



Universidad de Valladolid

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN EN
CIENCIAS DE LA SALUD**

TESIS DOCTORAL:

**REALCE DE LA PLACA DE
ATEROSCLEROSIS INTRACRANEAL COMO
MARCADOR DE SU RIESGO CLÍNICO Y
ACTIVIDAD INFLAMATORIA**

**Presentada por Beatriz Gómez Vicente
para optar al grado de Doctora por la
Universidad de Valladolid**

**Dirigida por:
Juan Francisco Arenillas Lara
Jesús Agulla Freire
María Hernández Pérez
Valladolid 2023**

Agradecimientos

Siempre me he preguntado con qué frase comenzaría este apartado tan importante y con cierto sabor a despedida. Redactando estas líneas, recordé una frase que leí este verano en una peculiar escalera de colores que decía así: “¿Qué sería de la vida si nouviésemos el valor de intentar algo nuevo?”. Llegados al último peldaño de mi escalera particular llamada doctorado, vuelvo sobre mi misma y me pregunto ¿Qué hubiese sido de mi vida si no hubiera comenzado a subir?, ¿a qué me hubiera dedicado todo este tiempo?, ¿habría podido ser más feliz?. Sé que son preguntas que jamás tendrán respuesta y, lo cierto es que, agradezco enormemente que así sea, Siento que este camino me ha hecho madurar y crecer tanto como persona, que no querría imaginarme otra experiencia vital.

Tras todos estos años, reflexionar sobre mis comienzos y mi evolución, me permite afirmar que jamás hubiera podido llegar hasta aquí sin la inestimable ayuda de todas aquellas personas maravillosas que me han ayudado durante todo este tiempo.

En primer lugar, me gustaría agradecer a mis directores de tesis, los Drs. Juan Francisco Arenillas Lara, Jesús Agulla Freire y María Hernández Pérez la confianza que han depositado en mí. Juan, gracias a ti he llegado hasta aquí, eres unas de las mejores personas que he conocido y un excelente profesional. Muchísimas gracias por confiar en mí, por tu apoyo, tu guía y por ser un gran ejemplo a seguir. Sé que el día que nos conocimos, viste algo en mí, que solo tú sabías que existía. Gracias por haberme exigido cada día, por haber sido mi aliento y por estar siempre cerca.

Jesús, han sido muchas horas dedicadas a entender la parte “básica” del ictus y de la aterosclerosis. Gracias por tu tiempo, dedicación y tu infinita paciencia, siempre con una sonrisa y la mejor actitud. Espero que nada ni nadie te apague la energía positiva que transmites. Sé que nos quedan muchas más horas de conversación, compartiendo videollamadas y proyectos en común.

María, nos conocemos desde hace menos tiempo, pero la intensidad de lo vivido y lo compartido, me impulsa a también dedicarte una mención especial por el inmenso apoyo que me has brindado. Me abriste las puertas de tu hospital y de tu entorno, hiciste que la estancia contigo durante esos meses fuese una de las mejores experiencias de mi vida. Fueron meses “Covid” complicados pero siempre los recordaré con mucho cariño. Gracias por compartir conmigo tus conocimientos en neuroimagen, por dedicar tu tiempo a las “*imágenes-acuarelas*” como diría Denisse y por dejarte la vista en rastrear las diminutas placas intracraneales. Has sido una parte fundamental en mi formación. Espero que el futuro nos conceda la oportunidad de compartir más horas de trabajo y proyectos en común.

Parte de esta tesis ha sido posible gracias al apoyo y colaboración del equipo de Radiología y en especial de Marga. Gracias por la elaboración, puesta a punto de los protocolos con nombres difíciles de pronunciar y por compartir tus conocimientos con nosotros. Haces que lo difícil parezca fácil. Agradecer también a las enfermeras de la resonancia, siempre dispuestas a colaborar y facilitar el trabajo de esta tesis. No me puedo olvidar de Paco y Teresa, gracias por buscar siempre un hueco a tiempo en la apretada agenda de la resonancia.

También me gustaría tener una mención especial con Álvaro, la parte de citometría de esta tesis ha sido gracias a ti. Gracias por las horas de citómetro compartidas conmigo.

Gracias a todos mis compañeros/as del servicio de neurología. Especialmente quiero agradecer al equipo de la unidad de ictus, mis niñas, gracias por ser tan generosas conmigo, por poder contar siempre con vosotras y por enseñarme tanto a lo largo de estos años. Ana, Elisa, Mercedes, Mary y Alicia, gracias por ser un ejemplo a seguir, por el apoyo constante y por vuestra paciencia. Javier, te has convertido en un buen amigo. Sé que sin ti y tu apoyo no hubiese llegado hasta aquí. Gracias de corazón por enseñarme tanto de investigación, de proyectos y de ensayos clínicos.

En lo personal, nunca podré agradecer lo suficiente a mi familia todo lo que ha hecho por mí. Gracias a mis padres por enseñarme lo importante que es perseguir nuestros sueños, por enseñarme a ser valiente y llegar hasta el final. De ellos he aprendido a ser una persona comprometida y constante, se que han sido muchos meses de sacrificio pero han merecido la pena. A mi hermana, por ser tan alegre, feliz y ser siempre un gran apoyo. A mis dos perretes, por su amor incondicional y por estar dispuestos a recorrer media ciudad para ordenar ideas y encontrar soluciones. Manu, mi mejor amigo y compañero de vida, gracias por tu inmersa paciencia, por entenderme y comprenderme, lamento las ausencias de estos últimos meses, No me puedo olvidar de mis grandes amigas, mis Mónicas, Raquel, Carmen, Marta, Laura, gracias por escucharme y alegrarme la vida.

Para finalizar me gustaría agradecer a todos los pacientes que han participado en este proyecto de manera tan generosa.

Índice de acrónimos

AIT	Ataque Isquémico Transitorio
AB	Arteria Basilar
ACA	Arteria Cerebral Anterior
ACI	Arteria Carótida Interna en su porción intracraneal
ACM	Arteria Cerebral Media
APOE	Apolipoproteína E
ACP	Arteria Cerebral Posterior
ARM	Angiografía por Resonancia Magnética
ATC	Angiografía por Tomografía Computarizada
AV	Arteria Vertebral en su segmento intracraneal
AVAD	Años de Vida Ajustados por Discapacidad
Barcelona AsIA	Estudio Aterosclerosis Intracraneal Asintomática en Barcelona
bFGF	Factores de Crecimiento
CANTOS	Canakinumab Antiinflammatory Thrombosis Outcome Study
CICAS	Cohorte del estudio Chinese Intracranial Atherosclerosis
CIRT	Ensayo Cardiovascular Intervention Reduction
CML	Células Musculares Lisas
CO2	Dióxido de Carbono
COLCOT	Colchicine Cardiovascular Outcomes Trial
CONVINCE	Ensayo clínico con colchicina a bajas dosis
DM	Diabetes Mellitus
DS	Desviación estandar
DWI	Diffusion-Weighted Imaging

ECV	Enfermedad Cerebrovascular
ESUS	Ictus isquémico de etiología indeterminada
FFE	Fast Field Echo
FLAIR	FLuid-Attenuated Inversion Recovery
FOV	Campo de visión
GBD	Global Burden of Disease
	Groupe d'Etude des Stenoses Intra-Crâniennes Athéromateuses
GESICA	symptomatiques
HbA1c	Hemoglobina glicosilada
HCUV	Hospital Clínico Universitario de Valladolid
HDL	Lipoproteínas de Alta Densidad
HR	Hazard Ratio
HRMRI	High-Resolution Magnetic Resonance Imaging
HSB	Hiperintensidad de la Sustancia Blanca
HTA	Hipertensión Arterial
HUGTIP	Hospital Universitari Germans Trias i Pujol
HUVH	Hospital Universitari Vall d'Hebron
IAM	Infarto Agudo de Miocardio
IC	Intervalo de Confianza
ICAM-1	Molécula de Adhesión Intercelular 1
IL -6	Interleucina-6
IL 8	Interleucina 8
IL1	Interleucina-1
IL12	Interleucina 12
KO	Knock Out

LDL	Lipoproteínas de Baja Densidad
LoDoCo	Low-Dose Colchicine
M1	Macrófagos pro-inflamatorios
M2	Macrófagos anti-inflamatorios
MCP-1	Proteína Quimiotáctica de Monocitos 1
Mon1	Monocitos clásicos
Mon2	Monocitos intermedios
Mon3	Monocitos no clásicos
N/A	No Aplica
NIHSS	Escala National Institutes of Health Stroke
NO	Óxido Nítrico
O2	Oxígeno
OR	Odd Ratio
OXVASC	Oxford Vascular Study
PCR	Proteína C Reactiva
RM	Resonancia Magnética
RR	Ratio de remodelación arterial
ROC	Receiver Operating Characteristic (Característica Operativa del Receptor)
ROS	Especies Reactivas de Oxígeno
	Stenting and Aggressive Medical Management for Preventing Recurrent
SAMMPRIS	Stroke in Intracranial Stenosis
SAP-E)	Plan de acción para el ictus en Europa
STROBE	Reportar estudios observacionales en epidemiología
SWI	Susceptibility-Weighted Imaging
TCO	Tomografía de Coherencia Óptica

TOAST	Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment
TOF	Time-Of-Flight
TOF-ARM	Angiografía por Resonancia Magnética
TOSS-2	CilOstazol in Symptomatic Intracranial Stenosis 2
TSE	Turbo Spin Echo
VCAM-1	Molécula de Adhesión Vascular 1
WASID	Warfarin versus Aspirin for Symptomatic Intracranial Disease

Índice

AGRADECIMIENTOS	4
ÍNDICE DE ACRÓNIMOS	7
RESUMEN	14
ABSTRACT	16
1. INTRODUCCIÓN	21
1.1. CONCEPTO DE ICTUS Y EPIDEMIOLOGÍA	21
1.1.1. <i>Definición, concepto y datos epidemiológicos.</i>	21
1.1.2. <i>Causas de ictus isquémico.</i>	22
1.2. ATEROSCLEROSIS: GENERALIDADES	25
1.2.1. <i>Implicación de los monocitos en la aterogénesis</i>	28
1.3. ATEROSCLEROSIS INTRACRANEAL DE GRAN VASO	32
1.3.1. <i>Características diferenciales de aterosclerosis intracraneal</i>	32
1.3.2. <i>Problemas clínicos asociados a la aterosclerosis intracraneal</i>	36
1.4. IMAGEN DE PLACA DE ATEROSCLEROSIS INTRACRANEAL	47
1.4.1. <i>HRMRI visualización de la pared arterial y placa intracraneal</i>	48
1.4.2. <i>Imagen HRMRI en la predicción del riesgo de recurrencia</i>	49
1.4.3. <i>Realce post-contraste de la pared y de la placa intracraneal.</i>	53
1.5. INFLAMACIÓN ARTERIAL Y RIESGO EN LA ATEROSCLEROSIS INTRACRANEAL	61
1.6. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO	65
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	71
3. METODOLOGÍA	75
3.1. DISEÑO DE LOS ESTUDIOS	75
3.2. POBLACIÓN DEL ESTUDIO.....	76
3.3. VARIABLES BASALES CLÍNICAS	80
3.4. PROTOCOLO DE NEUROIMAGEN.....	81
3.4.1. <i>Protocolo de neuroimagen para la selección de los participantes</i>	81
3.4.2. <i>Protocolo de neuroimagen para estudio de pared arterial por resonancia magnética de alta resolución.</i>	82
3.5. ANÁLISIS DE LAS IMÁGENES	86
3.6. PROTOCOLO DE ESTUDIO DE MUESTRAS SANGUÍNEAS.	94
3.6.1. <i>Protocolo para análisis de monocitos por citometría de flujo</i>	95

3.7.	SEGUIMIENTO DE LOS PACIENTES	97
3.8.	VARIABLES PRONÓSTICAS	98
3.9.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	98
4.	RESULTADOS.....	103
4.1.	RESULTADOS EN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN 1: CAPTACIÓN DE LA PLACA ATEROSCLERÓTICA INTRACRANEAL Y RIESGO A LARGO PLAZO DE FUTUROS EVENTOS CEREBROVASCULARES.	103
4.1.1.	<i>Características de la muestra</i>	<i>103</i>
4.1.2.	<i>Características de las variables radiológicas</i>	<i>106</i>
4.1.3.	<i>Seguimiento a largo plazo</i>	<i>109</i>
4.1.4.	<i>Identificación del punto de corte de hiperintensidad post-contraste para la predicción de nuevos eventos cerebrovasculares</i>	<i>109</i>
4.1.5.	<i>Análisis de la supervivencia libre de futuros eventos cerebrovasculares.....</i>	<i>114</i>
4.2.	RESULTADOS EN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN 2: CARACTERIZACIÓN DEL REALCE POST- CONTRASTE COMO MARCADOR DE ACTIVIDAD INFLAMATORIA DE LAS PLACAS DE ATROSCLOSIS INTRACRANEAL.....	117
4.2.1.	<i>Características de la muestra.....</i>	<i>117</i>
4.2.2.	<i>Comparación de los diferentes subgrupos de sujetos en función de los hallazgos encontrados en la resonancia magnética de pared arterial en el momento de inclusión.</i>	<i>125</i>
4.2.3.	<i>Distribución de las poblaciones de monocitos entre los diferentes subgrupos de pacientes</i>	<i>127</i>
5.	DISCUSIÓN.....	139
5.1.	REALCE POST-CONTRASTE DE LA PLACA ATROSCLERÓTICA INTRACRANEAL Y RIESGO A LARGO PLAZO DE FUTUROS EVENTOS CEREBROVASCULARES	139
5.1.1.	<i>Síntesis de los resultados:.....</i>	<i>139</i>
5.1.2.	<i>Consideraciones generales</i>	<i>139</i>
5.2.	REALCE POST-CONTRASTE DE LA PARED Y DE LA PLACA INTRACRANEAL Y LA DISTRIBUCIÓN DE LAS POBLACIONES MONOCITARIAS EN PACIENTES CON ATROSCLOSIS INTRACRANEAL	142
5.2.1.	<i>Síntesis de resultados</i>	<i>142</i>
5.2.2.	<i>Consideraciones generales</i>	<i>142</i>
5.3.	RELACIÓN ENTRE LOS HALLAZGOS PRINCIPALES DE AMBOS TRABAJOS.....	145
5.4.	LIMITACIONES	146
	CONCLUSIONES	151

6. CONCLUSIONES:	153
7. ANEXOS	157
8. BIBLIOGRAFÍA	163

Resumen

Introducción

Los pacientes con aterosclerosis intracraneal tienen un riesgo elevado de recurrencia clínica tras sufrir el primer ictus. Es necesario disponer de mejores marcadores para identificar a los pacientes de mayor riesgo, y así avanzar hacia una mejor prevención. El realce post-contraste de la placa aterosclerótica intracraneal en resonancia magnética (RM) de alta resolución es uno de los marcadores de imagen más prometedores, aunque se desconoce si tiene capacidad de predecir el riesgo de nuevos ictus a largo plazo. Por otra parte, es necesario aclarar si el realce post-contraste de las placas intracraneales está relacionado con su actividad inflamatoria.

Objetivos

(1) Determinar si el realce post-contraste en la placa intracraneal es predictor a largo plazo de nuevos eventos cerebrales en sujetos sintomáticos y asintomáticos con aterosclerosis intracraneal, y (2) analizar si el realce post-contraste de la pared y de la placa intracraneal está relacionado con la distribución de las poblaciones monocitarias, centrándonos en aquellas que expresan el receptor CCR5 positivo, necesario para penetrar en las lesiones ateromatosas.

Metodología

Se realizaron dos estudios prospectivos basados en RM 3T de pared arterial con sujetos sintomáticos y asintomáticos con aterosclerosis intracraneal. El primero fue multicéntrico y evaluó si las características de la placa, entre ellas la ratio de realce post-contraste, estaban asociadas a futuros ictus a largo plazo, mediante análisis de supervivencia de regresión múltiple de Cox y curvas de Kaplan Meier. En el segundo, la RM de pared se combinó con extracción de muestras sanguíneas en el momento de inclusión en sujetos sintomáticos y asintomáticos, repitiéndose a los 3 meses en los primeros. En función del realce post-contraste se clasificó a los sujetos en los grupos: no realce, realce de pared y realce de placa. Mediante citometría de flujo se identificaron las poblaciones monocitarias

(Mon) que fueron clasificadas en Mon1, Mon2 y Mon3 utilizando marcadores CD14, CD16, HLA-DR, CCR2 y CCR5.

Resultados

En el primer estudio se incluyeron 48 sujetos sintomáticos y 13 asintomáticos. Se realizó un seguimiento durante $56,3 \pm 16,9$ meses en el que 11 pacientes sufrieron nuevos eventos cerebrales. Se observó que la ratio de realce post-contraste $> 1,77$ (Hazard Ratio) HR, 3,632; intervalo de confianza (IC) del 95%, 1,082-12,101) y las microhemorragias cerebrales (HR, 5,244; IC del 95%, 1,476-18,629) son predictores independiente de futuros ictus. Los sujetos con una ratio de realce post-contraste superior a 1,77 mostraron una menor supervivencia libre de eventos cerebrales (log-rank $p < 0,05$).

En el segundo estudio se incluyeron 12 sujetos sintomáticos y 34 asintomáticos. El porcentaje de Mon2 y Mon3 con CCR5 positivo fue mayor en pacientes sintomáticos (todos presentaban realce post-contraste) y se observó un mayor porcentaje de Mon3 CCR5 positivo en los sujetos asintomáticos con realce en la placa y/o pared arterial, respecto a los que no mostraron realce. Los sujetos con realce post-contraste intracraneal en placa y/o pared presentaron una mayor proporción de Mon3 expresando el receptor CCR5. Además, observamos una correlación significativa entre número de arterias con realce en la pared arterial y proporción de Mon3 CCR5 positivo.

Conclusiones

El realce post-contraste en RM de pared arterial intracraneal predice el riesgo de futuros ictus a largo plazo en sujetos con aterosclerosis intracraneal. El realce puede ser un buen marcador para estratificar el riesgo de recurrencia, aunque son necesarios más estudios. La presencia de realce post-contraste en la placa y en la pared arterial intracraneal se asocia con una mayor proporción de monocitos que expresan el receptor CCR5 positivo. Los resultados sugieren que el realce post-contraste traduce una mayor actividad inflamatoria de las lesiones de aterosclerosis intracraneal, tanto en fase inicial (realce de pared), como avanzada (realce de placa).

Abstract

Introduction

Intracranial atherosclerosis (ICAD) is a major cause of stroke worldwide. Patients affected by this condition are exposed to a very high risk of having future strokes, despite current preventive therapies. There is an unmet clinical need to develop prognostic markers to help stratify patients' risk, in order to advance towards personalized stroke prevention. Post-contrast intracranial atherosclerotic plaque enhancement on high-resolution magnetic resonance imaging (HR-MRI) is among the most promising imaging markers of a high-risk plaque, although its long-term prognostic value is yet to be clarified. Besides, it remains unclear whether post-contrast enhancement is related to the inflammatory activity within the intracranial atheromatous plaque.

Objectives

We aimed to (1) evaluate the capacity of intraplaque post-contrast enhancement to predict long-term risk of future stroke in symptomatic and asymptomatic subjects with ICAD, and (2) to analyze whether plaque and wall post-contrast enhancement is related to the distribution of circulating monocyte populations, specifically focusing on the proportion of monocytes expressing CCR5 receptor, which allows them penetrate into the atheromatous lesions.

Methodology

We designed two prospective, longitudinal, artery wall HR-MRI – based studies including symptomatic ICAD patients and asymptomatic subjects with ICAD. The first one was multi-centric and analyzed whether the HR-MRI features of ICAD plaques, including intraplaque post-contrast enhancement ratio, predicted the long-term risk of future strokes, using Cox regression model and Kaplan Meier survival analyses. The second investigation combined HR-MRI with flow cytometry performed on fresh blood samples extracted from symptomatic and asymptomatic participants on the same morning when MRI was performed. Symptomatic patients underwent a repeated protocol three months after the first one. Study subjects were classified according to the presence of enhancement in the following groups: no enhancement, arterial wall enhancement, and plaque enhancement. Flow cytometry was performed right away to identify monocyte

populations Mon1, Mon2 and Mon3, using the following receptor markers CD14, CD16, HLA-DR, CCR2 and CCR5.

Results

The first investigation included 48 symptomatic ICAD patients and 13 asymptomatic subjects with intracranial stenoses. During a follow-up period of 56.3 ± 16.9 months, 11 major cerebrovascular events occurred (seven ischemic strokes, two hemorrhagic strokes, two confirmed transient ischemic attacks). An intraplaque enhancement ratio > 1.77 (Hazard Ratio) HR, 3.632; 95% confidence interval (CI) (1.082-12.101) and brain microbleeds (HR 5.244; 95% CI, 1.476-18.629), emerged as independent predictors of future stroke risk. Survival analysis showed that proportion of patients free of future events was lower with a higher enhancement ratio (log-rank $p < 0.05$)

The second investigation included 12 symptomatic ICAD patients and 34 asymptomatic individuals with a very high vascular risk. All symptomatic patients and 53% of asymptomatic subjects showed intracranial plaque and/or arterial wall post-contrast enhancement. Symptomatic patients showed a higher proportion of Mon2 and Mon3 expressing CCR5 receptor than asymptomatic subjects. Among asymptomatic individuals, a higher proportion of Mon3 CCR5+ was observed in those showing intraplaque or wall enhancement. In general, study participants with intraplaque or wall enhancement had a higher proportion of Mon3 CCR5+ than those with no enhancement. Finally, a significant correlation was found between Mon3 CCR5+ proportion and the number of intracranial arteries showing wall enhancement.

Conclusion

Intracranial plaque post-contrast enhancement is a predictor of a higher risk for future strokes in the long-term. If further validated by future studies, this imaging marker could have clinical applicability discriminating higher risk ICAD patients. Intracranial plaque and wall post-contrast enhancement is associated with a higher proportion of monocytes expressing CCR5 receptor in ICAD symptomatic patients and asymptomatic subjects. These findings suggest that post-contrast enhancement might reflect the inflammatory activity within intracranial atheromatous lesions, from the early stages (wall enhancement) to the advanced phases (plaque enhancement).

INTRODUCCIÓN

1. Introducción

1.1. Concepto de ictus y epidemiología

1.1.1. Definición, concepto y datos epidemiológicos.

El ictus se produce por un trastorno brusco del flujo sanguíneo cerebral que ocasiona una alteración transitoria o permanente del funcionamiento del cerebro. Podemos distinguir dos tipos de ictus. El ictus isquémico supone el 85% de los casos y es debido a un estrechamiento o bloqueo de una arteria cerebral que provoca una reducción drástica del flujo sanguíneo al parénquima al que nutre. Por el contrario, el ictus hemorrágico supone un 15% de los casos y se produce por la rotura de un vaso sanguíneo cerebral.^{1,2}

El ictus representa un grave problema socio-sanitario mundial. Si nos centramos en los datos epidemiológicos, es la segunda causa de mortalidad en todo el mundo y se estima que, en el año 2019, 6,5 millones (UI 6,0-7,0) de personas perdieron la vida por esta enfermedad. Según los datos provenientes del Global Burden of Disease (GBD) de 2019, el ictus es la tercera causa de muerte y discapacidad combinada (5,7% (5,1-6,2) del total de años de vida ajustados por discapacidad (AVAD)) en personas adultas, siguiendo muy de cerca a las enfermedades cardiovasculares. La incidencia mundial es de 12.224 millones en el año 2019.^{3,4}

Entre los años 1990 y 2019, la incidencia del ictus isquémico aumentó en un 87,55%, en casi todos los países del mundo. Esta incidencia aumenta a medida que aumenta la edad de la población. Además, en el mismo periodo de tiempo, las muertes por ictus isquémico, aumentaron un 60,68% (2.049.670 en 1990 a 3.293.400 en 2019). Este aumento se debe en gran medida al crecimiento de la población y a su envejecimiento.⁵ En el caso de España, el ictus es la segunda causa de muerte (primera en mujeres) y la primera causa de discapacidad adquirida en el adulto.⁶ La incidencia, según el estudio IBERICTUS asciende hasta los 187 casos por cada 100.000 habitantes/año.⁷

Actualmente las proyecciones para el año 2035 en Europa no son optimistas. Se estima que las cifras aumenten hasta un 34% el número de afectados por ictus y un 32% los AVAD perdidos. Esto conllevará una carga creciente para las familias, sociedades y los sistemas sanitarios.⁸ Se estima que los costes anuales relacionados con el ictus en Europa son de 60.000 billones de euros y se prevé que aumenten hasta los 86.000 billones de euros en la próxima década.⁹ Existe un plan de acción para el ictus en Europa (SAP-E) que establece cuatro grandes objetivos para mejorar la atención al ictus para el año 2030 en todo el continente, el primero objetivo trata de disminuir un 10% la incidencia de ictus, el segundo objetivo pretende atender al 90% de los pacientes en unidades especializadas de ictus como primer nivel de asistencia, el tercero, establecer estrategias nacionales que incluyan toda la cadena asistencial (prevención primaria, atención al ictus, prevención secundaria, rehabilitación y vida después del ictus) y por último pero no menos importante, promover un estilo de vida saludable, disminuir factores medioambientales nocivos, socioeconómicos y educativos. Si se analiza en conjunto el plan de acción europeo encontramos que el eje principal es la prevención.¹⁰

1.1.2. Causas de ictus isquémico

La isquemia cerebral puede ser el resultado de la complicación aguda de numerosas enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares. Estas enfermedades pueden desarrollarse desde las primeras décadas de la vida, (en muchas ocasiones de manera silente) como resultado de la interacción de antecedentes genéticos y la exposición del individuo a los factores de riesgo vascular.¹¹

En este punto vamos a desgranar las causas del ictus isquémico. En primer lugar, porque son los ictus más frecuentes y, en segundo lugar, porque a lo largo de esta tesis nos vamos a centrar en una etiología en concreto: ictus aterotrombótico que afecta a las arterias intracraneales.

Conocer la causa subyacente del ictus es fundamental no solo para elaborar estrategias adecuadas en el tratamiento inmediato del ictus, sino también para

asegurar una óptima prevención que evite una futura recurrencia ya que la prevención secundaria más eficaz es aquella que está individualizada y se dirige a controlar la enfermedad causal del ictus isquémico.

Los ictus isquémicos pueden subdividirse en función de su causa o etiología. Según el sistema más extendido para categorizar los subtipos de ictus basados en el ensayo clínico Org 10172 para tratamiento de ictus agudo (Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment¹² (TOAST)) existen 5 subtipos etiopatogénicos: Aterosclerosis de grandes arterias, cardioembólico, oclusión de pequeño vaso o lacunar, ictus de etiología indeterminada e ictus de causa inusual.

Según la naturaleza y causas del ictus, se puede clasificar de la siguiente forma.¹³ (figura 1.1):

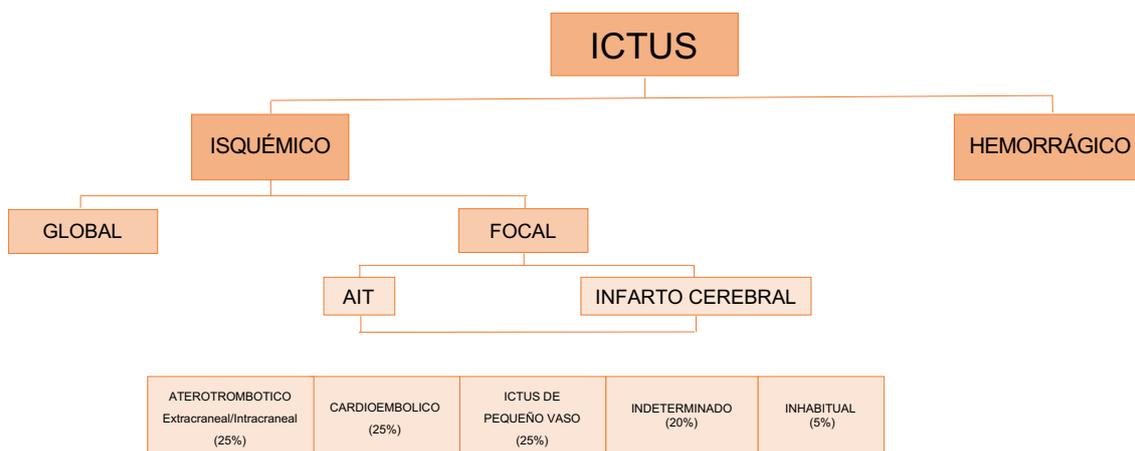


Figura 1.1: Clasificación de las enfermedades cerebrovasculares.

AIT: Accidente isquémico transitorio

Aterosclerosis de grandes arterias:

La aterosclerosis puede afectar tanto a los vasos extracraneales, (como las arterias carótidas), como a las arterias intracraneales.

Concretamente, la aterosclerosis es una enfermedad crónica y progresiva que se caracteriza por el desarrollo de placas de ateroma en la pared de las arterias afectadas. La progresión de las placas de ateroma provoca una ocupación creciente de la luz arterial. En caso de que condicione una repercusión hemodinámica al dificultar el paso de la sangre a su través, hablamos de una

1

estenosis significativa (normalmente superior al 50% en reducción de calibre). La aterosclerosis puede progresar hasta causar la oclusión completa del vaso, lo que sucede la mayoría de las veces en el contexto de una complicación trombótica aguda de la placa de ateroma.

En nuestro medio, la aterosclerosis afecta más frecuentemente a las arterias extracraneales. En otros entornos como en Asia, África y Sudamérica, es más frecuente la afectación intracraneal. Es más, se sabe que es la causa de ictus isquémico más frecuente a escala global. Debido a la dificultad para la visualización y detección de placas de los vasos intracraneales (principalmente por su reducido calibre) se cree que puede ser una etiología de ictus infradiagnosticada suponiendo un gran riesgo para los pacientes que han sufrido un ictus y un gran problema socio-sanitario.^{13,14}

Por este motivo, la presente tesis se centra en la aterosclerosis intracraneal.

Cardioembólico:

Este subtipo de ictus isquémico está causado por trombos que se originan en el corazón o en el arco aórtico y que posteriormente embolizan a las arterias intracraneales. Existen varias causas de enfermedad cardioembólica como la fibrilación auricular, el infarto de miocardio con trombo ventricular presente, o la endocarditis infecciosa o inflamatoria.

Oclusión de pequeño vaso o infarto lacunar:

Los infartos de menos de 20mm pueden ser causados por oclusiones en las arterias de menos calibre, sin evidencia de otras causas como vasoespasmo, fuente cardioembólica o enfermedad arterial de gran vaso.

Ictus de causa indeterminada:

Dentro de este grupo se incluyen aquellos ictus cuya causa no puede determinarse con seguridad, bien por coexistir múltiples causas, por no haberse estudiado en profundidad, o por no haberse identificado causa alguna a pesar de una evaluación exhaustiva.

Causas inusuales:

Existen infartos cerebrales isquémicos cuya causa es inhabitual o atípica. Las causas inusuales más frecuentes son las disecciones arteriales, las vasculopatías, los estados protrombóticos y los trastornos hematológicos.^{12, 13}

1.2. Aterosclerosis: Generalidades

Como mencionamos anteriormente, la aterosclerosis una enfermedad crónica de la pared arterial que se caracteriza por el desarrollo de múltiples lesiones ateromatosas en la capa íntima de las arterias de gran vaso como las arterias coronarias o las arterias carótidas; pudiendo afectar también a las arterias intracraneales.

La investigación en las últimas décadas, ha dado lugar a muchas hipótesis sobre la fisiopatología de la formación de las lesiones ateromatosas a nivel extracraneal (principalmente por la facilidad para obtener muestras y visualización mediante imagen).

Aunque inicialmente la aterosclerosis se consideraba como una enfermedad caracterizada por el depósito de lípidos en la pared arterial, Russell Ross, en 1999, estableció la hipótesis actual que la considera como un proceso inflamatorio dinámico y crónico, en el que existe una respuesta celular y molecular ante un daño o agente nocivo.

Entre los posibles factores capaces de desencadenar una cascada inflamatoria, el autor menciona niveles modificados y elevados de lipoproteínas de baja densidad (LDL), presencia de radicales libres causados por el tabaquismo, hipertensión arterial, diabetes mellitus, factores genéticos, elevación plasmática de homocisteína, infecciones y la combinación de todos ellos.¹⁵

La aterogénesis comienza cuando determinados factores -principalmente niveles elevados de LDL- producen una lesión en el endotelio (monocapa de células que tapiza el interior de las arterias), que conlleva a una desregulación de la homeostasis y a una alteración de la función ateroprotectora del endotelio,

1

provocando una modificación en la permeabilidad. Este fenómeno se conoce como disfunción endotelial, que conduce a un depósito gradual de lipoproteínas en la capa íntima vascular y a la expresión de moléculas de adhesión para determinadas células sanguíneas como los monocitos, los leucocitos y las plaquetas.¹⁵

El endotelio alterado y activado es capaz de modificar y disminuir la producción de sustancias protectoras como el óxido nítrico (NO) y de secretar sustancias como citoquinas (interleucina-1 (IL1), interleucina 8 (IL 8)), factores de crecimiento (bFGF), sustancias quimioatrayentes (proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1)) y expresar moléculas de adhesión (molécula de adhesión vascular 1 (VCAM-1), molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y E-selectina), claves para la migración de monocitos a la capa íntima.^{16,17} La disfunción endotelial y la activación de las células endoteliales no son procesos sinónimos, sino que son dos procesos morfológicos que representan etapas diferentes en la actividad celular desde que se produce el daño causado por un factor intrínseco o extrínseco.

La filtración de LDL, su oxidación en la pared vascular y la adhesión de monocitos son los pasos clave para que comience el proceso de ateromatosis en las arterias. Los monocitos son atraídos hacia la capa íntima vascular y una vez dentro de la pared, se diferencian a macrófagos y se acumulan en el interior de la pared. Estos macrófagos pueden proliferar en macrófagos pro-inflamatorios (M1) o anti-inflamatorios (M2), pudiendo existir fenotipos diferentes. La diferenciación a los diferentes fenotipos pro-inflamatorios y anti-inflamatorios de los macrófagos depende principalmente de factores secretados por los linfocitos T pudiendo estar ambas poblaciones equilibradas.¹⁸ Los macrófagos pro-inflamatorios se encuentran en la placa lipídica potenciando la actividad inflamatoria con la liberación de citoquinas como la interleucina-6 (IL-6), interleucina 12 (IL12) y ROS. En cambio, los macrófagos anti-inflamatorios activan el proceso de eferocitosis (eliminación de células muertas), inhibiendo así el proceso de inflamación de las placas con el fin de conseguir la homeostasis en la lesión.

La acumulación mantenida de moléculas de colesterol LDL desencadena la formación de células espumosas derivadas de macrófagos y las células

musculares lisas sufren procesos de muerte celular o necrosis dando lugar a un núcleo necrótico rico en lípidos. Esta lesión queda cubierta por una cápsula fibrosa que la recubre como respuesta fibroproliferativa, quedando aislada de la luz arterial. Pero dentro de la placa o núcleo necrótico siguen existiendo fenómenos inflamatorios. Con el tiempo, la cubierta fibrosa puede deteriorarse y llegar a romperse exponiendo el contenido de la placa al compartimento sanguíneo lo que puede provocar una trombosis de la superficie o una hemorragia intraplaca.^{19,20} Estos trombos pueden dar lugar a la oclusión de la arteria donde se encuentra la lesión o bien producir un embolismo arterio-arterial ocluyendo vasos distales a la lesión lo que puede resultar en un infarto de miocardio, ictus o ataque isquémico transitorio (AIT).²¹

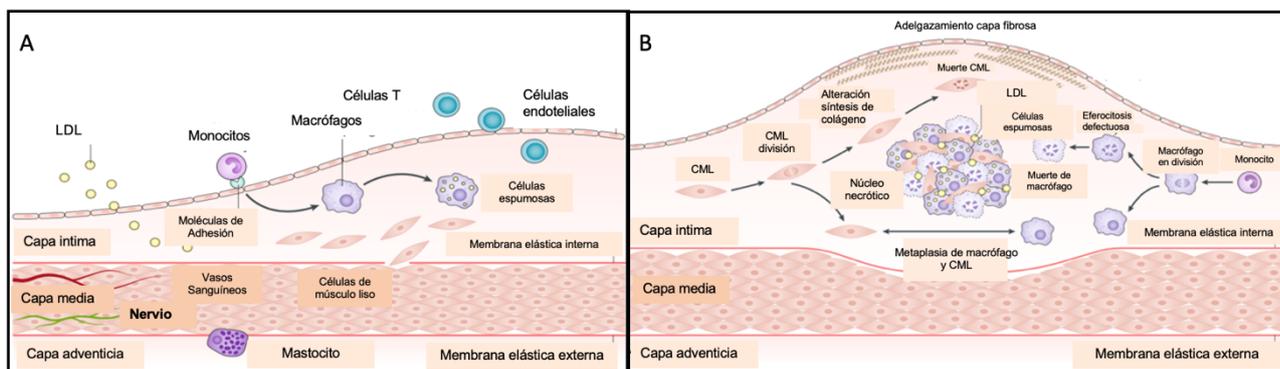


Figura 1.2. Inicio y progresión de las lesiones de aterosclerosis. A) En la fase inicial del proceso las lipoproteínas de baja densidad (LDL) se aglomeran en la capa íntima, donde pasan a un estado de oxidación. Monocitos y leucocitos se unen a las moléculas de adhesión expresadas por las células endoteliales y migran al interior por citosinas quimioatrayentes (quimioquinas). Los monocitos maduran a macrófagos y gracias a sus receptores se conectan e ingieren a las lipoproteínas y se transforman en células espumosas. Las células musculares lisas (CML) de la capa media migran a la íntima. B) Durante la progresión de la placa las CML reclutadas producen matriz extracelular que engrosa la capa íntima. Las CML y los macrófagos mueren por necrosis o incluso apoptosis acumulándose y formando el núcleo necrótico. Imagen adaptada de la referencia ¹⁷

En ocasiones, la placa aumenta mucho su tamaño y provoca un estrechamiento del lumen, reduciendo el flujo sanguíneo y ocasionando una estenosis sintomática cuando aumentan las demandas de oxígeno como ocurre en la angina de pecho.

1

Es más frecuente que la formación de aterosclerosis afecte aquellos segmentos donde hay una disminución en la tensión de cizallamiento y el flujo es turbulento como en las bifurcaciones, ramificaciones de arterias o en zonas curvas de las grandes arterias. Esto se debe a que la tensión oscilante en la superficie endotelial reduce los niveles de NO y de proteínas antioxidantes, produciendo un aumento en la expresión de moléculas de adhesión endotelial creando así el escenario perfecto para el reclutamiento e inclusión de monocitos y leucocitos en la pared.^{22,23}

Podemos concluir en este apartado que la aterosclerosis es una enfermedad progresiva, compleja e inflamatoria que afecta a las arterias de tamaño grande y mediano como aorta, carótidas, coronarias, arterias periféricas y arterias cerebrales donde la inflamación desencadena el mecanismo etiopatogénico y lesional, sin olvidarnos de los factores de riesgo cardiovascular y la implicación de los factores genéticos y ambientales.^{24,25}

1.2.1. Implicación de los monocitos en la aterogénesis

Los monocitos son células de la serie blanca que se diferencian a partir de precursores en la médula ósea y se liberan a la circulación, donde constituyen entre el 3 y el 8% de los leucocitos.²⁶ Estas células desempeñan un papel importante en la defensa inmune, la inflamación y la remodelación de los tejidos, ya que pueden neutralizar y eliminar patógenos, pero también producir citoquinas que favorecen el procesamiento y presentación de antígenos.

La aterosclerosis es una enfermedad inflamatoria crónica de la pared vascular de los vasos sanguíneos, caracterizada por la activación crónica de la inmunidad innata.^{27,28} Tanto los monocitos circulantes como los macrófagos residentes son los principales efectores celulares de la inmunidad innata. La acumulación de monocitos en la pared vascular contribuye a la aterogénesis y al crecimiento de la placa mediante su diferenciación y conversión a macrófagos "espumosos" además de promover el reclutamiento de leucocitos en placas avanzadas.^{29,30} El reclutamiento de monocitos en la pared de los vasos sanguíneos es un paso esencial para el desarrollo de la placa aterosclerótica. Recientemente se ha descrito que las células inmunitarias innatas pueden adoptar un fenotipo

funcional proinflamatorio persistente tras la exposición a diversos estímulos activadores, lo que se define como "inmunidad innata entrenada".³¹ De hecho, la implicación de la inmunidad innata entrenada en el desarrollo y la progresión de la aterosclerosis está siendo cada vez más estudiada.^{32,33}

La implicación directa de los monocitos en el desarrollo de la aterosclerosis ha podido demostrarse en modelos animales, donde la acumulación de monocitos es proporcional al tamaño de la lesión³⁴ y el bloqueo del reclutamiento de monocitos reduce la progresión de la placa.³⁵

El reclutamiento de monocitos en la pared celular está mediado por dos mecanismos: la adhesión y la migración.³⁶ La adhesión de los monocitos al endotelio está mediada por la expresión diferencial de diversas moléculas de adhesión y receptores endoteliales y por sus ligandos asociados.²⁶ Estudios recientes en los que se han utilizado técnicas de secuenciación de ARN en célula única, han demostrado la aparición de 3 subpoblaciones de células endoteliales con una distribución diferencial en el lecho vascular aórtico de ratones alimentados con dieta aterogénica³⁷ lo que parece indicar que estaría ocurriendo a su vez un reclutamiento de diferentes subtipos de monocitos en distintas regiones de la pared vascular y abre las puertas al estudio de estas diferencias en otros lechos vasculares, como las arterias intracraneales. Mediante técnicas de citometría de flujo se han identificado tres subconjuntos principales:

- Monocitos clásicos (Mon1) (85%): definidos por presentar una alta expresión de CD14 y ausencia de CD16 (CD14⁺CD16⁻).
- Monocitos intermedios (Mon2) (9%): son aquellos que presentan una alta expresión de CD14 y moderada de CD16 (CD14⁺⁺CD16⁺)
- Monocitos no clásicos o de patrulla (Mon3) (6%): se definen por tener una baja expresión de CD14 y altos niveles de CD16 (CD14⁺CD16⁺⁺).^{26,38}

Sin embargo, la identificación reproducible y comparable ente distintos estudios de estas subpoblaciones es muy dependiente del protocolo de citometría utilizado. Esto, en parte, da lugar a la aparición de resultados contradictorios

entre diferentes poblaciones de pacientes analizadas por laboratorios distintos. Por ello, se han propuesto unas guías para la clasificación de subpoblaciones de monocitos que permitan obtener unos resultados comparables entre los diferentes laboratorios que tengan como herramienta de estudio la identificación de subpoblaciones monocitarias en enfermedad cardiovascular.²⁶

Antigua definición		Nomenclatura 2010		Abreviatura utilizada en el texto
CD14 ⁺ CD16 ⁻ CD14 ⁺⁺ CD16 ⁻ CD14 ^{high} CD16 ⁻	Monocitos clásicos	CD14 ⁺⁺ CD16 ⁻	Monocitos Clásicos	Mon1
CD14 ⁺ CD16 ⁺ CD14 ^{LOW} CD16 ⁺ CD14 ⁻ CD16 ⁺	Monocitos no clásicos	CD14 ⁺⁺ CD16 ⁺ CD14 ⁺⁺ CD16 ⁺ CCR2 ⁺ CD14 ⁺⁺ CD16 ⁺ SLAN ⁺	Monocitos intermedios	Mon2
		CD14 ⁺⁺ CD16 ⁺⁺	Monocitos no clásicos	Mon3

Tabla 1.1: Definición de las subpoblaciones de monocitos. Diferente definición de las subpoblaciones principales de monocitos en la bibliografía en acorde con la nomenclatura clásica y la propuesta en 2010 (ref). Para simplificar el texto se utilizarán las abreviaturas mencionadas en la tabla. Tabla adaptada de la referencia²⁶

Los distintos subtipos de monocitos podrían tener funciones diferentes en el desarrollo del proceso aterosclerótico. Los Mon1 parecen intervenir en el inicio y progresión de la respuesta inflamatoria además de tener funciones proinflamatorias en la aterosclerosis y se caracterizan por niveles más altos de moléculas de adhesión como CD62L y receptores de quimioquinas CCR2, CXCR2. Además, tienen una expresión muy baja de CCR5. En cambio, los monocitos no clásicos Mon3 podrían fomentar la resolución de la inflamación por su capacidad de eliminar células muertas. La función de Mon2 parece ser ambigua, con funciones proinflamatorias y antiinflamatorias.³⁸ Tanto los monocitos no clásicos, como los intermedios, se caracterizan por su expresión de niveles más altos de CCR5 y CX3CR1.

Se ha observado que la distribución de los subconjuntos de monocitos en la circulación sanguínea está relacionada con diferentes fases de la enfermedad

cardiovascular (ECV). Del mismo modo se ha visto que concentraciones altas de monocitos en sangre son predictoras del estado inflamatorio en factores de riesgo de ECV como la hiperlipidemia, hipertensión o diabetes.³⁹

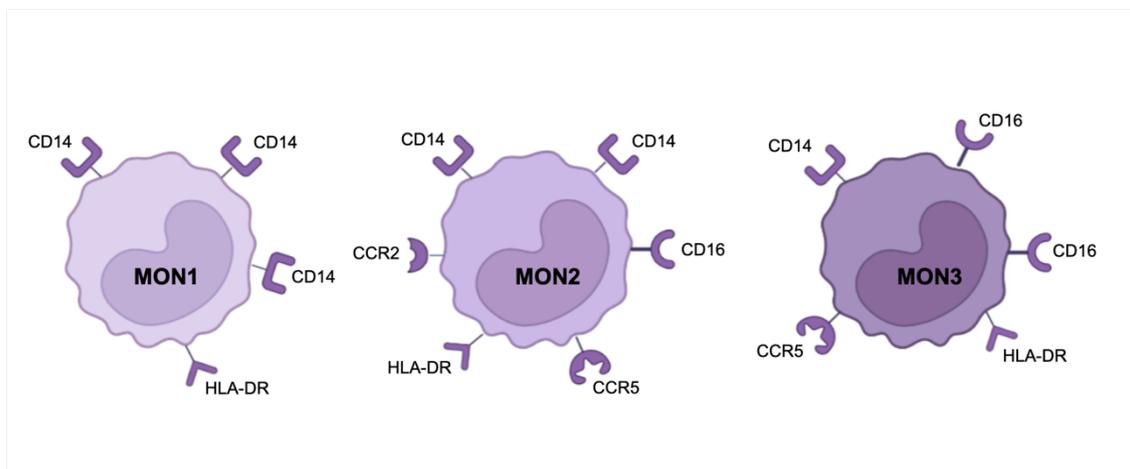


Figura 1.3: Subconjunto de monocitos circulantes. La clasificación de los diferentes subconjuntos de monocitos se hace en función de la expresión de CD14 y CD16. Imagen adaptada de la referencia²⁶

El papel fundamental de la inflamación y las células inmunitarias en la etiología de la aterosclerosis hace que tanto la expresión de quimiocinas en la pared vascular afectada, como sus receptores en las diferentes células inmunológicas, incluyendo monocitos, se hayan relacionado con esta enfermedad. Clásicamente se ha estudiado el papel de CCL2, CCL5, CX3CL1 y sus receptores CCR2, CCR5 y CX3CR1 en la aparición y progresión de la aterosclerosis.⁴⁰ La inhibición combinada de los tres sistemas quimiocinas-receptores, MCP-1 (CCL2)/CCR2, fractalkina (CX3CL1)/CX3CR1 y CCL5/CCR5, es capaz de suprimir el desarrollo de la aterosclerosis en un modelo animal de esta enfermedad (ratones Knock Out (KO) para la apolipoproteína E (ApoE)), lo que apoya el papel de estas quimiocinas en la movilización de monocitos en la aterosclerosis.⁴¹ Funcionalmente, se ha descrito en modelos animales de aterosclerosis, que CCL5, actuando sobre CCR5, es crucial para el reclutamiento de monocitos durante el desarrollo de la aterosclerosis, mientras que CCL2 es fundamental para la adhesión de monocitos y la proliferación de células musculares lisas vasculares, y fractalkina, actuando sobre CX3CR1, parece sostener la adhesión crónica de monocitos y

1

su supervivencia dentro de la placa.^{42,43} El estudio del receptor CCR5 en el proceso aterosclerótico tiene especial interés debido a la existencia de un antagonista de uso clínico (Maraviroc), lo que aceleraría una posible actuación terapéutica.⁴⁴

En este sentido, se ha demostrado que los monocitos murinos CCR2+Ly-6Chi (equivalentes a los Mon1 en humanos), utilizan preferentemente CCR2 y CX3CR1 para su infiltración en la placa en ratones KO para ApoE.⁴⁵ En este modelo también se ha demostrado que los monocitos murinos Ly-6Cl α (equivalentes a los Mon3 en humanos) utilizan principalmente CCR5 para su entrada en las placas de ateroma y para el reclutamiento de células T en las placas ya establecidas.^{43,46} Además, en monocitos y células endoteliales de arterias coronarias humanas, la administración de partículas de HDL reconstituidas, disminuyen la expresión de CCL5, lo que sugiere que las propiedades ateroprotectoras de las HDL podría estar mediada, al menos en parte, por la reducción de la función de CCR5.⁴⁷

1.3. Aterosclerosis intracraneal de gran vaso

1.3.1. Características diferenciales de aterosclerosis intracraneal

Las lesiones ateroscleróticas intracraneales se desarrollan de forma desigual entre los diferentes grupos humanos en función de su etnia y origen geográfico. Así, en las poblaciones europeas y americanas se ven más frecuentemente afectadas las arterias carótidas internas en su porción intracraneal (ACI) seguidas por las arterias cerebrales medias (ACM), la arteria basilar (AB), las arterias vertebrales en su segmento intracraneal (AV), las arterias cerebrales posteriores (ACP) y las arterias cerebrales anteriores (ACA). En cambio, en poblaciones asiáticas, las arterias más afectadas son las ACM, seguida de ACI, AB, AV, ACP y ACA.⁴⁸

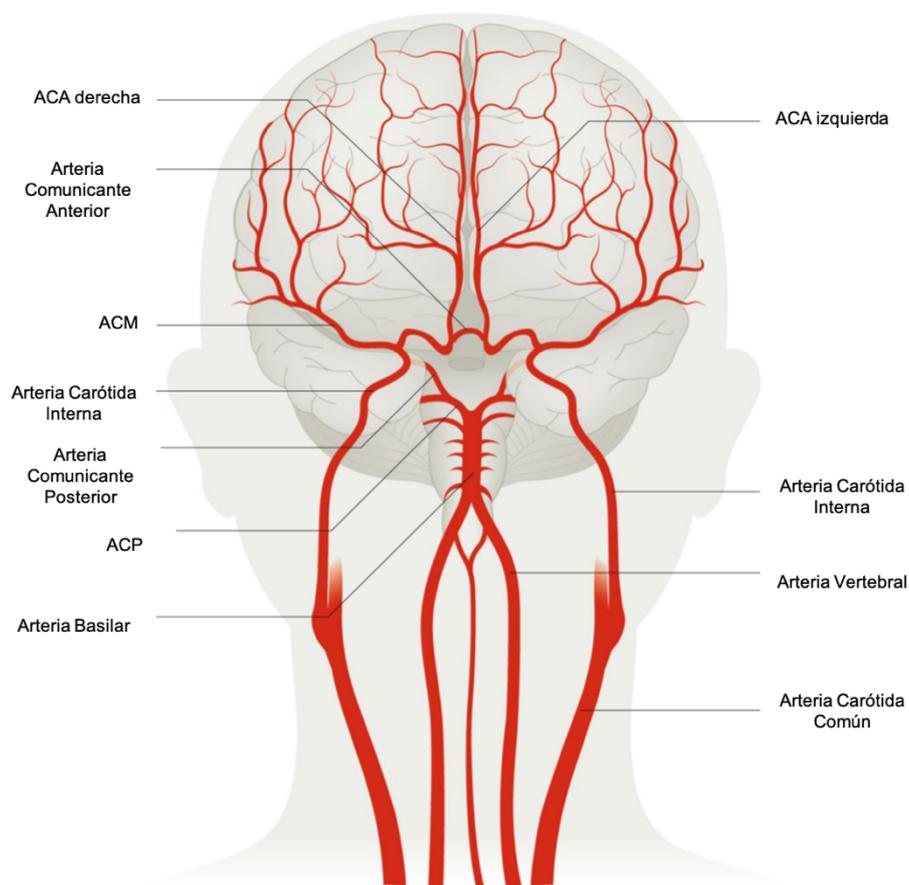


Figura 1.4: Principales arterias cerebrales: Arteria cerebral anterior (ACA); Arteria comunicante anterior; Arteria cerebral media (ACM); Arteria carótida interna (ACI); Arteria comunicante posterior; Arteria cerebral posterior (ACP); Arteria vertebral (AV). Imagen adaptada de la referencia¹¹

La prevalencia de la estenosis intracraneal sintomática está comprendida entre un 20-53% en población asiática y entre el 8-10% en población europea y norteamericana^{48,49} pero en un reciente estudio (Oxford Vascular Study (OXVASC)) se identificó que el porcentaje de estenosis intracraneales significativa es de hasta un 17,6%.⁵⁰ Un estudio realizado en autopsias refleja que la frecuencia de estenosis y placas intracraneales es superior a la esperada.⁵¹

La aterosclerosis extracraneal es mejor conocida que la aterosclerosis intracraneal, debido a que las placas de ateroma son más accesibles al estudio al poder ser extraídas en los procedimientos de revascularización quirúrgica, mientras que en el caso de las intracraneales esto no es posible.

1

Las arterias intracraneales tienen una serie de peculiaridades anatómicas y hemodinámicas que las diferencian de las extracraneales, y estas diferencias pueden incidir sobre el proceso de aterogénesis y hacer que tenga características propias en el territorio intracraneal. En primer lugar, se ha observado que las arterias extracraneales son arterias elásticas cuya túnica media es rica en filamentos de elastina. En cambio, en las arterias intracraneales predominan las fibras musculares con pocas fibras elásticas siendo el espesor de la capa media más fina. Esta transición ocurre en la bifurcación carotídea y en la arteria vertebral a nivel del hueso atlas. El grosor de la capa adventicia también es más fino, constituido por pocas fibras elásticas. La lámina elástica interna está bien desarrollada, pero la lámina externa va desapareciendo en la porción cavernosa de la carótida a medida que entra en el espacio subdural. Segundo, se ha observado que el desarrollo de las lesiones de aterosclerosis intracraneal suele iniciarse más tarde que la extracraneal (esto se cree que es porque el territorio intracraneal está más protegido contra la aterogénesis, y los mecanismos de defensa empiezan a caer con la edad o con la exposición a determinados factores de riesgo vascular).^{52,53} Y tercero, se han descrito diferencias en cuanto a la composición química de las arterias intracraneales, que podrían incrementar su capacidad defensiva contra la aterogénesis, como una mayor concentración de las enzimas antioxidantes y la protección contra los radicales libres (superóxido dismutasa), que actuaría como mecanismo protector durante las primeras décadas de la vida.^{48, 52} Según estudios en animales, las arterias intracraneales muestran una menor permeabilidad endotelial que las extracraneales, una función de barrera mejorada y una composición diferente de glucocálix de las células endoteliales que inhibe la captación de lipoproteínas hacia la capa íntima vascular (promotor de aterogénesis), por lo que todos estos hechos nos hacen reflexionar que, de forma natural, el organismo protege a las arterias intracraneales.⁵⁴

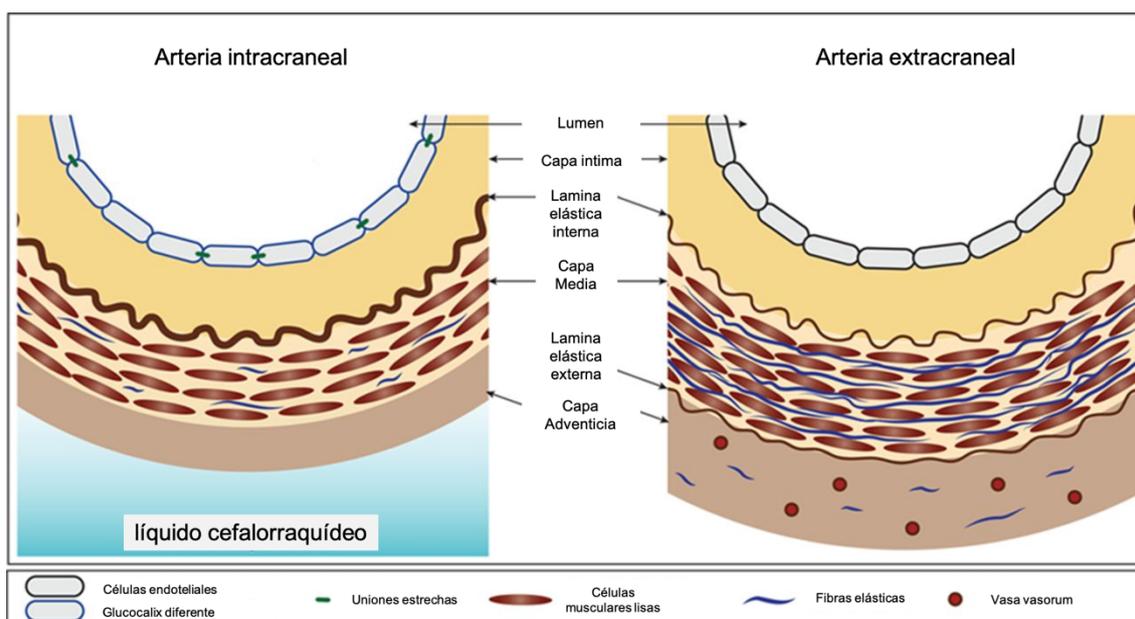


Figura 1.5: En la imagen aparecen las principales características de las arterias extracraneales e intracraneales. Imagen adaptada de la referencia⁴⁸

Por lo tanto, el desarrollo de la aterosclerosis intracraneal implica el fracaso de estos mecanismos protectores, lo cual sucede ante un entorno pro-aterogénico agresivo. La circulación intracraneal tiene unas barreras protectoras más fuertes que la extracraneal por lo que, para vencerlas, el estímulo agresor es más potente, lo que implica un mayor riesgo vascular.

Los vasa vasorum son un componente esencial de las arterias extracraneales. Son conocidos por facilitar la nutrición y la excreción de desechos, pero la existencia de vasa vasorum en las arterias intracraneales aún está en duda, ya que los vasa vasorum desaparecen en el espacio subdural y las arterias se nutren a través del líquido cefalorraquídeo rico en nutrientes por difusión gracias a la anatomía de su pared vascular. Este factor puede estar relacionado con el desarrollo de placas de ateroma estables durante más tiempo en las arterias intracraneales que en las extracraneales, pues los vasa vasorum son un componente importante para contribuir a la inestabilidad de las placas.⁴⁸

Para concluir este apartado, encontramos que el estudio específico de la aterosclerosis en las arterias intracraneales es necesario para conocer en qué medida los mecanismos básicos responsables del desarrollo y progresión de la

1

aterosclerosis extracraneal, están implicados en la aterogénesis y complicación de la aterosclerosis intracraneal.

1.3.2. Problemas clínicos asociados a la aterosclerosis intracraneal

La aterosclerosis intracraneal es una de las causas más importantes de ictus a escala global, si tenemos en cuenta la distribución étnica de la población mundial. Por ello, la aterosclerosis intracraneal es un problema socio-sanitario de primer orden a nivel mundial, es más, se considera la causa de problemas clínicos de gran relevancia. Los pacientes afectados por aterosclerosis intracraneal tienen un riesgo elevado de sufrir ictus isquémicos recurrentes y otros eventos vasculares mayores. Además, existe evidencia creciente que relaciona la aterosclerosis intracraneal con un mayor riesgo de desarrollar deterioro cognitivo, no solo de origen vascular, sino también asociado a enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer.

1.3.2.1. Aterosclerosis intracraneal como causa de ictus isquémico

La aterosclerosis intracraneal se considera una de las causas más comunes de ictus isquémico a nivel mundial, responsable de entre un 30-50% de los casos en la población asiática, un 15-29% en población afroamericana y un 17% en población caucásica (según OXVASC).⁵⁵ En comparación con otros subtipos de ictus, esta etiología se asocia con un elevado riesgo de recurrencia anual después del primer evento isquémico. En la cohorte del estudio Stenting Versus Aggressive Medical Management Therapy for Intracranial Arterial Stenosis (SAMMPRIS) la tasa de recurrencias fue del 12,6% en el brazo de tratamiento médico⁵⁶ y en el estudio OXVASC, se observaron cifras de recurrencia similares (12,8%). Inclusive, se ha observado que la arterosclerosis intracraneal aumenta el riesgo de ictus en población asintomática, por lo que es probable que la carga mundial de ictus ocasionada por esta enfermedad aumente a medida que las poblaciones de las regiones más afectadas sigan creciendo.⁵⁷

Los mecanismos causantes de ictus asociados a la enfermedad aterosclerótica intracraneal son los siguientes: hipoperfusión, embolia arterio-arterial, trombosis in situ y extensión de una placa que produzca un bloqueo en la salida de flujo de una arteria penetrante (también conocido como enfermedad ateromatosa de rama). Además, los diferentes mecanismos isquémicos pueden combinarse entre sí.^{58,59}

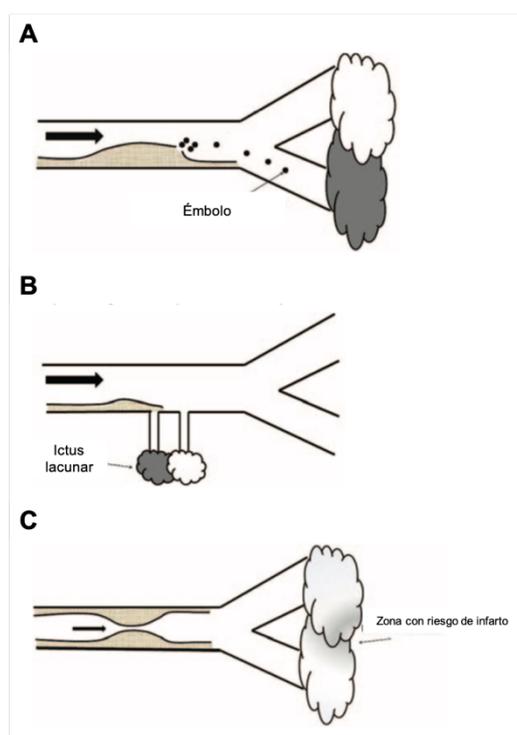


Figura 1.6: El mecanismo de isquemia en aterosclerosis intracraneal mediante el uso de resonancia magnética. A- Rotura de placa con embolia arterio-arterial; B-Crecimiento excesivo de la placa con bloqueo en la arteria penetrante; C- Hipoperfusión por arteria estenótica. Imagen adaptada de la referencia⁶⁰

Una forma de establecer y determinar los mecanismos responsables de ictus, es analizar los patrones de infarto o las características de las neuroimágenes. El patrón de la lesión aguda en Resonancia Magnética (RM) informa sobre el mecanismo de la isquemia cerebral. Asimismo, el uso de la RM permite identificar y distinguir entre enfermedad de rama perforante y el embolismo arterio-arterial en función del patrón de la isquemia, distribución y características de la placa intracraneal.^{58,61} También el uso de las imágenes de RM de la pared arterial permite visualizar placas intracraneales no estenosantes pero con

1

características de vulnerabilidad responsables de producir isquemia cerebral en pacientes con ictus isquémico de etiología indeterminada (ESUS).⁶²

1.3.2.2. Deterioro cognitivo y relación con aterosclerosis intracraneal

A medida que aumenta la esperanza de vida y la tasa de envejecimiento en nuestra población, aumenta paralelamente la prevalencia de la demencia, siendo una importante causa de morbimortalidad y enfermedad incapacitante para personas mayores de 65 años. Se considera la enfermedad del Alzheimer como la enfermedad neurodegenerativa más frecuente y la primera causa de demencia, seguida por la demencia de origen vascular. Según los datos de la Organización Mundial de la Salud, en 2015 los casos de demencia (referidos a todas las causas) afectaban a 47 millones de personas en todo el mundo. Se espera que esta cifra aumente hasta 75 millones de personas en 2030 y a 132 millones en 2050.⁶³

El desarrollo de la demencia y la identificación de sus factores de riesgo ha sido ampliamente estudiado. Uno de los posibles factores de riesgo asociado con el desarrollo y progresión de la enfermedad de Alzheimer es la aterosclerosis de las arterias cerebrales, además de la ya conocida patología en el péptido beta-amiloide y proteína Tau.⁶⁴ Las investigaciones se han centrado en los mecanismos por los que la aterosclerosis de los grandes vasos y su efecto en la perfusión cerebral podrían estar relacionados con la enfermedad de Alzheimer, ya que la aterosclerosis en los vasos intracraneales podría aumentar la producción de beta-amiloide y también afectar en su eliminación.^{65,66} No obstante, estudios recientes sugieren que la acumulación de beta-amiloide puede promover la aterosclerosis intracraneal interactuando sinérgicamente.⁶⁷ Además, se ha relacionado la calcificación de las arterias extracraneales con mayor riesgo de demencia y con deterioro cognitivo.⁶⁸

Actualmente, no está claro el papel que desempeña la aterosclerosis para el desarrollo de la demencia, por lo que es necesario realizar estudios que

determinen si la prevención, el tratamiento de los factores de riesgo y la estabilización de la aterosclerosis produce un beneficio para su desarrollo.⁶⁹

1.3.2.3. Progresión y recurrencia clínica de la aterosclerosis intracraneal

La aterosclerosis intracraneal es una enfermedad que se caracteriza por la aparición, la progresión gradual y la complicación de las placas ateromatosas. El riesgo de recurrencia tras un primer ictus es muy alto, a pesar de un estricto control de los factores de riesgo y de un tratamiento médico agresivo, y existe un riesgo incrementado de nuevos eventos vasculares en otros territorios y de muerte vascular.⁷⁰

Como se detalló en un apartado anterior de este primer punto de introducción, la aterogénesis intracraneal puede compartir mecanismos comunes que ocurren de manera similar en otros territorios arteriales, pero a su vez posee características únicas derivadas de su anatomía y de factores hemodinámicos que hacen que sea necesaria una investigación específica que explique no solo la historia natural de esta enfermedad, sino también su pronóstico y prevención.⁴⁸

Los estudios prospectivos y los ensayos clínicos que se han llevado a cabo en los últimos años han permitido comprender y conocer más de cerca esta enfermedad. Por ejemplo, en el estudio GESICA (Groupe d'Etude des Stenoses Intra-Crâniennes Athéromateuses symptomatiques) se llevó a cabo un seguimiento en el tiempo de 102 pacientes con estenosis intracraneales de >50% durante una media de 23 meses. Se observó que el 38,2% de los pacientes a lo largo del seguimiento había sufrido un ictus o un AIT en el mismo territorio estenótico.⁷¹

En el ensayo clínico "Warfarin versus Aspirin for Symptomatic Intracranial Disease" (WASID), se incluyeron 569 pacientes con al menos una estenosis intracraneal mayor al 50% con la intención de comparar la eficacia del tratamiento preventivo con ácido acetilsalicílico contra el tratamiento con warfarina. La tasa anual de recurrencia de ictus isquémico en el mismo territorio

1

de la estenosis fue del 12% para los pacientes con tratamiento con aspirina y del 11% para los pacientes tratados con warfarina. En aquellos pacientes cuyo grado de estenosis estaba entre el 70 y el 99% la incidencia de ictus recurrente fue del 23%. La importancia de este estudio radica en que lleva el protagonismo al control de los factores de riesgo vascular (presión arterial sistólica y niveles de colesterol) para la disminución de eventos vasculares.^{72,73}

Tras los resultados del ensayo WASID, se llevó a cabo el ensayo clínico “Stenting and Aggressive Medical Management for Preventing Recurrent Stroke in Intracranial Stenosis” (SAMMPRIS) que comparaba el tratamiento médico intensivo versus la colocación de un stent intracraneal combinado con tratamiento médico intensivo en pacientes con estenosis intracraneales graves (70-99%). Teniendo en cuenta la experiencia previa, se buscó un control exhaustivo de los factores de riesgo vascular incluyendo una reducción de los niveles de colesterol LDL <70mg/dl, límite de presión arterial sistólica <140mm Hg, control de la diabetes, colesterol HDL, tabaquismo, obesidad y práctica insuficiente de ejercicio, a través de la participación de un programa de modificación del estilo de vida. El ensayo se interrumpió antes de tiempo debido a una tasa de ictus y muerte elevada en el brazo del tratamiento con stent, ya que la tasa de recurrencia a los 30 días fue del 14,7% (12,5% ictus + 2,2% ictus mortal) en el brazo de colocación de stent frente al 5,8% en el grupo que solo recibió tratamiento médico. La recurrencia a un año fue del 20% vs 12% respectivamente.⁵⁶ Si estos datos se comparan con el estudio precedente WASID, la recurrencia fue menor de la esperada. Estos óptimos resultados pueden estar relacionados con el beneficio que se obtiene del tratamiento médico (antiagregantes duales durante 90 días asociado a un programa de modificación de estilo de vida) ya que las tasas de recurrencia a los 30 días eran también más bajas de lo esperado.⁷⁴

En un reciente estudio observacional “Infarct recurrence in intracranial atherosclerosis: results from the MyRIAD Study” se incluyó a pacientes con un ictus o AIT reciente causado por enfermedad aterosclerótica intracraneal con grado de estenosis entre el 50-99% y con tratamiento médico agresivo similar a la terapia médica aplicada en el ensayo SAMMPRIS. Los resultados mostraron

una tasa de recurrencia de ictus del 8,8% (12,7/100 pacientes-año) y del 5,9% (8,5/100 pacientes-año) de AIT atribuidos a la arteria sintomática con una media de seguimiento de 253 ± 131 días.⁷⁵

Como podemos observar en el resumen previo de estudios observacionales y ensayos clínicos realizados en los últimos 20 años, los pacientes con enfermedad aterosclerótica intracraneal sintomática tienen un alto riesgo de sufrir un ictus isquémico recurrente. A pesar de que el porcentaje de pacientes con riesgo de recurrencia ha ido disminuyendo en los últimos años ayudado por el cumplimiento del tratamiento médico y por el control de los factores de riesgo vascular, las cifras de ictus recurrentes son las más altas entre todos los subtipos de ictus.

Nuestros esfuerzos deben ir dirigidos a la caracterización del paciente con aterosclerosis intracraneal sintomática para estratificar el riesgo y personalizar la terapia preventiva adaptándola al riesgo individual de cada paciente. Asimismo, es necesario identificar los factores que actúan en cada paciente contribuyendo a incrementar el riesgo de recurrencia. También es necesario identificar nuevas dianas terapéuticas relacionadas con los mecanismos fisiopatológicos responsables del riesgo trombótico tan elevado en estos pacientes.^{70,76}

1.3.2.4. Factores predictores de riesgo de recurrencia

Los factores pronósticos o predictores de la enfermedad aterosclerótica intracraneal sintomática pueden clasificarse en factores sistémicos del paciente que están relacionados con el desarrollo y progresión de la propia enfermedad y factores locales relacionados con la placa intracraneal vulnerable o de riesgo.

1.3.2.4.1. Factores sistémicos: Pacientes de alto riesgo.

Diferencias entre etnias y orígenes geográficos

La aterosclerosis intracraneal se distribuye de forma desigual entre las diferentes regiones del mundo. En Asia, casi el 50% de los ictus son debidos a aterosclerosis intracraneal seguida de Brasil (39%), Estados Unidos y Europa (10-16%)⁷⁷

Varios estudios han analizado las principales diferencias y sugieren que el origen geográfico o la etnia pueden ser factores predisponentes.^{78,79} Actualmente se desconoce por qué es tan prevalente en los asiáticos aunque se cree que pueden estar implicados factores fisiopatológicos y dietéticos, polimorfismos genéticos y factores hemodinámicos. Son necesarios estudios que ayuden a comprender y explicar esta diferencia.⁸⁰

Factores genéticos

Se están realizando estudios de genes candidatos y del genoma completo cuyo objetivo es identificar a los factores de riesgo genéticos y los fenotipos subclínicos de la aterosclerosis intracraneal así como también qué variantes genéticas están implicadas en los ictus recurrentes. Por el momento no se han identificado polimorfismos genéticos específicos, lo que puede ser debido a la complejidad de los genes y sus variantes.^{80,81}

Sexo

A lo largo de la literatura hay una preferencia del sexo femenino por la aterosclerosis intracraneal y parece que el riesgo de recurrencia también puede ser mayor frente al sexo femenino.⁸²

Edad

Este factor de riesgo se ha relacionado de forma independiente tanto con la aterosclerosis extracraneal como con la intracraneal. Con el paso de los años, las arterias intracraneales se vuelven más susceptibles al estrés oxidativo, lo que lleva al desarrollo y progreso de las placas intracraneales.⁸³

Además, la edad también es un predictor de riesgo de recurrencia.⁸⁴

Factores de riesgo vascular

Tanto la hipertensión arterial como la diabetes mellitus se han asociado de forma independiente a la aterosclerosis intracraneal sintomática y asintomática en pacientes asiáticos y caucásicos. La gravedad de las estenosis intracraneales no se ha relacionado con una mayor concentración de hemoglobina glicosilada (HbA1c).⁸⁵

El subanálisis de datos del estudio WASID mostró que los niveles elevados de presión arterial y de colesterol estaban relacionados con una mayor tasa de recurrencia de ictus y otros eventos vasculares⁷². La incidencia del ictus recurrente puede haber disminuido debido a cambios en el estilo de vida como el ejercicio físico en el ensayo clínico SAMMPRIS,⁵⁶. En otro estudio, cilostazol in Symptomatic intracranial Stenosis 2 (TOSS-2), se asociaron los niveles elevados de apoproteína B/A a la progresión de la estenosis sintomática. Por el contrario, el aumento en la lipoproteína HDL y la reducción de las proteínas residuales del colesterol se relacionaron con una menor progresión de las estenosis.^{85,86}

El síndrome metabólico en pacientes con aterosclerosis intracraneal sintomática se presenta de forma más frecuente que en la población general. Los pacientes sintomáticos con síndrome metabólico del estudio WASID y aquellos evaluados en una cohorte china presentaron un mayor riesgo de eventos recurrentes. No obstante, el síndrome metabólico aportó un mayor valor pronóstico adicional más allá de los factores de riesgo individual.^{87,88}

Extensión de la aterosclerosis.

El número de arterias afectadas por la aterosclerosis cerebral se ha asociado a un mayor riesgo de recurrencia y de muerte vascular. En un estudio prospectivo a gran escala, se observó que los pacientes que presentaban tanto estenosis extracraneales como intracraneales presentaron un riesgo de recurrencia aumentado frente a pacientes con una única estenosis intracraneal.⁸⁹ Así mismo, el grado de estenosis intracraneal también se ha descrito como factor de riesgo de recurrencia.⁹⁰ En la cohorte del estudio Chinese Intracranial Atherosclerosis (CICAS), se concluyó que a mayor grado de estenosis intracraneal, mayor riesgo de recurrencia (3,82% recurrencia en grado de estenosis 50-69%, 5,16% recurrencia en grado de estenosis 70-99% y 7,27%

1

recurrencia en oclusión total).⁹¹ La progresión de la enfermedad aterosclerótica intracraneal también se ha asociado con el número total de arterias afectadas por aterosclerosis.⁹²

Calcificación arterial

El grado de calcificación arterial intracraneal se ha relacionado con la gravedad de la aterosclerosis intracraneal,^{70,93,94} sin embargo, investigaciones recientes confieren discrepancia sobre el tema. Un reciente estudio describe que la calcificación de la íntima aparece con mayor frecuencia en placas asintomáticas, pudiendo indicar que la lesión se encuentre estable, al igual que ocurre en las arterias extracraneales.⁹⁵ La revisión de Bartstra define como indicador de placa inestable a las calcificaciones pequeñas y puntadas de la capa íntima mientras calcificaciones más grandes podrían indicar estabilidad de la placa.⁹⁶ Es necesario el desarrollo de más estudios longitudinales que profundicen en el papel causal de la calcificación.

Enfermedad cerebral de pequeño vaso

La enfermedad de pequeño vaso cerebral se caracteriza por causar pequeños infartos subcorticales, hiperintensidades de sustancia blanca, microhemorragias, y atrofia cerebral. Se ha asociado también con demencia vascular y enfermedad de Alzheimer.⁹⁷ Aunque algunos estudios concluyen que la enfermedad de pequeño vaso es un predictor de recurrencia de ictus en pacientes con aterosclerosis intracraneal⁹⁸ otros contradicen dicha afirmación.^{99,100}

1.3.2.4.2. Factores locales relacionados con arteria sintomática

Grado de estenosis y localización en arterias intracraneales sintomáticas

Tradicionalmente se ha asociado el riesgo de recurrencia con el grado de la estenosis intracraneal. Como mencionamos anteriormente, en el ensayo WASID, el riesgo de recurrencia de ictus en el territorio de la arteria estenótica sintomática llegó al 23% en pacientes con estenosis $\geq 70\%$.⁷² En el estudio CICAS se determinó que según aumentaba el grado de estenosis, el riesgo de recurrencia aumentaba gradualmente, siendo máximo en oclusiones completas.⁹¹ En un estudio reciente en población china, también se observa una elevada recurrencia

de ictus en pacientes con estenosis grave a los 12 meses. No obstante, dicho estudio subraya la importancia de incluir pacientes con estenosis leves en futuros estudios, ya que se pueden pasar por alto pacientes de alto riesgo al subestimar la gravedad de la enfermedad aterosclerótica intracraneal por el efecto de la remodelación positiva en las arterias.⁹⁰

Con respecto a la localización más frecuente de la estenosis para un riesgo de recidiva aumentado solo se ha descrito la presencia de placas coexistentes tanto en territorio intracraneal como extracraneal.^{71,101}

Antiguos infartos cerebrales en el territorio vascular de la arteria sintomática

Se consideran como factores predictivos de recurrencia los infartos cerebrales previos, los infartos subcorticales y los infartos múltiples en la enfermedad aterosclerótica intracraneal.^{73,75} Así mismo, se ha observado que los pacientes que presentan infarto agudo en la imagen basal son más propensos a padecer nuevos eventos isquémicos que aquellos que han sufrido un AIT.¹⁰²

Factores hemodinámicos

La aterosclerosis intracraneal puede causar un compromiso hemodinámico dependiente del grado de estenosis y de la circulación colateral como un método de compensación de la reducción del flujo en el cerebro. El deterioro en las arterias colaterales analizadas por angiografía se ha asociado con una mayor recurrencia de eventos cerebrovasculares en el subanálisis del estudio SAMMPRIS.^{103,104} Además se ha observado que los pacientes con infarto en territorio frontera presentan mayor riesgo de recurrencia frente a pacientes con patrón de infarto en otras localizaciones.¹⁰⁵

Microinfartos corticales

Los microinfartos corticales observados en resonancia magnética de alta resolución también se han relacionado con un elevado riesgo de recurrencia.¹⁰⁶

Características de la placa intracraneal

Las características morfológicas de la placa intracraneal son menos conocidas que las de la placa extracraneal, principalmente por la inaccesibilidad de las primeras.¹⁰⁷ Los estudios en autopsias realizados durante la década de los 60

1

fueron claves para conocer la historia natural de la aterosclerosis intracraneal y su localización más frecuente. Se describió que en la composición de la placa es frecuente encontrar depósitos lipídicos intracelulares y extracelulares, células y matriz extracelular de tejido conectivo.^{108,109,110} Estudios posteriores permitieron comprobar que las placas sintomáticas intracraneales comparten las mismas características de vulnerabilidad que las placas extracraneales; cápsula fibrosa fina, erosión o ulceración, hemorragia intraplaca, núcleo lipídico, trombo y grado de inflamación.^{111,112}

Actualmente disponemos de técnicas de imagen como la resonancia magnética de alta resolución (High-Resolution Magnetic Resonance Imaging (HRMRI)) que permiten visualizar “in vivo” la pared vascular de las arterias intracraneales. Esta técnica tiene el potencial de determinar las características y la morfología de las placas intracraneales y de definir si se tratan de placas vulnerables. Aunque aún es controvertido, se considera que las siguientes características están asociadas a inestabilidad de la placa y recurrencia vascular: mayor área de placa, mayor remodelación positiva, superficie irregular y realce de la placa tras la administración de contraste intravenoso.^{113,114}

Actividad de la placa intracraneal

La aterosclerosis intracraneal es un proceso dinámico. Con el tiempo y, sobre todo, con la implicación de los factores de riesgo sistémicos e individuales que describimos en el punto anterior, la placa intracraneal progresa y puede evolucionar hasta convertirse en una placa vulnerable con riesgo potencial de provocar un primer evento isquémico o una recurrencia isquémica. Este proceso depende principalmente de la actividad de la placa y de su morfología.

No disponemos de marcadores validados que determinen la actividad de la placa de aterosclerosis intracraneal. Existen varios candidatos entre marcadores de imagen de pared arterial, por un lado, y biomarcadores circulantes por otro. A continuación, revisaremos las técnicas de imagen de pared arterial que nos permiten aproximarnos a las características de la placa de ateroma intracraneal, incluyendo su actividad.

Factores sistémicos del paciente	Factores locales relacionados con la placa intracraneal
Sexo: femenino	Grado de estenosis
>Edad	Nº estenosis concomitantes
Diabetes mellitus	Factores hemodinámicos
↓ Control factores de riesgo vascular	Microinfartos corticales
Síndrome metabólico	Contenido del núcleo lipídico
Nº de arterias afectadas	Remodelación de la placa positiva
Calcificación arterial	Hemorragia intraplaca
Enfermedad de pequeño vaso	Actividad de la placa

Tabla 1.2: Principales factores predictores de riesgo de recurrencia en aterosclerosis intracraneal

1.4. Imagen de placa de aterosclerosis intracraneal

Tradicionalmente, el método para conocer el estado de las arterias a nivel intracraneal consistía en evaluar la presencia de oclusión o de estenosis de alto grado mediante lumenografía a través de la angiografía de sustracción digital, angiografía por tomografía computarizada, angiografía por resonancia magnética y ecografía transcraneal. Actualmente estas técnicas siguen representando un método importante para la valoración de la patología vascular, pero no proporcionan información sobre la naturaleza histopatológica de las lesiones que condicionan la reducción de calibre arterial, ni sobre la actividad de las mismas. El uso de nuevas técnicas no invasivas, como la HRMRI permite obtener imágenes in vivo de la pared del vaso arterial y de las placas

1

intracraneales, claves para evaluar la morfología y la actividad de las placas ateroscleróticas.^{115,116}

Otra técnica que se está siendo probada en la actualidad es la Tomografía de coherencia óptica (TCO). Esta tecnología consiste en la adquisición de imágenes transversales y bidimensionales por medio de luz infrarroja cercana y medición del grado de retrodispersión de los diferentes tejidos. La resolución es de 10 μm , ofreciendo información más fiable sobre las características de las placas intracraneales. Pero en la actualidad existen limitaciones y problemas técnicos (arterias intracraneales tortuosas, estrecho campo de visión) que dificultan su aplicación en las enfermedades cerebrovasculares.^{117,118} Se está desarrollando un ensayo clínico con el uso de TCO para la evaluación de la pared arterial y de las características de la placa intracraneal.¹¹⁹

1.4.1. HRMRI visualización de la pared arterial y placa intracraneal

Las primeras imágenes de la pared de vasos intracraneales mediante HRMRI se realizaron con escáneres con una intensidad de campo magnético de 1,5T a través de técnicas que suprimen la señal tanto del líquido cefalorraquídeo como de la sangre en el interior de los vasos (black-blood signal), lo que permite diferenciar la pared arterial tanto en su cara externa (rodeada de líquido cefalorraquídeo ahora suprimido) como en su cara interna (supresión de la sangre). No obstante, la supresión del líquido cefalorraquídeo se consigue a costa de empeorar la ratio señal/ruido por lo que el tiempo de adquisición se ha de alargar para conseguir una señal suficiente. La llegada de RMs de alto campo (más de 3T) permitieron optimizar dicha técnica con tiempos de adquisición razonables; así, se podía detectar la lesión intracraneal, la presencia de placas y el realce post-contraste de las mismas. Estas lesiones fueron observadas por primera vez en arterias de la circulación posterior como la arteria vertebral distal y la arteria basilar, pero posteriormente también se detectaron en arterias de la circulación anterior como la arteria cerebral media.¹¹⁵

La HRMRI (3T y 7T) es la técnica más prometedora para obtener imágenes fiables, ya que cumple con todas las características necesarias para la

visualización de la pared arterial y placa intracraneal.¹²⁰ Las secuencias para obtener dichas imágenes suelen realizarse en imágenes ponderadas en T1 y T2 (observándose las características básicas, morfología e intensidad de señal de la pared arterial), imágenes de densidad de protones (su uso permite diferenciar la pared arterial externa), imágenes ponderadas en T1 tras administración de contraste (intensidad del realce de la pared y/o placa), secuencias de turbo espín eco y técnicas de sangre negra (detección de las paredes de vasos).¹²¹ La resolución ideal suele ser menor a 1mm, con un plano transversal en 2D y 3D, perpendicular al eje arterial para una precisa caracterización de la pared del vaso.

El uso de las secuencias 2D pueden proporcionar con detalle las características de las lesiones de la pared arterial, ya que su resolución es espacial al plano. La técnica de HRMRI isotrópica en 3D se ha perfeccionado para mejorar la resolución y reconstruir en múltiples planos, aunque, en ocasiones, puede ser limitada para caracterizar las placas intracraneales debido al pequeño tamaño de la arteria (ACM, 3-5mm; ACA, 2-3mm; ACP, 2-3mm). Los vasos más distales a estas arterias y más pequeños no pueden visualizarse en estas secuencias (arterias cerebelosas inferiores posteriores, 1-2mm).^{122,123}

En el ámbito clínico, el uso de esta tecnología se utiliza principalmente para el diagnóstico diferencial de la aterosclerosis intracraneal, las vasculitis, la enfermedad de Moyamoya y la disección arterial.¹²⁴

1.4.2. Imagen HRMRI en la predicción del riesgo de recurrencia

Mediante la obtención de imágenes HRMRI podemos evaluar la placa aterosclerótica intracraneal directamente para tipificar si es vulnerable.

Múltiples estudios han evaluado la existencia de biomarcadores de placa intracraneal en HRMRI que ayuden a identificar la actividad de la placa y el riesgo de recurrencia en pacientes con aterosclerosis intracraneal. Dichos biomarcadores son:

1

Grado de estenosis: Mediante angiografía por resonancia magnética podemos determinar el grado de estrechamiento del lumen vascular. Las clasificaciones etiológicas del ictus solo suelen considerar a las placas que generan estenosis mayores al 50% como causantes de ictus.¹²⁵ Deben asociar características morfológicas que sugieran vulnerabilidad o mayor actividad pese a no causar reducción importante de la luz como gran núcleo necrótico lipídico, hemorragia intraplaca y captación de contraste.^{126,127} Estas características también se han observado en la circulación intracraneal, concretamente en la arteria cerebral media, donde las estenosis moderadas son las responsables de provocar ictus isquémicos en el mismo territorio¹²⁸ sin olvidarnos que las placas de ateromatosis no estenosante pueden causar isquemia cerebral en los ictus criptogénicos . Una revisión sistemática describió que la mitad de los pacientes estudiados con ictus agudo o subagudo presentaban una estenosis intracraneal <50% en la ARM (Angiografía por Resonancia Magnética). Estos datos corroboran la importancia de evaluar las características y morfología de la placa intracraneal independientemente del grado de estenosis ya que a pesar de que no cause una estenosis moderada/grave puede tener una gran relevancia clínica.¹²⁹

Remodelado arterial: Es un mecanismo propio de la enfermedad aterosclerótica bien conocido en las arterias carótidas y coronarias.^{130,131} Los patrones de remodelación de la pared pueden ser positivos o negativos. La remodelación positiva consiste en la expansión compensatoria hacia fuera del lumen de aquella pared donde está alojada la placa. De esta manera se alivia la estenosis luminal que la placa pudiera producir a pesar de la acumulación de material necrótico en la pared. En la arteria carótida interna, se ha encontrado una remodelación externa en la que la luz arterial se ha mantenido estable, pero en la pared arterial hay una carga de placa de aproximadamente 60%. Si se compara con las arterias coronarias, las arterias carótidas tienen mayor capacidad de compensación para que el engrosamiento de la pared no afecte al lumen vascular.^{132,133} Por el contrario, la remodelación negativa es una reducción del diámetro exterior de la pared arterial donde se encuentra la placa o lesión arterial. Numerosos estudios han relacionado la remodelación positiva con la placa aterosclerótica sintomática.^{134,135,136,137} El estudio de Qiao et al.

informaba de que las arterias cerebrales posteriores tienen mayor capacidad de remodelación positiva que las arterias en territorio anterior y que se produce estenosis cuando la carga de la placa alcanza el 55%. Se sospecha que la diferencia entre territorio anterior/posterior y la respuesta a la remodelación puede estar relacionado por el flujo sanguíneo, inervación simpática y factores genéticos.

El remodelado positivo también se ha visto asociado a mayor riesgo de recurrencia.^{135,138}

Hemorragia intraplaca: Estudios observacionales y longitudinales resumidos en un meta-análisis definieron la hemorragia intraplaca como predictor de ictus en las arterias carótidas extracraneales.¹³⁹ Así mismo, se ha asociado su presencia con inflamación activa intraplaca, progresión de la placa y cubierta fibrosa fina o rota.^{140,141,142} Se cree que la hemorragia intraplaca es producida por la rotura de la neovascularización, ya que se trata de microvasos débiles. Mayor número de microvasos se ha relacionado con la formación de núcleos necróticos en las placas e inflamación.¹⁴³ A nivel intracraneal, también existe evidencia que demuestra que la hemorragia intraplaca está relacionada con la placa intracraneal sintomática y con la incidencia de eventos cerebrovasculares.^{138,144} En el estudio de las características de la placa asociadas a ictus recurrente de Sun et al. no encontraron relación entre hemorragia intraplaca e ictus recurrente, lo que podría ser debido a la baja prevalencia de casos.¹⁴⁵ La hemorragia intraplaca es menos frecuente en la placa intracraneal que en la extracraneal por lo que serían necesarios más estudios con mayor inclusión de pacientes para dilucidar si esta característica es un buen marcador de recurrencia en placas intracraneales.

Placa irregular o ulcerada: el contorno de la placa se ha asociado a ictus recientes y a alta probabilidad de recurrencia en estudios de arterias carótidas extracraneales estudiadas mediante resonancia magnética.¹⁴⁶ Recientes publicaciones que estudian los componentes de la placa intracraneal, han definido que la superficie irregular o ulcerada de la placa es más prevalente en estenosis intracraneales sintomáticas.^{136,147} Esta característica está relacionada

1

con la placa inestable y potencialmente vulnerable, pero no hay estudios que la asocien con riesgo de recurrencia.¹³⁵

Placa excéntrica y lateralidad: La localización excéntrica de las placas intracraneales las convierte en más vulnerables y propensas a provocar una embolización distal.¹⁴⁸ No obstante, existe cierta controversia entre diferentes estudios, ya que Dieleman et al, observó que tanto las placas excéntricas como las concéntricas podían provocar lesiones sintomáticas.¹⁴⁹ Futuros estudios deberían abordar y explicar las diferencias encontradas en la literatura. Además, la situación de la placa en la pared arterial (superior, inferior, dorsal o ventral) también es relevante.¹⁵⁰ Así, las placas situadas en la pared superior de la arteria cerebral media son las más comúnmente identificadas en arterias sintomáticas que en el lado asintomático y pueden ser las responsables de los infartos de las arterias penetrantes o de otras ramas arteriales que surgen dorsalmente de la parte superior de la pared arterial.^{151,152} En la arteria basilar ocurre un proceso similar, ya que la mayoría de las placas sintomáticas en la arteria basilar suelen encontrarse en el lado izquierdo, derecho y dorsal, de donde surgen la mayoría de las arterias penetrantes.¹⁴⁸

Área de la placa y carga de la placa intracraneal: La carga de la placa se define como el porcentaje del área de la placa en el lugar de mayor estenosis definido como: $(\text{área de la placa} / \text{área del vaso}) \times 100\%$. Una mayor carga de placa intracraneal se asocia con una mayor probabilidad de encontrarnos ante una arteria sintomática, así como de un mayor riesgo de recurrencia isquémica.^{113,153,154}

Realce post-contraste de la placa intracraneal: El realce de la placa tras la administración de contraste venoso a nivel periférico es una característica bien conocida en arterias extracraneales donde queda bien establecida la vulnerabilidad de la placa.^{155,156} En las arterias intracraneales, existe bastante controversia acerca de la vulnerabilidad y su relación con la recurrencia, por ese motivo destinaremos un punto aparte de esta introducción para dedicarlo al realce post-contraste de la placa intracraneal.

1.4.3. Realce post-contraste de la pared y de la placa intracraneal

En HRMRI existe la posibilidad de combinar secuencias T1 pre y post-contraste para ayudar en la identificación y diferenciación de las distintas patologías vasculares intracraneales.¹⁵⁷ Dichas secuencias permiten una evaluación cualitativa y cuantitativa sin necesidad de un procesamiento de imágenes posterior para su análisis, simplificando la evaluación de la placa o la lesión intracraneal.

El contraste atraviesa la barrera del vaso sanguíneo y produce una acumulación de gadolinio en el espacio perivascular debido a un aumento de la permeabilidad del endotelio. Se ha hipotetizado que el aumento de la perfusión y de la permeabilidad se deba a procesos patológicos como la inflamación, la neovascularización y la inestabilidad de la placa.¹⁵⁸ Estos datos han sido obtenidos mediante estudios histopatológicos que ayudan a comprender la fisiopatología del realce en arterias coronarias y carótidas extracraneales.^{155,156,159} Así mismo, en arterias coronarias también se ha relacionado el realce de la placa con la fibrosis de la misma.¹⁶⁰

El proceso de inflamación aterosclerótica de las arterias extracraneales está mediado por macrófagos y linfocitos T. Ambas células producen un daño en la barrera endotelial y pueden actuar como mediadoras de la neovascularización.³⁰

1.4.3.1. Realce post-contraste de la pared arterial intracraneal

Se ha descrito la existencia de realce post-contraste arterial a nivel del endotelio en arterias sin placa de aterosclerosis asociada. Uno de los primeros estudios en identificar esto fue el de Aoki et.al., que observó que el realce post-contraste de la pared arterial intracraneal se asociaba con la edad de los pacientes pero también sugirieron que el realce podría estar relacionado con la aterosclerosis.¹⁶¹ Otros estudios han señalado que el realce de la pared arterial está relacionado con infartos cerebrales, por ejemplo el de Takano et.al. que examinó a 115 pacientes con HRMRI y observó que el realce fuerte de las paredes arteriales intracraneales estaba asociado con la edad (Odds Ratio (OR), 1,088; Intervalo

1

de confianza (IC) del 95%, 1,034-1,146) y con la presencia de infartos cerebrales (OR, 4,097; IC 95%, 1,483-11,319).¹⁶² También se ha relacionado un mayor número de arterias con realce en la pared vascular con los clásicos factores de riesgo cardiovascular como la hipertensión (RR, 1.46; 95% IC: 1.06, 2.02) o la diabetes mellitus (RR, 1.67; 95% IC: 1.20, 2.33).¹⁶³

Realmente, la presencia del realce en la pared arterial ha sido observada por muy pocos estudios en la actualidad. Se piensa que el realce de la pared podría indicar inflamación endotelial como ocurre con el realce de las arterias sometidas a terapia endovascular, o bien, se debe a la formación de los vasa vasorum en la aterosclerosis intracraneal. Se necesitan estudios prospectivos que ayuden a comprender el verdadero significado del realce post-contraste de la pared arterial.

1.4.3.2. Realce post-contraste de la placa intracraneal

Existen estudios que se posicionan a favor de que el realce es una característica de alto riesgo de la placa aterosclerótica intracraneal a pesar de que las arterias intracraneales no contienen un gran número de vasa vasorum o un menor porcentaje, si los comparamos con las arterias extracraneales. Aunque existe evidencia que determina que la aterosclerosis intracraneal puede desarrollar vasos vasorum a nivel proximal de la lesión.¹⁶⁴

De acuerdo con numerosos estudios, la captación de gadolinio en secuencias T1 post-contraste es característica de la placa intracraneal sintomática. Este realce se caracteriza por ser excéntrico a la pared arterial en las arterias que irrigan el área del infarto cerebral.

Varios meta-análisis han reportado la relación entre el realce de la placa intracraneal y la presencia de infarto cerebral agudo en el mismo territorio de la placa. Dos meta-análisis recientes que incluyeron 8 y 11 estudios, respectivamente, concluyen que existe realce post-contraste en el 66 y el 89% de las placas sintomáticas, mientras que solo captan entre el 22 y el 54% de las placas asintomáticas.^{125,165}

Los últimos meta-análisis publicados por Song et al. en 2021 y por Yang en 2022 han asociado significativamente el realce de la placa sintomática intracraneal con eventos isquémicos (OR, 7,4 y OR, 9,4, respectivamente).

Además, en el meta-análisis de Yang se concluye que existe una mayor probabilidad de sufrir un ictus en pacientes con realce y estenosis localizada en arteria cerebral media frente a pacientes sin realce post-contraste ni estenosis de la arteria cerebral media.¹⁶⁶

No obstante, otros estudios no han hallado asociación entre la presencia de realce y la presencia de placas sintomáticas^{148,160,167} Así, algunos autores postulan que la captación de la placa puede deberse a un estado inflamatorio generalizado más que representar la vulnerabilidad de la placa en sí misma mientras que otros proponen que los mecanismos que llevan a las arterias a presentar realce no son equivalentes entre las arterias intra y extracraneales al presentar las primeras menos vasa vasorum y al faltar estudios histopatológicos que validen lo observado en la HRMRI. No obstante, en uno de los estudios negativos se incluyeron una mayoría de pacientes con un infarto cerebral crónico (145-2740 días) donde existe la posibilidad que la placa se haya estabilizado, dado que su actividad es un proceso dinámico con una intensidad del realce post-contraste que disminuir gradualmente con el tiempo.¹⁶⁸

Primer autor (año)	Diseño del estudio	Nº de sujetos	País	Realce post-contraste placa intracraneal			
				Nº placas Sintomática		Nº placas Asintomática	
				Si realce	No realce	Si realce	No realce
Kim et. al., 2012 ¹⁷¹	Retrospectivo	34	Korea del sur	12	14	0	0
Skarpathiotakis et, al.,2013 ¹⁶⁸	Retrospectivo	29	Canada	16	0	2	1
Vakil et al., 2013 ¹⁶⁹	Retrospectivo	19	EEUU	7	3	1	10
Qiao et al., 2014 ¹⁷⁰	Prospectivo	27	EEUU	21	0	31	14
Teng et al., 2015 ¹⁵³	Prospectivo	139	China	54	58	9	44
Xu et al., 2015 ¹⁷²	Prospectivo	32	China	12	3	4	13
Wang et al., 2018 ¹⁷³	Prospectivo	57	Asiática	24	5	10	13
Lu et al. 2018 ¹⁷⁴	Retrospectivo	46	China	21	1	9	22
Liang et.al. 2018 ¹⁷⁹	Prospectivo	47	China	23	2	16	6
Kwee et.al., 2019 ¹⁷⁸	Retrospectivo	14	EEUU	14	0	27	4
Liu et. al., 2020 ¹⁷⁵	Retrospectivo	67	China	40	5	16	6
Farik et.al., 2020 ¹⁷⁷	Prospectivo	34	EEUU	28	8	44	73
Zhang et.al., 2022 ¹⁷⁶	Prospectivo	38	China	25	5	12	23

Tabla 1.3: Resumen de las principales características de los estudios que relacionan el realce post-contraste y placa intracraneal sintomática.

1.4.3.3. Realce post-contraste y riesgo de recurrencia

El realce post-contraste de la placa intracraneal también se ha identificado como predictor de riesgo de recurrencia en pacientes con aterosclerosis intracraneal.

Kim et al. publicó un estudio en el que se incluyeron a 138 pacientes con ictus isquémico y aterosclerosis intracraneal. El 78,3% de los pacientes presentaron captación de realce post-contraste en la arteria sintomática y durante el periodo de seguimiento (media de 18 meses) un 28,3% de los pacientes sufrió una recurrencia de ictus. La tasa de recurrencia al año fue del 30,3% en pacientes con realce post-contraste de la placa intracraneal y del 6,8% en los pacientes donde no se observó captación de contraste en la placa.¹¹⁴

Song et al. observó captación de la placa intracraneal sintomática en el 65% de los pacientes incluidos (total de 60 pacientes). Doce pacientes sufrieron una recurrencia de ictus relacionado con la arteria cerebral media sintomática. El análisis de supervivencia arrojó que los pacientes tenían un mayor riesgo de sufrir una recurrencia de ictus si la placa intracraneal realizaba tras la administración de contraste (HR 14,24; IC 95% 1,21-168,11).¹⁸⁰

Zhang et al. incluyó en su estudio a 54 pacientes con infarto cerebral agudo, subagudo y crónico con placa aterosclerótica en la arteria cerebral media cuyo periodo de seguimiento fue de 519 días entre la primera y última resonancia. Dieciséis pacientes (30%) sufrieron una recurrencia de ictus en el que el realce estable o aumentado fue un factor independiente para recurrencia de ictus en el análisis multivariante.¹⁸¹

En el estudio de Shen et al. un 19,4% de los pacientes incluidos sufrieron una recurrencia con una media de seguimiento de 334 días. La variación de ratio post-contraste entre la resonancia basal y la de seguimiento mostró que el realce basal no varió entre pacientes con o sin recurrencia, pero el mantenimiento del realce en el grado más alto (según una escala cualitativa) sí se relacionó con eventos recurrentes refiriendo el estudio que el cambio dinámico de la captación

1

de realce podría ser un indicador importante de recurrencia. (mediana (rango intercuartil): 3,34 (35,78-32,58)).¹⁸²

Lyu et al. siguió durante un año a 43 pacientes con estenosis aterosclerótica grave en ACM, de los cuales 7 sufrieron un ictus recurrente. El área, la carga y el grado de realce de la placa no fue diferente entre los pacientes con y sin recurrencias, mientras que el volumen de tejido hipoperfundido fue mayor en el grupo de pacientes que presentaron recurrencias.¹⁸³

Ran et al. estudio la asociación de las características de las placas ateroscleróticas de ACM e infartos cerebrovasculares recurrentes de 105 pacientes con ictus agudos, recurrentes y crónicos. Al comparar los ictus recurrentes con ictus agudos hallaron que el aumento en la carga de la placa fue mayor en pacientes con ictus recurrente (odds ratio, 2,26, (IC del 95%, 1,03-4,96)) siendo la única característica independiente asociada a ictus recurrente. También definieron que pacientes con ictus agudo presentaban mayor realce post-contraste que pacientes con ictus crónico, pero al compararlo entre los grupos ictus agudo e ictus recurrente no se encontró diferencias significativas entre ambos grupos.¹¹³

Shi et al. realizó un seguimiento clínico de 48 meses después de la segunda resonancia (tiempo medio entre ambas de $6,2 \pm 4,1$ meses) a 58 pacientes donde encontraron que 12 pacientes (20,7%) tuvieron una recurrencia de ictus. El análisis de Cox multivariante arrojó que como características de imagen solo la progresión de la carga de la placa intracraneal (HR, 6,293; IC del 95%, 1,620-24,444) era predictora independiente de a eventos recurrentes, además mostraron que existía mayor supervivencia libre de eventos en pacientes sin progresión en la carga de la placa.¹⁵⁴

Wu et al. incluyó en un estudio a 175 pacientes con ictus isquémico agudo y pacientes con ictus recurrente observándose que el volumen de placa y el número de placas intracraneales era mayor en el grupo de pacientes recurrentes. Además se observó que estas características de la placa intracraneal se asoció de forma independiente con el ictus recurrente (volumen de placa culpable (OR,

1,16; IC del 95%, 1,03-1,30; número total de placas (OR, 1,31; IC del 95%, 1,13-1,52)¹⁸⁴

Para concluir este apartado de tesis podemos decir que existe numerosa evidencia científica que relaciona el realce post-contraste de la placa intracraneal como buen marcador de placas sintomáticas y de vulnerabilidad. La mayoría de los estudios refiere que la captación de realce puede deberse a mecanismos fisiopatológicos como la disfunción endotelial, la neovascularización y la inflamación que conduce a la filtración del contraste en la pared arterial. Asimismo, el realce post-contraste también es un buen marcador para predecir futuros ictus isquémicos.

Actualmente es necesario conocer mejor los mecanismos que expliquen la relación existente entre el realce post contraste, placa intracraneal sintomática y/o recurrencia de ictus ya que las evidencias hasta el momento no son claras. En primer lugar, porque son necesarios estudios prospectivos a largo plazo. En segundo lugar, porque la mayoría de los estudios han sido realizados en población asiática sin conocer realmente qué sucede en sujetos caucásicos. En tercer lugar, son necesarios estudios multicéntricos que demuestren la aplicabilidad en la práctica clínica real del realce post-contraste sin olvidar el papel que puede tener el realce post-contraste de la pared de las arterias intracraneales.

Primer autor (año)	Diseño del estudio	Unicéntrico vs multicéntrico	Nº de sujetos	Etnia	Tiempo de seguimiento	Realce post-contraste predice ictus recurrentes
Kim et al., 2016 ¹¹⁴	Prospectivo	Unicéntrico	138	Asiática	18 meses	Si
Lyu et al., 2019 ¹⁸³	Retrospectivo	Multi-céntrico	43	Asiática	12 meses	No
Zhang et al., 2020 ¹⁸¹	Prospectivo	Unicéntrico	54	Asiática	17 meses	Si
Song et al., 2020 ¹⁸⁰	Prospectivo	Unicéntrico	60	Asiática	12 meses	Si
Ran et al., 2021 ¹¹³	Retrospectivo	Unicéntrico	105	Asiática	No seguimiento	No
Shi et al., 2021 ¹⁵⁴	Prospectivo	Unicéntrico	58	Asiática	48 meses	No
Wu et al., 2022 ¹⁸⁴	Retrospectivo	Unicéntrico	175	Asiática	15 meses	No
Shen et al. 2022 ¹⁸²	Retrospectivo	Unicéntrico	67	Asiática	11 meses	No

Tabla 1.4: Resumen de las principales características de los estudios que relacionan el realce post-contraste con riesgo de recurrencia.

1.5. Inflamación arterial y riesgo en la aterosclerosis intracraneal

La aterosclerosis es considerada como una enfermedad inflamatoria crónica de la pared de las arterias grandes y medianas. Se considera la disfunción endotelial como el desencadenante de dicha enfermedad. La acumulación de LDL, monocitos, macrófagos, linfocitos y por último de células musculares lisas origina un aumento y desorganización de la capa íntima vascular.¹⁸⁵

Aunque las arterias intracraneales tienen características diferenciales a nivel anatómico y hemodinámico, sin embargo, se conoce menos porque ha sido menos estudiado a nivel histopatológico.^{186,187} el proceso de la aterogénesis puede compartir los mismos mecanismos que el resto de las arterias.

El papel de la inflamación arterial en la enfermedad aterosclerótica intracraneal no siempre ha sido relevante lo largo de los años. Así, cuando Lammie et al. detalló las características patológicas de placas extracraneales e intracraneales, determinó que las placas intracraneales ocluidas no presentaban hemorragia intraplaca, ulceración ni tampoco núcleo necrótico o inflamación superficial del segmento sintomático. Además, las placas intracraneales presentaban mayor calcificación que las placas en otras localizaciones.¹⁸⁸

Por tanto, el pensamiento clásico sobre la aterogénesis intracraneal, se basaba en que la aterosclerosis en las arterias intracraneales estaba constituida por placas frecuentemente más estables, cuyos mecanismos de progresión eran diferentes al resto de las arterias extracraneales, donde la participación de la inflamación de la pared arterial era escasa o nula y no existían características morfológicas asociadas a vulnerabilidad.^{167,189}

No obstante, estudios posteriores han evidenciado que las placas intracraneales pueden presentar características morfológicas de placas inestables y vulnerables, como hemorragia intracraneal, neovascularización e inflamación.^{51,190}

Chen et al. en su estudio de autopsias en arterias cerebrales medias encontró placas intracraneales con un área lipídica superior al 40%, mayor porcentaje de

1

hemorragia intraplaca y mayor infiltración inflamatoria en las arterias sintomáticas frente a las asintomáticas.¹⁹¹ Chung et al. examinó la disfunción endotelial y la inflamación en los segmentos estenóticos intracraneales mediante la medición de dimetilarginina asimétrica y fosfolipasa A2 asociada a las lipoproteínas (ambas séricas) determinando que la disfunción e inflamación son similares en las arterias extracraneales e intracraneales en los pacientes con enfermedad aterosclerótica intracraneal.¹⁹² Estos estudios permitieron poner en duda la visión clásica que se tenía al respecto de la aterosclerosis intracraneal.

Por otro lado, diversos estudios han validado y correlacionado los hallazgos de la placa intracraneal mediante HRMRI con estudios histológicos.¹⁹³ Asimismo, el realce post-contraste de la placa aterosclerótica intracraneal en HRMRI se ha asociado con el estado sintomático de la placa, considerándose como marcador de actividad y pudiendo estar asociada de forma independiente a infartos cerebrales recientes y como factor pronóstico. Además también se ha propuesto el realce post-contraste como marcador de neovascularización e inflamación de la pared intracraneal, como ocurre en estudios en placa carotídea.^{122,170, 194,195}

No obstante, la participación de la inflamación en la enfermedad aterosclerótica intracraneal también se ha relacionado con biomarcadores sanguíneos inflamatorios. Estudios transversales y longitudinales realizados en asiáticos y en caucásicos determinaron la capacidad de varios biomarcadores séricos para predecir la progresión y riesgo de recurrencia de las placas intracraneales, así como otros eventos isquémicos vasculares.^{70,196}

Se han encontrado concentraciones elevadas de ICAM-1, VCAM1, E-Selectina y de MCP-1 en pacientes con enfermedad aterosclerótica intracraneal. Este hecho sugiere que hay una activación endotelial inflamatoria en los pacientes y que la inflamación desempeña un papel importante en el desarrollo de la enfermedad.^{197,198} Los niveles elevados de proteína C reactiva (PCR) - biomarcador conocido de inflamación sistémica- han indicado ser predictores de eventos isquémicos y de recurrencia tanto a nivel coronario como cerebral. Además esta proteína parece estar implicada tanto en la aterogénesis como en el grado de vulnerabilidad de la placa, ya que los niveles anómalos de PCR se

han asociado a la rotura de la placa ateromatosa en pacientes con infarto de miocardio.^{196,199} Así mismo, la IL-6, citoquina proinflamatoria multifuncional, también se han descrito como predictor de progresión de la enfermedad aterosclerótica intracraneal.²⁰⁰

Si nos centramos en concreto en la actividad inflamatoria local de la placa, se ha evaluado la fosfolipasa 2 asociada a lipoproteínas.²⁰¹ Es una enzima producida por las células inflamatorias que se ha relacionado con la inflamación e inestabilidad de la placa aterosclerótica, aumentando el riesgo de eventos isquémicos coronarios y cerebrovasculares.²⁰²

Un reciente estudio ha observado que la ratio de linfocitos y monocitos está asociada con el grado de realce post-contraste de la placa intracraneal. En su estudio también determinan que la ratio de linfocitos/monocitos menor o igual a 4,0 puede predecir la inestabilidad de la placa intracraneal sintomática.²⁰³

Hay evidencias que prueban la utilidad de los biomarcadores séricos en el proceso de la inflamación endotelial de la enfermedad aterosclerótica intracraneal. Pero la especificidad de estos marcadores para identificar placas intracraneales vulnerables y con riesgo de recurrencia aún es incierta. Es posible que la identificación de biomarcadores relacionados con el proceso de lesión en el endotelio aporten con mayor precisión la caracterización y vulnerabilidad de las arterias intracraneales, pero es necesario ampliar el abanico de biomarcadores inflamatorios específicos que permitan la estratificación del riesgo a nuevos ictus y recurrencias o nuevos eventos vasculares en pacientes con aterosclerosis intracraneal, como también la posibilidad de monitorizar la eficacia del tratamiento individualizado.

A su vez, la identificación de estos biomarcadores relacionados con la inflamación y la aterosclerosis ha permitido desarrollar estrategias antiinflamatorias para estos pacientes. Actualmente el tratamiento estándar para enlentecer la progresión de las placas ateroscleróticas intracraneales se centra principalmente en disminuir los niveles de colesterol sin tener en cuenta el protagonismo de la inflamación en el proceso de la formación de la placa y su progresión. No obstante, el uso de estatinas ha demostrado que puede reducir

1

la concentración de marcadores inflamatorios además de los niveles de colesterol en pacientes con aterosclerosis.²⁰⁴ El estudio Canakinumab Antiinflammatory Thrombosis Outcome Study (CANTOS), centrado en el bloqueo de la interleucina-1 β (citoquina que regula la señalización de IL-6) mediante el uso de anticuerpos monoclonales, fue diseñado para valorar si la disminución de la inflamación vascular consigue reducir los eventos cardiovasculares recurrentes, obteniendo como resultado en su estudio una menor incidencia de eventos recurrentes en pacientes con infarto de miocardio tratados con canakinumab.²⁰⁵ El fármaco metotrexato probado por el ensayo Cardiovascular Intervention Reduction (CIRT) no consiguió un efecto antiinflamatorio ni disminuir los eventos cardiovasculares.²⁰⁶ Otros ensayos clínicos han probado la eficacia de la colchicina a baja dosis para la inhibición de los neutrófilos y así disminuir el riesgo de placa inestable en pacientes con enfermedad coronaria. Entre ellos, se encuentran los ensayos Low-Dose Colchicine 1 y 2 (LoDoCo) y Colchicine Cardiovascular Outcomes Trial (COLCOT), que demostraron que el uso de colchicina disminuía significativamente el riesgo cardiovascular y el ictus isquémico no cardioembólico.^{207,208}

La pregunta que subyace en toda esta argumentación es si la inflamación es responsable de parte del riesgo residual que presentan los pacientes con aterosclerosis, es decir, aquel riesgo que persiste una vez hemos controlado los factores de riesgo vascular. Esto implicaría que las terapias específicamente inflamatorias (las estatinas lo son de una forma indirecta, por mecanismo pleiotrópico) podrían tener un beneficio terapéutico añadido sobre la terapia habitual como sugieren, por primera vez, los resultados del estudio CANTOS.²⁰⁵ No obstante, dicho estudio incluyó a pocos pacientes con aterosclerosis intracraneal, por lo que no sabemos si sus resultados serían extrapolables a este tipo de pacientes. Por tanto, son necesarios estudios con pacientes que tengan aterosclerosis cerebral extracraneal e intracraneal, como el estudio CONVINCE (ensayo clínico con colchicina a bajas dosis en la prevención de infartos cerebrovasculares recurrentes).²⁰⁹

Se han realizado varios meta-análisis que incluyeron ensayos clínicos que usaron la colchicina para la reducción de eventos cardiovasculares y

cerebrovasculares. En el meta-análisis de Masson et al. encontraron una asociación significativa entre el uso de la colchicina y reducción del riesgo de ictus, pero no encontraron una asociación significativa para infarto de miocardio.²¹⁰

Un posterior meta-análisis de Al-Atta et al. relacionó el uso de colchicina con una reducción del 52% en la incidencia de ictus en pacientes con enfermedad coronaria estable.²¹¹

1.6. Justificación del trabajo

La enfermedad aterosclerótica intracraneal es un problema socio-sanitario de gran envergadura y, si las estimaciones se cumplen, será la etiología de ictus más común en todo el mundo. La identificación de las placas más vulnerables o con alto riesgo de provocar una recurrencia de ictus, así como la identificación de las placas estables y la regresión de estas, son puntos clave para poder prevenir ictus isquémicos y ataques isquémicos transitorios y poder instaurar una estrategia de tratamiento adecuada a cada paciente acorde con el riesgo real de sus arterias intracraneales.

A pesar de ser una prioridad en investigación, la asociación del riesgo real de las placas intracraneales con las características de imagen aún está sin resolver.

La característica morfológica más utilizada por los estudios como un buen biomarcador de imagen de la pared de las arterias y de la placa intracraneal es el realce post-contraste, asociado comúnmente a la placa sintomática, sin evidencias del verdadero significado que supone para el paciente asintomático la captación de contraste en sus paredes y placas intracraneales. La mayoría de los estudios han sido realizados retrospectivamente y en poblaciones asiáticas, desconociéndose si la enfermedad afecta de forma similar en pacientes caucásicos.

Aún no está claro en qué medida los cambios en la pared del vaso intracraneal que implican captación de contraste se asocian con una tasa mayor de recurrencia. Es necesario determinar si el realce post-contraste es un marcador de riesgo de recurrencia. Las principales razones las podemos resumir en: Primero, si el realce post-contraste puede ser utilizado como marcador de

1

recurrencia a largo plazo. Segundo, son necesarios estudios en caucásicos ya que la mayoría de los estudios se centran en población asiática. Tercero, si el realce puede ser un marcador generalizable a la práctica clínica real mediante el desarrollo de estudios multicéntricos, ya que ayudarían a determinar si se puede usar de forma homogénea en los diferentes centros a pesar de contar con diferentes resonadores. Y cuarto, es necesario disponer de un marcador objetivo que pueda usarse superando las diferencias en el proceso de adquisición y procesamiento.

A nivel extracraneal, existen evidencias sólidas que establecen que la inflamación tiene un rol relevante en la aterogénesis y en la progresión de la placa aterosclerótica contribuyendo en la patogénesis de las enfermedades isquémicas vasculares. A nivel intracraneal, aun no hay evidencia científica que aclare si la inflamación del endotelio puede tener un papel similar en estas arterias y si está implicada en promover el desarrollo de las placas intracraneales y en acelerar su progresión hasta conseguir la desestabilización y /o vulnerabilidad, suponiendo un elevado riesgo para los pacientes con esta enfermedad.

El realce post-contraste detectado por HRMRI puede ser un buen biomarcador de inflamación local en las placas ateroscleróticas, ya que existen estudios que avalan de forma satisfactoria la asociación del realce post-contraste con la vulnerabilidad de la placa, y estos estudios han relacionado a su vez con un área mayor de macrófagos en el lugar de la lesión en arterias extracraneales. No se conoce si el realce post-contraste se relaciona con la actividad inflamatoria de la placa intracraneal o si el realce de la pared arterial también está relacionado con la inflamación. De ser así, dispondríamos de evidencia para apoyar que la inflamación puede jugar un papel clave en la aterosclerosis intracraneal de modo análogo a como lo hace en la extracraneal, y entonces se convertiría en una diana terapéutica.

Además, es necesario correlacionar los biomarcadores de imagen con biomarcadores circulantes sistémicos que sean accesibles a la mayoría de centros, sin depender de la tecnología tan sofisticada como la HRMRI para

identificar los pacientes con mayor actividad inflamatoria en sus placas de ateroma intracraneal. Los monocitos circulantes se ha visto que participan en la aterogénesis de las arterias extracraneales, y podrían convertirse en una diana terapéutica importante. Sin embargo, por el momento, se desconoce si pudieran desempeñar un papel importante también en el proceso de aterogénesis intracraneal.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2. Hipótesis y objetivos

Nuestras hipótesis son que:

1. El realce post-contraste de la placa intracraneal en HRMRI será un factor predictor de nuevos eventos cerebrovasculares a largo plazo en pacientes con enfermedad aterosclerótica intracraneal.
2. Las subpoblaciones de monocitos circulantes, como marcadores indirectos de inflamación vascular, se correlacionarán con la presencia de lesión aterosclerótica intracraneal y con el grado de realce post-contraste de las placas intracraneales en pacientes con enfermedad aterosclerótica.

Por lo tanto, los objetivos de esta tesis son los siguientes:

1. **Determinar si el realce tras la administración de contraste en la placa aterosclerótica intracraneal predice el riesgo de nuevos eventos cerebrales a largo plazo en pacientes de origen caucásico con aterosclerosis intracraneal.**
2. **Evaluar la distribución diferencial de subpoblaciones monocitarias en relación a la presencia de aterosclerosis intracraneal sintomática, así como determinar la relación de las subpoblaciones monocitarias con el grado de realce post-contraste de la placa de ateroma y de la pared arterial intracraneal.**

METODOLOGÍA

3. Metodología

3.1. Diseño de los estudios

Para poder responder a ambos objetivos, se han diseñado dos estudios de investigación diferentes:

- El primer objetivo está respondido en el primer trabajo de investigación, que fue financiado por el Instituto de Salud Carlos III dentro del programa FIS 2013 Proyecto CRYPTICAS (Investigador principal: Juan Francisco Arenillas; PI13/02544), cuyo título es: “Aumento del realce post-contraste de la placa aterosclerótica intracraneal y riesgo a largo plazo de futuros eventos cerebrovasculares”. Fue un estudio multicéntrico, con la participación de tres centros terciarios de ictus españoles: el Hospital Clínico Universitario de Valladolid (HCUV), el Hospital Universitario Germans Trias i Pujol (HUTIP) de Badalona y el Hospital Universitario Vall d’Hebron (HUVH) de Barcelona

La mayoría de los resultados de este trabajo se han recogido y publicado en el artículo con DOI: [10.1111/jon.13077](https://doi.org/10.1111/jon.13077) (Anexo 1)

- El segundo objetivo se responde a través de un segundo trabajo de investigación, consecuencia del desarrollo del proyecto de investigación financiado a través del FIS 2016 Proyecto ENHANCEMENT (Investigador principal: Juan Francisco Arenillas; PI16/01396), titulado “Caracterización del realce post-contraste como marcador de actividad inflamatoria de las placas de aterosclerosis intracraneal”. Se realizó íntegramente en el HCUV (estudio unicéntrico) con un seguimiento clínico y radiológico a los 3 meses de todos los participantes.

El manuscrito con los principales resultados de esta segunda investigación está en fase de elaboración y será sometido a revisión en breve.

Ambos estudios son observacionales, prospectivos y longitudinales.

Cada estudio se realizó siguiendo las normativas vigentes, como la declaración de Helsinki y el Convenio de Oviedo. Fue aprobado por cada Comité Ético de Investigación Clínica de cada hospital participante (CASVE: estudio 1: PI-14-173; estudio 2: PI18-1076).

Cada paciente o sujeto recibió información específica del estudio en el que participaba, aceptando y firmando todos ellos por escrito el consentimiento informado.

Creamos una base de datos específica para cada estudio, con la finalidad de recoger todos los datos clínicos y radiológicos de los participantes de acuerdo con la Ley Española de Protección de Datos. En el **estudio 2**, además se creó una base referente a los datos recogidos en la citometría de flujo.

En ambos estudios se ha empleado la lista de verificación para reportar estudios observacionales en epidemiología (STROBE).²¹²

3.2. Población del estudio

En el **estudio 1** se incluyó a un grupo de pacientes sintomáticos con enfermedad aterosclerótica intracraneal y a un grupo de sujetos asintomáticos con enfermedad aterosclerótica intracraneal. Este último grupo estuvo compuesto por sujetos con estenosis intracraneal asintomática detectada durante su participación en el estudio “Aterosclerosis Intracraneal Asintomática en Barcelona (Barcelona-AsIA)” cuyo objetivo fue determinar la incidencia de aterosclerosis intracraneal asintomática en una muestra poblacional sin antecedentes de ictus mediante eco-Doppler transcraneal entre marzo del 2007 y junio de 2010.²¹³

Los criterios de inclusión para **pacientes sintomáticos** fueron los siguientes:

- 1) Ictus isquémico o AIT de alto riesgo (evaluado mediante la escala de ABCD2 (Score de 6-7: riesgo elevado))²¹⁴ cuya etiología fuera atribuida a

una estenosis intracraneal (>50%) localizada en la arteria carótida interna (ACI) en su porción intracraneal, en el segmento M1 de la ACM, segmento M2 de la ACM (M2 MCA), ACA, AV, AB, o ACP en ausencia de cualquier estenosis carotídea extracraneal ipsilateral significativa.

- 2) Ausencia documentada de fibrilación auricular.
- 3) Ausencia de discapacidad grave

Los criterios de exclusión para los mismos pacientes fueron:

- 1) Contraindicaciones para la realización de la RM, como, por ejemplo: marcapasos, implantes mecánicos, claustrofobia y/o insuficiencia renal crónica de grado 3.
- 2) Tratamiento de reperfusión endovascular para el ictus isquémico agudo.
- 3) Mal estado físico y clínico para la realización de la RM.
- 4) Paciente institucionalizado con imposibilidad para realizar el protocolo del estudio.
- 5) Negativa del paciente para la participación en el estudio o retirada del consentimiento informado.
- 6) Dificultades técnicas para adquirir o procesar la RM.
- 7) Regresión de la estenosis intracraneal antes de la realización de la HRMRI.
- 8) Estenosis intracraneal que no puede ser considerada como sintomática.
- 9) Imposibilidad de realizar la RM durante los primeros 15 días después de sufrir el ictus isquémico agudo.
- 10) Coexistencia de otra enfermedad potencialmente causante de los síntomas como una estenosis carotídea ipsilateral extracraneal mayor del 50% o una placa con características morfológicas de vulnerabilidad.

En el grupo de **sujetos asintomáticos** los criterios de inclusión fueron:

- 1) Sujetos mayores de 50 años.
- 2) Detección de estenosis intracraneal mediante doppler transcraneal confirmada por ARM
- 3) Ausencia de antecedentes de enfermedad coronaria

- 4) Riesgo cardiovascular moderado-alto. Este criterio fue evaluado por la puntuación REGICOR >5).²¹⁵ Esta escala es la adaptación validada de la puntuación de riesgo de Framingham (>10) para la población española y calculada en base a la edad, sexo, diabetes, tabaquismo, presión arterial y niveles de colesterol.
- 5) Dependencia física o psíquica grave o institucionalización.

Los criterios de exclusión fueron:

- 1) Contraindicaciones para la realización de la prueba de RM como, por ejemplo: marcapasos, implantes mecánicos, claustrofobia y/o insuficiencia renal crónica de grado 3.
- 2) Mal estado físico y clínico para la realización de la RM.
- 3) Negativa para la participación en el estudio o retirada del consentimiento informado.
- 4) Dificultades técnicas para adquirir o procesar la RM.
- 5) Regresión de la estenosis intracraneal antes de la realización de la HRMRI.

En el **estudio 2** se incluyeron de forma consecutiva a:

1. Pacientes con enfermedad aterosclerótica intracraneal sintomática que estuvieron ingresados durante la fase aguda del ictus en la unidad de ictus del HCUV
2. Sujetos sin historia de ictus reciente (mínimo más de un año) pero con una alta probabilidad de tener aterosclerosis intracraneal. Esta cohorte de sujetos fue seleccionada a partir de sujetos diabéticos mellitus tipo 2 de larga evolución y alto riesgo cardiovascular controlados por el servicio de endocrinología y nutrición del HCUV. A este grupo se le denominó asintomático.

Los **pacientes sintomáticos** tenían que cumplir con los siguientes criterios de inclusión:

- 1) Edad mayor de 18 años.
- 2) Infarto cerebral agudo cuya etiología fuera atribuida a una estenosis intracraneal (>50%) localizada en la porción intracraneal de la arteria carótida interna (ACI), en los segmentos M1 o M2 de la ACM, o en la ACA, AV, AB, o ACP
- 3) Ausencia de cualquier estenosis carotídea extracraneal ipsilateral significativa (estenosis >50% o presencia de placa morfológicamente vulnerable).
- 4) Exclusión de otras causas probables o coexistentes de ictus isquémico mediante estudio etiológico completo.

Los criterios de exclusión fueron:

- 1) Tratamiento de reperfusión endovascular para el ictus isquémico agudo.
- 2) Contraindicaciones para la realización de una RM con contraste, como marcapasos, implantes mecánicos, claustrofobia y/o insuficiencia renal crónica de grado 3.
- 3) Comorbilidad grave o institucionalización del paciente que impidiese realizar el protocolo del estudio.
- 4) Negativa del paciente para participar en el estudio o retirada del consentimiento informado.
- 5) Dificultades técnicas para adquirir o procesar la RM.
- 6) Regresión de la estenosis intracraneal antes de la realización de la HRMRI.
- 7) Estenosis intracraneal que no pudo considerarse como sintomática.
- 8) Imposibilidad de realizar la RM durante los primeros 15 días después de sufrir el ictus isquémico agudo.

Para los **sujetos asintomáticos**, los criterios de inclusión fueron:

- 1) Sujetos diabéticos tipo 2 mayores de 50 años de larga evolución (>5 años) controlados por el servicio de Endocrinología y Nutrición del HCUV con factores de riesgo cardiovascular como hipertensión arterial o dislipemia.
- 2) Ausencia de ictus o infarto de miocardio en el último año.

- 3
- 3) Analítica general reciente con los niveles de creatinina en rango (0,5 -1,1 mg/dl).

Los criterios de exclusión fueron:

- 1) Contraindicaciones para la realización de la RM con contraste como, por ejemplo: marcapasos, implantes mecánicos, claustrofobia y/o insuficiencia renal crónica de grado 3.
- 2) Dependencia física o psíquica grave o institucionalización.
- 3) Negativa del sujeto para la participación en el estudio o retirada del consentimiento informado.
- 4) Dificultades técnicas para adquirir o procesar la RM.

3.3. Variables basales clínicas

En los dos estudios se recogieron características demográficas y clínicas como la edad, el sexo, y factores de riesgo cardiovascular (hipertensión arterial, diabetes mellitus, hipercolesterolemia, ictus, historia previa de cardiopatía isquémica y medicación concomitante previa).

Asimismo, en los grupos de pacientes sintomáticos se evaluó la gravedad del ictus mediante la escala Nacional Institutes of Health (NIHSS) a la llegada al hospital y en el momento del alta. El estado funcional a largo plazo se evaluó tras el ictus en el momento del alta hospitalaria mediante la escala modificada de Rankin.

La medicación preventiva en el momento de realizar la RM con antiagregantes plaquetarios (ácido acetilsalicílico 100mg, 300mg y clopidogrel 75mg) se clasificó primero como variable cualitativa para luego clasificarse en una variable dicotómica (respuesta afirmativa si tratamiento con uno o varios antiagregantes). El uso de estatinas también fue clasificado en una variable dicotómica. Se consideró como respuesta afirmativa si el paciente estaba en tratamiento preventivo con estatinas de alta potencia (atorvastatina 40 ó 80mg, rosuvastatina 20 ó 40mg)²¹⁶

3.4. Protocolo de neuroimagen

3.4.1. Protocolo de neuroimagen para la selección de los participantes

En el **estudio 1**, en la fase de preselección se realizó un estudio de neuroimagen para la identificación y localización de la estenosis intracraneal.

En el grupo de sujetos asintomáticos, el estudio previo de la estenosis se realizó en el laboratorio de ecografía del HUGTIP mediante ecografía Doppler transcraneal (General Electric Vivid/Pro (GE Vingamed Ultrasound, Horten, Noruega)). Se examinaron las arterias ACI intracraneal, ACM, ACA, AV, AB y la ACP. En los segmentos más patológicos se evaluaron las características de las placas (superficie, ecogenicidad y espesor de la media-intima) y el grado de estenosis en función de la velocidad sistólica máxima (VSM). Los valores de VSM para estenosis $\geq 50\%$ / $< 50\%$ fueron ACA de $\geq 155/\geq 120$ cm/s; ACM $\geq 220/\geq 155$ cm/s; ACP $\geq 145/\geq 100$ cm/s; AV $\geq 120/\geq 90$ cm/s y AB $\geq 140/\geq 100$ cm/s. Para la ACI intracraneal los valores de VSM fueron $< 50\%$: < 125 cm/s; 50-70%: 125-230 cm/s; $> 70\%$: > 230 cm/s. La estenosis intracraneal se consideró significativa cuando el porcentaje era $\geq 50\%$.²¹⁷

Posteriormente todas las estenosis detectadas por ecografía Doppler fueron corroboradas mediante una angio-RM tiempo de vuelo TOF-ARM.

En el grupo de pacientes sintomáticos se identificó la estenosis intracraneal sintomática mediante ecografía Doppler transcraneal o estudio mediante angiografía por tomografía computarizada (ATC) en cada centro reclutador (HCUV, HUGTIP y HUVH). Para el cálculo del grado de estenosis se utilizaron los mismos criterios que los mencionados para ecografía Doppler y los criterios WASID $(1 - [\text{diámetro de la estenosis}/\text{diámetro de referencia}] \times 100)$ ²¹⁸ para ATC. Se consideraron estenosis significativas aquellas con un grado de estenosis $> 50\%$.

En ambos grupos se identificó también la presencia de aterosclerosis extracraneal carotídea y su grado de estenosis evaluada mediante una ecografía Doppler de troncos supraaórticos. El grado de estenosis fue calculado con la

VSM siendo: <50% <125 cm/s; 50-70%: 125-230 cm/s; >70%: > 230 cm/s. En el grupo de pacientes sintomáticos, se excluyeron aquellos que presentaban una estenosis en la arteria carótida interna extracraneal ipsilateral mayor o igual a 50% o con presencia de placas de ateroma con características morfológicas de vulnerabilidad.

Posteriormente, para realizar el análisis estadístico, los pacientes y sujetos fueron clasificados en dos grupos en función de la presencia o ausencia de cualquier placa o estenosis extracraneal que cumpliera con los criterios de inclusión.

3.4.2. Protocolo de neuroimagen para estudio de pared arterial por resonancia magnética de alta resolución.

A todos los participantes incluidos en el estudio se les realizó a continuación una RM cerebral de alta resolución. En el HCUV se utilizó el modelo de RM Achieva 3,0T TX Philips Medical System, y en el HUGTIP y HUVH se utilizaron modelos Siemens Verio 3T. En todos los hospitales se utilizó el mismo protocolo de imagen.

La identificación y localización de la estenosis intracraneal de interés se realizó mediante la evaluación de la angiografía por RM (TOF-ARM) (**figura 3.3**). Una vez identificada la lesión a estudiar se planificó el estudio de secuencias de alta resolución en un plano axial y longitudinal a la arteria afectada y centrado en el área de la placa para el estudio de las características y realce post-contraste de la placa (**figura 3.4**). La planificación de dichas secuencias se realizó de acuerdo a las indicaciones de un neurorradiólogo experto. La **tabla 3.1** muestra las secuencias realizadas y sus características técnicas. Para la adquisición de las secuencias post-contraste se administró mediante vía periférica 0,1mmol/kg de ácido gadolinio- dietilentriamina pentaacético y las imágenes se adquirieron 5 minutos después de su administración. Para evitar las posibles interacciones con las señales sanguíneas se usaron técnicas de compensación de flujo.

La realización de la RM en pacientes sintomáticos se realizó en los primeros 15 días tras el ictus y en los sujetos asintomáticos tras la aceptación, inclusión y firma del consentimiento informado.

En el **estudio 2** se llevó a cabo un protocolo de neuroimagen similar. Las principales diferencias radican en lo siguiente:

- Inclusión de sujetos asintomáticos: Se realizó un estudio de neuroimagen mediante ecografía Doppler de troncos supraaórticos y transcraneal posterior a la inclusión y previo a la realización de RM 3T en el laboratorio de ecografía Doppler del HCUV, cuya finalidad era conocer la presencia y grado de estenosis extracraneal e intracraneal.
- Inclusión de pacientes sintomáticos: Los criterios de neuroimagen fueron similares en ambos estudios, la principal diferencia es que el HCUV fue el único centro reclutador.
- La RM utilizada para el estudio fue la RM 3T (modelo de RM Achieva 3,0T TX Philips Medical System) del HCUV. Las características y protocolo específico se detallan en la **tabla 3.1**.

Modelo de Resonancia	Secuencia	Campo de visión (FOV)	Grosor del corte	Espacio	Tiempo de Repetición	Tiempo de Eco	Tamaño de vóxel	Tiempo de inyección de contraste
Philips Achieva 3T (HCUV) Philips Achieva 3T (HCUV)	Secuencias de parénquima							
	DWI	240x240 mm	4 mm	1 mm	3573 ms	98 ms	1.5x2.2 mm	N/A
	Axial 3D TOF MRA	213x213 mm	1 mm	0.5 mm	27 ms	5.8 ms	0.25x0.491 mm	N/A
	FLAIR	240x189 mm	4 mm	1 mm	11000 ms	125 ms	0.65 x 0.9 mm	N/A
	T2 TSE Axial	250x188 mm	4 mm	1 mm	3000 ms	80 ms	0.58 x 0.72 mm	N/A
	T2 FFE	250x207 mm	4 mm	1 mm	566 ms	16 ms	0.9 x 1.12 mm	N/A
	Secuencias centradas en la placa							
	Sagital T1 TSE HR	130x130 mm	2 mm	0 mm	2000 ms	20 ms	0.65 x 0.9 mm	N/A
	T2 TSE Oblicuo	130 x130mm	2 mm	0 mm	3000 ms	80 ms	0.65 x 0.9 mm	N/A
	T1 TSE Coronal HR post-Gd-DTPA	150x150 mm	2 mm	0 mm	550 ms	10 ms	0.72 x 0.9 mm	5 minutos
	T1 TSE Sagittal HR post-Gd-DTPA	130x130 mm	2 mm	0 mm	2000 ms	20 ms	0.65 x 0.9 mm	5 minutos
Coronal T1 TSE HR	150x150 mm	2 mm	0 mm	550 ms	10 ms	0.72 x 0.9 mm	N/A	
Siemens Verio 3T (HUGTIP and HUVH)	Secuencias de parénquima							
	DWI	250x250 mm	4mm	1.2mm	6600 ms	100 ms	1x3x1.3x4 mm	N/A
	Axial 3D TOF MRA	200x180 mm	0.50 mm	5 mm	21 ms	3.6 ms	0.5x0.5x0.5 mm	N/A
	FLAIR	200x256 mm	3mm	1mm	9000ms	99ms	1x1mm	N/A
	T2 TSE Axial	256X320	3mm	0.9mm	4520ms	81ms	0.68x0.68mm	N/A
	T2 FFE	250x187 mm	1.5 mm	0.3 mm	28 ms	20 ms	1x08x1.5 mm	N/A
	Secuencias centradas en la placa							
	Sagital T1 TSE HR	256x256	2mm	0	699ms	15ms	0.58x0.58mm	N/A
	T2 TSE Oblicuo	320x320	2mm	0	3794.6	91	0.47x0.47mm	N/A
	T1 TSE Coronal HR post-Gd-DTPA	180x160 mm	2 mm	0.1 mm	702 ms	9.7 ms	0.8x0.6x2 mm	5 minutos
	T1 TSE Sagittal HR post-Gd-DTPA	256x230	2mm	0	699ms	15ms	0.58x0.58mm	N/A
Coronal T1 TSE HR	180x160 mm	2 mm	0.1 mm	702 ms	9.7 ms	0.8x0.6x2 mm	N/A	

Tabla 3.1: Características específicas de las diferentes resonancias magnéticas que se han usado en el estudio.

HCUV: Hospital Clínico Universitario de Valladolid. HUGTIP: Hospital Universitari Germans Trias I Pujol; HUVH: Hospital Universitari Vall d'Hebron; DWI: Diffusion-weighted imaging; FLAIR: FLuid-Attenuated Inversion Recovery; TOF: Time-Of-Flight; ARM: Angiografía por Resonancia Magnética; TSE: Turbo Spin Echo; HR: High Resolution; FFE: Fast Field Echo; SWI: Susceptibility-weighted imaging; N/A: No Aplica.

En las **figuras 3.1 y 3.2** se muestra un esquema que resumen la selección, inclusión y procedimientos realizados en los participantes.

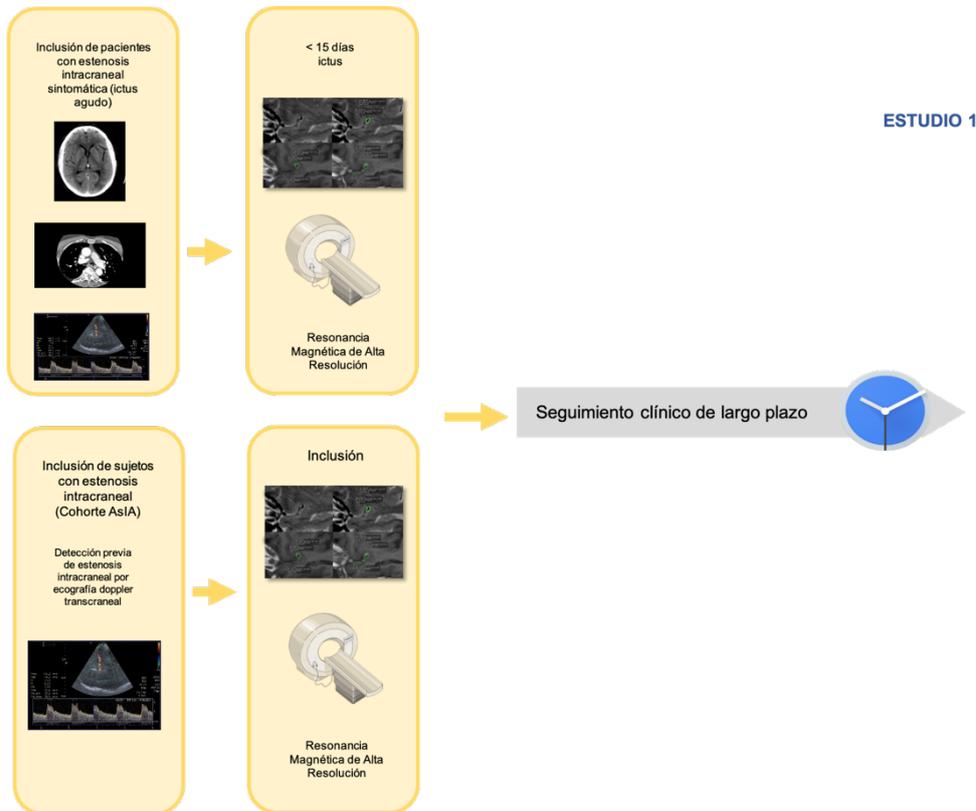


Figura 3.1 Esquema que muestra la selección, inclusión y procedimientos realizados en los pacientes sintomáticos y sujetos asintomáticos del estudio 1.

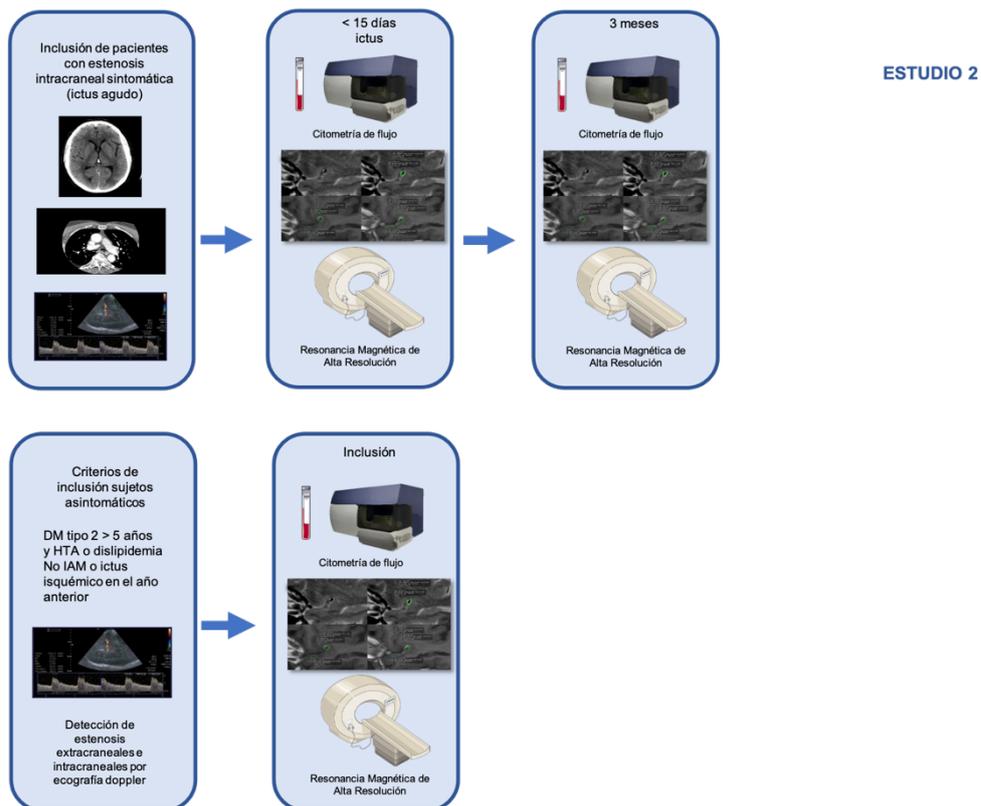


Figura 3.2: Esquema que muestra la selección, criterios de inclusión y procedimientos realizados en pacientes sintomáticos y sujetos asintomáticos del del estudio 2. DM: Diabetes mellitus; HTA: hipertensión arterial; IAM: Infarto agudo de miocardio.

3.5. Análisis de las imágenes

En ambos estudios las imágenes fueron grabadas y pseudoanonimizadas en cada hospital participante en el estudio y posteriormente enviadas a un laboratorio central de imagen para su evaluación y análisis.

En el **primer estudio** el análisis fue realizado por tres neuroradiólogos (M.R.V, J.M y C.V) y una neuróloga vascular especializada en neuroimagen (M.H.P), todos ellos con más de 10 años de experiencia.

En el **segundo estudio** el análisis fue realizado por una neuroradióloga (M.R.V), una neuróloga vascular especializada en neuroimagen (M.H.P) y una estudiante predoctoral (B.G.V).

Las evaluaciones de las imágenes se realizaron por equipos de dos especialistas que desconocían los detalles clínicos de los pacientes. En caso de desacuerdo se solicitó la participación de un tercer observador para llegar a un acuerdo.

La calidad de las imágenes fue clasificada por los expertos según una escala Likert de 4 puntos (1= insuficiente para el diagnóstico, 2= adecuada, 3= buena, 4 = óptima). Solo se seleccionaron para su posterior análisis las imágenes con puntuación igual o mayor a 2.

Las variables de imagen evaluadas fueron:

1. Variables de parénquima cerebral

- a. Presencia y patrón del infarto cerebral agudo en la imagen ponderada por difusión (DWI); especialmente relevante en los pacientes sintomáticos categorizado por no infarto o infarto cerebral agudo.
- b. Hiperintensidades de la sustancia blanca (HSB) periventricular y subcortical evaluadas en secuencias FLAIR y T2 TSE clasificadas según la escala de Fazekas de 0 a 3 puntos, siendo 0 = ausencia de HSB, 1 = afectación leve, 2 = afectación moderada, 3 = afectación grave.²¹⁹
- c. Presencia de infartos lacunares en FLAIR y T2, definidos como lesiones en parénquima de entre 3 y 15mm de diámetro en localizaciones típicas.²²⁰
- d. Presencia de microhemorragias cerebrales definidas como artefactos redondos u ovoideos menor o igual a 10mm visualizados mediante la secuencia eco gradiente (FFE) en el HCUV y mediante las secuencias de susceptibilidad magnética (SWI) en HUGTIP y HUVH.²²⁰

2. Variables de la placa:

En el **estudio 1**, en los pacientes sintomáticos se consideró como placa sintomática a la placa aterosclerótica situada en el mismo territorio

cerebral del evento isquémico. En los sujetos asintomáticos, se evaluó la placa estenótica con mayor espesor de la pared arterial o mayor grado de estenosis determinada por TOF-ARM (**figura 3.3**).

En el **estudio 2** la evaluación de la placa intracraneal solo fue realizada en aquellos pacientes o sujetos en los que se identificó una placa intracraneal en la arteria de interés (mismos criterios que en el estudio previo para la selección de la arteria/placa de interés).

En todas las placas se evaluó:

- a. Grado de estenosis en imágenes de alta resolución de la pared del vaso evaluado según los criterios WASID ($1 - \frac{\text{diámetro de la estenosis}}{\text{diámetro de referencia}} \times 100$)²¹⁸. Se ha considerado que el diámetro de la estenosis es el diámetro mínimo del lumen donde se encuentra la estenosis máxima del vaso y diámetro de referencia es el lugar donde la arteria se encuentra normalizada y proximal al lugar donde está la estenosis.
- b. Área de la placa evaluada mediante la delimitación manual de la misma en las secuencias T1 y T2 TSE.
- c. Superficie de la placa: se consideró como regular o irregular según el examen visual en las secuencias T2 TSE.
- d. Ratio de remodelación arterial (RR): definido como:

$$\frac{\text{área de la pared externa en el lugar de la estenosis}}{\text{área de la pared externa en el lugar de referencia}}$$

Se consideró como remodelación positiva si la $RR > 1,05$, remodelación no positiva si la RR estaba comprendida entre 0,95 y 1,05, y remodelación negativa si la $RR < 0,95$.

- e. Para registrar la intensidad de la señal de la placa, se hizo una medición antes y después de la administración de contraste en las secuencias T1 TSE, dibujando manualmente las regiones de interés que seleccionan la placa visible (ROI). Se realizaron dos mediciones diferentes en cada placa y se recogió la media de ambas mediciones. Además, para el estudio 1 se calculó la ratio de realce en la placa tras la administración de contraste, definida como la intensidad de la señal de la placa post contraste/intensidad de la señal de cuerpo calloso. La medición de la intensidad de la señal de la placa se realizó en el corte donde el realce de la placa era mayor. En el estudio 2, la intensidad del realce se evaluó empleando una escala visual, como se describe en el siguiente apartado.

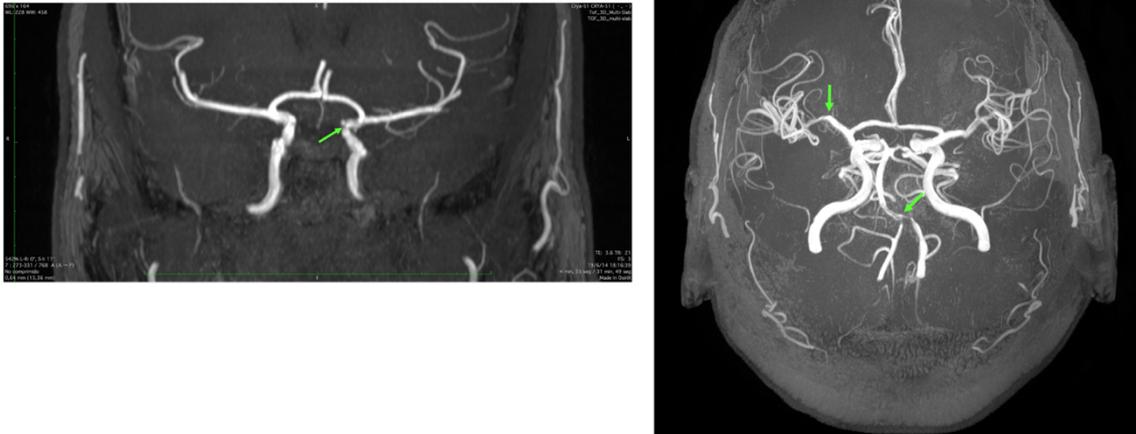


Figura 3.3: Evaluación del grado de estenosis mediante la secuencia TOF-ARM. Flecha verde señala zona dónde se encuentra estenosis arterial.



Figura 3.4: Ejemplo de ROI de la placa intracraneal post-contraste. Se segmentaron manualmente los límites del lumen y de la pared externa en las imágenes post-contraste con el programa OsiriX DICOM Viewer (v.12.0.1). Se determinó el área de la placa y la intensidad media de realce post-contraste.

En el **estudio 2** se evaluaron además otras variables de imagen:

- a. Evaluación visual del **realce de pared arterial** de todas las arterias intracraneales. Para ello, en primer lugar, se evaluaron las secuencias T1 coronal sin contraste y post-contraste para, en segundo lugar, determinar qué paredes arteriales muestran realce grado 2 o fuerte, y en tercer lugar, se contabilizó el número de total de arterias intracraneales con realce post-contraste por paciente (**figura 3.5**). La evaluación visual del realce de las arterias se realizó utilizando una escala de clasificación de tres niveles:
 - grado 0 (nulo): no se encontró realce arterial,
 - grado 1 (leve): se encontró leve realce arterial y este era menor que el realce de la glándula pituitaria,
 - grado 2 (fuerte): se halló realce significativo arterial, similar al realce de la glándula pituitaria.
- b. Estudio de **realce post-contraste de la pared arterial** en todos los pacientes: Se realizó un análisis cualitativo del realce de la pared arterial de las arterias intracraneales de interés en la secuencia T1 coronal posterior al contraste utilizando una escala de clasificación visual similar a la referida en el punto anterior. En una variable resumen dicotómica (sí/no) se consideró presencia de realce significativo cuando se observó un grado 2 de realce (realce significativo de la pared arterial, similar al realce de la glándula pituitaria) (**figura 3.6**).
- c. Estudio de **realce post-contraste de la placa intracraneal** en aquellos pacientes que presentaron placa intracraneal en la arteria de interés: En estos sujetos se hizo un estudio específico para evaluar el realce post-contraste de la placa en la secuencia T1 coronal. Para determinar el realce post-contraste de la placa intracraneal se utilizó el mismo método cualitativo previo (grado 0 (nulo): no se encontró realce en la placa intracraneal, grado 1 (leve): leve realce en la placa intracraneal inferior al realce de la glándula pituitaria, grado 2 (fuerte): realce significativo de la placa intracraneal igual al realce de la glándula pituitaria). La variable realce de la placa intracraneal fue clasificada de forma dicotómica (Sí/No)

considerando realce positivo de la placa los grados 1 y 2 de la escala (figura 3.7).

Para analizar el conjunto de la captación de realce post-contraste de la placa y de la pared arterial de la arteria de interés de cada paciente se creó una variable multi-respuesta para clasificar la captación del realce post-contraste (no realce, captación de contraste en pared arterial, captación de contraste en placa con o sin realce de pared arterial).

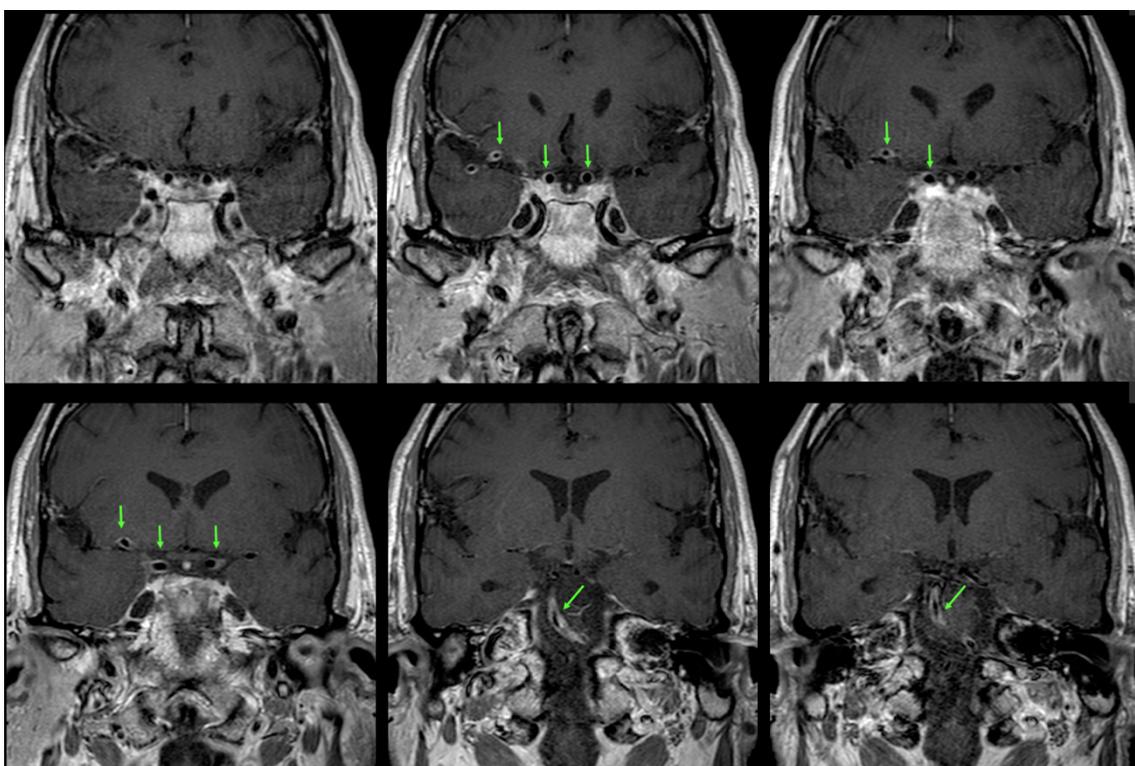


Figura 3.5: Secuencia T1 coronal post-contraste. Determinación del total de las arterias que presentan realce post-contraste. Las flechas verdes señalan las arterias con captación de realce post-contraste fuerte.

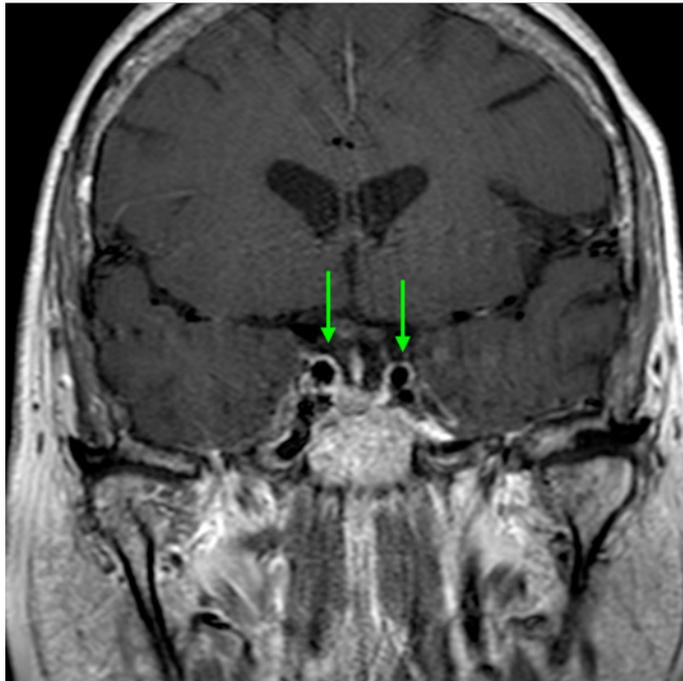


Figura 3.6: Secuencia coronal T1 post-contraste. Las flechas verdes señalan las paredes arteriales con realce post-contraste grado 2 o fuerte.

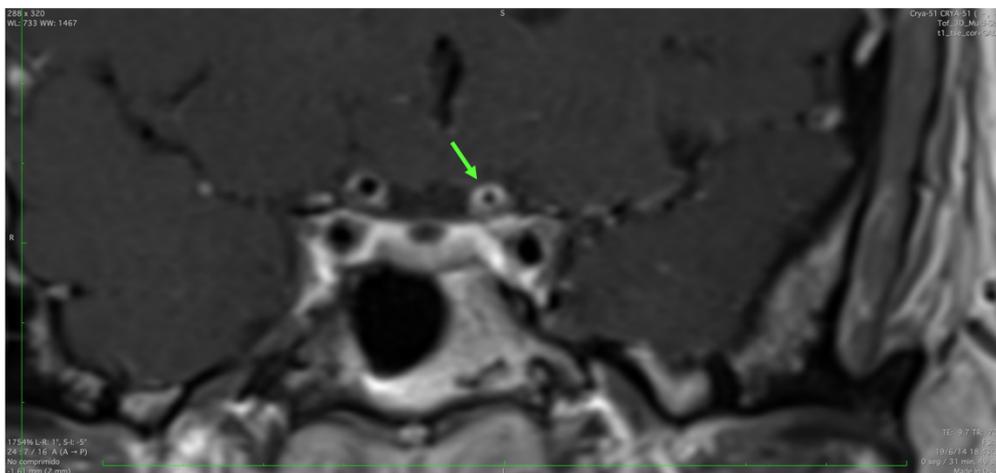


Figura 3.7: Secuencia T1 TSE post-contraste. La flecha verde señala la placa intracraneal, en ella se ve una captación post-contraste grado 2 o fuerte.

Todos los participantes (sintomáticos y asintomáticos) fueron reclasificados según los hallazgos encontrados en la HRMRI de la pared arterial y de la placa intracraneal sobre la captación post-contraste en la arteria de interés para estudiar la relación con las diferentes poblaciones de monocitos. La clasificación fue la siguiente:

- Los sujetos sin realce post-contraste de pared arterial ni de placa intracraneal se clasificaron en un grupo denominado **no realce**.
- Los sujetos con realce post-contraste de la pared arterial se incluyeron en un grupo de **realce solo de pared arterial**.
- Los sujetos que presentaban realce en la pared arterial y realce en la placa intracraneal o solo realce post-contraste de la placa intracraneal se incluyeron dentro del grupo **realce en placa y/o pared intracraneal**.

3.6. Protocolo de estudio de muestras sanguíneas.

En el **estudio 2** se realizó un protocolo específico para el estudio de muestras sanguíneas. En pacientes sintomáticos se recogieron las muestras sanguíneas coincidiendo con los estudios de RM en el tiempo basal y a los 90 días. En sujetos asintomáticos, la muestra sanguínea se extrajo coincidiendo también con la realización del estudio de RM.

La muestra de sangre periférica extraída incluía dos tubos de plasma con anticoagulante ácido etilendiamino tetraacético (EDTA), un tubo seco para suero y un tubo para estudios de ARN (tubo BD Vacutainer™ PAXgene). Un tubo de plasma y el tubo de suero fueron procesados, alicuotados de forma anónima y almacenados a -80 grados hasta su posterior análisis. El tubo de plasma restante se utilizó para la determinación del perfil de distribución de las diferentes poblaciones de monocitos, analizadas inmediatamente a su extracción mediante citometría de flujo en el Instituto de Biología y Genética Molecular (IBGM) de la Universidad de Valladolid & Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

3.6.1. Protocolo para análisis de monocitos por citometría de flujo

Para el análisis de la distribución de las diferentes poblaciones de monocitos (Mon1 (CD14⁺⁺/CD16⁻, Mon2 (CD14⁺⁺/CD16⁺) y Mon3 (CD14⁺/CD16⁺⁺), se utilizó citometría de flujo, concretamente se usó el citómetro analítico Gallios, ubicado en el IBGM.

Todas las muestras fueron obtenidas en horario de mañana, dejando descansar al participante al menos 5 minutos y antes de realizar la RM para evitar un aumento de monocitos CD16⁺ debido al estrés. Las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente y fueron procesadas dentro de las dos horas siguientes a su extracción.

Para la determinación de los subconjuntos de monocitos se utilizaron 100 µl de sangre total anticoagulada incubada con anticuerpos monoclonales de ratón anti CD14 PE-CY7 (ref 557742), anti CD16 APC (ref 561304), anti HLA-DR BB515 (ref 564516), anti CCR2 BV421 (ref 564067) y anti CCR5 Pac Blue (ref 562576) (BD Biosciences) durante 30 minutos, para asegurar la saturación adecuada de epítomos de los monocitos. Posteriormente, los hematíes se lisaron mediante un tampón de lisis (BD Biosciences, ref 349202) y se centrifugaron a 500G para descartar el sobrenadante. Tras reconstituir el pellet con 400 µl de tampón fosfato salino (BD Biosciences, ref 554656), las muestras se introdujeron en un citómetro analítico Gallios (Beckman Coulter) para el análisis de la suspensión celular. Todas las determinaciones fueron realizadas por un experto en citometría de flujo (AMM). La estrategia de selección de las subpoblaciones monocitarias puede verse detallada en la **figura 3.8**.

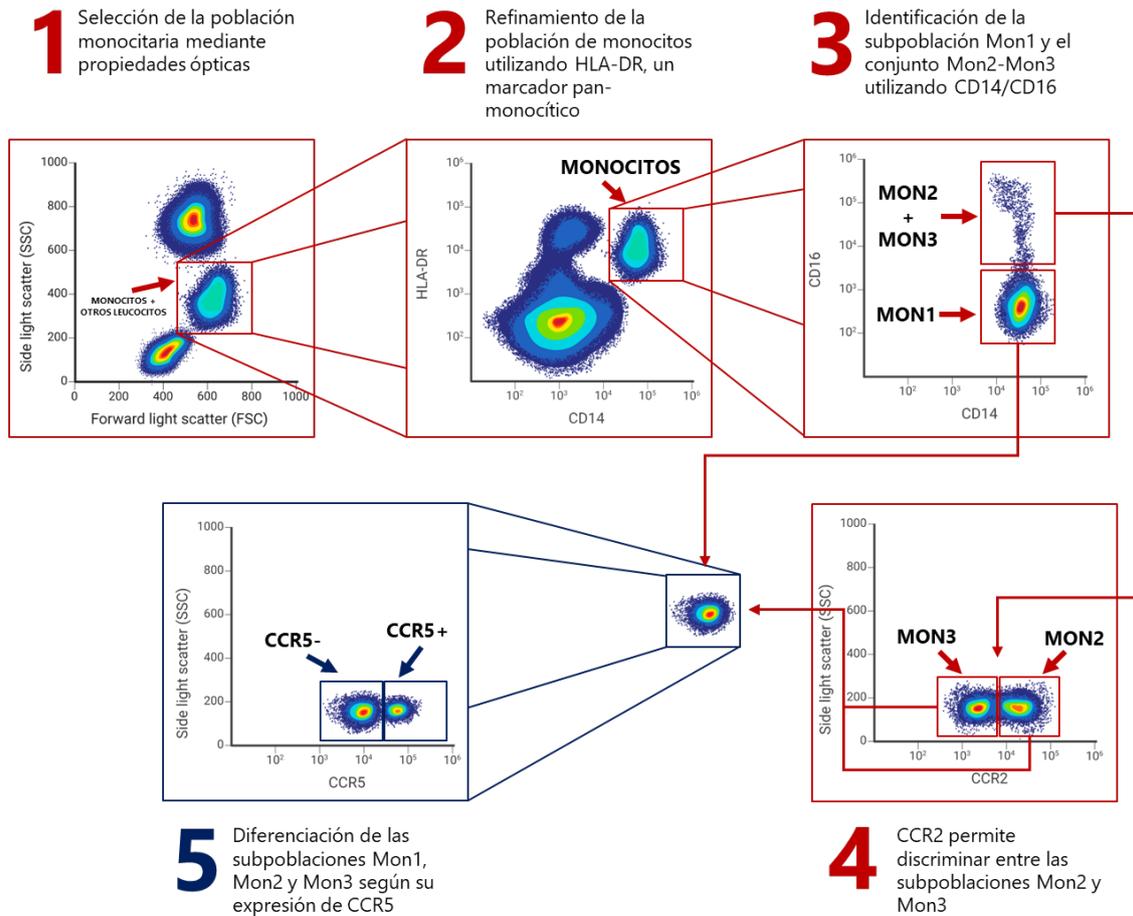


Figura 3.8: Estrategia de selección de las subpoblaciones monocitarias de interés mediante el análisis por citometría de flujo de las muestras sanguíneas de los participantes en el estudio.

Brevemente, se realizó una primera selección de la población de monocitos utilizando las diferentes propiedades ópticas de estas células. A continuación, se utilizó el marcaje con HLA-DR, un marcador pan-monocítico, para refinar esta población monocitaria. El marcaje con CD14 y CD16, nos permitió diferenciar entre la subpoblación Mon1 y el conjunto de las subpoblaciones Mon2-Mon3. Debido a que la subpoblación Mon3 tiene una baja expresión de CCR2, aprovechamos este marcaje para diferenciar entre las subpoblaciones Mon2 y Mon3. Finalmente, en cada una de las tres subpoblaciones de interés, se determinó el marcaje de CCR5, distinguiendo entre células CCR5+ y CCR5-.

3.7. Seguimiento de los pacientes

Efectuamos un seguimiento clínico a largo plazo de todos los pacientes y sujetos participantes. Todos ellos recibieron una pauta de prevención primaria o secundaria a criterio de los equipos de neurología responsables basado en las guías de práctica clínica internacionales y nacionales.

En el **estudio 1** las visitas de seguimiento en régimen ambulatorio se realizaron tras la inclusión a los 3,6,9 y 12 meses. Después, la frecuencia de las visitas fue anual hasta el final del seguimiento. Durante ese periodo de tiempo, los neurólogos responsables de los pacientes tenían por objetivo optimizar el control de los factores de riesgo vascular y a su vez, revisar el tratamiento prescrito y su cumplimiento. Las visitas se realizaron de forma presencial o telefónica si no era posible acudir al centro hospitalario.

En cada una de las visitas se registraba si los pacientes habían padecido nuevos eventos en forma de ictus o AIT, considerándose este último como evento positivo sólo si el diagnóstico lo había realizado un neurólogo. También se comprobaron los registros hospitalarios para confirmar los eventos isquémicos, así como las pruebas de imagen realizadas en el contexto del evento para confirmar la recurrencia de ictus isquémico.

En el **estudio 2** a todos los pacientes sintomáticos se les realizó un seguimiento clínico a los 3 meses tras el ictus. El tratamiento y la prevención secundaria se pautaron a criterio del equipo de neurología vascular del HCUV a su cargo basándose en las guías de práctica clínica internacionales y nacionales.

La visita al día 90 se realizó de forma presencial por un neurólogo que se encargaba de revisar el control de los factores de riesgo vascular, el tratamiento prescrito y su adecuado cumplimiento. Además, en la visita se recogía información relativa a una posible recurrencia de ictus o AIT, considerándose como recurrencia positiva si había evidencia de lesión isquémica en la RM al tercer mes. También se registró si habían ocurrido otros eventos vasculares durante el tiempo de seguimiento.

Se usaron los mismos protocolos para la obtención de las imágenes de RM y de sangre periférica que los usados durante la visita basal o de inclusión. El procesamiento y la lectura de los resultados por citometría de flujo de sangre periférica se hicieron en las mismas condiciones. Las pruebas de RM y de extracción de sangre coincidieron en el mismo día en todos los pacientes.

Se informó del resultado de la última HRMRI de forma telefónica a todos los pacientes modificando o ajustando el tratamiento si era preciso. Tras finalizar el seguimiento del estudio, los pacientes fueron derivados a la consulta de neurovascular del HCUV para su seguimiento.

3.8. Variables pronósticas

Se definieron variables pronósticas para ambos estudios.

Para el estudio 1, se definieron como variables pronósticas principales: (1) la ocurrencia de nuevos ictus (isquémico/hemorrágico) o AIT durante el seguimiento del estudio y (2) la ocurrencia de nuevos ictus isquémicos o AIT, excluyendo los eventos hemorrágicos. Se consideró el AIT como evento isquémico positivo si el episodio había motivado hospitalización y un neurólogo había realizado el diagnóstico.

Para el estudio 2 se empleó como variable pronóstica la proporción de monocitos circulantes que expresan el receptor CCR5, analizando si existían diferencias entre los subgrupos de pacientes, agrupados según características clínicas, de imagen de pared, o combinadas.

3.9. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el programa estadístico SPSS (IBM SPSS Statistics, versión 27.0.1.0. Armonk, NY: IBM Corp.).

En los dos estudios, el análisis comenzó con la evaluación de la estadística descriptiva. Las variables categóricas se reportaron como números o proporciones. Las variables continuas se describieron mediante medidas de tendencia central, es decir, media \pm desviación estándar (DS) o mediana (rango intercuartil), según la distribución de la variable. La normalidad de todas las variables fue evaluada con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las variables categóricas se compararon usando la prueba de Chi-cuadrado. Para las variables continuas con distribución normal se utilizó la prueba de t de Student y ANOVA y la prueba de U-Mann Whitney se utilizó para las variables no paramétricas.

En el **estudio 1**, utilizamos modelos de regresión de Cox no ajustados y ajustados por múltiples variables para evaluar la capacidad de las variables demográficas, clínicas y de neuroimagen para predecir el riesgo de un futuro evento cerebrovascular. La ratio post-contraste fue incluida en los modelos como variable continua y como variable categórica tras realizar una curva ROC (Receiver Operating Characteristic) para identificar el punto de corte con mayor sensibilidad y especificidad. Las variables que presentaban una asociación estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en la regresión de Cox no ajustada, se incluyeron en el análisis multivariable. El número de variables incluidas en el modelo multivariable fue limitado por el número de nuevos eventos que presentó la muestra de sujetos.

Además, se realizó un análisis de supervivencia de Kaplan-Meier para obtener los índices acumulados de ausencia de nuevos eventos entre los pacientes con una ratio de realce de la placa intracraneal superior o inferior al punto de corte definido por la curva ROC. La significación estadística fue evaluada por la prueba log-rank. Se realizaron dos análisis de supervivencia. En el primero se incluyeron todos los eventos vasculares reportados, y en el segundo, solo los nuevos eventos isquémicos cerebrales. Se evaluó por separado en el grupo de pacientes sintomáticos la capacidad de las variables demográficas y clínicas para predecir el riesgo de futuros eventos mediante modelos de regresión de Cox no ajustados. El punto de corte de la curva ROC fue el mismo para la ratio del realce post-contraste. Para este subgrupo de pacientes también se realizó un análisis

de supervivencia de Kaplan-Meier. En los modelos de regresión de Cox, los resultados se expresan como Hazard Ratio (HR) e intervalos de confianza (IC) del 95%.

En el **estudio 2** primero se analizó si las poblaciones de monocitos principales (Mon1, Mon2, Mon3) presentaban diferencias en relación a los grupos de estudio, tanto en relación a la clínica (sintomáticos/asintomáticos) como en relación al realce post-contraste de la placa y pared arterial y la combinación de ambos (criterios clínicos e imagen de pared arterial).

Después se analizaron las diferencias entre porcentaje de monocitos Mon2 y Mon3 CCR5 positivos en los subgrupos de pacientes en relación con la clínica, al realce de la placa y de la pared intracraneal y la combinación de ambos.

El análisis de las diferencias en la distribución de las poblaciones de monocitos y en los distintos grupos de participantes estudiados, se llevó a cabo mediante el test ANOVA de único sentido (one-way ANOVA).

Para concluir, se realizó una correlación entre el número total de arterias con realce post-contraste de pared arterial y la proporción de Mon3 CCR5 positivos. El análisis realizado fue una correlación de Spearman. La significación estadística fue considerada con un valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

4. Resultados

4.1. **Resultados en estudio de investigación 1: Captación de la placa aterosclerótica intracraneal y riesgo a largo plazo de futuros eventos cerebrovasculares.**

4.1.1. Características de la muestra

El estudio se realizó en los hospitales HCUV, HUGTiP y HUVH, siendo el periodo de inclusión entre enero de 2014 y diciembre de 2016. Solo el hospital HGTiP contribuyó en la inclusión de pacientes asintomáticos dado que pertenecían a la cohorte del estudio ASIA previamente realizado en dicho centro, mientras que los tres hospitales incluyeron pacientes sintomáticos. Tras una selección inicial de 108 candidatos sintomáticos y 40 asintomáticos, se excluyeron a 60 pacientes sintomáticos y 27 sujetos asintomáticos.

Los motivos de exclusión están recogidos en el diagrama de flujo para la elegibilidad e inclusión de pacientes en el estudio (**figura 4.1**).

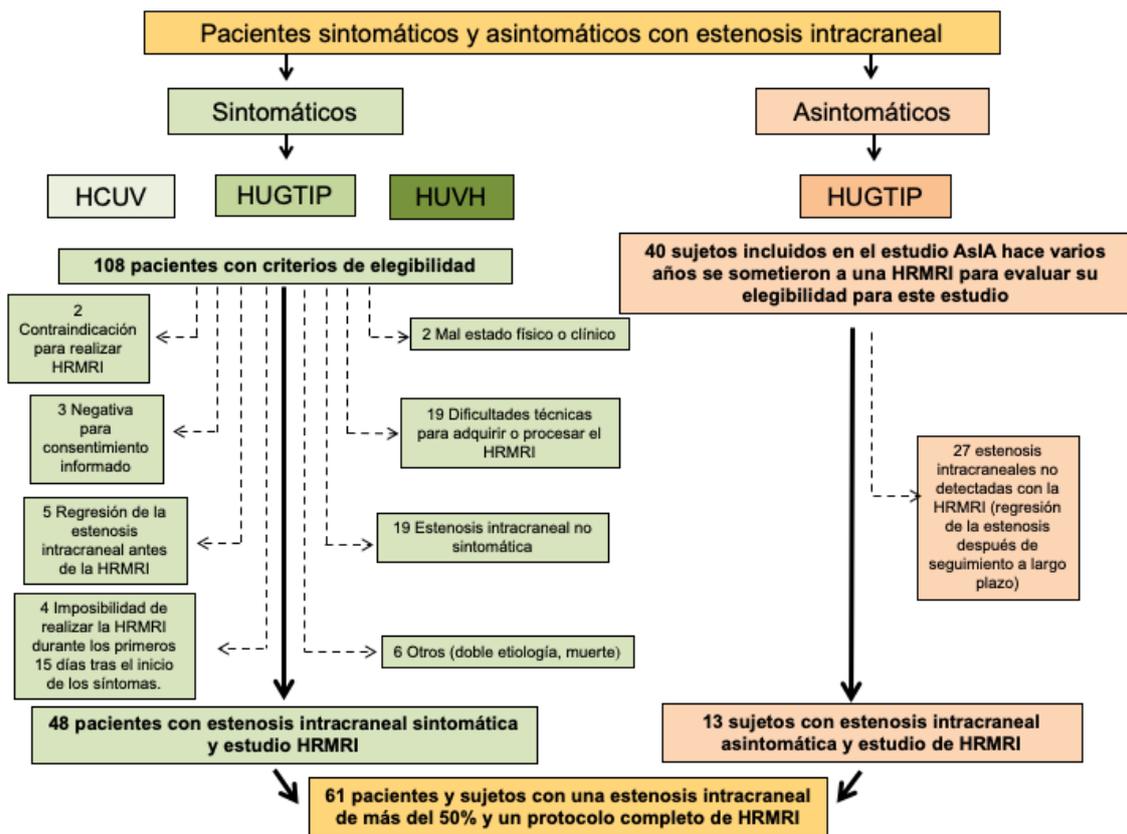


Figura 4.1: Diagrama de flujo para la elegibilidad e inclusión de pacientes en el estudio. HCUV: Hospital Clínico Universitario de Valladolid; HUGTIP: Hospital Universitari Germans Trias I Pujol; HUVH: Hospital Universitari Vall d'Hebron; AsIA: Estudio de Aterosclerosis Intracraneal Asintomática; HRMRI: Resonancia Magnética de Alta Resolución.

La muestra final fue de 48 pacientes sintomáticos y de 13 sujetos asintomáticos cuyas características clínicas están recogidas en la **tabla 4.1**. La edad media fue de 68,9 (\pm 11,6) años y 27 sujetos (44,5%) fueron mujeres. El factor de riesgo más prevalente fue la hipertensión arterial (78,7%), seguido de la diabetes mellitus (62,3%), la hipercolesterolemia (59%) y el hábito tabáquico actual o en el pasado (49,2%).

Cincuenta y siete sujetos (93,4%) recibían tratamiento preventivo en el momento de la HRMRI con antiagregantes antiplaquetarios (el 72,9% recibía doble terapia antiagregante con ácido acetilsalicílico 100mg y clopidogrel; el 18,8% tomaba ácido acetilsalicílico 300mg más clopidogrel; el 4,2% estaba en monoterapia con ácido acetilsalicílico 100mg; el 2,1% con monoterapia con ácido acetilsalicílico

300mg y 2,1% con monoterapia con clopidogrel) y 58 pacientes (95%) con estatinas de alta potencia.

La mediana en la escala NIHSS al ingreso hospitalario de los pacientes sintomáticos fue de 2 (Rango intercuartílico (RIQ): 0-11). En el momento de realización de la HRMRI la mediana de NIHSS era de 1 (RIQ: 0-14) y la mediana de la independencia funcional en pacientes sintomáticos valorada por la puntuación en la mRS fue 2.

	Todos los participantes (n = 61)
Edad, media \pm DS	68,9 \pm 11,6
Sexo (femenino), n (%)	27 (44,3)
Factores de riesgo vascular	
Hipertensión arterial, n (%)	48 (78,7)
Diabetes mellitus, n (%)	38 (62,3)
Hipercolesterolemia, n (%)	36 (59,0)
Antecedentes de enfermedad coronaria, n (%)	7 (11,5)
Ictus previo, n (%)	9 (14,8)
Tabaquismo (actual o pasado), n (%)	30 (49,2)
Enfermedad arterial periférica, n (%)	13 (21,3)
Terapia preventiva	
Tratamiento con agentes antiagregantes, n (%)	57 (93,4)
Tratamiento con estatinas, n (%)	58 (95,0)
Tratamiento con antidiabéticos, n (%)	34 (55,7)

Tabla 4.1: Características clínicas de la muestra del estudio. n=número de participantes; DS: Desviación estándar

4.1.2. Características de las variables radiológicas

A nivel intracraneal, se detectaron 107 estenosis, de las cuales 61 se definieron como placas intracraneales de referencia (placa sintomática en pacientes sintomáticos y placa causante de la estenosis más grave en sujetos asintomáticos).

Las placas de referencia se encontraron localizadas de la siguiente forma: 14 (23%) se situaban en la ACI intracraneal, 28 (45,9%) en el segmento M1 de la ACM M1, 2 (3,3%) en el segmento M2 de la ACM, 2 (3,3%) en la ACA, 1 (1,6%) en la AV intracraneal, 10 (16,4%) en la AB y 4 (6,6%) en la ACP.

Además 45 sujetos (73,8%) presentaban placas de ateroma no sintomáticas en las arterias carótidas extracraneales. En cuanto a las variables referentes a la evaluación del parénquima, observamos hiperintensidades de la sustancia blanca en grado moderada-grave (HSB) a nivel subcortical en 26 pacientes (42,6%) y a nivel periventricular en 29 (47,5%); 18 pacientes (29,5%) presentaron microhemorragias (**tabla 4.2**).

	Todos los participantes (n = 61)
Estenosis intracraneal múltiple frente a única n (%)	26 (42,6)
Aterosclerosis carotídea extracraneal, n (%)	45 (73,8)
Infarto lacunar crónico, n (%)	30 (49,2)
HSB subcortical moderado-grave, n (%)	26 (42,6)
HSB periventricular moderado-grave, n (%)	29 (47,5)
Microhemorragias cerebrales, n (%)	18 (29,5)

Tabla 4.2: Variables de neuroimagen de la muestra del estudio. n=número de participantes; HSB: Hiperintensidad de sustancia blanca.

Las estenosis de referencia presentaban una gravedad media de 44,5% ($\pm 18,7$), con un área media de $4,9 \pm 3,6 \text{ mm}^2$. Además, 18 (29,5%) presentaban una superficie de placa irregular con una ratio media de remodelación de $1,1 \pm 0,43$. La intensidad media de la placa en T1 antes y después de administrar contraste

fue de 163.9 ± 68.3 y 314.2 ± 179.5 respectivamente. La ratio media de realce de la placa post-contraste fue de $1,31 \pm 0,55$. Estos datos están recogidos en la **tabla 4.3**.

En la **tabla 4.4** se muestran las diferencias entre los hospitales que han participado en el estudio en relación a las características clínicas y radiológicas de los participantes.

	Todos los participantes (n = 61)
Grado de estenosis, media \pm DS	44.5 ± 18.7
Localización en ACM M1, n (%)	28 (45.9)
Área de la placa T2, media \pm DS	4.9 ± 3.6
Superficie placa irregular, n (%)	18 (29.5)
Ratio de remodelación, media \pm DS	1.1 ± 0.43
Intensidad T1 pre-contraste, media \pm DS	163.9 ± 68.3
Intensidad T1 post-contraste, media \pm DS	314.2 ± 179.5
Ratio de realce post-contraste, media \pm DS	1.31 ± 0.55

Tabla 4.3: Características de las placas intracraneales en HRMRI. n=número de participantes; DS: Desviación estándar; ACM M1: Arteria cerebral media segmento M1.

	Todos los pacientes (n = 61)	HCUV (n = 15)	HGTIP (n = 35)	HUVH (n = 11)	p Valor
Edad, media \pm DS	68.9 \pm 11.6	64.8 \pm 13.4	70.3 \pm 11.1	69.9 \pm 10.4	0.295
Sexo (femenino), n (%)	27 (44.3)	10 (66.7)	11 (31.4)	6 (54.5)	0.053
Factores de riesgo vascular					
Hipertensión arterial, n (%)	48 (78.7)	13 (86.7)	27 (77.1)	8 (72.7)	0.653
Diabetes mellitus, n (%)	38 (62.3)	10 (66.7)	23 (65.7)	5 (45.5)	0.444
Hipercolesterolemia, n (%)	36 (59.0)	6 (40.0)	24 (68.6)	6 (54.5)	0.161
Antecedentes de enfermedad coronaria, n (%)	7 (11.5)	0 (0.0)	5 (14.3)	2 (18.2)	0.254
Ictus previo, n (%)	9 (14.8)	1 (6.7)	8 (22.9)	0 (0.0)	0.105
Tabaquismo (actual o pasado), n (%)	30 (49.2)	6 (40.0)	18 (51.4)	6 (54.5)	0.704
Enfermedad arterial periférica, n (%)	13 (21.3)	0 (0.0)	5 (14.3)	2 (18.2)	0.254
Terapia preventiva					
Tratamiento con agentes antiagregantes, n (%)	57 (93.4)	12 (80.0)	20 (57.14)	5 (45.45)	0.204
Tratamiento con estatinas, n (%)	58 (95.0)	13 (86.7)	34 (97.1)	11 (100.0)	0.206
Tratamiento con antidiabéticos, n (%)	34 (55.7)	8 (53.3)	21 (60.0)	5 (45.5)	0.682
Variables Neuroimagen					
Estenosis intracraneales múltiples frente a únicas n (%)	26 (42.6)	8 (53.3)	16 (45.7)	2 (18.2)	0.171
Aterosclerosis carotídea extracraneal, n (%)	45 (73.8)	13 (86.7)	26 (74.3)	6 (54.5)	0.489
Infarto lacunar crónico, n (%)	30 (49.2)	10 (66.7)	15 (42.9)	5 (45.5)	0.328
HSB subcortical moderado-grave, n (%)	26 (42.6)	7 (46.7)	14 (40.0)	5(45.5)	0.889
HSB periventricular moderado-grave, n (%)	29 (47.5)	9 (60.0)	15 (42.9)	5(45.5)	0.532
Microhemorragias cerebrales, n (%)	18 (29.5)	4 (26.7)	12 (34.3)	2 (18.2)	0.566
Variables de placa intracraneal de referencia					
Placa intracraneal asintomática	0 (0.0)	0 (0.0)	13 (37.1)	0 (0.0)	0.002
Gravedad de la placa intracraneal, media \pm DE	44.5 \pm 18.7	47.8 \pm 16.4	44.7 \pm 20.4	39.7 \pm 16.2	0.555
Localización de la placa índice en ACM M1, n (%)	28 (45.9)	7 (46.7)	15 (42.9)	6 (54.5)	0.792
Área de la placa T2, media \pm DE	4.9 \pm 3.6	4.0 \pm 2.0	5.5 \pm 4.3	4.4 \pm 2.5	0.487
Superficie irregular de la placa, n (%)	18 (29.5)	2 (13.3)	13 (37.1)	3 (27.3)	0.185
Índice de remodelación de la placa, media \pm DE	1.1 \pm 0.43	1.0 \pm 0.3	1.2 \pm 0.5	1.1 \pm 0.4	0.329
Intensidad media de la placa T1 antes del contraste	163.9 \pm 68.3	132.8 \pm 115.0	159.0 \pm 44.8	213.4 \pm 32.6	0.018
Intensidad media de la placa T1 después del contraste	314.2 \pm 179.5	269.5 \pm 254.5	296.2 \pm 137.3	432.62 \pm 137.6	0.045
Ratio de realce de la placa, media \pm SD	1.31 \pm 0.55	1.6 \pm 0.6	1.1 \pm 0.5	1.5 \pm 0.4	0.004

Tabla 4.4: Características clínicas y de la placa intracraneal entre los diferentes hospitales que han participado. El HUGTIP incluyó participantes de la cohorte sintomática y de la asintomática. HCUV: Hospital Clínico Universitario de Valladolid. HUGTIP: Hospital Universitari Germans Trias I Pujol; HUVH: Hospital Universitari Vall d'Hebron; n: número de sujetos; DS: Desviación estándar; HSB: Hiperintensidad de sustancia blanca; ACM M1: Arteria cerebral media segmento M1.

4.1.3. Seguimiento a largo plazo

Se realizó un seguimiento clínico a largo plazo de todos los pacientes incluidos en el estudio.

La media de seguimiento fue de $56,3 \pm 16,9$ meses (rango de 12-80 meses).

A lo largo de ese tiempo, once pacientes y/o sujetos (18%) sufrieron un nuevo evento cerebrovascular. Siete de ellos fueron ictus isquémicos, dos ataques isquémicos transitorios y dos hemorragias cerebrales. Diez pacientes (21%) del subgrupo de pacientes sintomáticos sufrieron un nuevo evento cerebrovascular. En el subgrupo de sujetos asintomáticos, sólo uno de ellos presentó un evento cerebrovascular isquémico.

Todos los eventos cerebrovasculares isquémicos ocurrieron en la región del cerebro que estaba abastecido por la arteria que contenía la placa aterosclerótica de referencia al comienzo del estudio.

4.1.4. Identificación del punto de corte de hiperintensidad post-contraste para la predicción de nuevos eventos cerebrovasculares

Para identificar las variables predictoras de mayor riesgo para futuros eventos cerebrovasculares de cualquier naturaleza que ocurrieron durante el seguimiento se aplicaron modelos de regresión de Cox. Para poder categorizar la ratio de realce post-contraste se realizó una curva ROC, donde se eligió el punto de corte con la mayor sensibilidad (46%) y especificidad (82%) para la aparición de eventos. El punto de corte seleccionado para predecir un nuevo evento cerebrovascular fue 1,77.

4.1.4.1. Identificación de variables predictoras de futuros eventos cerebrovasculares

Para identificar las variables predictoras de futuros eventos cerebrovasculares, en primer lugar, se realizó una regresión de Cox, donde se incluyeron en el análisis las variables clínicas, las variables de neuroimagen del parénquima y las variables de imagen referentes a la placa de interés.

En el análisis univariante entre nuevos ictus y variables clínicas, no se encontraron asociaciones significativas. Respecto a las variables de neuroimagen de parénquima, se halló una asociación entre presencia de microhemorragias cerebrales y nuevos ictus (HR): 5.191; IC 95%:1.487-18.122).

En cuanto a las características de la placa de referencia, se observaron asociaciones significativas entre nuevos ictus y realce post-contraste $>1,77$ (HR, 3.999; IC del 95%,1.205-13.275), intensidad media de la placa intracraneal pre-contraste en T1 (HR, 1.009; IC del 95%, 1.001-1.018) e intensidad media de la placa post-contraste en T1 (HR, 1.003; IC del 95%,1.000-1.006).

Para el análisis de regresión de Cox multivariante solo se incluyeron las dos variables más representativas del análisis univariante para respetar el número de variables a incluir en el modelo ajustado al número observado de eventos.

Las variables incluidas fueron la ratio de realce $> 1,77$ y las microhemorragias. El análisis mostró que la ratio de realce post-contraste $>1,77$ (HR, 3,632; IC del 95%, 1,082-12,101) y las microhemorragias cerebrales (HR, 5,244; IC del 95%, 1,476-18,629) eran factores predictores independientes de nuevos eventos cerebrovasculares. **Tabla 4.5**

Regresión Cox Univariante				Regresión Cox Multivariante		
	HR Sin ajustar	IC 95%	p Valor	HR Sin ajustar	IC 95%	p Valor
Edad, media ± DS	1.025	(0.97-1.08)	0.377			
Sexo (femenino), n (%)	1.352	(0.41-4.459)	0.620			
Factores de riesgo vascular						
Hipertensión arterial, n (%)	0.636	(0.165-2.458)	0.512			
Diabetes mellitus, n (%)	0.612	(0.186-2.020)	0.421			
Hipercolesterolemia, n (%)	0.339	(0.097-1.192)	0.092			
Antecedentes de enfermedad coronaria, n (%)	1.188	(0.150-9.402)	0.871			
Ictus previo, n (%)	1.180	(0.253-5.501)	0.833			
Tabaquismo (actual o pasado), n (%)	0.706	(0.215-2.318)	0.566			
Enfermedad arterial periférica, n (%)	0.261	(0.33-2.072)	0.204			
Terapia preventiva						
Tratamiento con agentes antiagregantes, n (%)	1.110	(0.140-8.821)	0.921			
Tratamiento con estatinas, n (%)	0.295	(0.063-1.383)	0.121			
Tratamiento con antidiabéticos, n (%)	0.382	(0.111-1.321)	0.129			
Variables Neuroimagen						
Estenosis intracraneales múltiples frente a únicas n (%)	0.856	(0.250-2.930)	0.805			
Aterosclerosis carotídea extracraneal, n (%)	1.525	(0.329-7.062)	0.590			
Infarto lacunar crónico, n (%)	1.731	(0.505-5.933)	0.383			
HSB subcortical moderado-grave, n (%)	1.623	(0.493-5.337)	0.426			
HSB periventricular moderado-grave, n (%)	3.363	(0.887-12.755)	0.075			
Microhemorragias cerebrales, n (%)	5.191	(1.487-18.122)	0.010	5.244	(1.476-18.629)	0.010
Variables de placa intracraneal de referencia						
Gravedad de la placa intracraneal, media ± DE	0.995	(0.963-1.028)	0.765			
Localización de la placa índice en ACM M1, n (%)	0.267	(0.057-1.238)	0.092			
Área de la placa T2, media ± DS	1.008	(0.783-1.298)	0.952			
Superficie irregular de la placa, n (%)	0.527	(0.113-2.452)	0.414			
Índice de remodelación de la placa, media ± DS	0.425	(0.73-2.45)	0.338			
Intensidad media de la placa T1 antes del contraste	1.009	(1.001-1.018)	0.032			
Intensidad media de la placa T1 después del contraste	1.003	(1.000-1.006)	0.035			
Ratio de realce de la placa, media ± SD	3.999	(1.205-13.275)	0.024	3.632	(1.082 - 12.101)	0.037

Tabla 4.5: Análisis de regresión de Cox univariante y multivariante. Asociación de variables predictoras de riesgo de nuevo evento cerebrovascular durante el seguimiento del estudio. HR: Hazard Ratio; IC: Intervalo de confianza; n: número de sujetos; DS: Desviación estándar; HSB: Hiperintensidad de sustancia blanca; ACM M1: Arteria cerebral media segmento M1.

4.1.4.2. Identificación de variables predictoras de nuevos eventos cerebrovasculares isquémicos.

Se realizó un segundo análisis de regresión de Cox en el que solo se incluyeron los eventos cerebrales isquémicos, excluyendo los eventos hemorrágicos. Los resultados para el análisis univariante revelaron asociaciones entre nuevos ictus y microhemorragias cerebrales (HR, 6.153; IC del 95%, 1.494-25.346), HSB periventricular moderada-grave (HR, 4.612; IC del 95%, 0.952-22.229), intensidad media en la placa sin contraste en T1 (HR, 1.010; IC del 95%, 1.001-1.019) y ratio de realce post-contraste >1,77 (HR, 3.999; IC del 95%, 1.057-15.135). **Tabla 4.6.**

Los nuevos eventos isquémicos en este subgrupo tuvieron un número limitado de casos; debido al alto riesgo de error estadístico tipo 2 no se realizaron análisis de regresión de Cox multivariante.

	HR Sin ajustar	IC 95%	P Valor
Edad, media \pm DS	1.037	(0.974-1.104)	0.254
Sexo (femenino), n (%)	2.093	(0.557-7.858)	0.274
Factores de riesgo vascular			
Hipertensión arterial, n (%)	0.465	(0.112-1.932)	0.292
Diabetes mellitus, n (%)	0.396	(0.105-1.487)	0.170
Hipercolesterolemia, n (%)	0.278	(0.067-1.152)	0.078
Antecedentes de enfermedad coronaria, n (%)	1.517	(0.186-12.381)	0.697
Ictus previo, n (%)	1.536	(0.316-7.470)	0.595
Tabaquismo (actual o pasado), n (%)	0.421	(0.105-1.687)	0.222
Enfermedad arterial periférica, n (%)	0.308	(0.038-2.512)	0.271
Terapia preventiva			
Tratamiento con agentes antiagregantes, n (%)	0.945	(0.116-7.711)	0.958
Tratamiento con estatinas, n (%)	0.544	(0.067-4.416)	0.569
Tratamiento con antidiabéticos, n (%)	0.323	(0.080-1.311)	0.114
Variables Neuroimagen			
Estenosis intracraneales múltiples frente a únicas n (%)	0.761	(0.190-3.051)	0.700
Aterosclerosis carotídea extracraneal, n (%)	1.196	(0.248-5.764)	0.823
Infarto lacunar crónico, n (%)	1.220	(0.326-4.567)	0.767
HSB subcortical moderado-grave, n (%)	2.787	(0.694-11.190)	0.149
HSB periventricular moderado-grave, n (%)	4.612	(0.952-22.229)	0.058
Microhemorragias cerebrales, n (%)	6.153	(1.494-25.346)	0.012
Variables de placa intracraneal de referencia			
Gravedad de la placa intracraneal, media \pm DS	0.990	(0.955-1.026)	0.577
Localización de la placa índice en ACM M1, n (%)	0.153	(0.019-1.231)	0.078
Área de la placa T2, media \pm DE	1.012	(0.736-1.390)	0.942
Superficie irregular de la placa, n (%)	0.645	(0.142-3.347)	0.645
Índice de remodelación de la placa, media \pm DS	0.583	(0.086-3.969)	0.581
Intensidad media de la placa T1 antes del contraste	1.010	(1.001-1.019)	0.034
Intensidad media de la placa T1 después del contraste	1.003	(1.000-1.006)	0.079
Ratio de realce de la placa, media \pm SD	3.999	(1.057-15.135)	0.041

Tabla 4.6: Análisis de regresión de Cox univariante. Variables asociadas al riesgo de un nuevo ictus isquémico cerebral durante el seguimiento. HR: Hazard Ratio IC: Intervalo de confianza; n: número de sujetos; DS: Desviación estándar; HSB: Hiperintensidad de sustancia blanca; ACM M1: Arteria Cerebral Media segmento M1.

4.1.4.3. Identificación de variables predictoras de nuevos eventos cerebrovasculares en el subgrupo de pacientes sintomáticos.

Para realizar este análisis se seleccionó solo al grupo de pacientes sintomáticos. Se llevó a cabo un análisis regresión de Cox univariante cuyo resultado mostró una asociación significativa entre nuevos ictus y la intensidad media de la placa sin contraste en T1 (HR, 1,009; IC del 95%, 1,000-1,018) y una tendencia no significativa para la variable ratio de realce post-contraste >1,77 (HR, 3,248; IC del 95%, 0,919-11,474).

El análisis multivalente no fue realizado debido a que el número de eventos cerebrovasculares fue menor a diez.

4.1.5. Análisis de la supervivencia libre de futuros eventos cerebrovasculares

4.1.5.1. Análisis de la supervivencia libre de futuros eventos cerebrovasculares

Para el análisis de la supervivencia libre de eventos, todos los pacientes fueron categorizados en subgrupos con ratio de realce post-contraste alto o bajo comparándose la probabilidad de sufrir nuevos eventos mediante una curva de Kaplan Meier. Se observó que los sujetos con una ratio de realce post-contraste >1,77 habían sufrido más eventos cerebrovasculares durante el seguimiento del estudio (Log Rank 0.014). **Figura 4.2.**

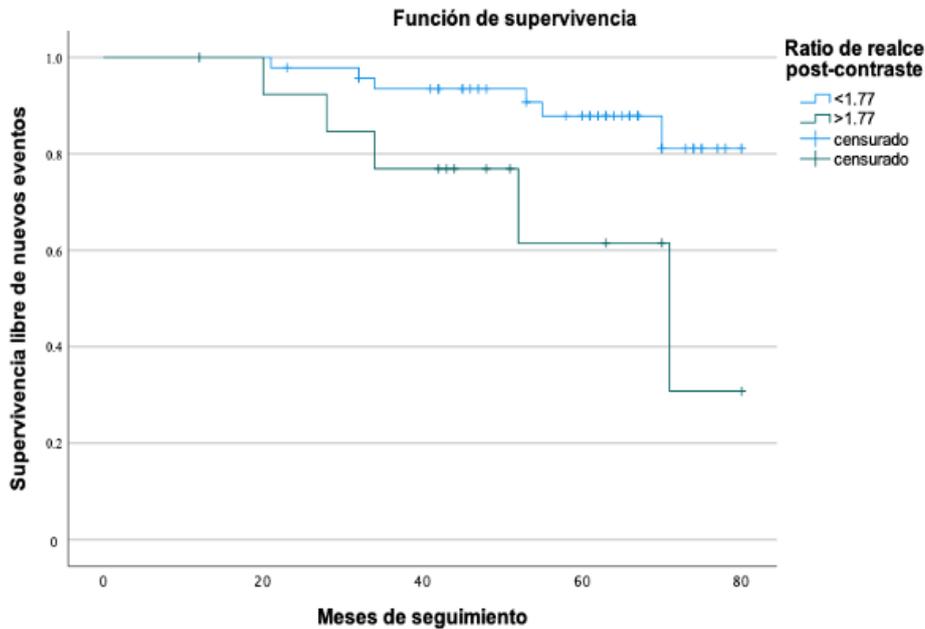


Figura 4.2: Curva de Kaplan-Meier de la supervivencia a largo plazo libre de nuevos ictus entre los sujetos con ratio de realce superior e inferior a 1,77 (log-rank $p = 0,014$).

4.1.5.2. Análisis de la supervivencia libre de nuevos eventos isquémicos

Se realizó una nueva curva de Kaplan Meier para conocer la supervivencia libre de nuevos eventos isquémicos cerebrovasculares (excluyendo los eventos hemorrágicos) y comparamos los subgrupos de sujetos con ratio de realce alto y bajo.

Se observó que los sujetos con ratio de realce post-contraste $> 1,77$ tenían más eventos cerebrovasculares isquémicos durante el seguimiento (Log Rank 0.05).

Figura 4.3.

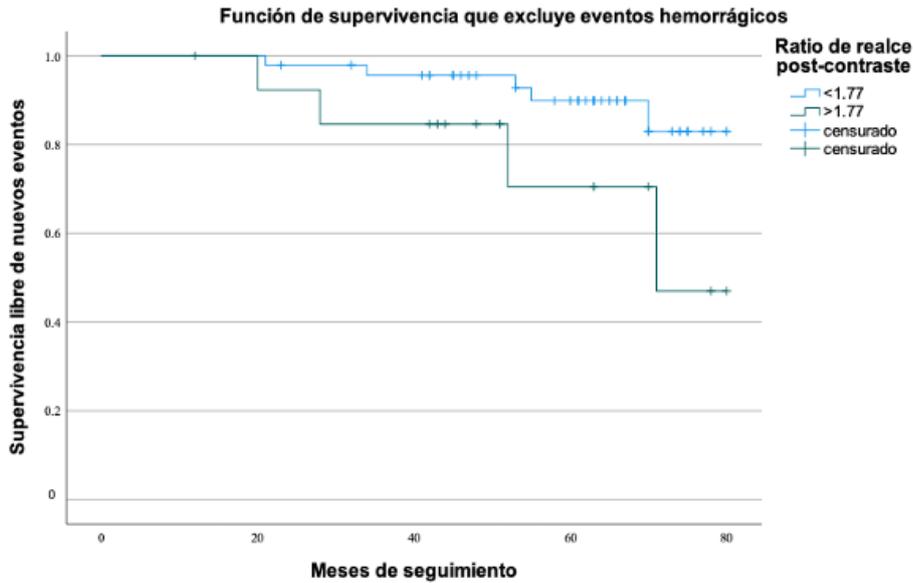


Figura 4.3: Curva de Kaplan-Meier de la supervivencia a largo plazo libre de nuevos ictus isquémico entre los pacientes con ratio de realce superior e inferior a 1,77 (log-rank $p = 0,05$).

4.1.5.3. Análisis de la supervivencia libre de eventos recurrentes en pacientes sintomáticos.

Se realizó una última curva de Kaplan Meier para conocer la supervivencia libre de eventos solo en el grupo de pacientes sintomáticos. Se observó que los pacientes con una ratio de realce post-contraste $> 1,77$ en la placa intracraneal habían sufrido mayor número de eventos cerebrovasculares recurrentes a lo largo del seguimiento (Log Rank 0.05).

4.2. Resultados en estudio de investigación 2: Caracterización del realce post-contraste como marcador de actividad inflamatoria de las placas de aterosclerosis intracraneal.

4.2.1. Características de la muestra

El estudio se realizó entre septiembre de 2018 y diciembre de 2021, donde se seleccionaron un total de 21 posibles participantes sintomáticos y de 48 sujetos asintomáticos para la participación en el estudio. Finalmente, se incluyeron doce pacientes con estenosis intracraneal sintomática y 34 sujetos asintomáticos con protocolo de HRMRI y con citometría de flujo en el momento de la inclusión y, en el caso de los sintomáticos, a los tres meses del evento. Los motivos de exclusión están recogidos en el diagrama de flujo para la elegibilidad e inclusión de pacientes en el estudio (**figura 4.4**).

La edad media de los sujetos incluidos (\pm DS) fue de 66,3 (\pm 8,5) años y 14 de ellos (30,4%) fueron mujeres. Como factores de riesgo más prevalentes destacamos la hipertensión arterial (63%), hipercolesterolemia (58,7%) y por último pacientes fumadores o exfumadores (56,5%). Doce pacientes (26,1%) tenían antecedentes de ictus y 10 pacientes (21,7%) antecedentes de enfermedad coronaria (no se incluye la diabetes mellitus por ser criterio de inclusión en pacientes asintomáticos).

Treinta y nueve participantes (84.8%) estaban con tratamiento antiplaquetario en el momento de la inclusión (9 sujetos (19.6%) tomaban ácido acetilsalicílico 100mg; 4 (8.7%) ácido acetilsalicílico 300mg; 8 (17.4%) estaba con clopidogrel y 18 sujetos (39.1%) tomaba doble terapia antiplaquetaria con ácido acetilsalicílico 100mg más clopidogrel 75mg) y 24 (52.2%) con tratamiento con estatinas de alta potencia.

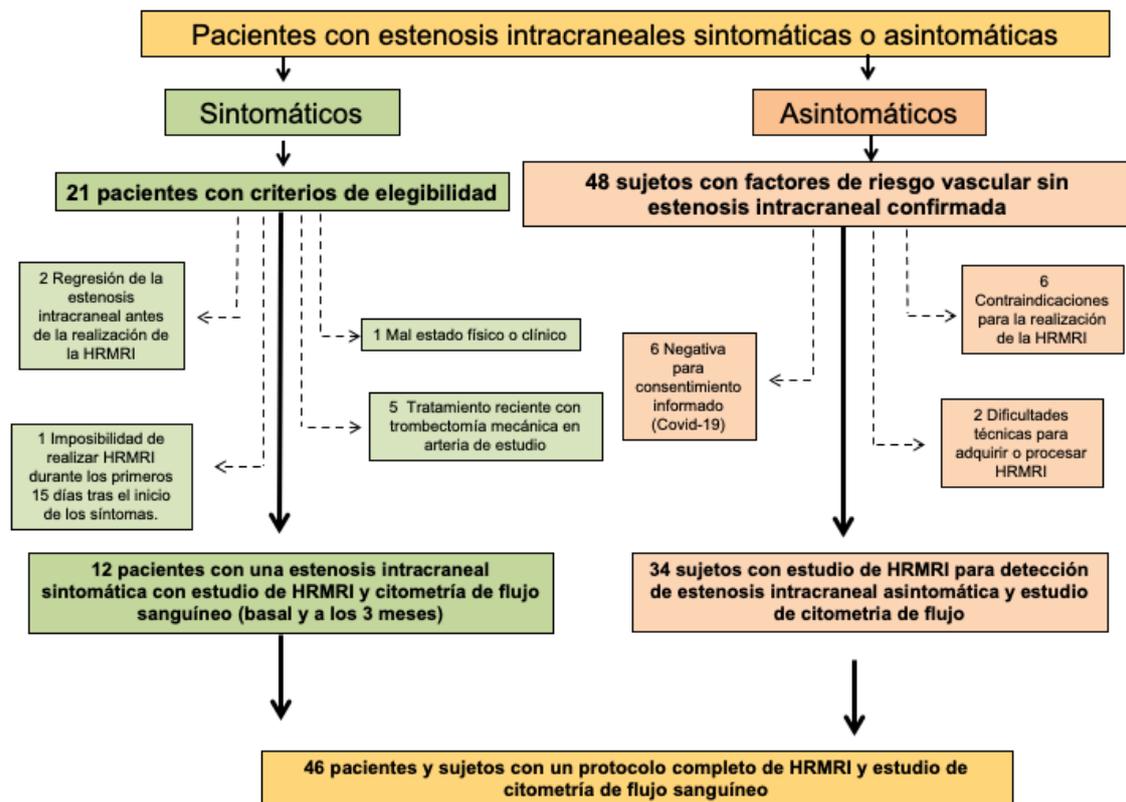


Figura 4.4: Diagrama de flujo para la elegibilidad e inclusión de pacientes en el estudio. HRMRI: Resonancia magnética de alta resolución.

Las características demográficas, factores de riesgo vascular y tratamiento en el momento de la HRMRI están recogidos en la **tabla 4.7**. Además, en la tabla también están representadas las características clínicas de pacientes sintomáticos y de sujetos asintomáticos.

Se observó que, entre los pacientes sintomáticos y sujetos asintomáticos, las variables clínicas con significación estadística fueron la enfermedad arterial periférica ($p,0,005$) y el tratamiento con estatinas de alta potencia ($p, 0,01$).

	Todos los participantes (n=46)	Sintomáticos (n=12)	Asintomáticos (n= 34)	p valor
Edad, años, media \pm DS	66.3 \pm 8.5	69.4 \pm 8.4	65.2 \pm 8.3	0.09
Sexo (femenino), n (%)	14 (30.4)	4 (33.3)	10 (29.4)	0.80
Factores de riesgo vascular				
Hipertensión arterial, n (%)	29 (63.0)	7 (58.3)	22 (64.7)	0.69
Diabetes mellitus, n (%)	40 (87.0)	6 (50.0)	34 (100)	N/A
Hipercolesterolemia, n (%)	27 (58.7)	6 (50.0)	21 (61.8)	0.48
Antecedentes de enfermedad coronaria, n (%)	10 (21.7)	1 (8.3)	9 (26.5)	0.19
Ictus previo, n (%)	12 (26.1)	2 (16.7)	10 (29.4)	0.39
Fumador (activo o exfumador), n (%)	26 (56.5)	4 (33.3)	22 (64.7)	0.06
Enfermedad arteria periférica, n (%)	15 (32.6)	0 (0)	15 (44.1)	0.005
Terapia preventiva en el momento de HRMRI				
Tratamiento con antiagregantes plaquetarios, n (%)	39 (84.8)	12 (100)	27 (79.4)	0.09
Tratamiento con estatinas de alta potencia, n (%)	24 (52.2%)	10 (83.3)	14 (41.2)	0.01

Tabla 4.7: Características clínicas de pacientes sintomáticos y sujetos asintomáticos. n: número de sujetos; DS: Desviación estándar; N/A: no aplica.

En cuanto a las variables de neuroimagen del parénquima de la cohorte de participantes completa observamos que 42 (91,3%) sujetos tenían placas en las arterias carótidas internas extracraneales, 21 (45,7%) presentaban al menos un infarto lacunar crónico, 12 (26,1%) presentaban HSB a nivel subcortical y 17 (37,0%) a nivel periventricular y en 3 (6,5%) casos observamos microhemorragias.

La **tabla 4.8** muestra las características de enfermedad cerebrovascular coexistente en pacientes sintomáticos y sujetos asintomáticos. Solo la variable de aterosclerosis en arteria carótida extracraneal mostró diferencias significativas entre el grupo de pacientes sintomáticos y sujetos asintomáticos.

	Todos los participantes (n=46)	Sintomáticos (n=12)	Asintomáticos (n=34)	p valor
Aterosclerosis en carótida extracraneal, n (%)	42 (91.3)	9 (75)	33 (97.1)	0.02
Infarto lacunar crónico, n (%)	21 (45.7)	7 (58.3)	14 (41.2)	0.31
HSB subcortical moderada-severa, n (%)	12 (26.1)	4 (33.3)	8 (23.5)	0.51
HSB periventricular moderada-severa, n (%)	17 (37.0)	6 (50)	11 (32.4)	0.28
Microhemorragias cerebrales, n (%)	3 (6.5)	1 (8.3)	2 (5.9)	0.77

Tabla 4.8: Variables de neuroimagen de pacientes sintomáticos y sujetos asintomáticos. n: número de sujetos; HSB: Hiperintensidad de sustancia blanca

4.2.1.1. Características del realce post-contraste de la placa y de la pared arterial en el grupo de sujetos asintomáticos

4.2.1.1.1. Descripción del realce post-contraste de las placas intracraneales

Se identificaron 8 pacientes asintomáticos con placas intracraneales causantes de estenosis (23,2%). La distribución de las placas intracraneales fue la siguiente: 4 placas (50%) presentes en ACI intracraneal; 2 (25%) en ACM M1; 1 (12,5%) en AV y por último, 1 placa (12,5%) en AB.

Se observó que 6 placas (75%) presentaban realce post-contraste (4 placas (66,6%) con realce leve y 2 placas (33,3%) con realce fuerte) situadas en 3 ACI intracraneal, 2 en ACM M1 y 1 en AV. Dos placas (25%) no presentaron captación post-contraste; una de ellas estaba situada en la ACI y la otra en la AB.

Excepto dos sujetos (11,1%) que solo presentaban realce post-contraste en la placa intracraneal, todos los sujetos asintomáticos que presentaron realce en la placa intracraneal también presentaron realce post-contraste de la pared arterial.

4.2.1.1.2. Descripción del realce post-contraste de la pared arterial

Para la evaluación visual del realce de la pared arterial sólo se evaluaron como realce positivo aquellas arterias intracraneales con un realce significativo o fuerte en la pared arterial (realce fuerte (grado 2): realce similar al de la glándula pituitaria)

En primer lugar, se evaluó el número total de arterias cerebrales con realce de la pared arterial por individuo. Encontramos que 16 sujetos (47,1%) tenían alguna arterial captante; 4 (11,8%) presentaban 1 arteria captante; 6 (17,6%) 2 arterias captantes; 5 (14,7%) 3 arterias y un único sujeto (2,9%) presentaba 4 arterias con captación.

Centrándonos y valorando la pared de la arteria más estenótica por sujeto, se observó que 18 sujetos (52.9%) no presentaban captación en la pared arterial y 16 sujetos (47,1%) presentaban realce significativo en la pared arterial.

La **tabla 4.9** muestra las características clínicas y de neuroimagen del parénquima en función de la captación post-contraste de la pared y/o captación de la placa intracraneal o ausencia de captación de la pared y de placa en los sujetos asintomáticos. El antecedente de enfermedad coronaria fue la única variable con significación estadística (p , 0,03).

	Asintomáticos con realce (pared y/o placa) (n=18)	Asintomáticos sin realce (pared ni placa) (n=16)	p valor
Edad, años, media \pm DS	65.1 \pm 8.2	65.4 \pm 8.7	0.71
Sexo (femenino), n (%)	4 (22.2)	6 (37.5)	0.30
Hipertensión arterial, n (%)	13 (72.2)	9 (56.3)	0.33
Diabetes mellitus, n (%)	18(100)	16 (100)	N/A
Hipercolesterolemia, n (%)	12 (66.7)	9 (56.3)	0.53
Antecedentes de enfermedad coronaria, n (%)	2 (11.1)	7 (43.8)	0.03
Ictus previo, n (%)	7 (38,9)	3 (18.8)	0.20
Fumador (activo o exfumador), n (%)	10 (55.6)	12 (75)	0.24
Enfermedad arteria periférica, n (%)	8 (44.4)	7 (43.8)	0.97
Tratamiento con antiagregante plaquetario, n (%)	13 (72.2)	14 (87.5)	0.27
Tratamiento con estatinas, n (%)	9 (50.0)	5 (31.3)	0.07
Aterosclerosis en carótida extracraneal, n (%)	18 (100)	15 (93.8)	0.28
Infarto lacunar crónico, n (%)	10 (55.6)	4 (25)	0.07
HSB subcortical moderada-severa, n (%)	4 (22.2)	4 (25)	0.85
HSB periventricular moderada-severa, n (%)	8 (44.4)	3 (18.8)	0.11
Microhemorragias cerebrales, n (%)	2 (11.1)	0 (0)	0.17

Tabla 4.9: Características clínicas y de neuroimagen en función de la captación post-contraste de la pared y/o placa intracraneal en arteria de interés. n: número de sujetos; DS: Desviación estándar; HSB: Hiperintensidad de sustancia blanca

4.2.1.2. Características del realce post-contraste de la placa y de la pared arterial del grupo de pacientes sintomáticos. Inclusión y 3 meses.

El estudio del realce post-contraste de la placa y de pared intracraneal en el momento de la inclusión y a los 3 meses se centró en la arteria sintomática. También se denominó a esta arteria como arteria de interés.

4.2.1.2.1. Descripción del realce post-contraste de las placas intracraneales en el momento de inclusión

La media (\pm DS) de días entre el ictus y la realización de la resonancia magnética de inclusión fue de 15,8 (\pm 9,1) días.

Observamos que todos los pacientes presentaban una placa intracraneal en la arteria sintomática. La distribución de las placas fue la siguiente: 2 (16,6%) en ACI; 7 (58,3%) en ACM M1 y 3 placas (25%) en AB.

Las 12 placas (100%) de todos los pacientes presentaban realce positivo. Dos placas (16,7%) presentaron una captación leve y 10 placas (83,3%) tenían un realce fuerte.

4.2.1.2.2. Descripción del realce post-contraste de la pared arterial intracraneal en el momento de inclusión

Se observó que 12 pacientes (100%) presentaban alguna arterial intracraneal con realce de la pared arterial. El número total de arterias por paciente con realce fue el siguiente: 4 pacientes (33,3%) presentaban 1 arteria con realce, 2 (16,7%) con 2 arterias, 2 (16,7%) con 3 arterias, 3 pacientes (25%) con 4 arterias y 1 paciente (8,3%) 7 arterias con realce en su pared arterial.

Solo una arteria a nivel basilar no pudo ser evaluada por presentar artefactos en el interior de la arteria (arteria no sintomática).

Con respecto al realce post-contraste de la pared de las arterias sintomáticas, se observó que todas las paredes arteriales (100%) presentaban realce significativo.

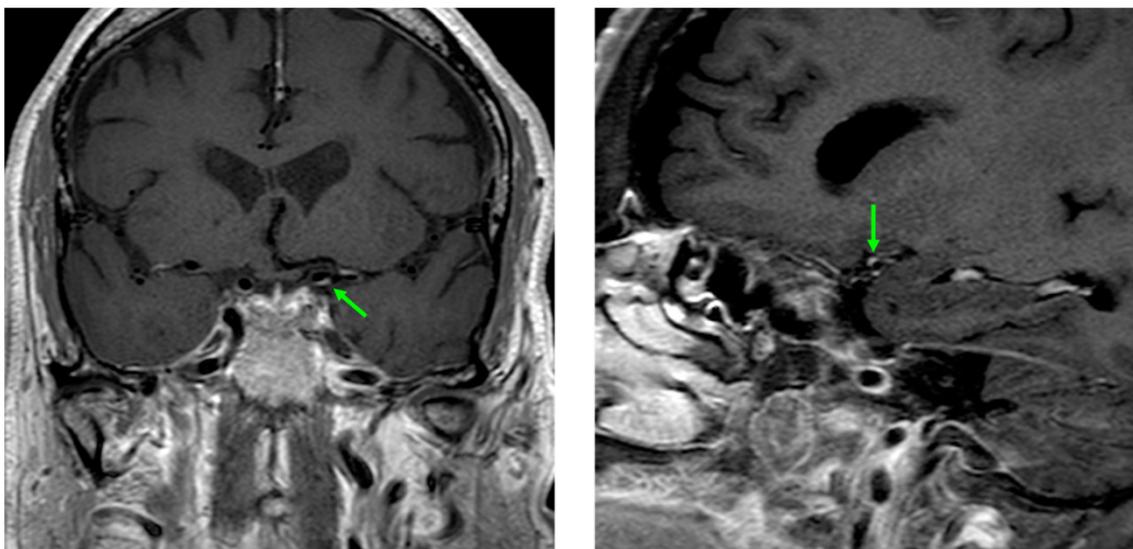


Figura 4.5: Realce post-contraste fuerte (grado 2) de la placa intracraneal. La imagen de la izquierda muestra secuencia T1 coronal post-contraste y la imagen de la derecha secuencia T1 corte perpendicular a la placa post-contraste.

4.2.1.2.3. Seguimiento clínico y descripción del realce post-contraste de la pared intracraneal a los 3 meses

Se realizó seguimiento clínico y radiológico a los tres meses tras la inclusión de los 12 pacientes sintomáticos. La media \pm DS de días que transcurrieron entre las dos RM fue de 94,3 días \pm 19,9.

En la resonancia de control no se detectaron lesiones isquémicas recurrentes. Tampoco hubo AIT ni clínica sugestiva de ictus en ningún paciente.

El análisis de la captación post-contraste en la placa intracraneal sintomática mostró que 11 placas (91,6%) presentaban realce postcontraste. Si se compara con el estudio de RM en el momento de inclusión, una placa sufrió un cambio en

la captación, pasando de un realce leve a no realce y otra placa sufrió un cambio de realce leve a grado fuerte. Además, se observó que un paciente (8,3%) presentó solo captación post-contraste de la placa intracraneal sin realce de la pared arterial.

En cuanto a la evaluación de la pared arterial encontramos que 11 pacientes (91,7%) presentaban realce post-contraste, el número total de arterias por paciente fue de: 4 (33,3%) tenía 1 arteria con captación; 1 paciente (8,3%) con 3 arterias captantes; 2 (16,7%) con 4 arterias, 3 pacientes (25%) con 5 arterias y por último, 1 paciente con 7 arterias con captación en la pared arterial.

La captación post-contraste de la pared arterial sintomática refleja que 11 pacientes (91,6%) tienen realce post-contraste en la pared arterial. Comparando con el estudio de HRMRI anterior, encontramos que un paciente sufrió una modificación de captación en la pared arterial sintomática pasando de un realce significativo (realce fuerte) a no realzar significativamente (realce leve).

4.2.2. Comparación de los diferentes subgrupos de sujetos en función de los hallazgos encontrados en la resonancia magnética de pared arterial en el momento de inclusión

La composición de los grupos en función de la captación de realce quedó de la siguiente forma: 16 sujetos (34,8%) no presentaba realce post-contraste ni de pared arterial ni de placa intracraneal; 12 sujetos (26,1%) presentaba solo realce en la pared arterial y 18 sujetos (39,1%) mostraron realce de la pared arterial y realce de la placa intracraneal o realce de la placa.

En la **tabla 4.10** se muestran las características clínicas y de neuroimagen del parénquima de los diferentes grupos de sujetos en función de su captación post-contraste de la placa y de la pared arterial. Se han encontrado diferencias significativas entre antecedentes de enfermedad coronaria (p , 0,02), tratamiento con estatinas de alta potencia (p , 0,03) y enfermedad arterial periférica (p , 0,04).

	No realce (n=16)	Realce solo en pared arterial (n=12)	Realce en placa con o sin pared (n=18)	p valor
Edad, años, media \pm DS	65.4 \pm 8.7	63.8 \pm 7.1	68.8 \pm 8.9	0.26
Sexo (femenino), n (%)	6 (37.5)	1 (8.3)	7 (38.9)	0.15
Factores de riesgo vascular				
Hipertensión arterial, n (%)	9 (56.3)	9 (75.0)	11 (61.1)	0.58
Diabetes mellitus, n (%)	16 (100)	12 (85.0)	12 (66.7)	N/A
Hipercolesterolemia, n (%)	9 (56.3)	7 (58.3)	11 (61.1)	0.96
Antecedentes de enfermedad coronaria, n (%)	7 (43.8)	2 (16.7)	1 (5.6)	0.02
Ictus previo, n (%)	3 (18.8)	5 (41.7)	4 (22.2)	0.35
Fumador (activo o exfumador), n (%)	12 (75.0)	11 (58.3)	7 (38.9)	0.11
Enfermedad arteria periférica, n (%)	7 (43.8)	6 (50.0)	2 (11.1)	0.04
Terapia preventiva				
Tratamiento con antiagregante plaquetario, n (%)	14 (87.5)	9 (75.0)	16 (88.9)	0.54
Tratamiento con estatinas (alta potencia), n (%)	4 (25.0)	8 (66.7)	12 (66.6)	0.03
Variables de neuroimagen				
Aterosclerosis en carótida extracraneal, n (%)	15 (93.8)	12 (100)	15 (83.3)	0.26
Infarto lacunar crónico, n (%)	4 (25.0)	7 (58.3)	10 (55.6)	0.12
HSB subcortical moderada-severa, n (%)	4 (25.0)	3 (25.0)	5 (27.8)	0.98
HSB periventricular moderada-severa, n (%)	3 (18.8)	7 (58.3)	7 (38.9)	0.09
Microhemorragias cerebrales, n (%)	0 (0)	2 (16.7)	1 (5.6)	0.21

Tabla 4.10: Características clínicas y de neuroimagen en función del realce-post-contraste de la placa y de la pared arterial. n: número de sujetos; DS: Desviación estándar; HSB: Hiperintensidad de sustancia blanca.

4.2.3. Distribución de las poblaciones de monocitos entre los diferentes subgrupos de pacientes

Las diferentes subpoblaciones de monocitos circulantes presentan distintas funciones en el desarrollo y progresión de enfermedades cardiovasculares, incluida la aterosclerosis. Por ello, en este estudio analizamos la relación entre las diferentes subpoblaciones monocitarias y la presencia y grado de actividad de la placa de ateroma intracraneal.

En primer lugar, se analizó si las poblaciones de monocitos principales (Mon1, Mon2, Mon3) presentaban diferencias en relación a los grupos de estudio, tanto atendiendo a la clínica (sintomáticos/asintomáticos) como al realce post-contraste de la placa y pared arterial y la combinación de ambos (criterios clínicos e imagen de pared arterial).

En segundo lugar, dado que CCR5 es un receptor de membrana implicado en la extravasación de los monocitos circulantes (Mon2 y Mon3) y su incorporación a la lesión aterosclerótica, se analizaron las diferencias entre porcentaje de monocitos Mon2 y Mon3 que expresan CCR5 (CCR5+). Este análisis se realizó en los subgrupos de pacientes en relación con la sintomatología clínica, el realce de la placa y de la pared intracraneal y la combinación de ambos.

4.2.3.1. Distribución de los monocitos en función de criterios clínicos (Sintomáticos (basal y 3 meses) y asintomáticos)

En el primer subestudio determinamos la distribución de las diferentes subpoblaciones de monocitos (Mon1, Mon2 y Mon3) en función de los criterios clínicos.

Los participantes se dividieron en sujetos asintomáticos y en pacientes sintomáticos (momento de inclusión-basal). En los últimos se repitieron todos los procedimientos a los tres meses tras el ictus (momento 3 meses).

La **figura 4.6** muestra la distribución de las subpoblaciones de monocitos Mon1, Mon2 y Mon3 en estos 3 grupos de participantes. No se observaron diferencias entre pacientes sintomáticos en el momento basal, a los 3 meses y sujetos asintomáticos respecto a la distribución de subpoblaciones de monocitos (Mon1, Mon2 y Mon3). Por tanto, estas subpoblaciones monocitarias no nos permiten diferenciar entre los participantes con aterosclerosis que no han padecido un ictus y los que han padecido un ictus bien en fase aguda o a más largo plazo (3m).

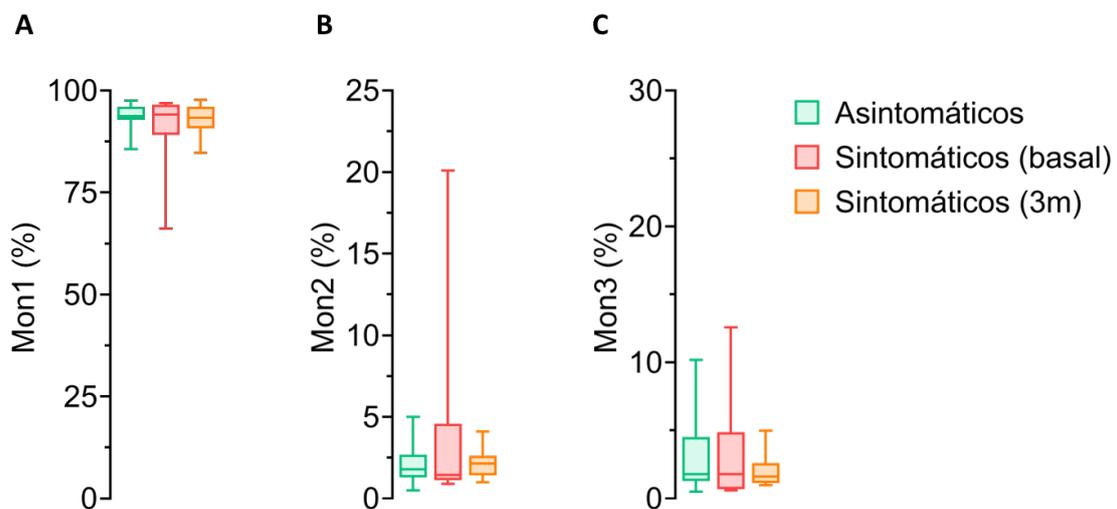


Figura 4.6: Cuantificación del porcentaje de monocitos circulantes que corresponde a las subpoblaciones de Mon1 (A), Mon2 (B) y Mon3 (C) en función de los criterios clínicos de pacientes sintomáticos (basal y 3 meses) y sujetos asintomáticos. No se observaron diferencias significativas entre los diferentes participantes y el porcentaje para Mon1, Mon2 y Mon3. Las cajas muestran la distribución de los monocitos en cuartiles. La línea horizontal que atraviesa las cajas representa la mediana.

A continuación, quisimos comprobar si la sintomatología afecta a la expresión de CCR5 en las subpoblaciones de monocitos capaces de expresar este receptor (Mon2 y Mon3). Utilizando la misma subdivisión de los participantes, se determinó el porcentaje de Mon2 y Mon3 positivos para CCR5 (**figura 4.7**). Tanto la población de Mon2 CCR5+ como la Mon3 CCR5+ son diferentes entre los pacientes sintomáticos a 3 meses con respecto a los pacientes sintomáticos en basal y participantes asintomáticos. En ambos casos, los monocitos positivos para CCR5 aumentan en la población de pacientes sintomáticos a 3 meses.

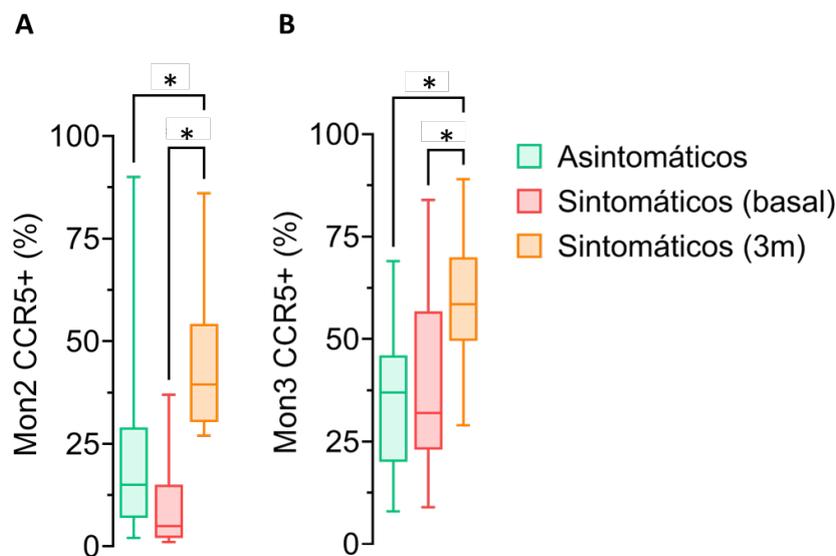


Figura 4.7: Proporción de monocitos Mon2 (A) y Mon3 (B) positivos para CCR5 en función de los criterios clínicos de pacientes sintomáticos (basal y 3 meses) y sujetos asintomáticos. Se observaron diferencias entre sujetos asintomáticos y pacientes sintomáticos 3 meses y entre pacientes sintomáticos tiempo basal y 3 meses. Las cajas muestran la distribución de los monocitos en cuartiles. La línea horizontal que atraviesa las cajas representa la mediana. * $p < 0,05$.

4.2.3.2. Distribución de monocitos en función del realce de la placa y pared intracraneal (no realce, realce de la pared y realce de la pared y de la placa).

En el segundo subestudio determinamos la distribución de las diferentes subpoblaciones de monocitos (Mon1, Mon2 y Mon3) en función de los criterios de imagen (realce post-contraste).

Los participantes se dividieron considerando tres grados de realce en: sujetos sin realce, sujetos con realce en la pared y sujetos con realce en la placa con o sin realce en pared.

En los resultados de este análisis, que se muestran en la **figura 4.8**, no se observan diferencias entre la distribución de las diferentes subpoblaciones monocitarias Mon1, Mon2 y Mon3 en función del realce post-contraste de la placa y de la pared intracraneal.

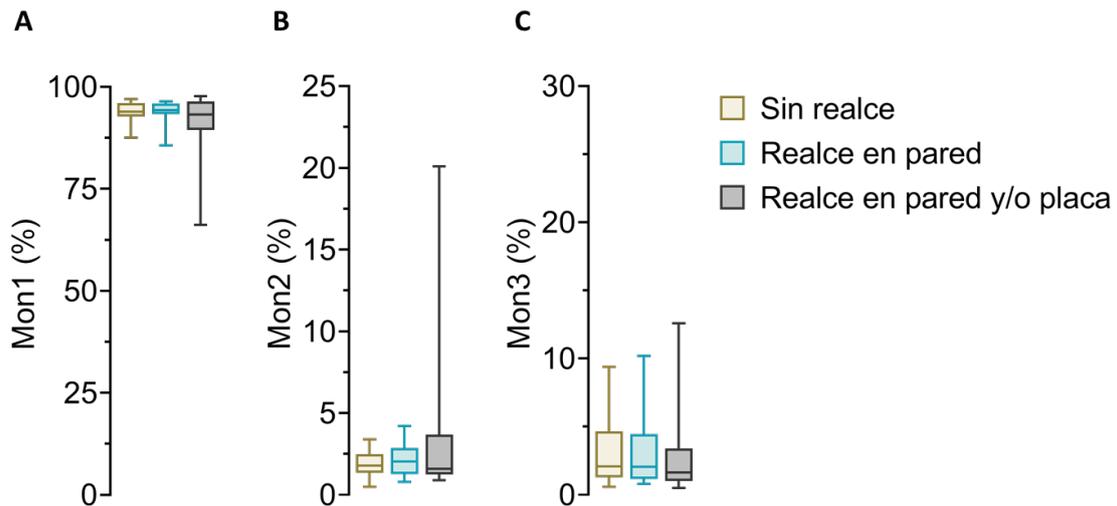


Figura 4.8: Cuantificación del porcentaje de monocitos circulantes que corresponde a las subpoblaciones de Mon1 (A), Mon2 (B) y Mon3 (C) en función de neuroimagen de la presencia o no de realce en la pared y/o placa intracraneal. Las cajas muestran la distribución de los monocitos en cuartiles. La línea horizontal que atraviesa las cajas representa la mediana.

Teniendo en cuenta la proporción de Mon2 CCR5+ y Mon3 CCR5+ en función del realce, no se observan diferencias en la proporción de Mon2 CCR5+ entre los diferentes grupos (**figura 4.9 A**). Sin embargo, la proporción de Mon3 CCR5+ fue superior en aquellos participantes que presentaban realce, con independencia de la localización del mismo (**figura 4.9 B**).

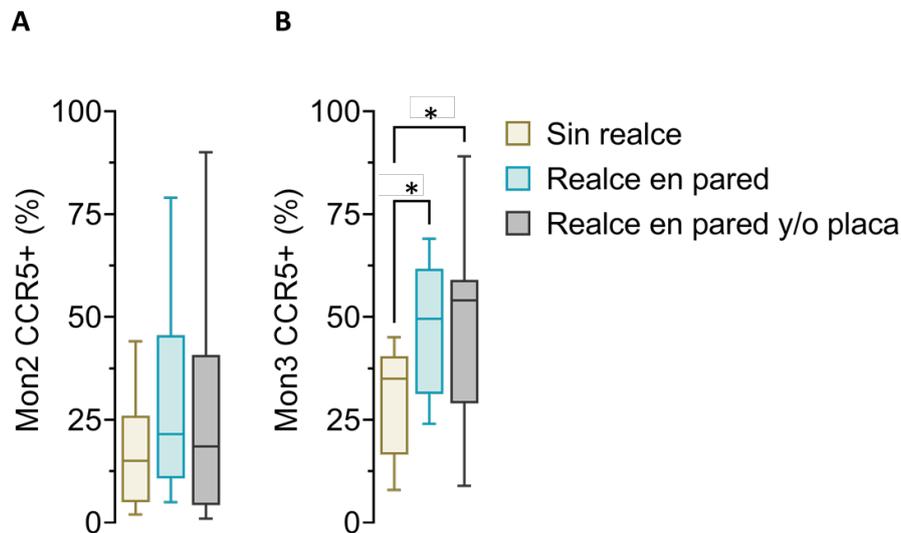


Figura 4.9: Proporción de monocitos Mon2 (A) y Mon3 (B) positivos para CCR5 en función de los criterios de neuroimagen (presencia o ausencia realce en la placa y/o pared arteriales). Mientras que los Mon2 CCR5+ no permiten diferenciar entre la aparición o ausencia de realce, la proporción de Mon3 CCR5+ si es capaz de diferenciar entre la presencia o ausencia de realce. Las cajas muestran la distribución de los monocitos en cuartiles. La línea horizontal que atraviesa las cajas representa la mediana. * $p < 0,05$.

4.2.3.3. Distribución de los monocitos en función de criterios clínicos combinados con imagen de pared arterial

En el último subestudio determinamos la distribución de las diferentes subpoblaciones de monocitos (Mon1, Mon2 y Mon3) en función de la combinación de los criterios clínicos (asintomáticos/sintomáticos 3m) y de imagen (sin/con realce post-contraste).

Los participantes se dividieron en asintomáticos sin realce, asintomáticos con realce y pacientes sintomáticos a los 3 meses de haber sufrido el ictus.

En la **figura 4.10** se observa una distribución de las poblaciones de monocitos Mon1, Mon2 y Mon3 similar entre los distintos grupos de estudio.

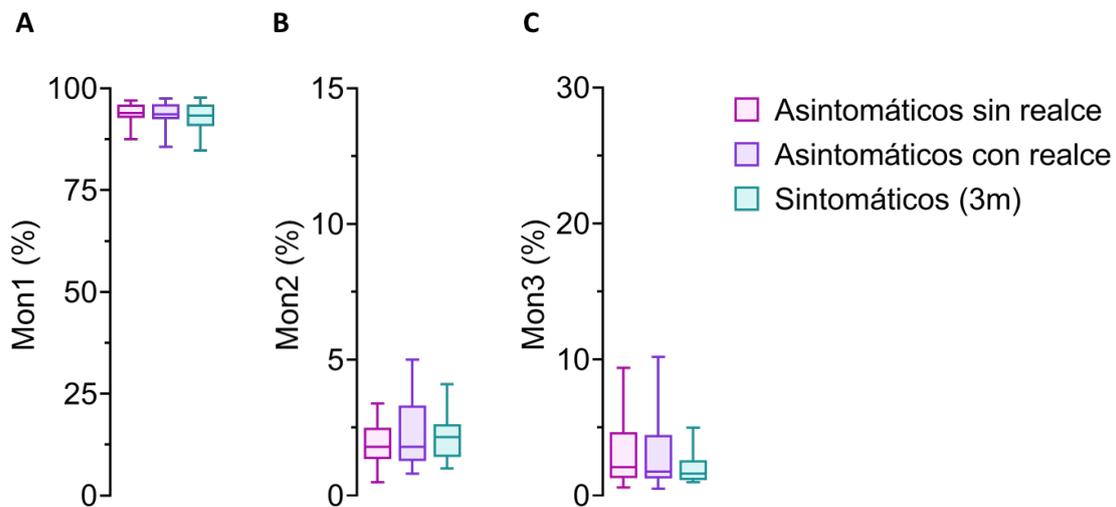


Figura 4.10: Cuantificación del porcentaje de monocitos circulantes que corresponde a las subpoblaciones de Mon1 (A), Mon2 (B) y Mon3 (C) en función de los criterios clínicos y de neuroimagen de sujetos asintomáticos con presencia o no de realce de pared y/o placa intracraneal y pacientes sintomáticos a los 3 meses. Las cajas muestran la distribución de los monocitos en cuartiles. La línea horizontal que atraviesa las cajas representa la mediana.

En cuanto a la distribución de Mon2 CCR5+ y Mon3 CCR5+ en función del realce de la placa y de la pared de los vasos intracraneales, encontramos una mayor proporción de Mon2 CCR5 positivos en pacientes sintomáticos a los 3 meses en comparación a los participantes asintomáticos sin realce (**figura 4.11 A**). Sin embargo, encontramos un enriquecimiento gradual y significativo en la proporción de Mon3 CCR5 positivos desde los participantes asintomáticos sin realce, pasando por los participantes asintomáticos con realce hasta los pacientes sintomáticos a 3 meses (**figura 4.11 B**). De este modo, la subpoblación monocitaria Mon3 CCR5+ permite estratificar a los pacientes en función del grado de lesión arterial intracraneal.

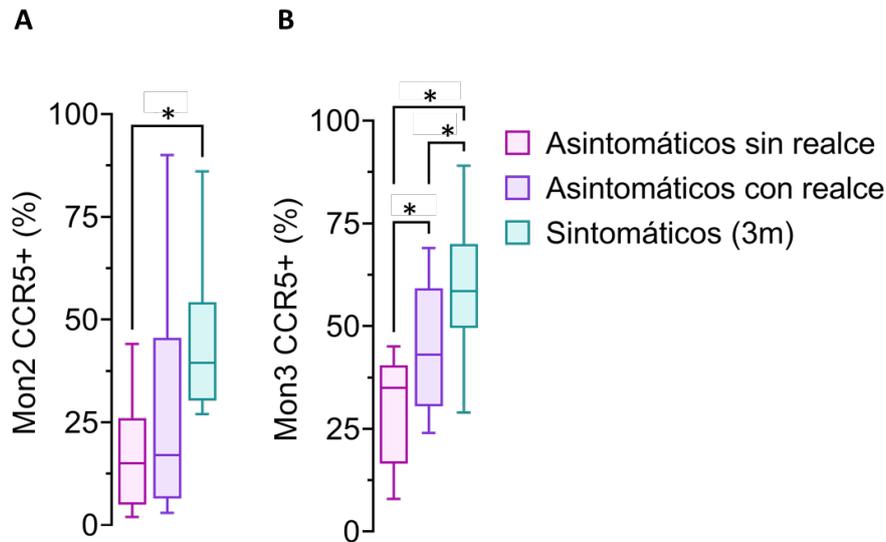


Figura 4.11: Proporción de monocitos Mon2 (A) y Mon3 (B) positivos para CCR5 en función de los criterios clínicos de pacientes asintomáticos (con o sin realce en la placa y/o pared arteriales) y sujetos sintomáticos a los 3 meses. Mientras que los Mon2 CCR5+ permiten discriminar entre pacientes y participantes asintomáticos sin realce, los Mon3 CCR5+ además nos permiten diferenciar dentro de los participantes asintomáticos, entre los que tienen realce en la placa y/o pared arterial, y los que no tienen realce. Las cajas muestran la distribución de los monocitos en cuartiles. La línea horizontal que atraviesa las cajas representa la mediana. * $p < 0,05$.

4.2.3.4. Correlación entre subtipos de monocitos y el número total de arterias con realce de pared arterial intracraneal.

Como observamos en los anteriores apartados, el subtipo de monocitos Mon3 CCR5+ permite identificar a los sujetos que presentan realce post-contraste intracraneal. Además, al realizar la combinación de la neuroimagen con criterios clínicos, esta subpoblación de monocitos permite discriminar a los pacientes no solo por la presencia de daño arterial intracraneal sino por el grado del mismo. Por ello, decidimos estudiar la posible correlación entre los niveles de Mon3 CCR5+ con el número de arterias con realce post-contraste fuerte (grado 2) de la pared arterial por participante.

En la **figura 4.12** se muestra la correlación de Spearman entre Mon3 CCR5+ y el número de arterias totales con fuerte realce de pared. Se observa una ligera correlación positiva, por lo que estos datos sugieren que a mayor número de

arterias con realce fuerte de pared arterial mayor porcentaje del subtipo de monocitos Mon3 CCR5+ ($r=0,2951$; $p<0,05$).

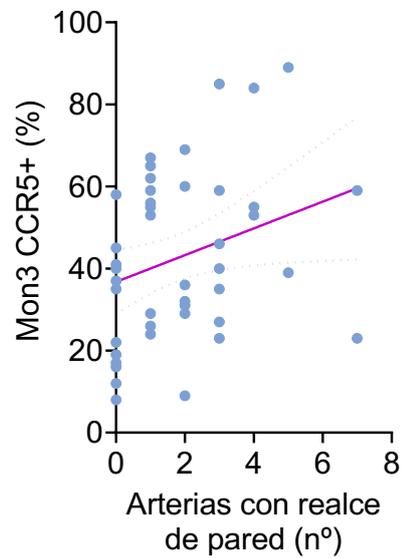


Figura 4.12: Correlación de Spearman entre en número de arterias con realce post-contraste fuerte (grado 2) y la proporción de Mon3 CCR5+. Los resultados muestran una ligera correlación entre ambos parámetros ($r=0,2951$; $p<0,05$). La línea muestra la regresión lineal simple de los puntos ($r^2=0,0893$; $p<0,05$).

DISCUSIÓN

5. Discusión

5.1. Realce post-contraste de la placa aterosclerótica intracraneal y riesgo a largo plazo de futuros eventos cerebrovasculares

5.1.1. Síntesis de los resultados:

En nuestro primer trabajo de investigación demostramos que la ratio de realce post-contraste de la placa aterosclerótica intracraneal superior a 1,77 es un predictor independiente de riesgo de futuros eventos cerebrovasculares. Esto fue observado tanto en pacientes sintomáticos como en pacientes previamente asintomáticos con enfermedad aterosclerótica intracraneal de origen caucásico. Además, constatamos que la supervivencia libre de eventos recurrentes a largo plazo es menor en aquellos pacientes con una ratio de realce post-contraste >1,77. Por tanto, dicho umbral puede ser un marcador de riesgo útil para predecir futuros eventos cerebrovascular. La captación más allá de esta ratio podría indicar una mayor actividad de la placa intracraneal y por tanto, una mayor vulnerabilidad de la misma

Aunque estudiamos otras características morfológicas de la placa intracraneal como la gravedad de la estenosis, el área de la placa, la superficie irregular y la ratio de remodelación, no observamos ninguna asociación significativa con los nuevos eventos a largo plazo en nuestro estudio. La mayoría de estas características han sido relacionadas con ictus recientes y con recurrencia de ictus^{182,113,180} pero por el momento, no se han identificado firmes marcadores de imagen que auguren el riesgo de futuros ictus.

5.1.2. Consideraciones generales

Por lo tanto, los resultados obtenidos en el primer trabajo confirman la hipótesis planteada sobre el realce post-contraste de la placa intracraneal como marcador de riesgo de nuevos a largo plazo de eventos cerebrovasculares en sujetos con enfermedad aterosclerótica intracraneal. El realce post-contraste surge como predictor independiente de futuros eventos cerebrovasculares a largo plazo.

Además, encontramos que las microhemorragias se asocian de forma significativa con el riesgo de futuros ictus. La HSB a nivel periventricular presenta una tendencia a la significación como marcador de nuevos eventos.

De este estudio destacamos que los resultados obtenidos fueron recogidos de un estudio prospectivo, multicéntrico y en población caucásica en sujetos con enfermedad aterosclerótica intracraneal sintomática y asintomática de alto riesgo. Podemos asegurar que nuestro estudio es uno de los primeros que ha evaluado el riesgo de futuros eventos cerebrovasculares en población caucásica con un largo seguimiento en el tiempo (56.3 ± 16.9 meses).

Los hallazgos obtenidos van en línea con algunos trabajos publicados donde se ha asociado el realce post-contraste de la placa intracraneal con un mayor riesgo de recurrencia o de nuevos eventos cerebrovasculares.^{114,180} Sin embargo, esta asociación no se describe de forma consistente. Algunos estudios no han hallado una relación positiva entre el realce post-contraste de la placa intracraneal y el riesgo de ictus¹⁸⁴. Esta falta de concordancia podría ser debida a las diferencias metodológicas de los estudios, especialmente en lo referente a los protocolos de HRMRI y a la evaluación de la imagen de la placa.²²¹ De este modo hay estudios que evalúan el realce intraplaca utilizando un método visual cualitativo en el que se clasifica de forma subjetiva el realce mediante una escala de captación.^{222,223} Por otro lado, encontramos estudios que aplican un post-proceso cuantitativo para evaluar el realce post-contraste en los que tampoco encontramos un acuerdo de cómo definir el realce de la placa intracraneal. Algunos autores utilizan la señal intraplaca previa al contraste como referencia¹⁴⁷ pero otros determinan como punto de referencia una zona neutra del cerebro como por ejemplo el cuerpo caloso.²²⁴ En nuestro estudio decidimos aplicar el método post-contraste cuantitativo y el punto de referencia el cuerpo caloso, ya que en ocasiones no se identifica la placa intracraneal isointensa en las secuencias sin contraste. Es fundamental que se aplique el mismo consenso metodológico en futuras investigaciones con el fin de que se realicen estudios multicéntricos de calidad.

Existen otros marcadores de imagen de HRMRI en la literatura que se han relacionado con el riesgo de nuevos ictus en pacientes con aterosclerosis intracraneal sintomática. Dentro de estas variables encontramos la carga de la placa, el índice de remodelación, el grado de estenosis intracraneal, la superficie de la placa y la hemorragia intraplaca.¹³⁸ En nuestro estudio no encontramos asociaciones significativas con estas variables. Es posible que esta diferencia sea debida a las variaciones en la metodología de imagen (tipo de secuencia y grosor de corte) la cronología dispar entre el ictus y la adquisición de la HRMRI, la alteración de la señal debida a artefactos de flujo a causa de estenosis severas y la utilización de parámetros cualitativos para la lectura de la imagen donde existe subjetividad del observador.

Por el momento, se desconocen los mecanismos fisiopatológicos que explican el realce post-contraste de la placa aterosclerótica. Se ha descrito que la causa más probable sea la inflamación o la difusión de contraste a través de los vasa vasorum. La captación de contraste en la placa intracraneal se ha relacionado anteriormente con la actividad de la placa. En arterias carótidas, la visualización de realce post-contraste en HRMRI se ha utilizado como marcador de vulnerabilidad y este a su vez se ha relacionado con procesos inflamatorios.^{156,225} Aunque es posible que el contraste penetre mediante difusión pasiva por los vasa-vasorum en placas intracraneales de gran tamaño, nuestros resultados van en línea con otros autores que relacionan el realce post-contraste de la placa intracraneal con una mayor actividad de la misma. Existen estudios que han objetivado que el realce post-contraste es un marcador de placas intracraneales sintomáticas recientes en pacientes con ictus agudo.^{170,178} Los datos obtenidos en nuestro estudio también sugieren que el realce de la placa aterosclerótica intracraneal puede ser un marcador de actividad y vulnerabilidad. Creemos que es esencial aclarar si el realce de post-contraste está relacionado con la inflamación y si la dinámica temporal del realce post-contraste puede emplearse para monitorizar la placa intracraneal y su respuesta a las terapias preventivas.

5.2. Realce post-contraste de la pared y de la placa intracraneal y la distribución de las poblaciones monocitarias en pacientes con aterosclerosis intracraneal

5.2.1. Síntesis de resultados

El principal resultado del segundo trabajo de investigación es que la presencia de realce post-contraste tanto en las placas de aterosclerosis intracraneal, como en la pared de las arterias, se asocia a una mayor proporción de monocitos tipo 3 que expresan el receptor CCR5. Esto se observa tanto en pacientes con aterosclerosis intracraneal sintomática, como en individuos con aterosclerosis intracraneal asintomática. Especialmente interesante resulta el hallazgo en estos últimos, ya que todos los pacientes sintomáticos mostraban realce de sus placas. En los pacientes asintomáticos, la presencia de realce post-contraste de las placas y de las paredes arteriales, se asocia a una mayor población de monocitos 3 que expresan dicho receptor. Además, observamos una mayor proporción de monocitos 3 CCR5 positivos en pacientes sintomáticos a los 3 meses tras el ictus al compararlo con el momento de inclusión. La relación obtenida entre daño arterial y la población Mon3 CCR5+ nos condujo al último hallazgo del segundo trabajo de investigación: la correlación positiva entre el número de arterias con realce y la proporción de Mon3 CCR5+. El estudio del realce de pared arterial, junto con el del realce de las placas de ateroma, constituye una novedad importante de nuestro trabajo. Nuestros hallazgos sugieren que el realce de pared arterial también tiene que ver con la actividad inflamatoria y podría traducir áreas de disfunción endotelial inflamatoria. De esta forma, el estudio de RM de alta resolución con contraste, nos permitiría identificar lesiones de aterosclerosis intracraneal activas tanto en fases iniciales (disfunción endotelial – realce en pared), como en fases avanzadas (placa de ateroma activa – realce en la placa).

5.2.2. Consideraciones generales

El diseño de nuestro estudio es pionero al combinar HRMRI de pared arterial con citometría de flujo. Hasta ahora, la evidencia para sustentar que el realce post-

contraste de las placas de aterosclerosis intracraneal se asociaba con la actividad inflamatoria de las mismas, procedía: (1) del conocimiento procedente de estudios en placas de ateroma de circulación extracraneal, extrapolándolo a la circulación intracraneal¹⁵⁶; (2) de estudios con biomarcadores inflamatorios como la ratio linfocitos /monocitos²⁰³ y la fosfolipasa A2 asociada a lipoproteínas (Lp-PLA2)²²⁶ asociados ambos con realce post-contraste.

Se ha descrito que la internalización de monocitos en la pared vascular es uno de los eventos tempranos que originan una lesión aterosclerótica.³⁰ Estos monocitos, dentro de la pared vascular, van a diferenciarse en macrófagos pro o anti-inflamatorios, dependiendo del ambiente que se encuentren dentro de la placa.³⁹ La cronificación de un ambiente proinflamatorio en la placa de ateroma, a la que contribuyen los macrófagos internalizados, está directamente relacionada con la progresión de la lesión.²²⁷ Desde el epitelio vascular, se liberan diferentes quimiocinas que van a atraer a estos monocitos circulantes.²²⁷ Estas quimiocinas se unen a receptores de la membrana plasmática de los monocitos, pudiendo activar procesos de diferenciación en los mismos.⁴³ Este proceso dará lugar a la aparición de diferentes subpoblaciones monocitarias que podrían tener un papel diferente en la cascada inflamatoria. Pese a que una vez internalizados en la placa, el ambiente inflamatorio que los rodee será el principal modulador de la diferenciación de estos monocitos a macrófagos pro o anti-inflamatorios,³⁹ la subpoblación monocitaria que da lugar a esos macrófagos podría determinar su potencial inflamatorio.

En este trabajo, hemos identificado una subpoblación monocitaria, Mon3 CCR5+ cuya proporción se ve incrementada gradualmente en sujetos con aterosclerosis intracraneal en función del grado de realce y del número de arterias afectadas. Teniendo en cuenta que hablamos de porcentaje de monocitos 3 positivos para CCR5, las diferencias en la distribución de las subpoblaciones monocitarias entre los diferentes grupos de estudio, podrían estar influenciando este resultado. Sin embargo, la ausencia de diferencias en el porcentaje de Mon3 entre los grupos de participantes estudiados, independientemente de la agrupación por criterios clínicos o de imagen, apoya la relevancia del enriquecimiento de Mon3 CCR5+ en el proceso ateromatoso intracraneal. El hecho de haber trabajado con monocitos circulantes, no nos permite distinguir el

destino de estas poblaciones en la placa de ateroma. Podría ser que la población de Mon3 fuese más abundante en participantes asintomáticos con realce y más aún en pacientes sintomáticos, debido a una mayor diferenciación a Mon3 en los monocitos de estos individuos, pero también podría ocurrir que los Mon3 CCR5+ se internalicen más en la placa de pacientes asintomáticos sin realce, y esto disminuya su proporción en circulación sistémica. Los experimentos realizados hasta el momento no nos permiten distinguir entre ambas situaciones. En el caso de que la diferenciación de Mon3 CCR5+ correlacionase con la gravedad de la placa, podría indicar un papel proinflamatorio de estas células. De lo contrario, en caso que ocurriese una mayor internalización de los Mon3 CCR5+ en la placa de pacientes asintomáticos sin realce, el papel de esta población en la placa podría ser anti-inflamatoria.

No obstante, se ha demostrado que la inflamación desempeña un papel fundamental en el proceso de neoangiogénesis.²²⁸ Además, los macrófagos tiene una función esencial en la formación de nuevos vasos sanguíneos²²⁹ siendo capaces de secretar factores de crecimiento proangiogénicos²³⁰ además de metaloproteinasas de matriz, que mediante el remodelamiento de la matriz extracelular contribuyen a la generación de nuevos vasos sanguíneos.^{231,232} Estos vasos sanguíneos *de novo* son disfuncionales, permiten la extravasación de sangre, fomentando la expansión de la placa, exacerbando todavía más la angiogénesis.^{140,233} Este efecto podría estar detrás de la extravasación del agente de contraste en la placa, dando lugar a la aparición de realce en participantes asintomáticos con realce, y en los pacientes sintomáticos, lo que apoyaría el posible papel pro-inflamatorio de los Mon3 CCR5+. Otro argumento a favor de esta hipótesis, sería la función que CCR5 parece tener en el proceso aterosclerótico. En humanos, existe una mutación, CCR5 Δ 32, que se caracteriza por una delección de 32 pares de bases de la región codificante del gen CCR5. La delección de CCR5-delta32 se descubrió inicialmente en relación con la infección por el VIH-1. Esta variante, se ha relacionado con una menor susceptibilidad a la enfermedad coronaria,^{234,235} una menor aparición precoz de la enfermedad coronaria en mujeres²³⁶ y protección frente al infarto de miocardio.²³⁷ Sin embargo, otros estudios no han encontrado relación entre este polimorfismo y el proceso aterosclerótico.^{238,239,240} Esta controversia en los resultados podría deberse a diferencias en las frecuencias de los alelos entre las

distintas poblaciones. En modelos animales de aterosclerosis, en concreto en ratones KO para la ApoE se ha observado una sobreexpresión de CCR5 en la subpoblación Mon3 que utilizaba este receptor, en lugar de CCR2 o CXCR3, para su internalización en la placa de ateroma.⁴⁵ Curiosamente, en monocitos humanos y células endoteliales de arterias coronarias humanas se ha demostrado que las HDL reconstituidas disminuyen la expresión del ligando de CCR5 (CCL5), lo que sugiere que la reducción de la función de CCR5 puede contribuir a las propiedades ateroprotectoras de las HDL.⁴⁷ Sin embargo, existen otros tipos celulares del sistema inmune que también expresan CCR5, como los linfocitos T, que podrían tener funciones diferentes en el desarrollo y progresión de la lesión aterosclerótica, por lo que serían necesarios más experimentos para establecer categóricamente la función que tiene la subpoblación Mon3 CCR5+ en la aterosclerosis intracraneal.

5.3. Relación entre los hallazgos principales de ambos trabajos

En el primer estudio observamos que el realce post-contraste de la placa intracraneal supone un aumento del riesgo de recurrencia de nuevos eventos cerebrovasculares y en el segundo que el realce post-contraste sugiere una mayor actividad inflamatoria. Reuniendo los dos trabajos, observamos que una mayor actividad inflamatoria estaría implicada en el riesgo trombótico de la aterosclerosis intracraneal. De confirmarse esta hipótesis, su principal implicación terapéutica es que los tratamientos antiinflamatorios podrían detener la progresión y complicación de las placas de aterosclerosis intracraneal. Y yendo aún más lejos, entre las estrategias antiinflamatorias que cabría plantearse, estaría el bloqueo de receptores de la membrana de monocitos circulantes, que podría conseguir una reducción en la inflamación local de las paredes arteriales y por consiguiente un bloqueo en el avance de las placas ateroscleróticas. Las posibles implicaciones terapéuticas derivadas de nuestros resultados nos llevan a pensar que con el bloqueo de receptores presentes en la membrana de los monocitos circulantes se conseguiría una reducción en la inflamación local en las paredes arteriales y por consiguiente un bloqueo en el avance de las placas ateroscleróticas. Aún está por determinar la seguridad o qué consecuencias puede tener la inhibición de las respuestas innatas.⁴³

Otra pregunta sin respuesta que nos planteamos es el papel que presenta la inflamación con respecto al riesgo residual que tienen los pacientes con aterosclerosis en sus arterias y cómo la monitorización de la inflamación endotelial puede prevenir eventos tanto cardiovasculares como cerebrovasculares. El uso de fármacos antiinflamatorios no ha conseguido tener claros efectos beneficiosos en la prevención de eventos vasculares.^{206,210} Por lo tanto, son necesarios más estudios que ayuden:

1. A conocer los mecanismos implicados en la inflamación vascular y en el desarrollo de la aterosclerosis en su fase inicial especialmente en las arterias intracraneales
2. a determinar el uso de marcadores de imagen o bioquímicos que ayuden a monitorizar el estado inflamatorio vascular de las lesiones ateroscleróticas en pacientes con alto riesgo cardiovascular y
3. a encontrar dianas terapéuticas que consigan una disminución de la inflamación local de las placas sin producir alteración en la inmunidad innata o un mayor riesgo de infecciones.

De confirmarse nuestra hipótesis con futuros estudios, el realce post-contraste en HRMRI podría convertirse en un marcador de la actividad inflamatoria de las lesiones de aterosclerosis intracraneal, con capacidad para detectar y monitorizar el componente inflamatorio de las placas, así como la respuesta a distintos tratamientos antiinflamatorios.

5.4. Limitaciones

Ambos trabajos presentan limitaciones.

La primera de ellas es el número bajo de pacientes y sujetos incluidos en ambos estudios. Aun así, el reclutamiento de participantes en ambos estudios fue fiel al diseño de los estudios (Proyectos FIS: PI13/02544 y PI16/01396), y nuestros participantes fueron seleccionados de forma homogénea. Esta limitación en el primer estudio llevó a que el número de eventos cerebrovasculares fuese pequeño, lo que impidió incluir más variables predictoras de futuros ictus en los modelos multivariados, realizándose un análisis univariado para el subgrupo de

participantes con eventos cerebrovasculares isquémicos y para pacientes sintomáticos. En el segundo estudio, habría sido deseable un mayor número de participantes. Cabe destacar el gran impacto que tuvo la pandemia por la Covid-19 en el desarrollo de este estudio, influyendo negativamente en el reclutamiento de sujetos asintomáticos. Además, existen pacientes con aterosclerosis intracraneal sintomática que fueron tratados de forma aguda con terapias de reperfusión (procedimiento intravascular mecánico) impidiendo la participación en el estudio.

La segunda limitación es la falta de consenso o de protocolos estandarizados de resonancia magnética de alta resolución para estudiar las características morfológicas de las placas intracraneales. Creemos que las discrepancias entre los diferentes estudios se deben a la falta de estandarización en los protocolos HRMRI y la complejidad en la obtención de la imagen, tiempo en la administración de contraste y la forma de evaluar la imagen de la pared y placa intracraneal.

La cuantificación del realce post-contraste se realiza en algunos estudios mediante métodos cualitativos como el uso de una escala visual, mientras que en otros se realiza mediante métodos cuantitativos como la determinación manual del ROI, lo que genera gran variabilidad metodológica. Además, existen artefactos que impiden la visualización correcta del realce de las placas o pared arterial. Por ejemplo, se ha descrito la limitación que supone la propia captación del seno carotídeo en la visualización de las placas en arteria carótida. En nuestro caso hemos observado que las estenosis críticas de la arteria basilar generan artefactos de flujo que impiden la valoración correcta del realce. Actualmente se está trabajando en un nuevo método de valoración y cuantificación del realce post-contraste en 3D con mapas de realce que incluye toda la placa y arteria. Un método más preciso para el realce post-contraste permitirá identificar con más certeza qué placas están en situación de vulnerabilidad además de la respuesta al tratamiento preventivo primario y secundario.

La tercera limitación se centra en el uso de resonancia magnética de alta resolución, dado que se trata de un procedimiento diagnóstico con elevado coste

y no siempre está disponible en los centros y hospitales. Hay que mencionar también que la prueba no es apta para todos los sujetos, por ejemplo, es incompatible con ciertos materiales como los marcapasos u otros dispositivos y la claustrofobia que puede generar someterse a la prueba. En ocasiones, el movimiento del paciente durante la realización de la exploración genera artefactos y problemas en la visualización de las estructuras corporales que impiden obtener datos fiables.

La cuarta limitación es que, aunque la proporción de monocitos 3 CCR5 positivos y realce post-contraste de las placas y paredes arteriales sugieren actividad e inflamación en las placas, no conocemos la función de esta subpoblación monocitaria en el proceso aterosclerótico intracerebral.

CONCLUSIONES

6. Conclusiones:

1. El realce post-contraste en RM de la placa de aterosclerosis intracraneal predice el riesgo a largo plazo de futuros ictus en sujetos caucásicos con aterosclerosis intracraneal. El realce post-contraste se convierte en un buen candidato para la estratificación de riesgo de los pacientes con aterosclerosis intracraneal, aunque debe ser validado con series de pacientes más amplias y con estudios multicéntricos.
2. Una mayor proporción de monocitos con receptor CCR5 positivo se ha asociado con el realce post-contraste de placas y paredes arteriales intracraneales en pacientes con aterosclerosis intracraneal y sujetos con alto riesgo aterosclerótico. Nuestros datos sugieren que los monocitos con CCR5 positivos y el realce post-contraste son marcadores de actividad inflamatoria en las lesiones ateromatosas intracraneales. Se necesitan más estudios que aborden estas cuestiones y que desarrollen nuevos modelos experimentales. Además, el uso de imagen molecular para la visualización directa de la inflamación de placas y paredes arteriales intracraneales ayudará en la identificación de pacientes de alto riesgo, la monitorización de la enfermedad y la evaluación de la respuesta al tratamiento.

ANEXOS

7. Anexos

Artículo relacionado con la tesis doctoral:

Gómez-Vicente B, Hernández-Pérez M, Martínez-Velasco E, et al. Intracranial atherosclerotic plaque enhancement and long-term risk of future strokes: A prospective, longitudinal study [published online ahead of print, 2022 Dec 19]. *J Neuroimaging*. 2022;10.1111/jon.13077. doi:10.1111/jon.13077

Title: Intracranial atherosclerotic plaque enhancement and long-term risk of future strokes; a prospective, longitudinal study.

Beatriz Gómez-Vicente^{1,7}, María Hernández-Pérez^{2*}, Elena Martínez-Velasco¹, Margarita Rodríguez-Velasco³, Josep Munuera^{4,5}, Marta Rubiera⁶, Carla Vert⁶, Laura Dorado², Mercedes de Lera¹, Ana Isabel Calleja¹, Elisa Cortijo¹, Jesús Agulla^{7,8}, Elena López-Cancio^{9,10} Juan Francisco Arenillas^{1,7}.

Abstract

Background and Purpose: The prognostic significance of post-contrast enhancement of intracranial atheromatous plaque is uncertain. Prospective, long-term follow-up studies in Caucasians, using a multi-center design, are lacking. We aimed to evaluate whether this radiological sign predicts long-term new stroke in symptomatic and asymptomatic intracranial atherosclerotic disease (ICAD) patients.

Methods: Prospective, observational, longitudinal, multicenter study. We included a symptomatic and an asymptomatic cohort of ICAD patients that underwent 3T MRI including high resolution sequences focused on the atheromatous plaque. We evaluated grade of stenosis, plaque characteristics and gadolinium enhancement ratio (post-contrast plaque signal/post-contrast corpus callosum signal). The occurrence of new events was evaluated at 3, 6, 9, 12 months and annually thereafter. The association between plaque characteristics and new stroke was studied using Cox multiple regression survival analysis and Kaplan Meier curves.

Results: Forty-eight symptomatic and 13 asymptomatic patients were included. During 56.3 ± 16.9 months, eleven patients (18%) suffered a new event (seven ischemic, two hemorrhagic and two transient ischemic attacks). A receiver operating characteristic curve identified an enhancement ratio of >1.77 to predict

a new event. In a multivariable Cox regression, post-contrast enhancement ratio >1.77 [Hazard Ratio (HR), 3.632; 95% Confidence Interval (CI), 1.082-12.101] and cerebral microbleeds (HR, 5.244; 95% CI, 1.476-18.629) were independent predictors of future strokes. Patients with a plaque enhancement ratio >1.77 had a lower survival free of events ($p < 0.05$).

Conclusions: High intracranial post-contrast enhancement is a long-term predictor of new stroke in ICAD patients. Further studies are needed to elucidate whether post-contrast enhancement reflects inflammatory activity of intracranial atheromatous plaque.

BIBLIOGRAFÍA

8. Bibliografía

1. Matías-Guiu J. *Estrategia En Ictus Del Sistema Nacional de Salud. Sanidad 2009. Ministerio de Sanidad y Política Social.*; 2009. [Consultado 29 junio 2022].
<https://www.sanidad.gob.es/organizacion/sns/planCalidadSNS/docs/EstrategialctusSNS.pdf>
2. Díez E. *Guía para el diagnóstico y tratamiento del ictus. Sociedad Española de Neurología.* 2006. [Consultado 29 junio 2022].
https://www.sen.es/pdf/guias/Guia_oficial_para_el_diagnostico_y_tratamiento_del_ictus_2006.pdf
3. GBD 2019 Stroke Collaborators. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Neurol.* 2021;20(10):795-820. doi:10.1016/S1474-4422(21)00252-0
4. GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 [published correction appears in *Lancet.* 2020 Nov 14;396(10262):1562]. *Lancet.* 2020;396(10258):1204-1222. doi:10.1016/S0140-6736(20)30925-9
5. Ding Q, Liu S, Yao Y, Liu H, Cai T, Han L. Global, Regional, and National Burden of Ischemic Stroke, 1990-2019. *Neurology.* 2022;98(3):e279-e290. doi:10.1212/WNL.00000000000013115
6. Simal Hernández P, Guiu-Guía JM, Hernández Meléndez T, Aparicio Azcárraga P. Logros y retos en la atención del ictus en España: desde la estrategia del sistema nacional de salud al plan de acción europeo 2018-2030. *Rev Esp Salud Publica.* 2021.
7. Grupo de Estudio de Enfermedades Cerebrovasculares. Sociedad Española de Neurología. *El Atlas Del Ictus España.* Grupo de Estudio de Enfermedades Cerebrovasculares. Sociedad Española de Neurología.; 2019.
8. Stevens E, McKevitt C, Emmett E, Wolfe CDA, Wang Y. El impacto del

- ictus en Europa. ISBN 978-1-5272-0858-2. [consultado 1 julio 2022]. <https://ictusfederacion.es/wp-content/uploads/2018/11/Informe-completo-compressed.pdf>.
9. European Stroke Organisation; Stroke Alliance for Europe. An appeal is launched for Health Ministries across Europe to sign the Declaration for Action on the Stroke Action Plan for Europe to tackle one of the leading causes of death and disability. European Stroke Organisation.[Consultado 1 julio de 2022] <https://eso-stroke.org/declaration-for-action-on-stroke-launches-on-european-stroke-awareness-day/>.
 10. Norrving B, Barrick J, Davalos A, et al. Action Plan for Stroke in Europe 2018–2030. *Eur Stroke J.* 2018;3(4):309-336. doi:10.1177/2396987318808719
 11. Campbell BCV, De Silva DA, Macleod MR, et al. Ischaemic stroke. *Nat Rev Dis Primers.* 2019;5(1):70. doi:10.1038/s41572-019-0118-8
 12. Adams HP Jr, Bendixen BH, Kappelle LJ, 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(1):35-41. doi:10.1161/01.str.24.1.35
 13. Knight-Greenfield A, Nario JJQ, Gupta A. Causes of Acute Stroke: A Patterned Approach. *Radiol Clin North Am.* 2019;57(6):1093-1108. doi:10.1016/j.rcl.2019.07.007
 14. Del Saz-Saucedo P, Maestre-Moreno JF, Arenillas-Lara JF. Ateromatosis intracraneal [Intracranial atherosclerosis]. *Med Clin (Barc).* 2008;131(4):141-152. doi:10.1157/13124100
 15. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999;340(2):115-126. doi:10.1056/NEJM199901143400207
 16. Kotlyarov S. Diversity of Lipid Function in Atherogenesis: A Focus on Endothelial Mechanobiology. *Int J Mol Sci.* 2021;22(21):11545. doi:10.3390/ijms222111545
 17. Libby P, Buring JE, Badimon L, et al. Atherosclerosis. *Nat Rev Dis Prim.* 2019;5(1):1-18. doi:10.1038/s41572-019-0106-z
 18. Robbins CS, Hilgendorf I, Weber GF, et al. Local proliferation dominates lesional macrophage accumulation in atherosclerosis. *Nat Med.*

- 2013;19(9):1166-1172. doi:10.1038/nm.325819.
19. Li J, Li K, Chen X. Inflammation-regulatory microRNAs: Valuable targets for intracranial atherosclerosis. *J Neurosci Res*. 2019;97(10):1242-1252. doi:10.1002/jnr.24487
 20. Kelly PJ, Murphy S, Coveney S, et al. Anti-inflammatory approaches to ischaemic stroke prevention. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2018;89(2):211-218. doi:10.1136/jnnp-2016-314817
 21. Lopez-Cancio E. Aterosclerosis intracraneal asintomatica: Prevalencia, factores clínicos y biomarcadores asociados. 2012. [consultado 12 julio 2022]. <http://hdl.handle.net/10803/96420>
 22. Lehoux S. Redox signalling in vascular responses to shear and stretch. *Cardiovasc Res*. 2006;71(2):269-279. doi:10.1016/j.cardiores.2006.05.008
 23. Jebari-Benslaiman S, Galicia-García U, Larrea-Sebal A, et al. Pathophysiology of Atherosclerosis. *Int J Mol Sci*. 2022;23(6):1-38. doi:10.3390/ijms23063346
 24. Tabas I. 2016 Russell Ross Memorial Lecture in Vascular Biology: Molecular-Cellular Mechanisms in the Progression of Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2017;37(2):183-189. doi:10.1161/ATVBAHA.116.308036
 25. Marcos M. Análisis de subpoblaciones monocitarias y su asociación con el riesgo cardiovascular. Hallazgo de nuevos biomarcadores séricos: SDF1 Y MMP-12. 2021. https://dadun.unav.edu/bitstream/10171/62654/1/Tesis_Marcos.pdf
 26. Weber C, Shantsila E, Hristov M, et al. Role and analysis of monocyte subsets in cardiovascular disease. Joint consensus document of the European Society of Cardiology (ESC) Working Groups "Atherosclerosis & Vascular Biology" and "Thrombosis". *Thromb Haemost*. 2016;116(4):626-637. doi:10.1160/TH16-02-0091
 27. Galkina E, Ley K. Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis (*). *Annu Rev Immunol*. 2009;27:165-197. doi:10.1146/annurev.immunol.021908.132620
 28. Sbrana S, Campolo J, Clemente A, et al. Blood Monocyte Phenotype Fingerprint of Stable Coronary Artery Disease: A Cross-Sectional

- Substudy of SMARTool Clinical Trial. *Biomed Res Int*. 2020;2020:8748934. doi:10.1155/2020/8748934
29. Woollard KJ, Geissmann F. Monocytes in atherosclerosis: subsets and functions. *Nat Rev Cardiol*. 2010;7(2):77-86. doi:10.1038/nrcardio.2009.228
 30. Hilgendorf I, Swirski FK, Robbins CS. Monocyte fate in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015;35(2):272-279. doi:10.1161/ATVBAHA.114.303565
 31. Netea MG, Joosten LAB, Latz E, et al. Trained immunity: A program of innate immune memory in health and disease. *Science*. 2016;352(6284):aaf1098. doi:10.1126/science.aaf1098
 32. Riksen NP. Trained immunity and atherosclerotic cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol*. 2019;30(5):395-400. doi:10.1097/MOL.0000000000000628
 33. Bekkering S, van den Munckhof I, Nielen T, et al. Innate immune cell activation and epigenetic remodeling in symptomatic and asymptomatic atherosclerosis in humans in vivo. *Atherosclerosis*. 2016;254:228-236. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2016.10.019
 34. Swirski FK, Pittet MJ, Kircher MF, et al. Monocyte accumulation in mouse atherogenesis is progressive and proportional to extent of disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(27):10340-10345. doi:10.1073/pnas.0604260103
 35. Noels H, Weber C, Koenen RR. Chemokines as therapeutic targets in cardiovascular disease the road behind, the road ahead. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2019;39(4):583-592. doi:10.1161/ATVBAHA.118.312037
 36. Gerhardt T, Ley K. Monocyte trafficking across the vessel wall. *Cardiovasc Res*. 2015;107(3):321-330. doi:10.1093/cvr/cvv147
 37. Kalluri AS, Vellarikkal SK, Edelman ER, et al. Single-Cell Analysis of the Normal Mouse Aorta Reveals Functionally Distinct Endothelial Cell Populations. *Circulation*. 2019;140(2):147-163. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.118.038362
 38. Hamers AAJ, Dinh HQ, Thomas GD, et al. Human Monocyte Heterogeneity as Revealed by High-Dimensional Mass Cytometry.

- Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2019;39(1):25-36.
doi:10.1161/ATVBAHA.118.311022
39. Amengual J, Barrett TJ. Monocytes and macrophages in atherogenesis. *Curr Opin Lipidol.* 2019;30(5):401-408.
doi:10.1097/MOL.0000000000000634
40. Jones KL, Maguire JJ, Davenport AP. Chemokine receptor CCR5: From AIDS to atherosclerosis. *Br J Pharmacol.* 2011;162(7):1453-1469.
doi:10.1111/j.1476-5381.2010.01147.x
41. Combadière C, Potteaux S, Rodero M, et al. Combined inhibition of CCL2, CX3CR1, and CCR5 abrogates Ly6Chi and Ly6Clo monocytes and almost abolishes atherosclerosis in hypercholesterolemic mice. *Circulation.* 2008;117(13):1649-1657.
doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.745091
42. Karshovska E, Schober A. Mechanisms of arterial remodeling and neointima formation: an updated view on the chemokine system. *Drug Discov Today Dis Mech.* 2008;5(3-4):293-298.
doi:10.1016/j.ddmec.2008.10.003
43. Gautier EL, Jakubzick C, Randolph GJ. Regulation of the migration and survival of monocyte subsets by chemokine receptors and its relevance to atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29(10):1412-1418. doi:10.1161/ATVBAHA.108.180505
44. Francisci D, Pirro M, Schiaroli E, et al. Maraviroc intensification modulates atherosclerotic progression in HIV-suppressed patients at high cardiovascular risk. A randomized, crossover pilot study. *Open Forum Infect Dis.* 2019;6(4):1-7. doi:10.1093/ofid/ofz112
45. Tacke F, Alvarez D, Kaplan TJ, et al. Monocyte subsets differentially employ CCR2, CCR5, and CX3CR1 to accumulate within atherosclerotic plaques. *J Clin Invest.* 2007;117(1):185-194. doi:10.1172/JCI28549
46. Koenen RR, Weber C. Therapeutic targeting of chemokine interactions in atherosclerosis. *Nat Rev Drug Discov.* 2010;9(2):141-153.
doi:10.1038/nrd3048
47. Bursill CA, Castro ML, Beattie DT, et al. High-density lipoproteins suppress chemokines and chemokine receptors in vitro and in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30(9):1773-1778.

- doi:10.1161/ATVBAHA.110.211342
48. Ritz K, Denswil NP, Stam OCG, Van Lieshout JJ, Daemen MJAP. Cause and mechanisms of intracranial atherosclerosis. *Circulation*. 2014;130(16):1407-1414. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.114.011147
 49. Rincon F, Sacco RL, Kranwinkel G, et al. Incidence and risk factors of intracranial atherosclerotic stroke: The northern manhattan stroke study. *Cerebrovasc Dis*. 2009;28(1):65-71. doi:10.1159/000219299
 50. Hurford R, Wolters FJ, Li L, Lau KK, Küker W, Rothwell PM. Prevalence, predictors, and prognosis of symptomatic intracranial stenosis in patients with transient ischaemic attack or minor stroke: a population-based cohort study. *Lancet Neurol*. 2020;19(5):413-421. doi:10.1016/S1474-4422(20)30079-X
 51. Mazighi M, Labreuche J, Gongora-Rivera F, Duyckaerts C, Hauw JJ, Amarenco P. Autopsy prevalence of intracranial atherosclerosis in patients with fatal stroke. *Stroke*. 2008;39(4):1142-1147. doi:10.1161/STROKEAHA.107.496513
 52. Nakamura M, Imaizumi K, Shigemi U, Nakashima Y, Kikuchi Y, Tanaka K. Cerebral atherosclerosis in japanese: Part 5: Relationship between cholesterol deposition and glycosaminoglycans. *Stroke*. 1976;7(6):594-598. doi:10.1161/01.STR.7.6.594
 53. Leung SY, Ng THK, Yuen ST, Lauder IJ, Ho FCS. Pattern of cerebral atherosclerosis in hong kong chinese severity in intracranial and extracranial vessels. *Stroke*. 1993;24(6):779-786. doi:10.1161/01.STR.24.6.779
 54. Weber G. Delayed Experimental Atherosclerotic Involvement of Cerebral Arteries in Monkeys and Rabbits (Light, Sem and Tem Observations). *Pathol Res Pract*. 1985;180(4):353-355. doi:10.1016/S0344-0338(85)80105-9
 55. Ma YH, Leng XY, Dong Y, et al. Risk factors for intracranial atherosclerosis: A systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis*. 2019;281:71-77. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2018.12.015
 56. Chimowitz MI, Lynn MJ, Derdeyn CP, et al. Stenting versus aggressive medical therapy for intracranial arterial stenosis [published correction

- appears in N Engl J Med. 2012 Jul 5;367(1):93]. N Engl J Med. 2011;365(11):993-1003. doi:10.1056/NEJMoa1105335
57. Planas-Ballvé A, Crespo AM, Aguilar LM, et al. The Barcelona-Asymptomatic Intracranial Atherosclerosis study: Subclinical intracranial atherosclerosis as predictor of long-term vascular events. *Atherosclerosis*. 2019;282(January):132-136. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2019.01.022
 58. Holmstedt CA, Turan TN, Chimowitz MI. Atherosclerotic intracranial arterial stenosis: risk factors, diagnosis, and treatment. *Lancet Neurol*. 2013;12(11):1106-1114. doi:10.1016/S1474-4422(13)70195-9
 59. Lee DK, Kim JS, Kwon SU, Yoo SH, Kang DW. Lesion patterns and stroke mechanism in atherosclerotic middle cerebral artery disease: Early diffusion-weighted imaging study. *Stroke*. 2005;36(12):2583-2588. doi:10.1161/01.STR.0000189999.19948.14
 60. Bodle JD, Feldmann E, Swartz RH, Rumboldt Z, Brown T, Turan TN. High-resolution magnetic resonance imaging: An emerging tool for evaluating intracranial arterial disease. *Stroke*. 2013;44(1):287-292. doi:10.1161/STROKEAHA.112.664680
 61. López-Cancio E, Matheus MG, Romano JG, et al. Infarct patterns, collaterals and likely causative mechanisms of stroke in symptomatic intracranial atherosclerosis. *Cerebrovasc Dis*. 2014;37(6):417-422. doi:10.1159/000362922
 62. Baradaran H, Kamel H, Gupta A. The role of cross-sectional imaging of the extracranial and intracranial vasculature in embolic stroke of undetermined source. *Front Neurol*. 2022;13:982896. doi:10.3389/fneur.2022.982896
 63. Ministerio de Sanidad C y BS. Plan Integral de Alzheimer y otras Demencias (2019-2023). Sanid 2019. 2019:13-91.
 64. Gupta A, Iadecola C. Impaired A β clearance: A potential link between atherosclerosis and Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci*. 2015;7(MAY):1-8. doi:10.3389/fnagi.2015.00115
 65. Roher AE, Esh C, Kokjohn TA, et al. Circle of Willis Atherosclerosis Is a Risk Factor for Sporadic Alzheimer's Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(11):2055-2062.

- doi:10.1161/01.ATV.0000095973.42032.44
66. Crespo-Cuevas AM, Canento T, Hernández-Perez M, et al. The Barcelona-Asymptomatic Intracranial Atherosclerosis (AsIA) study: Subclinical cervico-cerebral stenosis and middle cerebral artery pulsatility index as predictors of long-term incident cognitive impairment. *Atherosclerosis*. 2020;312:104-109.
doi:10.1016/j.atherosclerosis.2020.08.025
 67. Iadecola C. The overlap between neurodegenerative and vascular factors in the pathogenesis of dementia. *Acta Neuropathol*. 2010;120(3):287-296. doi:10.1007/s00401-010-0718-6
 68. Bos D, Vernooij MW, De Bruijn RFAG, et al. Atherosclerotic calcification is related to a higher risk of dementia and cognitive decline. *Alzheimer's Dement*. 2015;11(6):639-647.e1. doi:10.1016/j.jalz.2014.05.1758
 69. Barnes DE, Yaffe K. The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence. *Lancet Neurol*. 2011;10(9):819-828.
doi:10.1016/S1474-4422(11)70072-2
 70. Arenillas JF, López-Cancio E, Wong KS. Biomarkers, Natural Course and Prognosis. *Front Neurol Neurosci*. 2016;40:93-108.
doi:10.1159/000448304
 71. Mazighi M, Tanasescu R, Ducrocq X, et al. Prospective study of symptomatic atherothrombotic intracranial stenoses: the GESICA study. *Neurology*. 2006;66(8):1187-1191.
doi:10.1212/01.wnl.0000208404.94585.b2
 72. Chimowitz MI, Lynn MJ, Howlett-Smith H, et al. Comparison of Warfarin and Aspirin for Symptomatic Intracranial Arterial Stenosis. *N Engl J Med*. 2005;352(13):1305-1316. doi:10.1056/nejmoa043033
 73. Chaturvedi S, Turan TN, Lynn MJ, et al. Risk factor status and vascular events in patients with symptomatic intracranial stenosis. *Neurology*. 2007;69(22):2063-2068. doi:10.1212/01.wnl.0000279338.18776.26
 74. Chaturvedi S, Turan TN, Lynn MJ, et al. Do Patient Characteristics Explain the Differences in Outcome Between Medically Treated Patients in SAMMPRIS and WASID? *Stroke*. 2015;46(9):2562-2567.
doi:10.1161/STROKEAHA.115.009656
 75. Romano JG, Prabhakaran S, Nizam A, et al. Infarct Recurrence in

- Intracranial Atherosclerosis: Results from the MyRIAD Study. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2021;30(2):105504.
doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.105504
76. Kolmos M, Christoffersen L, Kruuse C. Recurrent Ischemic Stroke - A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2021;30(8):105935. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2021.105935
 77. Gutierrez J, Turan TN, Hoh BL, Chimowitz MI. Intracranial atherosclerotic stenosis: risk factors, diagnosis, and treatment [published correction appears in *Lancet Neurol.* 2022 Feb 16;:]. *Lancet Neurol.* 2022;21(4):355-368. doi:10.1016/S1474-4422(21)00376-8
 78. White H, Boden-Albala B, Wang C, et al. Ischemic stroke subtype incidence among whites, blacks, and Hispanics: The northern Manhattan study. *Circulation.* 2005;111(10):1327-1331.
doi:10.1161/01.CIR.0000157736.19739.D0
 79. Wityk RJ, Lehman D, Klag M, Coresh J, Ahn H, Litt B. Race and sex differences in the distribution of cerebral atherosclerosis. *Stroke.* 1996;27(11):1974-1980. doi:10.1161/01.str.27.11.1974
 80. Liu M, Gutierrez J. Genetic Risk Factors of Intracranial Atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep.* 2020;22(4):13.
doi:10.1007/s11883-020-0831-5
 81. Dichgans M, Pulit SL, Rosand J. Stroke genetics: discovery, biology, and clinical applications. *Lancet Neurol.* 2019;18(6):587-599.
doi:10.1016/S1474-4422(19)30043-2
 82. Arenillas JF. Intracranial atherosclerosis: Current concepts. *Stroke.* 2011;42(SUPPL. 1):20-23. doi:10.1161/STROKEAHA.110.597278
 83. Bae HJ, Lee J, Park JM, et al. Risk factors of intracranial cerebral atherosclerosis among asymptomatics. *Cerebrovasc Dis.* 2007;24(4):355-360. doi:10.1159/000106982
 84. Waters MF, Hoh BL, Lynn MJ, et al. Factors Associated With Recurrent Ischemic Stroke in the Medical Group of the SAMMPRIS Trial [published correction appears in *JAMA Neurol.* 2016 Apr;73(4):481]. *JAMA Neurol.* 2016;73(3):308-315. doi:10.1001/jamaneurol.2015.4315
 85. Banerjee C, Chimowitz MI. Stroke Caused by Atherosclerosis of the Major Intracranial Arteries. *Circ Res.* 2017;120(3):502-513.

- doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.308441
86. Kim DE, Kim JY, Jeong SW, et al. Association between changes in lipid profiles and progression of symptomatic intracranial atherosclerotic stenosis: a prospective multicenter study [published correction appears in *Stroke*. 2013 Nov;44(11):158]. *Stroke*. 2012;43(7):1824-1830. doi:10.1161/STROKEAHA.112.653659
 87. Ovbiagele B, Saver JL, Lynn MJ, Chimowitz M. Impact of metabolic syndrome on prognosis of symptomatic intracranial atherosclerosis. *Neurology*. 2006;66(9):1344-1349. doi:10.1212/01.wnl.0000210530.46058.5c
 88. Mi D, Zhang L, Wang C, et al. Impact of Metabolic Syndrome on the Prognosis of Ischemic Stroke Secondary to Symptomatic Intracranial Atherosclerosis in Chinese Patients. *PLoS One*. 2012;7(12):1-6. doi:10.1371/journal.pone.0051421
 89. Wong KS, Li H. Long-term mortality and recurrent stroke risk among Chinese stroke patients with predominant intracranial atherosclerosis. *Stroke*. 2003;34(10):2361-2366. doi:10.1161/01.STR.0000089017.90037.7A
 90. Sun P, Liu L, Pan Y, et al. Intracranial atherosclerosis burden and stroke recurrence for symptomatic intracranial artery stenosis (SICAS). *Aging Dis*. 2018;9(6):1096-1102. doi:10.14336/AD.2018.0301
 91. Wang Y, Zhao X, Liu L, et al. Prevalence and outcomes of symptomatic intracranial large artery stenoses and occlusions in China: The Chinese intracranial atherosclerosis (CICAS) study. *Stroke*. 2014;45(3):663-669. doi:10.1161/STROKEAHA.113.003508
 92. Mizukami H, Shimizu T, Maki F, Shiraishi M, Hasegawa Y. Progression of intracranial major artery stenosis is associated with baseline carotid and intracranial atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb*. 2015;22(2):183-190. doi:10.5551/jat.26054
 93. Kassab MY, Gupta R, Majid A, et al. Extent of intra-arterial calcification on head CT is predictive of the degree of intracranial atherosclerosis on digital subtraction angiography. *Cerebrovasc Dis*. 2009;28(1):45-48. doi:10.1159/000219296
 94. Kim JM, Park KY, Bae JH, Han SH, Jeong HB, Jeong D. Intracranial

- arterial calcifications can reflect cerebral atherosclerosis burden. *J Clin Neurol*. 2019;15(1):38-45. doi:10.3988/jcn.2019.15.1.38
95. Yang WJ, Wasserman BA, Zheng L, et al. Understanding the Clinical Implications of Intracranial Arterial Calcification Using Brain CT and Vessel Wall Imaging. *Front Neurol*. 2021;12:619233. doi:10.3389/fneur.2021.619233
 96. Bartstra JW, van den Beukel TC, Van Hecke W, et al. Intracranial Arterial Calcification: Prevalence, Risk Factors, and Consequences: JACC Review Topic of the Week. *J Am Coll Cardiol*. 2020;76(13):1595-1604. doi:10.1016/j.jacc.2020.07.056
 97. Zwartbol MHT, van der Kolk AG, Kuijf HJ, et al. Intracranial vessel wall lesions on 7T MRI and MRI features of cerebral small vessel disease: The SMART-MR study. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2021;41(6):1219-1228. doi:10.1177/0271678X20958517
 98. Fu JH, Chen YK, Chen XY, Mok V, Wong KS. Coexisting small vessel disease predicts poor long-term outcome in stroke patients with intracranial large artery atherosclerosis. *Cerebrovasc Dis*. 2010;30(5):433-439. doi:10.1159/000319574
 99. Kwon HM, Lynn MJ, Turan TN, et al. Frequency, Risk Factors, and Outcome of Coexistent Small Vessel Disease and Intracranial Arterial Stenosis: Results From the Stenting and Aggressive Medical Management for Preventing Recurrent Stroke in Intracranial Stenosis (SAMMPRIS) Trial. *JAMA Neurol*. 2016;73(1):36-42. doi:10.1001/jamaneurol.2015.3145
 100. Liu H, Pu Y, Wang Y, et al. Intracranial Atherosclerosis Coexisting With White Matter Hyperintensities May Predict Unfavorable Functional Outcome in Patients With Acute Cerebral Ischemia. *Front Neurol*. 2020;11(December):1-8. doi:10.3389/fneur.2020.609607
 101. Xu Y, Yuan C, Zhou Z, et al. Co-existing intracranial and extracranial carotid artery atherosclerotic plaques and recurrent stroke risk: A three-dimensional multicontrast cardiovascular magnetic resonance study. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2016;18(1):1-8. doi:10.1186/s12968-016-0309-3
 102. Prabhakaran S, Liebeskind DS, Cotsonis G, et al. Predictors of Early

- Infarct Recurrence in Patients With Symptomatic Intracranial Atherosclerotic Disease. *Stroke*. 2021;52(6):1961-1966. doi:10.1161/STROKEAHA.120.032676
103. Wabnitz AM, Derdeyn CP, Fiorella DJ, et al. Hemodynamic Markers in the Anterior Circulation as Predictors of Recurrent Stroke in Patients With Intracranial Stenosis [published online ahead of print, 2018 Dec 11]. *Stroke*. 2018;STROKEAHA118020840. doi:10.1161/STROKEAHA.118.020840
104. Lau AYL, Wong EHC, Wong A, Mok VCT, Leung TW, Wong KSL. Significance of good collateral compensation in symptomatic intracranial atherosclerosis. *Cerebrovasc Dis*. 2012;33(6):517-524. doi:10.1159/000337332
105. de Havenon A, Khatri P, Prabhakaran S, et al. Hypoperfusion Distal to Anterior Circulation Intracranial Atherosclerosis is Associated with Recurrent Stroke. *J neuroimaging Off J Am Soc Neuroimaging*. 2020;30(4):468-470. doi:10.1111/jon.12710
106. Fu R, Wang Y, Wang Y, et al. The Development of Cortical Microinfarcts Is Associated with Intracranial Atherosclerosis: Data from the Chinese Intracranial Atherosclerosis Study. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2015;24(11):2447-2454. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.03.011
107. Yang WJ, Wong KS, Chen XY. Intracranial atherosclerosis: From microscopy to high-resolution magnetic resonance imaging. *J Stroke*. 2017;19(3):249-262. doi:10.5853/jos.2016.01956
108. Resch JA, Baker AB. Etiologic Mechanisms in Cerebral Atherosclerosis: Preliminary Study of 3,839 Cases. *Arch Neurol*. 1964;10(6):617-628. doi:10.1001/archneur.1964.00460180083008
109. Lascelles RG, Burrows EH. Occlusion of the middle cerebral artery. *Brain*. 1965;88:85-96. doi:10.1093/brain/88.1.85
110. Silverstein A, Hollin S. Internal carotid vs middle cerebral artery occlusions; Clinical differences. *Arch Neurol*. 1965;12:468-471. doi:10.1001/archneur.1965.00460290024004
111. Leung TW, Wang L, Zou X, et al. Plaque morphology in acute symptomatic intracranial atherosclerotic disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2021;92(4):370-376. doi:10.1136/jnnp-2020-325027

112. Hennerici MG. The unstable plaque. *Cerebrovasc Dis*. 2004;17 Suppl 3:17-22. doi:10.1159/000075300
113. Ran Y, Wang Y, Zhu M, et al. Higher Plaque Burden of Middle Cerebral Artery Is Associated with Recurrent Ischemic Stroke: A Quantitative Magnetic Resonance Imaging Study. *Stroke*. 2020;(2006):659-662. doi:10.1161/STROKEAHA.119.028405
114. Kim JM, Jung KH, Sohn CH, et al. Intracranial plaque enhancement from high resolution vessel wall magnetic resonance imaging predicts stroke recurrence. *Int J Stroke*. 2016;11(2):171-179. doi:10.1177/1747493015609775
115. Dieleman N, Van Der Kolk AG, Zwanenburg JJM, et al. Imaging intracranial vessel wall pathology with magnetic resonance imaging current prospects and future directions. *Circulation*. 2014;130(2):192-201. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.113.006919
116. Mandell DM, Shroff M. On MR imaging of the intracranial vessel wall. *Can J Neurol Sci Le J Can des Sci Neurol*. 2011;38(1):4-5. doi:10.1017/s0317167100011021
117. Yang B, Feng YY, Ma Y, et al. Optical Coherence Tomography in Cerebrovascular Disease: Open up New Horizons. *Front Neurol*. 2021;12(June):1-8. doi:10.3389/fneur.2021.678443
118. Yang B, Feng Y, Ma Y, et al. Frequency-Domain Optical Coherence Tomography for Intracranial Atherosclerotic Stenosis: Feasibility, Safety, and Preliminary Experience. *Front Neurol*. 2021;12:678443. doi:10.3389/fneur.2021.678443
119. jiaoliquan,Xuanwu Hospital B. Optical Coherence Tomography for Intracranial Atherosclerotic Stenosis (OCT-ICAS). *clinical trials gov*.
120. Majidi S, Sein J, Watanabe M, et al. Intracranial-derived atherosclerosis assessment: an in vitro comparison between virtual histology by intravascular ultrasonography, 7T MRI, and histopathologic findings. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2013;34(12):2259-2264. doi:10.3174/ajnr.A3631
121. Jung SC, Kang DW, Turan TN. Vessel and Vessel Wall Imaging. *Front Neurol Neurosci*. 2016;40:109-123. doi:10.1159/000448308
122. Wu F, Yu H, Yang Q. Imaging of intracranial atherosclerotic plaques

- using 3.0 T and 7.0 T magnetic resonance imaging—current trends and future perspectives. *Cardiovasc Diagn Ther.* 2020;10(4):994-1004. doi:10.21037/cdt.2020.02.03
123. Akgun V, Battal B, Bozkurt Y, et al. Normal anatomical features and variations of the vertebrobasilar circulation and its branches: An analysis with 64-detector row CT and 3T MR angiographies. *Sci World J.* 2013;2013:1-7. doi:10.1155/2013/620162
 124. Bang OY. Intracranial atherosclerosis: current understanding and perspectives. *J Stroke.* 2014;16(1):27-35. doi:10.5853/jos.2014.16.1.27
 125. Gupta A, Baradaran H, Al-Dasuqi K, et al. Gadolinium Enhancement in Intracranial Atherosclerotic Plaque and Ischemic Stroke: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Heart Assoc.* 2016;5(8). doi:10.1161/JAHA.116.003816
 126. Little WC, Constantinescu M, Applegate RJ, et al. Can coronary angiography predict the site of a subsequent myocardial infarction in patients with mild-to-moderate coronary artery disease?. *Circulation.* 1988;78(5 Pt 1):1157-1166. doi:10.1161/01.cir.78.5.1157
 127. Underhill HR, Hatsukami TS, Fayad ZA, Fuster V, Yuan C. MRI of carotid atherosclerosis: Clinical implications and future directions. *Nat Rev Cardiol.* 2010;7(3):165-173. doi:10.1038/nrcardio.2009.246
 128. Klein IF, Labreuche J, Lavallée PC, et al. Is moderate atherosclerotic stenosis in the middle cerebral artery a cause of or a coincidental finding in ischemic stroke?. *Cerebrovasc Dis.* 2010;29(2):140-145. doi:10.1159/000262310
 129. Wang Y, Liu X, Wu X, Degnan AJ, Malhotra A, Zhu C. Culprit intracranial plaque without substantial stenosis in acute ischemic stroke on vessel wall MRI: A systematic review. *Atherosclerosis.* 2019;287:112-121. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2019.06.907
 130. Rodriguez-Granillo GA, Serruys PW, Garcia-Garcia HM, et al. Coronary artery remodelling is related to plaque composition. *Heart.* 2006;92(3):388-391. doi:10.1136/hrt.2004.057810
 131. Birnbaum Y, Fishbein MC, Luo H, Nishioka T, Siegel RJ. Regional remodeling of atherosclerotic arteries: a major determinant of clinical manifestations of disease. *J Am Coll Cardiol.* 1997;30(5):1149-1164.

- doi:10.1016/s0735-1097(97)00320-3
132. Astor BC, Sharrett AR, Coresh J, Chambless LE, Wasserman BA. Remodeling of carotid arteries detected with MR imaging: Atherosclerosis risk in communities carotid MRI study. *Radiology*. 2010;256(3):879-886. doi:10.1148/radiol.10091162
 133. Babiarz LS, Astor B, Mohamed MA, Wasserman BA. Comparison of gadolinium-enhanced cardiovascular magnetic resonance angiography with high-resolution black blood cardiovascular magnetic resonance for assessing carotid artery stenosis. *J Cardiovasc Magn Reson Off J Soc Cardiovasc Magn Reson*. 2007;9(1):63-70. doi:10.1080/10976640600843462
 134. Shi MC, Wang SC, Zhou HW, et al. Compensatory remodeling in symptomatic middle cerebral artery atherosclerotic stenosis: A high-resolution MRI and microemboli monitoring study. *Neurol Res*. 2012;34(2):153-158. doi:10.1179/1743132811Y.0000000065
 135. Chung GH, Kwak HS, Hwang SB, Jin GY. High resolution MR imaging in patients with symptomatic middle cerebral artery stenosis. *Eur J Radiol*. 2012;81(12):4069-4074. doi:10.1016/j.ejrad.2012.07.001
 136. Zhao DL, Deng G, Xie B, et al. High-resolution MRI of the vessel wall in patients with symptomatic atherosclerotic stenosis of the middle cerebral artery. *J Clin Neurosci*. 2015;22(4):700-704. doi:10.1016/j.jocn.2014.10.018
 137. Lin GH, Song JX, Fu NX, Huang X, Lu HX. Quantitative and Qualitative Analysis of Atherosclerotic Stenosis in the Middle Cerebral Artery Using High-Resolution Magnetic Resonance Imaging. *Can Assoc Radiol J*. 2021;72(4):783-788. doi:10.1177/0846537120961312
 138. Zhao J ji, Lu Y, Cui J yi, Ma L qing, Zhang R ping, Xu Z. Characteristics of symptomatic plaque on high-resolution magnetic resonance imaging and its relationship with the occurrence and recurrence of ischemic stroke. *Neurol Sci*. 2021;42(9):3605-3613. doi:10.1007/s10072-021-05457-y
 139. Gupta A, Baradaran H, Schweitzer AD, et al. Carotid plaque MRI and stroke risk: a systematic review and meta-analysis. *Stroke*. 2013;44(11):3071-3077. doi:10.1161/STROKEAHA.113.002551

140. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, et al. Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture: angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(10):2054-2061. doi:10.1161/01.ATV.0000178991.71605.18
141. Ota H, Yu W, Underhill HR, et al. Hemorrhage and large lipid-rich necrotic cores are independently associated with thin or ruptured fibrous caps: an in vivo 3T MRI study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009;29(10):1696-1701. doi:10.1161/ATVBAHA.109.192179
142. Altaf N, MacSweeney ST, Gladman J, Auer DP. Carotid intraplaque hemorrhage predicts recurrent symptoms in patients with high-grade carotid stenosis. *Stroke*. 2007;38(5):1633-1635. doi:10.1161/STROKEAHA.106.473066
143. Kockx MM, Cromheeke KM, Knaapen MWM, et al. Phagocytosis and macrophage activation associated with hemorrhagic microvessels in human atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(3):440-446. doi:10.1161/01.ATV.0000057807.28754.7F
144. Song JW, Pavlou A, Xiao J, Kasner SE, Fan Z, Messé SR. Vessel Wall Magnetic Resonance Imaging Biomarkers of Symptomatic Intracranial Atherosclerosis: A Meta-Analysis. *Stroke*. 2021:193-202. doi:10.1161/STROKEAHA.120.031480
145. Sun B, Wang L, Li X, et al. Intracranial Atherosclerotic Plaque Characteristics and Burden Associated With Recurrent Acute Stroke: A 3D Quantitative Vessel Wall MRI Study. *Front Aging Neurosci*. 2021;13:1-13. doi:10.3389/fnagi.2021.706544
146. Dilba K, van Dam-Nolen DHK, van Dijk AC, et al. Plaque composition as a predictor of plaque ulceration in carotid artery atherosclerosis: The plaque at RISK study. *Am J Neuroradiol*. 2021;42(1):144-151. doi:10.3174/ajnr.A6868
147. Wu F, Song H, Ma Q, et al. Hyperintense plaque on intracranial vessel wall magnetic resonance imaging as a predictor of artery-to-artery embolic infarction. *Stroke*. 2018;49(4):905-911. doi:10.1161/STROKEAHA.117.020046
148. Guo R, Zhang X, Zhu X, Liu Z, Xie S. Morphologic characteristics of severe basilar artery atherosclerotic stenosis on 3D high-resolution MRI.

- BMC Neurol.* 2018;18(1):1-9. doi:10.1186/s12883-018-1214-1
149. Dieleman N, Yang W, Abrigo JM, et al. Magnetic resonance imaging of plaque morphology, burden, and distribution in patients with symptomatic middle cerebral artery stenosis. *Stroke.* 2016;47(7):1797-1802. doi:10.1161/STROKEAHA.116.013007
 150. Vergouwen MDI, Silver FL, Mandell DM, Mikulis DJ, Swartz RH. Eccentric narrowing and enhancement of symptomatic middle cerebral artery stenoses in patients with recent ischemic stroke. *Arch Neurol.* 2011;68(3):338-342. doi:10.1001/archneurol.2011.20
 151. Jiang S, Yan Y, Yang T, et al. Plaque Distribution Correlates with Morphology of Lenticulostriate Arteries in Single Subcortical Infarctions. *Stroke.* 2020;(September):2801-2809. doi:10.1161/STROKEAHA.120.030215
 152. Xu WH, Li ML, Niu JW, Feng F, Jin ZY, Gao S. Intracranial Artery Atherosclerosis and Lumen Dilation in Cerebral Small-Vessel Diseases: A High-resolution MRI Study. *CNS Neurosci Ther.* 2014;20(4):364-367. doi:10.1111/cns.12224
 153. Teng Z, Peng W, Zhan Q, et al. An assessment on the incremental value of high-resolution magnetic resonance imaging to identify culprit plaques in atherosclerotic disease of the middle cerebral artery. *Eur Radiol.* 2016;26(7):2206-2214. doi:10.1007/s00330-015-4008-5
 154. Shi Z, Li J, Zhao M, et al. Progression of Plaque Burden of Intracranial Atherosclerotic Plaque Predicts Recurrent Stroke/Transient Ischemic Attack: A Pilot Follow-Up Study Using Higher-Resolution MRI. *J Magn Reson Imaging.* 2021;54(2):560-570. doi:10.1002/jmri.27561
 155. Yuan C, Kerwin WS, Ferguson MS, et al. Contrast-enhanced high resolution MRI for atherosclerotic carotid artery tissue characterization. *J Magn Reson Imaging.* 2002;15(1):62-67. doi:10.1002/jmri.10030
 156. Millon A, Bousset L, Brevet M, et al. Clinical and histological significance of gadolinium enhancement in carotid atherosclerotic plaque. *Stroke.* 2012;43(11):3023-3028. doi:10.1161/STROKEAHA.112.662692
 157. de Havenon A, Chung L, Park M, Mossa-Basha M. Intracranial vessel wall MRI: a review of current indications and future applications. *Neurovasc Imaging* 2, 10 (2016). doi:10.1186/s40809-016-

0021-6

158. Mandell DM, Mossa-Basha M, Qiao Y, et al. Intracranial vessel wall MRI: Principles and expert consensus recommendations of the American society of neuroradiology. *Am J Neuroradiol.* 2017;38(2):218-229. doi:10.3174/ajnr.A4893
159. McCarthy MJ, Loftus IM, Thompson MM, et al. Angiogenesis and the atherosclerotic carotid plaque: an association between symptomatology and plaque morphology. *J Vasc Surg.* 1999;30(2):261-268. doi:10.1016/s0741-5214(99)70136-9
160. Varma N, Hinojar R, D'Cruz D, et al. Coronary vessel wall contrast enhancement imaging as a potential direct marker of coronary involvement: integration of findings from CAD and SLE patients. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2014;7(8):762-770. doi:10.1016/j.jcmg.2014.03.012
161. Aoki S, Shirouzu I, Sasaki Y, et al. Enhancement of the intracranial arterial wall at MR imaging: Relationship to cerebral atherosclerosis. *Radiology.* 1995;194(2):477-481. doi:10.1148/radiology.194.2.7824729
162. Takano K, Hida K, Kuwabara Y, Yoshimitsu K. Intracranial arterial wall enhancement using gadolinium-enhanced 3D black-blood T1-weighted imaging. *Eur J Radiol.* 2017;86:13-19. doi:10.1016/j.ejrad.2016.10.032
163. Lindenholz A, van der Kolk AG, van der Schaaf IC, et al. Intracranial atherosclerosis assessed with 7-T MRI: Evaluation of patients with ischemic stroke or transient ischemic attack. *Radiology.* 2020;295(1):162-170. doi:10.1148/radiol.2020190643
164. Portanova A, Hakakian N, Mikulis DJ, Virmani R, Abdalla WMA, Wasserman BA. Intracranial vasa vasorum: Insights and implications for imaging. *Radiology.* 2013;267(3):667-679. doi:10.1148/radiol.13112310
165. Lee HN, Ryu C-W, Yun SJ. Vessel-Wall Magnetic Resonance Imaging of Intracranial Atherosclerotic Plaque and Ischemic Stroke: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Neurol.* 2018;9(December). doi:10.3389/fneur.2018.01032
166. Yang R, Yuan J, Chen X, Xie X, Ye Z, Qin C. Vessel wall magnetic resonance imaging of symptomatic middle cerebral artery atherosclerosis: A systematic review and meta-analysis. *Clin Imaging.* 2022;90:90-96. doi:10.1016/j.clinimag.2022.08.001

167. Labadzhyan A, Csiba L, Narula N, Zhou J, Narula J, Fisher M. Histopathologic evaluation of basilar artery atherosclerosis. *J Neurol Sci.* 2011;307(1-2):97-99. doi:10.1016/j.jns.2011.05.004
168. Skarpathiotakis M, Mandell DM, Swartz RH, Tomlinson G, Mikulis DJ. Intracranial atherosclerotic plaque enhancement in patients with ischemic stroke. *Am J Neuroradiol.* 2013;34(2):299-304. doi:10.3174/ajnr.A3209
169. Vakil P, Vranic J, Hurley MC, et al. T1 Gadolinium Enhancement of Intracranial Atherosclerotic Plaques Associated with Symptomatic Ischemic Presentations. *Am J Neuroradiol.* 2013;34(12):2252-2258.
170. Qiao Y, Zeiler SR, Mirbagheri S, et al. Intracranial Plaque Enhancement in Patients with Cerebrovascular Events on High- Spatial-Resolution MR Images. *Radiology.* 2014;271(2):534-542. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24475850>.
171. Kim JM, Jung KH, Sohn CH, Moon J, Han MH, Roh JK. Middle cerebral artery plaque and prediction of the infarction pattern. *Arch Neurol.* 2012;69(11):1470-1475. doi:10.1001/archneurol.2012.1018
172. Xu P, Lv L, Li S, et al. Use of high-resolution 3.0-T magnetic resonance imaging to characterize atherosclerotic plaques in patients with cerebral infarction. *Exp Ther Med.* 2015;10(6):2424-2428. doi:10.3892/etm.2015.2815
173. Wang M, Wu F, Yang Y, et al. Quantitative assessment of symptomatic intracranial atherosclerosis and lenticulostriate arteries in recent stroke patients using whole-brain high-resolution cardiovascular magnetic resonance imaging. *J Cardiovasc Magn Reson.* 2018;20(1):1-8. doi:10.1186/s12968-018-0465-8
174. Lu SS, Ge S, Su CQ, Xie J, Shi HB, Hong XN. 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(8):2243-2249. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2018.04.010
175. Liu S, Tang R, Xie W, et al. Plaque characteristics and hemodynamics contribute to neurological impairment in patients with ischemic stroke and transient ischemic attack. *Eur Radiol.* 2021;31(4):2062-2072.

- doi:10.1007/s00330-020-07327-1
176. Zhang D, Wang M, Wu L, et al. Assessing the characteristics and diagnostic value of plaques for patients with acute stroke using high-resolution magnetic resonance imaging. *Quant Imaging Med Surg.* 2022;12(2):1529-1538. doi:10.21037/qims-21-531
 177. Fakh R, Roa JA, Bathla G, et al. Detection and Quantification of Symptomatic Atherosclerotic Plaques With High-Resolution Imaging in Cryptogenic Stroke. *Stroke.* 2020;51(12):3623-3631. doi:10.1161/STROKEAHA.120.031167
 178. Kwee RM, Qiao Y, Liu L, Zeiler SR, Wasserman BA. Temporal course and implications of intracranial atherosclerotic plaque enhancement on high-resolution vessel wall MRI. *Neuroradiology.* 2019;61(6):651-657. doi:10.1007/s00234-019-02190-4
 179. Liang J, Guo J, Liu D, Shi C, Luo L. Application of High-Resolution CUBE Sequence in Exploring Stroke Mechanisms of Atherosclerotic Stenosis of Middle Cerebral Artery. *J stroke Cerebrovasc Dis Off J Natl Stroke Assoc.* 2019;28(1):156-162. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2018.09.021
 180. Song X, Zhao X, Liebeskind DS, et al. Incremental value of plaque enhancement in predicting stroke recurrence in symptomatic intracranial atherosclerosis. *Neuroradiology.* 2020;62(9):1123-1131. doi:10.1007/s00234-020-02418-8
 181. Zhang X, Chen L, Li S, et al. Enhancement Characteristics of Middle Cerebral Arterial Atherosclerotic Plaques Over Time and Their Correlation With Stroke Recurrence. *J Magn Reson Imaging.* 2021;53(3):953-962. doi:10.1002/jmri.27351
 182. Shen ZZ, Ren SJ, Wu RR, et al. Temporal changes in plaque characteristics after treatment and their relationship with stroke recurrence: a quantitative study using magnetic resonance imaging. *Quant Imaging Med Surg.* 2022;12(9):4559-4569. doi:10.21037/qims-22-210
 183. Lyu J, Ma N, Tian C, et al. Perfusion and plaque evaluation to predict recurrent stroke in symptomatic middle cerebral artery stenosis. *Stroke Vasc Neurol.* 2019;4(3):129-134. doi:10.1136/svn-2018-000228

184. Wu G, Wang H, Zhao C, et al. Large Culprit Plaque and More Intracranial Plaques Are Associated with Recurrent Stroke: A Case-Control Study Using Vessel Wall Imaging. *Am J Neuroradiol*. 2022;43(2):207-215. doi:10.3174/ajnr.A7402
185. Ibrahim T, Makowski MR, Jankauskas A, et al. Serial Contrast-Enhanced Cardiac Magnetic Resonance Imaging Demonstrates Regression of Hyperenhancement Within the Coronary Artery Wall in Patients After Acute Myocardial Infarction. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2009;2(5):580-588. doi:10.1016/j.jcmg.2008.12.029
186. D'Armiento FP, Bianchi A, de Nigris F, et al. Age-related effects on atherogenesis and scavenger enzymes of intracranial and extracranial arteries in men without classic risk factors for atherosclerosis. *Stroke*. 2001;32(11):2472-2479. doi:10.1161/hs1101.098520
187. Elkind MS V. Inflammation, atherosclerosis, and stroke. *Neurologist*. 2006;12(3):140-148. doi:10.1097/01.nrl.0000215789.70804.b0
188. Lammie GA, Sandercock PAG, Dennis MS. Recently occluded intracranial and extracranial carotid arteries: Relevance of the unstable atherosclerotic plaque. *Stroke*. 1999;30(7):1319-1325. doi:10.1161/01.STR.30.7.1319
189. LHermitte F, Gautier JC, Derouesné C, Guiraud B. Ischemic accidents in the middle cerebral artery territory. A study of the causes in 122 cases. *Arch Neurol*. 1968;19(3):248-256. doi:10.1001/archneur.1968.00480030026002
190. Ogata J, Masuda J, Yutani C, Yamaguchi T. Mechanisms of cerebral artery thrombosis: a histopathological analysis on eight necropsy cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1994;57(1):17-21. doi:10.1136/jnnp.57.1.17
191. Chen XY, Wong KS, Lam WWM, Zhao HL, Ng HK. Middle cerebral artery atherosclerosis: Histological comparison between plaques associated with and not associated with infarct in a postmortem study. *Cerebrovasc Dis*. 2008;25(1-2):74-80. doi:10.1159/000111525
192. Chung JW, Oh MJ, Cho YH, et al. Distinct Roles of Endothelial Dysfunction and Inflammation in Intracranial Atherosclerotic Stroke. *Eur Neurol*. 2017;77(3-4):211-219. doi:10.1159/000460816

193. Turan TN, Rumboldt Z, Granholm A-C, et al. Intracranial atherosclerosis: correlation between in-vivo 3T high resolution MRI and pathology. *Atherosclerosis*. 2014;237(2):460-463. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2014.10.007
194. Ameli R, Eker O, Sigovan M, et al. Multifocal arterial wall contrast - enhancement in ischemic stroke: A mirror of systemic inflammatory response in acute stroke. *Rev Neurol (Paris)*. 2020;176(3):194-199. doi:10.1016/j.neurol.2019.07.022
195. Lu Y, Ye M fan, Zhao J ji, et al. Gadolinium enhancement of atherosclerotic plaque in the intracranial artery. *Neurol Res*. 2021;43(12):1040-1049. doi:10.1080/01616412.2021.1949682
196. Arenillas JF, Alvarez-Sabín J, Molina CA, et al. Progression of symptomatic intracranial large artery atherosclerosis is associated with a proinflammatory state and impaired fibrinolysis. *Stroke*. 2008;39(5):1456-1463. doi:10.1161/STROKEAHA.107.498600
197. Massot A, Giralt D, Penalba A, et al. Predictive value of ankle-brachial index and PAI-1 in symptomatic intracranial atherosclerotic disease recurrence. *Atherosclerosis*. 2014;233(1):186-189. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2013.12.034
198. Fassbender K, Bertsch T, Mielke O, Mühlhauser F, Hennerici M. Adhesion molecules in cerebrovascular diseases. Evidence for an inflammatory endothelial activation in cerebral large- and small-vessel disease. *Stroke*. 1999;30(8):1647-1650. doi:10.1161/01.str.30.8.1647
199. Arenillas JF, Alvarez-Sabín J, Molina CA, et al. C-reactive protein predicts further ischemic events in first-ever transient ischemic attack or stroke patients with intracranial large-artery occlusive disease. *Stroke*. 2003;34(10):2463-2468. doi:10.1161/01.STR.0000089920.93927.A7
200. Shimizu K, Shimomura K, Tokuyama Y, et al. Association between inflammatory biomarkers and progression of intracranial large artery stenosis after ischemic stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2013;22(3):211-217. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2011.07.01
201. Massot A, Pelegri D, Penalba A, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 testing usefulness among patients with symptomatic intracranial atherosclerotic disease. *Atherosclerosis*. 2011;218(1):181-

187. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2011.04.031
202. Gorelick PB. Lipoprotein-associated phospholipase A2 and risk of stroke. *Am J Cardiol.* 2008;101(12A):34F-40F.
doi:10.1016/j.amjcard.2008.04.017
203. Wu XB, Huang LX, Huang ZR, et al. The lymphocyte-to-monocyte ratio predicts intracranial atherosclerotic stenosis plaque instability. *Front Immunol.* 2022;13:1-9. doi:10.3389/fimmu.2022.915126
204. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, et al. Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation.* 1998;98(9):839-844.
doi:10.1161/01.cir.98.9.839
205. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, et al. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N Engl J Med.* 2017;377(12):1119-1131. doi:10.1056/nejmoa1707914
206. Everett BM, Pradhan AD, Solomon DH, et al. Rationale and design of the Cardiovascular Inflammation Reduction Trial: a test of the inflammatory hypothesis of atherothrombosis. *Am Heart J.* 2013;166(2):199-207.e15. doi:10.1016/j.ahj.2013.03.018
207. Nidorf SM, Eikelboom JW, Budgeon CA, Thompson PL. Low-dose colchicine for secondary prevention of cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol.* 2013;61(4):404-410. doi:10.1016/j.jacc.2012.10.027
208. Tardif J-C, Kouz S, Waters DD, et al. Efficacy and Safety of Low-Dose Colchicine after Myocardial Infarction. *N Engl J Med.* 2019;381(26):2497-2505. doi:10.1056/NEJMoa1912388
209. Kelly P, Weimar C, Lemmens R, et al. Colchicine for prevention of vascular inflammation in Non-CardioEmbolic stroke (CONVINCE) - study protocol for a randomised controlled trial. *Eur stroke J.* 2021;6(2):222-228. doi:10.1177/2396987320972566
210. Masson W, Lobo M, Molinero G, Masson G, Lavallo-Cobo A. Role of Colchicine in Stroke Prevention: An Updated Meta-Analysis. *J stroke Cerebrovasc Dis Off J Natl Stroke Assoc.* 2020;29(5):104756.
doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.104756
211. Al-Atta A, Kuzemczak M, Alkhalil M. Colchicine for the prevention of

- ischemic stroke: An updated meta-analysis of randomized clinical trials. *Brain Circ.* 2021;7(3):187-193. doi:10.4103/bc.bc_24_21
212. von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *J Clin Epidemiol.* 2008;61(4):344-349. doi:10.1016/j.jclinepi.2007.11.008
213. López-Cancio E, Dorado L, Millán M, et al. The population-based Barcelona-Asymptomatic Intracranial Atherosclerosis Study (ASIA): Rationale and design. *BMC Neurol.* 2011;11(1):22. doi:10.1186/1471-2377-11-22
214. Johnston SC, Rothwell PM, Nguyen-Huynh MN, et al. Validation and refinement of scores to predict very early stroke risk after transient ischaemic attack. *Lancet (London, England).* 2007;369(9558):283-292. doi:10.1016/S0140-6736(07)60150-0
215. Marrugat J, Subirana I, Comín E, et al. Validity of an adaptation of the Framingham cardiovascular risk function: The VERIFICA study. *J Epidemiol Community Health.* 2007;61(1):40-47. doi:10.1136/jech.2005.038505
216. Guzik A, Bushnell C. Stroke Epidemiology and Risk Factor Management. *Continuum (Minneapolis, Minn).* 2017;23(1, Cerebrovascular Disease):15-39. doi:10.1212/CON.0000000000000416
217. Baumgartner RW, Mattle HP, Schroth G. Assessment of $\geq 50\%$ and $< 50\%$ intracranial stenoses by transcranial color-coded duplex sonography. *Stroke.* 1999;30(1):87-92. doi:10.1161/01.str.30.1.87
218. Samuels OB, Joseph GJ, Lynn MJ, Smith HA, Chimowitz MI. A standardized method for measuring intracranial arterial stenosis. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2000;21(4):643-646.
219. Fazekas F, Chawluk JB, Alavi A, Hurtig HI, Zimmerman RA. MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. *AJR Am J Roentgenol.* 1987;149(2):351-356. doi:10.2214/ajr.149.2.351
220. Wardlaw JM, Smith EE, Biessels GJ, et al. Neuroimaging standards for research into small vessel disease and its contribution to ageing and neurodegeneration. *Lancet Neurol.* 2013;12(8):822-838.

- doi:10.1016/S1474-4422(13)70124-8
221. Song JW, Pavlou A, Burke MP, et al. Imaging endpoints of intracranial atherosclerosis using vessel wall MR imaging: a systematic review. *Neuroradiology*. 2021;63(6):847-856. doi:10.1007/s00234-020-02575-w
 222. Lu SS, Ge S, Su CQ, et al. MRI of plaque characteristics and relationship with downstream perfusion and cerebral infarction in patients with symptomatic middle cerebral artery stenosis. *J Magn Reson Imaging*. 2018;48(1):66-73. doi:10.1002/jmri.25879
 223. Harteveld AA, Van Der Kolk AG, Van Der Worp HB, et al. Detecting Intracranial Vessel Wall Lesions with 7T-Magnetic Resonance Imaging: Patients with Posterior Circulation Ischemia Versus Healthy Controls. *Stroke*. 2017;48(9):2601-2604. doi:10.1161/STROKEAHA.117.017868
 224. Ryoo S, Lee MJ, Cha J, Jeon P, Bang OY. Differential vascular pathophysiologic types of intracranial atherosclerotic stroke: A high-resolution wall magnetic resonance imaging study. *Stroke*. 2015;46(10):2815-2821. doi:10.1161/STROKEAHA.115.010894
 225. Wasserman BA, Smith WI, Trout HH, Cannon RO, Balaban RS, Arai AE. Carotid artery atherosclerosis: In vivo morphologic characterization with gadolinium-enhanced double-oblique MR imaging - Initial results. *Radiology*. 2002;223(2):566-573. doi:10.1148/radiol.2232010659
 226. Yan X, Gao J, Tang M, et al. Combined Assessment of Elevated Plasma Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 and Plaque Enhancement Improved Accuracy in the Risk of Acute Ischemic Stroke in Patients with Intracranial Artery Stenosis. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2021;30(12):106103. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2021.106103
 227. Chistiakov DA, Grechko A V., Myasoedova VA, Melnichenko AA, Orekhov AN. The role of monocytosis and neutrophilia in atherosclerosis. *J Cell Mol Med*. 2018;22(3):1366-1382. doi:10.1111/jcmm.13462
 228. Silvestre JS, Mallat Z, Tedgui A, Lévy BI. Post-ischaemic neovascularization and inflammation. *Cardiovasc Res*. 2008;78(2):242-249. doi:10.1093/cvr/cvn027
 229. Li AC, Glass CK. The macrophage foam cell as a target for therapeutic intervention. *Nat Med*. 2002;8(11):1235-1242. doi:10.1038/nm1102-

1235

230. Sunderkötter C, Goebeler M, Schulze-Osthoff K, Bhardwaj R, Sorg C. Macrophage-derived angiogenesis factors. *Pharmacol Ther.* 1991;51(2):195-216. doi:10.1016/0163-7258(91)90077-y
231. Andreuzzi E, Colladel R, Pellicani R, et al. The angiostatic molecule Multimerin 2 is processed by MMP-9 to allow sprouting angiogenesis. *Matrix Biol.* 2017;64:40-53. doi:10.1016/j.matbio.2017.04.002
232. Bergers G, Brekken R, McMahon G, et al. Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis. *Nat Cell Biol.* 2000;2(10):737-744. doi:10.1038/35036374
233. Sluimer JC, Gasc J-M, van Wanroij JL, et al. Hypoxia, hypoxia-inducible transcription factor, and macrophages in human atherosclerotic plaques are correlated with intraplaque angiogenesis. *J Am Coll Cardiol.* 2008;51(13):1258-1265. doi:10.1016/j.jacc.2007.12.025
234. Szalai C, Duba J, Prohászka Z, et al. Involvement of polymorphisms in the chemokine system in the susceptibility for coronary artery disease (CAD). Coincidence of elevated Lp(a) and MCP-1 -2518 G/G genotype in CAD patients. *Atherosclerosis.* 2001;158(1):233-239. doi:10.1016/s0021-9150(01)00423-3
235. Afzal AR, Kiechl S, Daryani YP, et al. Common CCR5-del32 frameshift mutation associated with serum levels of inflammatory markers and cardiovascular disease risk in the Bruneck population. *Stroke.* 2008;39(7):1972-1978. doi:10.1161/STROKEAHA.107.504381
236. Pai JK, Kraft P, Cannuscio CC, et al. Polymorphisms in the CC-chemokine receptor-2 (CCR2) and -5 (CCR5) genes and risk of coronary heart disease among US women. *Atherosclerosis.* 2006;186(1):132-139. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2005.06.041
237. Balistreri CR, Candore G, Caruso M, Incalcaterra E, Franceschi C, Caruso C. Role of polymorphisms of CC-chemokine receptor-5 gene in acute myocardial infarction and biological implications for longevity. *Haematologica.* 2008;93(4):637-638. doi:10.3324/haematol.12239
238. Simeoni E, Winkelmann BR, Hoffmann MM, et al. Association of RANTES G-403A gene polymorphism with increased risk of coronary arteriosclerosis. *Eur Heart J.* 2004;25(16):1438-1446.

doi:10.1016/j.ehj.2004.05.005

239. Ghilardi G, Biondi ML, Turri O, Pateri F, d'Eril GM, Scorza R. Genetic control of chemokines in severe human internal carotid artery stenosis. *Cytokine*. 2008;41(1):24-28. doi:10.1016/j.cyto.2007.10.007
240. Apostolakis S, Baritaki S, Kochiadakis GE, Igoumenidis NE, Panutsopoulos D, Spandidos DA. Effects of polymorphisms in chemokine ligands and receptors on susceptibility to coronary artery disease. *Thromb Res*. 2007;119(1):63-71. doi:10.1016/j.thromres.2005.12.016

