



Universitat Autònoma de Barcelona

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  [http://cat.creativecommons.org/?page\\_id=184](http://cat.creativecommons.org/?page_id=184)

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

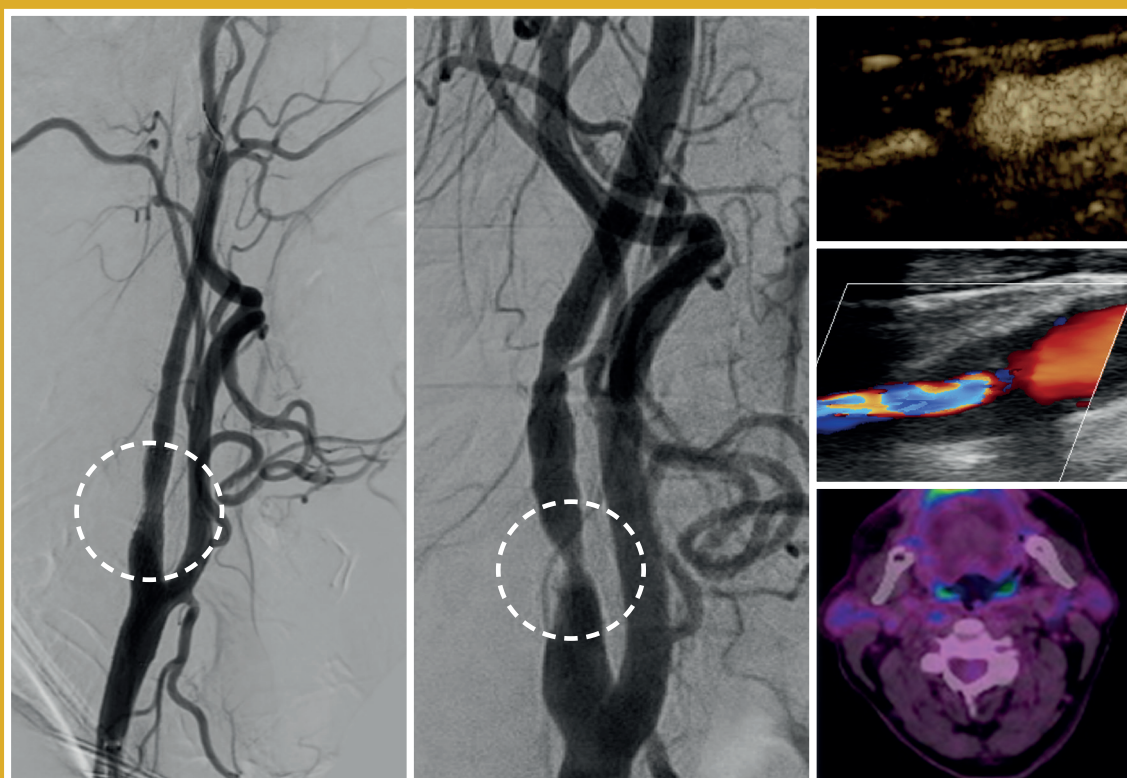
# Nous marcadors de vulnerabilitat de l'ateroesclerosi carotídia en pacients amb ictus isquèmic

## Tesi doctoral

- Pol Camps Renom

## Directors de tesi

- Joan Martí Fàbregas
- Raquel Delgado Mederos



**Foto de portada:** imatges de diferents proves diagnòstiques utilitzades per a la valoració de les plaques d'ateroma carotídies (dúplex, arteriografia i tomografia per emissió de positrons). Aquestes imatges es van obtenir durant l'estudi presentat en aquesta tesi doctoral.

**TESI DOCTORAL**

**NOUS MARCADORS DE VULNERABILITAT DE L'ATEROESCLEROSI  
CAROTÍDIA**

Pol Camps Renom

*Dr. Joan Martí Fàbregas, director de tesi*

*Dra. Raquel Delgado, directora de tesi*

*Dr. Ignasi Carrió Gasset, tutor de tesi*

Barcelona, 2020



Programa de Doctorat en Medicina  
Departament de Medicina  
Universitat Autònoma de Barcelona



---

*CERTIFICAT DE DIRECCIÓ*

---

El Dr. Joan Martí Fàbregas, que va obtenir el títol de Doctor en Medicina a la Universitat Autònoma de Barcelona, cap clínic de la Unitat de Malalties Vasculars Cerebrals de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau i professor associat de la Universitat Autònoma de Barcelona, juntament amb la Dra. Raquel Delgado Mederos, que va obtenir el títol de Doctora en Medicina a la Universitat Autònoma de Barcelona, metgessa adjunta del Servei de Neurologia de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau

CERTIFIQUEN:

Que el treball “Nous Marcadors de Vulnerabilitat de l’Ateroesclerosi Carotídia en Pacients amb Ictus Isquèmic”, que presenta en Pol Camps Renom per obtenir el grau de Doctor, s’ha dut a terme sota la nostra direcció i compleix els requisits per ser presentat i defensat davant el corresponent Tribunal de Tesi.

Joan Martí Fàbregas

Unitat de Malalties Vasculars Cerebrals

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau

Raquel Delgado Mederos

Unitat de Malalties Vasculars Cerebrals

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau

A Barcelona, març de 2020



*"Where's all the time gone?  
On separate waves it runs long  
A hundred miles built upon us  
It's tearing at the seams of all that's been"*

Tearing at the seams

**Nathaniel Rateliff**





## Agraïments

Els resultats d'aquesta tesi doctoral són el fruit de quatre anys intensos d'investigació a la Unitat d'Ictus de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona. La intensitat i passió amb la que he viscut aquest projecte, han estat acompanyades en tot moment pel guiatge, el suport, els riures, els cafès i els bons consells de tots els meus companys i companyes de la Unitat. A tots ells els hi estic eternament agraït i sento que aquesta tesi no és meva, sinó de tots i totes.

Vull començar agraint al Joan, director de la tesi, per haver cregut en mi des de que era resident, per haver-me iniciat en el món de l'ictus i haver-me enviat a Canadà, al *Calgary Stroke Program*, on vaig descobrir la meva passió per la recerca en el camp de les malalties vasculars cerebrals. També li estic agraït per haver-me ensenyat a escriure els meus primers articles, les meves primeres comunicacions als congressos i en definitiva, per haver-se convertit en un referent personal per a mi. També a la Raquel, directora de la tesi, per acompanyar-me en els primers passos com a resident, ser la primera persona en ensenyar-me neurosonologia, haver-me guiat en el meu primer projecte de recerca i pels seus bons consells durant el transcurs de la tesi. M'agradaria estendre el meu agraïment a l'Àlex per estar sempre disposat a escoltar i a ajudar, pel seu sentit comú i per fer que les coses siguin sempre fàcils. Al Lluís, per haver compartit amb mi el repte de fer una tesi al mateix temps que jo, per haver-me ajudat amb el seguiment de la cohort, per haver compartit les dificultats de publicar i aconseguir beques, donar-me suport en els moments difícils i sobretot pel seu esperit crític constructiu. També donar gràcies al Dani, per haver-me ajudat amb el reclutament i seguiment dels pacients, per ser capaç de confrontar-me quan no tinc raó, per recordar-me les fites que hem aconseguit quan estic desanimat, i viceversa, recordar-me tot el

que ens queda per millorar en moments d'eufòria. Volia també tenir un agraïment especial per l'Elena i la Rebeca, perquè sense elles hagués estat impossible fer aquesta tesi. La seva ajuda al laboratori i amb el seguiment dels pacients ha estat inestimable i està clar que aquesta tesi també porta el seu nom. Si alguna cosa vaig aprendre a Calgary és que ningú és imprescindible, la clau està en l'equip, i a Sant Pau som un equip.

També vull agrair l'ajuda a la Paula, el Chema i el Nacho, els residents que m'han ajudat amb el reclutament de pacients des del primer dia del projecte i totes les estudiants que ens han ajudat al laboratori durant l'estudi. En especial a la Núria, que encara segueix amb nosaltres fent recerca en el camp de l'ateroesclerosi.

Agraeixo també la inspiració que suposa formar part d'un Servei de Neurologia com el de Sant Pau. Quan miro als companys i companyes d'altres unitats veig autèntics referents en el seu àmbit. És una sort poder tenir a la vora professionals de tant alt nivell. Ells també han estat i encara són, font d'inspiració en l'assistència i la recerca.

De forma especial vull agrair-li a la Bet, la meva dona, el seu suport incondicional. Li estic eternament agraït per estimar-me tal com sóc, escoltar-me, fer-me tocar de peus a terra, fer-me costat i ser la companya incondicional de viatge. Al meu fill Pau, per fer-me adonar del que realment importa a la vida. I a la meva mare i al meu germà, per haver-me acompanyat des de petit, haver cregut en mi i haver tingut tanta paciència. Vull tenir també un record especial pel meu pare i pels avis, que malgrat ens van deixar, la seva empremta és present en tots nosaltres.

Finalment donar les gràcies a tots els amics i amigues que m'acompanyen des de fa tant de temps i que fan que la vida tingui un gust especial.

## Abreviacions

<sup>18</sup>FDG = Fluorodesoxiglucosa 18F

ACI = Artèria Caròtida Interna

ACM = Artèria Cerebral Mitja

AIT = Accident Isquèmic Transitori

CEUS = *Contrast-Enhanced Ultrasound* (en català dúplex amb contrast)

DE = Desviació Estàndard

ESUS = *Embolic Stroke of Undetermined Source* (en català ictus isquèmic de mecanisme embòlic i causa indeterminada)

HDL = *High Density Lipoprotein* (en català lipoproteïna d'alta densitat)

HR = *Hazard Ratio* (en català raó de riscos)

IC = Interval de Confiança

IMC = Índex de Massa Corporal

LDL = *Low Density Lipoprotein* (en català lipoproteïna de baixa densitat)

mRS = modified Rankin Scale (en català escala modificada de Rankin)

NNT = *Number Needed to Treat* (en català número necessari a tractar)

OR = *Odds Ratio* (en català oportunitat relativa)

PCR = Proteïna C Reactiva

PET = *Positron Emission Tomography* (en català Tomografia per Emissió de Positrons)

RIQ = Rang Interquartil

RM = Ressonància Magnètica

ROC = *Rating Operator Characteristic*

ROI = *Region Of Interest* (en català Regió d'Interès)

SUV = Standardized Uptake Value

TC = Tomografia Computeritzada

TSA = Troncs Supraaòrtics



# Índex

<b>Resum/Summary</b> .....	15
<b>1. Introducció</b> .....	19
1.1. Definició i impacte de l'ictus isquèmic.....	21
1.2. Ateroesclosi carotídia i ictus isquèmic.....	21
1.3. Tractament de l'ictus isquèmic aterotrombòtic associat a plaques d'ateroma carotídies.....	25
1.4. Risc de recurrència i selecció de pacients candidats a tractament de revascularització carotídia.....	28
1.5. Situacions clíniques controvertides.....	31
1.6. Marcadors de vulnerabilitat de l'ateroesclosi carotídia: més enllà del grau d'estenosi.....	33
1.7. El paper de la inflamació en la vulnerabilitat de les plaques d'ateroma carotídies.....	38
1.8. Estudi de la inflamació mitjançant Tomografia per Emissió de Positrons.....	40
1.9. El paper de la neovascularització en la vulnerabilitat de les plaques d'ateroma carotídies.....	42
1.10. Estudi de la neovascularització mitjançant dúplex amb contrast.....	43
<b>2. Justificació de l'estudi</b> .....	47
<b>3. Hipòtesis</b> .....	51

<b>4. Objectius</b> .....	55
<b>5. Metodologia</b> .....	59
5.1. Resum global de la metodologia.....	61
5.2. Primer article: Inflamació de les plaques carotídies mesurada mitjançant Tomografia per Emissió de Positrons (PET) amb <sup>18</sup> FDG i risc de recurrència precoç d'ictus.....	69
5.3. Segon article: Una escala de risc que inclou la inflamació de les plaques d'ateroma carotídies i el grau d'estenosi millora la identificació de pacients amb risc de recurrència d'ictus.....	95
5.4. Tercer article: La neovascularització de les plaques d'ateroma carotídies detectada mitjançant dúplex amb contrast (Contrast-Enhanced Ultrasound) prediu el risc de recurrència d'ictus en pacients amb aterosclerosi carotídia.....	117
<b>6. Resum global dels resultats</b> .....	131
6.1. Característiques de la cohort de Barcelona.....	133
6.2. Estudi de la inflamació de les plaques mitjançant PET amb <sup>18</sup> FDG.....	138
6.3. Estudi de la neovascularització de les plaques mitjançant CEUS.....	140
6.4. Seguiment de la cohort de Barcelona.....	145
6.5. Associació entre la inflamació de les plaques carotídies mesurada mitjançant PET amb <sup>18</sup> FDG i risc de recurrència d'ictus isquèmic.....	147

6.6. Anàlisi conjunta amb dues cohorts independents per validar el valor pronòstic de la PET amb <sup>18</sup> FDG.....	151
6.7. Desenvolupament d'una escala de risc incloent la inflamació de les plaques d'ateroma carotídies i el grau d'estenosi per millorar la identificació de pacients amb risc de recurrència d'ictus.....	154
6.8. Associació entre la neovascularització de les plaques carotídies mesurada mitjançant CEUS i risc de recurrència d'ictus isquèmic.....	156
6.9. Associació entre la inflamació de les plaques d'ateroma carotídies i la presència de neovascularització al seu interior.....	158
<b>7. Resum global de la discussió.....</b>	<b>161</b>
7.1. Inflamació carotídia mesurada mitjançant PET amb <sup>18</sup> FDG i risc de recurrència d'ictus isquèmic.....	163
7.2. Desenvolupament d'una escala de risc d'ictus isquèmic incorporant la informació de la PET amb <sup>18</sup> FDG.....	167
7.3. Neovascularització de les plaques d'ateroma carotídies detectada mitjançant CEUS i risc de recurrència d'ictus isquèmic.....	169
7.4. Factors de risc i altres variables associades amb la inflamació i la neovascularització de les plaques.....	171
7.5. Possible ús complementari d'ambdues tècniques.....	174
7.6. Limitacions de l'estudi.....	176
<b>8. Conclusions.....</b>	<b>179</b>



<b>9. Línies de futur.....</b>	<b>183</b>
<b>10. Bibliografia.....</b>	<b>189</b>
<b>11. Annexes.....</b>	<b>207</b>

## Resum

L'ateroesclerosi causa el 20% dels ictus isquèmics, essent les plaques d'ateroma de l'artèria caròtida interna les que més freqüentment es veuen implicades en la gènesi de l'ictus. L'elevat risc de recurrència d'aquest tipus d'ictus justifica valorar en cada cas la necessitat d'un tractament de revascularització de la caròtida, per eliminar o excloure aquestes plaques de la circulació. Actualment aquesta decisió es fa tenint en compte el grau d'estenosi de les plaques, que és l'únic marcador de risc de recurrència validat en assaigs clínics. No obstant, el grau d'estenosi per si sol no és suficient per prendre decisions en algunes situacions clíniques relativament freqüents. Per aquest motiu és necessari l'estudi de nous marcadors de vulnerabilitat de les plaques carotídiades que ajudin a millorar la selecció de pacients que es beneficien dels tractaments de revascularització.

En aquesta tesi presentem els resultats d'un estudi de cohorts prospectiu de pacients amb ictus isquèmic i ateroesclosi carotídia en el que s'ha estudiat el valor pronòstic de dos potencials nous marcadors de vulnerabilitat: la Tomografia per Emissió de Positrons (PET) amb Fluorodesoxiglucosa 18F ( $^{18}\text{FDG}$ ), que permet mesurar la inflamació de les plaques d'ateroma, i el dúplex amb contrast, que permet la detecció de neovascularització a l'interior de les plaques.

En aquest estudi hem inclòs 99 pacients i els hem seguit durant una mitjana de 12,7 mesos registrant un total de 16 recurrències durant el seguiment, a més de vuit pacients que havien presentat símptomes abans de l'ingrés (recurrències prèvies). Hem observat que tant la inflamació de les plaques mesurada mitjançant PET (HR de tenir una recurrència durant el seguiment per cada increment de 1g/ml de SUV=4,57 IC 95% 1,49-13,96,  $p=0,008$ ) com la neovascularització detectada mitjançant dúplex amb

contrast (HR de presentar una recurrència si la placa presenta neovascularització difusa=6,54 IC 95% 1,66-26,01, p=0,007), s'associen amb el risc de recurrència d'ictus isquèmic. Aquesta associació és independent del grau d'estenosi i d'altres factors de risc vascular coneguts. A més, en el cas de la PET, els resultats del nostre estudi s'han replicat en dues cohorts internacionals diferents i independents, i s'ha fet una anàlisi conjunta. Finalment, hem creat i validat una escala de risc de recurrència (*SCAIL score*) que per primera vegada integra la informació derivada del grau d'estenosi i de la inflamació mesurada amb PET. La puntuació d'aquesta escala varia entre el 0 i el 5 i hem observat que puntuacions de baix risc (0, 1) s'associen amb un risc de recurrència del 0% (IC 95% 0-18,5%), mentre que puntuacions d'alt risc (4, 5) s'associen amb un risc de recurrència del 51,9% (IC 95% 32,0-71,3%).

En definitiva, els resultats d'aquesta tesi mostren nous marcadors de vulnerabilitat de l'ateroesclerosi carotídia que aporten informació complementària al grau d'estenosi, i que en un futur es podrien utilitzar a la pràctica clínica per seleccionar millor els pacients candidats a tractaments de revascularització de la caròtida.

## Summary

Atherosclerosis is responsible for approximately 20% of all ischemic strokes, being plaques from the internal carotid artery (ICA) the most frequently involved in stroke pathogenesis. Atherosclerosis-related strokes present high risk of recurrence and thus, revascularization therapies of the ICA should be considered in the setting of this stroke subtype. Currently, the decision of performing a revascularization therapy depends solely on the degree of stenosis of the carotid plaque, which is the only marker of risk of recurrence validated on clinical trials. However, the degree of stenosis alone, is not sufficient to decide on the best treatment in some frequent clinical situations. Therefore, there is a need for new biomarkers of carotid plaque vulnerability, which may help identifying patients who benefit from carotid revascularization.

In this doctoral thesis, we present the results of a prospective cohort study of patients with a recent ischemic stroke and carotid atherosclerosis, in whom we tested the prognostic value of two new vulnerability biomarkers: inflammation of the plaques measured with  $^{18}\text{F}$ -Fluorodeoxyglucose Positron-Emission Tomography ( $^{18}\text{FDG}$ -PET), and neovascularization detected with Contrast-Enhanced Ultrasound (CEUS).

We included 99 patients and we followed them during a mean of 12,7 months. We registered 16 stroke recurrences during the follow-up and eight patients had presented symptoms before admission (pre-hospitalization recurrences). We observed that both markers, inflammation measured with  $^{18}\text{FDG}$ -PET (HR for stroke recurrence for 1g/ml increase in the SUV of the plaque=4,57 CI 95% 1,49-13,96,  $p=0,008$ ) and neovascularization assessed with CEUS (HR for stroke recurrence if the plaque presents diffuse neovascularization=6,54 CI 95% 1,66-26,01,  $p=0,007$ ), are associated with the early risk of stroke recurrence. This association is independent from the degree of

stenosis and other known vascular risk factors. In addition, we replicated the prognostic value of the carotid PET in two international independent cohorts and we performed a pooled analysis of the three studies. Finally, we have created and validated the first stroke risk score (*SCAIL score*) that gathers the information derived from the PET and the degree of stenosis. This score ranges from 0 to 5 and we observed that low-risk scores (0, 1) were associated with a risk of stroke recurrence of 0% (CI 95% 0-18,5%), while high-risk scores predicted a risk of recurrence of 51,9% (CI 95% 32,0-71,3%).

In conclusion, the results presented in this doctoral thesis demonstrate new markers of carotid plaque vulnerability which add complementary information to the degree of stenosis. This information might be used in the near future to better select patients who can benefit from carotid revascularization.

---

# 1. Introducció

---



---

### *1.1. Definició i impacte de l'ictus isquèmic*

---

L'ictus isquèmic és una malaltia vascular provocada per una alteració transitòria o definitiva de la circulació cerebral que té com a conseqüència la disfunció d'una o diverses àrees del cervell. Aquesta disfunció pot arribar a ser irreversible i deixar seqüeles si no es restaura la circulació cerebral normal de forma precoç i eficaç (1). A més, el risc de recurrència és elevat i per tant, després d'un primer ictus isquèmic, és crucial l'aplicació de diverses mesures de prevenció secundària per evitar nous episodis (2).

Actualment l'ictus isquèmic suposa el 80% de tots els ictus, sent la primera causa d'hospitalització de tipus neurològic i la primera causa de discapacitat en els països desenvolupats (3). S'estima que la incidència a Espanya es troba entre 150 i 250 casos per 100.000 habitants/any. Aquestes xifres es multipliquen per 10 en poblacions majors de 75 anys i tenen un gran impacte socioeconòmic (4). Per tot plegat, la investigació en el camp de l'ictus isquèmic és una prioritat.

---

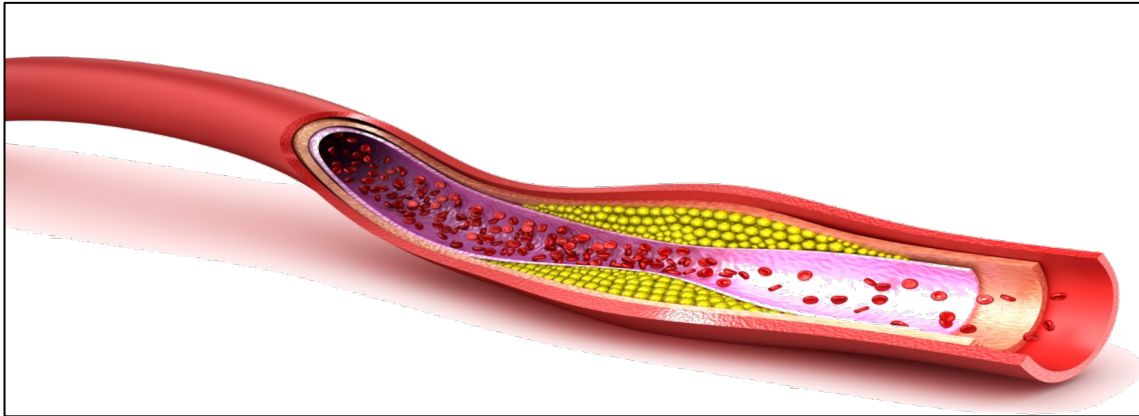
### *1.2. Ateroesclerosi carotídia i ictus isquèmic*

---

L'ateroesclerosi és una malaltia sistèmica que afecta a les artèries de mitjà i gran calibre i que es caracteritza principalment pel dipòsit de lípids a la paret arterial. Aquest dipòsit provoca una reacció inflamatòria que condueix al reclutament de cèl·lules inflamatòries, principalment macròfags, i a la multiplicació de cèl·lules musculars llises i fibroblasts.



Aquest fenomen condueix a un estretament focal del vas afectat que es coneix amb el nom de placa d'ateroma (5) (Figura 1).



**Figura 1:** Representació d'un vas sanguini en el qual s'aprecia un estretament focal (placa d'ateroma) ocasionat per l'acumulació de lípids i cèl·lules inflamatòries, així com per la proliferació de cèl·lules musculars llises i fibroblasts a la paret del vas.

Les artèries més freqüentment afectades són l'aorta, les coronàries, les caròtides i les artèries de les extremitats inferiors. Les plaques d'ateroma poden causar problemes de circulació per la progressiva obstrucció de la llum del vas i/o per la seva ruptura. La ruptura d'una placa d'ateroma condueix a l'agregació plaquetària i a l'activació de la cascada de la coagulació. La formació de trombe a la superfície de la placa pot provocar una obstrucció greu o fins i tot completa del vas i/o pot provocar un embolisme distal causant en última instància la isquèmia del teixit depenent de l'artèria afectada (6).

L'ateroesclerosi representa actualment la primera causa de mort als països desenvolupats i és una de les principals causes d'ictus isquèmic (7). L'ictus isquèmic relacionat amb les plaques d'ateroma s'anomena **ictus isquèmic aterotrombòtic**. L'ateroesclerosi pot afectar tant les artèries de la circulació cerebral extracranial (aorta,

caròtides i/o vertebrals) com de la circulació intracranial, sent les plaques de les artèries caròtides les que més freqüentment causen ictus. Es calcula que les plaques de l'artèria caròtida interna són la causa d'aproximadament el 15% del total d'ictus isquèmics (8).

Quan una placa d'ateroma es considera la causa d'un ictus isquèmic es classifica com a **simptomàtica**, mentre que quan es diagnostica de forma casual i no hi ha antecedents d'ictus, aquesta es defineix com a **asimptomàtica**. Aquesta diferenciació té especial rellevància a l'hora d'aplicar les mesures de prevenció farmacològiques i no farmacològiques que comentarem més endavant i que varien segons si hi ha hagut antecedent d'ictus isquèmic recent (menys de sis mesos) (2) o no (9).

A la pràctica clínica s'utilitzen diverses classificacions etiològiques que defineixen l'ictus isquèmic aterotrombòtic i que permeten classificar amb diferents graus de certesa si les plaques d'ateroma són simptomàtiques o no. Aquestes classificacions es basen sobretot en el grau d'estretament focal que provoquen les plaques d'ateroma, anomenat grau d'estenosi. Dues de les més utilitzades es presenten a continuació:

1. Criteris TOAST (7) (es considera que una placa és probablement simptomàtica si compleix els tres criteris o possible en cas contrari):
  - a. Clínica neurològica atribuïda a disfunció cerebral cortical.
  - b. Presència d'infart cerebral de >1,5 cm de diàmetre a la Tomografia Computeritzada (TC) o a la Ressonància Magnètica (RM).
  - c. Estenosi  $\geq 50\%$  de la artèria caròtida interna extracranial

2. Criteris ASCOD (10):

*Causa probable d'ictus*

- a. Estenosi per placa d'ateroma entre el 50-99% d'una artèria extra o intracranial irrigant l'àrea cerebral afectada per l'ictus.

- b. Estenosi per placa d'ateroma <50% d'una artèria extra o intracranial irrigant l'àrea cerebral afectada per l'ictus amb un trombe intraluminal adherit.
- c. Trombe mòbil a l'arc aòrtic.
- d. Oclusió vascular associada a una placa ateroscleròtica.

*Causa possible d'ictus*

- a. Estenosi per placa d'ateroma entre el 30-50% d'una artèria extra o intracranial irrigant l'àrea cerebral afectada per l'ictus.
- b. Placa aòrtica  $\geq 4$ mm sense component mòbil.

*Causa poc probable d'ictus*

- a. Presència de plaques d'ateroma a les artèries caròtides i/o vertebrals que condicionen una estenosis <30%.
- b. Placa aòrtica <4mm.
- c. Presència de plaques d'ateroma en artèries d'altres territoris.
- d. Història de cardiopatia isquèmica i/o vasculopatia perifèrica.
- e. Estenosi unilateral o bilateral per plaques d'ateroma entre el 50-99% amb presència de lesions isquèmiques agudes bihemisfèriques a la seqüència *Diffusion Weighting Imaging* (DWI) de la RM cerebral.

---

### *1.3. Tractament de l'ictus isquèmic aterotrombòtic associat a plaques d'ateroma carotídies*

---

La prevenció primària i el tractament en fase aguda de l'ictus isquèmic aterotrombòtic associat a plaques d'ateroma de l'artèria caròtida interna no difereix substancialment d'altres subtipus d'ictus (11). Per contra, la prevenció secundària sí que varia i planteja dos enfoc terapèutics diferents que sovint són complementaris:

- *El tractament mèdic i el control de factors de risc vascular:*

Les mesures de prevenció secundària que s'apliquen després d'un ictus isquèmic aterotrombòtic s'assemblen a les d'altres malalties vasculares provocades per l'ateroesclerosi, com per exemple la cardiopatia isquèmica. Aquestes mesures de prevenció inclouen tractaments farmacològics i no farmacològics.

- Tractament antiagregant: donada l'elevada freqüència de recurrències, les guies de maneig de l'ictus isquèmic recomanen l'inici de tractament antiagregant el més aviat possible després d'un ictus isquèmic aterotrombòtic (2). Diferents assaigs clínics han demostrat l'eficàcia de l'àcid acetil-salicílic (AAS), el clopidogrel, la combinació dels dos durant els primers dies i la combinació d'AAS i dipiridamol en la prevenció secundària de l'ictus isquèmic no cardioembòlic, incloent l'ictus aterotrombòtic (12).
- Tractament hipolipemiant amb estatines: a part del tractament antiagregant, l'estudi SPARCL (Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels) va demostrar l'eficàcia de l'atorvastatina 80 mg/dia en la reducció del risc de recurrència d'ictus i d'altres síndromes vasculares en persones que havien patit un

ictus isquèmic no cardioembòlic (13,14). La reducció del risc absolut d'ictus va ser relativament petita (NNT 112-143 per any de tractament), però tot i així va demostrar ser independent a altres factors de risc coneguts i per aquest motiu, les guies de prevenció secundària de l'ictus recomanen iniciar tractament amb una estatina, preferentment atorvastatina, a totes les persones que han patit un ictus isquèmic no cardioembòlic, incloent l'aterotrombòtic. Fins ara l'objectiu del tractament hipolipemiant amb estatines després d'un ictus isquèmic era aconseguir uns nivells plasmàtics de LDL <100mg/dl. No obstant, la recent publicació d'un assaig clínic demostrant que mantenir els nivells de LDL <70mg/dl és encara més eficaç a l'hora de prevenir síndromes vasculars després d'un ictus isquèmic, ha fet replantejar aquest objectiu i és probable que faci canviar les recomanacions de les guies de prevenció properament (15).

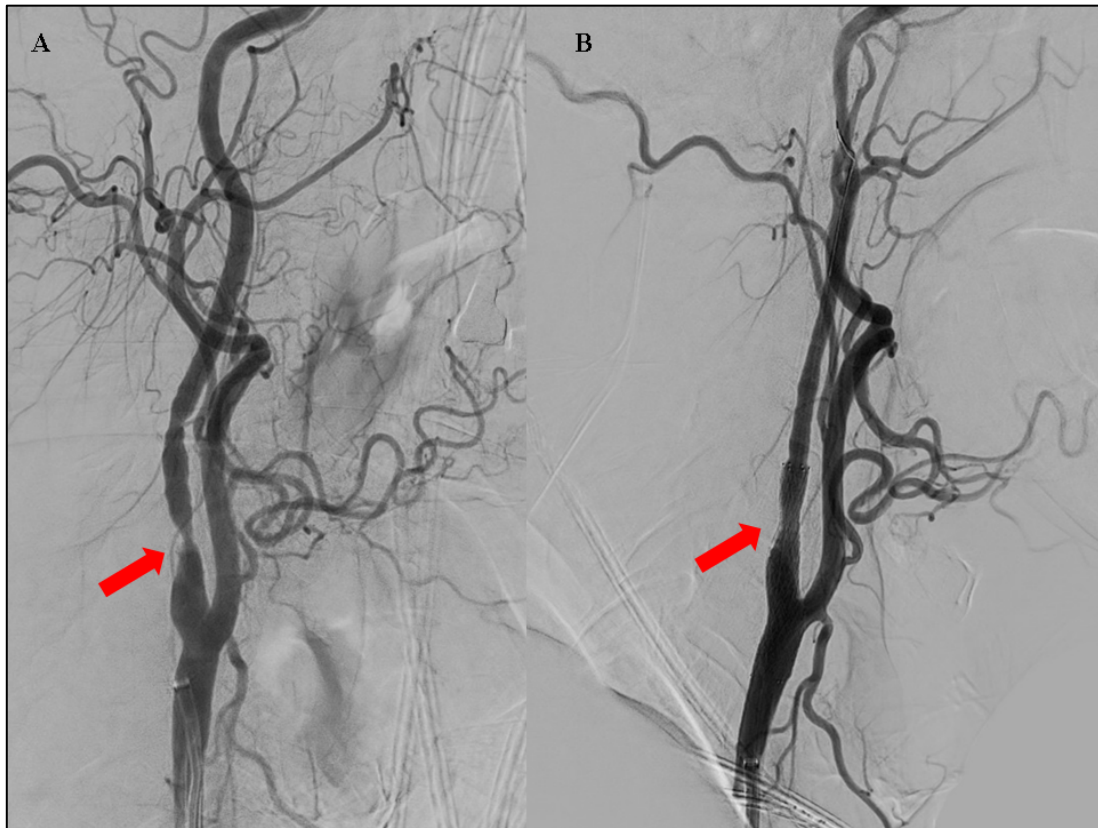
- Estil de vida: paral·lelament al tractament farmacològic, adoptar algunes mesures no farmacològiques després d'un ictus com abandonar el tabac, perdre pes, fer exercici físic regularment adaptat a les capacitats de cadascú o seguir una dieta mediterrània han demostrat ser eficaçes en la prevenció de les malalties vasculars relacionades amb l'ateroesclerosi (16). De fet, en un assaig clínic de prevenció d'ictus isquèmic en pacients que tenien una estenosi ateromatosa intracranial, l'exercici físic regular va ser una de les variables que més fortament es van associar al risc de noves síndromes vasculars en sentit protector (17,18). Per tot plegat, en els últims anys, s'està donant molta importància al concepte de Maneig Mèdic Intensiu (MMI) en el camp de les malalties vasculars i en concret en el maneig de l'ateroesclerosi carotídia (19). El concepte de MMI agrupa tant les mesures farmacològiques com no farmacològiques que s'utilitzen en la prevenció de les malalties vasculars, i a més, fa

èmfasi en la necessitat de fer un seguiment estret dels factors de risc dels pacients per assegurar-ne el bon control.

Malgrat el tractament mèdic, l'ictus isquèmic aterotrombòtic és un dels subtipus d'ictus amb més risc de recurrència i un terç dels pacients presenten noves lesions isquèmiques a la RM cerebral al cap d'un mes, malgrat estar amb el tractament adequat (20). Per això, cal valorar sempre el possible benefici de tractaments de revascularització de la caròtida combinats amb el MMI en els pacients de major risc de recurrència.

- *El tractament de revascularització:*

El terme *revascularització* fa referència a les intervencions que es poden fer sobre les plaques d'ateroma per tal d'eliminar-les o excloure-les de la circulació. Existeixen principalment dues tècniques que permeten la revascularització de l'artèria caròtida interna: l'endoarteriectomia carotídia (cirurgia vascular) i l'exclusió de la placa mitjançant la col·locació d'un stent carotídi (radiologia intervencionista) (Figura 2). Ambdues tècniques han demostrat ser segures i eficaces en la prevenció de futures recurrències d'ictus isquèmic (21). No obstant, no són tècniques exemptes d'efectes secundaris i el benefici no és homogeni per a tots els pacients (22,23). Per aquest motiu, seleccionar bé els pacients amb major risc de recurrència malgrat el tractament mèdic és clau a l'hora de decidir quins són tributaris a aquests tractaments (8).



**Figura 2:** Exemple d'un tractament de revascularització de l'artèria caròtida interna dreta mitjançant la col·locació d'un stent extracranial. A la imatge de l'esquerra (A) es pot observar mitjançant arteriografia l'obstrucció del vas provocada per la placa d'ateroma (fletxa vermella). A la imatge de la dreta s'observa la resolució de l'obstrucció després de la col·locació d'un stent (B).

---

*1.4. Risc de recurrència i selecció de pacients candidats a tractament de revascularització carotídia*

---

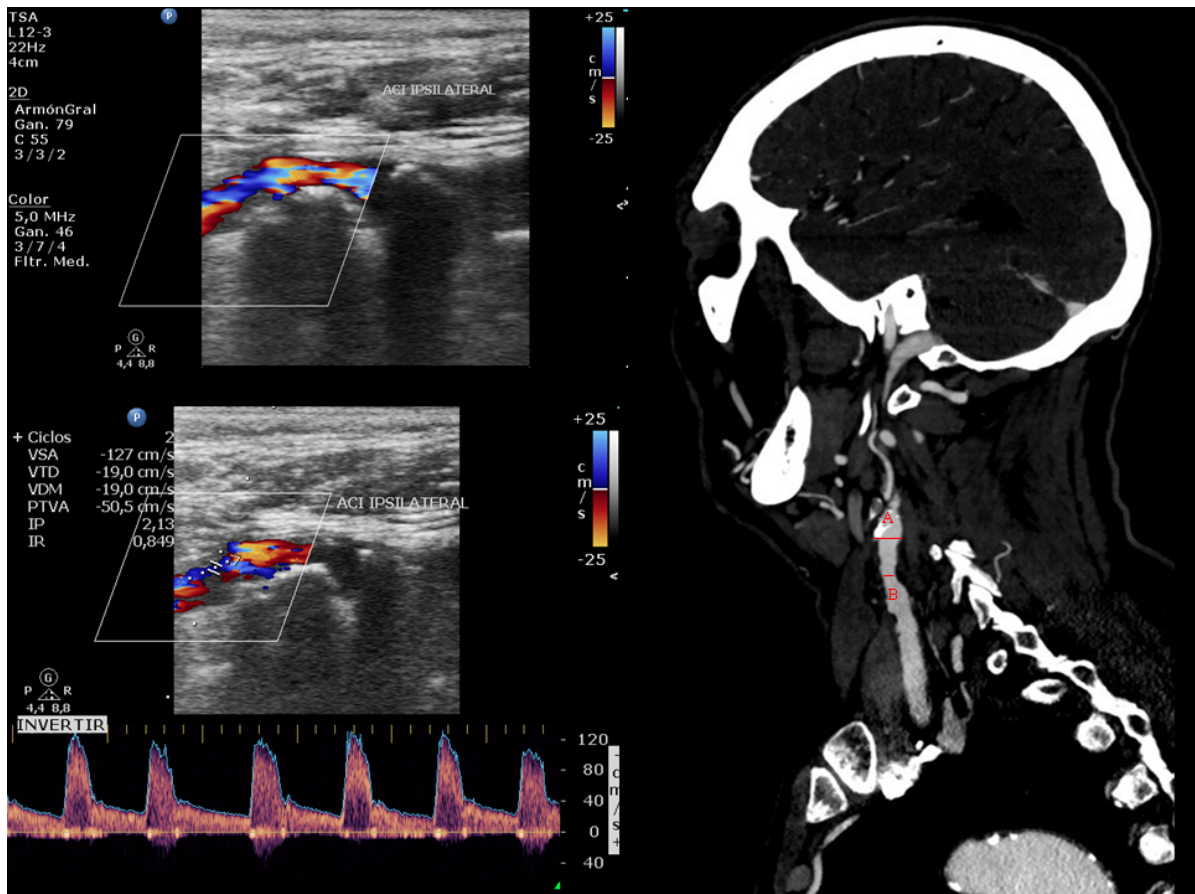
El risc de recurrència després d'haver patit un ictus isquèmic no és homogeni per a tots els pacients que presenten plaques d'ateroma carotídi. Això és degut a que l'ateroesclerosi és un procés dinàmic que passa per diferents fases, no totes les plaques són iguals i la seva composició està estretament relacionada amb el risc de progressió i

ruptura (24). Alguns fenòmens que poden ocórrer a l'interior de la placa com l'aprimament de la capa fibrosa, la inflamació o l'hemorràgia dins la placa s'han relacionat amb una major inestabilitat i risc de ruptura (25). Precisament, per definir aquesta inestabilitat que presenten algunes plaques a la literatura sovint s'utilitza el terme *vulnerabilitat*.

Després d'un ictus isquèmic podem trobar-nos pacients amb plaques d'ateroma més vulnerables que clarament són la causa de l'ictus i que tenen un alt risc de recurrència, i pacients amb plaques menys vulnerables que plantegen dubtes sobre la seva implicació en el mecanisme de l'ictus i/o la sospita de futures recurrències és menor. Per aquest motiu, l'estudi diagnòstic que es fa després d'un ictus isquèmic no va orientat només a detectar les plaques d'ateroma, sinó també a caracteritzar-les i definir el seu grau de vulnerabilitat (26). Les característiques que defineixen les plaques com a simptomàtiques i que pronostiquen el risc de recurrència s'anomenen **marcadors de vulnerabilitat** (27).

A l'actualitat, el marcador de vulnerabilitat que s'utilitza de rutina per definir una placa com a simptomàtica i estratificar el risc de recurrència és el **grau d'estenosi**. La gradació de l'estenosi que provoca una placa d'ateroma carotídia es pot fer per criteris hemodinàmics mitjançant dúplex (28) o per criteris radiològics mitjançant angiografia de contrast ja sigui amb TC, RM o arteriografia (29) (Figura 3).





**Figura 3:** A l'esquerra de la imatge s'observa un exemple de l'estudi d'una placa d'ateroma de l'artèria caròtida interna mitjançant dúplex. El grau d'estenosi s'estima a partir de l'acceleració que presenta la sang en passar a través de l'obstrucció. A la dreta de la imatge es pot observar una placa d'ateroma de l'artèria caròtida comú estudiada mitjançant angio-TC. En aquest cas el grau d'estenosi s'estima a partir de criteris morfològics. El més utilitzat és el criteri NASCET (29), que consisteix en dividir la diferència entre el diàmetre de l'artèria en el punt distal just després de la placa (distància A) i el punt de màxima obstrucció (distància B) i dividir-lo pel diàmetre de l'artèria (distància A).

Dos grans assaigs clínics publicats durant la dècada dels 90 van demostrar l'eficàcia del tractament de revascularització carotídia basant-se en el grau d'estenosi (30,31). Per aquest motiu, actualment, la indicació de tractament de revascularització segons les guies oficials es basa gairebé exclusivament en aquest marcador de vulnerabilitat (2):

- Es recomana el tractament de revascularització mitjançant endoarteriectomia o stent a tots els pacients que han tingut un ictus isquèmic en els últims 6 mesos i que presenten una estenosi carotídia entre el 70 i el 99%.
- Es recomana també el tractament de revascularització mitjançant endoarteriectomia o stent als pacients que han tingut un ictus isquèmic en els últims 6 mesos i que presenten una estenosi carotídia entre el 50 i el 69% tenint en compte factors com l'edat, el gènere i/o les comorbiditats (existeixen algunes controvèrsies en aquest subgrup).
- No es recomana el tractament de revascularització mitjançant endoarteriectomia o stent als pacients que presenten una estenosi <50%.

---

### *1.5. Situacions clíniques controvertides*

---

El grau d'estenosi és un marcador de vulnerabilitat vàlid en molts casos per decidir quins pacients amb ictus són candidats a tractament de revascularització de la caròtida. No obstant, els assaigs clínics van deixar algunes preguntes sense resoldre i actualment el grau d'estenosi de forma aïllada no és suficient per decidir sobre quin és el millor tractament en algunes situacions clíniques relativament freqüents com per exemple en dones amb estenosis entre el 50 i el 69% o pacients amb embolismes de l'artèria central de la retina, grups escassament representats en els assaigs (22). A més, el número necessari a tractar (NNT) per evitar una recurrència als cinc anys després d'un tractament de revascularització és relativament alt en alguns subgrups com per exemple en pacients menors de 65 anys (NNT=18), dones amb estenosis >50% (NNT=36) o

pacients que no han presentat recurrències i no han estat tractats durant els primers 15 dies (NNT=125) (23).

Tampoc queda clar quina és la millor actitud terapèutica a seguir davant de pacients amb plaques d'ateroma carotídiades asimptomàtiques. Malgrat dos assaigs clínics van estudiar el benefici de la endoarteriectomia en estenosis asimptomàtiques en comparació al tractament mèdic, el benefici observat en estenosis >60% era més modest que en el cas de les simptomàtiques i només per a pacients menors de 75 anys (32,33). A més a més, s'ha posat en dubte si els resultats d'aquests assaigs segueixen sent vàlids actualment amb la milloria dels tractaments mèdics. Per exemple, en un estudi poblacional contemporani on es seguien pacients amb estenosis asimptomàtiques >50% que estaven prenent tractament mèdic com a prevenció d'un ictus previ contralateral, van detectar un risc d'ictus anual de només el 0,34% (34). Per això algunes guies recomanen individualitzar els casos quan es tracta d'estenosis asimptomàtiques, però sense especificar quins marcadors de vulnerabilitat cal utilitzar més enllà del grau d'estenosi (35).

També és conegut que algunes plaques d'ateroma carotídiades que condicionen estenosis <50% poden ser simptomàtiques (36). De fet, el recent fracàs de dos assaigs clínics que comparaven l'ús d'antiagregants amb l'ús d'anticoagulants orals directes en la prevenció de l'ictus isquèmic embòlic de causa indeterminada (en anglès ESUS), i en els quals els pacients podien entrar si tenien estenosis <50%, ha fet reflexionar sobre si part del fracàs és atribuïble a que algunes d'aquestes plaques eren simptomàtiques (37). De fet, en una anàlisi dels pacients inclosos en un d'aquests assaigs es va veure que la freqüència de plaques d'ateroma a l'artèria caròtida interna era molt més freqüent en el costat ipsilateral a l'ictus que no pas en el contralateral, suggerint el rol etiològic que podrien tenir algunes d'aquestes lesions (38). Malgrat aquesta evidència, les principals

classificacions etiològiques de l'ictus, centrades en el grau d'estenosi, no contemplen aquesta situació, i identificar quines plaques amb estenosi no significativa <50% són realment simptomàtiques és un repte diagnòstic actualment no resolt.

Finalment, a la pràctica clínica, és habitual que en context d'un ictus isquèmic coexisteixin dues possibles causes en un mateix pacient, com per exemple una estenosi carotídia i una fibril·lació auricular. En aquests casos, les classificacions etiològiques de l'ictus no permeten establir amb certesa quina és la causa responsable de l'ictus i per tant, quines mesures de prevenció secundària aplicar, pot ser controvertit.

---

*1.6. Marcadors de vulnerabilitat de l'ateroesclerosi carotídia: més enllà del grau d'estenosi*

---

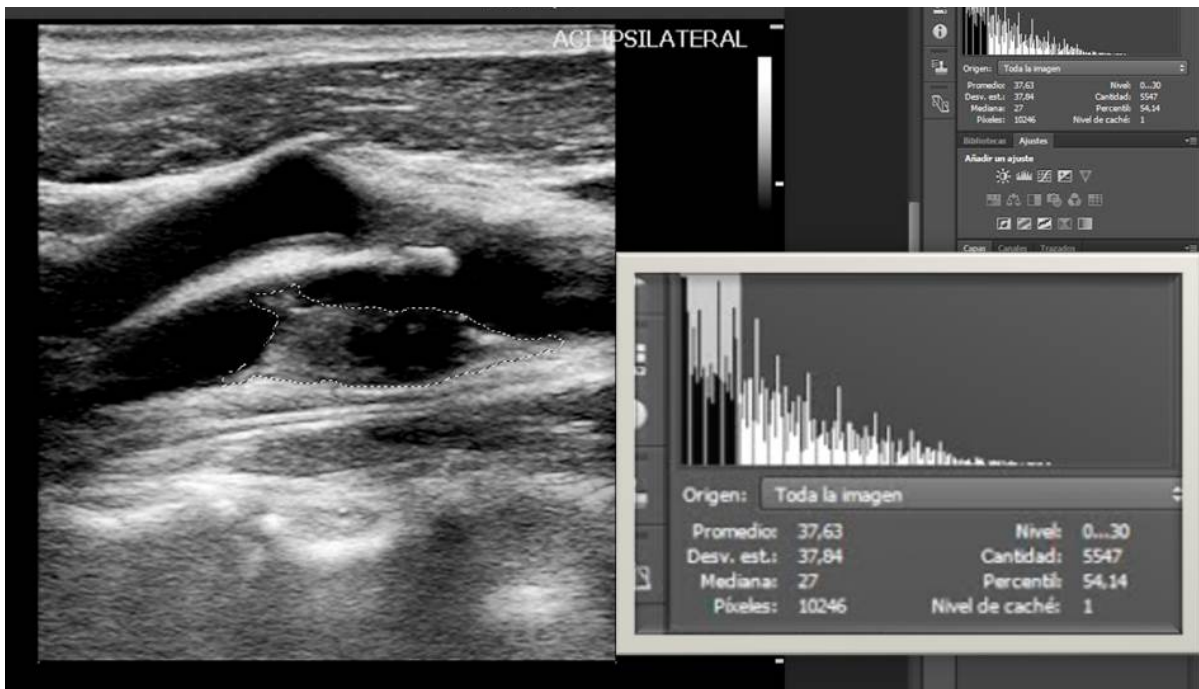
Tots els exemples comentats anteriorment tenen en comú que el grau d'estenosi, per si sol, no és suficient per a classificar les plaques carotídies com a simptomàtiques i/o identificar els pacients que es beneficiarien d'un tractament de revascularització. Són casos en què cal individualitzar i valorar bé els beneficis i els riscos de sotmetre el pacient a un procediment invasiu. Per aquest motiu, en els darrers anys s'han proposat alguns marcadors de vulnerabilitat complementaris al grau d'estenosi per tal d'identificar aquelles plaques més vulnerables que presenten un elevat risc de provocar un ictus. Alguns exemples d'aquests marcadors amb més evidència acumulada són:

- **Detecció de microembòlies:** aquesta tècnica es basa en el monitoratge continu per Doppler de l'artèria cerebral mitja (ACM) ipsilateral al costat de la placa d'ateroma carotídia amb la finalitat de detectar microembòlies. Les plaques

vulnerables presenten petites ruptures a la seva superfície que poden provocar petites embòlies generalment asimptomàtiques pel pacient. Aquestes microembòlies es poden detectar mitjançant ultrasonografia com a senyals curtes i transitòries d'alta intensitat que se superposen a l'ona Doppler. Spencer i col·laboradors van descriure que la presència de >2 microembòlies en una hora de registre s'associava amb un increment molt significatiu del risc d'ictus a l'any de seguiment en pacients amb estenosis asimptomàtiques (15,6% vs 1,0%, respectivament;  $p < 0,001$ ) (39). El mateix grup va descriure uns anys més tard que amb la milloria dels tractaments mèdics, el risc de detectar microembòlies es reduïa significativament (12,6% abans del 2003 vs 3,7% després del 2003;  $p < 0,001$ ) (19). Malgrat aquesta reducció, un estudi multicèntric internacional va confirmar l'associació entre la detecció de microembòlies en el context d'una estenosi asimptomàtica i el risc d'ictus isquèmic durant el seguiment (HR = 5.57; IC 1,61-19,32;  $p = 0,007$ ) (40). Tot i aquesta evidència, la detecció de microembòlies presenta alguns inconvenients a l'hora d'aplicar-se a la pràctica clínica habitual. Un dels més importants és el temps que suposa la realització de la prova: en aquest últim estudi es realitzaven dos registres d'una hora separats per una setmana. De la mateixa manera, és una tècnica operador dependent molt sensible a artefactes de moviment que requereix una estreta col·laboració del pacient. A més, l'evidència publicada es centra sobretot en estenosis asimptomàtiques, però el seu paper en altres situacions clíniques controvertides com les comentades en l'apartat anterior està poc establert.

- **Ecogenicitat de les plaques d'ateroma:** l'aspecte hipoecoic de les plaques d'ateroma estudiades mitjançant dúplex, s'associa amb un major contingut lipídic, inflamatori i en algunes ocasions hemorràgic de la lesió ateroscleròtica

(veure Figura 4). Una important meta-anàlisi va demostrar l'associació entre l'aspecte hipoecoic de les plaques d'ateroma carotídiades i el risc d'ictus isquèmic durant el seguiment (41). A més, es va observar que la combinació de placa hipoecoica i detecció de microembòlies al Doppler augmentava molt significativament el risc d'ictus (HR = 10,61; IC 95% 2,98-37,82;  $p < 0,001$ ) (40). No obstant, hi ha escassa evidència del valor predictiu d'aquest marcador en altres situacions controvertides com en estenosis  $< 50\%$ . A més, la valoració de la hipoecoïtat es pot veure limitada per la presència d'ombres càlciques i hi ha escassa evidència de com la milloria dels tractaments mèdics i el MMI poden haver influït en el riscos prèviament reportats a la literatura.



**Figura 4:** Exemple d'una placa d'ateroma de l'artèria caròtida interna predominantment hipoecoica. Alguns programes informàtics permeten analitzar l'escala de grisos a l'interior de la placa mostrant la seva distribució en un histograma (dreta de la imatge).

- **Marcadors de vulnerabilitat evidenciats per RM:** en els últims anys s'ha vist que la RM d'alta resolució centrada a la placa d'ateroma carotídia és capaç d'identificar alguns fenòmens que clarament estan associats amb el risc de ruptura. Una meta-anàlisi incloent nou estudis amb 779 pacients va demostrar que l'hemorràgia dins de la placa, la necrosi del centre lipídic i l'aprimament de la capa fibrosa vistos per RM, estaven associats amb el risc d'ictus isquèmic (42). Aquests resultats prometedors, però, es veuen limitats per la pròpia naturalesa de la prova. La disponibilitat de la RM d'alta resolució és escassa, la interpretació és complicada, el temps de realització és molt prolongat i la sensibilitat als artefactes és molt alta si el pacient no col·labora.
- **Reserva Hemodinàmica Cerebral (RHC):** en casos en què existeix una reducció del flux sanguini cerebral degut a una estenosi crítica i progressiva de la caròtida, existeix un risc afegit d'ictus isquèmic per un mecanisme diferent al que hem estat parlant fins ara. La reducció del flux pot acabar provocant dany isquèmic per hipoperfusió i no per embolisme arterio-arterial des de la placa. Aquest tipus d'ictus s'anomena hemodinàmic. En condicions normals, les arterioles cerebrals són capaces d'adaptar-se a reduccions del flux carotídi mitjançant un estímul vasodilatador (43). Aquest fenomen s'anomena RHC. No obstant, en alguns pacient aquesta capacitat d'adaptar-se disminueix amb la progressiva reducció del flux i poden acabar patint ictus isquèmics hemodinàmics en context, per exemple, d'una hipotensió arterial. L'esgotament de la RHC es pot estudiar mitjançant diferents tècniques com per exemple el test de l'apnea (44) o el test de l'acetazolamida (45). L'esgotament de la RHC en context d'estenosis crítiques s'ha associat amb un increment del risc de patir ictus isquèmic en estenosis asimptomàtiques (OR per una RHC <10% = 3,96; IC 95%

2,60-6,04) (46). No obstant, malgrat aquesta evidència, aquest marcador de risc d'ictus només és útil per pronosticar ictus de mecanisme hemodinàmic en context d'estenosis crítiques, però no és aplicable a altres situacions clíniques controvertides com les que hem comentat anteriorment, ni permet pronosticar el risc de ruptura d'una placa.

En definitiva, malgrat en els últims anys s'han proposat alguns marcadors de vulnerabilitat de l'ateroesclerosi carotídia complementaris al grau d'estenosi (47), aquests presenten importants limitacions que fan difícil la seva utilització a la pràctica clínica habitual: o bé perquè només serveixen per situacions molt concretes (com el cas de l'esgotament de la RHC), o bé perquè requereixen molt de temps, expertesa i col·laboració del pacient (com el cas de la RM de placa), o bé perquè l'evidència acumulada sobre la seva utilitat pronòstica està basada principalment en estudis antics que no reflecteixen adequadament la milloria en la prevenció dels tractaments mèdics actuals i del MMI (com el cas de la detecció de microembòlies).

Per tot plegat, una de les prioritats en el camp de la prevenció de l'ictus isquèmic, és continuar estudiant nous marcadors complementaris al grau d'estenosi que permetin identificar i estudiar millor la vulnerabilitat de les plaques d'ateroma carotídiades. D'aquesta manera, en un futur es podria afinar molt més a l'hora d'individualitzar quin és el millor tractament per a aquests pacients amb ictus i aterosclerosi carotídia.

Tal com s'exposa a continuació, dos d'aquests potencials marcadors de vulnerabilitat que més interès han despertat en els últims anys són la **inflamació** i la **neovascularització** a l'interior de la placa, i són l'objecte d'estudi de la present tesi doctoral.



---

### 1.7. El paper de la inflamació en la vulnerabilitat de les plaques d'ateroma carotídi

---

En els últims anys s'ha identificat la inflamació com un dels processos biològics centrals que es relacionen amb el desenvolupament i progressió de les plaques d'ateroma (48,49). En les fases inicials de la formació de la placa d'ateroma, l'endoteli danyat expressa proteïnes d'adhesió a la seva superfície que permeten el reclutament de cèl·lules inflamatòries, principalment limfòcits T i monòcits (50). Un cop a la capa íntima, els monòcits es diferencien a macròfags i expressen receptors que permeten l'eliminació de molècules de LDL acumulades a l'espai extracel·lular. Si la concentració de LDL és elevada, els macròfags expressen un tipus de receptor anomenat *scavenger*, que permet una eliminació ràpida de la LDL extracel·lular a expenses de la seva acumulació a nivell intracel·lular en vesícules citoplasmàtiques, generant les anomenades cèl·lules espumoses (en anglès *foam cells*) (51). L'acumulació d'aquestes cèl·lules a la interfase entre la capa íntima i la mitja, genera un estat proinflamatori i proangiogènic mediat per citocines, que de no resoldre's, condueix a la proliferació també de cèl·lules musculars llises i fibroblasts (52). Tot plegat condueix a la formació de la placa d'ateroma que provoca l'estenosi del vas sanguini afectat. Durant el procés de formació de la placa, a més, es poden produir fenòmens que condueixin a la seva ruptura, com per exemple l'aprimament de la capa fibrosa, la necrosi del centre o l'hemorràgia dins la placa (25). Per tot plegat, es considera la inflamació com un dels processos centrals en la progressió i la vulnerabilitat de l'ateroesclerosi.

Alguns estudis han demostrat que nivells plasmàtics elevats de proteïna C reactiva (PCR) o d'interleucina-6 (marcadors d'inflamació) s'associen amb un augment del risc cardiovascular de forma independent als nivells de colesterol (53,54). De fet, alguns

estudis apunten a que l'efecte beneficiós de les estatines sobre les plaques d'ateroma no es deu només a la reducció dels nivells de colesterol si no també a la inhibició de la inflamació (55,56). També s'ha vist que l'efecte d'alguns factors de risc vascular coneguts com la hipertensió arterial, la diabetis mellitus o el tabaquisme es veu amplificat en presència de marcadors d'inflamació (57). Si la inflamació és un factor de risc vascular independent o si està associat amb la presència i/o control d'altres factors de risc vascular coneguts, encara es desconeix.

L'evidència que la inflamació juga un paper clau en l'evolució de l'ateroesclerosi, ha fet replantejar l'estratègia terapèutica que s'ha utilitzat clàssicament per a la prevenció de les malalties vasculars (incloent l'ictus), que s'ha centrat històricament en el tractament antitrombòtic. La publicació l'any 2017 de l'assaig clínic CANTOS (58), que va demostrar l'eficàcia de la inhibició de la interleucina-1 $\beta$  amb canakinumab per prevenir recurrències en pacients amb cardiopatia isquèmica i nivells elevats de PCR, va representar una important prova de concepte de que alguns pacients amb malaltia vascular es poden beneficiar de tractaments immunomoduladors.

Actualment, diversos assaigs clínics en marxa estan estudiant el benefici de tractaments antiinflamatoris i immunomoduladors en la prevenció de les malalties cardiovasculars, incloent l'ictus (59). No obstant, identificar els pacients amb major càrrega inflamatòria i per tant els que més es podrien beneficiar d'aquests tractaments, encara és un repte.

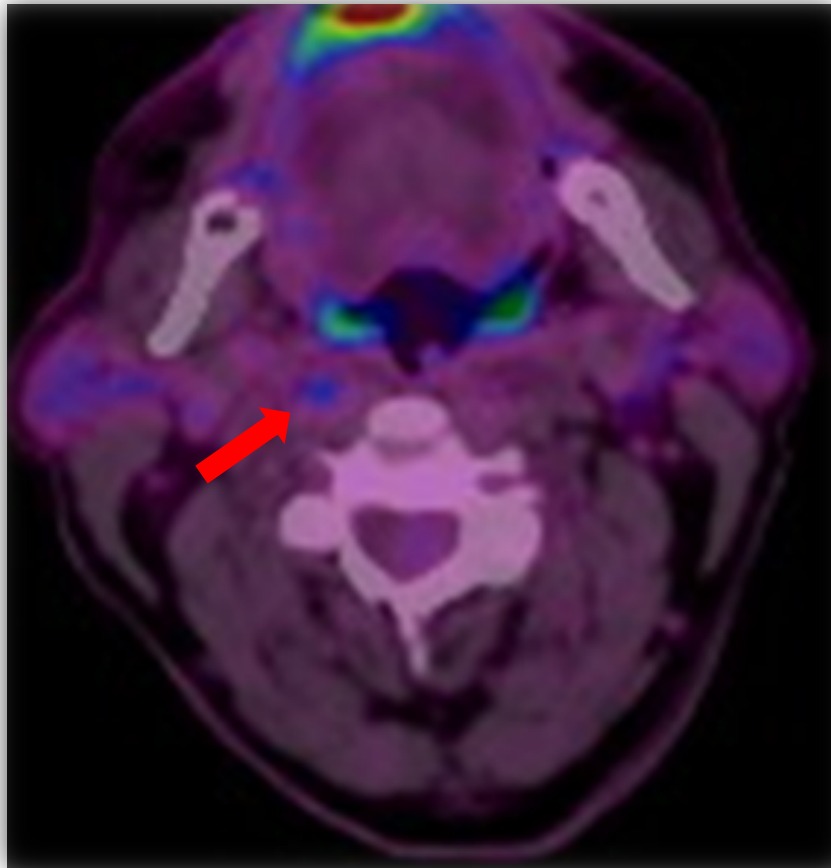
---

### 1.8. Estudi de la inflamació de les plaques d'ateroma carotídiess mitjançant Tomografia per Emissió de Positrons

---

La inflamació de les plaques d'ateroma carotídiess es pot mesurar *in vivo* i de forma incruenta utilitzant la Tomografia per Emissió de Positrons (PET) amb Fluorodesoxiglucosa 18F ( $^{18}\text{FDG}$ ) (60). Aquesta tècnica consisteix en l'administració per una vena perifèrica d'un radiofàrmac, la  $^{18}\text{FDG}$ , que es distribueix per l'organisme i que és captada per les cèl·lules amb major activitat metabòlica com són les cèl·lules tumorals i les cèl·lules inflamatòries. La composició de la FDG evita que sigui metabolitzada per les vies glicolítiques habituals quedant atrapada a l'interior de les cèl·lules. D'aquesta manera la PET és capaç de detectar la senyal que emet el fluor i transformar-la en un valor anomenat Standardized Uptake Value (SUV) (61). El SUV és un paràmetre semiquantitatiu que s'obté de normalitzar l'activitat del radiofàrmac per unitat de volum en una regió d'interés concreta (en anglès *region of interest* o ROI), per la quantitat de radiofàrmac administrat i el volum de distribució (normalment el pes total de la persona). En el cas concret de les plaques d'ateroma carotídiess la captació de  $^{18}\text{FDG}$  es deu sobretot a l'acumulació de macròfags i altres cèl·lules inflamatòries en el seu interior. Un exemple de PET amb  $^{18}\text{FDG}$  de caròtides es presenta a la Figura 5.

Les imatges de la PET de caròtides han estat validades en diversos estudis que han comparat els resultats de la captació del radiofàrmac amb la histologia (62,63). A més, un important estudi pilot va demostrar que el grau de captació en pacients que havien patit un ictus isquèmic es relacionava amb el risc de recurrència precoç (64).



**Figura 5:** Exemple del tall axial d'una PET amb  $^{18}\text{F}$ FDG centrada en les artèries caròtides internes. Es pot observar com la PET combina la informació anatòmica derivada de la tomografia computeritzada amb un mapa de colors que tradueix la captació de  $^{18}\text{F}$ FDG del teixit estudiat. En aquest exemple es veu com la caròtida dreta (fletxa vermella) presenta major activitat que l'esquerra en un punt on el pacient té una placa d'ateroma.

Per tot plegat, la PET amb  $^{18}\text{F}$ FDG és una eina diagnòstica prometedora que en un futur podria ajudar a predir els malalts amb major risc de recurrència i a afinar la selecció de pacients tributaris a tractaments de revascularització carotídia i/o tractaments immunomoduladors.

---

### *1.9. El paper de la neovascularització en la vulnerabilitat de les plaques d'ateroma carotídi*

---

De manera similar a la inflamació, diversos estudis histopatològics han identificat la neovascularització com un dels processos que porten les plaques d'ateroma a la inestabilitat i la ruptura (24,65). El fenomen de la neovascularització està estretament relacionat amb la inflamació. En una placa inflamada l'acumulació cel·lular en el seu interior es tradueix en una menor difusió d'oxigen i a l'alliberació de citocines angiogèniques que condueixen al ràpid creixement de vasos sanguinis des de la capa adventícia (66). Aquests vasos sovint presenten formes aberrants i no disposen de capa muscular. Aquesta fragilitat estructural comporta en molts casos la seva ruptura, tot provocant una hemorràgia que en última instància condueix la placa a la inestabilitat i al possible trencament (65). Per aquest motiu, detectar la presència de neovascularització a les plaques d'ateroma carotídi podria ser un potencial marcador de vulnerabilitat que permetés identificar aquells pacients que presenten un major risc d'ictus isquèmic.

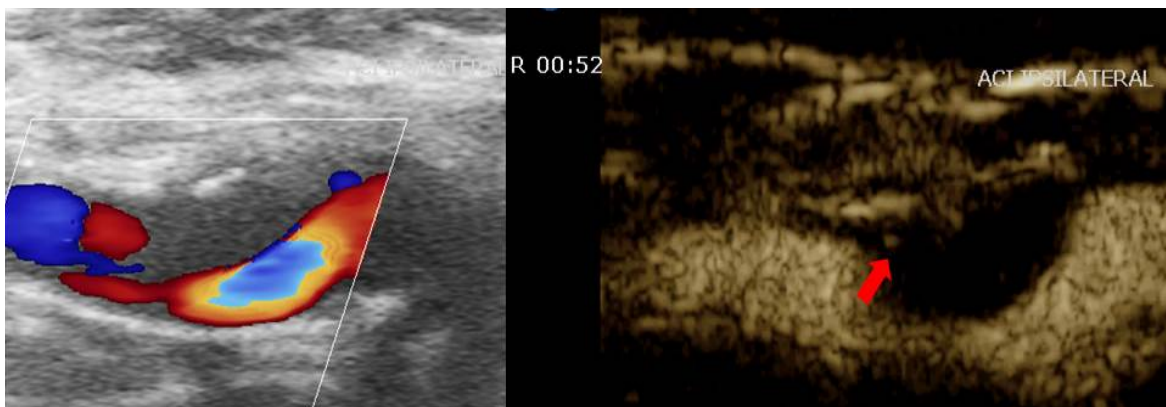
Alguns estudis han apuntat a una possible associació entre alguns factors de risc vascular coneguts com la hipertensió arterial, la diabetis mellitus o la cardiopatia isquèmica prèvia i el risc de presentar neovascularització a l'interior de les plaques d'ateroma carotídi (67). No obstant, es desconeix si aquesta relació és causal o si existeix algun tipus d'interacció o de confusió entre aquests factors de risc vascular i el fenomen de neovascularització. Tampoc es coneix si el bon control d'aquests factors de risc vascular pot arribar a controlar aquest fenomen, que està tan estretament relacionat amb la inflamació.

---

### 1.10.. Estudi de la neovascularització mitjançant dúplex amb contrast

---

La neovascularització de les plaques d'ateroma carotídi es pot detectar de forma incruenta amb l'ús del dúplex amb contrast (en anglès *Contrast-Enhanced Ultrasound* o CEUS) (68). Aquesta tècnica consisteix en l'administració per una via venosa perifèrica d'un contrast ultrasonogràfic format per microbombolles d'hexafluorur de sofre durant l'exploració ecogràfica d'una placa d'ateroma. Aquestes microbombolles no creuen l'endoteli i per tant serveixen de traçadors intravasculars. L'aparició de microbombolles dins d'una placa d'ateroma tradueix l'existència de vasos en el seu interior (69) (veure Figura 6).



**Figura 6:** Exemple d'una placa d'ateroma carotídia estudiada mitjançant CEUS. A la imatge de l'esquerra es pot veure la fotografia d'una placa hipoeoica vista per dúplex sense contrast. A la imatge de la dreta es pot observar la mateixa placa durant l'estudi CEUS, després de disminuir l'índex mecànic i d'administrar el contrast ultrasonogràfic.

La fletxa vermella senyala una bombolla de contrast a l'interior de la placa que correspon a un vas sanguini.

La neovascularització dins de la placa es pot quantificar a partir de mètodes semiquantitatius que utilitzen categories (com per exemple: 0=absència de contrast dins

la placa; 1=aparició de contrast als extrems de la placa i/o prop de la capa adventícia; 2=aparició de contrast de manera difusa a l'interior de la placa) (70) i mètodes quantitius que es basen en la gravació d'un vídeo durant l'exploració i en la construcció de corbes temps-intensitat (71,72) que mesuren la quantitat de decibels detectats a l'interior de la placa per unitat de temps.

Diversos estudis han demostrat una bona correlació entre el CEUS i les anàlisis histopatològiques posteriors de les plaques d'ateroma carotídiades extretes quirúrgicament (71). No obstant, la implicació clínica de la neovascularització dins de la placa detectada mitjançant CEUS és controvertida. Alguns estudis retrospectius han trobat diferències en la presència de neovascularització entre plaques carotídiades simptomàtiques en pacients que han patit un ictus isquèmic i pacients amb plaques asimptomàtiques (72). També s'ha vist que hi ha una associació entre la presència de neovascularització a les plaques d'ateroma carotídiades i tenir antecedents de malaltia cardiovascular (67). Finalment, un estudi pilot recentment ha demostrat que la presència de neovascularització a les plaques d'ateroma carotídiades de pacients que han patit un accident isquèmic transitori (AIT) s'associa amb el risc de recurrència (73). Malgrat la importància d'aquests resultats, l'estudi presenta algunes limitacions importants com una mostra relativament petita i la falta d'ajust del resultat final pel grau d'estenosi, que és el principal marcador de risc que s'utilitza a la pràctica clínica actual.

En definitiva, el CEUS és una eina diagnòstica que, igual que la PET, podria ser útil en un futur per detectar les plaques d'ateroma carotídiades més vulnerables i amb més risc de provocar ictus isquèmics, afinant d'aquesta manera la selecció de pacients candidats a revascularització carotídiada.

De confirmar-se el seu valor pronòstic com a exploració complementària, el CEUS tindria algunes avantatges importants respecte la PET, com és el seu menor cost i la

seva major disponibilitat a nivell dels centres hospitalaris. No obstant, també cal tenir en compte les limitacions intrínseques que té com a tècnica ecogràfica: la dependència de l'explorador i la susceptibilitat a les ombres provocades pel calci (74).





---

## 2. Justificació de l'estudi

---



---

### *Justificació de l'estudi*

---

Les malalties vasculars continuen sent la primera causa de mort als països occidentals i l'ictus isquèmic, a més, representa la primera causa de discapacitat adquirida a l'edat adulta i la segona de demència. Per aquest motiu, la investigació en el camp de les malalties vasculars cerebrals és una prioritat a nivell mundial.

L'ateroesclerosi és responsable del 20% dels ictus isquèmics sent les plaques d'ateroma de la caròtida les que més freqüentment provoquen ictus. L'elevat risc de recurrència dels ictus aterotrombòtics obliga a plantejar la revascularització carotídia mitjançant cirurgia o col·locació de stent en pacients seleccionats. Aquesta selecció ha de ser acurada ja que ambdues tècniques no estan exemptes d'efectes adversos. A l'actualitat l'únic marcador de risc que s'utilitza de rutina per seleccionar aquests pacients és el grau d'estenosi de les plaques. No obstant, per si sol, el grau d'estenosi és insuficient per decidir en situacions clíniques relativament freqüents. Per aquest motiu, l'estudi de nous marcadors de vulnerabilitat de l'ateroesclerosi que ens permetin identificar els pacients amb major risc de recurrència, podria ser de gran utilitat a la pràctica clínica.

Diversos estudis pilots han apuntat al potencial de dues tècniques d'imatge que són capaces de valorar *in vivo* la vulnerabilitat de les plaques d'ateroma carotídiades: la PET amb <sup>18</sup>FDG, que permet mesurar la inflamació i el CEUS, que permet detectar la presència de neovascularització. Aquesta evidència justifica el disseny d'un estudi clínic que avaluï la capacitat pronòstica d'aquestes tècniques en una cohort prospectiva de pacients amb ictus isquèmic i plaques d'ateroma carotídiades. Els resultats d'aquest estudi són la base de la present tesi doctoral.



---

## 3. Hipòtesis

---



---

### *Hipòtesis principal*

---

La hipòtesi principal del treball és que la inflamació de les plaques d'ateroma carotídiès mesurada mitjançant PET amb  $^{18}\text{F}$ FDG s'associa amb el risc de recurrència en pacients que han tingut un ictus isquèmic no cardioembòlic.

---

### *Hipòtesis secundàries*

---

- ~ La neovascularització de les plaques d'ateroma carotídiès detectada mitjançant dúplex amb contrast (*Contrast-Enhanced Ultrasound*), s'associa amb el risc de recurrència en pacients que han tingut un ictus isquèmic no cardioembòlic.
  
- ~ La presència d'alguns factors de risc vascular i/o determinats hàbits de vida, s'associen amb una major inflamació i a un major risc de presentar neovascularització a les plaques d'ateroma carotídiès.





---

## 4. Objectius

---



---

### *Objectiu principal*

---

L'objectiu principal del treball és estudiar la inflamació de les plaques d'ateroma carotídies mitjançant PET amb  $^{18}\text{F}$ FDG en una cohort prospectiva de pacients amb ictus isquèmic no cardioembòlic, i observar si existeix associació entre aquest marcador de vulnerabilitat i el risc de recurrència de nous ictus isquèmics durant el seguiment.

---

### *Objectius secundaris:*

---

- ~ Estudiar la neovascularització de les plaques d'ateroma carotídies mitjançant dúplex amb contrast (CEUS) a la mateixa cohort de pacients amb ictus isquèmic, i observar si existeix associació entre aquest marcador de vulnerabilitat i el risc de recurrència de nous ictus isquèmics durant el seguiment.
  
- ~ Recollir de forma sistemàtica els factors de risc vascular i els hàbits de vida dels pacients inclosos a la cohort, i analitzar quines variables s'associen més al grau d'inflamació i neovascularització de les plaques d'ateroma carotídies.



---

## 5. Metodologia

---



## 5.1. Resum global de la metodologia

Entre octubre de 2015 i maig de 2019 es va realitzar un estudi observacional prospectiu de casos consecutius de pacients ingressats a l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau amb el diagnòstic d'ictus isquèmic no cardioembòlic que presentaven com a mínim una placa d'ateroma carotídia en el costat congruent amb els símptomes de l'ictus.

Per tal de crear la cohort d'estudi es van establir els següents criteris d'inclusió:

- Ictus isquèmic (AIT o infart cerebral) recent en els set dies previs a la inclusió.
- Presència d'almenys una placa d'ateroma a l'artèria caròtida interna en el costat congruent amb els símptomes de l'ictus, independentment del grau d'estenosi.
- Edat  $\geq 50$  anys.
- Firma del consentiment informat.

Es van establir també els següents criteris d'exclusió:

- Etiologia infreqüent o cardioembòlica de l'ictus segons criteris TOAST (7).
- Ictus de territori posterior.
- Ictus isquèmic amb sospita de mecanisme hemodinàmic.
- Irradiació prèvia del coll, cirurgia carotídia o col·locació de stent carotídi previ en el costat ipsilateral a l'ictus.
- Puntuació  $\geq 4$  a l'escala modificada de Rankin en el moment de la inclusió.
- Demència i/o altres comorbiditats que condicionessin una esperança de vida inferior a l'any i que per tant, impediessin fer el seguiment proposat a l'estudi.

Es van incloure pacients ingressats al Servei d'Urgències, Unitat d'Ictus i Sala de Neurologia de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona.



---

### *Procediments i recollida d'informació*

---

*Entrevista i visita inicial:* a tots els pacients inclosos a la cohort se'ls hi va realitzar una entrevista clínica inicial estructurada en la qual es preguntava pels antecedents i control de factors de risc vascular, tractaments previs i hàbits de vida. Es van recollir les següents variables:

- Demogràfiques: edat i gènere.
- Antecedents previs coneguts o descoberts durant l'ingrés: hipertensió arterial; diabetis mellitus; dislipèmia (incloent hipercolesterolèmia i/o hipertrigliceridèmia); cardiopatia isquèmica; insuficiència cardíaca congestiva; fibril·lació auricular; valvulopaties cardíacques; vasculopatia perifèrica i insuficiència renal crònica.
- Hàbits de vida: tabaquisme i consum d'alcohol; consum d'altres tòxics; activitat física regular prèvia a l'ictus mesurada amb l'escala PACE (75) (Annex 1); seguiment de la dieta mediterrània d'acord amb l'escala PREDIMED (76) (Annex 2) i puntuació a l'escala de risc vascular Riskometer (77) (Annex 3).
- Tractaments previs a l'ictus incloent fàrmacs antitrombòtics (antiagregants i/o anticoagulants); fàrmacs antihipertensius i estatines.
- Variables morfològiques incloent pes; talla i índex de massa corporal (IMC).
- Autonomia funcional prèvia a l'ictus mesurada mitjançant l'escala modificada de Rankin (mRS).
- Síntomes previs durant els 15 dies abans de l'ingrés que suggerissin ictus o AITs previs.

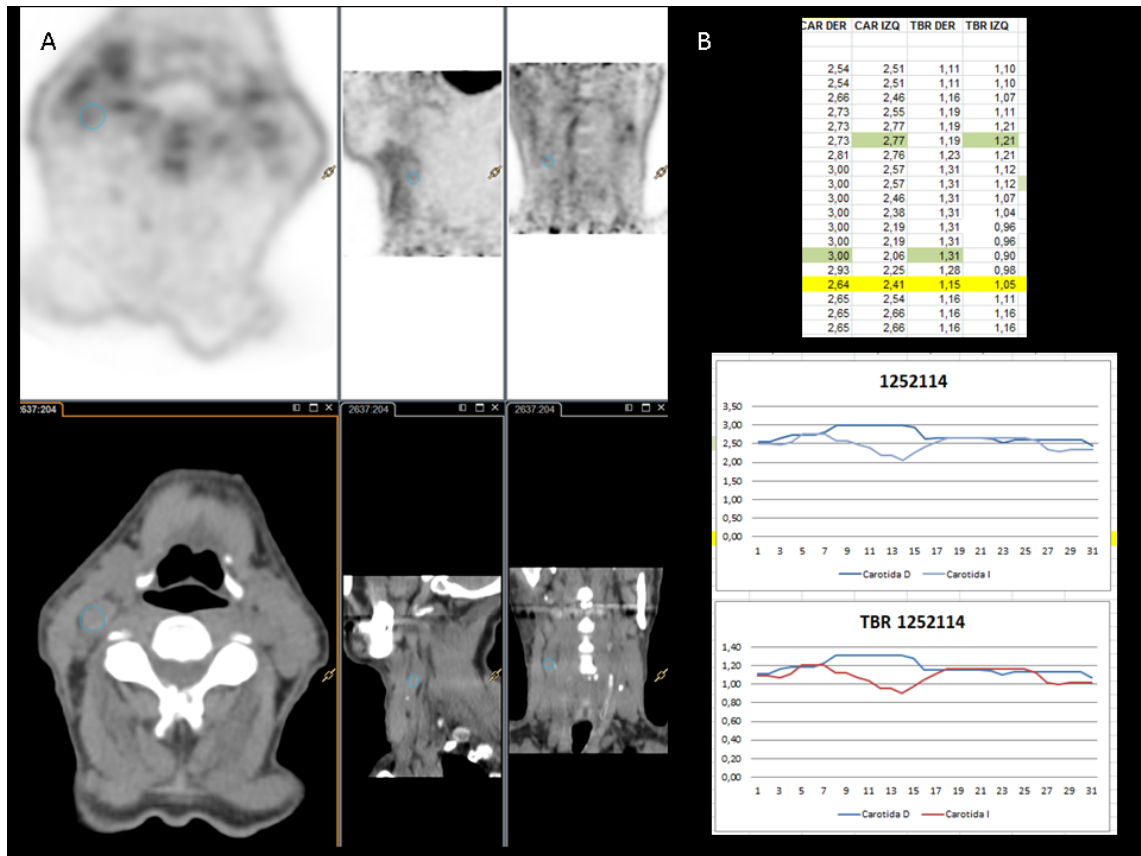
*Estudi diagnòstic de les causes de l'ictus i tractament:* els pacients inclosos a l'estudi van ser estudiats i tractats d'acord amb les guies actuals de prevenció secundària de

l'ictus isquèmic (2). A tots els pacients se'ls hi va realitzar un estudi diagnòstic bàsic amb TC cranial i/o RM cerebral, estudi de vasos mitjançant dúplex, angioTC i/o angioRM, un monitoratge cardíac per telemetria o Holter de com a mínim 24 hores i una ecocardiografia transtoràcica. Es van recollir les següents variables relacionades amb l'estudi de l'ictus:

- Puntuació a l'escala NIHSS a l'ingrés i a l'alta.
- Puntuació a l'escala mRS prèvia a l'ingrés i a l'alta.
- Etiologia de l'ictus després de l'estudi segons criteris TOAST.
- Tipus d'ictus isquèmic segons presència de lesió a la neuroimatge (infart cerebral) o no (AIT).
- Grau d'estenosi de les plaques d'ateroma carotídiades segons criteris hemodinàmics (per dúplex) i morfològics en cas de tenir angioTC i/o angioRM.
- Variables de laboratori: glucèmia a l'ingrés; hemoglobina glicosilada (Hb1AC); perfil lipídic incloent colesterol total, triglicèrids, LDL i HDL; leucòcits i plaquetes; hemoglobina; urea i creatinina.

*Estudi de la vulnerabilitat de l'ateroesclerosi carotídia:* a tots els pacients participants a l'estudi se'ls hi va realitzar un estudi de vulnerabilitat de les plaques d'ateroma carotídiades mitjançant dúplex amb contrast (CEUS) i PET amb <sup>18</sup>FDG. Aquestes proves es van realitzar dins dels 15 dies després de la inclusió i en cap cas van interferir en el tractament indicat pel seu equip mèdic. En alguns casos la realització de cirurgia o col·locació de stent a la caròtida prèviament a que es poguessin realitzar les proves de l'estudi van suposar pèrdues en la recollida d'informació. Es van recollir les següents variables relacionades amb els estudis PET i CEUS:

- PET amb  $^{18}\text{F}$ FDG: inflamació de les plaques d'ateroma mesurada mitjançant SUV màxim a la regió de la placa i Target-to-Background Ratio (TBR) respecte la vena jugular (Figura 7).



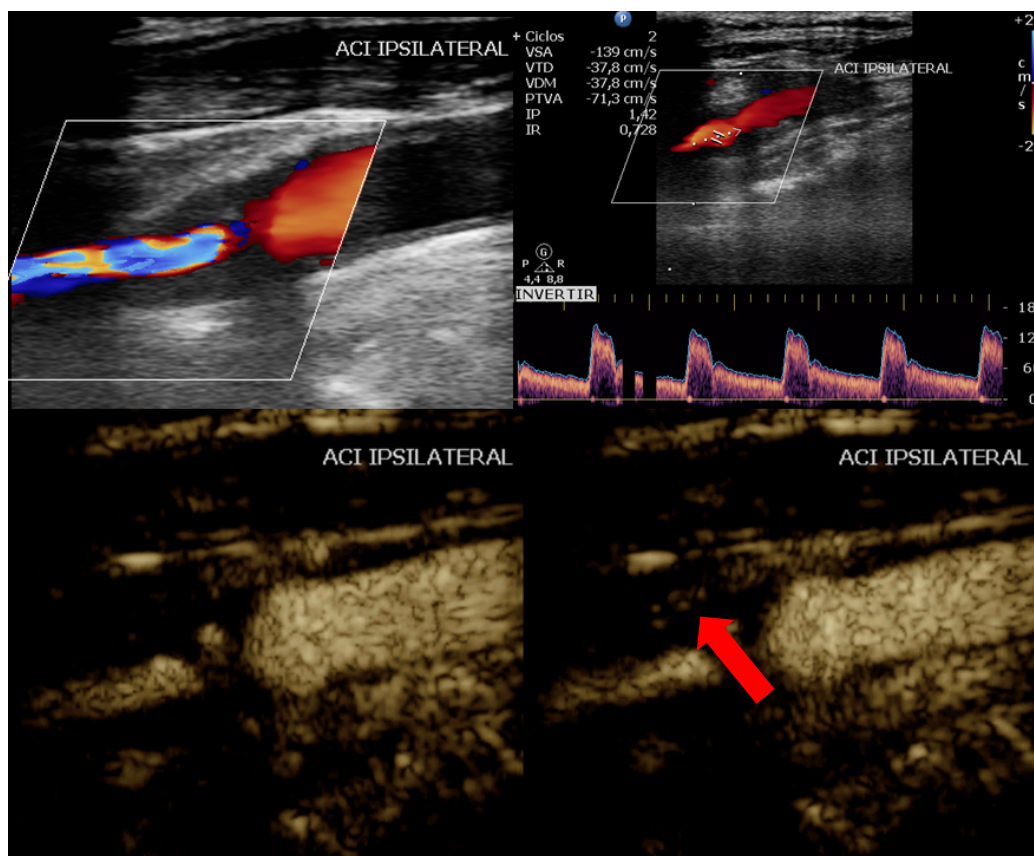
**Figura 7:** Exemple de com es mesura la inflamació de l'artèria caròtida mitjançant PET amb  $^{18}\text{F}$ FDG. A la part esquerra de la imatge (A) es poden veure les imatges obtingudes amb la PET: a la part de dalt es mostra el mapa de captació de  $^{18}\text{F}$ FDG i a sota les imatges TC que permeten disposar de la informació anatòmica per localitzar la caròtida. En el punt on es bifurca la caròtida (bulb carotidi) apareix dibuixat un cercle de color blau (en anglès *region of interest* o ROI). A partir d'aquest ROI es realitzen 15 mesures de SUV en direcció cranial cap a l'artèria caròtida interna cobrint l'àrea on es troba la placa d'ateroma. Cada mesura està separada per una distància de 1,5 mm. A la part dreta de la imatge (B) es poden veure els valors SUV que s'obtenen amb aquestes mesures. En groc es marca la bifurcació i en verd estan marcats els valors màxims. En el cas de la inflamació carotídia també s'obté el SUV normalitzat pel metabolisme basal d'un vas de referència (habitualment la jugular). Aquest valor s'anomena TBR.

- Dúplex de TSA amb i sense contrast: durant l'estudi sense contrast es va recollir el grau d'estenosi per criteris hemodinàmics (categoritzant les estenosis com a lleus <50%, moderades 50-69%, greus 70-99% o completes); ecogenicitat de la placa (categoritzada com a predominantment hipoeicoica, predominantment hipereicoica o càlcica); textura (homogènia o heterogènia) i superfície de la placa (regular, irregular o ulcerada). Durant l'estudi amb contrast (CEUS) es va recollir la presència o absència de neovascularització a l'interior de la placa; grau de neovascularització categoritzada (0=absència de neovascularització, 1=presència de neovascularització prop de l'adventícia i/o extrem de la placa, 2=neovascularització difusa a tota la placa) (70), mitjana de decibels de contrast a l'interior de la placa i valor màxim de decibels registrat a l'interior de la placa segons les corbes temps-intensitat. Un exemple d'un estudi CEUS es detalla a la Figura 8.

*Visites de seguiment:* posteriorment a la inclusió es van fer visites de seguiment als pacients als 3 i als 12 mesos. En aquestes visites es va recollir informació referent a recurrències d'ictus i altres síndromes vasculars:

- Recurrència d'ictus isquèmic: aquesta va ser la **variable principal d'estudi**. Una recurrència es va definir com l'aparició d'una focalitat neurològica transitòria o persistent brusca després del primer ictus isquèmic amb presència de lesió a la neuroimatge (recurrència d'infart cerebral) o no (AIT), atribuïda a una etiologia isquèmica després d'una valoració per un neuròleg expert en malalties vasculars cerebrals. Aquesta última condició es va proposar per tal d'evitar al màxim la inclusió de patologies simuladores d'ictus (*stroke mimics*).

- Síndromes coronàries agudes: definides com el conjunt d'entitats produïdes per l'erosió o trencament d'una placa d'ateroma a les coronàries, causant una angina inestable, un infart agut de miocardi o la mort sobtada.
- Isquèmia arterial aguda d'una extremitat atribuïda a aterosclerosi o necessitat d'angioplàstia per empitjorament de la clínica en context de vasculopatia perifèrica.
- Mort de causa vascular i mort per qualsevol causa.



**Figura 8:** Exemple de l'estudi d'una placa d'ateroma carotídia mitjançant CEUS. A la part de dalt es pot observar l'estudi mitjançant dúplex sense contrast. A la part de sota es pot apreciar la mateixa placa durant l'estudi amb contrast (CEUS). A la imatge de sota a l'esquerra es pot veure com queda dibuixada en negatiu la placa després de reduir l'índex mecànic i administrar el contrast ultrasonogràfic. A la imatge de sota a la dreta es pot observar com després d'uns segons de l'administració del contrast comencen a aparèixer bombolles de contrast a l'interior de la placa que tradueixen la presència de neovascularització (fletxa vermella).

---

## *Resum de l'anàlisi estadística*

---

En primer lloc es va fer un estudi descriptiu de la nostra població per veure la freqüència i la tendència dels factors de risc vascular, hàbits de vida, tractaments previs i variables clíniques i radiològiques relacionades amb l'ictus, recollides en el moment de la inclusió. Les variables categòriques es van expressar en forma de percentatges i les variables quantitatives a partir de la mitjana i desviació estàndard o la mediana i el rang interquartil, segons seguissin o no una distribució normal.

En segon lloc es va fer una anàlisi univariable per observar quines d'aquestes variables recollides s'associaven amb algun dels dos marcadors de vulnerabilitat estudiats a la nostra cohort. En el cas de la inflamació mesurada per PET, en ser una variable quantitativa (SUV), es va utilitzar regressió lineal tant per aquesta primera anàlisi univariable com posteriorment per fer l'anàlisi multivariable. El model final de l'anàlisi multivariable va ser el resultat d'aplicar un mètode de selecció per passos començant amb el model màxim que incloïa totes les variables amb tendència a la significació ( $p < 0,1$ ) a l'anàlisi univariable i descartant posteriorment una a una, mantenint només les variables que mantenien un valor  $p < 0,05$  a cada iteració (*backward stepwise selection*). En el cas de la neovascularització detectada per CEUS, el resultat es va dicotomitjar en presència o absència de neovascularització a l'interior de la placa. Per tant, per fer l'anàlisi univariable es va utilitzar el test de  $\chi^2$  en el cas de variables categòriques i el test t de Student en el cas de variables quantitatives, excepte si no seguien una distribució normal (en aquest cas es va utilitzar un test U de Mann-Whitney). L'anàlisi multivariable en aquest cas es va realitzar mitjançant regressió logística i el model final va ser el resultat d'aplicar també un mètode de selecció per passos començant amb el

model màxim (totes les variables amb  $p < 0,1$ ) i descartant una a una mantenint només les variables que mantenien un valor  $p < 0,05$  a cada iteració.

Per contrastar la hipòtesi principal de l'estudi es va realitzar una anàlisi de supervivència i es va dur a terme una anàlisi multivariable mitjançant regressió de riscos proporcionals de Cox per veure quines variables s'associaven de forma independent al risc de recurrència d'ictus isquèmic (incloent els dos marcadors de vulnerabilitat estudiats) tot controlant possibles factors de confusió. Aquesta anàlisi es va fer per una banda estudiant l'efecte de la inflamació mesurada mitjançant PET amb  $^{18}\text{F}$ FDG i per l'altra, estudiant l'associació entre la presència de neovascularització al CEUS i el risc de recurrència d'ictus isquèmic.

En el cas de la PET de caròtides, a més, es va realitzar una anàlisi conjunta amb una part de la cohort de Barcelona i dues cohorts internacionals independents que havien seguit una metodologia pràcticament idèntica tal i com s'explica als articles primer i segon presentats en aquesta tesi doctoral. Pel que fa al CEUS, l'anàlisi només es va fer amb la cohort de Barcelona tal i com es detalla al tercer article. Altres anàlisis específiques dels treballs publicats s'expliquen als corresponents apartats de mètodes.

Totes les anàlisis estadístiques es van realitzar amb Stata 15.1® (Texas, USA).

## 5.2. Primer Article

**Article publicat a la revista:**

**Stroke** (6 de juny de 2019)

**Títol:**

Carotid Plaque Inflammation Imaged by <sup>18</sup>F-Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography and Risk of Early Recurrent Stroke

**Autors:**

Peter J. Kelly; Pol Camps-Renom; Nicola Giannotti; Joan Martí-Fàbregas; Sean Murphy; Jonathan McNulty; Mary Barry; Patrick Barry; David Calvet; Shelagh B. Coutts; Simon Cronin; Raquel Delgado-Mederos; Eamon Dolan; Alejandro Fernández-León; Shane Foley; Joseph Harbison; Gillian Horgan; Eoin Kavanagh; Michael Marnane; Ciaran McDonnell; Martin O'Donohoe; Vijay Sharma; Cathal Walsh; David Williams; Martin O'Connell.

**Autor de correspondència:**

Peter J. Kelly, Stroke Clinical Trials Network Ireland, Catherine McAuley Centre, 21 Nelson St, Dublin 7, Ireland. Email [pjkelly@mater.ie](mailto:pjkelly@mater.ie)

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422





**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422



**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422



**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.025422





### 5.3. Segon Article

**Article publicat a la revista:**

**Stroke** (17 de gener de 2020)

**Títol:**

A Risk Score Including Carotid Plaque Inflammation and Stenosis Severity Improves Identification of Recurrent Stroke.

**Autors:**

Peter J. Kelly; Pol Camps-Renom; Nicola Giannotti; Joan Martí-Fàbregas; Jonathan McNulty; Jean-Claude Baron; Mary Barry; Shelagh B. Coutts; Simon Cronin; Raquel Delgado-Mederos; Eamon Dolan; Alejandro Fernández-León; Shane Foley; Joseph Harbison; Gillian Horgan; Eoin Kavanagh; Michael Marnane; John McCabe; Ciaran McDonnell; Vijay Sharma; David Williams; Martin O'Connell; Sean Murphy.

**Autor de correspondència:**

Peter J. Kelly, Stroke Clinical Trials Network Ireland, Catherine McAuley Centre, 21 Nelson St, Dublin 7, Ireland. E-mail [pjkelly@mater.ie](mailto:pjkelly@mater.ie)

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.027268



**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.027268

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.027268

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.027268

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.027268

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.027268



**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.027268

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.027268

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.027268

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.027268

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.027268

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.027268

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.027268

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.027268



**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.027268

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.027268

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.027268

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.027268

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.027268

**DOI:** 10.1161/STROKEAHA.119.027268



## 5.4. Tercer Article

**Article publicat a la revista:**

**European Journal of Neurology** (16 de febrer de 2020)

**Títol:**

Plaque Neovascularization Detected with Contrast-Enhanced Ultrasound Predicts Ischemic Stroke Recurrence in Patients with Carotid Atherosclerosis.

**Autors:**

Pol Camps-Renom; Luís Prats-Sánchez; Francesca Casoni; José María González-de-Echávarri; Paula Marrero-González; Ignacio Castrillón; Rebeca Marín; Elena Jiménez-Xarrié; Raquel Delgado-Mederos; Alejandro Martínez-Domeño; Daniel Guisado-Alonso; Joan Martí-Fàbregas.

**Autor de correspondència:**

Pol Camps-Renom. Department of Neurology. Hospital Santa Creu i Sant Pau. C/Sant Quintí 89, 08041, Barcelona (Spain). Tel:+34935565986. FAX:+34935565602. E-mail: pcamps@santpau.cat

**DOI:** 10.1111/ene.14157





**DOI:** 10.1111/ene.14157

**DOI:** 10.1111/ene.14157

**DOI:** 10.1111/ene.14157

**DOI:** 10.1111/ene.14157

**DOI:** 10.1111/ene.14157

**DOI:** 10.1111/ene.14157

**DOI:** 10.1111/ene.14157



**DOI:** 10.1111/ene.14157

**DOI:** 10.1111/ene.14157

**DOI:** 10.1111/ene.14157

**DOI:** 10.1111/ene.14157



---

## 6. Resum global dels resultats

---



---

### 6.1. Característiques de la cohort de Barcelona

---

Durant el període d'inclusió (octubre 2015 - maig 2018) l'investigador principal de l'estudi (el doctorand) va revisar sistemàticament els nous ingressos per valorar si complien els criteris d'inclusió a la cohort i el resultat d'aquest cribratge sistemàtic es detalla a la Figura 9.

De 100 pacients inicialment identificats que complien els criteris d'inclusió, 99 van acceptar finalment participar a l'estudi i vuit van ser exclosos per diversos motius:

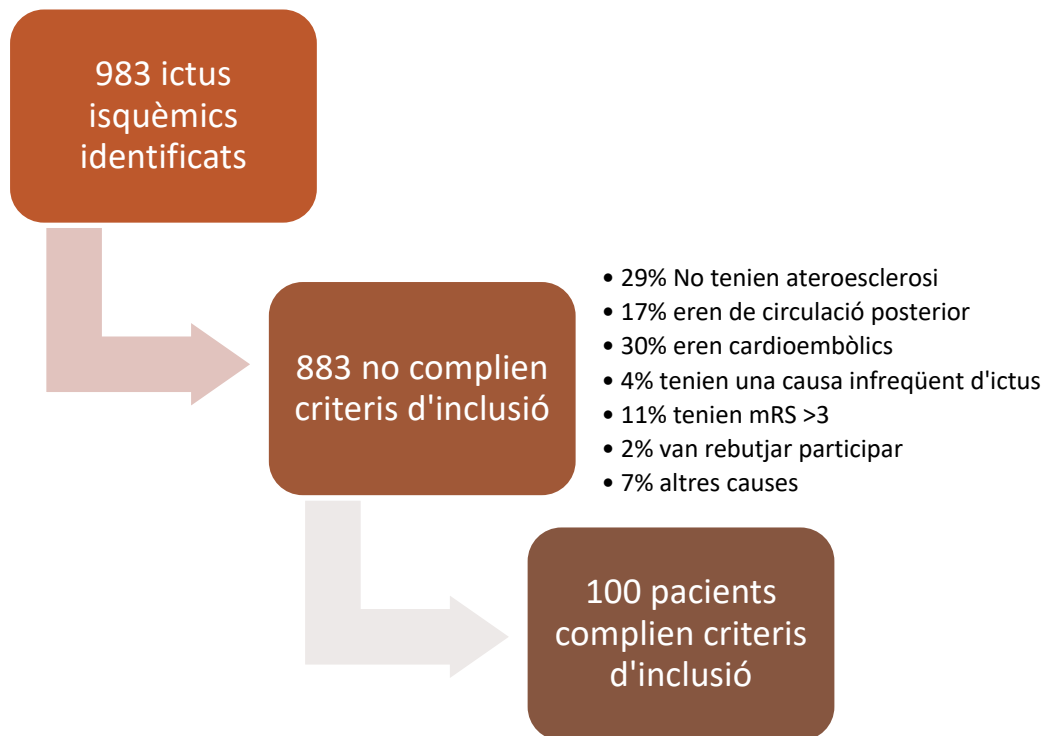
- Dos pacients presentaven lesions isquèmiques a circulació posterior a la RM cerebral.
- Dos pacients es van considerar *stroke mimics* després de l'estudi (crisis epilèptiques).
- Dos pacients van presentar una causa cardioembòlica de l'ictus durant l'ingrés.
- Un pacient va ser diagnosticat d'arteritis de la temporal.
- Un pacient va ser diagnosticat de Miastènia Gravis com a causa de la disàrtria.

Per tant, finalment es van incloure i seguir 91 pacients.

Els 91 pacients inclosos tenien una mitjana d'edat de  $74,8 \pm 9,9$  anys i 69 (75,8%) eren homes. Els principals antecedents, hàbits de vida i variables morfològiques dels pacients inclosos a la cohort es troben resumides a la Taula 1.

Dels 91 pacients, 57 (62,6%) tenien almenys una placa d'ateroma a la caròtida interna que provocava una estenosi  $\geq 50\%$ . La resta de pacients tenien plaques que no arribaven al 50%. Es va demostrar lesió isquèmica a la neuroimatge (TC o RM) en 67 pacients (73,6%) i la resta (26,4%) es van classificar com a AIT. A l'entrevista inicial vuit pacients (8,8%) van referir haver tingut símptomes els 15 dies previs a l'ingrés que suggerien ictus previs.





**Figura 9:** Cribratge sistemàtic realitzat entre l'octubre de 2015 i el maig de 2018 de nous pacients amb diagnòstic d'ictus isquèmic que van ingressar a l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona.

**Taula 1.** Característiques clíniques dels pacients inclosos a la cohort

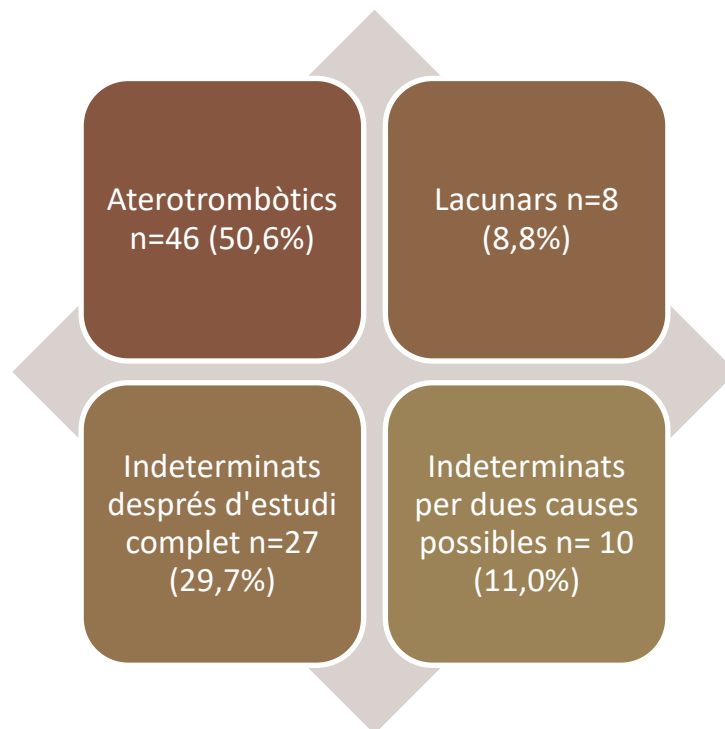
Edat, mitjana (DE)	74,8 (9,9)
Gènere (homes), n (%)	69 (75,8)
Pes (kg), mediana (RIQ)	73 (62-81)
Talla (m), mediana (RIQ)	1,7 (1,6-1,7)
IMC, mediana (RIQ)	25,9 (23,4-28,2)
Perímetre abdominal (cm), mediana (RIQ)	99 (92-105)
Obesitat (IMC $\geq$ 30), n (%)	12 (13,2)
Adherència a la dieta mediterrània (PREDIMED $\geq$ 6)*, n (%)	78 (86,7)
Exercici físic regular (PACE $\geq$ 4)**, n (%)	38 (41,8)
Risc (%) d'ictus als 5 anys segons la puntuació al Riskometer, mediana (RIQ)	20,4 (14,6-26,8)
Hipertensió arterial, n (%)	76 (83,5)
Diabetis Mellitus, n (%)	37 (40,7)
Dislipèmia, n (%)	61 (67,0)
Tabaquisme actiu, n (%)	19 (20,9)
Consum d'alcohol $\geq$ 80g setmanals, n (%)	11 (12,1)
Cardiopatia isquèmica, n (%)	27 (29,7)
Fibril·lació auricular, n (%)	14 (15,4)
Ictus isquèmic previ, n (%)	20 (22,0)
Vasculopatia perifèrica, n (%)	18 (19,8)
Aneurisma d'aorta, n (%)	10 (11,1)
Insuficiència renal crònica, n (%)	13 (14,3)
Antiagregació prèvia, n (%)	50 (55,0)
Anticoagulació prèvia, n (%)	7 (7,7)
Tractament previ amb estatines, n (%)	52 (57,1)
Tractament previ amb antihipertensius, n (%)	69 (75,8)
Puntuació a l'escala de Rankin prèvia a l'ictus, mediana (RIQ)	1 (0-2)

DE = Desviació Estàndard; RIQ = Rang Interquartil; IMC = Índex de Massa Corporal

\*L'escala PREDIMED valora 14 ítems de la dieta dels pacients ([www.predimed.es](http://www.predimed.es)) (Annex 2). Una major puntuació reflecteix una major adherència a la dieta mediterrània. En el nostre estudi es va categoritzar la puntuació en tres categories: adherència baixa (0-5), adherència mitjana (6-9) i adherència alta (10-14). Aquesta estratègia s'ha utilitzat en estudis previs de medicina familiar i comunitària (78).

\*\*L'escala PACE valora l'exercici físic setmanal que fan els pacients regularment. Una major puntuació reflecteix un exercici físic regular més freqüent i intens. En el nostre estudi es va categoritzar la puntuació en dues categories: exercici físic poc freqüent (PACE<4) i exercici físic regular (PACE 4-8). Aquesta categorització de la variable és la mateixa que es va fer a l'assaig clínic SAMMPRIS (79).

Després de l'estudi diagnòstic es van classificar els pacients segons l'etiologia de l'ictus per criteris TOAST:



Altres variables relacionades amb el tipus d'ictus i el seu estudi diagnòstic es troben resumides a les Taules 2 i 3.

**Taula 2.** Característiques clíniques i radiològiques relacionades amb el tipus d'ictus i el seu estudi diagnòstic.

Síntomes previs els 15 dies abans de l'ingrés, n (%)	8 (8,8)
Fibrinòlisi a la fase aguda de l'ictus, n (%)	14 (15,4)
Tractament endovascular a la fase aguda de l'ictus, n (%)	1 (1,1)
Puntuació NIHSS a urgències, mediana (RIQ)	2 (0-3)
Puntuació NIHSS a l'alta, mediana (RIQ)	0 (0-2)
Puntuació a l'escala de Rankin a l'alta, mediana (RIQ)	2 (0-3)
RM cerebral, n (%)	68 (74,7)
Lesió aguda a la neuroimatge (TC o RM), n (%)	67 (73,6)
AngioTC, n (%)	53 (58,2)
AngioRM, n (%)	17 (18,7)
Estenosi carotídia <50% en el costat simptomàtic, n (%)	34 (37,4)
Estenosi carotídia 50-69% en el costat simptomàtic, n (%)	15 (16,5)
Estenosi carotídia 70-99% en el costat simptomàtic, n (%)	31 (34,1)
Oclusió carotídia, n (%)	11 (12,1)
Endoarteriectomia carotídia, n (%)	16 (17,6)
Stent carotídi, n (%)	8 (8,8)
Èxitus durant l'ingrés, n (%)	1 (1,1)

DE = Desviació Estàndard; RIQ = Rang Interquartil

**Taula 3.** Variables de laboratori recollides durant l'ingrés

Glicèmia a l'ingrés (mg/dl), mitjana (DE)	130,7 (70,7)
Filtrat glomerular <30 ml/min, n (%)	2 (2,2)
Hemoglobina a l'ingrés (g/L), mitjana (DE)	133 (22,7)
Recompte leucocitari a l'ingrés ( $\times 10^9/L$ ), mitjana (DE)	8,5 (2,4)
Colesterol total (mg/dl), mitjana (DE)	152,2 (42,7)
Triglicèrids (mg/dl), mitjana (DE)	115,5 (45,8)
LDL (mg/dl), mitjana (DE)	90,3 (36,6)
HDL (mg/dl), mitjana (DE)	39,6 (13,3)
HbA1C $\geq 6,4\%$ , n (%)	26 (31,3)

DE = Desviació Estàndard

---

## 6.2. Estudi de la inflamació de les plaques mitjançant PET amb $^{18}\text{FDG}$

---

Dels 91 pacients inclosos, a 82 se'ls hi va realitzar una PET amb  $^{18}\text{FDG}$  per estudiar la inflamació de les plaques d'ateroma carotídiades i en 80 la prova va ser valorable (en dos pacients la prova no va ser valorable per problemes d'adquisició de les imatges). Els motius pels quals en nou pacients no es va realitzar la PET van ser els següents:

- En sis es va aplicar un tractament de revascularització de la caròtida abans que es pogués fer la prova.
- En tres no es va realitzar la prova per decisió del pacient.

La mitjana de SUV màxim de les plaques d'ateroma carotídiades va ser de 2,71 g/ml (DE=0,59) i de TBR màxim de 1,60 (DE=0,37).

Pel que fa al grau d'estenosi, es va observar que les plaques amb  $\geq 50\%$  d'estenosi presentaven més inflamació que les plaques  $< 50\%$  (mitjana de SUV màxim de  $2,87 \pm 0,61$  g/ml vs.  $2,48 \pm 0,48$  g/ml respectivament,  $p=0,005$ ). Altres variables clíniques i radiològiques relacionades amb el grau d'inflamació de les plaques es troben resumides a la Taula 4.

A l'anàlisi multivariable les úniques dues variables que van mostrar una associació independent amb el risc de presentar plaques d'ateroma més inflamades a la caròtida van ser l'obesitat i el grau d'estenosi. Els resultats d'aquesta anàlisi multivariable es troben detallats a la Taula 5.

**Taula 4.** Anàlisi univariable per regressió lineal de les variables clíniques i radiològiques associades amb la inflamació (SUV màxim) de les plaques d'ateroma.

	Coeficient Beta	IC 95%	Coeficient Beta estandarditzat	p
Edat	0,008	-0,005 - 0,021	0,138	0,244
Gènere (dona)	0,273	-0,041 - 0,587	0,202	0,087
Obesitat (IMC≥30)	0,619	0,276 - 0,962	0,393	<b>0,001</b>
Perímetre abdominal (cm)	0,024	0,011 - 0,038	0,416	<b>0,001</b>
Dieta mediterrània (PREDIMED ≥6)	-0,018	-0,460 - 0,425	-0,009	0,936
Exercici físic regular (PACE≥4)	-0,134	-0,414 - 0,147	-0,112	0,345
Puntuació a l'escala de risc Riskometer	1,272	0,421 - 2,124	0,338	<b>0,004</b>
Hipertensió arterial	0,206	-0,177 - 0,589	0,126	0,288
Diabetis mellitus	0,036	-0,241 - 0,314	0,031	0,796
Dislipèmia	-0,004	-0,301 - 0,293	-0,003	0,979
Tabaquisme actiu	-0,300	-0,619 - 0,019	-0,217	0,065
Antecedent d'ictus isquèmic previ	-0,056	-0,406 - 0,295	-0,037	0,753
Cardiopatia isquèmica	-0,264	-0,562 - 0,035	-0,204	0,083
Antiagregació prèvia	-0,246	-0,517 - 0,025	-0,210	0,074
Tractament previ amb estatines	-0,058	-0,337 - 0,222	-0,049	0,682
Síntomes previs els 15 dies abans de l'ingrés	-0,150	-0,469 - 0,168	-0,111	0,350
Estenosi carotídia ≥50%	0,390	0,125 - 0,655	0,329	<b>0,005</b>
Colesterol total (mg/dl)	0,001	-0,002 - 0,004	0,092	0,444
Triglicèrids (mg/dl)	0,002	-0,001 - 0,006	0,193	0,115
LDL (mg/dl)	0,001	-0,003 - 0,005	0,069	0,594
HDL (mg/dl)	0,003	-0,007 - 0,014	0,083	0,520

IC = Interval de Confiança; IMC = Índex de Massa Corporal

**Taula 5.** Anàlisi multivariable per regressió lineal de les variables clíniques i radiològiques associades a la inflamació (SUV màxim) de les plaques d'ateroma.

	Coefficient Beta	IC 95%	Coefficient Beta estandarditzat	p
Obesitat	0,322	0,157 - 0,487	0,390	<b>&lt;0,001</b>
Estenosi carotídia≥50%	0,316	0,087 - 0,545	0,266	<b>0,008</b>

\*El model final és el resultat d'aplicar un mètode de selecció per passos començant amb el model màxim que inclou totes les variables amb tendència a la significació ( $p < 0,1$ ) a l'anàlisi univariable i descartant una a una mantenint només les variables que mantenen un valor  $p < 0,05$  a cada iteració (*backward stepwise selection*).

\*\*La puntuació a l'escala Riskometer no es va introduir a l'anàlisi multivariable final per evitar el fenomen de col·linealitat, ja que la mateixa escala de risc inclou l'obesitat i altres factors de risc dins dels ítems que valora.

---

### *6.3. Estudi de la neovascularització de les plaques mitjançant CEUS*

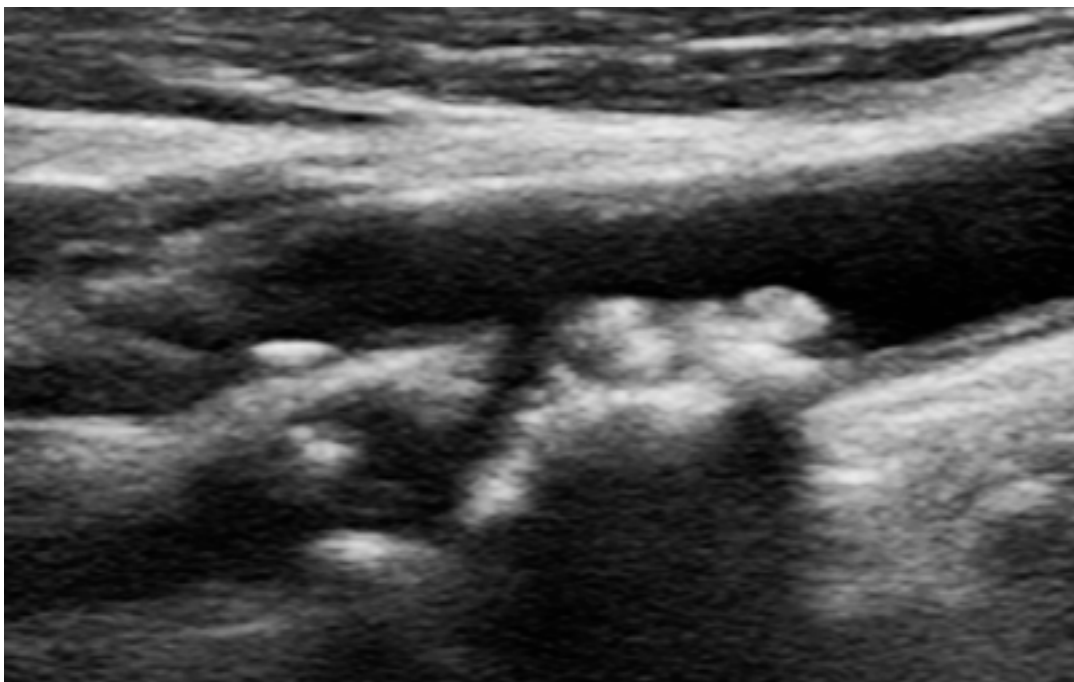
---

Dels 91 pacients inclosos, a 81 se'ls hi va realitzar un CEUS de caròtides i en 78 la prova va ser valorable (en 3 pacients la prova no va ser valorable per problemes d'adquisició de les imatges i/o artefactes de moviment). Els motius pels quals en 10 pacients no es va realitzar el CEUS van ser els següents:

- En vuit es va aplicar un tractament de revascularització de la caròtida abans que es pogués fer la prova.
- En dos no es va realitzar la prova amb contrast perquè es va considerar que el pacient es trobava inestable des del punt de vista de la seva malaltia vascular (contraindicació del contrast ultrasonogràfic).

Tal i com s'explica al tercer article presentat en aquesta tesi, en analitzar els 78 estudis CEUS es va observar que l'estudi de neovascularització només era valorable en 50 pacients.

Els motius pels quals es va evidenciar que hi havia estudis CEUS no valorables van ser essencialment dos: en nou estudis no es va poder valorar la presència de neovascularització perquè la caròtida estava oclosa i en no veure's el perímetre de la placa no va ser possible determinar la presència de neovasos al seu interior; i en 19 pacients l'estudi de vasos no va ser valorable per la presència d'ombres càlciques que impedièren veure l'aparició de contrast a l'interior de la placa (veure Figura 10).



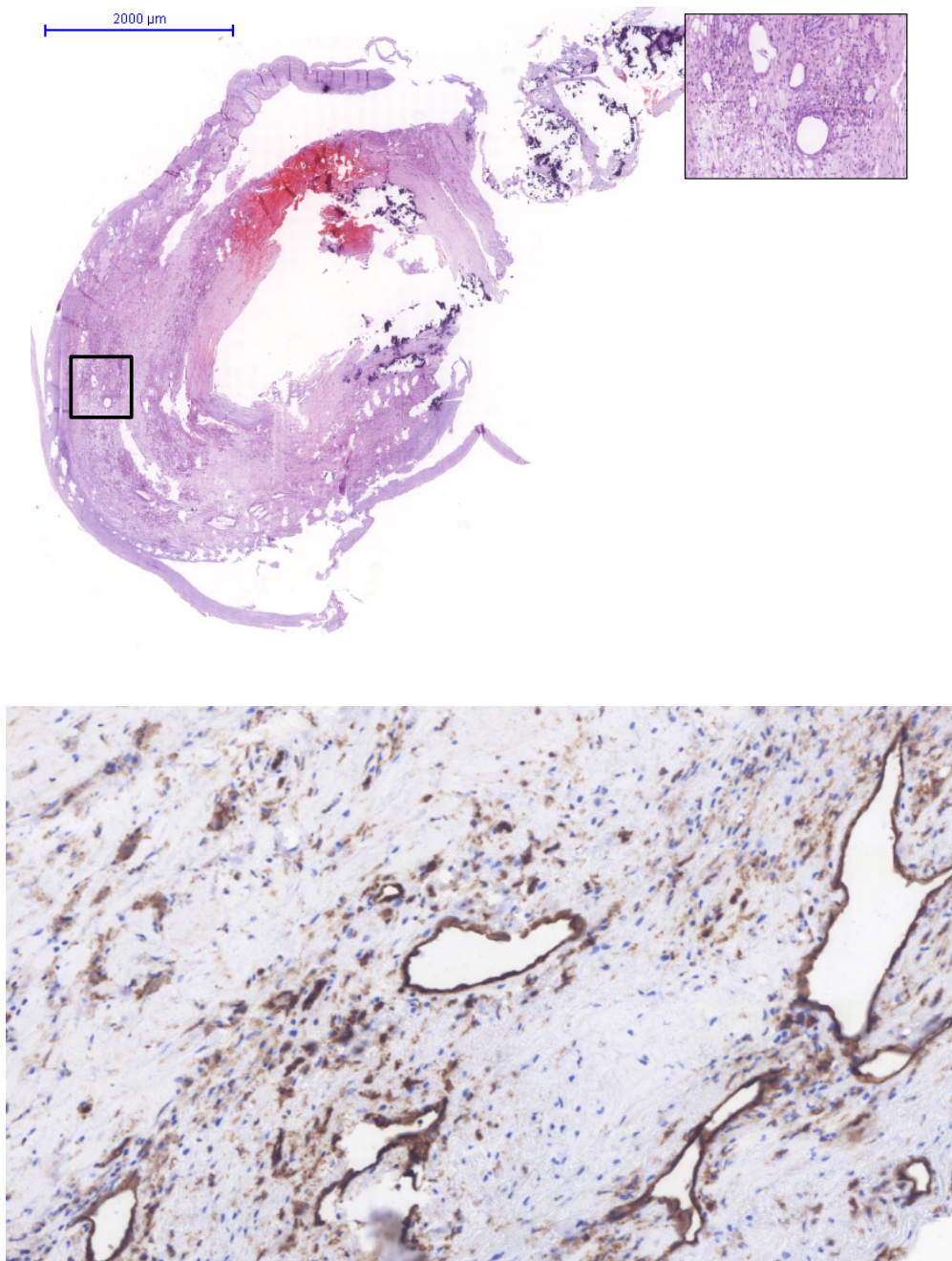
**Figura 10:** Exemple d'una placa d'ateroma carotídia altament calcificada (>50% de la seva superfície) amb una ombra acústica posterior que no permet valorar bé la paret arterial on s'espera trobar la presència de neovascularització.



Per tal de no alterar els resultats de l'anàlisi estadística classificant erròniament plaques sense vasos que en realitat sí que en tenien, es va fixar com a criteri perquè l'estudi fos valorable que com a mínim el 50% de la placa fos visible sense ombres càlciques. Per tal de comprovar que aquest criteri de selecció fos adequat, es va fer un petit estudi a partir de tres pacients de la cohort a qui s'havia indicat endoarteriectomia i que presentaven plaques amb més del 50% de la seva superfície calcificada amb ombra acústica posterior segons la valoració prèvia per dúplex (veure Figura 10). En primer lloc, es va comprovar que en aquests pacients el CEUS era incapaç de detectar neovasos a la placa per culpa de l'ombra càlcica. En segon lloc, un cop extretes les plaques, es va fer una anàlisi immunohistoquímica de totes tres utilitzant el marcador CD31 (marcador de cèl·lula endotelial) per determinar la presència/absència de neovasos al seu interior. Finalment, en analitzar les mostres tenyides, vam observar que les tres plaques presentaven neovasos al seu interior (Figura 11), neovascularització que no havia pogut ser detectada mitjançant CEUS. Conseqüentment, es va decidir mantenir el criteri de que com a mínim el 50% de la placa fos visible sense ombres acústiques per determinar la presència o absència de neovascularització amb CEUS.

De les 50 plaques en que sí que va ser valorable la presència o absència de neovascularització, 40 (80%) presentaven neovasos: 25 en àrees adjacents a l'adventícia i/o als extrems de la placa (grau 1 de neovascularització) i 15 de forma difusa a tota la superfície de la placa (grau 2 de neovascularització). A les corbes temps-intensitat la mitjana de decibels de contrast a l'interior de les plaques d'ateroma va ser de 19,4 (DE=16,9).

A la Taula 6 es detallen les variables clíniques i radiològiques relacionades amb la presència de neovascularització a les plaques.



**Figura 11:** Exemple d'una anàlisi immunohistoquímica d'una placa altament calcificada. A la part superior de la imatge observem l'estructura global de la placa tenyida amb hematoxilina-eosina. Es pot veure com la placa s'ha trencat lleugerament al tallar-la amb el microtorn a causa dels nuclis de calci, que es veuen dispersats en forma de petits agregats basòfils. També observem l'existència de petites estructures vasculars arrodonides a l'interior de la placa. A la part inferior trobem una ampliació de la imatge amb la tinció CD31 (marró) que marca la presència de cèl·lules endotelials formant estructures capil·lars irregulars i de morfologia aberrant corresponents a neovasos.

**Taula 6.** Variables associades a la presència de neovascularització a les plaques d'ateroma carotídiess.

<i>Anàlisi univariàble</i>			
	Absència de neovascularització (n=10)	Presència de neovascularització (n=40)	<i>p</i>
Edat, mitjana (DE)	74,3 (11,7)	75,7 (9,5)	0,704
Gènere (home), n (%)	8 (80,0)	28 (70,0)	0,529
Tabaquisme actiu, n (%)	0 (0,0)	9 (22,5)	0,098
Consum d'alcohol ≥80g/dia, n (%)	2 (22,2)	2 (5,0)	0,088
Obesitat (IMC ≥30), n (%)	3 (16,7)	5 (12,5)	0,670
Hipertensió, n (%)	9 (90,0)	31 (77,5)	0,174
Diabetis, n (%)	5 (50,0)	17 (42,5)	0,669
Dislipèmia, n (%)	9 (90,0)	25 (62,5)	0,095
Antecedent d'ictus isquèmic previ, n (%)	4 (40,0)	9 (22,5)	0,259
Cardiopatia isquèmica, n (%)	4 (40,0)	8 (20,0)	0,185
Estenosi carotídia ≥50%, n (%)	5 (50,0)	27 (67,5)	0,302
Plaques predominantment hipoecoiques, n (%)	1 (9,1)	18 (46,2)	<b>0,025</b>
Antiagregació prèvia, n (%)	6 (60,0)	20 (50,0)	0,571
Estatina prèvia, n (%)	9 (90,0)	20 (51,3)	<b>0,026</b>
Colesterol total (mg/dl), mitjana (DE)	152,1 (37,3)	160,3 (46,2)	0,518
Triglicèrids (mg/dl), mitjana (DE)	119,3 (36,7)	129,3 (55,1)	0,521
LDL (mg/dl), mitjana (DE)	92,6 (32,8)	96,5 (39,7)	0,757
HDL (mg/dl), mitjana (DE)	40,7 (12,0)	37,6 (11,1)	0,410
<i>Anàlisi multivariàble mitjançant regressió logística</i>			
	OR	IC 95%	<i>p</i>
Tractament previ amb estatines	0.30	0.10-0.90	<b>0.032</b>

DE = Desviació Estàndard; IMC = Índex de Massa Corporal

\*El model final és el resultat d'aplicar un mètode de selecció per passos començant amb el model màxim que inclou totes les variables amb tendència a la significació ( $p < 0,1$ ) i descartant una a una mantenint només les variables que mantenen un valor  $p < 0,05$  a cada iteració (*backward stepwise selection*).

És important remarcar que les plaques predominantment hipoecoiques al dúplex presentaven neovascularització amb més freqüència que les plaques predominantment hiperecoiques (46,2% vs 9,1% respectivament,  $p = 0,025$ ). Per contra, no es van observar diferències significatives entre les plaques amb estenosis  $\geq 50\%$  (75,0% presentaven neovascularització) i les estenosis  $< 50\%$  (59,1% tenien neovascularització) ( $p = 0,204$ ).

En fer l'anàlisi multivariable es va observar que l'única variable que s'associava de manera independent al risc de tenir neovascularització a les plaques d'ateroma va ser el tractament previ amb estatines (OR=0,30 IC95% 0,10-0,90,  $p = 0,032$ ), que es va comportar com a factor protector.

---

#### 6.4. Seguiment de la cohort de Barcelona

---

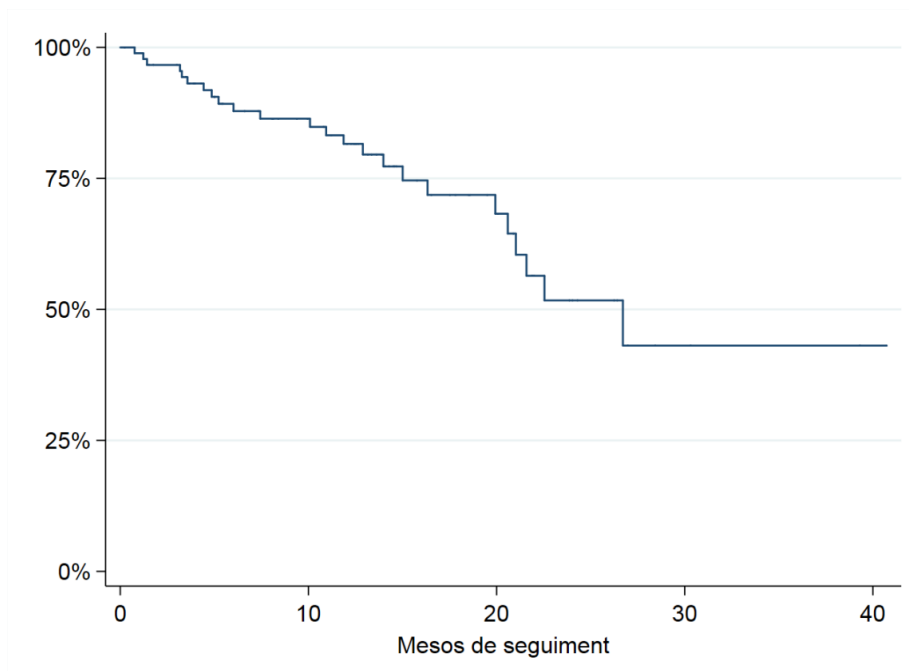
Els pacients es van seguir durant una mitjana de  $12,7 \pm 8,6$  mesos. Durant el seguiment 16 pacients van patir almenys una recurrència d'ictus isquèmic (17,6%), a més de vuit pacients (8,8%) que havien presentat símptomes suggestius d'ictus abans de l'admissió a l'hospital durant els 15 dies previs i que posteriorment van presentar nous símptomes compatibles amb recurrències abans de la inclusió. En total, per tant, es van comptabilitzar 24 recurrències. Del total de les recurrències, 14 es van considerar AITs (incloent les vuit recurrències prèvies a l'ingrés) i 10 van resultar en nous infarts

isquèmics evidenciats a la neuroimatge. La majoria dels pacients només van presentar una recurrència (66,7%), però en sis pacients (25,0%) es van registrar dos recurrències i en dos pacients (8,3%) fins a tres recurrències.

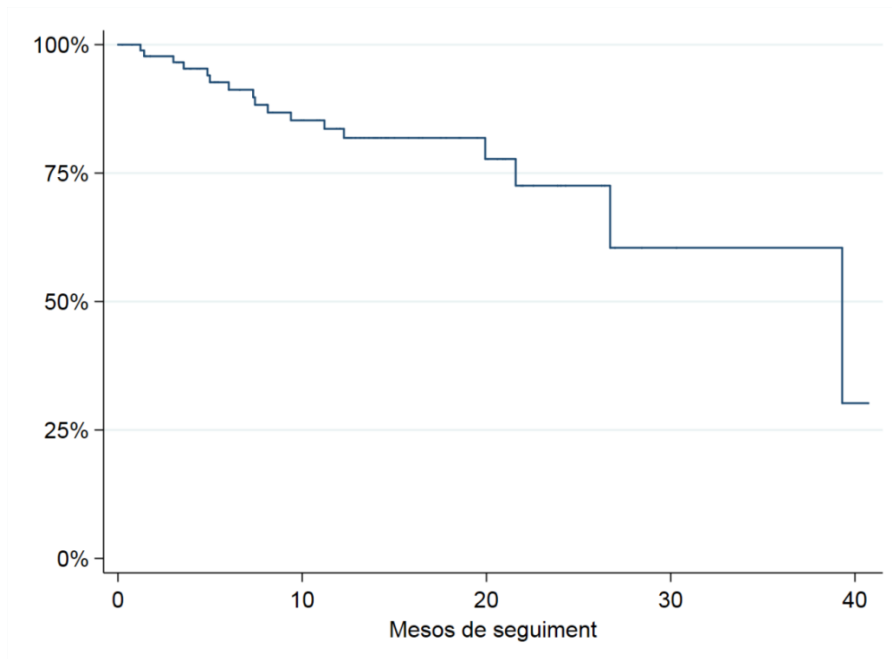
A banda de les recurrències d'ictus isquèmic durant el seguiment es van registrar cinc síndromes coronàries agudes (5,5%).

Finalment, durant el seguiment 17 pacients van morir (18,7%) i en nou la mort es va atribuir a una causa vascular. La resta es van atribuir a altres causes o no es va arribar a conèixer el motiu.

A les Figures 12 i 13 es detallen les corbes de supervivència de Kaplan-Meier per a recurrències i mortalitat a la nostra cohort.



**Figura 12:** Corba de supervivència de Kaplan-Meier per a recurrències d'ictus isquèmic a la nostra cohort durant el seguiment.



**Figura 13:** Corba de supervivència de Kaplan-Meier per a mortalitat a la nostra cohort durant el seguiment.

---

*6.5. Associació entre la inflamació de les plaques carotídiades  
mesurada mitjançant PET amb  $^{18}\text{F}$ FDG i risc de recurrència d'ictus  
isquèmic*

---

Per tal de comprovar la hipòtesi principal de l'estudi, es va analitzar si els pacients que havien presentat recurrències d'ictus isquèmic presentaven una major inflamació de les plaques d'ateroma carotídiades a la PET amb  $^{18}\text{F}$ FDG a partir dels valors SUV i TBR màxims a la regió de l'estenosi. Es va realitzar primer una anàlisi univariable i en segon lloc una anàlisi multivariable mitjançant regressió logística per tal de comprovar quines variables s'associaven de manera independent al risc de recurrència a la nostra cohort, i estudiar si existia associació entre la inflamació i el risc de recurrència ajustant per possibles factors de confusió.

Dels 24 pacients a qui se'ls hi va diagnosticar una recurrència d'ictus isquèmic, 19 tenien una PET valorable feta durant els 15 primers dies d'ingrés. Es va observar que els pacients que havien presentat una recurrència d'ictus isquèmic tenien més inflamació de les plaques d'ateroma respecte als que no havien tingut recurrències (mitjana de SUVmax =  $3,15 \pm 0,56$  g/ml vs. mitjana de SUVmax =  $2,55 \pm 0,53$  g/ml respectivament,  $p < 0,001$ ); (mitjana de TBRmax =  $1,84 \pm 0,48$  vs. mitjana de TBRmax =  $1,51 \pm 0,29$  respectivament,  $p < 0,001$ ). Aquesta associació es va mantenir a l'anàlisi multivariable per regressió logística utilitzant tant el SUV com el TBR màxim de la placa, inclús després d'ajustar el model pel grau d'estenosi (veure detalls a la Taula 7).

A més a més, es va realitzar una anàlisi ROC per determinar el punt de tall de SUV i TBR que millor predeia el risc de recurrència buscant la màxima especificitat amb una sensibilitat acceptable. Aquesta aproximació es va fer tenint en compte que a tots els pacients amb ictus se'ls hi inicia tractament mèdic i que el valor afegit que hauria d'aportar la PET és identificar els que més es beneficiarien d'una intervenció quirúrgica, amb els conseqüents riscos que comporta la cirurgia.

Els punts de tall seleccionats van ser:

- SUV = 3,07 (Sensibilitat 57,89% i Especificitat 82,69%)
- TBR = 1,78 (Sensibilitat 57,89% i Especificitat 82,69%)

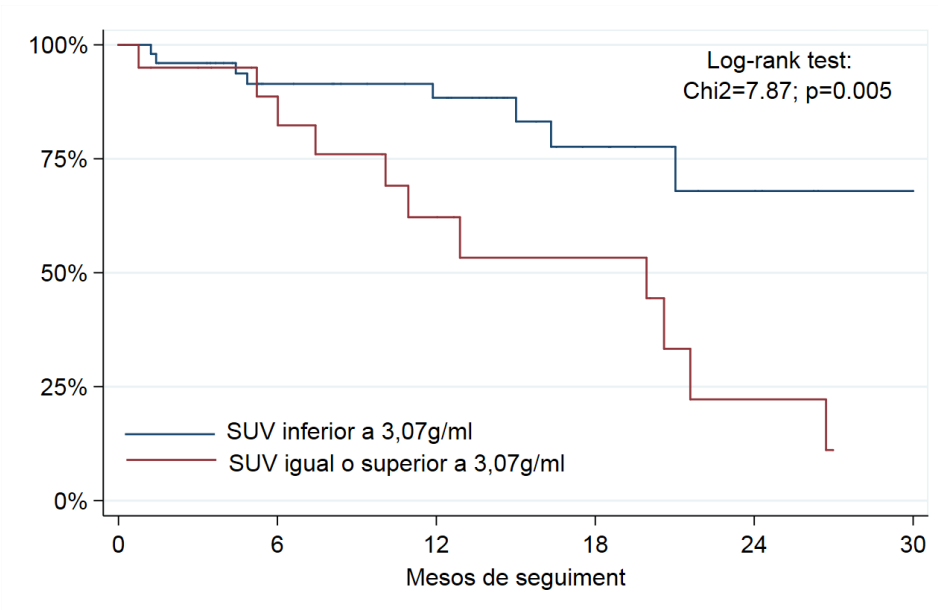
Les corbes de supervivència de Kaplan-Meier segons els punts de tall seleccionats es mostren a les Figures 14 i 15.

**Taula 7.** Predictors del risc de recurrència d'ictus isquèmic durant el seguiment

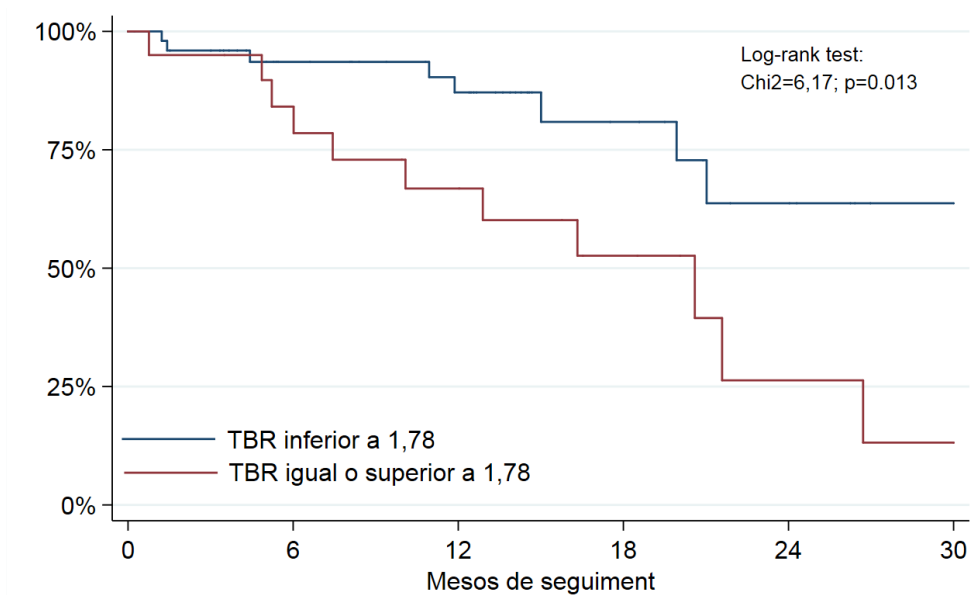
<i>Anàlisi univariàble</i>			
	Recurrència (n=24)	No Recurrència (n=67)	<i>p</i>
Edat, mitjana (DE)	74,6 (8,7)	73,8 (10,3)	0.109
Gènere (home), n (%)	17 (70,8)	52 (77,6)	0.506
Tabaquisme actiu, n (%)	5 (20,8)	14 (20,9)	0,995
Obesitat (IMC≥30), n (%)	3 (12,5)	9 (13,4)	0,908
Dieta mediterrània (PREDIMED ≥6), n (%)	21 (87,5%)	57 (86,4)	0,908
Exercici regular (PACE≥4), n (%)	8 (33,3)	30 (44,8)	0,329
Hipertensió arterial, n (%)	20 (83,3)	56 (83,6)	0,978
Diabetis, n (%)	14 (58,3)	23 (34,3)	<b>0,040</b>
Dislipèmia, n (%)	16 (66,7)	45 (67,6)	0,965
Ictus isquèmic previ, n (%)	9 (37,5)	11 (16,4)	<b>0,032</b>
Cardiopatia isquèmica, n (%)	4 (16,7)	23 (34,3)	0,104
Antiagregació prèvia, n (%)	12 (50,0)	38 (56,7)	0,570
Estatina prèvia, n (%)	17 (70,8)	35 (52,2)	0,114
Puntuació a l'escala Riskometer (risc als 5 anys), mediana (RIQ)	26,5 (16,5-43,7)	18,8 (14,3-25,3)	<b>0,008</b>
Antecedent de FA, n (%)	7 (29,2)	7 (10,5)	<b>0,029</b>
Estenosi carotídia ≥50%, n (%)	21 (87,5)	36 (53,7)	<b>0,003</b>
SUVmax (g/ml), mitjana (DE)	3,15 (0,56)	2,55 (0,53)	<b>&lt;0,001</b>
TBRmax, mitjana (DE)	1,84 (0,48)	1,51 (0,29)	<b>&lt;0,001</b>
<i>Anàlisi multivariàble mitjançant regressió logística</i>			
<b>Model 1</b>	OR	IC 95%	<i>p</i>
SUV màxim (x1 g/ml d'increment)	4,75	1,57-14,36	<b>0,006</b>
Estenosi carotídia ≥50%	6,61	1,29-33,78	<b>0,023</b>
<b>Model 2</b>			
TBR màxim (x1 d'increment)	8,09	1,48-44,08	<b>0,016</b>
Estenosi carotídia ≥50%	7,95	1,58-39,98	<b>0,012</b>

DE= Desviació Estàndard; IMC = Índex de Massa Corporal; FA = Fibril·lació Auricular





**Figura 14:** Corba de supervivència de Kaplan-Meier per a recurrències d'ictus isquèmic a la nostra cohort dividint els pacients segons presentessin un SUV màxim a la placa d'ateroma  $\geq 3,07$ g/ml o no.



**Figura 15:** Corba de supervivència de Kaplan-Meier per a recurrències d'ictus isquèmic a la nostra cohort dividint els pacients segons presentessin un TBR màxim a la placa d'ateroma  $\geq 1,78$  o no.

---

*6.6. Anàlisi conjunta amb dues cohorts independents per validar el valor pronòstic de la PET amb <sup>18</sup>FDG*

---

Un cop observada l'associació entre la inflamació de les plaques d'ateroma carotídiades mesurada mitjançant PET amb <sup>18</sup>FDG i el risc de recurrència d'ictus isquèmic a la nostra cohort, es va realitzar un estudi multicèntric per a confirmar els resultats en dues cohorts independents contemporànies anomenades BIOVASC i DUCASS. Aquest estudi es va fer en col·laboració amb la Neurovascular Clinical Science Unit del Mater University Hospital de Dublin, liderada pel professor Peter Kelly. Aquest grup va liderar un estudi prospectiu multicèntric i internacional durant els mateixos anys de reclutament de la nostra cohort (BIOVASC) i a més, havia estudiat prèviament una cohort (DUCASS) de pacients amb ictus isquèmic i aterosclerosi carotídia. Ambdós estudis s'havien fet amb una metodologia pràcticament idèntica a la nostra, fet que va permetre ajuntar les dades individuals dels pacients per a realitzar l'anàlisi i va donar lloc al primer treball presentat en aquesta tesi.

Per a l'anàlisi conjunta es va marcar com a objectiu principal estudiar l'associació entre la inflamació de les plaques d'ateroma carotídiades i el risc de recurrència als **90 dies de seguiment**. La principal variable d'exposició va ser el **SUV màxim de <sup>18</sup>FDG** detectat en els talls axials de la placa vista per PET després de coregistrar les imatges amb l'angioTC per delimitar correctament la superfície de la placa. Per tal de confirmar l'efecte predictiu independent de la PET respecte el grau d'estenosi carotídia, com a població d'estudi per a l'anàlisi conjunta es van seleccionar només els pacients amb estenosi  $\geq 50\%$  exclouent també les oclusions carotídiades.

En total, es van seleccionar 196 pacients amb estenosi carotídia  $\geq 50\%$  provinents de les tres cohorts a qui se'ls hi havia practicat una PET amb  $^{18}\text{F}$ FDG en els 15 dies després de l'ictus isquèmic. La mitjana d'edat va ser de  $71,3 \pm 9,8$  anys i el 70,9% eren homes. Del conjunt de pacients, 118 (60,2%) presentaven una estenosi moderada entre el 50 i el 69% i 78 (39,8%) tenien una estenosi  $\geq 70\%$ . Es va realitzar tractament de revascularització carotídia a 107 pacients (54,6%). En el conjunt de la població d'estudi es van registrar 37 (21,5%) recurrències d'ictus isquèmic als 90 dies. La inflamació mesurada amb el SUV màxim detectat a la placa es va associar amb el risc de recurrència d'ictus isquèmic a les tres cohorts de forma independent i de forma combinada. Els resultats d'aquesta primera anàlisi es resumeixen a la Taula 8.

**Taula 8:** Comparació de la inflamació de les plaques carotídies (SUV màxim) entre pacients que van presentar recurrències i pacients que no.

		No recurrència	Recurrència	<i>p</i>
<b>BIOVASC</b> <b>(n=109)</b>	SUV <sub>max</sub> , mitjana (DE)	2,71 (0,58)	3,22 (0,98)	<b>0,009</b>
<b>DUCASS</b> <b>(n=52)</b>	SUV <sub>max</sub> , mitjana (DE)	2,81 (0,64)	3,30 (0,76)	<b>0,040</b>
<b>Barcelona</b> <b>(n=35)</b>	SUV <sub>max</sub> , mitjana (DE)	2,67 (0,65)	3,18 (0,44)	<b>0,020</b>
<b>Combinat</b> <b>(n=196)</b>	SUV <sub>max</sub> , mitjana (DE)	2,73 (0,61)	3,23 (0,76)	<b>&lt;0,001</b>

DE = Desviació Estàndard

No es va observar heterogeneïtat entre els tres estudis (Mantel-Haenszel  $\chi^2$   $p=0,9$ ,  $I^2=0\%$ ) i es va fer l'anàlisi conjunta amb dades individuals dels pacients. Es va estudiar

l'associació entre inflamació i risc de recurrència als 90 dies mitjançant una regressió de riscos proporcionals de Cox i es va observar que cada increment de 1g/ml de SUV màxim detectat a la placa s'associava amb una **Hazard Ratio (HR) de 2,32 (IC 95% 1,53-3,52; p<0,001)**. Després d'ajustar el model final per edat, gènere, gravetat de l'estenosi carotídia, tractament antiagregant, tractament amb estatina, diabetis mellitus, hipertensió arterial i tabaquisme actiu la **HR va ser de 2,19 (IC 95% 1,41-3,39; p<0,001)**.

Donat que les tres cohorts incloïen recurrències pre i post PET, es va repetir l'anàlisi només tenint en compte les recurrències ocorregudes després de la PET i el resultat va demostrar que cada increment de 1g/ml de SUV màxim detectat a la placa s'associava amb una **HR de 4,57 (IC 95% 1,49-13,96; p=0,008)**, després d'ajustar el model final pels factors de risc descrits anteriorment.

Finalment es va repetir l'anàlisi estratificant la població entre els pacients que presentaven estenosi carotídia moderada 50-69% i els pacients amb estenosi greu  $\geq 70\%$ . En el grup d'estenosi moderada cada increment de 1g/ml de SUV màxim detectat a la placa es va associar amb una **HR ajustada de 2,70 (IC 95% 1,28-5,66; p=0,009)** i en el grup d'estenosi greu amb una **HR ajustada de 2,12 (IC 95% 1,37-3,29; p<0,001)**.

---

*6.7. Desenvolupament d'una escala de risc incloent la inflamació de les plaques d'ateroma carotídiades i el grau d'estenosi per millorar la identificació de pacients amb risc de recurrència d'ictus*

---

Després de demostrar l'associació entre la inflamació de les plaques d'ateroma carotídiades mesurada mitjançant PET amb  $^{18}\text{F}$ FDG i el risc de recurrència d'ictus isquèmic, es va plantejar el desenvolupament d'una escala de risc que combinés la inflamació i el grau d'estenosi carotídiada, per tal d'estudiar la implicació clínica que podria tenir la inflamació com a nou marcador de vulnerabilitat.

Per complir aquest objectiu es van agafar els mateixos pacients inclosos en l'anàlisi conjunta del primer treball i es van dividir en dos grups: la cohort de derivació (pacients inclosos a l'estudi BIOVASC) i la cohort de validació (pacients dels estudis DUCASS i Barcelona Plaque Study). En primer lloc, es va realitzar un estudi de regressió de riscos proporcionals de Cox amb la cohort de derivació per identificar les variables associades de forma independent amb el risc de recurrència d'ictus isquèmic als 90 dies de seguiment. En segon lloc, es va construir una escala de risc basada en les HR observades en el model de regressió i es va observar la relació entre l'escala de risc estratificada per categories i el risc de recurrència mitjançant una anàlisi ROC. Finalment, es va estudiar la validació externa de l'escala de risc repetint l'anàlisi amb la cohort independent de validació.

El model de regressió de riscos proporcionals de Cox a la cohort de derivació va posar de manifest que les dues úniques variables associades de forma independent amb el risc de recurrència als 90 dies de seguiment eren la inflamació de les plaques i el grau d'estenosi. Basant-nos en aquests resultats es va construir una escala de risc amb dues categories que es va anomenar *Symptomatic Carotid Atherosclerosis*

*Inflammation/Lumen (SCAIL) score* i que presentava un rang de puntuació entre 0 i 5 (veure Taula 9).

**Taula 9:** Puntuació de les dues categories incloses al *SCAIL score*, construïda a partir dels resultats de l'anàlisi de regressió de Cox a la cohort de derivació

Categoria SCAIL	Mesura	Puntuació SCAIL
SUV <sub>max</sub> (g/ml)	<2	0
	2 - 2,99	1
	3 - 3,99	2
	≥4	3
Grau d'estenosi (%)	<50	0
	50 - 69	1
	≥70	2

SUV = Standardized Uptake Value

A la cohort de derivació cap pacient amb una puntuació SCAIL de 0 o 1 va presentar recurrències mentre que tots els pacients amb una puntuació de 5 van presentar almenys una recurrència d'ictus isquèmic. En l'anàlisi per regressió de Cox es va observar que un increment d'un punt a l'escala SCAIL s'associava a una **HR de 2,4 (IC 95% 1,20-4,50, p=0,010)**, després d'ajustar per edat, gènere, hipertensió arterial, diabetis mellitus, tabaquisme actiu i tractament previ amb antiagregació i/o estatines.

De la mateixa manera es va observar que el poder predictiu de l'escala SCAIL es mantenia a la cohort de validació amb una **HR per cada increment d'un punt de 2,9 (IC 95% 1,90-5,00, p<0,001)**.

Finalment, en no haver-hi heterogeneïtat entre estudis es va estudiar la capacitat predictiva de l'escala SCAIL ajuntant les tres cohorts (n=196) i es va observar que

puntuacions de baix risc (0, 1) s'associaven amb un risc de recurrència del 0% (IC 95% 0 - 18,5%) mentre que en puntuacions de risc moderat (2, 3) era del 18% (IC 95% 11,7 - 25,7%) i en puntuacions d'alt risc (4, 5) era del 51,9% (IC 95% 32 - 71,3%). A l'anàlisi ROC es va observar que una puntuació  $\geq 4$  tenia un 90% d'especificitat per predir pacients que tindrien una recurrència precoç. A més, es va observar que la capacitat predictiva de l'escala SCAIL per recurrències post-PET assolía una AUC de 0,82 en comparació al grau d'estenosi que de forma aïllada presentava una AUC de 0,63.

L'associació entre la puntuació a l'escala SCAIL i el risc de recurrència es va mantenir en les anàlisis secundàries que es van fer en el segon treball presentat en aquesta tesi: només agafant recurrències ocorregudes després de la realització de la PET i tenint en compte només la població considerada de risc moderat (estenosis <70%).

---

*6.8. Associació entre la neovascularització de les plaques carotídiess mesurada mitjançant CEUS i risc de recurrència d'ictus isquèmic*

---

En el tercer treball es va estudiar si la neovascularització de les plaques d'ateroma carotídiess detectada mitjançant CEUS estava associada també amb el risc de recurrència d'ictus isquèmic durant el seguiment. A diferència dels dos treballs anteriors, per a aquest tercer treball es va comptar només amb les dades de la cohort de Barcelona.

Del conjunt de pacients inclosos a l'estudi, es van poder analitzar 78 estudis CEUS. En aquest grup hi havia 29 pacients (37,2%) amb estenosis <50%, 12 (15,4%) amb estenosis entre el 50 i el 69%, 28 (35,8%) amb estenosis entre el 70 i el 99% i nou (11,5%) amb oclusió de la caròtida. Una primera observació important va ser que dels

78 estudis, només 50 (64,1%) eren vàlids per a la valoració de la neovascularització, principalment a causa de les ombres càlciques que presentaven algunes de les plaques.

Es van registrar 10 recurrències d'ictus isquèmic (20%) en el subgrup de 50 pacients amb CEUS valorable amb una mediana de seguiment de 14,1 mesos (RIQ 9,5-19,6). Totes les recurrències van succeir en el mateix hemisferi que l'ictus previ. Set recurrències van ocórrer en el grup de pacients amb una estenosi  $\geq 70\%$  (quatre de les quals van passar abans que es pogués fer un tractament de revascularització ja indicat), dos en pacients amb una estenosi 50-69% i només una en un pacient amb una estenosi  $< 50\%$ .

Per graus de neovascularització, el risc de recurrència va ser del 0% en pacients amb grau 0 (absència de neovascularització), 20,0% en pacients amb grau 1 (neovasos presents prop de l'adventícia o en els extrems de la placa) i 33,3% en pacients amb grau 2 (neovascularització difusa a tota la placa).

En l'anàlisi multivariable mitjançant regressió de riscos proporcionals de Cox la neovascularització de les plaques d'ateroma carotídies va ser l'única variable associada de forma independent al risc de presentar una recurrència d'ictus isquèmic durant el seguiment. Aquesta associació es va mantenir fins i tot després d'ajustar pel grau d'estenosi i tant mesurant la neovascularització de forma quantitativa mitjançant la mitjana de decibels de les corbes temps-intensitat com de forma categòrica mitjançant graus de neovascularització.

Els resultats dels models finals de l'anàlisi multivariable es presenten a la Taula 10.



**Taula 10:** Anàlisi multivariable mitjançant regressió de Cox de predictors de recurrència d'ictus isquèmic ajustat pel grau d'estenosi carotídia.

<i>Model 1 (neovascularització mesurada per categories)</i>			
	<b>HR</b>	<b>IC 95%</b>	<b>p</b>
Neovascularització difusa (grau 2)	6,57	1,66 - 26,01	0,007
Estenosi $\geq 70\%$	2,60	0,66 - 10,25	0,172
<i>Model 2 (neovascularització mesurada quantitativament per corbes intensitat-temps)</i>			
	<b>HR</b>	<b>IC 95%</b>	<b>p</b>
Mitjana de decibels (x1 dB d'increment)	1,03	1,01 - 1,06	0,018
Estenosi $\geq 70\%$	3,36	0,82 - 13,72	0,092

HR = Hazard Ratio; IC = Interval de Confiança; dB = Decibel

### *6.9. Associació entre la inflamació de les plaques d'ateroma carotídiès i la presència de neovascularització al seu interior*

Finalment, donat que el fenomen de neovascularització de les plaques està molt lligat a la presència d'inflamació, es va analitzar si els dos marcadors estudiats (el CEUS i la PET) estaven relacionats entre sí. Per fer aquesta última anàlisi es va partir de la mostra de 50 pacients que tenien un CEUS valorable per a l'estudi de neovascularització i es va comprovar que tots tenien una PET de caròtides amb  $^{18}\text{FDG}$  feta amb una diferència de menys de 15 dies entre les dues proves. En aquesta última part de l'estudi, per fer l'anàlisi estadística, es va utilitzar una prova no paramètrica per a la comparació univariable (suma de rangs de Wilcoxon) ja que la distribució dels valors SUV i TBR es desviava lleugerament de la normalitat quan només s'agafaven aquests 50 pacients. Per

a l'anàlisi multivariable es va realitzar una transformació logarítmica de les variables SUV i TBR per aproximar-se a la normalitat.

En primer lloc es va observar que els pacients que presentaven neovascularització a l'interior de la placa tenien valors més elevats tant de SUV (mediana de SUV=2,74 [RIQ 2,39-3,27] vs. mediana de SUV=2,39 [RIQ 2,21-2,47]; p=0,006) com de TBR (mediana de TBR=1,56 [RIQ 1,31-1,88] vs. mediana de TBR=1,38[RIQ 1,27-1,70]; p=0,117), malgrat només amb SUV la diferència era estadísticament significativa.

En segon lloc es va fer una anàlisi multivariable per veure si aquesta associació entre la presència de neovascularització i el SUV màxim de la placa era independent d'altres variables que s'havien associat al risc d'inflamació com l'obesitat o el grau d'estenosi carotídia (veure Taules 4 i 5). Els resultats es presenten a la Taula 11.

**Taula 11.** Anàlisi multivariable per regressió lineal de les variables associades amb els nivells d'inflamació (SUV màxim) de les plaques d'ateroma incloent la presència/absència de neovascularització.

<i>Model 1</i>	Coeficient Beta	IC 95%	Coef. Beta estandarditzat	p
Presència de neovascularització	0,060	0,014- 0,106	0,324	<b>0,011</b>
Obesitat (IMC≥30)	0,092	0,032-0,152	0,375	<b>0,003</b>
Estenosi carotídia ≥50%	0,035	-0,078-0,078	0,204	0,106
<i>Model 2</i>				
Presència de neovascularització	0,057	0,010- 0,103	0,295	<b>0,018</b>
Perímetre abdominal (cm)	0,004	0,002- 0,007	0,510	<b>&lt;0,001</b>
Estenosi carotídia ≥50%	0,038	-0,004- 0,081	0,216	0,077

\*Es van realitzar dos models diferents per evitar la col·linealitat existent entre les variables obesitat i perímetre abdominal.

Finalment, es van classificar els pacients segons presentaven valors de SUV  $\geq 3,07$ g/ml o no (punt de tall que en la nostra cohort predeia amb un 82,7% d'especificitat el risc de recurrència d'ictus isquèmic) i es va observar que 13 pacients (26% de la mostra) presentaven plaques inflamades per sobre aquest llindar. En comparar els dos grups es va observar que 12 (92,3%) pacients presentaven neovascularització vs. només un (7,7%) en què no s'havien detectat neovasos ( $p=0,041$ ). Es va realitzar una anàlisi ROC per veure la capacitat predictiva de la neovascularització i es va observar que detectar neovasos amb el CEUS tenia una sensibilitat del 92,3% per predir la presència d'inflamació greu (SUV  $\geq 3,07$ g/ml) a les plaques d'ateroma carotídiades a expenses d'una baixa especificitat de només el 37,8% i d'una AUC relativament petita de 0,65.

---

## 7. Resum global de la discussió

---



En aquesta tesi doctoral hem estudiat el valor pronòstic de dos nous marcadors d'imatge que permeten valorar la vulnerabilitat de les plaques d'ateroma carotídiades *in vivo*, en una cohort prospectiva de pacients amb un ictus isquèmic recent i aterosclerosi carotídia. El principal resultat del treball és que tant la inflamació de les plaques mesurada mitjançant PET amb  $^{18}\text{F}$ FDG com la neovascularització detectada mitjançant CEUS, s'associen de forma independent al risc de recurrència d'ictus isquèmic. A més, el nostre treball proposa una nova escala pronòstica que utilitza la informació derivada de la inflamació i el grau d'estenosi carotídia per identificar de forma més precisa quins pacients tenen més risc de recurrència a la pràctica clínica. Finalment, el nostre estudi també aporta coneixement sobre quines variables expliquen el fenomen de la inflamació i la neovascularització de l'aterosclerosi carotídia.

---

*7.1. Inflamació carotídia mesurada mitjançant PET amb  $^{18}\text{F}$ FDG i risc de recurrència d'ictus isquèmic*

---

La inflamació contribueix de manera significativa a la progressió i al risc de ruptura de l'aterosclerosi. Diversos estudis han demostrat que marcadors plasmàtics proinflamatoris com la PCR o polimorfismes genètics relacionats amb la inflamació s'associen amb la progressió de les malalties vasculars relacionades amb l'aterosclerosi (54,80–82). Fins fa pocs anys, la informació que es tenia sobre l'associació entre la inflamació i el risc vascular tenia un caràcter essencialment retrospectiu (83). No obstant, la publicació l'any 2017 de l'assaig clínic CANTOS (58), en el qual es va demostrar el benefici del bloqueig de la interleucina-1 $\beta$  en malalts amb malaltia coronària i nivells elevats de PCR, va suposar una primera demostració important

d'aquesta associació en un assaig clínic i a més, va obrir la porta a canviar l'enfoc terapèutic que s'ha fet clàssicament de les malalties vasculars. Més recentment, la publicació de l'assaig clínic COLCOT (84), en el qual s'ha vist que en pacients amb una síndrome coronària aguda recent el tractament amb dosis baixes de colquicina aconsegueix reduir de forma significativa l'aparició de noves síndromes vasculars durant el seguiment (entre les quals l'ictus isquèmic), aporta encara més evidència que el tractament immunomodulador en alguns pacients podria tenir un efecte beneficiós en la prevenció de les malalties vasculars. Actualment està en marxa l'assaig clínic CONVINCE en el que es pretén estudiar l'efecte preventiu de la colquicina afegida al tractament antitrombòtic específicament en pacients que han patit un ictus isquèmic (59). Els nostres resultats, malgrat ser un estudi observacional, van en la mateixa línia i contribueixen encara més a recolzar la hipòtesi que la inflamació juga un paper determinant en el pronòstic de les malalties vasculars relacionades amb l'ateroesclerosi.

La captació de  $^{18}\text{F}$ FDG que s'observa a les plaques d'ateroma de les caròtides mitjançant la PET, correlaciona bé amb la densitat de macròfags observada posteriorment en l'anàlisi histopatològica en models animals i en plaques humanes extretes quirúrgicament (85–87). Una major captació de  $^{18}\text{F}$ FDG a la PET s'ha associat amb marcadors coneguts d'inflamació i vulnerabilitat de les plaques d'ateroma carotídiades com són els nivells de citocines proinflamatòries circulants, la detecció de microembòlies mitjançant Doppler transcranial o característiques morfològiques d'inestabilitat de les plaques (88–91). En estudis retrospectius de pacients a qui se'ls hi va practicar una PET amb  $^{18}\text{F}$ FDG per a estudi de càncer, la captació aòrtica de  $^{18}\text{F}$ FDG es va relacionar amb el risc de síndromes vasculars durant el seguiment de forma independent als factors de risc vascular coneguts (92,93). No obstant, fins ara era molt poca l'evidència publicada sobre l'associació entre la captació de  $^{18}\text{F}$ FDG i el risc de recurrència precoç d'ictus isquèmic en

pacients amb estenosi carotídia. Per aquest motiu, els resultats presentats en la primera part del nostre treball són innovadors i importants des de diversos punts de vista.

En primer lloc, confirmen els resultats de l'únic estudi pilot publicat fins ara que havia apuntat al potencial paper de la PET amb  $^{18}\text{F}$ FDG a l'hora d'identificar pacients amb ictus isquèmic i estenosi carotídia  $\geq 50\%$  que presenten un alt risc de recurrència (64). El nostre estudi confirma els resultats publicats amb el valor afegit d'haver-ho fet de forma independent en tres cohorts diferents i després d'una anàlisi conjunta que ha aconseguit agrupar una població de 196 pacients amb PET de carotídia. Aquest augment de la mostra ha permès realitzar models de regressió multivariables ajustats per múltiples factors de risc vascular coneguts, per evitar confusió. A més, segons les anàlisis ROC s'han pogut establir alguns punts de tall que permeten predir amb relativa bona sensibilitat i especificitat els pacients que patiran una recurrència durant el seguiment. Aquesta anàlisi es va realitzar a la cohort conjunta i també específicament a la nostra cohort de Barcelona per separat. De fet a la nostra cohort vam establir dos punts de tall amb una sensibilitat propera al 60%, però que destacaven sobretot per tenir una especificitat del 82,7%: un SUV màxim  $\geq 3,07\text{g/ml}$  i un TBR màxim  $\geq 1,78$ . Aquesta aproximació es va fer tenint en compte que a tots els pacients amb ictus se'ls hi inicia tractament mèdic i que el valor afegit que hauria d'aportar la PET és identificar els que més es beneficiaran d'una intervenció quirúrgica, amb els conseqüents riscos que comporta la cirurgia.

En segon lloc, per primera vegada hem demostrat que la captació de  $^{18}\text{F}$ FDG s'associa de manera independent amb el risc de recurrència d'ictus isquèmic després de la PET (sense tenir en compte les recurrències prèvies a la realització de la prova). Aquesta observació és important, perquè apunta a que la inflamació mesurada en el moment de la PET està relacionada amb un estat d'inestabilitat de la placa, més que no pas amb



l'estat inflamatori que es genera després d'un ictus isquèmic (94). A més, augmenta clarament el potencial valor pronòstic de la PET de caròtida a la pràctica clínica habitual.

En tercer lloc, cal destacar que en el nostre treball l'associació entre la captació de <sup>18</sup>F<sup>18</sup>FDG al PET i el risc de recurrència es manté també en el subgrup de pacients amb una estenosi carotídia moderada (50-69%). Això és rellevant perquè en aquest grup de pacients l'eficàcia del tractament de revascularització de la caròtida demostrada en els assaigs clínics va ser clarament inferior a les estenosis de més del 70% (23). De fet, les guies de prevenció secundària actuals de l'ictus recomanen seleccionar acuradament els pacients amb més risc de recurrència de cara a plantejar la revascularització en estenosis moderades (35). En aquest sentit, la PET amb <sup>18</sup>F<sup>18</sup>FDG podria ajudar a identificar els pacients amb més alt risc de recurrència dins d'aquest grup i per tant, ajudaria a identificar millor els pacients que es beneficien de revascularització carotídia.

Finalment, aquesta primera part del nostre estudi és important perquè aporta nova informació relacionada amb el paper desestabilitzador de la inflamació en l'ateroesclerosi. Malgrat el nostre estudi no estableix clarament una relació causal, sí que recolza la hipòtesi que la inflamació de les plaques és un factor clau en el procés de ruptura d'una placa i per tant en el desencadenament d'una síndrome vascular.

---

## *7.2. Desenvolupament d'una escala de risc d'ictus isquèmic incorporant la informació de la PET amb <sup>18</sup>FDG*

---

Un altre punt a destacar del nostre estudi és el desenvolupament d'una escala de risc de recurrència d'ictus isquèmic en pacients amb estenosi carotídia que incorpora la informació de la PET amb <sup>18</sup>FDG. En base als resultats obtinguts en el primer treball, vam construir una escala de risc senzilla anomenada SCAIL que inclou els dos ítems que en la nostra cohort més s'associaven al risc de recurrència d'ictus: la inflamació de la placa (SUV màxim) i el grau d'estenosi carotídia. El desenvolupament d'aquesta escala és important per diversos motius.

En primer lloc, hem observat que en incorporar la informació derivada de la inflamació de la placa juntament al grau d'estenosi carotídia, en una única escala de risc, aconseguim identificar els pacients amb més alt risc de recurrència d'ictus. És la primera vegada que una escala de risc vascular incorpora informació relacionada amb un procés fisiopatològic com és la inflamació. Fins ara, l'estratificació del risc de recurrència en aterosclerosi carotídia sempre s'havia fet per criteris morfològics.

En segon lloc, en categoritzar l'escala SCAIL en baix risc (0, 1), risc moderat (2, 3) i alt risc (4, 5), vam observar que el poder de discriminació dels pacients amb risc de recurrència precoç era bo i que en els casos amb puntuacions més  $\geq 4$ , l'especificitat arribava fins al 90% a l'hora de predir una recurrència d'ictus isquèmic. Això és rellevant ja que la revascularització carotídia és un procediment complex amb un alt risc de complicacions i per tant, és important disposar de marcadors molt específics a la pràctica clínica que ens identifiquin inequívocament aquells pacients de més risc als quals val la pena sotmetre a la intervenció.

També cal destacar que el valor predictiu de l'escala SCAIL en el nostre estudi es va mantenir tant per les recurrències totals (pre i post PET), com quan només vam tenir en compte les recurrències posteriors a la realització de la prova. Demostrar això era important de cara a contemplar el valor pronòstic que podria tenir la PET de caròtida a la pràctica clínica habitual. Cal subratllar que els resultats van ser consistents en analitzar només les recurrències prèvies als tractaments de revascularització. És una observació important, ja que ens indica que els nostres resultats no estaven influenciats o emmascarats pels ictus peri-procediment.

Finalment, d'aquest segon treball cal destacar que l'escala SCAIL aconsegueix identificar pacients amb alt risc de recurrència dins del grup de pacients amb estenosi carotídia moderada (50-69%). Com s'ha comentat abans, això és especialment rellevant ja que en aquest grup l'eficàcia demostrada dels tractaments de revascularització és inferior i per tant, la incorporació de la PET en la valoració pronòstica podria ajudar a identificar els pacients amb més risc de recurrència.

De fet, les estenosis moderades no són l'únic subgrup de pacients en què el benefici de la revascularització va ser menys evident en els assaigs clínics. Tampoc estar igual de ben establert en amaurosis monoculars, pacients joves de menys de 65 anys, en dones o pacients en què la cronologia dels símptomes supera els 15 dies (22,23). Per això en aquests grups les guies de prevenció secundària recomanen seleccionar els pacients amb més risc abans de plantejar la revascularització i l'escala SCAIL podria contribuir en aquesta selecció. Desafortunadament, en el nostre estudi no vam tenir suficient mostra per analitzar aquests subgrups per separat i serà necessari dissenyar nous estudis per comprovar el potencial predictiu de l'escala en aquests pacients.

---

### 7.3. Neovascularització de les plaques d'ateroma carotídiades detectada mitjançant CEUS i risc de recurrència d'ictus isquèmic.

---

La neovascularització és un altre dels factors clau en la desestabilització de les plaques d'ateroma carotídiades (25). La formació de nous vasos des de l'adventícia està estretament relacionada amb la inflamació i amb la secreció de citocines angiogèniques per part de les cèl·lules inflamatòries de la placa (95). De fet, un estudi previ va demostrar una estreta relació entre la detecció de neovascularització a les plaques i la captació de <sup>18</sup>FDG a la PET (96). El CEUS permet la detecció d'aquesta neovascularització *in vivo*, però fins ara, el significat clínic de la seva detecció a l'interior de les plaques carotídiades era incert. Fins fa poc temps, el potencial ús de la neovascularització detectada mitjançant CEUS com a marcador d'instabilitat es basava només en estudis retrospectius i amb pocs pacients (68,70). En aquest context, el nostre treball aporta nova informació sobre la relació entre la neovascularització detectada amb CEUS i el risc de recurrència d'ictus isquèmic en pacients amb ateroesclosi carotídia.

Per una banda, el nostre estudi confirma els resultats de fins ara l'únic estudi pilot que havia investigat de manera prospectiva el valor pronòstic del CEUS en una cohort de pacients amb ictus isquèmic recent (73). Els nostres resultats van en la mateixa direcció i aporten informació molt rellevant en realitzar una anàlisi multivariable mitjançant regressió de riscos proporcionals de Cox i ajustant el model final pel grau d'estenosi, cosa que no s'havia fet en l'estudi pilot.

En segon lloc, hem observat que la neovascularització detectada mitjançant CEUS aporta informació pronòstica de manera independent i complementària al grau d'estenosi. Per tant, el CEUS podria ajudar en un futur a la classificació dels ictus isquèmics identificant aquelles plaques vulnerables probablement implicades en el

mecanisme de l'ictus. Això és important perquè les dues classificacions etiològiques de l'ictus que s'utilitzen actualment (7,10), classifiquen els ictus com a indeterminats tant quan les plaques carotídies presenten una estenosi <50% o quan hi ha una estenosi  $\geq$ 50% i una altra etiologia concomitant. No obstant, cada cop hi ha més evidència que plaques amb estenosi <50% poden ser altament inestables i ser la causa d'un ictus isquèmic a partir d'embolismes arterio-arterials (36,97–99). En el nostre estudi, malgrat la detecció de neovascularització va ser més freqüent en plaques amb estenosis  $\geq$ 50%, també es van detectar neovasos en plaques <50%. Presumiblement, aquestes plaques eren vulnerables i podrien haver contribuït al mecanisme patogènic de l'ictus en absència d'una etiologia alternativa.

En tercer lloc, els nostres resultats suposen una prova de concepte de que la neovascularització de les plaques és un factor de risc d'ictus isquèmic en pacients amb aterosclerosi carotídia. Si sumem aquesta observació amb la informació comentada en la primera part del treball, i tenint en compte l'estreta relació que guarden ambdós fenòmens, podem afirmar que el continu inflamació-neovascularització és crític per la vulnerabilitat de les plaques d'ateroma carotídies i suggereix possibles noves dianes terapèutiques. És probable que antagonitzar determinats passos del procés inflamació-neovascularització pugui tenir importants beneficis en la prevenció de noves síndromes vasculars en determinats pacients, com ja s'ha comentat anteriorment.

Finalment, el nostre estudi aporta informació important sobre la possible utilitat del CEUS a la pràctica clínica per detectar neovascularització. Actualment, aquesta no és l'única tècnica que permet detectar aquest fenomen a les plaques carotídies i n'hi ha d'altres, com la RM d'alta resolució amb gadolini, que també permeten la seva detecció (100). No obstant, el CEUS presenta algunes avantatges importants com el seu cost reduït, l'alta disponibilitat d'aparells d'ecografia a la majoria de centres hospitalaris i la

rapidesa de la prova. Malgrat tot, el nostre estudi posa de manifest una limitació intrínseca de la prova que és molt rellevant: l'alta sensibilitat a les ombres acústiques provocades pel calci. Tot i ser una limitació coneguda (74), en el nostre estudi hem observat que un de cada quatre CEUS no és valorable a causa d'aquest fenomen. Això inevitablement situa el CEUS com una eina diagnòstica útil per valorar la neovascularització però només en plaques carotídies no massa calcificades.

---

#### *7.4. Factors de risc i altres variables associades amb la inflamació i la neovascularització de les plaques*

---

En aquesta tesi doctoral, un dels objectius secundaris era la recollida sistematitzada de factors de risc vascular i altres antecedents dels pacients inclosos a la cohort, així com de les seves variables morfomètriques i hàbits de vida, per tal de veure quins factors s'associaven amb els dos fenòmens estudiats: la inflamació i la neovascularització de les plaques d'ateroma.

Pel que fa a la inflamació de les plaques mesurada mitjançant PET amb  $^{18}\text{F}$ FDG vam observar que tant l'obesitat com tenir un major grau d'estenosi carotídia s'associaven de forma independent amb el SUV màxim detectat en la PET. És ben conegut que l'obesitat és un factor de risc vascular fortament associat amb l'ateroesclerosi (101). L'obesitat genera un estat proinflamatori a tot l'organisme que pot afectar directament a les plaques d'ateroma (102). De fet l'ateroesclerosi i l'obesitat comparteixen importants vies metabòliques relacionades amb la inflamació (101,103). Això explicaria l'associació observada en el nostre estudi. La importància d'aquesta observació té bàsicament dues vessants. Per una banda suposa una prova de concepte que l'estat proinflamatori de

l'obesitat afecta directament la vulnerabilitat de les plaques d'ateroma carotídies. Per altra banda, l'obesitat és un factor de risc modificable en la majoria dels casos i per tant, la pèrdua de pes podria ser una potencial diana terapèutica per contrarestar el fenomen de la inflamació de l'ateroesclerosi.

El grau d'estenosi de les plaques d'ateroma carotídies també es va associar de forma independent al risc de presentar una major inflamació. Les plaques que presentaven una estenosi  $\geq 50\%$  presentaven valors més elevats de SUV que les plaques amb estenosi  $< 50\%$ . L'ateroesclerosi és un procés dinàmic que passa per múltiples fases, però el fenomen que més contribueix al creixement d'una placa és la inflamació (48,104). Les cèl·lules inflamatòries, majoritàriament macròfags, s'acumulen a les plaques amb l'objectiu d'eliminar la LDL de l'espai extracel·lular. A la vegada, com a conseqüència d'aquesta inflamació, existeix una proliferació de fibroblasts i cèl·lules musculars llises a l'interior de la placa (52,105). Tot aquest augment de cèl·lules es tradueix en un augment important del metabolisme glucídic i per tant, en el context d'una PET, en una major captació de  $^{18}\text{F}$ FDG. Per tot plegat, l'observació del nostre estudi queda justificada tenint en compte que la progressiva acumulació de cèl·lules inflamatòries contribueix al creixement de l'estenosi de la placa a la vegada que explica una major captació de  $^{18}\text{F}$ FDG a la PET. Malgrat aquesta és una observació lògica i que de forma general les plaques amb més estenosi presenten major inflamació, és important remarcar que algunes plaques  $< 50\%$  presentaven valors de SUV màxim igual o major a plaques crítiques amb estenosi  $\geq 70\%$ . Tot i ser una excepció, aquesta observació apunta a que és possible trobar plaques  $< 50\%$  altament vulnerables, que en absència d'una altra etiologia, podrien ser la causa de l'ictus.

Pel que fa a la neovascularització detectada mitjançant CEUS, van ser també dues les variables que van mostrar una associació estadísticament significativa amb el risc de

presentar neovasos a l'interior de les plaques: l'aspecte hipoecoic de la placa a l'ecografia i el tractament previ amb estatines. L'aspecte hipoecoic és un conegut factor de vulnerabilitat de les plaques d'ateroma carotídiies, ja que es relaciona amb l'acumulació de cèl·lules inflamatòries i/o amb la presència d'hemorràgies a l'interior de les plaques (106,107). Tant l'acumulació de cèl·lules com les hemorràgies intraplaca suposen una acumulació de molècules d'aigua al seu interior, que és el que acaba conferint l'aspecte hipoecoic quan s'explora la placa amb ecografia. Aquests dos fenòmens estan relacionats amb la neovascularització des de dos punts de vista. Per una banda l'acumulació de cèl·lules inflamatòries condueix a la secreció de citocines angiogèniques que són la causa del creixement de neovasos des de l'adventícia. Per altra banda, les hemorràgies intraplaca són una conseqüència directa de la fràgil estructura dels neovasos (108). Per tant, és plausible pensar que les plaques més hipoecoiques tindran més freqüentment presència de neovascularització quan les explorem amb CEUS.

Finalment, en el nostre estudi l'ús previ d'estatines es va associar de manera independent al risc de presentar neovascularització al CEUS en un sentit protector. De fet en fer l'anàlisi multivariable mitjançant regressió logística va ser l'única variable que va mostrar una associació independent en el model final. Una possible explicació d'aquest fenomen seria que les estatines en baixar la LDL circulant disminueix la quantitat de LDL que arriba a les plaques i per tant de manera indirecta redueix la inflamació (a menor concentració de LDL a la placa menor reclutament de cèl·lules inflamatòries) (109). No obstant, una altra possible explicació és que les estatines tenen un efecte pleotròpic i redueixen l'estat inflamatori actuant sobre diversos receptors com els *toll-like receptors* (110). D'aquesta manera les estatines tindrien un efecte antiinflamatori que justificaria aquesta troballa en el nostre estudi.



---

### *7.5. Possible ús complementari d'ambdues tècniques*

---

Finalment, en el nostre estudi hem demostrat que els dos marcadors de vulnerabilitat estudiats (la PET i el CEUS) estan relacionats. Hem observat que les plaques d'ateroma carotídiess que presenten neovascularització al seu interior detectada mitjançant CEUS, presenten també més inflamació a la PET amb  $^{18}\text{F}$ FDG. Aquesta observació és important per una banda, perquè és una prova de concepte sobre l'associació que han apuntat diversos estudis previs entre la inflamació i el fenomen de neovascularització a l'ateroesclerosi. Per altra banda, perquè dóna una idea sobre l'ús complementari que es podria fer d'ambdues tècniques a la pràctica clínica diària, per salvar les limitacions que presenta cada una.

La PET amb  $^{18}\text{F}$ FDG presenta algunes avantatges evidents respecte el CEUS. En primer lloc, l'adquisició dels valors SUV i TBR no es veuen alterats per la presència de calci a la placa. En segon lloc, permet detectar i mesurar la inflamació de múltiples plaques d'ateroma al mateix temps, tant en els eixos carotidis com en altres localitzacions com l'aorta o les artèries subclàvies, que són inaccessibles al dúplex. En tercer lloc, l'adquisició de les imatges no és operador dependent i la lectura dels valors SUV i TBR es pot fer automatitzada mitjançant els programes informàtics de lectura d'imatges. No obstant, la prova en sí presenta quatre grans limitacions que cal tenir en compte: 1) La primera i més important és el seu preu. Actualment, tenint en compte el radiofàrmac ( $^{18}\text{F}$ FDG), el temps d'ús de la màquina PET, el personal tècnic necessari per fer la prova i el temps que requereix l'anàlisi de les imatges, fa que el preu per prova ascendeixi a gairebé 1000€ per PET; 2) La seva disponibilitat és limitada. No tots els centres hospitalaris disposen de Servei de Medicina Nuclear i a més l'anàlisi de la inflamació de les caròtides requereix certa expertesa perquè cal conèixer bé l'anatomia a l'hora de

fusionar les imatges TC amb les del PET i evitar incloure en el ROI estructures veïnes a la caròtida que tenen captació de  $^{18}\text{F}$ FDG com per exemple la musculatura cervical; 3) La durada de la prova és llarga. Si sumem la preparació del pacient, l'administració del radiofàrmac, l'espera perquè el traçador es distribueixi per tot el cos i l'adquisició de la imatge, el temps oscil·la entre els 90 i els 120 minuts per prova; 4) La PET utilitza radiació ionitzant. Malgrat l'exposició en sieverts (Sv) és similar a la d'una TC abdominal, es fa difícil imaginar el seu ús per monitoritzar l'estat inflamatori de les plaques d'ateroma, perquè això suposaria fer PETs de control i sotmetre els pacients a radiació cada vegada.

Per la seva banda el CEUS presenta algunes avantatges importants que contraresten les limitacions de la PET. En primer lloc el seu preu és molt més reduït i la seva disponibilitat molt més àmplia, donat que a la majoria de centres hospitalaris es disposa d'aparells per a realitzar dúplex de troncs supraaòrtics. A més, la durada de la prova és curta (aproximadament 15 minuts tenint en compte l'exploració en mode B, en color i finalment amb contrast) i no utilitza radiació ionitzant. Malauradament, com s'ha comentat anteriorment, la tècnica és molt susceptible a les ombres càlciques i en el nostre estudi una de cada quatre exploracions no va ser valorable per aquest motiu. A més, la tècnica és operador-depenent i requereix certa expertesa a l'hora d'interpretar les imatges (malgrat en el nostre estudi el coeficient Kappa entre avaluadors va ser bo). També cal tenir en compte que el contrast ultrasonogràfic està contraindicat en casos de malaltia coronària o vascular cerebral inestable. Per tant, s'hauria d'evitar el seu ús en casos de pacients amb ictus isquèmic agut i símptomes fluctuants o progressius. Finalment, cal destacar que a diferència de la PET que vam poder demostrar la seva capacitat per a predir recurrències en tres cohorts de manera independent i que es va poder validar la seva capacitat predictiva en un número elevat de pacients, l'associació

entre la neovascularització detectada mitjançant CEUS i el risc de recurrència s'ha estudiat en una mostra més reduïda de pacients.

Tenint en compte els pros i contres de cada tècnica, una opció seria utilitzar els dos marcadors de forma complementària. Donat que el dúplex s'utilitza ja actualment de forma rutinària per fer el cribratge d'estenosis carotídiies, aquesta hauria de ser la primera prova a realitzar. En situacions clíniques controvertides (com per exemple en el cas d'una dona amb una estenosi moderada o una amaurosi fugaç monocular), després de l'estudi en mode B i en color, es procediria a la realització del CEUS per determinar la presència o no de neovascularització a l'interior de la placa. Com hem vist en el nostre estudi, la presència de neovascularització és un marcador poc específic, però molt sensible a l'hora de predir quines plaques estan més inflamades. Per tant, el CEUS ens podria servir per fer un cribratge inicial en casos controvertits i només en casos no valorables o que presenten neovascularització, es valoraria la realització d'una PET de caròtides amb  $^{18}\text{F}$ FDG. No obstant, abans d'aplicar-se a la pràctica clínica aquest enfoc diagnòstic, caldria demostrar la seva utilitat en futurs estudis prospectius.

---

### *7.6. Limitacions de l'estudi*

---

L'estudi presentat en aquesta tesi doctoral té algunes limitacions que cal mencionar. En primer lloc, la mostra de pacients inclosos va ser relativament petita. En el cas de la PET, els resultats es van poder validar en dues cohorts independents i com que no hi havia heterogeneïtat entre estudis es va poder fer una anàlisi conjunta incrementant significativament la mostra. No obstant, malgrat l'anàlisi conjunta representa la sèrie publicada més gran de pacients amb PET de caròtides, aquesta mostra va ser insuficient

per fer algunes anàlisis de subgrups que haguessin tingut especial interès com per exemple: la capacitat predictiva del PET només en dones o en estenosis <50%. Per altra banda, en el cas del CEUS només es va comptar amb la mostra de Barcelona. A més, en no ser valorables un de cada quatre CEUS per les ombres càlciques, l'estudi sobre l'associació entre la neovascularització i el risc de recurrència es va fer només amb 50 pacients. Això fa que el risc que no haguem controlat algun factor de confusió, és elevat.

En segon lloc, les proves de l'estudi es realitzaven dins dels 15 dies després de la inclusió i això va suposar perdre alguns pacients que van ser sotmesos a procediments de revascularització emergents abans de que es poguessin realitzar. Això també inclou pacients que en la fase aguda de l'ictus van rebre tractament endovascular i a qui se'ls hi va col·locar un stent a la caròtida. Aquests pacients probablement presentaven plaques d'ateroma complicades i altament vulnerables. La seva no inclusió a l'estudi suposa inevitablement un biaix de selecció cap a pacients més estables. Per altra banda, el fet que hi hagués aquest interval de temps de dues setmanes va fer que la majoria de recurrències registrades fossin pre-PET i/o pre-CEUS. Això va fer plantejar el dubte de si els fenòmens observats d'inflamació i neovascularització podien ser causa o conseqüència de les recurrències. No obstant, a l'anàlisi conjunta de les tres cohorts de pacients amb PET de caròtides, es va poder analitzar només les recurrències post-PET i es va observar que la PET seguia predint de manera independent les recurrències després de la realització de la prova. Per aquest motiu, creiem que la presència dels marcadors de vulnerabilitat estudiats, són un factor de risc de recurrència d'ictus i no viceversa.

En tercer lloc, a la nostra cohort vam estudiar només una placa d'ateroma de la caròtida interna, però molts pacients presentaven més d'una placa i no només a l'ACI, sinó també

a la caròtida comú i a l'aorta. Per tant, una possibilitat que no vam controlar en el nostre estudi és que hi haguessin altres plaques més vulnerables que les que nosaltres vam estudiar. A més, la resolució de la PET i del CEUS no permeten actualment la valoració de l'ateroesclerosi intracranial, una entitat sovint menystinguda que pot ser també causa d'ictus. Malgrat la majoria dels pacients inclosos a l'estudi tenien una angioTC o una angioRM feta, alguns només disposaven de dúplex TSA i per tant no es pot descartar que algun dels pacients de la cohort tinguessin ateroesclerosi intracranial no diagnosticada.

En quart lloc, el seguiment de l'estudi va ser limitat i per tant, existeix la possibilitat que recurrències més tardanes en els pacients de la nostra cohort no quedessin registrades i no es tinguessin en compte a l'anàlisi.

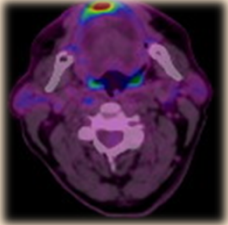
Finalment, malgrat el nostre estudi incloïa plaques d'ateroma independentment del grau d'estenosi, es van registrar molt poques recurrències en pacients amb una estenosi <50% i per tant, els resultats reportats són sobretot vàlids per a la població amb estenosis  $\geq 50\%$ . Caldria una mostra molt més gran per estudiar si la inflamació o la neovascularització en plaques <50% és útil per predir recurrències en aquest subgrup.

---

## 8. Conclusions

---

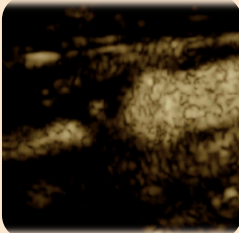




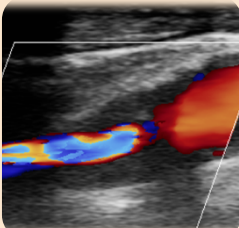
La inflamació de les plaques d'ateroma carotídies mesurada mitjançant PET amb <sup>18</sup>F-FDG s'associa a un augment del risc de recurrència d'ictus isquèmic.



La inflamació de les plaques d'ateroma carotídies sumada al grau d'estenosi permet identificar els pacients amb major risc de recurrència d'ictus isquèmic.



La neovascularització de les plaques d'ateroma carotídies detectada mitjançant CEUS s'associa a un augment del risc de recurrència d'ictus isquèmic.



L'obesitat i el grau d'estenosi s'associen a major inflamació de les plaques d'ateroma carotídies, mentre que l'aspecte hipoecoic de la placa i l'ús previ d'estatines s'associen amb el risc de presentar neovascularització.





---

## 9. Línies de futur

---



Els resultats presentats en aquesta tesi doctoral obren les portes a l'ús d'aquests nous marcadors de vulnerabilitat de l'ateroesclerosi carotídia en futures investigacions.

En primer lloc, un cop demostrat que tant la inflamació mesurada amb PET com la neovascularització detectada amb CEUS són predictors independents del risc de recurrència d'ictus isquèmic en pacients que han tingut un ictus isquèmic recent i tenen plaques d'ateroma carotídiies, el següent pas lògic serà estudiar el seu valor pronòstic en aquells pacients en què el benefici del tractament de revascularització, tot i presentar estenosis  $\geq 50\%$ , és més controvertit. Aquest grup el conformen els pacients joves menors de 65 anys, els pacients que el símptoma clínic de presentació és una amaurosi monocular, les dones amb estenosis moderades entre el 50 i el 69% i els pacients que no han estat revascularitzats en els primers 15 després del darrer ictus isquèmic. Aquest grup és el que tradicionalment s'ha considerat de "baix risc" arran de l'anàlisi de subgrups que es va fer amb els resultats dels assaigs clínics (22,23). No obstant, alguns d'aquests subgrups com per exemple els pacients menors de 65 anys i les dones, van estar infrarepresentats en els assaigs clínics i per tant, existeix el dubte lògic de si realment són grups de "baix risc" o simplement hi va haver falta de poder estadístic en les anàlisis. En aquests casos dubtosos, les guies actuals de prevenció secundària, recomanen valorar el risc-benefici del tractament de revascularització, però sense especificar amb quines eines diagnòstiques cal fer aquesta valoració. La PET i el CEUS podrien ajudar en aquests casos a identificar quins són els pacients que presenten un major risc de recurrència i que per tant es podrien beneficiar més de la revascularització. Això tindria un impacte directe a la pràctica clínica i per tant, suposa una línia futura d'investigació necessària que caldrà abordar en els propers anys.

En segon lloc, cal fer una menció especial en un grup de pacients que s'ha considerat també tradicionalment de "baix risc" i que per sí mateix suposa una línia d'investigació

futura a part: les estenosis de baix grau <50%. El tractament de revascularització no va demostrar tenir efecte protector en aquest grup de pacients i de fet, segons les actuals classificacions etiològiques de l'ictus, no es pot atribuir a aquestes plaques l'origen de la isquèmia cerebral. Segurament és cert que en la majoria d'aquests casos l'ictus es pot atribuir a una causa alternativa, però segueix havent-hi un grup relativament freqüent d'ictus isquèmics d'aspecte embòlic de causa indeterminada (en anglès ESUS = *Embolic Stroke of Undetermined Source*) (111). Durant l'última dècada, l'evidència que el monitoratge cardíac prolongat permetia detectar fibril·lacions auriculars paroxístiques més freqüentment, va portar al convenciment general de que la majoria d'aquests ESUS eren en el fons fibril·lacions auriculars paroxístiques no detectades (112). Aquesta idea va portar a la realització de dos assaigs clínics internacionals on es van aleatoritzar els pacients amb ESUS a antiagregació vs. anticoagulació amb un anticoagulant oral directe (NAVIGATE-ESUS amb Rivaroxaban i RESPECT-ESUS amb Dabigatran) (113,114). Ambdós assaigs clínics van resultar negatius i no van aconseguir demostrar la superioritat de l'anticoagulació (tractament d'elecció per prevenir l'ictus relacionat amb la fibril·lació auricular) en front a l'antiagregació (tractament d'elecció com a prevenció de la resta d'ictus isquèmics incloent els relacionats amb l'ateroesclerosi). De fet, aquests resultats negatius han portat a replantejar el concepte ESUS i a preguntar-se quina és la contribució d'altres entitats que se sap que poden generar ESUS però que fins ara es tenien per molt poc freqüents: les plaques carotídies <50%, les plaques d'ateroma aòrtiques, l'ateroesclerosi intracranial o els estats procoagulants paraneoplàsics. Els resultats del nostre estudi obren la porta a l'ús de la PET i el CEUS en la identificació de les plaques d'ateroma carotídies <50% altament vulnerables i que en el context d'un ESUS podrien ser la causa de l'ictus.

En tercer lloc, malgrat la població del nostre estudi eren pacients amb ictus isquèmic recent, els nostres resultats obren la porta a futures investigacions per veure el rendiment pronòstic de la PET i el CEUS en estenosis asimptomàtiques. En el cas de les estenosis carotídiies asimptomàtiques els assaigs clínics van demostrar un benefici del tractament de revascularització molt més modest que en el cas de les estenosis simptomàtiques (33) i per això les guies segueixen recomanant una selecció acurada dels pacients amb major risc d'ictus abans d'indicar un procediment invasiu. Per això, una altra línia de futur seria estudiar si la PET i el CEUS aconseguixen identificar aquelles estenosis asimptomàtiques més vulnerables que es beneficiarien de la revascularització.

Finalment, en el context actual en què múltiples assaigs clínics estan estudiant el potencial efecte beneficiós d'alguns tractament immunomoduladors en la prevenció de les malalties vasculars relacionades amb l'ateroesclerosi, una potencial línia de futur serà estudiar si la PET amb  $^{18}\text{FDG}$  i/o el CEUS són capaços d'afinar la selecció dels pacients amb ictus que més es poden beneficiar d'aquestes teràpies. És lògic pensar que el benefici d'aquests tractaments es concentra en els pacients que presenten plaques d'ateroma més inflamades, de la mateixa manera que és probable que en alguns pacients l'ús d'aquests fàrmacs no sigui apropiat perquè no els hi aporti benefici i els exposi a efectes adversos. El paradigma de seleccionar els pacients amb un major estat inflamatori que serien candidats als fàrmacs immunomoduladors es va iniciar amb l'assaig clínic CANTOS, en el que es seleccionaven els pacients en base als nivells plasmàtics de PCR (58). No obstant, la PCR i altres marcadors plasmàtics són altament sensibles a danys col·laterals que no guarden relació amb l'ateroesclerosi i disposar de marcadors específics com la PET que és capaç de mesurar la inflamació de la placa directament, poden ser de gran utilitat a l'hora de seleccionar aquests pacients.



---

## 10. Bibliografia

---





1. Emberson J, Lees KR, Lyden P, Blackwell L, Albers G, Bluhmki E, et al. 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. *Lancet*. 2014; 384:1929-35.
2. Kernan WN, Ovbiagele B, Black HR, Bravata DM, Chimowitz MI, Ezekowitz MD, et al. Guidelines for the prevention of stroke in patients with stroke and transient ischemic attack: A guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2014; 45:2160-236.
3. Moreno VP, García-Raso A, García-Bueno MJ, Sánchez-Sánchez C, Meseguer E, Mata R, et al. Factores de riesgo vascular en pacientes con ictus isquémico. Distribución según edad, sexo y subtipo de ictus. *Rev Neurol*. 2008; 46:593-98.
4. Díaz-Guzmán J, Egido-Herrero JA, Fuentes B, Fernández-Pérez C, Gabriel-Sánchez R, Barberà G, et al. Incidencia de ictus en España: Estudio iberictus. Datos del estudio piloto. *Rev Neurol*. 2009; 48:61-5.
5. Hansson GK. Mechanisms of disease: Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2005; 352:1685-95.
6. Bentzon JF, Otsuka F, Virmani R, Falk E. Mechanisms of plaque formation and rupture. *Circ Res*. 2014; 114:1852–66.
7. Adams HP, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke*. 1993; 24:35–41.

8. Chaturvedi S, Bruno A, Feasby T, Holloway R, Benavente O, Cohen SN, et al. Carotid endarterectomy - An evidence-based review: Report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2005; 65:794-801.
9. Goldstein LB, Bushnell CD, Adams RJ, Appel LJ, Braun LT, Chaturvedi S, et al. Guidelines for the primary prevention of stroke: A Guideline for Healthcare Professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2011; 42:517-84.
10. Amarenco P, Bogousslavsky J, Caplan LR, Donnan GA, Wolf ME, Hennerici MG. The ASCOD Phenotyping of Ischemic Stroke (Updated ASCO Phenotyping). *Cerebrovasc Dis*. 2013; 36:1-5.
11. Powers WJ, Rabinstein AA, Ackerson T, Adeoye OM, Bambakidis NC, Becker K, et al. 2018 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*. 2018; 49:e46-e110.
12. Hackam DG, Spence JD. Antiplatelet Therapy in Ischemic Stroke and Transient Ischemic Attack. *Stroke*. 2019; 50:773-8.
13. Amarenco P, Bogousslavsky J, Callahan A, Goldstein LB, Hennerici M, Rudolph AE, et al. High-dose atorvastatin after stroke or transient ischemic attack. *N Engl J Med*. 2006; 355:549-59.
14. Amarenco P, Goldstein LB, Szarek M, Sillesen H, Rudolph AE, Callahan A, et al. Effects of intense low-density lipoprotein cholesterol reduction in patients with stroke or transient ischemic attack: The Stroke Prevention by Aggressive

- Reduction in Cholesterol Levels (SPARCL) trial. *Stroke*. 2007; 38:3198-204.
15. Amarenco P, Kim JS, Labreuche J, Charles H, Abtan J, Bejot Y, et al. A Comparison of Two LDL Cholesterol Targets after Ischemic Stroke. *N Engl J Med*. 2020; 382:9-19.
  16. Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas M-I, Corella D, Arós F, et al. Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet. *N Engl J Med*. 2013; 368:1279-90.
  17. Turan TN, Nizam A, Lynn MJ, Egan BM, Le NA, Lopes-Virella MF, et al. Relationship between risk factor control and vascular events in the SAMMPRIS trial. *Neurology*. 2017; 88:379-385.
  18. Derdeyn CP, Chimowitz MI, Lynn MJ, Fiorella D, Turan TN, Janis LS, et al. Aggressive medical treatment with or without stenting in high-risk patients with intracranial artery stenosis (SAMMPRIS): The final results of a randomised trial. *Lancet*. 2014; 383:333-41.
  19. Spence JD, Coates V, Li H, Tamayo A, Muñoz C, Hackam DG, et al. Effects of intensive medical therapy on microemboli and cardiovascular risk in asymptomatic carotid stenosis. *Arch Neurol*. 2010; 67:180-6.
  20. Hong KS, Lee SH, Kim EG, Cho KH, Chang D Il, Rha JH, et al. Recurrent Ischemic Lesions after Acute Atherothrombotic Stroke: Clopidogrel Plus Aspirin Versus Aspirin Alone. *Stroke*. 2016; 47:2323-30.
  21. Brott TG, Hobson RW, Howard G, Roubin GS, Clark WM, Brooks W, et al. Stenting versus endarterectomy for treatment of carotid-artery stenosis. *N Engl J Med*. 2010; 363:11-23.

22. Rothwell PM, Eliasziw M, Gutnikov SA, Fox AJ, Taylor DW, Mayberg MR, et al. Analysis of pooled data from the randomised controlled trials of endarterectomy for symptomatic carotid stenosis. *Lancet*. 2003; 361:107-16.
23. Rothwell PM, Eliasziw M, Gutnikov SA, Warlow CP, Barnett HJM. Endarterectomy for symptomatic carotid stenosis in relation to clinical subgroups and timing of surgery. *Lancet*. 2004; 363:915-24.
24. Fisher M, Paganini-Hill A, Martin A, Cosgrove M, Toole JF, Barnett HJM, et al. Carotid plaque pathology: Thrombosis, ulceration, and stroke pathogenesis. *Stroke*. 2005; 36:253-7.
25. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Finn A V., Gold HK, Tulenko TN, et al. Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture: Angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2005; 25:2054-61.
26. Saba L, Anzidei M, Marincola BC, Piga M, Raz E, Bassareo PP, et al. Imaging of the carotid artery vulnerable plaque. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2014; 37:572-85.
27. Brinjikji W, Huston J, Rabinstein AA, Kim GM, Lerman A, Lanzino G. Contemporary carotid imaging: From degree of stenosis to plaque vulnerability. *J Neurosurg*. 2016; 124:27-42.
28. von Reutern G-M, Goertler M-W, Bornstein NM, Del Sette M, Evans DH, Hetzel A, et al. Grading carotid stenosis using ultrasonic methods. *Stroke*. 2012; 43:916-21.
29. Bartlett ES, Walters TD, Symons SP, Fox AJ. Quantification of carotid stenosis

- on CT angiography. *Am J Neuroradiol.* 2006; 27:13–9.
30. Warlow C, Farrell B, Fraser A, Sandercock P, Slattery J. Randomised trial of endarterectomy for recently symptomatic carotid stenosis: Final results of the MRC European Carotid Surgery Trial (ECST). *Lancet.* 1998; 351:1379-87.
  31. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators. Beneficial effect of carotid endarterectomy in symptomatic patients with high-grade carotid stenosis. *N Engl J Med.* 1991; 325:445-53.
  32. Asymptomatic MRC, Surgery C, Acst T, Group C. Prevention of disabling and fatal strokes by successful carotid endarterectomy in patients without recent neurological symptoms: Randomised controlled trial. *Lancet.* 2004; 363(9420):1491–502.
  33. Halliday A, Harrison M, Hayter E, Kong X, Mansfield A, Marro J, et al. 10-year stroke prevention after successful carotid endarterectomy for asymptomatic stenosis (ACST-1): A multicentre randomised trial. *Lancet.* 2010; 376:1074-84.
  34. Marquardt L, Geraghty OC, Mehta Z, Rothwell PM. Low risk of ipsilateral stroke in patients with asymptomatic carotid stenosis on best medical treatment: A prospective, population-based study. *Stroke.* 2010; 41:e11-7.
  35. Naylor AR, Ricco J-B, de Borst GJ, Debus S, de Haro J, Halliday A, et al. Management of Atherosclerotic Carotid and Vertebral Artery Disease: 2017 Clinical Practice Guidelines of the European Society for Vascular Surgery (ESVS). *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2018; 55:3–81.
  36. Ballotta E, Angelini A, Mazzalai F, Piatto G, Toniato A, Baracchini C. Carotid endarterectomy for symptomatic low-grade carotid stenosis. *J Vasc Surg.* 2014;

- 59:25–31.
37. Hart RG, Diener HC, Coutts SB, Easton JD, Granger CB, O'Donnell MJ, et al. Embolic strokes of undetermined source: The case for a new clinical construct. *Lancet Neurol.* 2014; 13:429–38.
  38. Ntaios G, Swaminathan B, Berkowitz SD, Gagliardi RJ, Lang W, Siegler JE, et al. Efficacy and Safety of Rivaroxaban Versus Aspirin in Embolic Stroke of Undetermined Source and Carotid Atherosclerosis. *Stroke.* 2019; 50:2477–85.
  39. Spence JD, Tamayo A, Lownie SP, Ng WP, Ferguson GG. Absence of microemboli on transcranial Doppler identifies low-risk patients with asymptomatic carotid stenosis. *Stroke.* 2005; 36:2373-8.
  40. Markus HS, King A, Shipley M, Topakian R, Cullinane M, Reihill S, et al. Asymptomatic embolisation for prediction of stroke in the Asymptomatic Carotid Emboli Study (ACES): a prospective observational study. *Lancet Neurol.* 2010; 9:663-71.
  41. Gupta A, Kesavabhotla K, Baradaran H, Kamel H, Pandya A, Giambrone AE, et al. Plaque echolucency and stroke risk in asymptomatic carotid stenosis: A systematic review and meta-analysis. *Stroke.* 2015; 46:91-7.
  42. Gupta A, Baradaran H, Schweitzer AD, Kamel H, Pandya A, Delgado D, et al. Carotid plaque MRI and stroke risk: A systematic review and meta-analysis. *Stroke.* 2013; 44:3071–7.
  43. Paulson OB, Strandgaard S, Edvinsson L. Cerebral autoregulation. *Cerebrovasc Brain Metab Rev.* 1990; 2:161-92.

44. Ratnatunga C, Adiseshiah M. Increase in middle cerebral artery velocity on breath holding: A simplified test of cerebral perfusion reserve. *Eur J Vasc Surg.* 1990; 4:519-23.
45. Muller M, Voges M, Piepgras U, Schimrigk K. Assessment of cerebral vasomotor reactivity by transcranial doppler ultrasound and breath-holding: A comparison with acetazolamide as vasodilatory stimulus. *Stroke.* 1995; 26:96-100.
46. Gupta A, Chazen JL, Hartman M, Delgado D, Anumula N, Shao H, et al. Cerebrovascular reserve and stroke risk in patients with carotid stenosis or occlusion: A systematic review and meta-analysis. *Stroke.* 2012; 43:2884-91.
47. Paraskevas KI, Veith FJ, Spence JD. How to identify which patients with asymptomatic carotid stenosis could benefit from endarterectomy or stenting. *Stroke Vasc Neurol.* 2018; 3:92-100.
48. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012; 32:2045-51.
49. Virmani R, Ladich ER, Burke AP, Kolodgie FD. Histopathology of carotid atherosclerotic disease. *Neurosurgery.* 2006; 59:S219-27.
50. Blankenberg S, Barbaux S, Tiret L. Adhesion molecules and atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2003; 170:191-203.
51. De Winther MPJ, Van Dijk KW, Havekes LM, Hofker MH. Macrophage scavenger receptor class A: A multifunctional receptor in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000; 20:290-7.



52. Bennett MR, Sinha S, Owens GK. Vascular Smooth Muscle Cells in Atherosclerosis. *Circ Res.* 2016; 118:692-702.
53. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med.* 1997; 336:973-9.
54. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med.* 2000; 342:836-43.
55. Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Crowe T, Sasiela WJ, Tsai J, et al. Statin therapy, LDL cholesterol, C-reactive protein, and coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2005; 352:29-38.
56. Ridker PM, Cannon CP, Morrow D, Rifai N, Rose LM, McCabe CH, et al. C-reactive protein levels and outcomes after statin therapy. *N Engl J Med.* 2005; 352:20-8.
57. Willerson JT, Ridker PM. Inflammation as a cardiovascular risk factor. *Circulation.* 2004; 109:II2-10.
58. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, MacFadyen JG, Chang WH, Ballantyne C, et al. Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease. *N Engl J Med.* 2017; 377:1119-1131.
59. Kelly PJ, Murphy S, Coveney S, Purroy F, Lemmens R, Tsivgoulis G, et al. Anti-inflammatory approaches to ischaemic stroke prevention. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2018; 89:211-18.

60. Tarkin JM, Joshi FR, Rudd JHF. PET imaging of inflammation in atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol.* 2014; 11:443-57.
61. El-Haddad G, Zhuang H, Gupta N, Alavi A. Evolving role of positron emission tomography in the management of patients with inflammatory and other benign disorders. *Semin Nucl Med.* 2004; 34:313-29.
62. Hyafil F, Cornily JC, Rudd JHF, Machac J, Feldman LJ, Fayad ZA. Quantification of inflammation within rabbit atherosclerotic plaques using the macrophage-specific CT contrast agent N1177: A comparison with 18F-FDG PET/CT and histology. *J Nucl Med.* 2009; 50:959-65.
63. Tawakol A, Migrino RQ, Bashian GG, Bedri S, Vermylen D, Cury RC, et al. In Vivo 18F-Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography Imaging Provides a Noninvasive Measure of Carotid Plaque Inflammation in Patients. *J Am Coll Cardiol.* 2006; 48:1818-24.
64. Marnane M, Merwick A, Sheehan OC, Hannon N, Foran P, Grant T, et al. Carotid plaque inflammation on 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography predicts early stroke recurrence. *Ann Neurol.* 2012; 71:709-18.
65. Mofidi R, Crotty TB, McCarthy P, Sheehan SJ, Mehigan D, Keaveny T V. Association between plaque instability, angiogenesis and symptomatic carotid occlusive disease. *Br J Surg.* 2001; 88:945-50.
66. Moreno PR, Purushothaman KR, Sirol M, Levy AP, Fuster V. Neovascularization in human atherosclerosis. *Circulation.* 2006; 113:2245-52.
67. Staub D, Patel MB, Tibrewala A, Ludden D, Johnson M, Espinosa P, et al. Vasa vasorum and plaque neovascularization on contrast-enhanced carotid ultrasound

- imaging correlates with cardiovascular disease and past cardiovascular events. *Stroke*. 2010; 41:41-7.
68. Rafailidis V, Charitanti A, Tegos T, Destanis E, Chrysogonidis I. Contrast-enhanced ultrasound of the carotid system: a review of the current literature. *J Ultrasound*. 2017; 20:97–109.
  69. Alonso A, Artemis D, Hennerici MG. Molecular imaging of carotid plaque vulnerability. *Cerebrovas Dis*. 2015; 39:5-12.
  70. Deyama J, Nakamura T, Takishima I, Fujioka D, Kawabata K, Obata J, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of carotid plaque neovascularization is useful for identifying high-risk patients with coronary artery disease. *Circ J*. 2013; 77:1499-507.
  71. Saito K, Nagatsuka K, Ishibashi-Ueda H, Watanabe A, Kannki H, Iihara K. Contrast-enhanced ultrasound for the evaluation of neovascularization in atherosclerotic carotid artery plaques. *Stroke*. 2014; 45:3073-5.
  72. Xiong L, Deng Y-B, Zhu Y, Liu Y-N, Bi X-J. Correlation of carotid plaque neovascularization detected by using contrast-enhanced US with clinical symptoms. *Radiology*. 2009; 251:583–9.
  73. Li Z, Xu X, Ren L, Shao Y, Luo S, Chen S, et al. Prospective Study About the Relationship Between CEUS of Carotid Intraplaque Neovascularization and Ischemic Stroke in TIA Patients. *Front Pharmacol*. 2019; 10:672.
  74. Huang PT, Huang FG, Zou CP, Sun HY, Tian XQ, Yang Y, et al. Contrast-enhanced sonographic characteristics of neovascularization in carotid atherosclerotic plaques. *J Clin Ultrasound*. 2008; 36:346-51.

75. Norris SL, Grothaus LC, Buchner DM, Pratt M. Effectiveness of physician-based assessment and counseling for exercise in a staff model HMO. *Prev Med.* 2000; 30:513-23.
76. Martínez-González MA, García-Arellano A, Toledo E, Salas-Salvadó J, Buil-Cosiales P, Corella D, et al. A 14-item mediterranean diet assessment tool and obesity indexes among high-risk subjects: The PREDIMED trial. *PLoS One.* 2012; 7:e431-34.
77. Parmar P, Krishnamurthi R, Ikram MA, Hofman A, Mirza SS, Varakin Y, et al. The Stroke Riskometer™ App: Validation of a data collection tool and stroke risk predictor. *Int J Stroke.* 2015; 10:231–44.
78. Carratalá JA, Martínez A, Pérez-Ramos A RP. Evaluación de la adherencia a dieta mediterránea mediante encuesta Predimed en un centro de ciclos formativos de Valencia. *Farm Comunitarios.* 2014; 6 (Supl 1).
79. Chimowitz MI, Lynn MJ, Derdeyn CP, Turan TN, Fiorella D, Lane BF, et al. Stenting versus aggressive medical therapy for intracranial arterial stenosis. *N Engl J Med.* 2011; 365:993-1003.
80. Swerdlow DI, Holmes M V., Kuchenbaecker KB, Engmann JEL, Shah T, Sofat R, et al. The interleukin-6 receptor as a target for prevention of coronary heart disease: A mendelian randomisation analysis. *Lancet.* 2012; 379:1214–24.
81. Kaptoge S, Di Angelantonio E, Lowe G, Pepys MB, Thompson SG, Collins R, et al. C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: An individual participant meta-analysis. *Lancet.* 2010; 375:132–40.
82. Georgakis MK, Gill D, Rannikmäe K, Traylor M, Anderson CD, Lee JM, et al.

- Genetically Determined Levels of Circulating Cytokines and Risk of Stroke: Role of Monocyte Chemoattractant Protein-1. *Circulation*. 2019; 139:256–68.
83. Rost NS, Wolf PA, Kase CS, Kelly-Hayes M, Silbershatz H, Massaro JM, et al. Plasma concentration of C-reactive protein and risk of ischemic stroke and transient ischemic attack: The Framingham Study. *Stroke*. 2001; 32:2575–9.
84. Tardif J-C, Kouz S, Waters DD, Bertrand OF, Diaz R, Maggioni AP, et al. Efficacy and Safety of Low-Dose Colchicine after Myocardial Infarction. *N Engl J Med*. 2019;1–9.
85. Tawakol A, Migrino RQ, Hoffmann U, Abbara S, Houser S, Gewirtz H, et al. Noninvasive in vivo measurement of vascular inflammation with F-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *J Nucl Cardiol*. 2005; 12:294–301.
86. Masteling MG, Zeebregts CJ, Tio RA, Breek JC, Tietge UJF, De Boer JF, et al. High-resolution imaging of human atherosclerotic carotid plaques with micro 18F-FDG PET scanning exploring plaque vulnerability. *J Nucl Cardiol*. 2011; 18:1066–75.
87. Ogawa M, Ishino S, Mukai T, Asano D, Teramoto N, Watabe H, et al. 18F-FDG accumulation in atherosclerotic plaques: Immunohistochemical and PET imaging study. *J Nucl Med*. 2004; 45:1245–50.
88. Rudd JHF, Warburton EA, Fryer TD, Jones HA, Clark JC, Antoun N, et al. Imaging atherosclerotic plaque inflammation with [18F]-fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *Circulation*. 2002; 105:2708–11.
89. Moustafa RR, Izquierdo-Garcia D, Fryer TD, Graves MJ, Rudd JHF, Gillard JH,

- et al. Carotid plaque inflammation is associated with cerebral microembolism in patients with recent transient ischemic attack or stroke: A pilot study. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2010; 3:536–41.
90. Pedersen SF, Graebe M, Fisker Hag AM, Højgaard L, Sillesen H, Kjaer A. Gene expression and 18FDG uptake in atherosclerotic carotid plaques. *Nucl Med Commun*. 2010; 31:423–9.
91. Duivenvoorden R, Mani V, Woodward M, Kallend D, Suchankova G, Fuster V, et al. Relationship of serum inflammatory biomarkers with plaque inflammation assessed by FDG PET/CT: The dal-PLAQUE study. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2013; 6:1087–94.
92. Rominger A, Saam T, Wolpers S, Cyran CC, Schmidt M, Foerster S, et al. 18F-FDG PET/CT identifies patients at risk for future vascular events in an otherwise asymptomatic cohort with neoplastic disease. *J Nucl Med*. 2009; 50:1611–20.
93. Figueroa AL, Abdelbaky A, Truong QA, Corsini E, MacNabb MH, Lavender ZR, et al. Measurement of arterial activity on routine FDG PET/CT images improves prediction of risk of future CV events. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2013; 6:1250–9.
94. Tan KT, Lip GYH, Blann AD. Post-stroke inflammatory response: Effects of stroke evolution and outcome. *Curr Atheroscler Rep*. 2003; 5:245–51.
95. Jaipersad AS, Lip GYH, Silverman S, Shantsila E. The role of monocytes in angiogenesis and atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 2014; 63:1-11.
96. Hjelmgren O, Johansson L, Prahl U, Schmidt C, Fredén-Lindqvist J, Bergström GML. A study of plaque vascularization and inflammation using quantitative

- contrast-enhanced US and PET/CT. *Eur J Radiol.* 2014; 83:1184-9.
97. Yamada K, Yoshimura S, Shirakawa M, Uchida K, Maruyama F, Nakahara S, et al. High intensity signal in the plaque on routine 3D-TOF MRA is associated with ischemic stroke in the patients with low-grade carotid stenosis. *J Neurol Sci.* 2018; 385:164-7.
  98. Yoshida K, Sadamasa N, Narumi O, Chin M, Yamagata S, Miyamoto S. Symptomatic low-grade carotid stenosis with intraplaque hemorrhage and expansive arterial remodeling is associated with a high relapse rate refractory to medical treatment. *Neurosurgery.* 2012; 70:1143–50.
  99. Lu S shan, Ge S, Su C qiu, Xie J, Shi H bin, Hong X ning. Plaque Distribution and Characteristics in Low-Grade Middle Cerebral Artery Stenosis and Its Clinical Relevance: A 3-Dimensional High-Resolution Magnetic Resonance Imaging Study. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2018; 27:2243–9.
  100. Millon A, Boussel L, Brevet M, Mathevet J-L, Canet-Soulas E, Mory C, et al. Clinical and histological significance of gadolinium enhancement in carotid atherosclerotic plaque. *Stroke.* 2012; 43:3023-8.
  101. Van Gaal LF, Mertens IL, De Block CE. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature.* 2006; 444:875-80.
  102. Rocha VZ, Libby P. Obesity, inflammation, and atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol.* 2009; 6:399-409.
  103. Lovren F, Teoh H, Verma S. Obesity and Atherosclerosis: Mechanistic Insights. *Can J Cardiol.* 2015; 31:177-83.

104. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*. 2002; 105:1135-43.
105. Ross R, Glomset JA. Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell: Proliferation of smooth muscle is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis. *Science*. 1973; 180:1332-9.
106. Mathiesen EB, Bønaa KH, Joakimsen O. Echolucent plaques are associated with high risk of ischemic cerebrovascular events in carotid stenosis: The Tromsø study. *Circulation*. 2001; 103:2171-5.
107. Grønholdt MLM, Nordestgaard BG, Schroeder T V., Vorstrup S, Sillesen H. Ultrasonic echolucent carotid plaques predict future strokes. *Circulation*. 2001; 104:68-73.
108. Teng Z, He J, Degnan AJ, Chen S, Sadat U, Bahaei NS, et al. Critical mechanical conditions around neovessels in carotid atherosclerotic plaque may promote intraplaque hemorrhage. *Atherosclerosis*. 2012; 223:321-6.
109. Stancu C, Sima A. Statins: Mechanism of action and effects. *J Cell Mol Med*. 2001; 5:378-87.
110. Bahrami A, Parsamanesh N, Atkin SL, Banach M, Sahebkar A. Effect of statins on toll-like receptors: a new insight to pleiotropic effects. *Pharmacol Res*. 2018; 135:230-8.
111. Hart RG, Catanese L, Perera KS, Ntaios G, Connolly SJ. Embolic Stroke of Undetermined Source: A Systematic Review and Clinical Update. *Stroke*. 2017; 48:867-872.



112. Sanna T, Diener HC, Passman RS, Di Lazzaro V, Bernstein RA, Morillo CA, et al. Cryptogenic stroke and underlying atrial fibrillation. *N Engl J Med.* 2014; 370:2478–86.
113. Hart RG, Sharma M, Mundl H, Kasner SE, Bangdiwala SI, Berkowitz SD, et al. Rivaroxaban for stroke prevention after embolic stroke of undetermined source. *N Engl J Med.* 2018; 378:2191-2201.
114. Diener HC, Sacco RL, Donald Easton J, Granger CB, Bernstein RA, Uchiyama S, et al. Dabigatran for prevention of stroke after embolic stroke of undetermined source. *N Engl J Med.* 2019; 380:1906-17.

---

## 11. Annexes

---



## Annex 1: Escala PACE (Physician-based Assessment and Counseling for Exercise)

Aquesta escala està dissenyada per determinar el grau d'activitat física regular que fan els pacients. En el nostre estudi, igual que a l'assaig clínic SAMMPRIS (*Chimowitz MI et al. N Eng J Med. 2018*), es va demanar als pacients que escollissin l'opció que millor definia el seu grau d'activitat física abans de l'ictus entre les següents vuit opcions (en total l'escala té 11 ítems):

1. No camino ni faig exercici regular i no crec que ho pugui fer en un futur proper.
2. No camino ni faig exercici regular, però em plantejo començar aviat.
3. Estic caminant o fent exercici de forma ocasional (en l'últim mes).
4. Estic caminat o fent exercici infreqüentment des de fa com a mínim un mes.
5. Estic fent exercici físic moderat\* menys de tres vegades a la setmana.
6. Estic fent exercici físic moderat tres o més vegades per setmana (mínim un mes).
7. Estic fent exercici físic moderat tres o més vegades per setmana des de fa més de sis mesos.
8. Estic fent exercici físic intens més de tres vegades a la setmana (mínim un mes).

El sedentarisme es va definir com una puntuació <4 a l'escala PACE.

\*Exemples d'exercici físic moderat (mínim 30 minuts): caminar ràpid, bicicleta de passeig, ballar o partit de tennis.

\*\*Exemples d'exercici físic intens (mínim 20 minuts): córrer, bicicleta de carretera o muntanya, nedar o esports que requereixen córrer com futbol o bàsquet.

## Annex 2: Escala PREDIMED (PREvenció amb Dieta MEDiterrània)

L'escala PREDIMED mesura el grau d'adherència a la Dieta Mediterrània dels pacients.

L'escala es pot consultar a [www.predimed.es](http://www.predimed.es). A continuació s'adjunta una fotografia del qüestionari validat en castellà que es va utilitzar en el nostre estudi:

1. ¿Usa usted el aceite de oliva como principal grasa para cocinar?	Sí = 1 punto	<input type="checkbox"/>
2. ¿Cuanto aceite de oliva consume en total al día (incluyendo el usado para freír, comidas fuera de casa, ensaladas, etc.)?	4 o más cucharadas = 1 punto	<input type="checkbox"/>
3. ¿Cuántas raciones de verdura u hortalizas consume al día? (las guarniciones o acompañamientos = 1/2 ración) 1 ración = 200g.	2 o más (al menos una de ellas en ensalada o crudas) = 1 punto	<input type="checkbox"/>
4. ¿Cuántas piezas de fruta (incluyendo zumo natural) consume al día?	3 o más al día = 1 punto	<input type="checkbox"/>
5. ¿Cuántas raciones de carnes rojas, hamburguesas, salchichas o embutidos consume al día? (ración: 100 - 150 g)	menos de 1 al día = 1 punto	<input type="checkbox"/>
6. ¿Cuántas raciones de mantequilla, margarina o nata consume al día? (porción individual: 12 g)	menos de 1 al día = 1 punto	<input type="checkbox"/>
7. ¿Cuántas bebidas carbonatadas y/o azucaradas (refrescos, colas, tónicas, bitter) consume al día?	menos de 1 al día = 1 punto	<input type="checkbox"/>
8. ¿Bebe usted vino? ¿Cuánto consume a la semana?	7 o más vasos a la semana = 1 punto	<input type="checkbox"/>
9. ¿Cuántas raciones de legumbres consume a la semana? (1 plato o ración de 150 g)	3 o más a la semana = 1 punto	<input type="checkbox"/>
10. ¿Cuántas raciones de pescado-mariscos consume a la semana? (1 plato pieza o ración: 100 - 150 de pescado o 4-5 piezas o 200 g de marisco)	3 o más a la semana = 1 punto	<input type="checkbox"/>
11. ¿Cuántas veces consume repostería comercial (no casera) como galletas, flanes, dulce o pasteles a la semana?	menos de 2 a la semana = 1 punto	<input type="checkbox"/>
12. ¿Cuántas veces consume frutos secos a la semana? (ración 30 g)	3 o más a la semana = 1 punto	<input type="checkbox"/>
13. ¿Consume usted preferentemente carne de pollo, pavo o conejo en vez de ternera, cerdo, hamburguesas o salchichas? (carne de pollo: 1 pieza o ración de 100 - 150 g)	Sí = 1 punto	<input type="checkbox"/>
14. ¿Cuántas veces a la semana consume los vegetales cocinados, la pasta, arroz u otros platos aderezados con salsa de tomate, ajo, cebolla o puerro elaborada a fuego lento con aceite de oliva (sofrito)?	2 o más a la semana = 1 punto	<input type="checkbox"/>

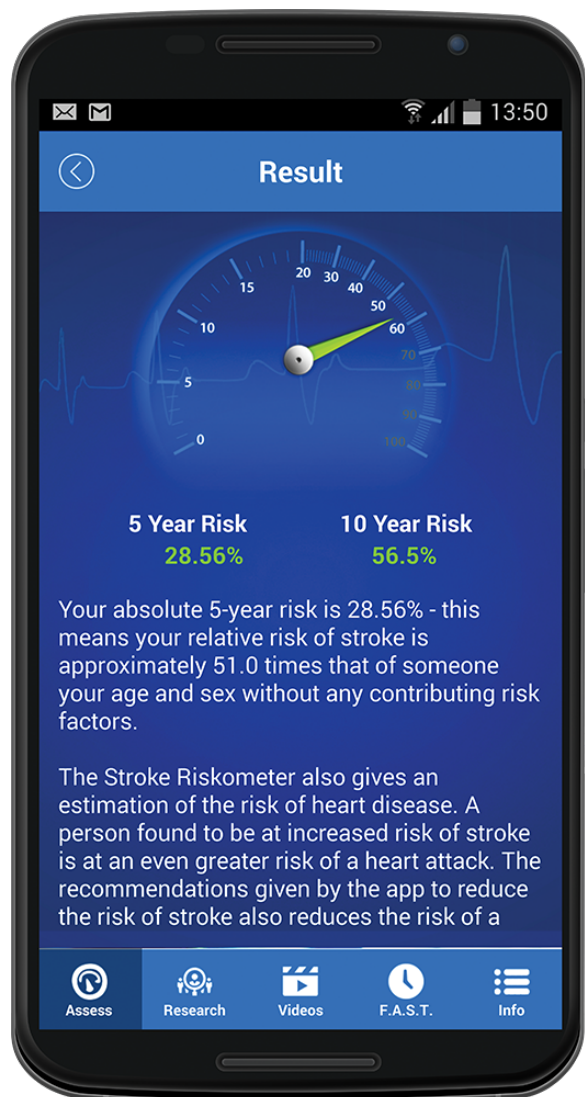
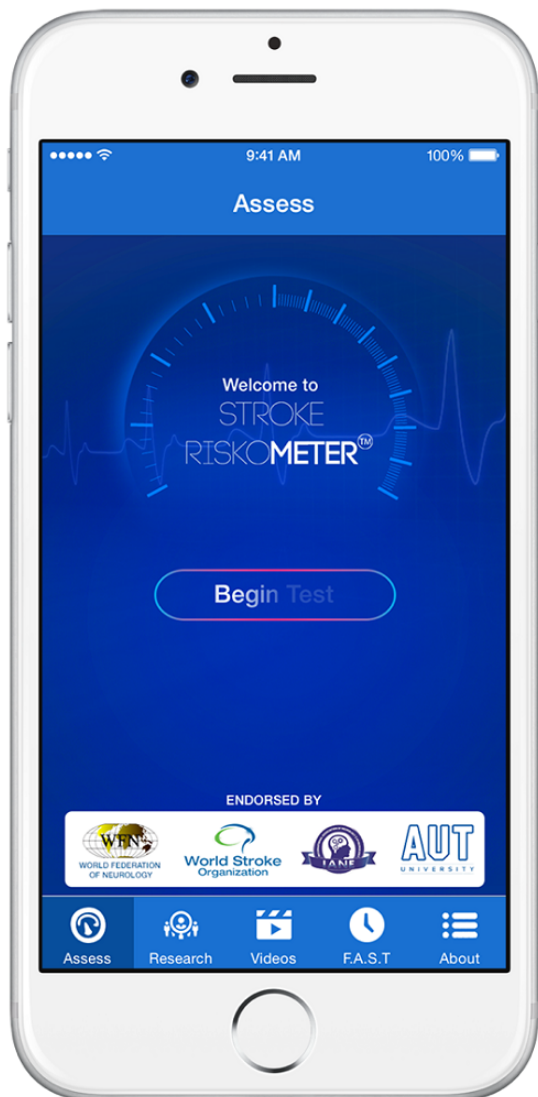
### Annex 3: Stroke Riskometer®

L'escala Stroke Riskometer® prediu el risc d'ictus dels pacients als cinc i als deu anys de seguiment. L'escala està disponible en forma d'aplicació mòbil i està recolzada per la World Stroke Organization. El seu ús es va validar en un estudi observacional publicat l'any 2015 a la revista *International Journal of Stroke* (Parmar P, et al. *Int J Stroke*. 2015). Per fer la predicció l'escala es basa en els següents ítems:

- Edat, gènere i raça.
- Pes, talla i IMC.
- Hàbit tabàquic i enòlic.
- Consum de fruites/verdures i activitat física setmanal.
- Estrés psíquic.
- Antecedents familiars de malalties cardiovasculars <65 anys.
- Pressió arterial i ús de medicacions antihipertensives.
- Antecedents de diabetis, cardiopaties i fibril·lació auricular.
- Antecedents de deteriorament cognitiu i de traumatisme craneoencefàlic.
- Antecedents d'ictus.

L'escala informa per una banda del risc absolut d'ictus als cinc i als deu anys, així com del risc relatiu d'una persona de la mateixa edat i gènere sense cap dels factors de risc contribuents.

A continuació es mostren dues fotografies d'exemple de l'aplicació i de com reporta els resultats de risc d'ictus:



Es pot obtenir més informació sobre l'aplicació a: <https://www.strokeriskometer.com>

