

**Universitat Autònoma de Barcelona**

**Título:**

**Recuento de células progenitoras endoteliales en  
pacientes con ictus tratados previamente con  
estatinas**

**Autora: Ana Fernández Arcos**

**Director del trabajo: Doctor Josep Lluís Martí-Vilalta**

**Co-Director del trabajo: Doctor Joan Martí-Fàbregas**

**Unidad de Enfermedades Vasculares Cerebrales  
Servicio de Neurología  
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau**

**Trabajo de investigación. Convocatoria de junio de 2011**

## ÍNDICE

### - Introducción

-Células Progenitoras Endoteliales. Definición e importancia. 3

-Estatinas y Enfermedad Cerebrovascular, interés terapéutico. 6

- Objetivos 10

- Metodología 11

-Resultados 15

-Discusión 22

Bibliografía 24

Anexos 28

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad cerebrovascular, o ictus, constituye la segunda causa de mortalidad global y la primera en la mujer en el mundo occidental. Entre la población española se produce una muerte por ictus cada 15 minutos. En el año 2008 resultó la segunda causa de muerte, siendo la primera la enfermedad cardiovascular (Tabla 1).

### Número de defunciones según las causas de muerte más frecuentes<sup>1</sup> Año 2008

|  |         |
|--|---------|
| Total defunciones  | 386.324 |
| Enfermedades isquémicas del corazón                        | 35.888  |
| Enfermedades cerebrovasculares                             | 31.714  |
| Insuficiencia cardíaca                                     | 20.211  |
| Cáncer de bronquios y pulmón                               | 20.195  |
| Enfermedades crónicas de las vías respiratorias inferiores | 14.857  |
| Demencia   | 11.973  |
| Cáncer de colon  | 10.602  |
| Enfermedad de Alzheimer                                    | 10.349  |
| Diabetes mellitus  | 10.081  |
| Neumonía   | 9.165   |
| Enfermedad hipertensiva                                    | 7.647   |
| Insuficiencia renal  | 6.621   |
| Cáncer de mama   | 6.121   |
| Cáncer de estómago   | 5.624   |
| Cáncer de próstata   | 5.464   |

(1) Causas con peso relativo superior al 1,4%

Tabla 1. Instituto Nacional de Estadística. Principales causas de muerte 2008<sup>1</sup>

Es la primera causa de invalidez o discapacidad grave a largo plazo en el adulto y la segunda causa de demencia<sup>1</sup>. El ictus ocupa el segundo lugar en cuanto a la carga de enfermedad en Europa, siendo el responsable de hasta un 4% del gasto sanitario<sup>2</sup>. Debido a su importante repercusión social, sanitaria y económica, la investigación sobre los mecanismos relacionados con el desarrollo del infarto cerebral y, más en concreto, con los procesos de reparación tisular es fundamental para planear nuevas intervenciones terapéuticas en enfermedades cerebrovasculares.

## Importancia y descripción de las células progenitoras endoteliales

El conocimiento sobre los mecanismos responsables de la recuperación clínica en humanos tras un infarto cerebral es todavía limitado. Con el propósito de recuperación del parénquima cerebral se producen mecanismos de desarrollo neuronal (neurogénesis) y vascular (angiogénesis, vasculogénesis y arteriogénesis). En los últimos años ha aumentado el interés en las células progenitoras endoteliales (CPEs) y su posible papel en la neovascularización cerebral relacionada con los procesos de reparación tisular, tanto sobre la lesión como en el endotelio, tras la isquemia cerebral.

Las CPEs son células inmaduras, intermedias entre células mesodérmicas y células maduras, capaces de diferenciarse en células endoteliales<sup>3</sup>. Se originan principalmente en médula ósea y son movilizadas frente a determinados estímulos.

Fueron descritas en 1997 en un artículo publicado en la revista *Science*, por el grupo de Asahara<sup>4</sup>. Este grupo aisló dichas células, mediante la diferenciación con marcadores de células hematopoyéticas (CD34) en sangre periférica, y demostró *in vitro* que podían diferenciarse en células endoteliales. Además observaron que éstas eran capaces de originar nuevos vasos sanguíneos *in vivo*, proceso que se creía en ese momento limitado al periodo embrionario. La capacidad de formación de nuevos vasos embriogénicos a partir de células progenitoras endoteliales o angioblastos se denomina vasculogénesis, mientras que la proliferación, remodelación y migración de vasos preexistentes gracias a células endoteliales maduras es un proceso llamado angiogénesis.

Las CPEs expresan determinados marcadores celulares gracias a los cuales pueden ser caracterizadas<sup>5</sup>. Se determinan mediante la utilización de técnicas de cuantificación que tienen como punto de partida la existencia simultánea de varios marcadores celulares. Existen técnicas de cultivo celular, que dependen de la funcionalidad de las CPEs en respuesta a las condiciones de cultivo. Por otro lado existen las técnicas de citometría de flujo, que permiten la detección de CPEs mediante el marcaje con anticuerpos de superficie y dependen directamente de su número<sup>6</sup>.

En cultivos, se han diferenciado al menos dos tipos de CPEs con aparentemente diferentes propiedades. El primer tipo son las células angiogénicas cultivadas (CAC) o células progenitoras precoces, obtenidas en cultivos de 4-7 días a partir de células adultas mononucleares de sangre periférica y derivan de la línea mielocítica. El segundo tipo de CPEs se denomina tardío o “out-growth” CPEs, y se obtiene de cultivo a largo plazo (2-4 semanas) de células mononucleares. Las CPEs se encuentran en mayor número en sangre de cordón umbilical que en sangre periférica, forman vasos sanguíneos funcionales, no expresan marcadores mieloides y forman colonias endoteliales altamente proliferativas derivadas de células únicas<sup>7</sup>.

No se han establecido los niveles de normalidad de CPEs. Tras un evento isquémico se produce un aumento de CPEs en plasma, probablemente mediado por el estímulo inflamatorio vascular y del propio tejido. También pueden producir un incremento el estrés fisiológico, el ejercicio físico y el crecimiento tumoral. Se conoce que el estrógeno puede incrementar el número de CPEs y, contrariamente, factores de riesgo cardiovascular como la coronariopatía, la hipercolesterolemia, el tabaquismo, la hipertensión arterial y la diabetes mellitus producen una reducción de número y la actividad funcional de las CPEs<sup>8,9</sup>.

Del mismo modo, se ha mostrado una mayor incidencia de eventos cardiovasculares en aquellos pacientes que presentan menores niveles de CPEs, por lo que se ha propuesto su papel como potencial marcador pronóstico vascular<sup>10</sup>.

Las CPEs han sido ampliamente estudiadas en cultivos celulares, tejidos y animales de experimentación. En humanos se han realizado diversos estudios, principalmente en relación con la cardiopatía isquémica. En estudios observacionales realizados en pacientes con infarto de miocardio, mayores concentraciones de CPEs se han relacionado con un mejor pronóstico, mayor viabilidad de tejido miocárdico y mayor perfusión y colaterales en la zona isquémica<sup>11,12</sup>.

Se ha observado en pacientes con infarto de miocardio agudo una movilización de CPEs máxima el séptimo día y, en comparación con controles,

presentan mayores niveles de CPEs aquellos pacientes con infarto de miocardio agudo y coronariopatía estable<sup>13</sup>.

En el ámbito de la enfermedad cerebrovascular, estudios comparativos han observado menores niveles de CPEs en paciente con antecedente de ictus agudo o crónico frente a controles sanos<sup>14</sup>.

En cuanto a pronóstico de la enfermedad, diversos estudios, como el publicado por Sobrino y colaboradores en 2007, realizado en pacientes con un primer evento isquémico, relacionaron el número de unidades formadoras de colonias de células endoteliales (UFC-CE) con el pronóstico tras el episodio<sup>15</sup>. Los autores relacionaron la magnitud del aumento de UFC-CE en respuesta a la isquemia cerebral en la primera semana con un mejor pronóstico funcional a los tres meses. Además se apreció una relación negativa entre el porcentaje de UFC-CE y el volumen de crecimiento del infarto cerebral durante la primera semana.

En el ámbito de la enfermedad cerebrovascular es importante valorar también la etiología del ictus, ya que el estímulo para la diferenciación y movilización celular puede verse influido por patogénesis de la enfermedad.

## Estatinas y enfermedad cerebrovascular, interés terapéutico.

Las estatinas son inhibidores de la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (HMG-CoA), enzima que cataliza la síntesis de mevalonato, paso limitante en la síntesis de colesterol. Son inhibidores competitivos reversibles y selectivos de esta enzima y no interfieren en ninguna otra etapa de la biosíntesis de colesterol.

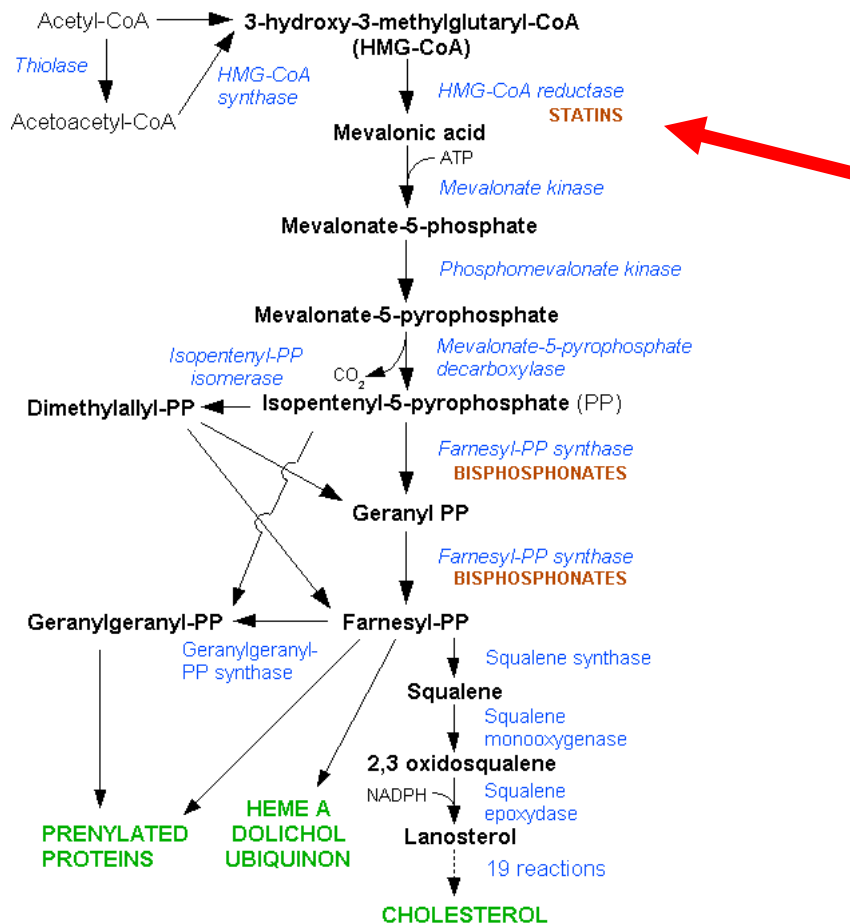


Imagen 1. Síntesis de colesterol

Fueron descubiertas en 1976 por el Dr. Akira Endo, de los Laboratorios Sankyo (Tokio). Observó que un compuesto aislado de *Penicillium Citrinum* era capaz de inhibir la HMG-CoA reductasa y reducir la síntesis de colesterol tanto *in vitro* como *in vivo*, lo que fue dado a conocer en 1980. Inicialmente fue llamado Compactina, actualmente Mevastatina.

En 1979 fue aislada la lovastatina por Hoffman, en cultivos de *A. Terreus*, dentro de un proyecto de Merk & Co. sobre metabolitos procedentes del cultivo de microorganismos. En 1980 se iniciaron los ensayos clínicos con este fármaco y en 1987 fue aprobado por la FDA con el nombre de Mevacor®.

Posteriormente la lovastatina fue sometida a variaciones moleculares que proporcionaron nuevas moléculas, conocidas genéricamente como estatinas: simvastatina, fluvastatina, atorvastatina y las más recientes, de segunda generación, pitavastatina y rosuvastatina<sup>16</sup>.

La principal indicación de las estatinas es la hipercolesterolemia, para la reducción de colesterol LDL, como prevención primaria de eventos isquémicos. Además, es un tratamiento indicado como prevención secundaria de eventos cardio y cerebrovasculares.

A nivel clínico, cinco estudios<sup>17</sup> con un total aproximado de 10.000 participantes, evidencian que el tratamiento con estatinas reduce el riesgo de eventos vasculares posteriores graves y producen una reducción en el número de accidentes cerebrovasculares (Anexo 1).

El estudio SPARCL<sup>18</sup> fue el primero en evaluar los efectos de una estatina (80 mg diarios de atorvastatina) exclusivamente en pacientes de accidente cerebrovascular, excluyendo aquellos pacientes con cardiopatía. El estudio mostró que aquellos tratados con el fármaco presentaron una reducción significativa de los eventos cerebrovasculares isquémicos fatales o no fatales, además de una reducción de los episodios cardiovasculares graves. Sin embargo se encontró un aumento de la tasa de accidentes cerebrovasculares hemorrágicos. Hasta la fecha, es el único estudio que ha mostrado que los cambios en los lípidos séricos inducidos por fármacos se asocian con una reducción del riesgo de accidentes cerebrovasculares.

Los datos epidemiológicos sugieren una asociación positiva entre el accidente cerebrovascular no hemorrágico y los niveles de colesterol, tanto total



como de colesterol LDL, aunque no se ha dilucidado que los niveles sean factores determinantes pronósticos del ictus, ni tan sólo en aquellos pacientes que presentaban patología aterotrombótica<sup>19</sup>.

Diversos estudios evalúan los efectos beneficiosos de las estatinas en cuanto al pronóstico funcional del ictus. Se ha observado que los pacientes que toman estatinas y presentan un ictus tienen mejor pronóstico que aquellos que no las tomaban<sup>20,21, 22</sup>.

También se conocen los efectos sobre el cese de tratamiento con estatinas en pacientes que presentan un ictus isquémico<sup>23</sup>, asociados a una mayor proporción de éxitos, un mayor tamaño del infarto y una mayor dependencia en aquellos sujetos a los que se detenía el tratamiento.

En varios estudios se ha corroborado la mejoría pronóstica independientemente de la disminución de colesterol<sup>24</sup> propuesta tras el estudio SPARCL. Las estatinas poseen efectos más allá de su efecto hipolipemiante. Entre estos efectos denominados “pleiotrópicos”, se han descrito<sup>25</sup>:

1. Reducción en la progresión de la aterosclerosis a nivel de la íntima media carotídea.
2. Propiedades antitrombóticas, reduciendo la disrupción de la placa y los tromboembolismos arterio-arteriales.
3. Reducción de los daños que produce la isquemia arterial y mejora del flujo arterial al cerebro isquémico, produciendo una mayor resistencia a los efectos de la isquemia.

Los mecanismos por los cuales se cree que las estatinas juegan un papel neuroprotector son (Imagen 1):

- Estímulo de la óxido nítrico sintasa (NO) endotelial, que orchestra las funciones homeostáticas paracrinas del endotelio, produciendo una regulación del tono vasomotor. Este estímulo no altera la isoforma inducible de la NO, que contribuye a la muerte neuronal mediante la oxidación de proteínas estructurales.

- Inhibición de procesos inflamatorios producidos durante la isquemia cerebral y la reperusión.
- Reducción de las interacciones entre los leucocitos y el endotelio en animales hipercolesterolémicos. En endotelio coronario se ha demostrado una inhibición de la adhesión de los neutrófilos.
- Modulación sobre el sistema de producción de citoquinas del sistema nervioso central, inhibiendo la producción de IL  $\beta$  y TNF $\alpha$  en astrocitos y macrófagos.
- Efectos antioxidantes, reduciendo la oxidación de lipoproteínas y reduciendo la agresión de los radicales libres.
- Promoción de la neurogénesis y la plasticidad neuronal mediante la expresión de VEGF, VEGF2 y BDNF en la zona isquémica, demostrado en ratones.
- **Estímulación de la movilización de células progenitoras endoteliales desde su origen en médula ósea, promoviendo la proliferación endotelial celular<sup>26</sup> y la angiogénesis, acelerando la reendotelización *in vivo*<sup>27</sup>.**

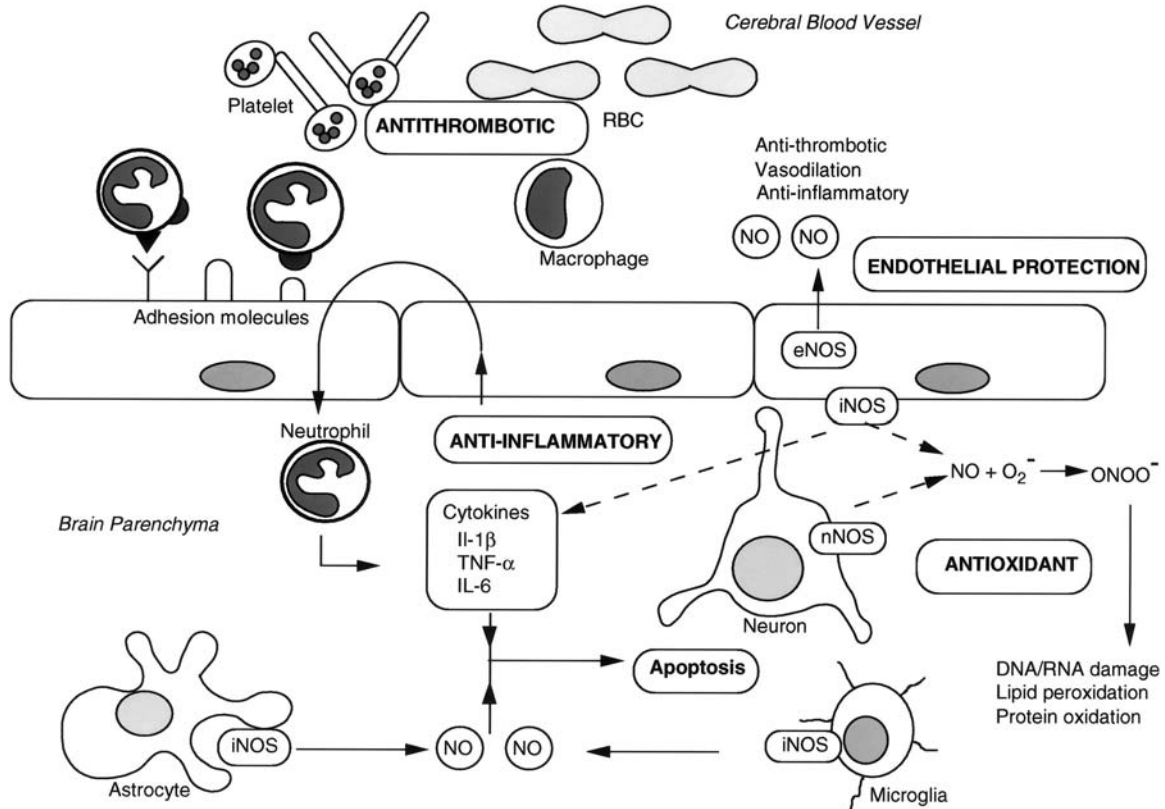


Imagen 2. Efectos de las estatinas.

Extraída de: Vaughan CJ, Delanty N. Neuroprotective properties of statins in cerebral ischemia and stroke. *Stroke: A Journal of Cerebral Circulation*. 1999;30(9):1969-1973.

## **OBJETIVOS**

El objetivo principal de este trabajo es investigar la influencia del tratamiento previo con estatinas sobre los niveles plasmáticos de células progenitoras endoteliales en la fase aguda, subaguda y crónica del ictus isquémico.

Dado que se ha sugerido que tras un ictus de etiología aterotrombótica se produce un mayor estímulo sobre los niveles de CPEs, como objetivo secundario se estudiará la relación entre el pretratamiento con estatinas y los niveles plasmáticos de CPEs en función de la etiología del ictus.

## **HIPÓTESIS**

Nuestra hipótesis se basa en la idea de que los pacientes pretratados con estatinas poseen una mayor proporción de células progenitoras endoteliales tras un ictus isquémico agudo o subagudo.

## **METODOLOGÍA**

Estudio observacional de pacientes con infarto cerebral agudo, en los que se analiza la proporción de células progenitoras del endotelio circulantes (CPEs) con evaluación en distintos puntos evolutivos.

### **Muestra**

Se incluyeron pacientes consecutivos con un infarto cerebral agudo ingresados en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau entre el 1.04.2008 y el 25.04.2010. Los pacientes fueron incluidos en días laborables por imposibilidad de procesar las muestras en los días festivos. El Comité Ético del Hospital aprobó la realización del estudio. Los pacientes o sus representantes legales firmaron el consentimiento para participar.

La inclusión se realizó durante las primeras 48 horas de evolución del ictus isquémico.

Los criterios de exclusión fue la dependencia funcional previa al ictus, debido a que, era uno de los objetivos pronósticos a valorar, según escala de Rankin modificada (mRS, Anexo 2), que consta de seis puntos (0= asintomático, 1= síntomas pero es capaz de realizar sus tareas habituales, 2=dependencia leve pero puede llevar a cabo tareas sin ayuda, 3= dependencia moderada, necesitando alguna ayuda pero pudiendo caminar sin ayudas, 4= dependencia moderada-grave, 5= dependencia grave, encamado, incontinente y precisando de atención y curas de enfermería). También fueron excluidos aquellos que presentaban una mejoría completa de los síntomas antes de la inclusión, puntuado mediante la escala NIHSS (Anexo 3) en el momento basal. En estos casos la clínica fue etiquetada como eventos isquémicos transitorios. Se excluyeron también aquellos que denegaron del consentimiento informado.

### **Variables clínicas**

La etiología del infarto cerebrovascular se clasificó, tras el análisis de las exploraciones complementarias realizadas, de acuerdo a los criterios sssTOAST (Anexo 4) en: aterotrombótico (aterosclerosis de gran arteria), cardioembólico, enfermedad de pequeño vaso, causa inusual y de etiología indeterminada. Aquellos clasificados como de etiología indeterminada comprendían tanto aquellos en los que el estudio etiológico fue incompleto, como aquellos en los que tras realización del estudio completo no se encontró causa (criptogénicos).

Los exámenes complementarios realizados incluyeron un estudio de neuroimagen para evidenciar la lesión isquémica (mediante tomografía computarizada y/o resonancia magnética), un estudio vascular extra e intracraneal (mediante ultrasonografía, angiografía por tomografía computarizada, angiografía por resonancia magnética o angiografía

convencional), un estudio cardiológico (electrocardiograma, ecocardiografía transtorácica y/o transesofágico, Holter en casos seleccionados), analítica básica y otras exploraciones en función de las sospecha etiológica y del estado y edad del paciente.

La gravedad del déficit neurológico se evaluó mediante la escala National Institute of Health and Stroke Scale (NIHSS) en el momento de inclusión y a los 7 días (ANEXO 3). Se registraron los datos demográficos (edad y sexo) así como los factores de riesgo vascular (hipertensión arterial, diabetes mellitus, dislipemia, tabaquismo, alcoholismo) y la coexistencia de cardiopatía isquémica y enfermedad vascular periférica.

La hipertensión arterial se definió como cifras de TA > 140/90 mmHg; antecedentes de hipertensión arterial o tratamiento con antihipertensivos. La diabetes mellitus por las cifras repetidas de glicemia en ayunas > 126 mg/dl, glicemia capilar > 200 mg/dl o hemoglobina glicosilada mayor del 5,8%. La dislipemia se determinó según anamnesis. Se registró y cuantificó el tabaquismo activo; se determinó además aquellos pacientes que eran exfumadores y cuántos años hacía que lo fumaban.

Se documentaron los fármacos recibidos hasta el ictus, con atención especial al tratamiento con estatinas, al ingreso y en cada una de las visitas programadas, mediante anamnesis al paciente o a su familia cercana, mediante documentos de prescripción activa y las enfermedades codificadas por el médico de familia. Se registraron tipo de fármaco y dosis. Se recogió el momento en que el paciente recibió el tratamiento con estatinas a nivel basal y el momento de la obtención de sangre y si se pautaba al alta.

El pronóstico se evaluó mediante la escala modificada de Rankin (mRS) a los 3 meses. La evolución se clasificó como favorable en los casos de puntuación de 0 a 2 puntos (no discapacidad o discapacidad ligera), mientras que se clasificó como desfavorable cuando la puntuación fue de 3 a 6 puntos (discapacidad de moderada a grave o muerte).

### **Muestras sanguíneas**

Se recogieron muestras de sangre en tres puntos evolutivos: basal (dentro de las primeras 48 horas desde el inicio de la clínica deficitaria), en el día 7 y en el día 90. La determinación a los 7 días se realizó debido a que se ha descrito que las cifras máximas de CPEs se obtienen en este punto. La sangre se recogió mediante venopunción, en tubos con EDTA (10ml) para la citometría de flujo. Una vez obtenidas las muestras de sangre se transfirieron al laboratorio para su procesamiento antes de 30 minutos de la extracción.

La determinación de las células progenitoras endoteliales se realizó mediante inmunofenotipado, determinándose una CPEs como aquella que presentaba en su superficie los siguientes marcadores celulares:

- CD34, con funciones en la adhesión celular, presente en células primordiales pluripotenciales.
- AC133, que se trata de una glicoproteína transmembrana expresada en células hematopoyéticas.
- KDR (*kinase insert domain receptor*), que se trata del receptor de VEGF (*factor de crecimiento vascular endotelial*) y está presente en células endoteliales.

Las muestras EDTA fueron procesadas, lisadas, teñidas, fijadas y analizadas por citometría empleando un citómetro de flujo 488nm de láser de Argon (EPICS XL). Dicha técnica está asistida por una computadora que determina las características antigénicas celulares mediante una fuente láser cuya dispersión de luz da mediciones capaces de separar poblaciones celulares.

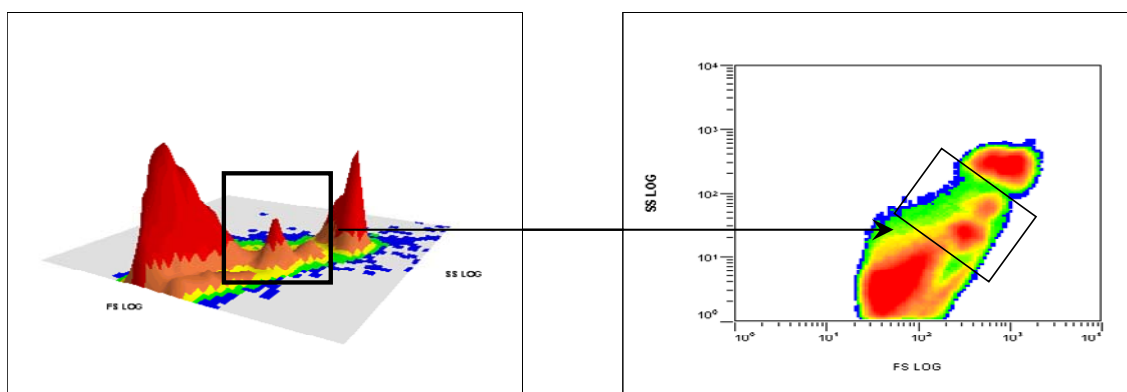


Imagen 3. Representación de resultados de citometría de flujo ("dot-plot") en los que vemos la selección de células que comparten los 3 marcadores.

Gracias a este proceso se obtuvo finalmente una proporción de células triplemente marcadas frente al total de células linfomonocitarias.

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó estadística descriptiva de las variables clínicas y de laboratorio (media, desviación estándar, rango). Dado que el recuento celular no presenta una distribución normal, se precisaron pruebas no paramétricas para el análisis de los datos y fueron expresados como medias con la desviación típica y las medianas (con rangos intercuartílicos).

La muestra se dividió en dos grupos, en función del tratamiento previo con estatinas: “pre-tratados” y “no tratados”. Se compararon las características demográficas y los factores de riesgo cardiovascular entre ambos grupos mediante análisis con t-Student y Chi-cuadrado. Además se analizaron las variables de la clasificación etiológica según la clasificación sssTOAST.

Se analizaron las frecuencias de tratamiento para los diferentes tipos de estatinas en el grupo de tratados.

Se usó el test U-Mann Whitney para comparar el recuento celular en los dos grupos. Para realizar los cálculos se empleó el programa SPSS. El valor de la  $p < 0.05$  fue considerado estadísticamente significativo.

## RESULTADOS

### 1. Características de la muestra

Se incluyeron 131 pacientes con una media de edad de  $71.7 \pm 12$  años. El rango de edad fue de 37 a 93 años. De ellos, 82 eran hombres (62.6%) y 49 mujeres (37.4%).

Los factores de riesgo vascular se distribuyeron en la siguiente proporción en la muestra: el 62.6% tenían hipertensión arterial, un 29% eran diabéticos y un 36,6% de los pacientes tenían dislipemia conocida. De los pacientes incluidos, 27 tenían cardiopatía isquémica y 9 historia de arteriopatía periférica. Un 3,8% de los pacientes consumían alcohol de forma moderada diariamente. En cuanto al tabaquismo, un 19,1% de los pacientes eran fumadores activos, mientras que un 30,5% eran exfumadores. (Tabla 2).

| Variable                | Total (n=131) |
|-------------------------|---------------|
| Edad                    | 71,7 $\pm$ 12 |
| Hombres (%)             | 62.6% (82)    |
| Hipertensión arterial   | 71,8% (94)    |
| Diabetes mellitus       | 29% (38)      |
| Dislipemia              | 36,6% (48)    |
| Cardiopatía isquémica   | 20,6% (27)    |
| Arteriopatía periférica | 6,9% (9)      |
| Enolismo                | 3,8 % (5)     |
| Tabaquismo activo       | 18,3% (24)    |

**Tabla 2. Características de la muestra**

Un 32.1% de los pacientes estudiados (n=42), recibía tratamiento con estatinas previo al ictus. De éstos, el fármaco más consumido era la Simvastatina seguido de la Atorvastatina. (Tabla 3)



| Tipo de estatina | n  | %      |
|------------------|----|--------|
| Atorvastatina    | 15 | 35,7 % |
| Fluvastatina     | 2  | 4,8%   |
| Lovastatina      | 3  | 7,1%   |
| Pravastatina     | 3  | 7,1%   |
| Simvastatina     | 17 | 40,4%  |
| Indeterminado    | 2  | 4,8%   |

Tabla 3. Tipo de tratamiento con estatinas

En cuanto a las dosis recibidas:

- Atosvastatina (1 paciente 80 mg, 8 pacientes 40 mg, 2 dosis de 20 mg y 3 10 mg).
- Fluvastatina (un paciente 80 mg y otro 20 mg).
- Lovastatina (un paciente 20 mg y otro que no pudo determinarse).
- Pravastatina (2 pacientes 20 mg y un tercero indeterminado).
- Simvastatina (dosis en 12 de ellos de 20 mg, mientras que 3 recibían 40 mg y dos de ellos 10 mg).

Mediante anamnesis se determinó que el tratamiento con estatinas se había prescrito por dislipemia (prevención primaria) en la mayoría de los pacientes (76,2%), mientras que en un 16,7% se recibía para prevención secundaria. En 3 de los pacientes no pudo averiguarse la razón por la que seguían dicho tratamiento.

A su llegada al Hospital y dentro de las primeras horas del inicio de la clínica, se prescribieron estatinas en 108 (91,5%) pacientes en el momento basal. El tipo de estatinas pautado mayoritariamente era la Simvastatina (76,6%) seguido de Atorvastatina (4,6%). De los pacientes que tomaban estatinas antes del ictus, únicamente dos de ellos no recibieron estatinas al ingreso. (Tabla 4).

| <b>Estatinas al ingreso:</b>  | Reciben estatinas al ingreso | No reciben estatinas |
|-------------------------------|------------------------------|----------------------|
| No tratados (89, 8 sin datos) | 72                           | 9                    |
| Pretratados (n=42)            | 40                           | 2                    |

Tabla 4.

La gravedad del ictus en el momento basal fue moderada, con una mediana de 7 en la escala NIHSS (rango intercuartil: 14,7 -3).

Tras el estudio etiológico se determinó que la causa más frecuente del ictus, según la clasificación TOAST fue indeterminada (35,9%), seguida de cardioembólica (32,1%), aterotrombótica (16%) y por enfermedad de pequeño vaso (13.7%). (Tabla 5, Imagen 4)

4.

|                 | n   | Porcentaje |
|-----------------|-----|------------|
| Aterotrombótico | 21  | 16%        |
| Cardioembólico  | 42  | 32,10%     |
| Pequeño vaso    | 18  | 13,70%     |
| Otras causas    | 3   | 2,30%      |
| Indeterminado   | 47  | 35,90%     |
| Total           | 131 | 100%       |

Tabla 5. Etiología del ictus según clasificación TOAST

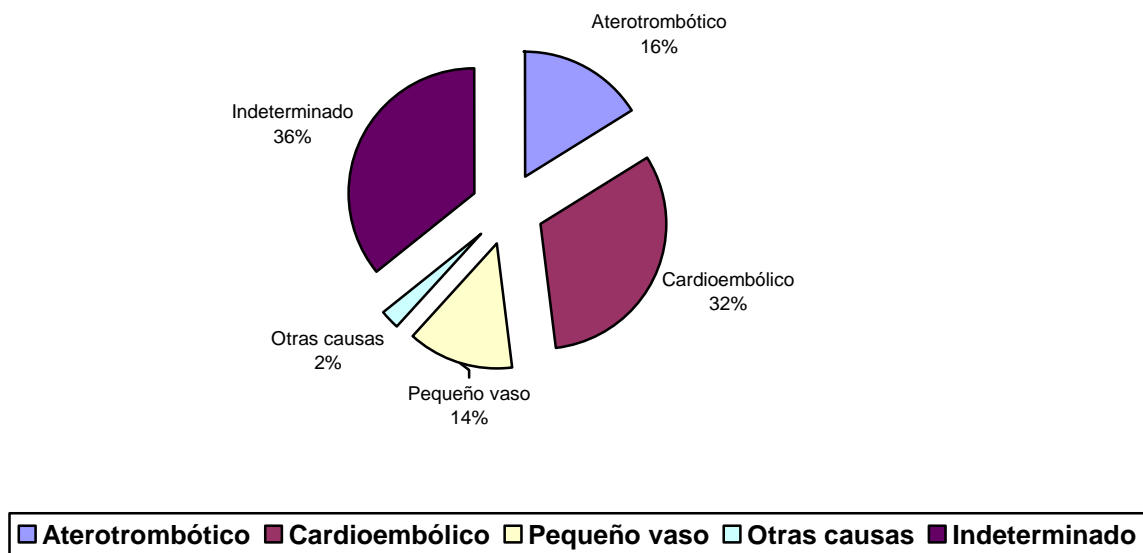


Imagen 4. Etiología del ictus según clasificación TOAST (porcentajes)

A los 3 meses, se determinó el pronóstico funcional mediante la escala de Rankin modificada (mRS) en los pacientes que completaron el seguimiento. En esta valoración se

perdieron 47 casos de la muestra (35,9%). La mediana en la escala mRS de la muestra fue de 1 (discapacidad no significativa). Se determinó que el 38,9% de los pacientes presentaban un pronóstico funcional favorable (no discapacidad o discapacidad ligera, mRS<2) a los 3 meses, mientras que un 25,2% tuvieron una evolución desfavorable (discapacidad moderada o grave, muerte, mRS ≥3). (Imagen 5)

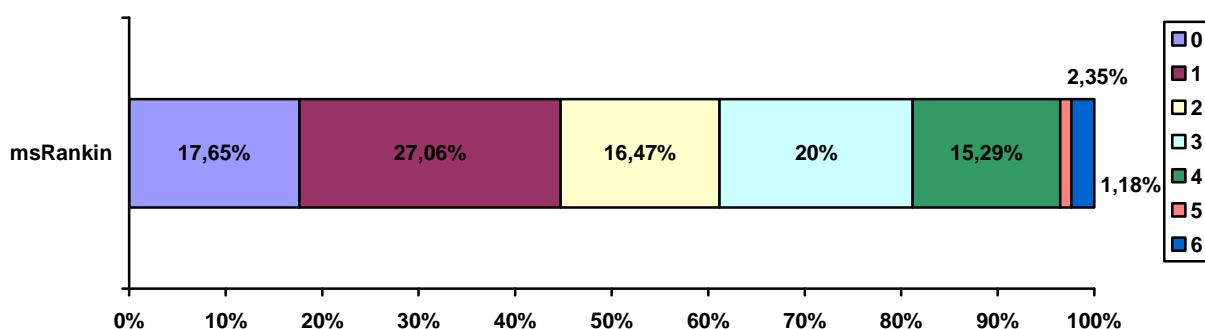


Imagen 5. Estado funcional a los 3 meses.

## 2. Comparación de grupo “No tratados” vs “Pre-tratados” en relación a las características clínicas basales.

Se dividió la muestra en dos grupos: aquellos que recibían estatinas previamente al infarto cerebral (n=42, 32,1%) y aquellos que no estaban tratados (n=89, 67,9%).

|                         | Grupo Pre-tratado Con Estatinas<br>n=42 (32,1%) | Grupo no tratado<br>con Estatinas<br>n=89 (67,9%) | P                 |
|-------------------------|---|---|-------------------|
| Edad                    | 71,1±10,1                                       | 71,9±12,7   | p=0,694           |
| Sexo, hombre (%)        | 61,9% (26)                                      | 62,9% (56)  | p=0,911           |
| Hipertensión arterial   | 85,7% (36)                                      | 65,2% (58)  | <b>p=0,015</b>    |
| Diabetes mellitus       | 35,7% (15)                                      | 25,8% (23)  | P=0,245           |
| Dislipemia              | 81% (34)  | 15,5% (14)  | <b>p&lt;0,001</b> |
| Cardiopatía isquémica   | 40,5% (17)                                      | 11,2% (10)  | <b>p=0,0002</b>   |
| Arteriopatía periférica | 11,9% (5)                                       | 4,5% (4)  | p=0,126           |
| Enolismo                | 2,4% (1)  | 4,5% (4)  | p=0,583           |
| Tabaquismo              | 7,1% (3)  | 23,6% (21)  | <b>p=0,023</b>    |

Tabla 6. Comparación entre grupo de “pre-tratados” y “no tratados” con estatinas

Los grupos fueron similares en cuanto a edad y sexo. En cuanto a los factores de riesgo vascular, no se observaron diferencias significativas en cuanto a la historia previa de diabetes melitus ni consumo enólico, mientras que hubo una mayor frecuencia de hipertensión arterial ( $p=0.015$ ), dislipemia ( $p<0,001$ ) en el grupo pre-tratado y una mayor prevalencia de tabaquismo ( $p=0.023$ ) en el grupo no tratado con estatinas. La historia de cardiopatía isquémica fue más frecuente en el grupo pre-tratado con estatinas ( $p=0,0002$ ). (Tabla 6).

En cuanto al tabaquismo, se compararon muestras en relación con el tabaquismo activo.

| TABAQUISMO | Muestra total | Grupo pretratados | Grupo no tratados |
|------------|---------------|-------------------|-------------------|
| Activo     | 19,1% (25)    | 7,1% (3)          | 24,7% (22)        |
| Exfumador  | 30,5% (40)    | 40,5%(17)         | 25,8% (23)        |
| No fumador | 47,6% (59)    | 45,2% (19)        | 44,9% (40)        |

Tabla 7. Proporción de tabaquismo en ambos grupos.

Respecto a la etiología según la clasificación TOAST, en el grupo de **no tratados** observamos un mayor porcentaje de pacientes con etiología indeterminada (39.3%), seguido de cardioembólica (25.8%), aterotrombótica (19.1%) y enfermedad de pequeño vaso (13.5%), pese a que las diferencias no son estadísticamente significativas ( $p = 0,171$ ). (Imagen 6).

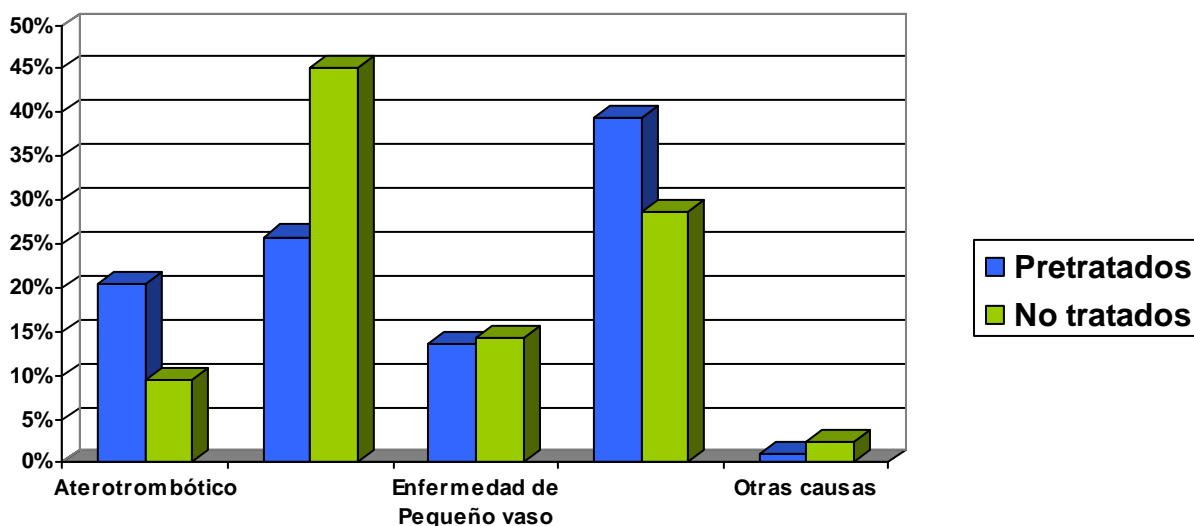


Imagen 6. Distribución de los grupos etiológicos en los pacientes "no-tratados" con estatinas.

Dentro del grupo de pre-tratados con estatinas, la etiología más frecuente fue la cardioembólica (45.2%), seguida de la etiología indeterminada (28.6%), la enfermedad de pequeño vaso (14.3%) y la aterotrombótica (9.5%).

### 3. Comparación de CPEs en No tratados vs Pretratados en relación al recuento de CPEs.

Existen diferencias entre grupos de pacientes con un ictus isquémico que han recibido estatinas previamente con respecto a aquellos que no las han recibido, en cuando al porcentaje de células progenitoras endoteliales. El tratamiento previo con estatinas se asocia a un mayor recuento de CPEs durante la fase aguda (primeras 48 horas) y subaguda (7 días) del ictus isquémico ( $p=0.015$  y  $p=0.029$ , respectivamente).

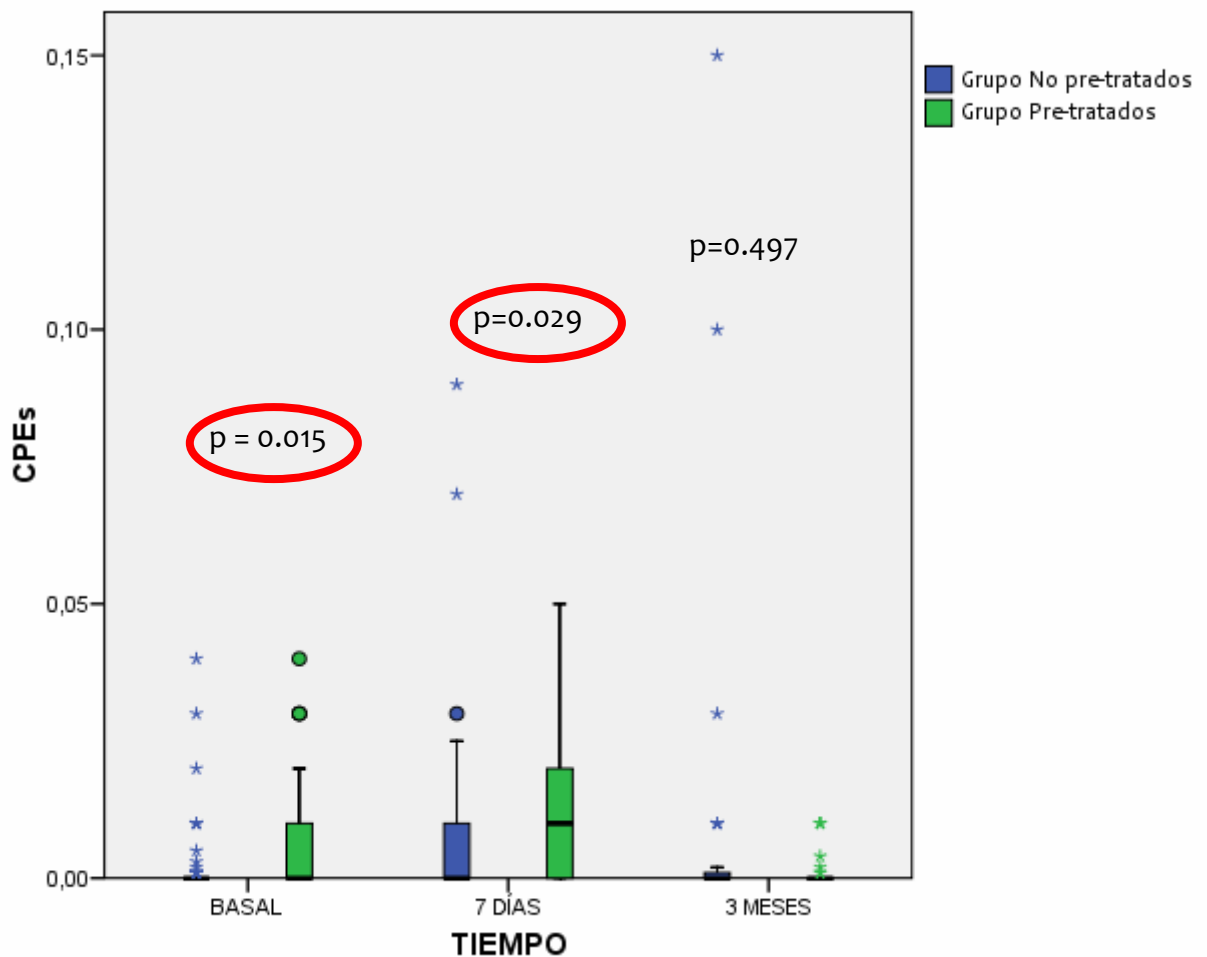


Imagen 7. Comparativa de CPEs entre grupos.

Mediante un diagrama de cajas comparamos la proporción de CPEs en los diferentes momentos en ambos grupos. La “caja” muestra el rango intercuartílico (25-75) de las proporciones de CPEs mientras que las barras verticales muestran la dispersión de los datos (vemos una mayor dispersión en la proporción de CPEs en el grupo de tratados). Los asteriscos muestran los valores extremos.

Si solamente analizamos aquellos casos en los que se tienen las 3 muestras y comparamos el grupo de pre-tratados (n=30) vs los no tratados (n=41), se continúan observando diferencias significativas en el momento basal ( $p=0,02$ ) y una tendencia a los 7 días ( $p=0,058$ ).

#### 4. Valoración pronóstica

Comparando el pronóstico funcional de ambos grupos a los 3 meses (n=84), agrupado en favorable (mRS entre 0 y 1) y desfavorable (mRS 2-6) no apreciamos diferencias significativas entre ellos ( $p=0,875$ ).

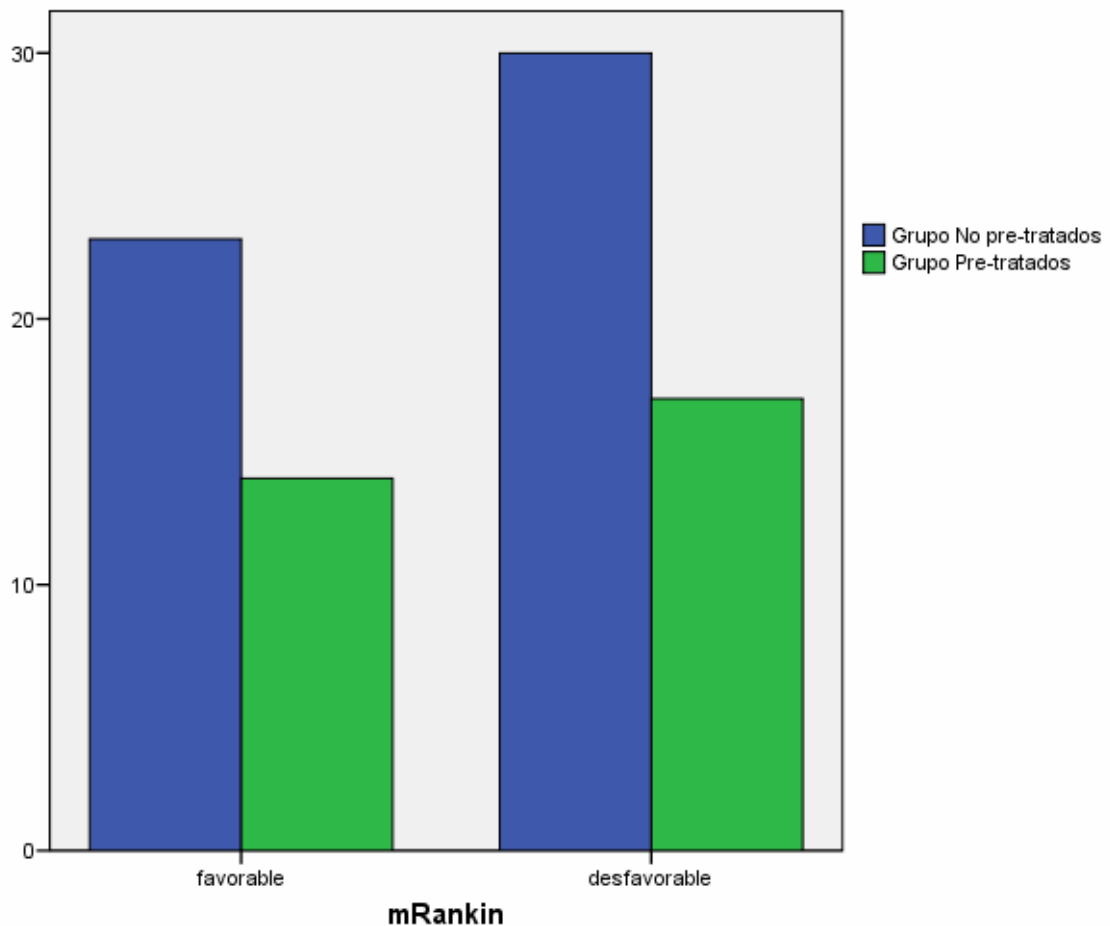


Imagen 8. Comparativa según pronóstico funcional.

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Los resultados de este estudio muestran una asociación entre el pre-tratamiento con estatinas y un mayor porcentaje de células progenitoras endoteliales en ictus isquémico agudo y subagudo.

Las diferencias respecto a las características demográficas, los factores de riesgo cardiovascular y enfermedad aterosclerótica previa, entre el grupo de pre-tratados frente al de no tratados, no eran significativas excepto por la historia de hipertensión arterial, dislipemia y cardiopatía isquémica. Esta relación era esperable puesto que fueron las razones principales por las que los pacientes se trataron con estatinas. No se encontraron diferencias significativas respecto al porcentaje de células progenitoras endoteliales a los 3 meses de haberse producido el ictus, atribuible principalmente a que la mayor parte de los pacientes llegados a Urgencias las recibían dentro de las primeras horas. No se observaron diferencias significativas en cuanto al pronóstico funcional a los 3 meses entre grupos.

Dosis bajas de estatinas producen un aumento en la proliferación, migración e inhibición de la apoptosis<sup>28</sup>. Sus efectos podrían estar relacionados con la dosis de dicho fármaco y el mecanismo iría ligado a una mayor biodisponibilidad de la óxido nítrico sintetasa endotelial. También se conoce que a través de los isoprenoides, formados como consecuencia de la depleción de intermediarios de la vía del colesterol, las estatinas juegan un importante papel en el crecimiento celular, la transducción de señales y la mitogénesis. Estudios en ratones a los que se administraron estatinas mostraron un aumento de células endoteliales progenitoras en sangre periférica, así como mayores presiones de perfusión, un mayor número de colaterales y una mayor densidad capilar. Se ha demostrado que este hecho puede atenuar el daño isquémico, mediante la mejora de flujo sanguíneo al tejido afectado y produciendo así una mayor resistencia a los efectos de la isquemia<sup>29</sup>.

En humanos, estudios sobre coronariopatía estable tratados con atorvastatina han demostrado un incremento significativo de CPEs a partir de 7 días de tratamiento, así como un aumento de su capacidad migratoria en respuesta a VEGF<sup>10</sup>.

Los estudios realizados con estatinas fueron los primeros que demostraron la posibilidad de modular farmacológicamente los niveles sistémicos de CPEs.

**Hasta la fecha se han publicado estudios acerca de células progenitoras y estatinas *in vitro*, en animales de experimentación y en pacientes con cardiopatía isquémica. Sin embargo, no existen estudios en el campo de la enfermedad cerebrovascular.**

Las principales limitaciones del estudio son el bajo número de pacientes estudiados (n=131) y las pérdidas a lo largo de los 3 meses. La recogida de datos mediante anamnesis nos impide asegurar el cumplimiento terapéutico previo al infarto cerebral y, además, el tipo y dosis de estatinas varía en los pacientes pretratados. Se añade la falta de niveles de colesterol previo al ictus y tras el episodio, para certificar que los resultados son independientes de un hipotético descenso de los niveles. En este sentido también sería necesario un análisis multivariante que descartase que los resultados no se ven alterados por las diferencias entre grupos.

**En conclusión, este estudio muestra la asociación entre el pre-tratamiento con estatinas y una mayor proporción de CPEs en fases precoces del ictus, que podría sugerir el proceso por el cual las estatinas se relacionan con un mejor pronóstico funcional tras un infarto cerebral.**

En el futuro se deberían continuar los estudios sobre los mecanismos de reparación tisular en el infarto cerebral, para reducir la importante repercusión que estas enfermedades producen.



## BIBLIOGRAFÍA

1. Plan de Atención Sanitaria del Ictus, Documento de consenso elaborado por un Comité ad-hoc del Grupo de Estudio de las Enfermedades Cerebrovasculares de la Sociedad Española de Neurología (GEECVSEN) y aprobado por los miembros del GEECV-SEN y por el Comité Científico de la SEN.
2. Instituto Nacional de Estadística. Datos de 2008. [www.ine.es](http://www.ine.es)
3. Urbich C, Dimmeler S. Endothelial progenitor cells: characterization and role in vascular biology. *Circulation Research*. 2004;95(4):343-353.
4. Asahara T. Isolation of Putative Progenitor Endothelial Cells for Angiogenesis. *Science*. 1997;275(5302):964-966.
5. Caplice NM, Doyle B. Vascular progenitor cells: origin and mechanisms of mobilization, differentiation, integration, and vasculogenesis. *Stem Cells and Development*. 2005;14(2):122-139.
6. Rouhl RPW, Van Oostenbrugge RJ, Damoiseaux J, Tervaert J-WC, Lodder J. Endothelial progenitor cell research in stroke: a potential shift in pathophysiological and therapeutical concepts. *Stroke: A Journal of Cerebral Circulation*. 2008;39(7):2158-2165.
7. Zhang Y, Ingram DA, Murphy MP, et al. Release of proinflammatory mediators and expression of proinflammatory adhesion molecules by endothelial progenitor cells. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*. 2009;296(5):H1675-H1682.
8. Vasa-Nicotera M, Fichtlscherer S, Aicher A, et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circulation Research*. 2009;89(1):E1-E7.
9. Hill JM, Zalos G, Halcox JP, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *The New England Journal of Medicine*. 2003;348(7):593-600.
10. Schmidt-Lucke C, Rössig L, Fichtlscherer S, et al. Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair. *Circulation*. 2005;111(22):2981-2987.
11. Vasa-Nicotera M, Fichtlscherer S, Adler K, et al. Increase in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease. *Circulation*. 2009;103(24):2885-2890.
12. Lev EI, Kleiman NS, Birnbaum Y, Harris D, Korbling M, Estrov Z: Circulating Endothelial Progenitor Cells and Coronary Collaterals in Patients with Non-ST Segment Elevation Myocardial Infarction. *J Vasc Res* 2005;42:408-414

13. Satoshi Shintani, Toyooki Murohara, Hisao Ikeda, Takafumi Ueno, Tomoki Honma, Atsushi Katoh, Ken-ichiro Sasaki, Toshifumi Shimada, Yuichi Oike, and Tsutomu Imaizumi Mobilization of Endothelial Progenitor Cells in Patients With Acute Myocardial Infarction Circulation, Jun 2001; 103: 2776 - 2779.
14. Ghani U, Shuaib A, Salam A, et al. Endothelial progenitor cells during cerebrovascular disease. *Stroke: A Journal of Cerebral Circulation*. 2005;36(1):151-153.
15. Sobrino T, Hurtado O, Moro MA, et al. The increase of circulating endothelial progenitor cells after acute ischemic stroke is associated with good outcome. *Stroke: A Journal of Cerebral Circulation*. 2007;38(10):2759-2764.
16. Medicamentos un viaje a lo largo de la evolución histórica del descubrimiento de fármacos. Enrique Raviña Rubira, Universidade de Santiago de Compostela, 2008.
17. Bradley N Manktelow, John F Potter. Intervenciones en el tratamiento de los lípidos séricos para prevenir la recurrencia de accidentes cerebrovasculares (Revision Cochrane traducida). En: *Biblioteca Cochrane Plus* 2009 Número 3. Oxford: Update Software Ltd.)
18. Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels (SPARCL) Investigators (2006). High-dose atorvastatin after stroke or transient ischemic attack. *New England Journal of Medicine*, 355(6): 549–559.
19. Sillesen H, Amarenco P, Hennerici MG; Callahan A, Goldstein LB, Zivin J, et al. Atorvastatin reduces the risk of cardiovascular events in patients with carotid atherosclerosis: a secondary analysis of the Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels (SPARCL) trial. *Stroke* 2008; 39:3297-302.
20. Martí-Fàbregas J, Gomis M, Arboix A, et al. Favorable outcome of ischemic stroke in patients pretreated with statins. *Stroke: A Journal of Cerebral Circulation*. 2004;35(5):1117-1121.
21. Reeves MJ, Gargano JW, Luo Z, et al. Effect of pretreatment with statins on ischemic stroke outcomes. *Stroke: A Journal of Cerebral Circulation*. 2008;39(6):1779-1785.
22. Arboix et al., Pretreatment with statins improves early outcome in patients with first-ever ischaemic stroke: a pleiotropic effect of statins or a beneficial effect hypercholesterolemia? *BMC Neurology* 2010, 10:47
23. M. Blanco, F. Nombela, M. Castellanos, et al Statin treatment withdrawal in ischemic stroke: A controlled randomized study *Neurology* August 28, 2007 69:904-910
24. Yoon SS, Dambrosia J, Chalela J, et al. Rising statin use and effect on ischemic stroke outcome. *BMC Medicine*. 2004;2:4
25. Vaughan CJ, Delanty N. Neuroprotective properties of statins in cerebral ischemia and stroke. *Stroke: A Journal of Cerebral Circulation*. 1999;30(9):1969-1973.

26. Walter DH, Rittig K, Bahlmann FH, et al. Statin therapy accelerates reendothelialization: a novel effect involving mobilization and incorporation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Circulation*. 2002;105(25):3017-3024.
27. Chen J, Zhang C, Jiang H, et al. Atorvastatin induction of VEGF and BDNF promotes brain plasticity after stroke in mice. *Journal of cerebral blood flow and metabolism official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 2005;25(2):281-290.
28. Shao H, Tan Y, Eton D, et al. Statin and stromal cell-derived factor-1 additively promote angiogenesis by enhancement of progenitor cells incorporation into new vessels. *Stem Cells*. 2008;26(5):1376-1384.
29. Walter DH, Rittig K, Bahlmann FH, et al. Statin therapy accelerates reendothelialization: a novel effect involving mobilization and incorporation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Circulation*. 2002;105(25):3017-3024.

## ANEXO 1. TABLA ESTATINAS

Bradley N Manktelow, John F Potter. Intervenciones en el tratamiento de los lípidos séricos para prevenir la recurrencia de accidentes cerebrovasculares (Revision Cochrane traducida).

En: *Biblioteca Cochrane Plus* 2009 Número 3. Oxford: Update Software Ltd.

\*Plehn JF, Davis BR, Sacks FM, Rouleau JL, Pfeffer MA, Bernstein V, et al. Reduction of stroke incidence after myocardial infarction with pravastatin: the Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Study. *Circulation* 1999; **99**(2): 216-23.

The LIPID Study Group. Long-term effectiveness and safety of pravastatin in 9014 patients with coronary heart disease and average cholesterol concentrations: the LIPID trial follow-up. *Lancet* 2002; **359**: 1379-87.

Heart Protection Study Collaborative Group. Effects of cholesterol-lowering with simvastatin on stroke and other major vascular events in 20,536 people with cerebrovascular disease or other high-risk conditions. *Lancet* 2004; **363**: 757-67.

SPARCL Investigators. High-dose atorvastatin after stroke or transient ischemic attack. *New England Journal of Medicine* 2006; **355**(6): 549-59. [MEDLINE: 16899775]

Kennedy J, Hill MD, Ryckborst KJ, Eliasziw M, Demchuk AM, Buchan AM. Fast assessment of stroke and transient ischaemic attack to prevent early recurrence (FASTER): a randomised controlled pilot trial. *Lancet Neurology* 2007; **6**: 961-9

## ANEXO 3. CLASIFICACIÓN ETIOLÓGICA SEGÚN CRITERIOS sssTOAST

Ay H, Furie KL, Singhal A, et al. An evidence-based causative classification system for acute ischemic stroke. *Annals of Neurology*. 2005;58(5):688-697.

## Anexo 1. Estudios sobre estatinas.

| ESTUDIO   | INTERVENCIÓN   | PACIENTES  | CRITERIOS DE INCLUSIÓN   | MEDIDA DE RESULTADO   | CONCLUSIÓN:  |
|---|--|--|--|---|--|
| CARE<br>(1989-1996)<br>USA                        | Pravastatina 40 mg/día vs placebo (5 años)   | 4159<br><br>(211 con ictus o AIT previo)                       | Infarto de miocardio agudo (IAM) entre 7 y 20 meses previos.<br>Glicemia < 220 mg/dl<br>Colesterol < 240 mg/dL<br>FEV1>25%, no clínica de insuficiencia cardíaca.                              | Análisis de subgrupos.<br>Primario: reducción de la concentración de colesterol.<br>Primer estudio a gran escala que valora el ictus como resultado secundario.<br>Clasifica ictus según patogenia. | Reducción del riesgo relativo un 32% (p=0,03)<br>No aumento del riesgo de hemorragias.<br>*sesgo por mayor patología aterotrombótica.  |
| LIPID<br>(1990-1996)<br>Australia y Nueva Zelanda | Fase doble ciego (6 años): Pravastatina 40 mg/día vs placebo. Todos dieta.<br>Fase abierta (2 años): Todos tratados con Pravastatina 40 mg | 9014 pacientes<br><br>(369 con ictus previo)                   | IAM o diagnóstico de angor inestable 3-36 meses antes.<br>Nivel de colesterol 4-7 mmol/L   | Análisis de subgrupos.<br>El ictus es un objetivo secundario (infarto isquémico).   | Por cada 1000 tratados se previenen 11 ictus en el seguimiento a 8 años.<br>NNT = 93.  |
| HPS<br>(1994-2001)<br>UK                          | Simvastatina 40 mg (5 años)<br>(paralelo placebo-control)  | 20536 pacientes<br>3280 con ictus previo                       | 40-80 años<br>Colesterol < 3,5 mmol/L<br>Historia previa de: enfermedad cerebrovascular, cardiopatía isquémica, diabetes mellitus, hipertensión arterial en tratamiento durante más de 5 años. | Análisis por subgrupos en eventos de cardiovasculares mayores.  | Reducción de un 25% de la incidencia de un primer ictus, un 30% para ictus isquémicos, sin aumento de ictus hemorrágicos.<br>En pacientes con ictus pre-existente no hay reducción aparente en la incidencia de ictus. |
| SPARCL<br>(1998-2001)<br>Varios países            | Doble ciego: Atorvastatina 80 mg/día vs placebo (5 años)   | 4731 pacientes   | >18 años<br>Ictus o AIT en 1-6 meses previos.<br>Colesterol 100-190 mg/dL<br>Exclusión sin cardiopatía o hemorragia subaracnoidea.   | Primario: Tiempo desde la aleatorización hasta un primer ictus no letal o letal.<br>Secundarios: ictus o AIT,   | Reducción de el riesgo absoluto de ictus 2.2%.<br>Leve incremento de la incidencia de ictus hemorrágico.   |
| FASTER<br>(2003-2006)<br>Canada                   | Placebo vs clopidogrel 75mg/día vs simvastatina 40 mg/día (90 días)  | 392 pacientes<br>* Interrumpido por problemas en la inclusión. | > 40 años<br>Minor stroke (NIHSS < 3)<br>Dentro de las 24 primeras horas   | Primario: ictus de cualquier tipo dentro de los primeros 90 días  | No diferencias significativas en cuanto a simvastatina/placebo.<br>No diferencias en cuanto eventos de seguridad.  |

Anexo 2 Escala de Rankin Modificada (mRS)

**Escala de Rankin (Modificada)**

|           |   |  |
|-----------|---|--|
| <b>0.</b> | <b>Sin síntomas.</b>                    |  |
| <b>1.</b> | <b>Sin incapacidad importante</b>       | Capaz de realizar sus actividades y obligaciones habituales.   |
| <b>2.</b> | <b>Incapacidad leve</b>                 | Incapaz de realizar algunas de sus actividades previas, pero capaz de velar por sus intereses y asuntos sin ayuda.   |
| <b>3.</b> | <b>Incapacidad moderada</b>             | Síntomas que restringen significativamente su estilo de vida o impiden su subsistencia totalmente autónoma (p. ej. necesitando alguna ayuda).                                    |
| <b>4.</b> | <b>Incapacidad moderadamente severa</b> | Síntomas que impiden claramente su subsistencia independiente aunque sin necesidad de atención continua (p. ej. incapaz para atender sus necesidades personales sin asistencia). |
| <b>5.</b> | <b>Incapacidad severa</b>               | Totalmente dependiente, necesitando asistencia constante día y noche.  |
| <b>6.</b> | <b>Muerte</b>                           |  |

### Anexo 3 Gravedad del infarto medida con la escala NIHSS

| NIHSS                                 |  |   |  |
|---------------------------------------|--|---|--|
| Ítems                                 |  | P | Exploración  |
| <b>1a. Nivel de conciencia</b>        | Alerta                                   | 0 | Vigil, nivel de conciencia normal.   |
|                                       | Somnoliento                              | 1 | Responde a estímulos verbales  |
|                                       | Estuporoso                               | 2 | Responde solo a estímulos dolorosos o repetitivos  |
|                                       | Coma                                     | 3 | Responde con reflejos motores o efectos autonómicos o no responde, flácido, arrefléctico   |
| <b>1b. Preguntas LOC (mes y edad)</b> | Responde ambas bien                      | 0 | En afasia y estupor se puntúa 2.   |
|                                       | Responde solo una bien                   | 1 | En incapacidad para emitir lenguaje no secundario a afasia (intubación, anartria...) se puntúa 1.  |
|                                       | Incorrecto                               | 2 | Solo se valora la respuesta inicial, sin ayuda.  |
| <b>1c. Órdenes LOC</b>                | Ambas bien                               | 0 | Dos órdenes sencillas: abrir y cerrar los ojos, abrir y cerrar el puño. Solo puntúa el primer intento. Si se hace el intento pero no se concluye la acción por debilidad también puntúa.   |
|                                       | Solo una bien                            | 1 |  |
|                                       | Incorrecto                               | 2 | Si no responde a la orden verbal se muestra la tarea a realizar.   |
| <b>2. Mirada</b>                      | Normal                                   | 0 | Se valoran movimientos oculares voluntarios o reflejos, en el plano horizontal.  |
|                                       | Parálisis parcial                        | 1 | 1 punto: mirada anormal en uno o ambos ojos, sin desviación oculocefálica ni parálisis total;  |
|                                       | Desviación oculocefálica                 | 2 | desviación conjugada de la mirada que puede ser vencida por actividad voluntaria o refleja; paresia periférica aislada (III, IV, VI pc). Si ceguera preexistente, alteración de la agudeza visual o campos visuales u otros, explorar con movimiento reflejos. |
| <b>3. Campos visuales</b>             | Sin déficit campimétricos                | 0 | Campimetría por confrontación, mediante conteo de dedos o reflejo de amenaza, con estimulación simultánea de ambos ojos. Así se valora si existe extinción visual (ítem 11).   |
|                                       | Cuadrantanopsia homónima                 | 1 |  |
|                                       | H. homónima bilateral, ceguera           | 2 | Si ceguera preexistente se puntúa 3.   |
|                                       |  | 3 |  |
| <b>4. Parálisis facial</b>            | Movimientos normales y simétricos        | 0 | Enseñar los dientes, levantar las cejas y cerrar los ojos. Si no comprenden o poco reactivos puntuar la asimetría de la mueca con estímulos dolorosos.   |
|                                       | Paresia leve                             | 1 |  |
|                                       | Parálisis parcial                        | 2 |  |
|                                       | Parálisis completa                       | 3 |  |
| <b>5a. MSI</b>                        | No claudica (5/5)                        | 0 | Extender brazos con palmas hacia abajo, 90° si en sedestación o 45° si en decúbito supino. Claudica cuando el brazo cae antes de 10".  |
|                                       | Claudica (4/5)                           | 1 |  |
|                                       | Contra gravedad, con resistencia         | 2 |  |
| <b>5b. MSD</b>                        | Contra gravedad, sin resistencia (3/5)   | 3 | En decúbito supino, extender las piernas 30°. Claudica si cae antes de 5".   |
| <b>6a. MII</b>                        | Contra gravedad, sin resistencia (1-2/5) |   | Amputación o fusión articular en cadera se puntúa 9 y se explica el por qué.   |
| <b>6b. MID</b>                        | Sin movimiento (0/5)                     | 4 |  |
| <b>7. Ataxia de miembros</b>          | Ausente                                  | 0 | Maniobras dedo-nariz y talón-rodilla para descartar lesión cerebelosa unilateral. Con ojos abiertos. Se puntúa cuando dismetría desproporcional a la debilidad. Si amputación o fusión articular se puntúa 9 y se explica.                                     |
|                                       | Una extremidad                           | 1 |  |
|                                       | Dos extremidades                         | 2 |  |
| <b>8. Sensibilidad</b>                | Normal                                   | 0 | Brazos, piernas, tronco y cara.  |
|                                       | Hipoestesia leve-moderada                | 1 | En afasias o estupor valorar muecas ante pinchazo o retirada con estímulos dolorosos.  |
|                                       | Hipoestesia grave o anestesia            | 2 | 2 puntos, otras situaciones: pérdida bilateral de sensibilidad; cuatriplegia; coma.  |
|                                       |  |   |  |
| <b>9. Lenguaje (afasia)</b>           | Normal                                   | 0 | Sin afasia   |
|                                       | Afasia leve-moderada                     | 1 | Errores de nominación, parafasias y/o afectación de la comprensión/expresión, sin gran limitación.   |
|                                       | Afasia grave                             | 2 | Af. de Broca, Wernicke, Transcortical, nominal.  |
|                                       | Afasia global o mutismo                  | 3 | 3 puntos, otras situaciones: coma. Si están intubados se le pide que escriban.   |
| <b>10. Disartria</b>                  | No hay                                   | 0 | Si intubado u otras barreras físicas que impidan lenguaje se puntúa 9, con explicación añadida.  |
|                                       | Leve-moderada                            | 1 |  |
|                                       | Grave o anartria                         | 2 |  |
| <b>11. Extinción</b>                  | No hay                                   | 0 | Sin alteraciones.  |
|                                       | Parcial                                  | 1 | Inatención o extinción visual, táctil, auditiva, espacial o personal (solo una modalidad afectada)   |
|                                       | Completa                                 | 2 | Negligencia o extinción (más de una modalidad) Si déficit visual grave preexistente, con sensibilidad normal, se puntúa 0.   |



## Anexo 4 Clasificación etiológica según criterios sssTOAST

Table 1. Stop Stroke Study Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment (SSS-TOAST) Classification Criteria to Determine Causative Subtypes of Acute Ischemic Stroke

| Stroke Mechanism             | Level of Confidence   | Criteria   |
|------------------------------|---|--|
| Large artery atherosclerosis | Evident   | 1. Either occlusive or stenotic ( $\geq 50\%$ diameter reduction) vascular disease judged to be due to atherosclerosis in the clinically relevant extracranial or intracranial arteries, <sup>18,19,77</sup> and<br>2. The absence of acute infarction in vascular territories other than the stenotic or occluded artery  |
|                              | Probable  | 1. Prior history of one or more transient monocular blindness (TMB), transient ischemic attacks (TIAs), or stroke from the territory of index artery affected by atherosclerosis within the last month, <sup>22-24</sup> or<br>2. Evidence of near-occlusive stenosis or nonchronic complete occlusion judged to be due to atherosclerosis in the clinically relevant extracranial or intracranial arteries (except for the vertebral arteries), or<br>3. The presence of ipsilateral and unilateral internal watershed infarctions or multiple, temporally separate, infarctions exclusively within the territory of the affected artery <sup>25,26</sup>           |
|                              | Possible  | 1. The presence of an atherosclerotic plaque protruding into the lumen and causing mild stenosis ( $< 50\%$ ) in a clinically relevant extracranial or intracranial artery <sup>35-37</sup> and prior history of two or more TMBs, TIAs, or strokes from the territory of index artery affected by atherosclerosis, at least one event within the last month, or<br>2. Evidence for evident large artery atherosclerosis in the absence of complete diagnostic investigation for other mechanisms  |
| Cardioaortic embolism        | Evident   | The presence of a high-risk cardiac source of cerebral embolism (see Table 2)  |
|                              | Probable  | 1. Evidence of systemic embolism, <sup>27</sup> or<br>2. Presence of multiple acute infarctions that have occurred closely related in time within both right and left anterior or both anterior and posterior circulations in the absence of occlusion or near-occlusive stenosis of all relevant vessels; other diseases that can cause multifocal ischemic brain injury such as vasculitides, vasculopathies, and hemostatic or hemodynamic disturbances must not be present <sup>16,28</sup>  |
|                              | Possible  | 1. The presence of a cardiac condition with low or uncertain primary risk of cerebral embolism (see Table 2), or<br>2. Evidence for evident cardioaortic embolism in the absence of complete diagnostic investigation for other mechanisms   |
| Small-artery occlusion       | Evident   | Imaging evidence of a single clinically relevant acute infarction less than 20mm in greatest diameter within the territory of basal or brainstem penetrating arteries in the absence of any other pathology in the parent artery at the site of the origin of the penetrating artery (focal atheroma, parent vessel dissection, vasculitis, vasospasm, and so on)  |
|                              | Probable  | The presence of stereotypic lacunar TIAs within the past week <sup>29-32</sup>   |
|                              | Possible  | 1. Presenting with a classical lacunar syndrome in the absence of imaging that is sensitive enough to detect small infarctions, <sup>33,54</sup> or<br>2. Evidence for evident small artery occlusion in the absence of complete diagnostic investigation for other mechanisms   |
| Other causes                 | Evident   | Presence of a specific disease process that involves clinically appropriate brain arteries   |
|                              | Probable  | A specific disease process that has occurred in clear and close temporal relation to the onset of brain infarction such as arterial dissection, cardiac or arterial surgery, and cardiovascular interventions  |
|                              | Possible  | Evidence for an evident other cause in the absence of complete diagnostic investigation for mechanisms listed above  |
| Undetermined causes          | Unknown<br>(no "evident" or "possible" criteria for the causes (above)) | Cryptogenic embolism:<br>1. Angiographic evidence of abrupt cutoff consistent with a blood clot within otherwise angiographically normal looking intracranial arteries, or<br>2. Imaging evidence of complete recanalization of previously occluded artery, or<br>3. Presence of multiple acute infarctions that have occurred closely related in time without detectable abnormality in the relevant vessels <sup>16,28</sup><br>Other cryptogenic: those not fulfilling the criteria for cryptogenic embolism<br>Incomplete evaluation: absence of diagnostic tests that, up to the examiner's judgment, would have been essential to uncover the underlying cause |
|                              | Unclassified  | The presence of more than one evident mechanism where there is either probable evidence for each or no probable evidence to be able to establish a single cause  |