figura 24. Resultats bateria neuropsicològica completa als 15 dies, 6 mesos i 12 mesos post-IM. Abreviatures: VPI: velocitat processament de la informació.....	128
Figura 25. Gràfic de migració dels pacients inclosos a l'estudi PSICOICTUS segons el grup experimental al qual pertanyien al moment basal i al seguiment longitudinal als 12 mesos post-IM.	128
Figura 26. Puntuacions directes dels 8 ítems de l'escala ECVI-38 segons el grup experimental en el moment basal (A) i als 12 mesos post-IM (B). Ítem 1: estat físic; Ítem 2: comunicació; Ítem 3: cognició; Ítem 4: emocions; Ítem 5: sentiments; Ítem 6: ABVD; Ítem 7: activitats comunes de la vida diària; Ítem 8: funcionament sociofamiliar. Abreviatures: ECVI-38: escala qualitat de vida per a l'ictus 38; IM: ictus minor; I; ítem. *: p-valor <0,05; **: p-valor <0,01.	129
Figura 27. Evolució de la qualitat de vida després d'un IM mitjançant el ECVI-38, segons el grup experimental. Abreviatures: ECVI-38: escala qualitat de vida per a l'ictus 38; IM: ictus minor	130

- Figura 28.** Volum infart en cm³ segons el perfil afectiu i cognitiu. ***: p-valor<0,001..... 131
- Figura 29.** Territori de la lesió isquèmica aguda segons el perfil afectiu, d'apatia i funció cognitiva. El grup denominat "Altres" inclou els següents territoris: ACA, ACP, vertebro-basilar, subcortical ACM i artèria coroïdea anterior. 134
- Figura 30.** Gràfics tridimensionals dels PLS-DA on es mostra el perfil dels metabòlits i dels lípids plasmàtics segons el perfil afectiu i de funció cognitiva dels pacients inclosos de la cohort PSICOICTUS. Color verd: IM sense alteracions; Color blau fort: IM amb depressió; Color vermell: IM amb alteració cognitiva. Abreviatures: IM: ictus minor; DCL: deteriorament cognitiu lleu..... 138
- Figura 31.** Metabòlits i lípids expressats diferencialment al grup IM amb alteracions cognitives i al grup IM amb alteracions afectives respecte al grup IM sense alteracions. Les fletxes indiquen si estan regulats a l'alça o a la baixa. La fletxa de color vermell fa referència a l'expressió diferencial entre el grup IM amb alteracions cognitives vs IM sense alteracions i la fletxa de color verd fa referència a l'expressió diferencial entre el grup IM amb alteracions afectives i el grup IM sense alteracions. Abreviatures: IM: ictus minor; PE: fosfatidiletanolamina; PS: fosfatidilserina; PC: fosfatidilcolina; DG: diacilglicèrid; PG: fosfoglicèrid. 140
- Figura 32.** Quantificació de l'expressió dels metabòlits identificats en la fase de descobriment i la fase de validació que s'expressen diferencialment entre el grup IM sense alteracions i el grup IM amb alteracions cognitives. A) Expressió diferencial del 2-Hydroxyhexadecanoylcarnitine; B) Expressió diferencial del Tocophersolan. *: p-valor <0,05. Abreviatures: IM: ictus minor; MS: massa..... 142
- Figura 33.** Quantificació de l'expressió dels metabòlits identificats en la fase de descobriment i la fase de validació que s'expressen diferencialment entre el grup IM sense alteracions i el grup IM amb alteracions afectives. A) Expressió diferencial de l'Isoleucyl-Isoleucine; B) Expressió diferencial del N-Decanoylglycine; C) Expressió diferencial del PC-P (38:4); D) Expressió diferencial del DG (36:7). *: p-valor <0,05; **: p-valor <0,01. Abreviatures: IM: ictus minor; PC: fosfatidilcolina; DG: diacilglicèrid; MS: massa..... 143
- Figura 34.** Vies metabòliques involucrades en els metabòlits expressats diferencialment de la cohort PSICOICTUS observades a través d'una anàlisi d'enriquiment..... 144
- Figura 35.** Mitjana del percentatge d'oclusió-reperfusió durant la cirurgia segons el grup experimental (A) i mitjana dels valors directes del flux sanguini cerebral en PU en el moment basal, l'isquèmia i la reperfusió segons el grup experimental (B). Abreviatures: ACM: artèria cerebral mitja; FSC: flux sanguini cerebral; min: minuts..... 151
- Figura 36.** Percentatges volum d'infart segons el temps d'oclusió de l'ACM i l'endpoint. A) 10 minuts tMCAo, B) 20 minuts tMCAo, C) 30 minuts tMCAo, D) 40 minuts tMCAo, E) 5X2 minuts tMCAo i F) Comparació dels vint grups experimentals segons el temps d'oclusió de l'ACM i el moment de sacrifici. *: p-valor <0,05. Abreviatures: n.s: no significant; h: hores; d: dies; ACM: artèria cerebral mitja..... 152

- Figura 37.** Talls coronals de cervells de ratolí segons el temps d'oclusió de l'ACM i l'endpoint tenyits amb TTC al 2% i diagrames anatòmics del cervell que mostren la zona de l'escorça afectada per la isquèmia cerebral. Abreviatures: tMCAo: oclusió transitòria de l'artèria cerebral mitja; TTC: clorur de 2,3,5-trifeniltetrazoli; h: hores; d: dies..... 153
- Figura 38.** Puntuació directa del mNSS i el Neuroscore segons el temps d'oclusió de l'ACM i el moment en el qual va ser administrada la prova. A) 10 minuts tMCAo, B) 20 minuts tMCAo, C) 30 minuts tMCAo, D) 40 minuts tMCAo, E) 5x2 minuts tMCAo i F) Comparació dels 5 grups experimentals segons els minuts d'oclusió de l'ACM. *: p-valor <0,05; **: p-valor < 0,01; ***: p-valor <0,001. Abreviatures: n.s: no significant; ACM: artèria cerebral mitja; mNSS: modified Neurological severity score; h: hores; d: dies; min: minuts 155
- Figura 39.** Número de crossings totals durant 1 minut segons el temps d'oclusió de l'ACM i el momento en el qual es va administrar la prova. A) 10 minuts tMCAo, B) 20 minuts tMCAo, C) 30 minuts tMCAo, D) 40 minuts tMCAo, E) 5x2 minuts tMCAo i F) Comparació dels 5 grups experimentals. *: p-valor <0,05; **: p-valor <0,01; ***: p-valor <0,001. Abreviatures: n.s: no significant; N^o: número; ACM: artèria cerebral mitja; h: hores; d: dies; min: minuts. 157
- Figura 40.** Percentatge activitat segons els minuts d'oclusió de l'ACM i el moment de l'administració de la prova. A) 10 minuts tMCAo, B) 20 minuts tMCAo, C) 30 minuts tMCAo, D) 40 minuts tMCAo, E) 5x2 minuts tMCAo i F) Comparació dels 5 grups experimentals. *: p-valor <0,05; **: p-valor <0,01; ***: p-valor <0,001; ****: p-valor <0,0001. Abreviatures: n.s: no significant; ACM: artèria cerebral mitja; h: hores; d: dies; min: minuts..... 158
- Figura 41.** Correlació d'Spearman entre la puntuació del Coat Hanger Test i el volum d'infart en el grup de 5x2 minuts d'oclusió de l'ACM. Abreviatures: tMCAo: oclusió transitòria de l'artèria cerebral mitja. 159
- Figura 42.** Tècnica d'immunofluorescència de la zona contralateral i la zona ipsilateral d'un tall de cervell de ratolí amb IM. NeuN (verd), Iba-1 (vermel), GFAP (gris) i DAPI (blau). Les primeres imatges van ser adquirides amb la tècnica del mosaic a 10x i la resta d'imatges van ser adquirides a 60x al microscopi confocal. 162
- Figura 43.** A) Percentatge d'oclusió-reperfusió durant la cirurgia de 5x2 tMCAo en un grup de 6 femelles. (B) Comparació dels percentatges d'oclusió-reperfusió entre mascles (N=7) i femelles (N=6). Abreviatures: n.s: no significant..... 163
- Figura 44.** Comparació del percentatge del volum d'infart entre mascles (n=7) i femelles (n=6) en el model d'ictus minor (5x2 minuts tMCAo) (A) i puntuacions del mNSS i el Neuroscore d'un grup de femelles amb ictus minor segons el temps d'avaluació. Abreviatures: n.s: no significant; ACM: artèria cerebral mitja; tMCAo: oclusió transitòria artèria cerebral mitja; mNSS: modified Neurologic Severity Score; h: hores..... 163
- Figura 45.** Dades recollides diàriament durant 14 dies d'un grup de ratolins controls (n=4) i un grup de ratolins amb DMT2 (n=6). A) Aigua total consumida i B) Grams perduts de pes. **: p-valor <0,01. Abreviatures: DMT2: Diabetes Mellitus tipus 2. 165

Figura 46. Nivells de glucosa en sang en un grup de ratolins control (n=4) i un grup de ratolins amb DMT2 (n=6). A) Mitjana dels tres valors diaris de glucosa en sang en mg/dL dels 5 dies de punció d'SZT; B) Mitjana dels valors de glucosa en sang en mg/dL dels 14 dies que va durar l'experiment, desde la primera punció d'SZT fins el moment de sacrifici. *: p-valor <0,05; **: p-valor <0,01; ****: p-valor <0,0001. Abreviatures: DMT2: Diabetes Mellitus tipus 2; M: mitjana; d: dies; SZT: estreptozotocina. 166

Figura 47. Dades recollides diàriament durant 4 dies consecutius d'un grup de ratolins controls (n=4), un grup de ratolins amb DMT2 (n=6), un grup de ratolins diabètics amb IM el dia 2 post-injecció d'SZT (DMT2 + IMd2, n=3) i un grup de ratolins diabètics amb IM el dia 3 post-injecció d'SZT (DMT2 + IMd3, n=3). A) Menjar total consumit en grams, B) aigua total consumida en mL, C) Grams perduts de pes i D) Mitjana dels nivells de glucosa en sang en mg/dL. *: p-valor <0,05; **: p-valor <0,01; ***: p-valor <0,001. Abreviatures: DMT2: Diabetes Mellitus tipus 2; IM: ictus minor; d: dies. 168

Figura 48. Comparació del percentatge del volum d'infart entre un grup de ratolins amb IM i un grup de ratolins amb DMT2 i IM. A) Comparació d'un grup de ratolins amb IM (n=7) amb un grup de ratolins diabètics operats el dia 2 post-injecció SZT (DMT2 + IMd2, n=3) i B) Comparació d'un grup d'animals amb IM (n=7) amb un grup d'animals diabètics amb IM, independentment del dia de la cirurgia (DMT2 + IM, n=4). *: p-valor <0,05; ****: p-valor<0,0001. Abreviatures: n.s: no significant; IM: ictus minor; DMT2: diabetes mellitus tipus 2; d: dia..... 169

Figura 49. A) Pes total perdut durant 14 dies d'un grup de ratolins hipertensos (HTA, n=6), un grup de ratolins hipertensos SHAM (HTA + SHAM, n=6) i un grup de ratolins hipertensos amb ictus isquèmic establert (HTA + ICTUS, n=6). B) Comparació percentatge volum d'infart entre el grup HTA (n=2), el grup HTA SHAM (n=6), el grup HTA ICTUS (n= 6) i el grup ICTUS (n=5). *: p-valor <0,05; **: p-valor <0,01. Abreviatures: HTA: hipertensió arterial; n.s: no significant..... 171

Figura 50. Dades recollides diàriament durant 21 dies d'un grup de ratolins control (n=5), un grup de ratolins hipertensos i diabètics (HTA DMT2, n=5), un grup de ratolins hipertensos i diabètics SHAM (HTA DMT2 SHAM, n=5) i un grup de ratolins hipertensos i diabètics amb IM el dia 2 post-injecció d'SZT (HTA DMT2 IM, n=13). A) Aigua total consumida durant 21 dies B) Mitjana dels nivells de glucosa en sang en mg/dL durant els 4 dies d'injecció d'SZT. C) Comparació del volum d'infart entre el grup IM (n=7), el grup DMT2 IM (n=6) i el grup HTA DMT2 IM (n=7). *: p-valor <0,05; ***: p-valor <0,001; ****: p-valor <0,0001. Abreviatures: HTA: hipertensió arterial; DMT2: Diabetes Mellitus tipus 2; IM: ictus minor; n.s: no significant; SZT: estreptozotocina. 173

Figura 51. Comparació del perfil neurològic d'un grup de ratolins amb ictus minor (IM, n=7), un grup de ratolins diabètics amb ictus minor (DMT2 IM, n=6) i un grup de ratolins hipertensos i diabètics amb ictus minor (HTA DMT2 IM, n=13). Dades recollides en el moment basal (abans de la cirurgia), les 6 hores, 24 hores i 48 hores. A) Puntuació directa mNSS i Neuroscore, B) Puntuació directa Coat Hanger Test, C) Número total de crossings en el Ladder Task, D) Percentatge de l'activitat en el Ladder Task i E) Puntuació Ratio Ladder Task. *: p-valor <0,05; **: p-valor <0,01; ***: p-valor <0,001. Abreviatures: mNSS: Modified Neurological Severity Score; IM: ictus minor; DMT2: diabetes mellitus tipus 2; HTA: hipertensió arterial; n.s: no significant; h: hores. 174

Figura 52. Predictors de les alteracions afectives després d'un IM segons la concentració del metabòlit Isoleucyl-isoleucine. Abreviatures: I-I: Isoleucyl-isoleucine; Antec: antecedents; Sd: síndrome 185

Figura 53. Predictors de les alteracions afectives després d'un IM segons la concentració del metabòlit DG (36:7). Abreviatures: Antec: antecedents; Sd: síndrome 186

Figura 54. Predictors de les alteracions afectives després d'un IM segons la concentració del lípid PC-P (38:4). Abreviatures: Antec: antecedents; Sd: síndrome..... 186

Figura 55. Predictors de les alteracions afectives després de patir un IM. Abreviatures: Sd: síndrome; Antec: antecedents; I-I: Isoleucyl-isoleucine 187

Figura 56. Predictors de les alteracions cognitives després d'un IM. Abreviatures: ACM: artèria cerebral mitja; 2-HHC: 2-hydroxyhexadecanoylcarnitine 195

ANNEXES

Annexes**Annex 1: Fulla d'informació sobre l'estudi PSICOICTUS pel pacient****HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE**

TITULO DEL ESTUDIO: *Evaluación y pronóstico de las alteraciones afectivas tras un ictus minor*

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Francisco Purroy, Servicio de Neurología.

CENTRO: Hospital Universitario Arnau de Vilanova de Lleida.

INTRODUCCIÓN:

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario de Lleida y sigue la legislación vigente según el Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero.

Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA:

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio alguno en su tratamiento.

Informarle también de que no está prevista ninguna compensación económica por la participación en el estudio.

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO:

Usted acaba de sufrir un infarto cerebral. El infarto cerebral se produce como consecuencia de una falta de irrigación en una zona del cerebro. Los síntomas pueden ir desde la disminución de la sensibilidad, hasta la pérdida de visión y la alteración del habla. Como consecuencia de ello puede aparecer alteración del estado del ánimo como tristeza, falta de iniciativa (apatía), irritabilidad, así como problemas de memoria, lenguaje, etc.

La frecuencia de la aparición de estos síntomas en pacientes que han sufrido un infarto cerebral es poco conocida y poco estudiada en nuestro país.

Queremos solicitarle su consentimiento para la utilización, confidencial y exclusiva para finalidades de estudios científicos, de todos aquellos datos clínicos,

analíticos y radiológicos que se recogen en su historia clínica y se relacionan con su enfermedad.

En este estudio se van a recoger datos relacionados con su ingreso por el ictus, básicamente el hecho de tener factores de riesgo vascular (como hipertensión, diabetes, dislipemia, etc.) la edad, el sexo y los estudios de neuroimagen realizados (TC craneal y/o RM).

Pretendemos recoger muestras de sangre el día en el que se le realizará las valoraciones. Todas estas muestras se recogerán de forma anónima y serán guardadas en el Biobanco de nuestro Instituto de investigación (IRB Lleida) que está en el edificio anexo al Hospital Universitario Arnau de Vilanova (HUAV). En todo momento se garantizará su confidencialidad y se seguirá la legislación actual. Con estas muestras, en un futuro se analizarán nuevos biomarcadores.

Los biomarcadores son sustancias detectadas en la sangre que nos ayudarán a entender qué sucede en el cerebro cuando después de sufrir un infarto cerebral aparecen síntomas como depresión, falta de iniciativa (apatía) y/o alteración de la memoria.

Igualmente se recogerán muestras para análisis genético. Estas muestras únicamente se utilizarán para analizar si hay alguna predisposición a la aparición de los citados síntomas después de haber sufrido un infarto cerebral.

Se le realizará una valoración de *screening* cognitivo y afectivo (depresión y apatía), tras la cual podrá ser ampliada con un estudio neuropsicológico más exhaustivo y una punción lumbar en el caso de detectarse posibles déficits cognitivos tras haber sufrido el infarto cerebral.

El tratamiento de la depresión, si apareciese, sería el mismo que si no participase en el estudio. Además, la inclusión en el estudio no influirá en la manera que su médico realice el diagnóstico del infarto cerebral ni en el tratamiento escogido.

BENEFICIOS Y RIESGOS DE PARTICIPAR EN EL ESTUDIO:

Durante el estudio se facilitará la detección precoz y el tratamiento de los síntomas depresivos, resultando en su tratamiento precoz y en una mejor evolución tanto desde el punto de vista del estado de ánimo como de la recuperación funcional.

El tratamiento elegido para ser administrado, en caso de que apareciesen síntomas depresivos, está aprobado por la FDA¹ para tal uso, siendo el mejor tolerado entre los de su clase (Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina).

A pesar de ello, pueden aparecer algunos efectos secundarios tales como: disminución del apetito, náuseas, diarrea, estreñimiento, boca seca, insomnio, sudoración, disfunciones sexuales, y con menos frecuencia, hiponatremia e hipotensión. En el caso de que aparezcan tales efectos y según la tolerabilidad del paciente, se suspenderá la administración de dicho fármaco y se planteará la administración de una segunda opción terapéutica.

CONFIDENCIALIDAD:

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de Diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal (LOPD). De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse a su médico del estudio.

Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y sólo su médico del estudio/colaboradores podrá relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna salvo excepciones, en caso de urgencia médica o requerimiento legal.

Sólo se transmitirán a terceros y a otros países los datos recogidos para el estudio que en ningún caso contendrán información que le pueda identificar directamente, como nombre y apellidos, iniciales, dirección, nº de la seguridad social, etc. En el caso de que se produzca esta cesión, será para los mismos fines del estudio descrito y garantizando la confidencialidad como mínimo con el nivel de protección de la legislación vigente en nuestro país.

El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio/colaboradores, autoridades sanitarias (Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios), al Comité Ético de Investigación Clínica y personal autorizado por el promotor, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente.

OTRA INFORMACIÓN RELEVANTE:

Si usted decide retirar el consentimiento para participar en este estudio, ningún dato nuevo será añadido a la base de datos y, puede exigir la destrucción de todas las muestras identificables previamente retenidas para evitar la realización de nuevos análisis.

Al firmar la hoja de consentimiento adjunta, se compromete a cumplir con los procedimientos del estudio que se le han expuesto.

¹ FDA (Agencia de Alimentos y Medicamentos). Es la agencia del gobierno de los Estados Unidos responsable de la regulación de alimentos, medicamentos, cosméticos, aparatos médicos, productos biológicos y derivados sanguíneos. Una de sus funciones es regular los productos medicinales de manera que asegure su efectividad y seguridad.

Annex 2: Cosentiment informat per a la participació a l'estudi PSICOICTUS



Institut Català de la Salut
Hospital Universitari
Arnau de Vilanova

**CONSENTIMENT INFORMAT PER A L'ESTUDI
D'AVUACIÓ I PRONÒSTIC DE LES ALTERACIONS
AFECTIVES DESPRÉS D'UN ICTUS MINOR**

DECLARO que el DOCTOR/A

.....

(Nom i dos cognoms del facultatiu que facilita la informació)

m'ha explicat la possibilitat d'entrar a formar part de l'estudi: "Avaluació i pronòstic de les alteracions afectives després d'un ictus minor".

Jo

.....
.....

(Nom i dos cognoms)

He llegit el full informatiu que se m'ha entregat

He pogut fer preguntes sobre l'estudi

He rebut suficient informació sobre l'estudi

He parlat amb EL

DOCTOR/A.....

..,

(Nom i dos cognoms del facultatiu que facilita la informació)

Entenc que la meua participació és voluntària

Entenc que puc retirar-me de l'estudi:

- Quan vulgui
- Sense haver de donar explicacions
- Sense que això repercuteixi en la meua tractament mèdic

Presto lliurement la conformitat per a participar en l'estudi i dono el meu consentiment per l'accés i utilització de les meves dades en les condicions detallades en el full informatiu.

Accedeixo a que les mostres de sang obtingudes a l'estudi i els resultats dels diferents tests puguin ser utilitzades en un futur per a nous estudis relacionats amb la malaltia no previstos en el protocol actual, així com que es realitzi un anàlisi dels biomarcadors

a través de les mostres de sang, que seran guardades de forma anònima al Biobanc del IRB Lleida.

SI

NO

ÉS PER TOT AIXÒ, QUE MANIFESTO VOLUNTÀRIAMENT LA MEVA CONFORMITAT A QUE SE M'INCLOGUI EN AQUEST PROJECTE, DESPRÉS D'HAVER ESTAT DEGUDAMENT INFORMAT, I CONSENTO QUE L'EQUIP MÈDIC DUGUI A TERME L'ESTUDI D'AVUACIÓ I PRONÒSTIC DE LES ALTERACIONS AFECTIVES DESPRÉS D'UN ICTUS MINOR.

Lleida, de/d' de 20.....

EL / LA METGE/SSA

(Nom, Cognoms i Núm. Col·legiat)

EL / LA REPRESENTANT LEGAL O
FAMILIAR I GRAU DE PARENTIU (Nom,
Cognoms i DNI)

EL / LA PACIENT

Aquest document es signarà per duplicat quedant-se una còpia el pacient o el r. legal, i un altra l'investigador

REVOCACIÓ DEL CONSENTIMENT

Sr./Sra. (Nom i Cognoms del Pacient)

amb DNI núm.

Sr./Sra. (Nom i Cognoms) amb DNI
núm. com a (Representant legal, familiar, etc.) de
..... (Nom i Cognoms del Pacient)

REVOCO el consentiment per a l'estudi "*Avaluació i pronòstic de les alteracions afectives després d'un ictus minor*".

Lleida, de/d' de 20

EL/LA METGE/SSA

(Nom, Cognoms i Núm. Col·legiat)

EL/LA PACIENT

EL/LA REPRESENTANT LEGAL O
FAMILIAR I GRAU DE PARENTIU

Annex 3: Entrevista semi-estructurada que inclou les dades sociodemogràfiques, clíniques i de cribatge dels pacients que participen a l'estudi PSICOICTUS.

Estudio de Evaluación y Pronóstico de las Alteraciones Afectivas tras un Ictus Minor.

Hoja de recogida de datos

Código Identificación sujeto:.....

Código Biobanco:.....

Fecha del Ictus: __/__/__	Fecha ingreso: __/__/__
	Fecha alta: __/__/__
	Días ingreso: ____
Fecha visita basal	__/__/__

PUNTUACIÓN NIHSS:

- TOAST:**
- Infarto aterotrombótico
 - Infarto cardioembólico
 - Infarto lacunar
 - Etiología indeterminada

ICTUS PREVIO: SI / NO

DATOS SOCIODEMOGRÁFICOS

Fecha de nacimiento: __/__/__ (Edad: __) Sexo: Hombre Mujer

¿Tiene hijos? ¿Cuántos?:

¿Dónde vive? _____

Situación laboral	Estado civil	Convive con...	Cuidador principal
<input type="checkbox"/> Activo	<input type="checkbox"/> Casado o pareja	<input type="checkbox"/> Pareja	<input type="checkbox"/> Pareja
<input type="checkbox"/> Desempleado	<input type="checkbox"/> Viudo	<input type="checkbox"/> Pareja e hijos	<input type="checkbox"/> Hijo
<input type="checkbox"/> Jubilado	<input type="checkbox"/> Divorciado o separado	<input type="checkbox"/> Otro familiar	<input type="checkbox"/> Ninguno
<input type="checkbox"/> Incapacidad laboral	<input type="checkbox"/> Soltero	<input type="checkbox"/> Solo	<input type="checkbox"/> Otro familiar
<input type="checkbox"/> Ama de casa	<input type="checkbox"/> Otros (especificar):	<input type="checkbox"/> Cuidador	<input type="checkbox"/> Profesional
<input type="checkbox"/> Baja temporal ILT	<input type="checkbox"/> Institucionalizado	
		<input type="checkbox"/> Otros (Especificar)	
		

HISTORIA ACADÉMICA

- Nivel de estudios:
- Analfabeto (no sabe leer ni escribir).
 - Estudios primarios no acabados.
 - Estudios primarios finalizados (EGB o similar).
 - Estudios secundarios (BUP, FP o similar).
 - Estudios universitarios (diplomatura-licenciatura).
 - Estudios superiores (posgrado, máster, PhD).

HÁBITOS TÓXICOS (cantidad, tiempo de consumo en meses y abstinencia)

	Ex Consumidor (período libre de consumo)	Basal	6 meses	12 meses
Tabaco (cigarrillos)				
Alcohol (UBE)				
THC (cigarrillos)				
Alucinógenos				
Otros: Especificar				

COMORBILIDADES PERSONALES (especificar fecha diagnóstica)
--

<input type="checkbox"/> HTA <input type="checkbox"/> DM Tipo 1 <input type="checkbox"/> DM Tipo 2 <input type="checkbox"/> Dislipemia (DLP) <input type="checkbox"/> ACxFA <input type="checkbox"/> Cardiopatía isquémica <input type="checkbox"/> Hiperuricemia <input type="checkbox"/> TVP/TEP. <input type="checkbox"/> Valvulopatía <input type="checkbox"/> Obesidad <input type="checkbox"/> Otras cardiopatías <input type="checkbox"/> Enfermedades hematológicas	<input type="checkbox"/> Enfermedades autoinmunes <input type="checkbox"/> Enfermedad Tiroidea <input type="checkbox"/> Insuficiencia renal <input type="checkbox"/> Enfermedad Parkinson <input type="checkbox"/> DTA (¿) <input type="checkbox"/> TCE graves previos <input type="checkbox"/> Migraña <input type="checkbox"/> Patología oncológica (¿) <input type="checkbox"/> Epilepsia <input type="checkbox"/> Insuficiencia cardíaca <input type="checkbox"/> Enfermedad arterial periférica <input type="checkbox"/> Estenosis carotidea
--	--

ANTECEDENTES PSIQUIÁTRICOS PERSONALES
--

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Trastorno depresivo | <input type="checkbox"/> Tr sueño (insomnio) |
| <input type="checkbox"/> Trastorno bipolar | <input type="checkbox"/> Trastorno personalidad |
| <input type="checkbox"/> Trastorno ansioso | <input type="checkbox"/> Otros: |
| <input type="checkbox"/> Trastorno psicótico | |
| <input type="checkbox"/> Trastorno por consumo de sustancias | |

COMORBILIDADES FAMILIARES 1º GRADO

- Ictus
- Enfermedades Neurológicas
- HTA
- DM
- Dislipemia
- Cardiopatía isquémica
- Enf. Arteria
- Migraña
- Tr Afectivo (tipo)
- Retraso mental
- TDAH
- Tr psicótico
- Tr por consumo de sustancias
- Parkinson
- Demencia (DTA o CL)
- Epilepsia

Otros:

CONSUMO RECIENTE DE PSICOFÁRMACOS (último mes)

Especificar especialmente si tenía tratamiento psiquiátrico previo o anticoagulación/antiagregación.

Principio activo	Dosis /día	Continuo/Intermitente	Fecha inicio	Fecha fin

TTO ANTICOAGULADO: SI / NO **Pauta:** _____

TTO ANTIAGREGADO: SI / NO **Pauta:** _____

RHB FÍSICA: SI / NO **Especificar:** _____

RHB COGNITIVA: SI / NO **Especificar:** _____

RECURRENCIA POSTERIOR SI / NO

RESUMEN DATOS COGNITIVOS Y AFECTIVOS

	Basal	6 meses	12 meses
MoCA			
MADRS			
BDI			
AES			
ECVI-38			
mRS			

Escala de funcionalidad:**Escala de Rankin Modificada**

Punt	Nivel incapacidad	Descripción	Basal	6 m	12 m
0	<i>Asintomático</i>				
1	<i>Sin incapacidad</i>	Capaz de realizar sus actividades y obligaciones habituales			
2	<i>Incapacidad leve</i>	Incapaz de realizar algunas de sus actividades, pero capaz de velar por sus intereses y asuntos sin ayuda			
3	<i>Incapacidad moderada</i>	Tiene restricción para realizar significativamente sus actividades, requiere ayuda para sus necesidades personales			
4	<i>Incapacidad moderada-severa</i>	Requiere ayuda para realizar la mayoría de sus actividades personales			
5	<i>Incapacidad severa</i>	Totalmente dependiente para la realización de sus actividades. Necesita asistencia día y noche			
6	<i>Muerte</i>				

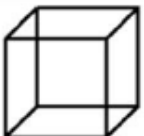
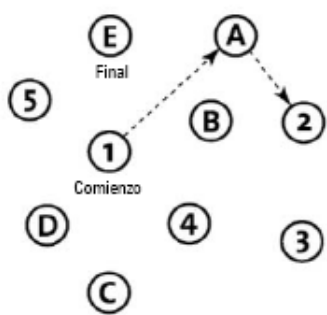
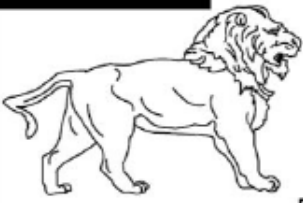
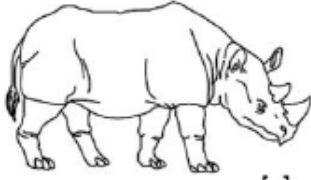
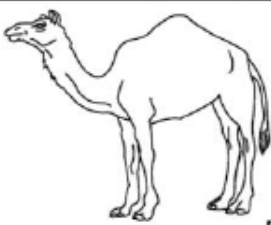
Screening cognitivo

Montreal Cognitive Assessment (MoCA)

MONTREAL COGNITIVE ASSESSMENT (MOCA)
(EVALUACIÓN COGNITIVA MONTREAL)

NOMBRE:
Nivel de estudios:
Sexo:

Fecha de nacimiento:
FECHA:

VISUOESPACIAL / EJECUTIVA				Copiar el cubo		Dibujar un reloj (Once y diez) (3 puntos)		Puntos	
		[]		[]		[] Contorno [] Números [] Agujas		___/5	
IDENTIFICACIÓN									
						[]		___/3	
MEMORIA		Lea la lista de palabras, el paciente debe repetirlas. Haga dos intentos. Recuérdese las 5 minutos más tarde.		ROSTRO	SEDA	IGLESIA	CLAVEL	ROJO	Sin puntos
		1er intento							
		2º intento							
ATENCIÓN		Lea la serie de números (1 número/seg.) El paciente debe repetirla. [] 2 1 8 5 4 El paciente debe repetirla a la inversa. [] 7 4 2						___/2	
		Lea la serie de letras. El paciente debe dar un golpecito con la mano cada vez que se diga la letra A. No se asignan puntos si ≥ 2 errores.		[] F B A C M N A A J K L B A F A K D E A A A J A M O F A A B				___/1	
		Restar de 7 en 7 empezando desde 100. [] 93 [] 86 [] 79 [] 72 [] 65						___/3	
		4 o 5 sustracciones correctas: 3 puntos, 2 o 3 correctas: 2 puntos, 1 correcta: 1 punto, 0 correctas: 0 puntos.							
LENGUAJE		Repetir: El gato se esconde bajo el sofá cuando los perros entran en la sala. [] Espero que él le entregue el masaje una vez que ella se lo pide []						___/2	
		Fluidez del lenguaje. Decir el mayor número posible de palabras que comiencen por la letra "P" en 1 min. [] _____ (N ≥ 11 palabras)						___/1	
ABSTRACCIÓN		Similitud entre p. ej. manzana-naranja = fruta [] tren-bicicleta [] reloj-regla						___/2	
RECUERDO DIFERIDO		Debe acordarse de las palabras SIN PISTAS		ROSTRO	SEDA	IGLESIA	CLAVEL	ROJO	Puntos por recuerdos SIN PISTAS únicamente
		Pista de categoría							
Optativo		Pista elección múltiple							
ORIENTACIÓN		[] Día del mes (fecha) [] Mes [] Año [] Día de la semana [] Lugar [] Localidad						___/6	
© Z. Nasreddine MD Versión 07 noviembre 2004 www.mocatest.org		Normal ≥ 26 / 30		TOTAL				___/30	
								Añadir 1 punto si tiene ≤ 12 años de estudios	

Screening depresión

Escala de Depresión de Montgomery-Asberg (MADRS)

5.1.2. Escala de Depresión de Montgomery-Asberg (Montgomery-Asberg Depression Rating Scale, MADRS)

1

<p>1. Tristeza aparente El paciente expresa abatimiento, tristeza y desesperación a través de la voz, el gesto y la expresión mímica. Evalúese en función de la gravedad e incapacidad para ser animado.</p> <ol style="list-style-type: none"> 0. No tristeza 1. 2. Parece desanimado, pero se anima fácilmente 3. 4. Parece triste e infeliz la mayor parte del tiempo 5. 6. Parece desgraciado todo el tiempo. Extremadamente abatido
<p>2. Tristeza expresada El enfermo aporta datos verbales sobre su humor deprimido, independientemente de que lo exprese por su apariencia o no. Incluye ánimo bajo, abatimiento, desesperanza, sentimiento de desamparo. Evalúese de acuerdo con la intensidad, duración e influenciabilidad del humor por las circunstancias:</p> <ol style="list-style-type: none"> 0. Tristeza ocasional en consonancia con las circunstancias ambientales 1. 2. Tristeza que cede (se anima) sin dificultad 3. 4. Sentimientos de tristeza o abatimiento profundo, pero el humor es todavía ligeramente influenciable por las circunstancias externas 5. 6. Continua e invariable tristeza, abatimiento, sentimiento de desgracia
<p>3. Tensión interior El paciente expresa sentimientos de malestar indefinido, nerviosismo, confusión interna, tensión mental que se vuelve pánico, temor o angustia. Evalúese de acuerdo con la intensidad, frecuencia o duración de la tranquilidad perdida:</p> <ol style="list-style-type: none"> 0. Placidez aparente. Sólo manifiesta tensión interna 1. 2. Ocasionales sentimientos de nerviosismo y malestar indefinido 3. 4. Continuos sentimientos de tensión interna o sentimientos de pánico que aparecen intermitentemente y que el paciente puede dominar, pero con dificultad 5. 6. Angustia o temor no mitigado. Pánico abrumador
<p>4. Sueño reducido El paciente expresa una reducción en la duración o en la profundidad de su sueño en comparación a cómo duerme cuando se encuentra bien.</p> <ol style="list-style-type: none"> 0. Sueño como los normales 1. 2. Leve dificultad para dormir o sueño ligeramente reducido: sueño ligero 3. 4. Sueño reducido o interrumpido al menos durante 2 horas 5. 6. Menos de 2 o 3 horas de sueño
<p>5. Disminución del apetito El paciente expresa una reducción del apetito respecto al que tiene cuando se encuentra bien. Evalúese la pérdida del deseo de alimento o la necesidad de forzarse uno mismo a comer.</p> <ol style="list-style-type: none"> 0. Apetito normal o aumentado 1. 2. Apetito ligeramente disminuido 3. 4. No apetito. Los alimentos saben mal 5. 6. Necesidad de persuasión para comer

5.1.2. Escala de Depresión de Montgomery-Asberg
(Montgomery-Asberg Depression Rating Scale, MADRS)

2

6. Dificultades de concentración

El paciente expresa dificultades para mantener su propio pensamiento o para concentrarse.

Evalúese de acuerdo con la intensidad, frecuencia y grado de la incapacidad producida.

0. Ninguna dificultad de concentración
- 1.
2. Dificultades ocasionales para mantener los propios pensamientos
- 3.
4. Dificultades en la concentración y el mantenimiento del pensamiento que reduce la capacidad para mantener una conversación o leer
- 5.
6. Incapacidad para leer o conversar sin gran dificultad

7. Laxitud. Abulia

El paciente expresa o presenta dificultad para iniciar y ejecutar las actividades diarias.

0. Apenas hay dificultades para iniciar las tareas. No hay inactividad

- 1.
2. Dificultad para iniciar actividades
- 3.
4. Dificultades para comenzar sus actividades rutinarias, que exigen un esfuerzo para ser llevadas a cabo
- 5.
6. Completa laxitud, incapacidad para hacer nada sin ayuda

8. Incapacidad para sentir

El paciente expresa un reducido interés por lo que le rodea o las actividades que normalmente producen placer. Reducción de la capacidad para reaccionar adecuadamente a circunstancias o personas.

0. Interés normal por las cosas y la gente

- 1.
2. Reducción de la capacidad para disfrutar de los intereses habituales
- 3.
4. Pérdida de interés en lo que le rodea, incluso con los amigos o conocidos
- 5.
6. Manifiesta la experiencia subjetiva de estar emocionalmente paralizado, anestesiado, con incapacidad para sentir placer o desagrado, y con una falta absoluta y/o dolorosa pérdida de sentimientos hacia parientes y amigos

9. Pensamientos pesimistas

El paciente expresa pensamiento de culpa, autorreproche, remordimiento, inferioridad, ideas de ruina, ideas de pecado.

0. No hay pensamientos pesimistas

- 1.
2. Ideas fluctuantes de fallos, autorreproches o autodepreciaciones
- 3.
4. Persistentes autoacusaciones o ideas definidas, pero todavía razonables de culpabilidad o pecado. Pesimismo
- 5.
6. Ideas irrefutables de ruina, remordimiento o pecado irremediable. Autoacusaciones absurdas e irreducibles

10. Ideación suicida

El paciente expresa la idea de que la vida no merece vivirse, de que una muerte natural sería bienvenida, o manifiesta ideas o planes suicidas.

0. Se alegra de vivir. Toma la vida como viene

- 1.
2. Cansado de vivir. Ideas suicidas fugaces
- 3.
4. Manifiesta deseos de muerte, ideas suicidas frecuentes. El suicidio es considerado como una solución, pero no se han elaborado planes o hecho intención
- 5.
6. Planes explícitos de suicidio cuando exista una oportunidad. Activa preparación para el suicidio

Inventario de depresión de Beck II (BDI-II)

INSTRUCCIONES: Este cuestionario consiste en 21 grupos de afirmaciones. Por favor, lea con atención cada uno de ellos y, a continuación, señale cuál de las afirmaciones de cada grupo describe mejor el modo en el que se ha sentido **DURANTE LAS DOS ÚLTIMAS SEMANAS, INCLUYENDO EL DÍA DE HOY**. Rodee con un círculo el número que se encuentre escrito a la izquierda de la afirmación que haya elegido. Si dentro del mismo grupo, hay más de una afirmación que considere igualmente aplicable a su caso, señálela también. **Asegúrese de leer todas las afirmaciones dentro de cada grupo antes de efectuar la elección.**

<p>1. Tristeza</p> <p>0 No me siento triste habitualmente. 1 Me siento triste gran parte del tiempo. 2 Me siento triste continuamente. 3 Me siento tan triste o tan desgraciado que no puedo soportarlo.</p> <p>2. Pesimismo</p> <p>0 No estoy desanimado sobre mi futuro. 1 Me siento más desanimado sobre mi futuro que antes. 2 No espero que las cosas mejoren. 3 Siento que mi futuro es desesperanzador y que las cosas sólo empeorarán.</p> <p>3. Sentimientos de Fracaso</p> <p>0 No me siento fracasado. 1 He fracasado más de lo que debería. 2 Cuando miro atrás, veo fracaso tras fracaso. 3 Me siento una persona totalmente fracasada.</p> <p>4. Pérdida de Placer</p> <p>0 Disfruto de las cosas que me gustan tanto como antes. 1 No disfruto de las cosas tanto como antes. 2 Obtengo muy poco placer de las cosas con las que antes disfrutaba. 3 No obtengo ningún placer de las cosas con las que antes disfrutaba.</p> <p>5. Sentimientos de Culpa</p> <p>0 No me siento especialmente culpable. 1 Me siento culpable de muchas cosas que he hecho o debería haber hecho. 2 Me siento bastante culpable la mayor parte del tiempo. 3 Me siento culpable constantemente.</p>	<p>6. Sentimientos de castigo</p> <p>0 No siento que esté siendo castigado. 1 Siento que puedo ser castigado. 2 Espero ser castigado. 3 Siento que estoy siendo castigado</p> <p>7. Insatisfacción con uno mismo.</p> <p>0 Siento lo mismo que antes sobre mí mismo. 1 He perdido confianza en mí mismo. 2 Estoy decepcionado conmigo mismo. 3 No me gusta.</p> <p>8. Auto-Críticas</p> <p>0 No me critico o me culpo más que antes. 1 Soy más crítico conmigo mismo de lo que solía ser. 2 Critico todos mis defectos. 3 Me culpo por todo lo malo que sucede.</p> <p>9. Pensamientos o Deseos de Suicidio</p> <p>0 No tengo ningún pensamiento de suicidio. 1 Tengo pensamientos de suicidio, pero no los llevaría a cabo. 2 Me gustaría suicidarme. 3 Me suicidaría si tuviese la oportunidad.</p> <p>10. Llanto</p> <p>0 No lloro más de lo que solía hacerlo. 1 Lloro más de lo que solía hacerlo. 2 Lloro por cualquier cosa. 3 Tengo ganas de llorar continuamente, pero no puedo.</p>
--	---

<p>11. Agitación</p> <p>0 No estoy más inquieto o agitado que de costumbre. 1 Me siento más inquieto o agitado que de costumbre. 2 Estoy tan inquieto o agitado que me cuesta estar quieto. 3 Estoy tan inquieto o agitado que tengo que estar continuamente moviéndome o haciendo algo.</p> <p>12. Pérdida de Interés</p> <p>0 No he perdido el interés por otras personas o actividades. 1 Estoy menos interesado que antes por otras personas o actividades. 2 He perdido la mayor parte de mi interés por los demás o por las cosas. 3 Me resulta difícil interesarme en algo.</p> <p>13. Indecisión</p> <p>0 Tomo decisiones más o menos como siempre. 1 Tomar decisiones me resulta más difícil que de costumbre. 2 Tengo mucha más dificultad en tomar decisiones que de costumbre. 3 Tengo problemas para tomar cualquier decisión.</p> <p>14. Inutilidad</p> <p>0 No me siento inútil. 1 No me considero tan valioso y útil como solía ser. 2 Me siento inútil en comparación con otras personas. 3 Me siento completamente inútil.</p> <p>15. Pérdida de Energía</p> <p>0 Tengo tanta energía como siempre. 1 Tengo menos energía de la que solía tener. 2 No tengo suficiente energía para hacer muchas cosas. 3 No tengo suficiente energía para hacer nada.</p> <p>16. Cambios en el Patrón de Sueño.</p> <p>0 No he experimentado ningún cambio en mi patrón de sueño.</p> <p>1a Duermo algo más de lo habitual. 1b Duermo algo menos de lo habitual.</p> <p>2a Duermo mucho más de lo habitual. 2b Duermo mucho menos de lo habitual.</p> <p>3a Duermo la mayor parte del día. 3b Me despierto 1 o 2 horas más temprano y no puedo volver a dormirme.</p>	<p>17. Irritabilidad</p> <p>0 No estoy más irritable de lo habitual. 1 Estoy más irritable de lo habitual. 2 Estoy mucho más irritable de lo habitual. 3 Estoy irritable continuamente.</p> <p>18. Cambios en el Apetito</p> <p>0 No he experimentado ningún cambio en mi apetito.</p> <p>1a Mi apetito es algo menor de lo habitual. 1b Mi apetito es algo mayor de lo habitual.</p> <p>2a Mi apetito es mucho menor que antes. 2b Mi apetito es mucho mayor de lo habitual.</p> <p>3a He perdido completamente el apetito. 3b Tengo ganas de comer continuamente.</p> <p>19. Dificultad de Concentración</p> <p>0 Puedo concentrarme tan bien como siempre. 1 No puedo concentrarme tan bien como habitualmente. 2 Me cuesta mantenerme concentrado en algo durante mucho tiempo. 3 No puedo concentrarme en nada.</p> <p>20. Cansancio o Fatiga</p> <p>0 No estoy más cansado o fatigado que de costumbre. 1 Me canso o fatigo más fácilmente que de costumbre. 2 Estoy demasiado cansado o fatigado para hacer muchas cosas que antes solía hacer. 3 Estoy demasiado cansado o fatigado para hacer la mayoría de las cosas que antes solía hacer.</p> <p>21. Pérdida de Interés en el Sexo</p> <p>0 No he notado ningún cambio reciente en mi interés por el sexo. 1 Estoy menos interesado por el sexo de lo que solía estar. 2 Estoy mucho menos interesado por el sexo ahora. 3 He perdido completamente el interés por el sexo.</p>
--	---

_____ Puntuación Página 1

_____ Puntuación Página 2

_____ PUNTUACIÓN TOTAL (Págs. 1+2)

Screening apatia

Escala evaluación apatia – clínica (AES-c)

Base sus puntuaciones tanto en las respuestas verbales como no-verbales. La puntuación debe basarse en las **últimas 4 semanas**.

“Le voy a preguntar una serie de cosas sobre sus pensamientos, sentimientos y actividades. Para empezar me gustaría que me explicara cuáles son sus intereses. Dígame cualquier cosa que sea de

su interés” “Ahora me gustaría que me explicara sobre su día a día. Empiece por el momento que se levanta hasta que se va a la cama”.

- 1 – Nada característico (0 elementos enumerados)
- 2 – Un poco característico (1-2 elementos enumerados)
- 3 – De alguna manera característico (2-3 elementos enumerados)
- 4 – Muy característico (> 3 elementos enumerados)

			Basal
1	Él o ella está interesado en cosas **	+ C Q	
2	Él o ella hace cosas durante el día **	+ B Q	
3	<i>Empezar cosas por su cuenta es importante para él o ella</i>	+ C SE	
4	Él o ella está interesado en tener nuevas experiencias **	+ C Q	
5	Él o ella está interesado en aprender cosas nuevas **	+ C Q	
6	Él o ella pone poco esfuerzo en nada	- B	
7	Él o ella enfoca la vida con intensidad	+ E	
8	<i>Ver un trabajo al final es importante para él o ella</i>	+ C SE	
9	Él o ella pasa tiempo haciendo cosas que le interesan	+ B	
10	Alguien tiene que decirle lo que hay que hacer cada día	- B	
11	Él o ella está menos preocupado por sus problemas de lo que debería	- C	
12	Él o ella tiene amigos **	+ B Q	
13	<i>Estar con amigos es importante para él o ella</i>	+ C SE	
14	Cuando algo bueno pasa, él o ella se emociona	+ E	
15	Él o ella tiene un conocimiento preciso de sus problemas	+ O	
16	<i>Hacer las cosas durante el día es importante para él o ella</i>	+ C SE	
17	Él o ella tiene iniciativa	+ O	
18	Él o ella tiene motivación	+ O	

TOTAL	
--------------	--

Recodificar sólo ítems positivos: 1=4, 2=3, 3=2, 4=1 y sumar con ítems negativos 6/10/11

A mayor puntuación, mayor apatía (menos motivación)

C = cognitivo

B = comportamiento

E = emocional

O = otros

SE = autoevaluación (leer la pregunta y puntuar según la respuesta exacta del sujeto, aunque no coincida con la impresión clínica)

Q = ítem cuantificable (debe enumerar intereses, actividades...)

Escala de Calidad de Vida para el Ictus**ESCALA DE CALIDAD DE VIDA PARA EL ICTUS (ECVI-38)**

El propósito de este cuestionario es evaluar cómo ha impactado en su salud y en su vida el accidente vascular que usted sufrió. Queremos saber, desde SU PUNTO DE VISTA, cómo le ha afectado esta enfermedad. Le haremos algunas preguntas acerca de los problemas causados por su enfermedad, y la manera en que se ha afectado su calidad de vida.

I. A continuación, le presentamos un grupo de preguntas sobre problemas físicos que pueden presentar las personas que han sufrido un accidente cerebrovascular.

	Extrema	Mucha	Bastante	Poca	Ninguna
1. ¿Cuánta dificultad tiene usted para o con...?					
a. Mover las extremidades	5	4	3	2	1
b. Utilizar las manos	5	4	3	2	1
c. Caminar	5	4	3	2	1
d. Mantener el equilibrio	5	4	3	2	1
e. Dolor o molestias físicas	5	4	3	2	1
2. ¿Cuánta dificultad tiene usted para...?					
a. Hablar	5	4	3	2	1
b. Comunicarse con otras personas	5	4	3	2	1
c. Leer	5	4	3	2	1
d. Escribir	5	4	3	2	1
3. ¿Cuánta dificultad tiene usted en...?					
a. Su concentración	5	4	3	2	1
b. Su memoria	5	4	3	2	1
c. Su capacidad mental	5	4	3	2	1

II. A continuación, le presentamos un grupo de preguntas sobre problemas emocionales o sentimientos que pueden experimentar las personas que han sufrido un ictus. Usted responderá cómo se siente.

	Muy mal	Mal	Regular	Bien	Muy bien
4. ¿Cómo se siente habitualmente con relación a su...?					
a. Estado de ánimo	5	4	3	2	1
b. Vitalidad	5	4	3	2	1
c. Autoestima	5	4	3	2	1
d. Capacidad de mantener la calma	5	4	3	2	1
e. Control sobre sus emociones	5	4	3	2	1

	Nunca	Muy poco tiempo	Parte del tiempo	Mucho tiempo	Siempre
5. ¿Con qué frecuencia siente usted...?					
a. Ganas de vivir	5	4	3	2	1
b. Confianza en el futuro	5	4	3	2	1
c. Sensación de ser útil	5	4	3	2	1
d. Sensación de tranquilidad	5	4	3	2	1
e. Confianza en sí mismo	5	4	3	2	1

III. Seguidamente, le describimos un grupo de actividades de la vida cotidiana para cualquier persona en su vida personal, familiar y social. Usted responderá si tiene alguna dificultad para realizar las actividades que aparecen.

	Extrema	Mucha	Bastante	Poca	Ninguna
6. ¿Cuánta dificultad tiene usted para...?					
a. Su cuidado personal (vestirse, afeitarse, arreglarse)	5	4	3	2	1
b. Bañarse	5	4	3	2	1
c. Realizar sus actividades domésticas acostumbradas	5	4	3	2	1
d. Moverse libremente dentro de la casa	5	4	3	2	1
7. ¿Cuánta dificultad tiene usted para...?					
a. Moverse a lugares distantes de la casa	5	4	3	2	1
b. Realizar sus actividades de entretenimiento o recreación	5	4	3	2	1
c. Participar en actividades fuera del marco familiar	5	4	3	2	1
d. Participar en actividades de la comunidad	5	4	3	2	1

8. ¿Cuánta dificultad tiene usted para...?

a. Tener independencia económica	5	4	3	2	1
b. Aportar económicamente a la familia como antes	5	4	3	2	1
c. Cumplir sus funciones dentro del hogar	5	4	3	2	1
d. Elaborar ideas y dar soluciones a problemas cotidianos	5	4	3	2	1
e. Participar en las decisiones familiares	5	4	3	2	1
f. Cumplir su papel como esposo o esposa	5	4	3	2	1

Preguntas adicionales: Seguidamente, le realizaremos dos preguntas para completar la información sobre su salud.

	Totalmente	Mucho	Bastante	Poco	Nada
1. ¿Se ha afectado su actividad sexual después de la enfermedad?	5	4	3	2	1
2. ¿Se ha afectado su actividad laboral después de la enfermedad?	5	4	3	2	1

Estado de salud general: Finalmente, nos interesa conocer cuánto se ha recuperado de su enfermedad.

	Nada	Poco	Bastante	Mucho	Totalmente
¿En qué grado se ha recuperado de su enfermedad?	5	4	3	2	1

