

# Biomarcadores sanguíneos en la enfermedad cerebrovascular

Alejandro Bustamante<sup>1,2</sup> y Joan Montaner<sup>1,3</sup>

## Resumen

A pesar de muchos años de investigación y resultados prometedores, actualmente los biomarcadores sanguíneos no se utilizan para la toma de decisiones en la práctica clínica en ictus. En los últimos años, dos avances importantes, la trombólisis prehospitalaria y las terapias endovasculares, han cambiado drásticamente la atención hospitalaria urgente en el ictus agudo. La determinación de biomarcadores sanguíneos podría mejorar el manejo del ictus agudo, tanto en la selección prehospitalaria de pacientes como en su orientación terapéutica para el manejo de las terapias de reperfusión. Transcurrida la fase aguda, la predicción del pronóstico del ictus y sus complicaciones posteriores, por un lado, y la evaluación etiológica en el ictus de origen indeterminado por otro, representan las principales indicaciones para el uso de biomarcadores sanguíneos en fases subagudas y crónicas. Esta revisión se centra en las diferentes indicaciones y los desafíos técnicos para optimizar la traslación de biomarcadores proteicos en el ictus.

**Palabras clave:** Ictus. Enfermedad cerebrovascular. Biomarcadores. Diagnóstico. Terapias de reperfusión. Pronóstico.

## Abstract

*Despite many years of research and promising results, currently blood biomarkers are not used for decision making in clinical practice in stroke. In recent years, two important advances, pre-hospital thrombolysis and endovascular therapies, have drastically changed hospital care in acute stroke. Measurement of blood biomarkers could improve acute stroke management, both in the selection of patients at the pre-hospital level and as companion diagnostics for the management of reperfusion therapies. After the acute phase, predicting the prognosis of stroke and its subsequent complications on the one hand, and the etiological evaluation on stroke of undetermined origin on the other, represent the main indications for the use of blood biomarkers in subacute and chronic phases of neurovascular diseases. In this review, we focus on the different indications and technical challenges to optimize the translation of protein biomarkers in the stroke field. (Kranion. 2019;14:81-93)*

**Corresponding author:** Joan Montaner, joan.montaner@vhir.org

**Key words:** Stroke. Cerebrovascular disease. Biomarkers. Diagnostic. Reperfusion therapies. Prognosis.

<sup>1</sup>Laboratorio de Investigación Neurovascular  
Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR)  
Universitat Autònoma de Barcelona  
Barcelona

<sup>2</sup>Servicio de Neurología  
Hospital Universitari Vall d'Hebron  
Barcelona

<sup>3</sup>Servicio de Neurología  
Hospital Universitario Virgen Macarena  
Sevilla

**Dirección para correspondencia:**  
Joan Montaner  
E-mail: joan.montaner@vhir.org

## INTRODUCCIÓN

Los biomarcadores se definen como características medibles objetivamente que constituyen indicadores de procesos biológicos normales, procesos patológicos o respuestas fisiopatológicas ante intervenciones terapéuticas<sup>1</sup>. En este sentido, un biomarcador puede ser el resultado de una técnica de imagen o neurofisiológica, o bien derivar de mediciones de laboratorio en sangre u otros productos corporales. Entre estos últimos, las proteínas representan los biomarcadores más utilizados, dada su fácil medición y su carácter dinámico en el curso de la enfermedad. Si bien es cierto que otros analitos tales como metabolitos, RNA de expresión o no codificantes, como los micro-RNA (miRNA) o los RNA no codificantes de cadena larga (lncRNA) podrían ser biomarcadores prometedores en el futuro, en la actualidad su desarrollo, tanto a nivel de evidencia científica como a nivel técnico, está lejos de alcanzar la práctica clínica. Dada la dificultad de uso de otros productos corporales como líquido cefalorraquídeo u orina en pacientes con ictus, esta revisión se focalizará principalmente en los biomarcadores sanguíneos.

Si bien los biomarcadores sanguíneos han sido utilizados durante muchos años en otras enfermedades vasculares, como las troponinas en el diagnóstico y monitorización del infarto de miocardio, la hemoglobina glucosilada para el control de la diabetes, o el perfil lipídico para guiar terapias hipolipemiantes, actualmente no se utiliza ningún biomarcador para el manejo del ictus con fines diagnósticos, pronósticos o de estratificación del riesgo. Recientemente ha surgido un gran interés por su uso en enfermedades cerebrovasculares, pues pueden suponer una ayuda para los clínicos en varias etapas de la evolución del ictus, desde predecir el riesgo de ictus entre individuos sanos hasta lograr su diagnóstico bioquímico o predecir el pronóstico.

Hasta ahora, los biomarcadores más estudiados en el ictus han sido los relacionados con vías fisiopatológicas alteradas durante el curso de la enfermedad. Inflamación e inmunidad<sup>2</sup>, apoptosis<sup>3</sup>, coagulación-fibrinólisis<sup>4</sup>, remodelación tisular<sup>5</sup> o daño cardíaco<sup>6</sup>, representan vías comunes de las que se han seleccionado proteínas para su medición en estudios de biomarcadores en ictus. Sin embargo, como contrapartida a esta estrategia basada en biomarcadores candidatos, en los últimos años ha surgido un gran interés en técnicas de alto rendimiento u «ómicas». Estas técnicas evitan el sesgo de selección de los candidatos, generando grandes listados de proteínas a evaluar. Así, permiten abordar el estudio del proteoma completo mediante librerías de anticuerpos<sup>7</sup> o técnicas basadas en espectrometría de masas<sup>8,9</sup>. Sin embargo, aunque

recientemente se han realizado muchos avances con respecto a la proteómica, la metodología aún está en fase de desarrollo y necesita mejoras adicionales para analizar fácilmente el proteoma afectado por la enfermedad. Además, este tipo de enfoque debe ser interpretado muy cuidadosamente desde el punto de vista estadístico, ya que no existe un amplio consenso sobre las correcciones a realizar y los umbrales de significación para evitar resultados falsamente positivos<sup>10,11</sup>.

## POSIBLES INDICACIONES CLÍNICAS PARA EL USO DE BIOMARCADORES EN EL ICTUS

Como se ha mencionado anteriormente, los biomarcadores en el ictus podrían ser utilizados en diferentes escenarios, desde la predicción del riesgo de sufrir un ictus en pacientes de atención primaria hasta la prevención de complicaciones o recidivas en la fase crónica o de convalecencia, pasando por toda la fase aguda y subaguda a nivel hospitalario. En este sentido, es de suma importancia para los investigadores el intercambio de información con los clínicos, y así establecer y priorizar la investigación en indicaciones que constituyen una necesidad clínicamente insatisfecha.

Con este objetivo, el grupo de estudio *International Biomarkers in Cerebrovascular Diseases* promovió una encuesta dirigida a neurólogos europeos especialistas en ictus para conocer su opinión sobre qué escenarios clínicos se beneficiarían más del uso de biomarcadores sanguíneos<sup>12</sup>. Se distribuyó esta encuesta, que analizaba 12 escenarios en los que se realiza actualmente investigación en biomarcadores, a neurólogos especialistas de 16 países europeos. Un total de 214 clínicos respondieron a la encuesta. Como puede verse en la tabla 1, la respuesta a las terapias de reperusión y la prevención secundaria fueron las indicaciones más valoradas, seguidas de la predicción de la recurrencia del ictus, el diagnóstico del ataque isquémico transitorio (AIT) y la diferenciación entre las diferentes etiologías del ictus. Los resultados de la encuesta se encuentran detallados en el sitio web: <http://www.stroke-biomarkers.com>. Cabe destacar que la mayoría de los participantes consideraron los biomarcadores como útiles o muy útiles en todos los escenarios propuestos. De esta forma, los resultados de esta encuesta podrían ayudarnos en el futuro a dirigir la investigación en biomarcadores en ictus hacia indicaciones más atractivas.

Desde una perspectiva global, el manejo del ictus agudo representa un desafío para el uso futuro de biomarcadores desde dos puntos de

TABLA 1. Resultados de la encuesta

Uso de biomarcadores para guiar:	Útil/muy útil (%)	Muy útil (%)
Terapias de reperfusión	82%	42%
Prevención secundaria	82%	34%
Diagnóstico del AIT	81%	46%
Recurrencia del ictus	81%	47%
Diagnóstico etiológico	75%	36%
Prevención de ictus en población en riesgo	74.3%	32,7%
Pronóstico (global)	74%	23%
Complicaciones del ictus	72%	28%
Diagnóstico	71%	37%
Prevención de ictus en población general	68,7%	22%
Identificación de patología silente	58,4%	23,4%
Diferenciación ictus isquémico-hemorrágico	53%	25%

AIT: ataque isquémico transitorio.

Adaptada de Bustamante, et al., 2016<sup>12</sup>.

vista diferentes. Por un lado, mejorar el diagnóstico del ictus es de gran importancia, especialmente en casos no tan claros como el AIT o el ictus menor, que pueden fácilmente confundirse con *stroke-mimics*, enfermedades de diverso origen que pueden simular clínicamente un ictus<sup>13</sup>. Por otro lado, después de la publicación de varios ensayos clínicos que demuestran la utilidad de las terapias endovasculares<sup>14</sup>, por primera vez disponemos de nuevas opciones terapéuticas distintas al activador tisular del plasminógeno (tPA) intravenoso. Sin embargo, los clínicos carecen de elementos para una decisión individualizada, aparte de los criterios de inclusión y exclusión utilizados en los ensayos clínicos. Como se verá más adelante, el uso de biomarcadores sanguíneos podría ayudar en la toma de decisiones durante la fase aguda del ictus.

Más allá de la fase aguda, otras cuestiones toman importancia, representando interesantes indicaciones. De hecho, los biomarcadores pueden ser una herramienta útil para guiar estudios diagnósticos adicionales o incluso orientar medidas terapéuticas en casos de ictus de etiología indeterminada<sup>6</sup>, así como para predecir el pronóstico del ictus a largo plazo o la aparición de complicaciones que pueden condicionar este pronóstico<sup>2</sup>.

## BIOMARCADORES EN LA FASE AGUDA DEL ICTUS

### Diagnóstico del ictus agudo: diferenciación entre ictus y *stroke-mimics*

La idea de identificar las «troponinas» del ictus animó a varios grupos académicos y a compañías de biotecnología a iniciar programas de descubrimiento de biomarcadores hace varios años. La falta de una prueba de diagnóstico ampliamente disponible para la isquemia cerebral aguda sigue siendo una limitación en el diagnóstico del ictus, que generalmente se realiza mediante evaluación clínica y tomografía computarizada (TC). Aunque la resonancia magnética con secuencias de difusión (DWI-MRI) tiene una sensibilidad cercana al 100% para detectar la isquemia cerebral en la fase aguda<sup>15</sup>, su disponibilidad es limitada tanto por su coste como por el tiempo que requiere para su realización e interpretación. Además, esta prueba suele ser normal en los casos de AIT. Con respecto a la TC, a pesar de una alta especificidad cercana al 100% para la exclusión del ictus hemorrágico, su sensibilidad es muy moderada (alrededor del 30%) para el diagnóstico del ictus isquémico en las primeras horas<sup>16</sup>.

Una prueba bioquímica rápida que distinguiese entre ictus reales y *stroke-mimics*, tales como tumores cerebrales, crisis comiciales o auras migrañosas entre otros, aceleraría el proceso de derivación de pacientes con ictus a grandes hospitales dotados con unidades de ictus y terapias de reperfusión. Esto mejoraría la recuperación neurológica de muchos pacientes que recibirían estos tratamientos, al tiempo que ahorraría recursos para la salud pública al prevenir traslados innecesarios de muchos pacientes que realmente no están sufriendo un ictus y que podrían ser atendidos en sus hospitales de referencia. De hecho, se ha demostrado que hasta un 20% de los pacientes con sospecha de ictus que son trasladados urgentemente por helicóptero, finalmente reciben un diagnóstico de *stroke-mimic*<sup>17</sup>.

Estudios previos han tratado de evaluar la utilidad de biomarcadores, de forma aislada o en forma de panel, para el diagnóstico del ictus, aunque las tasas de precisión alcanzadas por estos aún están lejos de lo que consideramos necesario en la práctica clínica. En un estudio anterior de nuestro grupo, la mejor precisión alcanzada por un panel de seis biomarcadores para diferenciar ictus y *stroke-mimics* fue del 75,9%<sup>18</sup>. Un estudio anterior con tamaño muestral similar probó un panel de cuatro biomarcadores (metaloproteasa de matriz 9 [MMP-9], péptido natriurético tipo B [BNP], dímero D y S100b), consiguiendo una precisión del 76%

para la diferenciación entre *stroke-mimics* e ictus hemorrágicos, y del 69% para todos los ictus<sup>19</sup>. Otro estudio reciente realizado con muestras de pacientes obtenidas a nivel prehospitalario, que incluyó más de 500 pacientes, concluyó que el biomarcador neuroendocrino copeptina no era útil para distinguir entre ictus y *stroke-mimics*<sup>20</sup>. En el estudio Stroke-Chip se utilizó un enfoque mixto para desarrollar modelos de diagnóstico, mediante la combinación de variables clínicas y biomarcadores. Esta estrategia consiguió mejorar las tasas de discriminación entre ictus y *stroke-mimics* (alrededor del 80%), aunque unos pobres resultados técnicos impidieron la validación de estos resultados, en cualquier caso, aún insuficientes para tomar decisiones en el día a día<sup>21</sup>.

Quizás una de las limitaciones más importantes para encontrar un panel de biomarcadores capaces de diferenciar entre ictus y *stroke-mimics* es la enorme variabilidad clínica incluida en esta comparación cuando evaluamos todos los casos en los que sospechamos un ictus. El amplio espectro de *stroke-mimics*, desde tumores cerebrales y otras entidades graves hasta entidades muy leves, como neuropatías periféricas o trastornos psiquiátricos, dificulta el descubrimiento de un patrón bioquímico capaz de diferenciar estas condiciones. Un enfoque alternativo podría ser la estratificación por la gravedad del cuadro clínico mediante el uso de escalas neurológicas como la NIHSS (*National Institutes of Health Stroke Scale*)<sup>22</sup>. De hecho, en el contexto prehospitalario, la comparación entre ictus reales y *stroke-mimics* tendría más sentido en aquellos casos con síntomas leves. Un ictus leve debe manejarse agresivamente como cualquier otro, al menos en términos de diagnóstico etiológico y prevención secundaria. Por tanto, el traslado a un centro de referencia en ictus debe ser la norma en estos pacientes. Por el contrario, los *stroke-mimics* con síntomas leves probablemente representarán entidades benignas, que podrían ser manejadas en centros de atención primaria u hospitales comunitarios, evitando traslados de emergencia. Sin embargo, los *stroke-mimics* con síntomas graves pueden representar condiciones muy peligrosas, como estatus epiléptico o infecciones del sistema nervioso central, que también requieren una evaluación neurológica urgente en el hospital.

### **Diagnóstico del ictus agudo: diferenciación entre ictus isquémico e ictus hemorrágico**

Las técnicas de neuroimagen siguen siendo el *gold standard* para diferenciar entre ictus isquémico e ictus hemorrágico, con una sensibilidad del 100% en la identificación de la hemorragia aguda. Sin

embargo, realizar una TC craneal requiere la admisión hospitalaria de pacientes con sospecha de ictus agudo. Por lo tanto, en el contexto prehospitalario no se pueden aplicar medidas terapéuticas específicas, como el control intensivo de la presión arterial en el caso del ictus hemorrágico o la rápida reversión de la anticoagulación en presencia de hemorragia cerebral asociada a antagonistas de la vitamina K. Además, la administración de tPA a pacientes con ictus isquémico a nivel prehospitalario ha demostrado ser factible<sup>23</sup>, aunque es necesario descartar previamente la existencia de una hemorragia cerebral. Para ello se han utilizado como herramienta las unidades de ictus móviles, equipadas con TC portátiles y neurólogos vasculares a bordo. Lógicamente, la generalización amplia de estas costosas herramientas no parece factible en el futuro cercano. Por lo tanto, sería deseable disponer de un test económico, fiable y ampliamente generalizable en el contexto preclínico.

Se ha descrito que diferentes biomarcadores plasmáticos diferencian el ictus isquémico del ictus hemorrágico durante la fase aguda, como la proteína glial fibrilar ácida (GFAP)<sup>24</sup>, la proteína S100b, el receptor para productos finales de glucación avanzada (RAGE)<sup>25</sup> o la apolipoproteína C-III (ApoC-III)<sup>26</sup>, algunas de ellas con resultados prometedores. También la proteína fijadora de 4 retinol (RBP-4) constituye un prometedor candidato en esta indicación. Nuestro grupo demostró que, cuando se combina con GFAP, se mejora la discriminación de ambos subtipos de ictus<sup>27</sup>. Los estudios futuros incluirían la validación de estos biomarcadores en grandes cohortes multicéntricas, con muestras obtenidas en el escenario prehospitalario.

Al contrario que para la diferenciación entre ictus y *stroke-mimics*, y teniendo en cuenta que la principal utilidad de un biomarcador que diferencie ictus isquémico e ictus hemorrágico sería la aplicación prehospitalaria de terapias, parece lógico que los pacientes con síntomas más graves sean los que se aprovechen al máximo de estas medidas, mientras que en pacientes con síntomas leves el diagnóstico preciso podría diferirse hasta el ingreso hospitalario. En este escenario, serían deseables resultados muy específicos para cada subtipo de ictus y así administrar de manera segura terapias específicas (que en caso de error podrían ser fatales) a expensas de un gran número de falsos negativos. Por ejemplo, a la hora de tratar pacientes con ictus isquémico con tPA a nivel prehospitalario, un test muy específico permitiría excluir la posibilidad de administrar tPA a un paciente con un ictus hemorrágico a expensas de no detectar a todos los pacientes con ictus isquémico. En estos casos, el diagnóstico mediante neuroimagen y el tratamiento oportuno tendrían que diferirse hasta el hospital.



## Tratamiento del ictus agudo: medicina personalizada en terapias de perfusión mediante biomarcadores sanguíneos

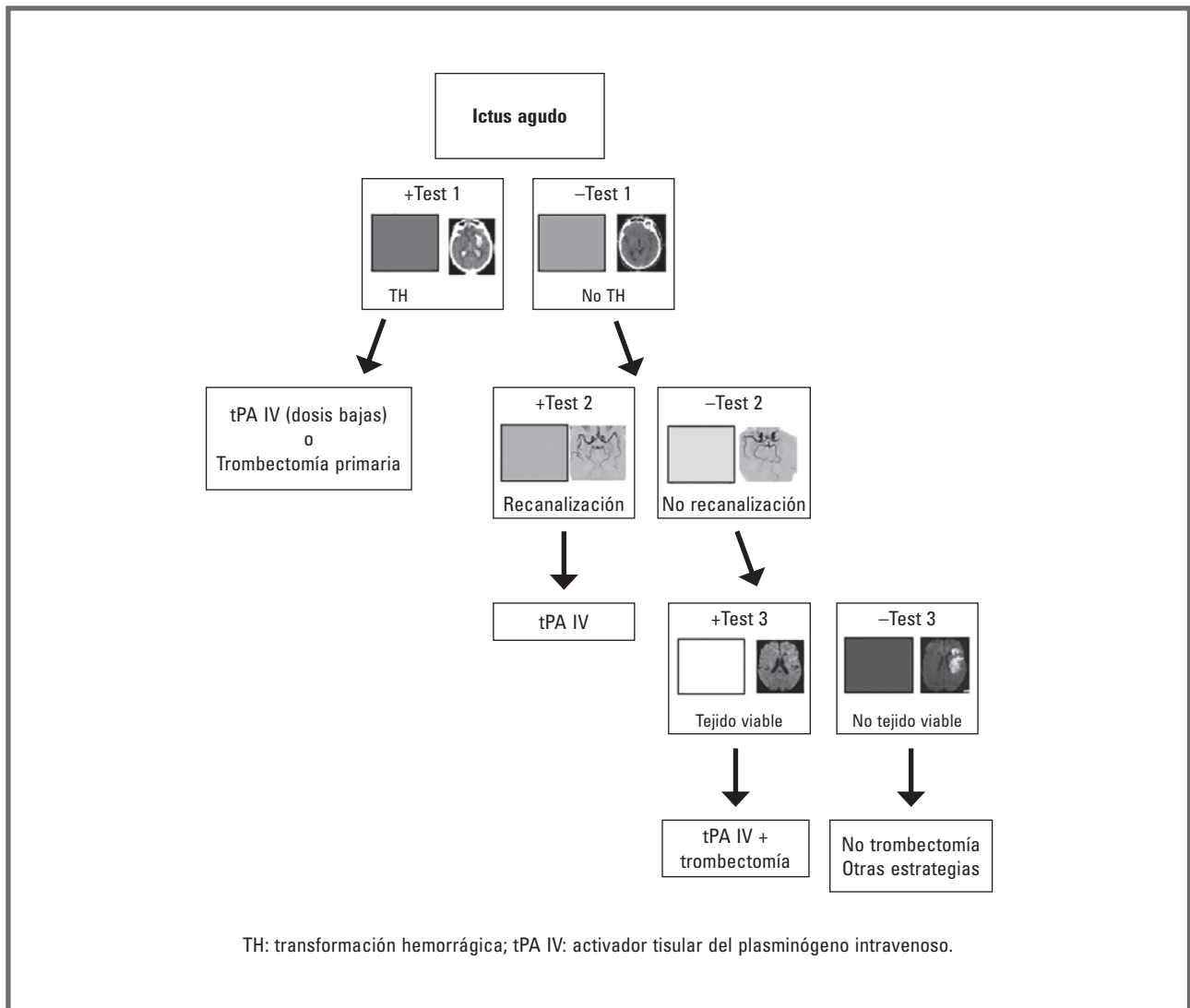
Es un hecho conocido que los pacientes con ictus pueden responder de manera muy diferente a las terapias de perfusión, tanto intravenosas como endovasculares. Esta respuesta suele medirse desde dos puntos de vista diferentes. Primero, la eficacia del tratamiento se ha medido tradicionalmente en términos de recanalización arterial. De hecho, la permeabilidad del vaso restaurado representa uno de los principales predictores de buen pronóstico en pacientes tratados con tPA<sup>28</sup>. Sin embargo, el tPA solo consigue una recanalización efectiva en menos del 50% de los pacientes tratados, lo cual depende de diferentes factores, como la composición del trombo o la localización de la oclusión vascular<sup>29-30</sup>. En segundo lugar, la seguridad de la terapia generalmente se evalúa por su efecto secundario más temido: la transformación hemorrágica (TH). El riesgo de estas complicaciones hemorrágicas es una de las razones principales para restringir el tPA a las primeras 4,5 horas tras el inicio de los síntomas. Las tasas totales de cualquier tipo de TH están en torno al 23%, correspondiendo el 15% a hematomas parenquimatosos (PH). Muchos de estos últimos son sintomáticos, asociando deterioro neurológico y altas tasas de mortalidad<sup>31</sup>.

Por lo tanto, los biomarcadores específicos para evaluar la respuesta al tPA serían de dos tipos. Por una parte, los que predicen la aparición de TH y, por otra, los que identifican a los pacientes con baja probabilidad de recanalización inducida por tPA. Respecto a la TH, varios biomarcadores han demostrado asociarse a su predicción. Castellanos, et al. documentaron que los niveles circulantes de fibronectina celular por encima de 3,6 mg/ml predijeron TH tipo PH con una sensibilidad del 100% y una especificidad del 60%<sup>32</sup>. Otros biomarcadores, como el factor de transcripción relacionado con el receptor nuclear 1 (NURR-1)<sup>33</sup> o la actividad de la proteína de adhesión vascular 1 (VAP-1) medidos antes del tratamiento trombolítico, también se han asociado con la presencia de TH tipo PH tras la administración de tPA<sup>34</sup>. Además, se dispone de gran cantidad de evidencia científica que demuestra que los niveles elevados de MMP-9 también son factores predictivos de THs<sup>35</sup>. Sin embargo, a pesar de una buena sensibilidad, la especificidad de estas moléculas es limitada. Utilizar este test para denegar uno de los pocos tratamientos efectivos a un paciente con ictus, sabiendo que tendremos casos falsamente positivos, es decir, pacientes que no experimentarán TH tras el tratamiento, parece una idea inaceptable para la comunidad científica.

Por otro lado, la identificación de pacientes resistentes a la recanalización inducida por tPA sería de gran interés. Niveles pretratamiento de inhibidores endógenos de la fibrinólisis como el inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) o el inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina<sup>4,35</sup>, así como otras moléculas relacionadas con la coagulación, como la proteasa activadora del factor siete (FSAP)<sup>36</sup> o la proteasa de clivaje del factor de von Willebrand (ADAMTS13)<sup>37</sup> se han asociado con una pobre respuesta al tPA en términos de recanalización.

Los biomarcadores que predicen la respuesta al tPA podrían usarse a nivel prehospitalario, o en centros sin disponibilidad de terapias endovasculares, para indicar una transferencia rápida a centros de referencia de aquellos pacientes en los que puede anticiparse la ausencia de recanalización con tratamiento intravenoso. Un test que combine diferentes patrones de biomarcadores prediciendo la respuesta al tPA en términos de eficacia y seguridad ofrecería alternativas atractivas. Por ejemplo, algunos pacientes podrían ser tratados *de novo*, como aquellos pacientes con ictus de inicio desconocido o con «ictus del despertar» en los que el test prediga un riesgo muy bajo de complicaciones. Por otra parte, en los casos en que la prueba prediga un alto riesgo de sangrado, los pacientes podrían no recibir tPA, priorizándose el tratamiento endovascular. Disponer de un test para guiar de forma personalizada las terapias de perfusión también podría utilizarse para individualizar la dosis de tPA, que podría ser diferente para un hombre joven previamente sano de 70 kg, para un hombre de 70 kg con disfunción hepática o para un octogenario de 70 kg con diabetes. Actualmente, todos los pacientes reciben una misma dosis, de 0,9 mg/kg. Esta dosis podría reducirse en pacientes con alto riesgo de TH, ya que varios estudios han observado que dosis bajas de tPA podrían tener los mismos efectos beneficiosos que las dosis habituales<sup>38</sup>. En la figura 1 se representa un posible enfoque alternativo y personalizado para las terapias de perfusión basadas en un hipotético test de biomarcadores.

Sin embargo, todo este escenario ha cambiado radicalmente tras la demostración en 2015 de la utilidad de la trombectomía mecánica<sup>39-43</sup>. Después de más de 20 años de experiencia, las tasas de TH después del tPA se han reducido drásticamente<sup>44</sup>. Además, el hecho de que diferentes mecanismos fisiopatológicos participen en la TH inducida por tPA y en la inducida por trombectomía mecánica<sup>45</sup> hace que sea más difícil encontrar biomarcadores para esta complicación. Si bien la necesidad de tener biomarcadores de TH parece cada vez menos clara en la actualidad, los biomarcadores que predicen la respuesta a la trombectomía mecánica sí son de interés. Cabe destacar que casi el 50% de los



**FIGURA 1.** Posible futura estrategia para el manejo de los tratamientos de reperusión en el ictus isquémico mediante el empleo de biomarcadores. La figura muestra el posible empleo de biomarcadores en un futuro para mejorar la seguridad y eficacia de los tratamientos de reperusión mediante el empleo sucesivo de tres hipotéticos test predictores de: transformación hemorrágica (test 1), recanalización tras tPA IV (test 2) y viabilidad tisular (test 3).

pacientes tratados con trombectomía mecánica no consigue una buena recuperación funcional a pesar de una recanalización completa tras el procedimiento, fenómeno comúnmente conocido como recanalización fútil<sup>46</sup>. Nuestro grupo demostró recientemente que niveles bajos de ADAMTS13 constituirían un predictor independiente de recanalización fútil, destacando la importancia de las vías de coagulación-fibrinólisis en este fenómeno<sup>37</sup>. La incorporación de otros marcadores reflejando vías fisiopatológicas que podrían estar relacionadas con la recanalización fútil, como la inflamación o la viabilidad tisular, podría permitir mejorar esta capacidad predictiva. Aunque se trata de un pequeño estudio que requerirá su validación adicional en cohortes

más grandes, la oportunidad de tener un predictor de recanalización fútil es atractiva, ya que permitiría evitar traslados innecesarios en pacientes con muy pocas posibilidades de una buena recuperación funcional a pesar del tratamiento endovascular, al mismo tiempo que ofrecería alternativas para estos casos como ensayos clínicos con terapias neuroprotectoras o neurorreparadoras.

Por otra parte, y en relación con las nuevas opciones que ofrece la trombectomía mecánica, cabe destacar que uno de los requisitos necesarios para poder realizar este tratamiento es la existencia de una oclusión vascular en un vaso accesible técnicamente. Hasta el momento, algunas escalas clínicas han demostrado ser predictivas de este

fenómeno<sup>47</sup>. Disponer de biomarcadores que mejoren la capacidad predictiva de estas escalas supondría la oportunidad de optimizar el manejo prehospitalario de estos pacientes, agilizando transferencias en los pacientes con oclusiones proximales candidatos a trombectomía. Resultados preliminares indican que los niveles de D-dímero podrían ser buenos candidatos para esta indicación<sup>48</sup>.

### Aspectos metodológicos y técnicos sobre el uso de biomarcadores en la fase aguda del ictus

El diagnóstico del ictus isquémico depende de su diferenciación con la hemorragia cerebral y de otras enfermedades simuladoras o *stroke-mimics*, y aún se basa en la evaluación clínica y la neuroimagen, lo cual retrasa o incluso limita el tratamiento de fase aguda. Por lo tanto, un diagnóstico precoz que permita una rápida identificación del ictus isquémico para guiar las terapias agudas aceleraría el manejo y el tratamiento de los pacientes, aumentando así el porcentaje de pacientes que reciben terapias de perfusión efectiva e individualizada. El aspecto crítico de todos estos pasos es que los biomarcadores seleccionados deberían ser realmente útiles al tomar decisiones clínicas (es decir, si aplicar un tratamiento o indicar otra prueba de diagnóstico basada en los resultados de esa prueba). Para el uso de biomarcadores diagnósticos, estos altos porcentajes de exactitud son totalmente necesarios debido a las graves complicaciones que pueden surgir ante la aplicación de un tratamiento incorrecto resultante de un falso diagnóstico, como la administración de tPA a un ictus hemorrágico.

Desde un punto de vista técnico, para el tratamiento del ictus agudo necesitamos información en minutos, al contrario que para otras indicaciones en las que el resultado podría retrasarse días, incluso semanas. Por esa razón, la aplicación de estas medidas requerirá de un dispositivo de *point-of-care* (POC) que ofrezca información casi en tiempo real para el médico tratante. Los biosensores son dispositivos bioanalíticos que incorporan elementos de reconocimiento molecular o biorreceptores (anticuerpos, sondas de ácidos nucleicos, aptámeros) asociados o integrados con transductores fisicoquímicos (principalmente ópticos, electroquímicos o micromecánicos). Dado que la captura del analito en el transductor se traduce directamente en una señal medible, los biosensores proporcionan una detección más rápida y sensible que los inmunoensayos clásicos como el ELISA<sup>49</sup>. Los biosensores electroquímicos se usan ampliamente hoy en día gracias a factores como su portabilidad, rapidez, robustez y posibilidad de implementarse en plataformas multiplexadas, lo que favorece el desarrollo

de dispositivos POC capaces de medir múltiples analitos en los servicios de urgencias<sup>50</sup>. El uso de biosensores podría ser la única forma viable para implementar el uso de biomarcadores en la atención del paciente con ictus agudo.

## BIOMARCADORES EN LAS FASES SUBAGUDA Y CRÓNICA DEL ICTUS

### Predicción del pronóstico y las complicaciones del ictus mediante biomarcadores

Desde la perspectiva del clínico, predecir el pronóstico del ictus es todo un desafío. Pacientes con ictus con características basales muy similares pueden presentar situaciones funcionales muy diferentes meses después. El pronóstico funcional después del ictus está determinado, por una parte, por la combinación de las características basales del paciente (edad, funcionalidad previa, comorbilidades) y del propio ictus (gravedad, tiempo hasta la atención). Pero, por otra parte, todas las circunstancias que ocurren más adelante en el curso de la enfermedad pueden tener un impacto significativo en el pronóstico<sup>51</sup>. Un gran número de moléculas se ha asociado con un pronóstico desfavorable después del ictus. Biomarcadores inflamatorios como la proteína C-reactiva (PCR) o varias citocinas proinflamatorias, especialmente la interleucina-6, se han asociado en numerosos estudios y metaanálisis con un mal pronóstico funcional<sup>2,52,53</sup>. Más recientemente, la coceptina ha demostrado un valor predictivo adicional al de potentes variables clínicas predictoras del pronóstico del ictus<sup>54</sup>. Los niveles del neurofilamento de cadena ligera NFL también han demostrado una asociación no solo con el pronóstico del ictus, sino también con la degeneración axonal secundaria producida tras el ictus<sup>55</sup>.

Sin embargo, la translación de estos resultados a la práctica clínica parece difícil por varias razones. Quizás la más importante es la limitada utilidad que podemos dar a dicha información. ¿Qué podemos hacer con un paciente cuando un análisis de sangre nos predice que estará discapacitado o que fallecerá a los tres meses con una probabilidad del 80%? Además de brindar información al paciente y familiares, o quizás tener en cuenta esta información para tomar difíciles decisiones (retirada de cuidados, indicación de terapias agresivas), no hay muchas opciones. Sin embargo, los biomarcadores sanguíneos podrían explorarse no solo en relación con el pronóstico desde un punto de vista global, sino también en relación con causas específicas de empeoramiento que complican el curso del ictus y empeoran el pronóstico<sup>51</sup>. Entre estas causas específicas de empeoramiento, las complicaciones del

ictus, se hallan el aumento de la presión intracraneal o las infecciones asociadas al ictus<sup>56</sup>. Si los clínicos pudiesen predecir la aparición de estas complicaciones, podrían tomar decisiones que impidan su desarrollo o aminoren sus consecuencias. De hecho, el efecto de la profilaxis o el tratamiento precoz de estas complicaciones podría suponer una mejora global del pronóstico del ictus, al evitar complicaciones que ponen en peligro la vida del paciente. Futuros ensayos clínicos deben evaluar la cuestión de si la profilaxis o el tratamiento temprano de las complicaciones posteriores al ictus, en función de su predicción o detección temprana con biomarcadores sanguíneos, podría traducirse en una mejora del pronóstico.

Algunos grupos están centrando sus esfuerzos en diseccionar los factores específicos que influyen en el pronóstico del ictus. Por ejemplo, varios estudios han abordado la utilidad de los biomarcadores en las infecciones asociadas al ictus: la expresión de HLA-DR monocítica en sangre fue un factor predictivo independiente para la predicción de infecciones posteriores en el ensayo clínico PANTHERIS<sup>57</sup>, resultados que han sido recientemente confirmados, siendo además este valor predictivo independiente de la presencia de disfgia<sup>58</sup>. Salat, et al. estudiaron el perfil Th1/Th2 mediante la evaluación de un conjunto de diferentes citocinas de características proinflamatorias (Th1) y antiinflamatorias (Th2), demostrando una capacidad predictiva superior a la que ofrecen variables clínicas aisladas<sup>59</sup>. Los niveles de moléculas neuroendocrinas como el cortisol y la noradrenalina también son de particular interés para la identificación de pacientes con ictus que posteriormente desarrollan infecciones<sup>60</sup>. Igualmente, la copeptina, un péptido derivado de la hormona precursora de la vasopresina, ha demostrado valor añadido como predictor de mal pronóstico funcional, mortalidad y complicaciones infecciosas<sup>61</sup>. El péptido procalcitonina (PCT), precursor de la hormona calcitonina, es utilizado en la práctica clínica para el diagnóstico de infecciones bacterianas en pacientes hospitalizados, aunque su papel en la predicción de las infecciones asociadas al ictus no es claro. En esta línea, algunos estudios han reportado el valor predictivo del PCT en infecciones respiratorias asociadas al ictus<sup>61,62</sup>. Sin embargo, la precisión, sensibilidad y especificidad de estos biomarcadores todavía no es suficiente para ser utilizados en clínica. Prueba de ello es el reciente fracaso del ensayo clínico STRAWINSKI<sup>63</sup>, que trataba de demostrar la superioridad de la terapia antibiótica guiada por PCT sobre el manejo convencional de las infecciones asociadas al ictus.

Después del fracaso de dos grandes ensayos clínicos sobre profilaxis antibiótica en ictus<sup>64,65</sup>, la necesidad de una mejor identificación de los

pacientes con mayor riesgo de sufrir una infección es de especial interés, ya que quizás los antibióticos profilácticos, no siendo útiles en el global de pacientes con ictus, podrían serlo en casos de muy alto riesgo. Biomarcadores altamente específicos serían deseables para esta indicación. Por otro lado, un biomarcador muy sensible para detectar infecciones postictus puede ser útil para la indicación opuesta: evitar antibióticos en pacientes con resultados negativos, incluso ante síntomas leves de infección, como fiebre o secreciones respiratorias. En este sentido, algunos candidatos podrían ser prometedores, como la proteína sérica del amiloide A (SAA), descrita en un estudio de proteómica en plasma en pacientes con ictus como un sensible predictor de infecciones<sup>66</sup>.

### Biomarcadores para el estudio etiológico del ictus

A pesar de un extenso estudio diagnóstico hospitalario, entre el 25 y el 30% de los pacientes con ictus isquémico son dados de alta sin un diagnóstico etiológico específico, lo cual supone importantes implicaciones a la hora de prescribir un tratamiento de prevención secundaria. Son los llamados ictus de origen indeterminado o criptogénicos. Se ha sugerido que la fibrilación auricular paroxística (FAp) representa la causa subyacente en un porcentaje importante de estos pacientes, especialmente en aquellos con patrón embólico (los llamados ictus embólicos de fuente indeterminada o ESUS, según su acrónimo en inglés)<sup>67</sup>.

El uso de biomarcadores sanguíneos podría ayudar en el manejo del ictus criptogénico. En este sentido, una prueba que alcanzase una alta sensibilidad para la identificación del origen cardioembólico (CE) podría utilizarse para indicar exámenes complementarios más extensos, como la monitorización cardíaca a largo plazo. Por el contrario, una prueba muy específica sería más adecuada para indicar medidas directas, como el inicio de anticoagulantes para la prevención secundaria. En un reciente metaanálisis de participantes individuales, niveles elevados de péptidos natriuréticos tipo B se han confirmado como biomarcadores potencialmente útiles para el diagnóstico del ictus de origen CE<sup>6</sup>. Además, en pacientes dados de alta con un ictus de etiología indeterminada, niveles elevados de péptidos natriuréticos se han asociado con un diagnóstico posterior de origen CE<sup>68</sup>. De igual modo, el fragmento medio-regional del péptido natriurético tipo A (MR-proANP) ha demostrado asociarse con el diagnóstico de FA de nueva aparición tras el ictus<sup>69</sup>.

Tradicionalmente, la inflamación sistémica se ha entendido como un factor de riesgo para la



complicación de la arteriosclerosis. Por tanto, una respuesta inflamatoria exagerada en el contexto de un ictus agudo podría ser indicativa de un origen aterotrombótico. Sin embargo, algunos estudios sugieren también un posible papel de la inflamación sistémica en los procesos patológicos que determinan la cardioembolia cerebral. La inflamación sistémica parece estar involucrada no solo en la patogénesis y la perpetuación de la FA<sup>70</sup>, sino también en la aparición de eventos tromboembólicos derivados de esta<sup>71</sup>. En una reciente revisión sistemática y metaanálisis, encontramos que la mayoría de los marcadores inflamatorios, especialmente la PCR, estaban elevados en los pacientes con ictus CE. En cambio, los niveles de homocisteína estaban reducidos en ictus CE en comparación con otras etiologías incluyendo ictus aterotrombótico y lacunar<sup>72</sup>. Por lo tanto, si pudiéramos identificar un marcador específico de aterosclerosis de grandes vasos para complementar los péptidos natriuréticos y/o los biomarcadores inflamatorios en un panel, el diagnóstico bioquímico de la etiología del ictus podría ser en un futuro próximo la primera indicación en la que utilicemos biomarcadores en la toma de decisiones en pacientes con ictus.

Finalmente, la utilidad de los biomarcadores etiológicos en el ictus podría no estar limitada a mejorar el estudio del ictus criptogénico, sino que podrían ser útiles en prevención primaria del ictus. Así, el estudio poblacional STROKESTOP II está explorando actualmente la utilidad de NT-proBNP en el cribado sistemático de FA<sup>73</sup>.

### Consideraciones técnicas para el uso de biomarcadores en la fase subaguda y crónica del ictus

Si durante la fase aguda del ictus la primicia «el tiempo es cerebro» debe guiar nuestra actitud en el empleo de biomarcadores, priorizando la obtención de muestras cuanto antes (a ser posible prehospitalarias) y su determinación en minutos mediante dispositivos POC, en la fase subaguda del ictus este problema no es tan apremiante, surgiendo otras cuestiones a tener en cuenta a la hora de realizar estudios de biomarcadores. En este sentido, es de especial interés cuál es el mejor momento para conseguir una buena predicción. En el caso del pronóstico global del ictus, y dada la utilidad de los marcadores inflamatorios en esta indicación, parece razonable evitar la fase más aguda del ictus y tomar muestras en torno a 48-72 horas tras el evento, que es donde la respuesta inflamatoria sistémica alcanza su máxima expresión<sup>74</sup>. Sin embargo, si queremos utilizar los biomarcadores para tomar medidas preventivas de infecciones asociadas al ictus, esta determinación debe ser más

precoz, ya que se ha descrito que hasta el 50% de las neumonías asociadas al ictus ocurren dentro de las primeras 48-72 horas<sup>75</sup>. En el caso de la etiología, la ventana temporal de 48-72 horas parece adecuada, pues la capacidad predictiva de los péptidos natriuréticos se mantiene durante este periodo<sup>6</sup>.

### OBSERVACIONES FINALES

- Hasta la fecha, ninguno de los biomarcadores plasmáticos evaluados en el ictus ha demostrado un valor predictivo suficiente como para ser utilizado en la práctica clínica. Los resultados de los principales estudios llevados a cabo se resumen en las tablas 2 y 3. El descubrimiento de nuevos biomarcadores mediante «ómicas» parece una buena alternativa, pero hay numerosas consideraciones estadísticas a tener en cuenta.
- En el ictus agudo, biomarcadores capaces de distinguir entre ictus y *stroke-mimics* podría ser de gran interés en casos leves, mientras que la discriminación entre ictus isquémico y hemorrágico en casos más graves podría permitir en el futuro la aplicación de terapias prehospitalarias.
- Más allá de la fase aguda, la predicción del pronóstico del ictus podría ser interesante, pero quizás la predicción de sus complicaciones podría tener un carácter más translacional, pues permitiría adoptar medidas terapéuticas específicas.
- Finalmente, la indicación donde el uso de biomarcadores parece más cercano a la clínica es la orientación del estudio etiológico en pacientes con ictus de origen indeterminado. Estos mismos biomarcadores podrían ser usados en prevención primaria, para adoptar estrategias preventivas individualizadas.

### FUENTES DE FINANCIACIÓN

Los autores no han recibido financiación específica para este proyecto. El Laboratorio de Investigación Neurovascular forma parte de la red de investigación en ictus INVICTUS+ (RD16/0019/0021) y recibe financiación en biomarcadores en ictus PI15/354 y PMP15/00022, cofinanciados por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER). AB es beneficiario de un contrato Juan Rodés JR16/00008 del Instituto de Salud Carlos III.

### CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

**TABLA 2.** Estudios destacados en biomarcadores o paneles de biomarcadores prometedores en diferentes indicaciones en fase aguda del ictus

Indicación	Biomarcador/es	Tamaño muestral	Asociación
Ictus vs. <i>stroke-mimics</i>	Panel (D-dímero, sRAGE, MMP-9, caspasa-3, quimerina, secretagoga) (Montaner, et al., 2011 <sup>18</sup> )	1.005	Precisión del 75,9%
	Panel (MMP-9, BNP, D-dímero, S100B) (Laskowitz, et al., 2009 <sup>19</sup> )	1.146	Precisión del 76% (ictus hemorrágico) y 69% (todos los ictus)
	Panel 1 Stroke-Chip (variables clínicas) (Bustamante, et al., 2017 <sup>21</sup> )	1.308	Ningún biomarcador en el modelo final. Precisión del 80,8%*
	Panel 2 Stroke-Chip (variables clínicas + D-dímero) (Bustamante, et al., 2017 <sup>21</sup> )	1.308	Precisión del 75,8%*
Ictus isquémico vs. ictus hemorrágico	S100B, sRAGE (Montaner, et al., 2012 <sup>25</sup> )	915	Precisión del 76,2%
	RBP-4, GFAP (Llombart, et al., 2016 <sup>27</sup> )	66	Especificidad del 100% para ambos subtipos. Precisión del 87,5%
	Panel 1 Stroke-Chip (variables clínicas + NT-proBNP y endostatina) (Bustamante, et al., 2017 <sup>21</sup> )	1.115	Precisión del 80,6%*
	Panel 2 Stroke-Chip (variables clínicas + NT-proBNP y endostatina) (Bustamante, et al., 2017 <sup>21</sup> )	1.115	Precisión del 77,7%*
Transformación hemorrágica	MMP-9 (Montaner, et al., 2003 <sup>5</sup> )	41	Predictor independiente de TH
	cFn (Castellanos, et al., 2004 <sup>32</sup> )	87	Predictor independiente de TH
	VAP-1 (Hernández-Guillamón, et al., 2010 <sup>34</sup> )	141	Predictor independiente de TH
	NURR-1 (Merino-Zamorano, et al., 2015 <sup>33</sup> )	28	Asociado con TH (sensibilidad del 83,3%, especificidad del 81,7%)
Recanalización tras tPA	PAI-1 (Ribó, et al., 2004 <sup>4</sup> )	44	Predictor independiente de recanalización
	FSAP (Bustamante, et al., 2016 <sup>36</sup> )	120	Valor predictivo adicional del 5,5% sobre predictores clínicos de recanalización
	ADAMTS13 (Bustamante, et al., 2018 <sup>37</sup> )	108	Valor predictivo adicional del 10,35% sobre predictores clínicos de recanalización
Recanalización fútil tras trombectomía	ADAMTS13 (Bustamante, et al., 2018 <sup>37</sup> )	78	Valor predictivo adicional del 10,06% sobre predictores clínicos de recanalización fútil

sRAGE: receptor soluble para productos finales de glicación avanzada; MMP-9: metaloproteasa de matriz 9; BNP: péptido natriurético tipo B; RBP-4: proteína fijadora de retinol 4; GFAP: proteína glial fibrilar ácida; NT-proBNP: fragmento N-terminal del péptido natriurético tipo B; VAP-1: proteína de adhesión vascular 1; cFn: fibronectina celular; NURR-1: factor relacionado con el factor de transcripción nuclear 1; PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno 1; FSAP: proteasa activadora del factor VII; ADAMTS13: proteasa de clivaje del factor de von Willebrand; TH: transformación hemorrágica.

\*Las diferencias en la precisión en los paneles 1 y 2 se deben a las diferentes variables clínicas utilizadas al ajustar los modelos. El modelo 1 incluye la gravedad del ictus evaluada mediante la escala NIHSS, mientras que el modelo 2 no incluye esta escala.

**TABLA 3.** Estudios destacados en biomarcadores o paneles de biomarcadores prometedores en diferentes indicaciones en fase subaguda/crónica del ictus

Indicación	Biomarcador/es	Tamaño muestral	Asociación
Pronóstico global	PCR (Bustamante, et al., 2016 <sup>2</sup> )	46 estudios (revisión sistemática)	Niveles elevados de PCR asociados a mal pronóstico en el 87% de los estudios
	IL-6 (Whiteley, et al., 2009 <sup>53</sup> )	20 estudios, 4.389 pacientes (metaanálisis)	IL-6 en el 4.º cuartil, predictor independiente de mal pronóstico (OR: 2,3), valor predictivo adicional marginal (1,5%)
	Copeptina (de Marchis, et al., 2019 <sup>54</sup> )	1.102	Índice de reclasificación neta del 46% sobre variables clínicas
	NfL (Tiedt, et al., 2018 <sup>55</sup> )	196	Predictor independiente de mal pronóstico a los 3 meses (OR: 2,35)
Infección asociada al ictus	mHLA-DR (Hoffman, et al., 2017 <sup>58</sup> )	486	Predictor independiente de neumonía junto con disfagia
	Panel Th1/Th2 (Salat, et al., 2013 <sup>59</sup> )	92	Mejoría de la discriminación sobre variables clínicas del 17%
	Copeptina (Fluri, et al. 2012 <sup>61</sup> )	383	Valor predictivo del 92% junto al recuento leucocitario y PCR
	PCT (Fluri, et al. 2012 <sup>61</sup> )	383	Valor predictivo del 90% junto al recuento leucocitario y PCR
	SAA (Arzumendi, et al., 2017 <sup>66</sup> )	100	Niveles elevados desde el ingreso en pacientes que desarrollan neumonía
Etiología del ictus	BNP (Llombart, et al., 2015 <sup>6</sup> )	1.570 (metaanálisis)	Mejoría de la discriminación sobre variables clínicas del 9,5% (cuartil inferior) para ictus CE
	NT-proBNP (Llombart, et al., 2015 <sup>6</sup> )	1.264 (metaanálisis)	Mejoría de la discriminación sobre variables clínicas del 14% (cuartil superior) para ictus CE
	MR-proANP (Frontzek, et al., 2014 <sup>69</sup> )	187	Mejoría de la predicción de FA de nuevo diagnóstico sobre variables clínicas (AUC: 0,69-0,85)
	PRC (Piccardi, et al., 2017 <sup>72</sup> )	2.751 (metaanálisis)	Aumentada en ictus CE sobre las demás etiologías (SMD: 0,223)
	Homocisteína (Piccardi, et al., 2017 <sup>72</sup> )	2.417 (metaanálisis)	Disminuida en ictus CE respecto a otras etiologías (SMD: -0,184)

CE: cardioembólico; PCR: proteína C reactiva; IL-6: interleucina 6; NfL: neurofilamento de cadena ligera; mHLA-DR: HLA-DR monocítica; PCT: procalcitonina; SAA: proteína sérica del amiloide A; BNP: péptido natriurético tipo B; NT-proBNP: fragmento N-terminal del péptido natriurético tipo B; MR-proANP: fragmento medio-regional del péptido natriurético tipo A. OR: *odds ratio*; AUC: área bajo la curva; SMD: diferencia estandarizada de medias.

- Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 2001; 69:89-95.
- Bustamante A, Simats A, Vilar-Bergua A, García-Berrococo T, Montaner J. Blood/brain biomarkers of inflammation after stroke and their association with outcome: From C-reactive protein to damage-associated molecular patterns. *Neurotherapeutics.* 2016;13:671-84.
- Rosell A, Cuadrado E, Alvarez-Sabín J, Hernández-Guillamón M, Delgado P, Penalba A, et al. Caspase-3 is related to infarct growth after human ischemic stroke. *Neurosci Lett.* 2008;430:1-6.
- Ribo M, Montaner J, Molina CA, Arenillas JF, Santamarina E, Quintana M, et al. Admission fibrinolytic profile is associated with symptomatic hemorrhagic transformation in stroke patients treated with tissue plasminogen activator. *Stroke.* 2004; 35:2123-7.
- Montaner J, Molina CA, Monasterio J, Abilleira S, Arenillas JF, Ribó M, et al. Matrix metalloproteinase-9 pretreatment level predicts intracranial hemorrhagic complications after thrombolysis in human stroke. *Circulation.* 2003;107:598-603.
- Llombart V, Antolin-Fontes A, Bustamante A, Giral D, Rost NS, Furie K, et al. B-type natriuretic peptides help in cardioembolic stroke diagnosis: pooled data meta-analysis. *Stroke.* 2015;46:1187-95.
- García-Berrococo T, Giral D, Bustamante A, Llombart V, Rubiera M, Penalba A, et al. Role of beta-defensin 2 and interleukin-4 receptor as stroke outcome biomarkers. *J Neurochem.* 2014;129:463-72.
- Cuadrado E, Rosell A, Colome N, Hernández-Guillamón M, García-Berrococo T, Ribo M, et al. The proteome of human brain after ischemic stroke. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2010;69:1105-15.
- Ning M, Lopez M, Cao J, Buonanno FS, Lo EH. Application of proteomics to cerebrovascular disease. *Electrophoresis.* 2012;33:3582-97.
- Mellick GD, Silburn PA, Sutherland GT, Siebert GA. Exploiting the potential of molecular profiling in Parkinson's disease: current practice and future probabilities. *Expert Rev Mol Diagn.* 2010;10:1035-50.
- Abu-Asab MS, Chaouchi M, Alesci S, Galli S, Laassri M, Cheema AK, et al. Biomarkers in the age of omics: time for a systems biology approach. *OMICS.* 2011; 15:105-12.
- Bustamante A, García-Berrococo T, Katan M, et al. European neurologists' opinion on clinical indications for stroke biomarkers. 2nd European Stroke Organisation Conference. Barcelona, España; 10-12 de mayo de 2016.
- Hand PJ, Kwan J, Lindley RJ, et al. Distinguishing between stroke and mimic at the bedside: the brain attack study. *Stroke.* 2006;37:769-75.
- Goyal M, Menon BK, van Zwam WH, et al. Endovascular thrombectomy after large-vessel ischaemic stroke: a meta-analysis of individual patient data from five randomised trials. *Lancet.* 2016;387:1723-31.
- Albers GW. Diffusion-weighted MRI for evaluation of acute stroke. *Neurology.* 1998; 51:S47-9.
- Patel SC, Levine SR, Tilley BC, et al.; National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group. Lack of clinical significance of early ischemic changes on computed tomography in acute stroke. *JAMA.* 2001;286:2830-8.
- Sequeira D, Martin-Gill C, Kesinger MR, et al. Characterizing strokes and stroke mimics transported by helicopter emergency medical services. *Prehosp Emerg Care.* 2016;20:723-8.
- Montaner J, Mendioroz M, Ribó M, et al. A panel of biomarkers including caspase-3 and D-dimer may differentiate acute stroke from stroke-mimicking conditions in the emergency department. *J Intern Med.* 2011;70:166-74.
- LaskowitzDT, Kasner SE, Saver J, et al. Clinical usefulness of a biomarker-based diagnostic test for acute stroke: the Biomarker Rapid Assessment in Ischemic Injury (BRAIN) study. *Stroke.* 2009;40:77-85.
- Wendt M, Ebinger M, Kunz A, et al.; STEMO Consortium. Copeptin levels in patients with acute ischemic stroke and stroke mimics. *Stroke.* 2015;46:2426-31.
- Bustamante A, López-Cancio E, Pich S, et al. Blood biomarkers for the early diagnosis of stroke. The Stroke-Chip study. *Stroke.* 2017;48:2419-25.
- Brott T, Adams Jr HP, Olinger CP, et al. Measurements of acute cerebral infarction: a clinical examination scale. *Stroke.* 1989;20:864-70.
- Ebinger M, Winter B, Wendt M, et al.; STEMO Consortium. Effect of the use of ambulance-based thrombolysis on time to thrombolysis in acute ischemic stroke: a randomized clinical trial. *JAMA.* 2014;311:1622-31.
- Perry LA, Lucarelli T, Penny-Dimrie JC, et al. Glial fibrillary acidic protein for the early diagnosis of intracerebral hemorrhage: Systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy. *Int J Stroke.* 2019;14:390-9.
- Montaner J, Mendioroz M, Delgado P, et al. Differentiating ischemic from hemorrhagic stroke using plasma biomarkers: the S100B/RAGE pathway. *J Proteomics.* 2012;75:4758-65.
- Allard L, Lescuyer P, Burgess J, et al. ApoC-I and ApoC-III as potential plasmatic markers to distinguish between ischemic and hemorrhagic stroke. *Proteomics.* 2004;4:2242-51.
- Llombart V, García-Berrococo T, Bustamante A, et al. Plasmatic retinol-binding protein 4 and glial fibrillary acidic protein as biomarkers to differentiate ischemic stroke and intracerebral hemorrhage. *J Neurochem.* 2016;136:416-24.
- Demchuk AM, Tanne D, Hill MD, et al.; Multicentre tPA Stroke Survey Group. Predictors of good outcome after intravenous tPA for acute ischemic stroke. *Neurology.* 2001;57:474-80.
- Saqqur M, Uchino K, Demchuk AM, et al.; CLOTBUST Investigators. Site of arterial occlusion identified by transcranial Doppler (TCD) predicts the response to intravenous thrombolysis for stroke. *Stroke.* 2007;38:948-54.
- Alexandrov AV. Current and future recanalization strategies for acute ischemic stroke. *J Intern Med.* 2010;267:209-19.
- Wardlaw JM, Murray V, Berge E, et al. Thrombolysis for acute ischaemic stroke. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;7:CD000213.
- Castellanos M, Leira R, Serena J, et al. Plasma cellular-fibronectin concentration predicts hemorrhagic transformation after thrombolytic therapy in acute ischemic stroke. *Stroke.* 2004;35:1671-6.
- Merino-Zamorano C, Hernández-Guillamón M, Jullienne A, et al. NURR1 involvement in recombinant tissue-type plasminogen activator treatment complications after ischemic stroke. *Stroke.* 2015;46:477-84.
- Hernández-Guillamón M, García-Bonilla L, Sole M, et al. Plasma VAP-1/SSAO activity predicts intracranial hemorrhages and adverse neurological outcome after tissue plasminogen activator treatment in stroke. *Stroke.* 2010;41:1528-35.
- Ribo M, Montaner J, Molina CA, et al. Admission fibrinolytic profile is associated with symptomatic hemorrhagic transformation in stroke patients treated with tissue plasminogen activator. *Stroke.* 2004;35:2123-7.
- Bustamante A, Díaz-Fernández B, Giral D, et al. Factor seven activating protease (FSAP) predicts response to intravenous thrombolysis in acute ischemic stroke. *Int J Stroke.* 2016;11:646-5.
- Bustamante A, Ning M, García-Berrococo T, et al. Usefulness of ADAMTS13 to predict response to recanalization therapies in acute ischemic stroke. *Neurology.* 2018;90:e995-e1004.
- Kim BJ, Han MK, Park TH, et al. Low-versus standard-dose alteplase for ischemic strokes within 4.5 hours: a comparative effectiveness and safety study. *Stroke.* 2015;46:2541-8.
- Berkhemer OA, Fransen PS, Beumer D, et al.; MR CLEAN Investigators. A randomized trial of intraarterial treatment for acute ischemic stroke. *N Engl J Med.* 2015;372:11-20.
- Goyal M, Demchuk AM, Menon BK, et al.; ESCAPE Trial Investigators. Randomized assessment of rapid endovascular treatment of ischemic stroke. *N Engl J Med.* 2015;372:1019-30.
- Saver JL, Goyal M, Bonafe A, et al.; SWIFT PRIME Investigators. Stent-retriever thrombectomy after intravenous t-PA vs. t-PA alone in stroke. *N Engl J Med.* 2015; 372:2285-95.
- Campbell BC, Mitchell PJ, Kleinig TJ, et al.; EXTEND-IA Investigators. Endovascular therapy for ischemic stroke with perfusion-imaging selection. *N Engl J Med.* 2015;372:1009-18.
- Jovin TG, Chamorro A, Cobo E, et al.; REVASCAT Trial Investigators. Thrombectomy within 8 hours after symptom onset in ischemic stroke. *N Engl J Med.* 2015; 372:2296-306.
- Cappellari M, Turcato G, Forlivesi S, et al. STARTING-SICH Nomogram to predict symptomatic intracerebral hemorrhage after intravenous thrombolysis for stroke. *Stroke.* 2018;49:397-404.
- Yoon W, Jung MY, Jung SH, et al. Subarachnoid hemorrhage in a multimodal approach heavily weighted toward mechanical thrombectomy with solitaire stent in acute stroke. *Stroke.* 2013;44:414-9.
- Hussein HM, Georgiadis AL, Vazquez G, et al. Occurrence and predictors of futile recanalization following endovascular treatment among patients with acute ischemic stroke: a multicenter study. *Am J Neuroradiol.* 2010;31:454-8.
- Pérez de la Ossa N, Carrera D, Gorchs M, et al. Design and validation of a prehospital scale to predict large arterial occlusion. The rapid arterial occlusion evaluation scale. *Stroke.* 2014;45:87-91.
- López-Cancio E, Bustamante A, García-Berrococo T, et al. D-dimer as a predictor of large vessel occlusion in acute ischemic stroke. 3<sup>rd</sup> European Stroke Organisation Conference. Praga, República checa; 16-18 de mayo de 2017.
- Luo X, Davis JJ. Electrical biosensors and the label free detection of protein disease biomarkers. *Chem Soc Rev.* 2013;42:5944-62.
- Herrasti Z, Olivé-Monllau R, Muñoz-Pascual FX, et al. Electrochemical biosensing of non-electroactive targets using ferrocene-labeled magnetic particles and CNT wiring. *Analyst.* 2014;139:1334-9.
- Bustamante A, García-Berrococo T, Rodríguez N, et al. Ischemic stroke outcome: A review of the influence of post-stroke complications within the different scenarios of stroke care. *Eur J Intern Med.* 2016;29:9-21.
- Whiteley W, Chong WL, Sengupta A, et al. Blood markers for the prognosis of ischemic stroke: a systematic review. *Stroke.* 2009;40:e380-9.
- Bustamante A, Sobrino T, Giral D, et al. Prognostic value of blood interleukin-6 in the prediction of functional outcome after stroke: a systematic review and meta-analysis. *J Neuroimmunol.* 2014;274:215-24.
- De Marchis GM, Dankowski T, König IR, et al. A novel biomarker-based prognostic score in acute ischemic stroke: The CoRisk score. *Neurology.* 2019;92:e1517-25.
- Tiedt S, Düring M, Barro C, et al. Serum neurofilament light: A biomarker of neuroaxonal injury after ischemic stroke. *Neurology.* 2018;91:e1338-47.
- Bustamante A, Giral D, García-Berrococo T, et al. The impact of post-stroke complications on in-hospital mortality depends on stroke severity. *Eur Stroke J.* 2017;2:54-63.
- Harms H, Prass K, Meisel C, et al. Preventive antibacterial therapy in acute ischemic stroke: a randomized controlled trial. *PLoS One.* 2008;3:e2158.
- Hoffmann S, Harms H, Ulm L, et al.; PREDICT Investigators. Stroke-induced immunodepression and dysphagia independently predict stroke-associated pneumonia - The PREDICT study. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2017;37:3671-82.

59. Salat D, Penalba A, García-Berrocso T, et al. Immunological biomarkers improve the accuracy of clinical risk models of infection in the acute phase of ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis.* 2013;35:220-7.
60. Urra X, Cervera A, Obach V, et al. Monocytes are major players in the prognosis and risk of infection after acute stroke. *Stroke.* 2009;40:1262-8.
61. Fluri F, Morgenthaler NG, Mueller B, et al. Copeptin, procalcitonin and routine inflammatory markers-predictors of infection after stroke. *PLoS One.* 2012;7:e48309.
62. Hug A, Murle B, Dalpke A, et al. Usefulness of serum procalcitonin levels for the early diagnosis of stroke-associated respiratory tract infections. *Neurocrit Care.* 2011;14:416-22.
63. Ulm L, Hoffmann S, Nabavi D, et al. The randomized controlled STRAWINSKI trial: Procalcitonin-guided antibiotic therapy after stroke. *Front Neurol.* 2017;8:153.
64. Westendorp WF, Vermeij JD, Zock E, et al.; for the PASS investigators. The Preventive Antibiotics in Stroke Study (PASS): a pragmatic randomised open-label masked endpoint clinical trial. *Lancet.* 2015;385:1519-26.
65. Kalra L, Irshad S, Hodson J, et al. Prophylactic antibiotics after acute stroke for reducing pneumonia in patients with dysphagia (STROKEINF): a prospective, cluster-randomised, open-label, masked endpoint, controlled clinical trial. *Lancet.* 2015;386:1835-44.
66. Azurmendi L, Lapierre-Fetaud V, Schneider J, et al. Proteomic discovery and verification of serum amyloid A as a predictor marker of patients at risk of post-stroke infection: a pilot study. *Clin Proteomics.* 2017;14:27.
67. Hart RG, Diener HC, Coutts SB, et al.; Cryptogenic Stroke/ESUS International Working Group. Embolic strokes of undetermined source: the case for a new clinical construct. *Lancet Neurol.* 2014;13:429-48.
68. Santamarina E, Penalba A, García-Berrocso T, et al. Biomarker level improves the diagnosis of embolic source in ischemic stroke of unknown origin. *J Neurol.* 2012; 259:2538-45.
69. Frontzek K, Fluri F, Siemerkus J, et al. Isolated insular strokes and plasma MR-proANP levels are associated with newly diagnosed atrial fibrillation: a pilot study. *PLoS One.* 2014;9:e92421.
70. Hu YF, Chen YJ, Lin YJ, et al. Inflammation and the pathogenesis of atrial fibrillation. *Nat Rev Cardiol.* 2015;12:230-43.
71. Wu N, Chen X, Cai T, et al. Association of inflammatory and hemostatic markers with stroke and thromboembolic events in atrial fibrillation: a systematic review and meta-analysis. *Can J Cardiol.* 2015;31:278-86.
72. Piccardi B, Giral D, Bustamante A, et al. Blood markers of inflammation and endothelial dysfunction in cardioembolic stroke: systematic review and meta-analysis. *Biomarkers.* 2017;22:200-9.
73. Engdahl J, Svennberg E, Friberg L, et al. Stepwise mass screening for atrial fibrillation using N-terminal pro B-type natriuretic peptide: the STROKESTOP II study design. *Europace.* 2017;19:297-302.
74. Ramiro L, Simats A, García-Berrocso T, et al. Inflammatory molecules might become both biomarkers and therapeutic targets for stroke management. *Ther Adv Neurol Disord.* 2018;11:1756286418789340.
75. Finlayson O, Kapral M, Hall R, et al.; Canadian Stroke Network; Stroke Outcome Research Canada (SORCan) Working Group. Risk factors, inpatient care, and outcomes of pneumonia after ischemic stroke. *Neurology.* 2011;77:1338-45.