



Școala doctorală de Medicină

Domeniul de doctorat: MEDICINĂ

## REZUMAT TEZĂ DE DOCTORAT

### **CONTRIBUȚII LA STUDIUL ROLULUI INFLAMAȚIEI, COAGULĂRII ȘI ATEROGENEZEI ÎN PATOGENEZA ACCIDENTULUI VASCULAR CEREBRAL ISCHEMIC ACUT**

Doctorand:

Maria-Gabriela Catană (căs. Vlădoiu)

Conducător de doctorat:

Prof. Univ. Dr. Romeo-Gabriel Mihăilă



Școala doctorală de Medicină

Domeniul de doctorat: MEDICINĂ

## TEZĂ DE DOCTORAT

**CONTRIBUȚII LA STUDIUL ROLULUI INFLAMAȚIEI,  
COAGULĂRII ȘI ATEROGENEZEI ÎN PATOGENEZA  
ACCIDENTULUI VASCULAR CEREBRAL ISCHEMIC ACUT**

Doctorand:

Maria-Gabriela Catană (căs. Vlădoiu)

Conducător de doctorat:

Prof. Univ. Dr. Romeo-Gabriel Mihăilă

## CUPRINS

Motivația alegerii temei .....	4
Introducere .....	5
Partea I – stadiul actual al cunoașterii .....	5
Capitolul I – Considerații generale despre accidentul vascular cerebral ischemic .....	5
1.1 Definiție și fiziopatologie .....	5
1.2 Date epidemiologice și factori de risc .....	6
1.3 Diagnosticul accidentului vascular cerebral ischemic .....	8
1.4 Tratamentul accidentului vascular cerebral ischemic .....	11
Capitolul II – Modificări inflamatorii în accidentul vascular cerebral ischemic .....	15
2.1 Cascada inflamației post ischemie cerebrală .....	15
2.2 Biomarkeri în accidentul vascular cerebral ischemic .....	17
2.3 Influența hormonilor tiroidieni în patologia AVC ischemic .....	26
2.4 Stadiul actual al cercetării .....	28
Capitolul III – Modificări inflamatorii în boala aterosclerotică .....	31
3.1 Definiție, factori de risc și fiziopatologie .....	31
3.2 Rolul inflamației în boala aterosclerotică .....	36
3.3 Biomarkeri în boala aterosclerotică .....	38
3.4 Stadiul actual al cercetării – perspective de tratament .....	43
Partea II – Contribuția personală .....	52
1. Obiectivele primare și secundare ale tezei .....	52
2. Metodologia generală a cercetării. Considerații etice. ....	53
3. Analiza statistică .....	54
STUDIUL 1 – Evaluarea reactanților standard de fază acută (hsPCR, raport neutrofile/limfocite – NEU/LYM, raport trombocite/limfocite – PLT/LYM) în inflamația cauzată de AVC ischemic .....	55
1.1 Introducere .....	55
1.2 Material și metode .....	56
1.3 Analiza statistică .....	57

1.4 Rezultate .....	57
1.5 Discuții .....	65
1.6 Concluzii .....	68
STUDIUL 2 – Evaluarea reactanților specifici (interleukina 6, interleukina 1 $\beta$ și TNF-alpha) de faza acută în inflamația cauzată de AVC ischemic acut .....	70
2.1 Introducere .....	70
2.2 Material și metode .....	71
2.3 Analiza statistică .....	73
2.4 Rezultate .....	74
2.5 Discuții .....	104
2.6 Concluzii .....	107
STUDIUL 3 – Importanța disfuncției tiroidiene în accidentul vascular cerebral ischemic acut .....	109
3.1 Introducere .....	109
3.2 Material și metode .....	109
3.3 Analiza statistică .....	111
3.4 Rezultate .....	111
3.5 Discuții .....	116
3.6 Concluzii .....	118
CONCLUZII GENERALE .....	120
Contribuții personale și elemente de originalitate ale tezei .....	124
Bibliografie .....	125
Anexe .....	139
Lista abrevierilor .....	139
Scale folosite .....	140
Tabele .....	148
Figuri .....	150
Lista de publicații .....	153
Aprobarea comisiei de etică .....	154

## Motivația alegerii temei

Asociația Americană de Stroke definește accidentul vascular cerebral ca un episod de disfuncție neurologică cauzată de un infarct focal cerebral, spinal sau retinian. Accidentul vascular cerebral produce anual 9% din totalul deceselor din întreaga lume, fiind totodată una din importante cauze de dizabilitate (1). Cea mai comună cauză de producere a accidentelor vasculare cerebrale este ocluzia vaselor de sânge la nivel cerebral, prin trombozare sau embolie (85% din accidentele vasculare cerebrale sunt ischemice) (1). Contrar tuturor anilor de studiu, opțiunile terapeutice pentru accidentul vascular sunt limitate, majoritatea pacienților primind doar tratament suportiv. Studiile recente arată că recidiva unui accident vascular cerebral poate apărea la 12-20% dintre pacienți, în primele 90 de zile (2). Printre multipli factori de risc ai accidentului vascular se numără: hipertensiunea arterială, fibrilația atrială, diabetul zaharat, dislipidemia, ateroscleroza, bolile cu potențial trombogen – trombofilia, obezitatea. Boala aterosclerotică este unul din factorii de risc principali ai accidentului vascular. Studiile arată că 5% dintre femei și 12% dintre bărbați au o stenoză carotidiană moderată asimptomatică (diametrul carotidei redus între 50% și 70%) (2).

În lucrarea de față mi-am propus să studiez rolul inflamației generată de producerea unui accident vascular cerebral ischemic și rolul acesteia în ceea ce privește atât boala aterosclerotică, cât și prognosticul acestor pacienți. Lucrarea de față este originală prin faptul că la finalul acesteia îmi propun să alcătuiesc un scor de risc pentru stabilirea severității și a prognosticului la pacienții care au suferit o ischemie cerebrală. Acest scor ar trebui să fie de un real folos în practica de zi cu zi a clinicienilor din secțiile de neurologie și nu numai care se întâlnesc atât de des cu aceasta patologie.

**Cuvinte cheie:** accident vascular cerebral ischemic, inflamație, interleukina 6, interleukina 1 $\beta$ , factor de necroza tumorală  $\alpha$ , SARS-COV2, hormoni tiroidieni, ateromatoză, hipotiroidism subclinic, hipertiroidism subclinic.

## Introducere

### Partea I – stadiul actual al cunoașterii

Accidentul vascular cerebral este definit ca un episod de disfuncție neurologică cauzată de un infarct focal cerebral, spinal sau retinian. Accidentul vascular cerebral produce anual 9% din totalul deceselor din întreaga lume, fiind totodată una din importantele cauze de dizabilitate [1].

Accidentul vascular cerebral ischemic, care este cauzat de obstrucția unui vas de sânge de către un tromb, reprezintă 87% din totalul accidentelor vasculare cerebrale [1].

După ani de cercetări aprofundate și contrar progreselor în înțelegerea fiziopatologiei accidentului vascular cerebral, opțiunile terapeutice pentru accidentele vasculare cerebrale rămân foarte restrânse. Momentan, singura terapie aprobată pentru tratarea ischemiei acute cerebrale este administrarea intravenoasă de activator recombinat tisular-plasminogen (rt-PA) împreună cu trombectomia mecanică endovasculară pentru a elimina trombul [2]. Cu toate acestea, tratamentul cu rt-PA prezintă un risc semnificativ de sângerare. În plus, fereastra de acțiune are un timp redus și se administrează în 4,5 ore de la debutul simptomelor. Această limitare reduce la aproximativ 15% numărul de pacienți cu AVC care pot fi tratați. Deși trombectomia mecanică și-a demonstrat recent eficacitatea chiar și la 24 de ore de la debutul evenimentului cerebrovascular, se caută terapii neuroprotectoare pentru a salva țesutul compromis în zona de peri-infarct a creierului [3].

Atât accidentul vascular cerebral hemoragic cât și cel ischemic duc la infarctizarea permanentă a neuronilor situați la bază și în centrul regiunii afectate. Zona care înconjoară partea infarctizată conține neuroni în oligoemie. Acest lucru face ca penumbra ischemică să fie o țintă promițătoare pentru posibilele terapii ale accidentului vascular cerebral. Dovezile acumulate de-a lungul anilor de studii susțin faptul că inflamația are un rol cheie în patofiziologia plăcii aterosclerotice și destabilizarea acesteia. Studiile indică implicarea celulelor inflamatorii în toate etapele dezvoltării aterosclerozei. Monocitele circulante migrează transendotelial inițiind formarea plăcii aterosclerotice, ca răspuns la factorii de risc externi cum ar fi tensiunea arterială, fluxul non-laminar, constituenții fumului de țigară și angiotensina 2 [4]. Retenția lipoproteinelor cu densitate scăzută (LDL) din matricea extracelulară a peretelui arterial este însoțită de diferențierea monocitelor și a macrofagelor. Diferențierea macrofagelor se realizează în subgrupe și anume macrofage pro-inflamatorii (macrofage M1), cu rol în exprimarea locală a citokinelor proinflamatorii, în particular interleukina 1-beta (IL-1  $\beta$ ) și factorul de necroză tumorală-alfa (TNF- $\alpha$ ). Citokinele, cum ar fi factorul de creștere derivat din plachete au rol în recrutarea și proliferarea celulelor

musculare netede în stratul de celule endoteliale, care exprimă proteine matriceale, cum ar fi colagenul și elastina [5].

Aproape toate componentele unității neurovasculare, inclusiv celulele endoteliale, pericitele, neuronii și celulele gliale, sunt implicate în dezvoltarea leziunii neurovasculare. Celulele endoteliale formează o interfață dinamică între bariera hemato-encefalică și țesuturile periferice, care sunt esențiale pentru menținerea homeostaziei neurovasculare. În consecință, leziunea la nivelul celulelor endoteliale este considerată unul dintre primele simptome ale ischemiei cerebrale. Pericitele inițial au fost recunoscute ca un tip de celulă contractilă cu rol în reglarea tonusului neurovascular, însă mai târziu, s-a descoperit că răspund și la leziuni legate de stresul cauzat de patologia cerebrală. Pierderea celulelor gliale normale poate contribui la reducerea suportului pentru neuroni și la apariția unor disfuncții la nivelul unității neurovasculare. Astrocitele și microglia sunt celulele primare responsabile de sistemul imunitar de la nivelul sistemului nervos central cu rol în controlul invaziei patogene. Această neuroglie produce de asemenea semnale pentru activare și recrutare a celulelor care contribuie la imunitatea adaptivă pentru a elimina în cele din urmă infecția. Atrofia cerebrală este, de asemenea, un factor semnificativ care afectează integritatea unității neurovasculare [3-6].

Accidentul vascular cerebral este a doua cauză de deces la nivel global. Afectează aproximativ 13,7 milioane de oameni și ucide aproximativ 5,5 milioane anual. Aproximativ 87% dintre accidentele vasculare cerebrale sunt infarcte ischemice, o prevalență care a crescut substanțial în ultimii ani. Incidența accidentului vascular cerebral s-a dublat în țările cu venituri mici și medii, dar a scăzut cu peste 42% în țările cu venituri mari [7].

Incidența accidentului vascular cerebral crește odată cu vârsta, dublându-se după vârsta de 55 de ani. Cu toate acestea, într-o tendință alarmantă, accidentele vasculare cerebrale la persoanele cu vârsta cuprinsă între 20 și 54 de ani au crescut de la 12,9% la 18,6% la nivel global. Cu toate acestea, ratele de deces atribuibile standardizate în funcție de vârstă a scăzut cu 36,2% în aceeași perioadă [5-7]. Cea mai mare incidență raportată a accidentului vascular cerebral este în China, unde afectează aproximativ 331-378 de indivizi la 100.000 de ani de viață. A doua cea mai mare rată este în Europa de Est (181-218 la 100.000 de ani de viață) și cea mai scăzută în America Latină (85-100 la 100.000 de ani de viață) [8].

Apariția accidentului vascular cerebral la bărbați și femei depinde și de vârstă. Incidența este mai mare la vârste mai mici la femei, în timp ce crește ușor odată cu înaintarea în vârstă la bărbați. Riscul înalt de accident vascular cerebral la femei se datorează factorilor legați de sarcină, cum ar fi preeclampsia, utilizarea contraceptivelor și terapia hormonală, precum și migrena cu aură [9]. Fibrilația atrială crește

riscul de accident vascular cerebral la femeile peste 75 de ani cu 20%. Pe baza NIHSS (National Institute of Health Stroke Scale) pentru AVC (0 = fără AVC, 1–4 = AVC minor, 5–15 = AVC moderat, 15–20 = AVC moderat/sever, 21–42 = AVC sever), severitatea medie a accidentului vascular cerebral a fost estimată la 10 puncte pentru femei și 8,2 puncte pentru bărbați. Atât infarctul cerebral cât și hemoragia intracerebrală (ICH) sunt frecvente la bărbați, dar accidentul vascular cerebral cardioembolic, este mai răspândit în rândul femeilor. Rata mortalității pentru accidentul vascular cerebral este, de asemenea, mai mare printre femei [5–7]. Pentru bărbați, cele mai frecvente cauze ale accidentului vascular cerebral sunt fumatul de tutun, consumul excesiv de alcool, infarctul miocardic și patologii arteriale [9].

Un studiu recent care a analizat prevalența accidentului vascular cerebral și a riscurilor aferente a examinat demografia, comportamentul, caracteristicile fizice, istoricul medical și analizele de laborator și a dezvăluit contribuția expunerii la poluarea aerului și a particulelor la mortalitatea prin accident vascular cerebral [10]. Un alt studiu a constatat că hipertensiunea arterială este un risc semnificativ statistic pentru AVC, în special AVC ischemic [11]. Un studiu realizat în Statele Unite (SUA) a identificat, de asemenea hipertensiunea arterială ca și cauză majoră a accidentului vascular cerebral și a descris variațiile geografice în ceea ce privește gravitatea simptomelor AVC ischemic. Activitatea fizică insuficientă, obiceiuri alimentare proaste și consumul de nicotină și alcool au fost considerate riscuri suplimentare [12]. Diferențele de expunere la poluanții de mediu, cum ar fi plumbul și cadmiul, de asemenea, au influențat incidența accidentului vascular cerebral în diferite regiuni. Acest studiu a dezvăluit, de asemenea, diferențe în incidența accidentului vascular cerebral între populațiile albe și negre non-hispanice cu vârsta cuprinsă între 40-50 de ani [13].

Există o relație invers-proportională puternică între accidentul vascular cerebral și starea socio-economică a pacienților, lucru care se datorează unităților spitalicești inadecvate și îngrijirii post-accident vascular cerebral în rândul persoanelor cu venituri mici [14]. Un studiu de caz realizat în SUA a arătat că persoanele cu statut financiar ridicat au avut opțiuni de tratament pentru AVC mai bune decât persoanele defavorizate [15]. Cercetări efectuate în Austria au asociat nivelul de educație cu adoptarea unor tratamente sau examinări paraclinice precum ecocardiografia și terapia logopedică; cu toate acestea, nu a existat nicio diferență în administrarea trombolizei, a terapiei ocupaționale, fizioterapiei sau îngrijirii pentru accident vascular cerebral secundar în funcție de statutul socioeconomic [17]. În mod similar, în sistemul de asistență medicală scoțian, tratamente de bază, cum ar fi tromboliza, au fost furnizate indiferent de starea economică a pacienților [18].



Standardul de aur actual în ceea ce privește evaluarea accidentului vascular cerebral este imagistica cerebrală și neurovasculară, în plus față de evaluarea clinică a severității accidentului vascular cerebral folosind scala NIHSS. Tomografia computerizată fără contrast a creierului este rapidă, disponibilă pe scară largă și rentabilă. Este folosită ca imagistică primară la pacienții cu suspiciune de accident vascular cerebral ischemic acut pentru a elimina, în primul rând, o hemoragie acută [19]. Imaginile CT fără substanță de contrast sunt utilizate pe scară largă pentru evaluarea localizării și extinderea AVC folosind programul Alberta Stroke Early Scor CT (ASPECTS) [20]. Interpretarea imaginilor CT de către un expert poate diagnostica un accident vascular cerebral major, dar este semnificativ insensibil în diagnosticarea accidentului vascular cerebral minor. Computer tomografia are, de asemenea, o sensibilitate scăzută (<20%) în primele 3 ore de la debutul ischemiei cerebrale și sensibilitate 57–71% la 24 de ore [21].

Angiografia CT (CTA) și Computer tomografia de perfuzie (CTP) sunt de rutină utilizate pentru diagnostic și selectarea pacienților pentru terapia endovasculară (EVT) [22]. Dezavantajul major al acestei metode este timpul necesar pentru a se face achiziția imaginilor secvențiale, dar avansarea software-ului automatizat facilitează reducerea timpului. În timp ce timpul de imagistică este crescut cu CTP/CTA, un studiu a arătat că timpul total de tratament nu a fost crescut cu CTA și CTP în comparație cu CT cranian nativ numai, probabil datorită evaluării rapide și a unor date anatomice mai bune înainte de EVT [23].

Angiografia CT cu o singură fază (sCTA) este utilă pentru evaluarea rapidă a ocluziilor de vas mare și este, de asemenea, utilă pentru evaluarea circulației colaterale. Colateralele bune pe sCTA se corelează cu reducerea creșterii ischemiei cerebrale, deși nu a fost observată o corelație între statusul colateralelor și statusul clinic al pacientului [24]. CTA imediat urmată de CT nativ este recomandată pentru toate prezentările de accidente vascular cerebrale ischemice [18]. Multe studii pentru endarterectomie au folosit CT și CTA pentru selectarea pacienților și au utilizat ASPECTS pentru estimarea extinderii infarctului. Comparația datelor sCTA din diferite studii poate fi problematică datorită inconsecvenței în momentul injectării contrastului și a achiziției imaginii [19]. În plus, diverse metode de notare a circulației colaterale pentru sCTA au fost sugerate, dar nu există un standard acceptat al acestei metode de evaluare [20].

CTA multifazic (mCTA) oferă imagini în trei tonuri de gri rezolvate în timp ale vascularizației cerebrale, cu întârzieri de 8 și 16 s. Astfel, cititorul trebuie să lege aceste imagini împreună pentru vizualizare și interpretare, ceea ce necesită un grad înalt de expertiză. mCTA oferă o evaluare consecventă

a arterelor piale în completarea imaginilor infarctului cerebral și are o bună fiabilitate între evaluatori, precum și o predictibilitate a statusului clinic cu o acuratețe remarcabilă [21]. mCTA este mai precisă în detectarea ocluziei vaselor distale decât sCTA fără completare [20,21].

CT-ul de perfuzie (CTP) oferă un diagnostic și prognostic comparabil cu mCTA și este adesea preferat deoarece hărțile de culori utilizate sunt mai ușor de interpretat [25]. CTP folosește și imagini ale fluxului sanguin parenchimos și un singur cod de culoare pentru harta fluxului sanguin cerebral proiectat pentru a afișa un probabil prognostic al țesuturilor folosind unelte de achiziție și post-procesare sofisticate. CTP evaluează fluxul sanguin la nivelul țesutului capilar folosind date de la tomografiile cerebrale repetate. Parametrii de perfuzie utilizați în identificarea nucleului și penumbra ischemică cuprinde fluxul sanguin cerebral (CBF), volumul sanguin cerebral (CBV), timpul mediu de tranziție (MTT), timpul până la vârf (TTP) și timpul până la maxim (Tmax). Deși nu există un consens clar în literatura de specialitate cu privire la parametrii sau pragurile exacte care trebuie utilizate pentru caracterizare miezului și penumbrei, țesutul cerebral cu CBV sever redus sau CBF prezice infarctizarea nucleului și a regiunilor colaterale. Prolungirea MTT sau a derivatelor sale, TTP sau Tmax, determină penumbra [23, 25].

Angiografia cu substrație digitală (DSA) este o tehnologie veche care necesită acțiune invazivă și nu este utilizată pe scară largă astăzi. DSA poate fi folosită și pentru a determina locația ocluziei și evaluarea circulației colaterale, cel mai frecvent în timpul EVT [26].

Imagistica prin rezonanță magnetică (RMN) are o sensibilitate mai mare decât orice alte tehnici de imagistică pentru detectarea AVC ischemic. În orice caz, nu este la fel de disponibil ca alte modalități de imagistică și acesta este utilizat în principal ca imagistică de urmărire [26]. RMN-ul de difuzie sau imagistica ponderată prin difuzie (DWI) este standardul de aur pentru diagnosticul imagistic al ischemiei cerebrale, detectarea acestuia fiind posibilă încă de la 30 de minute după debutul simptomelor. În DWI, este prezentată difuzia protonilor în țesut, astfel țesuturile cu mișcarea protonilor întârziată sau restricționată cu o aparentă scădere a coeficientului de difuzie (ADC) par luminoase. În timp ce CT nativ, angio-CT și CT de perfuzie pot să fie utilizate pentru estimarea sau deducerea dimensiunii nucleului infarctizat și a penumbrei, DWI oferă măsurători mai sensibile și mai specifice în ceea ce privește volumul țesutului cerebral infarctizat acut [26, 27].

Angiografia prin rezonanță magnetică (MRA) poate fi utilizată ca un instrument alternativ la CTA pentru a evalua perfuzia creierului, deși acesta nu este la fel de utilizat ca CTA. Atât sCTA, cât și MRA permit detectarea rapidă a ocluziei vaselor mari [26]. Per total, performanța și citirea datelor

imagistice ale sCTA și MRA din punct de vedere tehnic nu sunt mai dificile decât imagistica de perfuzie și sunt eficiente pentru deciziile de tratament în ceea ce privește AVC ischemic [27].

Ghidurile din 2018 pentru managementul ischemiei acute cerebrale de la American Heart Association/ American Stroke Association recomandă acum ca imagistica CTP, RMN ponderat prin difuzie (DWI) - RMN să fie incluse ca parte a unei evaluări imagistice standard pentru pacienții care se află în intervalul 6–24 de ore de la debutul simptomelor [28].

Un panel de biomarkeri preciși din sânge ar putea fi un important instrument de diagnostic suplimentar [30]. Caracteristicile pentru biomarkerii sanguini ideali pentru accidentul vascular cerebral ar trebui în primul rând să aibă un nivel ridicat de specificitate și sensibilitate asemănătoare cu caracteristicile biomarkerilor imagistici. Acest lucru este esențial pentru diferențierea accidentelor vasculare cerebrale de stroke-mimics și pentru a diferenția accidentul vascular cerebral hemoragic și ischemic. Biomarkerii ideali ar trebui să fie implicați în procese celulare care sunt unice în accidentul vascular cerebral ischemic, care este foarte provocator [31,32].

Având în vedere complexitatea accidentului vascular cerebral, se crede că mecanisme diferite sunt implicate în patofiziologia sa. De fapt, dovezi tot mai mari arată că inflamația joacă un rol important în progresia și prognosticul accidentului vascular cerebral ischemic. Din acest motiv, țintirea terapeutică a inflamației postischemice în accidentul vascular cerebral acut a câștigat interes ca potențială strategie de neuroprotecție [51].

Date recente din literatură subliniază o anumită relație între inflamație și leziunile de tip ischemic ale sistemului nervos central. Acest proces neuroinflamator acut cuprinde mișcări ale microgliei rezultând în modificări morfologice și fenotipice împreună cu eliberare de mediatori ai inflamației, cum ar fi chemokine și citokine [52].

Chiar dacă inflamația la nivel cerebrovascular nu poate fi considerată de obicei un factor de inițiere a tulburărilor neurodegenerative, reprezintă însă un echilibru între citokinele pro și antiinflamatorii care determină răspunsurile susținute ale inflamației la nivelul sistemului nervos central din punct de vedere al progresiei leziunii. Celulele microgliale activate prezintă o varietate de citokine proinflamatorii cum ar fi TNF-alpha, IL-6 și IL-1, precum și oxidul nitric (NO) și superoxidul, care sunt neurotoxice și pot intensifica procesele care stau la baza leziunii ischemice. Deși există mai multe cauze și au fost evidențiați mai mulți factori de risc pentru diferite tulburări neurologice cum ar fi boala Alzheimer (AD), boala Parkinson (PD), scleroza multiplă (MS) și scleroza laterală amiotrofică (ALS) s-a stabilit clar și un rol activ al inflamației cerebrovasculare. Activarea răspunsurilor imune înnăscute poate fi mediată de

implicarea receptorilor de recunoaștere a pattern-urilor specifice (PRR), cum ar fi TLR-urile, pentru inițierea răspunsurilor pro-inflamatorii și activarea imunității adaptive. Consecința finală a bolilor cerebrale se va baza pe rolul inflamației și al modificării stării inflamatorii determinate de factorii de risc vascular [52, 53].

Hipertiroidismul clinic manifest predispozează pacienții la fibrilație atrială, patologie cardiovasculară care poate produce o ischemie cerebrală prin mecanism cardioembolic. Pe de altă parte hipertiroidismul se poate asocia cu o accentuare a altor factori de risc pentru infarctul cerebral, precum ateroscleroza și dislipidemia [97]. Studiile arată, însă că această ipoteză nu a fost clar elucidată, o relație directă între valorile hormonilor tiroidieni – FT4 (tiroxina), TSH (tireotropina), severitatea și sechelele infarctului cerebral nefiind clar stabilită [98]. Hipertiroidismul se asociază cu un status de hipercoagulabilitate, prin creșterea nivelului de factori ai coagulării – fibrinogen, FVIII, FIX, FX, factorul von Willebrand. Totodată hipertiroidismul determină hipofibrinoliză prin reducerea plasminei și a activatorului plasminei [98]. Studii recente au demonstrat că hipertiroidismul cronic agravează leziunea cerebrală determinată de infarctul cerebral și totodată hipertiroidismul subclinic (TSH scăzut, FT4 în limite de referință) afectează negativ recuperarea funcțională după accidentul vascular cerebral ischemic. Hipertiroidismul determină creșterea riscului și a mortalității cauzate de evenimente acute cardiovasculare, însă sunt necesare studii suplimentare pentru a dovedi concret asocierea acestei patologii endocrine cu afecțiunile cerebrovasculare [99].

Mai multe studii au descoperit o asociere între disfuncția tiroidiană și prognosticul pacienților cu AVC ischemic acut în ultimii ani. În esență, hormonii tiroidieni scad la scurt timp după debutul simptomelor accidentului vascular cerebral. Aceștia scad în primele zile, urmând ca în stadiul cronic să ajungă în limite normale, în timp ce TSH continuă să scadă. Mai mult accidentele vasculare cerebrale severe duc probabil la o scădere mai puternică a FT3, care în cele din urmă are ca rezultat prognostice clinice mai proaste și mortalitate mai crescută, așa cum a fost raportat de mai mulți cercetători [100].

În prezent, rezultatele studiilor privind relația dintre hormonul de stimulare a tiroidei (TSH) și pacienții cu AVC ischemic acut sunt controversate. Unele studii au raportat efectele protectoare ale TSH crescut asupra severității și prognosticului la pacienții cu AVC ischemic acut [100]. Hipertiroidismul subclinic este asociat cu un prognostic prost la pacienții cu AVC ischemic acut. Pacienții cu hipotiroidism subclinic tind să aibă accidente vasculare cerebrale mai ușoare și un rezultat funcțional favorabil. Dimpotrivă, un studiu pe pacienții cu ischemie cerebrală acută a raportat că nivelurile de TSH la pacienții

cu AVC ischemice severe au fost mai mari decât cele la pacienții cu AVC ușoare sau moderate și că nivelurile de TSH au fost mai mari în grupul cu recuperare mai puțin evidentă [101].

Fiind cel mai sensibil indice pentru evaluarea funcției tiroidiene, TSH interacționează și cu hormonii tiroidieni. Din păcate, puține studii au exclus potențialele influențe ale modificărilor hormonilor tiroidieni atunci când explorează asocierea dintre TSH și accidentul vascular cerebral. Mai mult, mecanismul prin care TSH-ul afectează accidentul vascular cerebral este încă neclar. Multe studii au descoperit că nivelurile de TSH sunt asociate cu profilurile lipidelor serice la indivizii sănătoși, iar asocierea încă există la pacienții cu boală coronariană și diabet zaharat de tip 2 [102]. În faza acută a COVID-19, nivelurile de TSH sunt, de asemenea, asociate cu reducerea colesterolului total (TC) și a colesterolului cu lipoproteine cu densitate scăzută (LDL-C). Cu toate acestea, asocierea dintre TSH și profilurile lipidice nu a fost evaluată la pacienții cu AVC ischemic acut [102].

Mecanismul potențial prin care TSH este asociat cu AVC ischemic acut nu este bine înțeles. Au fost prezentate mai multe ipoteze pentru a explica efectul favorabil al TSH crescut asupra severității AVC. Un mecanism posibil este hipometabolismul. Este bine cunoscut faptul că nivelurile mai mari de TSH conduc la o scădere a ratei metabolice bazale. Răspunsul redus la stres fizic poate explica, de asemenea, severitatea scăzută la pacienții cu niveluri mai ridicate de TSH. O scădere a sensibilității la stimularea adrenergică a fost observată la pacienții cu hipotiroidie [103]. O altă posibilă explicație este că nivelurile mai ridicate de TSH pot crește toleranța ischemică, care se bazează pe o teorie conform căreia ischemia subletală face țesuturile afectate rezistente la atacuri ischemice ulterioare, mai severe.

Mai multe studii au furnizat dovezi că hipotiroidismul subclinic ar putea crește riscul de ateroscleroză prin creșterea rezistenței vasculare sistemice, rigidității arteriale, funcției endoteliale, anomaliilor lipidelor și rezistenței la insulină [104]. Prin urmare, un nivel mai ridicat de TSH induce ateroscleroza și este inițiat un mecanism neuroprotector de preconditionare ischemică. O serie de studii au raportat că un nivel ridicat de TSH este asociat cu metabolismul lipidic și riscul cardiovascular. Asocierea dintre TSH și profilurile lipidice a fost confirmată și în boala coronariană și diabetul zaharat de tip, dar nu a fost studiată în AVC ischemic acut. Posibilele explicații pentru efectele TSH asupra profilului lipidic nu au fost pe deplin elucidate. Studiile au demonstrat că celulele hepatice exprimă receptorul TSH. Un studiu a constatat că TSH poate acționa asupra receptorului TSH din membranele hepatocitelor și poate promova expresia 3-hidroxi-3-metil-glutaril coenzimei A reductazei hepatice, o enzimă care limitează viteza în sinteza colesterolului, crescând astfel sinteza și ridicând nivelul colesterolului [105].

TSH poate acționa, de asemenea, asupra receptorilor de TSH exprimați pe adipocite, crescând astfel foarte mult adipogeneza și lipoliza, ceea ce poate crește, de asemenea, nivelurile serice de acizi grași liberi. Rezistența la insulină poate fi, de asemenea, mecanismul prin care TSH afectează profilurile lipidice [106]. Efectele directe ale TSH asupra lipidelor necesită investigații suplimentare.

Contrar diferitelor mecanisme de injurie primară, inflamația este declanșată printr-o cale comună atât pentru accidentul vascular cerebral ischemic acut, cât și pentru hemoragia intracerebrală și joacă un rol crucial în dezvoltarea edemului cerebral și altor consecințe fiziopatologice. În plus, dovezile analizate din cercetările recente prezintă o imagine complexă a răspunsurilor inflamatorii la leziunile cerebrale care nu se limitează la locul leziunii, dar care pot apărea la nivel global și persista pe termen lung. Inflamația globală a creierului poate modela în mod persistent patofiziologia leziunilor cerebrale după un accident vascular cerebral și poate promova declinul funcțiilor globale ale creierului, cum ar fi cogniția. Cercetarea în viitor nu trebuie să țină seama doar să înțeleagă cum este inițiată și menținută inflamația globală cerebrală, dar de asemenea, să clarifice rolul inflamației în sechelele pe termen lung ale accidentului vascular cerebral și rolurile sale în recuperarea neurologică și regenerarea țesutului cerebral [107].

Aceste eforturi ar deschide calea pentru proiectarea unor terapii imuno-modulatoare pentru a reduce inflamația asociată leziunilor cerebrale.

Recunoașterea rolului crucial al inflamației după AVC a inspirat diverse studii clinice care vizează ameliorarea inflamației cerebrale într-un efort de a contracara leziunile cerebrale secundare în etapele de AVC ischemic acut și subacut. Deși cu dimensiuni limitate ale eșantionului în unele studii, aceste trialuri au dat rezultate încurajatoare, și includ evaluarea natalizumab în accidentul vascular cerebral ischemic acut, fingolimod în accidentul vascular cerebral ischemic acut<sup>89</sup> și în hemoragia intracerebrală și gliburida în infarctul cerebral [108]. Mai multe studii clinice noi la scară largă, bazate pe perspectivele derivate din aceste studii sunt în desfășurare (NCT02730455, NCT02864953, NCT03338998, și NCT02956200). În plus, noi gene și molecule responsabile de dezvoltarea inflamației sunt identificate din profilarea țesutului relevant, precum țesutul peri-hematoma derivat de la pacienți cu hemoragie intracerebrală. Întrebarea este dacă aceste gene și molecule pot servi ca ținte medicamentoase și dacă există un așa-numit comutator principal care orchestrează cascada inflamației [106-108].

Rezolvarea acestor probleme ar fi esențială în proiectarea terapiilor viitoare pentru pacienții cu AVC. Problema primordială este dacă o mai bună înțelegere a neuroinflamației cerebrale ar duce la translaționare clinică de succes a imunomodulatorilor pentru accidentul vascular cerebral. Anterior eforturile de a manipula sistemul imunitar au implicat țintirea moleculelor de adeziune (adică

natalizumab), a capacității de evacuare a celulelor (adică fingolimod) sau citokine în periferie. Aceste abordări previn dezvoltarea neuroinflamației, dar nu modifică procesele in situ în curs. Interferența directă a moleculelor care declanșează inflamația cerebrală locală este probabil să reducă expansiunea leziunilor cerebrale [109].

Trebuie să recunoaștem că suntem încă departe de a înțelege complet rolul inflamației și al răspunsurilor imune în ceea ce privește accidentul vascular cerebral ischemic. Mai multe studii au descris răspunsurile inflamatorii și imunitare post accident vascular cerebral în diferite modele experimentale (Gelderblom et al., 2009; Zhou și colab., 2013; Drieu et al., 2020a, 2020b) și oameni și este de netăgăduit că neuroinflamația și răspunsurile imune sunt prezente la câteva minute după debutul accidentului vascular cerebral și durează luni sau chiar ani [110]. Mai mult, terapiile antiinflamatorii și imunomodulatoare au demonstrat efecte benefice în unele dintre modelele experimentale. Unele dintre aceste molecule au fost testate în studii clinice randomizate, dar nu au avut rezultate pozitive la pacienții cu AVC. Acest fapt sugerează că mecanismele prin care procesele inflamatorii contribuie la injuria neuronală după producerea accidentului vascular cerebral nu sunt suficient elucidate și ar putea reflecta un mismatch între inflamația produsă în aceste modele experimentale particulare și la pacienții cu AVC [111].

Dezvoltarea studiilor preclinice multicentrice ar ajuta la confirmarea rezultatelor preclinice pozitive înainte de a trece la trialurile clinice. Mai mult, comorbiditățile (stări inflamatorii, accidentul vascular cerebral anterior etc.) sunt adesea neglijate în studiile experimentale și, astfel, departe de realitatea clinică a pacienților cu AVC.

Alegerea modelelor experimentale relevante clinic de accident vascular cerebral, includerea de măsurători, inclusiv cuantificare acută, dar și pe termen lung a volumului infarctului și a prognosticului comportamental, efectuarea de studii multicentru și includerea factorilor de risc coexistenți, sunt obligatorii înainte de a se lua în considerare translaționarea unei noi terapii pentru AVC ischemic în studiile clinice randomizate.

Ateroscleroza a devenit în ultimul deceniu o importantă patologie neurologică și cardiovasculară, fiind o frecventă cauză de mortalitate și morbiditate. Formarea plăcii de aterom este un proces dinamic care se extinde la nivelul tuturor arterelor din întreg organismul. Acest proces este influențat atât de factori genetici și de mediu, cât și de medicația specifică [112].

Hipercolesterolemia, hipertensiunea, fumatul, diabetul și obezitatea sunt factori de risc pentru dezvoltarea plăcii aterosclerotice, iar inflamația reprezintă calea finală pentru acești factori de risc, precum și un factor independent de aterogeneză [112].

Progresia plăcii de aterom este influențată de eliberare citokinelor proinflamatorii, demonstrându-se astfel relația de cauzalitate între inflamație și aterogeneză. Inflamația este, în principiu, un răspuns benefic complex al gazdei la expunerea invaziei microbiene, deteriorarea țesuturilor sau altor stimuli, ajutând la eliminarea cauzei inițiale a leziunii celulare. Cu toate acestea, inflamația este, de asemenea, o cauză majoră a bolilor cardiovasculare, în principal când apare un dezechilibru al homeostaziei - răspunsul inflamator fiind prea puternic sau prea lung (inflamație nerezolvabilă). Conceptul de ateroscleroză ca afecțiune inflamatorie cronică nu mai este unul controversat, însă înțelegerea reglării imunitare este încă incompletă [113].

Stenozele arterei carotide sunt cauzate de îngroșarea peretelui arterial datorită ateromatozei care apare cu predilecție la nivelul bifurcației arterei carotide sau la nivelul emergenței arterei carotide interne din artera carotidă comună. Stenozele arterei carotide se întâlnesc la aproximativ 7% - 9% din populație, de obicei acestea fiind asociate cu patologie neurologică – accidentul vascular ischemic sau cu patologie cardiovasculară – boala coronariană [113]. Progresia ateromatozei la nivelul arterelor carotide este intensificată de anumiți factori de risc cum ar fi: dislipidemia, hipertensiunea arterială, diabetul zaharat, fumatul și tulburări hemodinamice la nivelul vasului – de exemplu flux sangvin turbulent. Cele mai recente ghiduri recomandă intervenția chirurgicală (endarterectomie la nivelul vasului) în stenozele >70%, în primele două săptămâni de la debutul unui accident vascular cerebral ischemic minor sau a unui atac ischemic tranzitor [114]. Aceleași ghiduri internaționale nu recomandă intervenția chirurgicală în stenozele carotidiene asimptomatice. Un studiu prospectiv recent a demonstrat că stenozele arterei carotide asimptomatice >50% sunt asociate cu o rată anuală a accidentelor vasculare ischemice < 1% [115].

Evenimentele vasculare ischemice pot fi cauzate de leziunile aterosclerotice care pot avea dimensiuni crescute sau pot ulceră ducând la formarea de trombi intraplacă și astfel cauzând embolii. Compoziția plăcii de aterom este o caracteristică foarte importantă deoarece poate dicta instabilitatea ei, alături de mărime și localizare. Centrul necrotic este una din caracteristicile plăcilor instabile deoarece la nivelul acestuia se poate acumula colesterol lichid care poate duce la ulcerarea plăcii. Cristalele de colesterol care se formează la nivelul plăcii de aterom ulcerate stimulează secreția interleukinei 1 Beta



(IL-1 $\beta$ ), declanșându-se astfel răspunsul inflamator și având ca și consecință creșterea riscului evenimentelor acute [116].

Inflamația stă la baza ateromatozei și influențează foarte mult prezența și dezvoltarea acesteia. Pacienții cu ateroscleroză au niveluri crescute de markeri inflamatori, asociați cu severitatea bolii și rezultatul clinic. Cauza inflamației persistente în timpul aterogenezei, nu este complet înțeleasă. Astăzi, o dietă occidentală, fumatul și un stil de viață sedentar, care la rândul lor duc la hiperlipidemie și obezitate sunt cei mai importanți factori motori ai plăcii aterosclerotice, mai multe studii sugerând că inflamația este un final comun pentru acești factori de risc [123]. Cu toate acestea, ateroscleroza a fost descrisă și în imaginile CT ale unor mumii datând de 4000 de ani, demonstrând că ateroscleroza nu este doar o afecțiune modernă [121].

Studiile arată că la șoareci, hipercolesterolemia stimulează neutrofilia, cu formarea leziunii precoce ulterioare. Stimulii chimiotactici recrutează neutrofile la nivelul plăcilor aterosclerotice, acumulându-se în special în regiunile predispuse la rupere. Neutrofilele stimulează recrutarea monocitelor prin eliberarea proteinelor granulare, precum și prinderea monocitelor și activarea celulelor dendritice în placă prin formarea de capcane extracelulare neutrofilice (NET). Formarea NET sau NETosis, este o formă specializată a morții celulare care implică producerea ROS, modificarea histonelor și eliberarea cromatinei. NET-urile eliberate din neutrofilele activate captează microorganismele invadatoare, împiedicându-le răspândirea [126].

În timp ce cuantificarea citokinelor și a altor markeri inflamatori pot fi utile atunci când analizăm gradul de inflamație la pacienții cu ateroscleroză, acestea nu reflectă inflamația în cadrul leziunii aterosclerotice. În ultimii ani, mai multe studii au cercetat dezvoltarea unor modalități de diagnostic care pot evalua inflamația plăcii. Prin urmare, ultrasonografia intravasculară permite vizualizarea directă a ateromului in vivo inclusiv caracterizarea remodelării vasculare. Mai mult, tomografia computerizată cu emisie de pozitroni (PET-CT) poate evalua direct inflamația plăcii, în special atunci când este combinat cu nanoparticule care pot demonstra activarea macrofagelor și activarea endotelială [125, 126].

Cunoașterea sporită a reglării imune în ateroscleroză deschide, de asemenea, poarta pentru dezvoltarea unui vaccin în vederea prevenției ateromatozei. Au fost sugerate atât vaccinări directe, cât și indirecte. Pentru vaccinările directe, imunizarea cu LDL sau componentele LDL modificate s-au dovedit promițătoare în modelele animale [127].

Una dintre cele mai indirecte abordări este vaccinarea împotriva gripei. O creștere a incidenței evenimentelor cardiovasculare acute se observă în timpul sezonului gripal. Mecanismele prin care virusul

gripal crește riscul de boală cardiovasculară nu sunt cunoscute. Astfel, vaccinarea poate avea, de asemenea potențial în prevenirea secundară a BCV și evidențiază necesitatea unor studii suplimentare asupra mecanismelor care stau la baza acestor rezultate observate [127].

**CANTOS** este un studiu randomizat, dublu-orb în care au fost incluși 10 061 pacienți cu infarct miocardic anterior și niveluri crescute ale inflamației. Ca și marker a fost folosită proteina C reactivă cu sensibilitate ridicată (hsCRP)( $> 2$  mg / L). În total, 80% dintre participanții la studiu au fost tratați pentru hipertensiune arterială, 40% au avut diabet zaharat și  $> 90\%$  au urmat terapie cu statine. Au fost randomizați în 4 grupuri care au primit canakinumab, un anticorp monoclonal uman împotriva citokinei inflamatorii, interleukina(IL)-1 $\beta$  în 3 doze diferite sau placebo. Canakinumab este utilizat în prezent clinic în unele afecțiuni autoinflamatorii rare și ca a doua linie de tratament în bolile reumatoide. Cum era de așteptat, canakinumab a redus nivelurile proteinei C reactive cu sensibilitate ridicată, însă fără a avea un efect substanțial asupra lipidelor plasmaticice [132].

Obiectivul principal al studiului a fost să se oprească la apariția în rândul pacienților incluși în studiu a infarctului miocardic, accidentului vascular cerebral sau morții subite de cauză cardiovasculară. Canakinumab a redus semnificativ acest punct final, de la 3,9 ani la 100 persoane în grupul placebo la 4,5 în grupurile primind  $\geq 150$  mg anticorp pe doză. Aceasta s-a tradus într-o reducere relativă de 15% a riscului. Efectul a fost similar în cazul celor care au primit 300 mg pe doză, în timp ce grupul care a primit 50 mg pe doză nu a obținut niciun beneficiu. Această constatare sugerează că pragul benefic pentru a obține protecție se află undeva între 50 și 150 mg [132].

Efectele secundare grave au fost rare și au constat în principal în infecții. Cu toate acestea, simplul fapt că infecțiile letale au fost mai mari la grupurile care au primit tratament activ (0,31% versus 0,18% în grupul placebo) atrage atenția asupra monitorizării atente a infecțiilor în studiile viitoare care implică canakinumabul [132].

Rezultatele studiului CANTOS oferă un sprijin puternic pentru ipoteza că ateroscleroza este o boală inflamatorie. Procesul este declanșat atunci când se acumulează lipoproteine cu densitate mică în zonele cu fluxuri perturbate în vasul sangvin și de aceea este considerat faptul că hipercolesterolemia și hipertensiunea arterială acționează asupra inițierii aterosclerozei. Patologic, procesul care rezultă este unul de inflamație cronică, însoțită de procese de reparare și, în cele din urmă, de tromboză. Pe scurt, ateroscleroza este o boală inflamatorie provocată de acumularea de colesterol la nivelul arterelor [132].

## **Partea II – Contribuția personală**

### **Obiectivele primare și secundare ale tezei**

**Obiectivul principal** – evaluarea corelației între markerii inflamatori serici – interleukina 6, interleukina 1 Beta, TNF alpha și prognosticul și riscul de reinfarctizare cerebrală la anumite categorii de pacienți (pacienți fără AVC ischemic în antecedentele personale patologice).

#### **Obiective secundare:**

1. Determinarea proteinei C reactivă high-sesitive și stabilirea unei corelații între aceasta și severitatea accidentului vascular cerebral ischemic
2. Determinarea leucocitelor și a vitezei de sedimentare a hematiilor la pacienții cu accident vascular cerebral, stabilind o corelație între acestea pentru a putea întâmpina o eventuală agravare a pacienților care au suferit un accident vascular cerebral ischemic.
3. Stabilirea corelațiilor între biomarkerii inflamației și riscul de deces la pacienții care au suferit un accident vascular cerebral ischemic, infectați sau nu concomitent cu virusul SARS-COV2.
4. Aprecierea gradului de îngustare a lumenului arterelor carotide interne, cât și prezența și tipul plăcilor de aterom la pacienții care au suferit un accident vascular cerebral ischemic.
5. Stabilirea factorilor de risc și a comorbidităților pacienților care au suferit un accident vascular cerebral ischemic, evidențiind comorbiditățile principale care ar putea contribui la o nouă recidivă.
6. Stabilirea corelației, dacă există, între hormonii tiroidieni la pacienții care au suferit un accident vascular cerebral ischemic și cu patologie tiroidiană nediagnosticată anterior, cu colesterolul și gradul de îngustare a lumenului arterelor carotide interne.
7. Analiza calității vieții pacienților care au suferit deja un accident vascular cerebral prin anumite scale (Rankin). Evaluarea impactului unui astfel de eveniment asupra capacității de a desfășura activitățile cotidiene.
8. Alcătuirea unui scor de risc și prognostic al accidentului vascular cu aplicabilitate reală, în urma coroborării datelor acumulate.

## **Metodologia generală a cercetării. Considerații etice.**

Cercetarea s-a desfășurat în perioada ianuarie 2020 – decembrie 2021 și a fost aprobată de consiliul de etică (aprobare atașată prezentei lucrări). În toate studiile desfășurate în prezenta cercetare au fost incluși pacienți cu patologii neurologice, respectiv accident vascular cerebral ischemic, care au fost internați în clinica de Neurologie a Spitalului Clinic Județean de Urgență Sibiu. Toate studiile s-au desfășurat pe baza unui protocol conform cerințelor naționale și internaționale în ceea ce privește cercetarea medicală pe subiecți umani și au respectat cu strictețe principiile stipulate în Declarația de la Helsinki. Toți pacienții incluși în studiile din prezenta cercetare au semnat un acord informat (atașat prezentei lucrări). Anterior semnării acordului informat, toți pacienții au fost informați cu privire la termenii desfășurării studiilor, condițiile de retragere din studiu și, totodată, au fost asigurați de păstrarea confidențialității datelor oferite.

Pentru fiecare studiu inclus în prezenta cercetare s-a constituit un protocol de cercetare și s-au respectat anumiți pași, după cum urmează:

1. Includerea pacienților în loturile de cercetare, conform criteriilor de includere stabilite pentru fiecare studiu în parte.
2. Stabilirea diagnosticului de AVC ischemic cu certitudine (excluderea stroke mimics) și a debutului simptomatologiei (< 24 ore).
3. Stabilirea datelor demografice, antecedentelor personale patologice ale pacienților incluși în studiu (date obținute prin anamneză sau din foaia de observație) și confirmarea/infirmarea infecției cu virusul SARS-COV 2 (pentru studiul 2).
4. Cuantificarea severității AVC ischemic cu ajutorul scalei NIHSS. Scala NIHSS a fost efectuată în dinamică.
5. Recoltarea în primele 24 de ore (și la 7 zile pentru studiul 2) a probelor biologice și efectuarea ecografiei doppler extracraniană a arterelor carotide.

Metodologia specifică, precum și criteriile de includere/excludere specifice sunt prezentate pe larg în cadrul fiecărui studiu efectuat.

## **Analiza statistică**

Baza de date s-a realizat cu ajutorul aplicației Microsoft Office Excel 2016.

Pentru analiza statistică și descrierea datelor s-a utilizat programul SPSS 25.0 (SPSS Inc, Chicago, USA). Cu ajutorul testelor Shapiro-Wilk sau Kolmogorov-Smirnov s-a verificat normalitatea distribuției datelor cantitative. A fost acceptat un pragul de eroare de 0,05 ( $\alpha = 0,05$ ).

Media aritmetică  $\pm$  deviația standard s-a folosit pentru descrierea datelor cantitative continue normal distribuite și mediana (cuartila 1-cuarta 3) s-a folosit pentru datele care nu au avut o distribuție gaussiană. Datele calitative au fost descrise folosind frecvențele.

Testul Student (t-test) s-a folosit pentru compararea mediilor variabilelor cantitative corespunzătoare a două grupuri independente în cazul în care variabilele au fost normal distribuite. Pentru a compara mediile a două grupuri independente, în care variabilele au avut o distribuție anormală au fost utilizate testele nonparametrice Mann – Whithney și Kruskal – Wallis.

Analiza corelațiilor s-a făcut utilizând coeficientul de corelație liniară Pearson pentru date cu distribuție normală, respectiv coeficientul de corelație Spearman pentru date cantitative fără distribuție normală sau pentru date ordinale. Regulele empirice ale lui Colton s-au folosit pentru interpretarea coeficienților de corelație.

Pentru a determina valoarea diagnostică a unor parametri s-au construit și comparat curbele ROC (Receiver Operating Characteristic). Relația grafică dintre Sn și Sp pentru valorile prag (cut-off) posibile este ilustrată cu ajutorul curbei ROC. Valorile optime din punct de vedere al fiabilității parametrilor analizați sunt considerate puncte de cut-off. Pentru fiecare variabilă considerată, pe abscisă este reprezentată sensibilitatea, iar pe ordonată 1-specificitate (rata testelor fals pozitive).

Dacă aria de sub curba AUC (Area Under the Curve) este mai mare de 0.8 (80%), o variabilă este considerată satisfăcătoare ca și criteriu diagnostic. Cu cât valoarea AUC este mai aproape de 1 (AUC=1 corespunde situației particulare în care curba ROC atinge colțul din stânga-sus al figurii), cu atât acuratețea diagnostică a variabilei considerate este mai bună.

## **STUDIUL 1 – Evaluarea reactanților standard de fază acută (hsPCR, raport neutrofile/limfocite – NEU/LYM, raport trombocite/limfocite – PLT/LYM) în inflamația cauzată de AVC ischemic**

### **1.1 Introducere**

Până la acest moment, markeri de încredere actualizați pentru prognosticul accidentului vascular cerebral ischemic sunt: imagistica (tomografie computerizată și RMN) și scorul NIHSS (National Institute of Health Stroke Scale) [143,144]. Numeroase studii au pus sub semnul întrebării rolul inflamației în accidentul vascular cerebral ischemic, evidențiind necesitatea unor biomarkeri în vederea stabilirii prognosticului pacienților cu patologie vasculară neurologică.

De-a lungul timpului, cercetările în domeniu au confirmat că răspunsul inflamator agravează leziunile ischemice cerebrale [144-146], fiind cunoscut faptul că leucocitoza pusă în evidență la momentul internării poate fi asociată cu severitatea accidentului vascular cerebral și prognostic nefavorabil în ceea ce privește pacienții cu AVC ischemic acut (AIS) [147].

Raportul neutrofile-limfocite (NEU/LYM) și raportul trombocite-limfocite (PLT/LYM), au fost incluse în cercetările recente ca biomarkeri noi și ieftini ai inflamației studiindu-se capacitatea acestora de diagnostic și predicție în patologii multiple (inclusiv accident vascular cerebral) [148-150]. Multe studii recente au luat în considerare numărul de neutrofile și numărul scăzut de limfocite ca factori de corelație ai rezultatelor funcționale nefavorabile la pacienții care au suferit infarcte cerebrale acute (Zhang et al., Xue și colab.) [151-153].

În ceea ce privește trombocitele, informațiile nu sunt suficient elucidate deoarece legătura dintre creșterea numărului de trombocite și prognosticul clinic rămâne incertă. Până la acest moment este cunoscut faptul că trombocitele au un rol esențial în trombogeneză și inflamație [154-156].

Prin urmare, rolul inflamației în accidentul vascular cerebral ischemic este încă insuficient elucidat, motiv pentru care avem nevoie de mai mult studii care includ biomarkeri care pot fi de un real folos pentru pacienții cu AVC ischemic.

## Scopul studiului

### **Obiectivele specifice ale studiului**

- evaluarea corelației între markerii inflamatori serici – hsPCR, neutrofile, limfocite, trombocite (reactanți standard de fază acută) și severitatea AVC ischemic, precum și prognosticul pacienților cu aceasta patologie.
- calcularea raportului neutrofile/limfocite și trombocite/limfocite pentru a se stabili o eventuală corelație între acestea și severitatea infarctului cerebral, respectiv gradul stenozelor carotidiene.

### **1.2 Material și metode**

În lotul de cercetare au fost incluși pacienți de vârstă adultă, care au suferit un accident vascular cerebral ischemic, cu debut de cel mult 24 de ore și care au fost internați în Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu în perioada ianuarie 2020 – iunie 2020. Pacienții incluși în studiu au fost selectați consecutiv, din secția Neurologie a Spitalului Clinic Județean de Urgență Sibiu și au îndeplinit toate criteriile de includere și excludere.

Pacienții au fost împărțiți în două loturi:

- Un LOT DE CERCETARE: Format din 100 pacienți care au suferit un accident vascular cerebral ischemic acut (pacienții s-au prezentat în unitatea primiri urgențe în primele 24 de ore de la debutul simptomatologiei).
- Un LOT MARTOR: Format din 50 de pacienți fără antecedente personale patologice de accident vascular cerebral ischemic, de vârste și gen comparabile cu lotul de cercetare.

Date colectate retrospectiv și la momentul includerii în studiu: vârstă, gen, APP (afecțiuni asociate), biologic: HLG – se calculează raportul neutrofile – limfocite, trombocite – limfocite.

S-a efectuat examenul neurologic și s-a calculat scorul NIHSS care arată gravitatea accidentului vascular (afectarea teritoriului infarctizat) în dinamică.

Paraclinic: ecografie doppler carotide – cuantificarea stenozelor carotidiene în procente.

Cele două loturi au fost comparate din punct de vedere al markerilor inflamatori (rapoartele NEU/LYM și PLT/LYM) și din punct de vedere al ecografiei Doppler carotidiene (stenoza carotidiană) pentru a se stabili o eventuală corelație între statusul pacientului, examinarea paraclinică și analizele de laborator (aproximarea stenozei carotidiene cu ajutorul celor două rapoarte – stabilirea prognosticului accidentului vascular cerebral ischemic prin calcularea celor două rapoarte).

## CRITERII DE EXCLUDERE:

- Pentru ambele loturi: orice afecțiune care poate influența markerii inflamatori:
  - infecții,
  - stare febrilă,
  - neoplasme solide,
  - boli autoimune,
  - boli oncohematologice (limfoame, mielom multiplu, etc).

### 1.3 Rezultate

#### 1. Descrierea loturilor caz și martor

Vârsta medie a pacienților incluși în studiu nu diferă semnificativ, în lotul studiu vârsta medie a fost de 71 de ani, în timp ce, în lotul martor, vârsta medie a fost de 67 de ani.

Trei dintre cele mai frecvente antecedente personale patologice întâlnite la pacienții incluși în lotul studiu au fost: hipertensiunea arterială (73%), fibrilația atrială (38%) și diabetul zaharat tip II (32%).

Din punct de vedere al corelațiilor în ceea ce privește lotul martor, putem concluziona faptul că există o corelație bună, direct proporțională, pozitivă, cu semnificație statistică ( $r=0.641$ ,  $p<0.001$ ) între cele două rapoarte (NEU/LYM, PLR/LYM) studiate și între hsPCR și rapoartele incluse în studiu (figura 1, 2, 3). Scorul NIHSS la internare se corelează semnificativ statistic cu hsPCR recoltat în primele 24 de ore de la debutul simptomatologiei AVC ischemic (figura 4). Totodată există o corelație slab-moderată, direct proporțională, între gradul stenozei și raportul NEU/LYM și o corelație slab-moderată, invers proporțională, între gradul stenozei și raportul PLT/LYM.

S-a observat o corelație semnificativă statistic, direct proporțională, cu un coeficient de corelație Pearson de 0,641 între cele două rapoarte incluse în studiu (figura 1). Totodată, hs PCR se corelează semnificativ statistic, direct proporțional, cu un coeficient de corelație Pearson de 0,424 cu raportul NEU/LYM (figura 2) și cu raportul PLT/LYM cu un coeficient de corelație Pearson de 0,468 (figura 3).



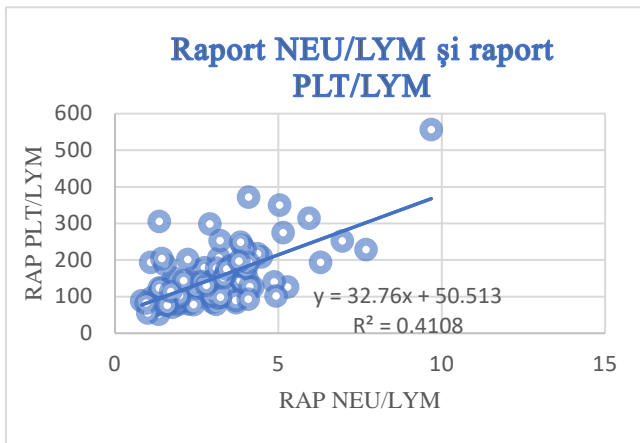


Figura 1 – Corelație între raportul NEU/LYM și raportul PLT/LYM

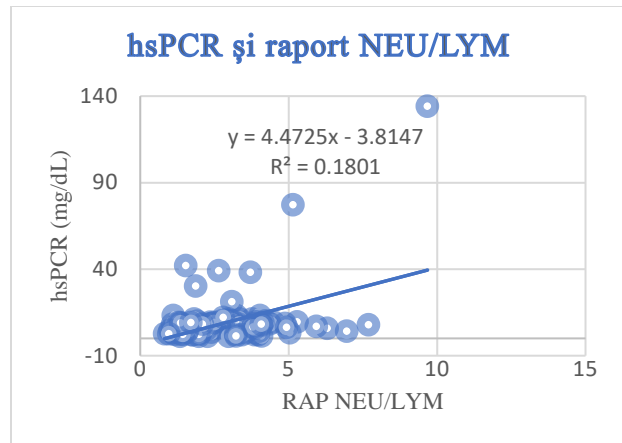


Figura 2 – Corelație între hsPCR și raportul NEU/LYM

Una dintre cele mai importante corelații ale prezentului studiu, este între hsPCR și scorul NIHSS internare ( $r = 0,296$ ,  $p < 0.001$ ), corelație direct proporțională, pozitivă (figura 4).

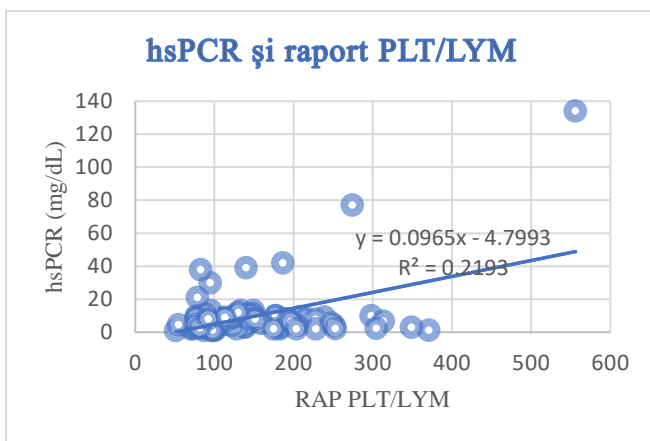


Figura 3 – Corelație între hsPCR și raportul PLT/LYM

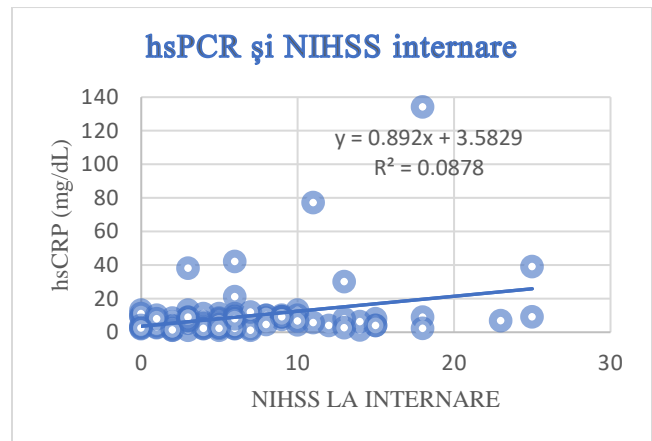


Figura 4 – Corelație între hsPCR și NIHSS la internare

Gradul stenozei carotidiene se corelează moderat (tendință la valoare semnificativă statistic), direct proporțional, ( $r=0,188$ ), cu raportul NEU/LYM și moderat, invers proporțional cu raportul PLT/LYM, ( $r=-0,189$ ), aceste rapoarte putând fi luate în considerare pentru a monitoriza o stenoză deja preexistentă sau pentru a lua în considerare existența unei stenoze carotidiene la pacienții care nu sunt diagnosticați, dar care au aceste valori modificate fără altă cauză. Totodată, NIHSS-ul la externare se corelează semnificativ statistic cu gradul stenozei carotidiene, ceea ce ne arată ca dizabilitatea este în stransă legătură cu cuantificarea ateromatozei carotidiene (figura 9).

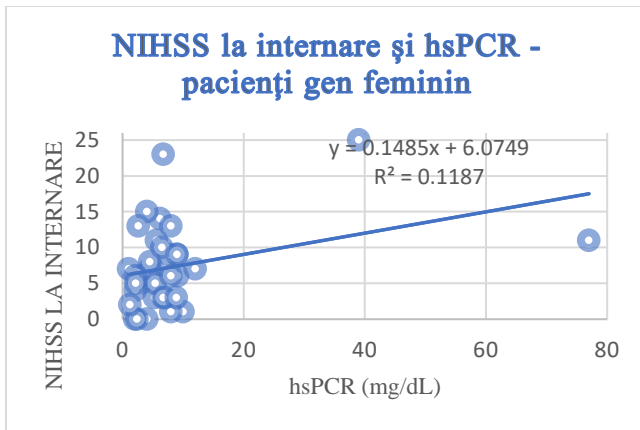


Figura 8 – Corelație între NIHSS la internare și hsPCR

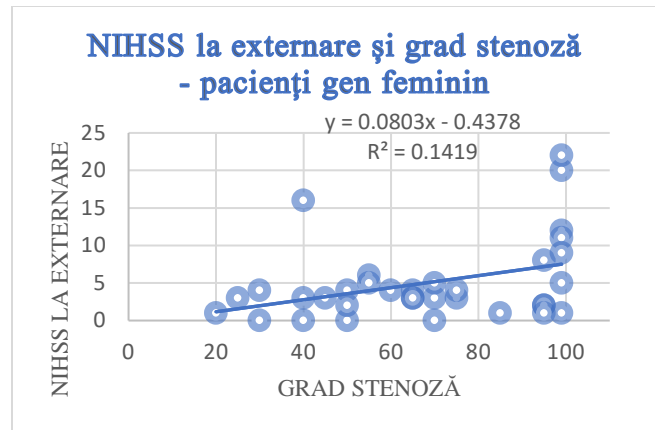


Figura 9 – Corelație între NIHSS la externare și grad stenoză artere carotide

#### 1.4 Concluzii

1. Pacienții de gen feminin au prezentat AVC ischemice la vârste mai înaintate (76 de ani), comparativ cu pacienții de gen masculin (68 de ani). În cazul celorlalte variabile incluse în studiu, nu au fost observate diferențe notabile comparativ între cele două genuri.
2. Pacienții de gen feminin au prezentat AVC ischemice mai severe, cu un punctaj mediu pe scala NIHSS de 7,34, comparativ cu genul masculin care a totalizat un punctaj mediu de 6,8 puncte pe scala NIHSS.
3. Variabila hsPCR se corelează direct proporțional, semnificativ statistic, cu NIHSS-ul la internare la pacienții din lotul studiu, motiv pentru care putem concluziona faptul că poate fi considerat un marker de încredere în ceea ce privește evoluția și prognosticul pacienților cu AVC ischemic.
4. Rapoartele între neutrofile și limfocite (NEU/LYM) și trombocite și limfocite (PLT/LYM) ar putea fi considerate biomarkeri pentru prognosticul și evoluția AVC ischemic, însă trebuie dezvoltate studii ulterioare care să țină cont de teritoriul vascular infarctizat pentru a putea fi corelate corect cu punctajul pe scala NIHSS.
5. Între gradul stenozelor carotidiene și raportul între neutrofile și limfocite (NEU/LYM) există o corelație moderată, direct proporțională, respectiv o corelație moderată, invers proporțională cu raportul între trombocite și limfocite (PLT/LYM), ceea ce le aduce în discuție ca posibili markeri ai ateromatozei carotidiene, însă sunt necesare studii complementare.

6. O valoare a raportului neutrofile/limfocite (NEU/LYM) mai mare sau egală cu 2,61, alături de o stenoză carotidiană moderată (50-69%) sau severă ( $\geq 70\%$ ) poate reflecta un risc ridicat de AVC ischemic.
7. Valoarea medie a raportului plachete/limfocite (PLR) în lotul studiu a fost semnificativ mai mare decât în lotul martor (147,86, în timp ce în grupul de control 114,95), astfel considerăm că acest raport poate fi luat în considerare pentru evaluări în dinamică a severității AVC ischemic.
8. Accidentele vasculare cerebrale ischemice în teritoriul anterior (artera cerebrală medie, respectiv artera cerebrală anterioară) – 72%, au fost mai frecvente în lotul studiu, decât cele în teritoriul posterior – 28%.
9. Un procent de 59% din pacienții incluși în studiu au fost diagnosticați cu stenoze carotidiene moderat-severe (stenoze moderate cuantificate în procent de 50-69%, stenoze severe cuantificate ca procent  $\geq 70\%$ ). Majoritatea acestor pacienți au fost de gen masculin și fumători.

## **STUDIUL 2 – Evaluarea reactanților specifici (interleukina 6, interleukina 1 $\beta$ și TNF-alpha) de faza acută în inflamația cauzată de AVC ischemic acut**

### **2.1 Introducere**

#### Ipoteza de lucru

Contrar progreselor terapeutice recente, accidentul vascular cerebral ischemic rămâne o patologie neurologică cu un impact socioeconomic imens la nivel mondial [143]. Abordările terapeutice au fost în primul rând direcționate spre conservarea neuronilor în teritoriul ischemiat și tratamentele disponibile în prezent, tromboliza - activator tisular de plasminogen recombinat intravenos și intervențiile endovasculare - vizează recanalizarea rapidă pentru a restabili aportul de oxigen și nutrienți la nivelul zonei afectate [143]. În miezul teritoriului ischemic, definit clinic ca regiunea cu flux sanguin cerebral regional < 20 %, moartea neuronală acută se produce rapid, în câteva minute până la ore, după ocluzie, din cauza unui deficit energetic care are ca rezultat un dezechilibru ionic intracelular, insuficiență mitocondrială. și activarea proteazelor, lipazelor și ribonucleazelor intracelulare, conducând la descompunerea rapidă a elementelor structurale celulare și la pierderea integrității celulare. Cu toate acestea, în afara miezului ischemic, țesutul cerebral este încă parțial perfuzat, deși într-un ritm redus. Această regiune, denumită penumbră ischemică, este adesea definită de o rată de perfuzie redusă, care este, totuși, mai mare decât cea observată în miezul ischemic [144]. Cu toate acestea, chiar dacă fluxul sanguin este restabilit, neuronii din penumbra se confruntă cu provocări majore pentru supraviețuirea lor, cum ar fi excitotoxicitatea și inflamația. Inflamația, inițiată de fluxul sanguin stagnant, activarea leucocitelor intravasculare și eliberarea de mediatori proinflamatori din endoteliul ischemic și parenchimul cerebral, are potențialul de a crește leziunile tisulare. În timp ce multe aspecte ale inflamației sunt benefice și vizează restabilirea homeostaziei tisulare, leziunile colaterale cauzate de răspunsul inflamator acut contribuie la afectarea ischemică.

#### Scopul studiului:

Inflamația în accidentul vascular cerebral ischemic este un subiect intens dezbătut în studiile conduse în ultimii ani, aceasta putând duce la agravarea statusului pacientului și putând fi un target pentru terapii de viitor în ceea ce privește această patologie. Scopul studiului de față este să stabilească dacă există o corelație între biomarkerii inflamației și severitatea accidentului vascular cerebral ischemic, precum și a prognosticului pacienților care au suferit o ischemie cerebrală.

### **Obiectivele specifice ale studiului:**

**Obiectivul principal** – evaluarea corelației între markerii inflamatori serici – interleukina 6, interleukina 1 $\beta$  și TNF alpha (reactanți specifici de fază acută) și severitatea AVC ischemic, precum și prognosticul pacienților cu aceasta patologie.

### **Obiective secundare:**

- Studierea unei posibile corelații între ateromatoza carotidiană și acești markeri.
- Stabilirea factorilor de risc și a comorbidităților pacienților care au suferit deja un accident vascular cerebral ischemic, evidențiind comorbiditățile principale care ar putea contribui la o nouă recidivă.
- Alcătuirea unui scor de risc al prognosticului pacienților care au suferit un accident vascular cerebral ischemic, precum și riscul unei recidive a accidentului vascular cu aplicabilitate reală, în urma coroborării datelor acumulate.

## **2.2 Material și metode**

### **Alegerea grupului de studiu:**

Studiul s-a desfășurat în perioada 1 ianuarie – 31 decembrie 2021 în cadrul Spitalului Clinic Județean de Urgență Sibiu, respectiv Departamentul de Neurologie. Studiul a fost aprobat de către comisia de etică a Spitalului Clinic Județean de Urgență Sibiu și a Universității Lucian Blaga Sibiu (atașat prezentei lucrări). Fiecare pacient inclus în studiu a semnat un consimțământ informat (atașat prezentei lucrări).

### **Etapele studiului:**

În loturile de cercetare au fost incluși subiecți de vârstă adultă, care au suferit un accident vascular cerebral ischemic acut (cu debut < 24 de ore anterior prezentării în Unitatea Primiri Urgențe Sibiu) și care au fost internați consecutiv în Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu. Etapele studiului au fost clar explicate tuturor pacienților incluși în studiu, anterior semnării acordului informat:

- evaluare neurologică efectuată de un medic neurolog la momentul și pe parcursul internării (examen neurologic + scor NIHSS + scor Rankin);
- efectuarea unor analize de sânge specifice (markeri inflamatori) în plus față de analizele standard efectuate în cadrul spitalizării;

Pacienții au fost divizați în două loturi:

- Un LOT DE CERCETARE divizat în două subloturi:
  - pacienți cu AVC ischemic și infecție SARS-COV2 (lot comparat cu un sublot de pacienți cu AVC ischemic, fără infecție SARS-COV2 asociată)
  - pacienți cu AVC ischemic și SARS-COV2 negativi
- Un LOT MARTOR: lot de pacienți fără antecedente personale patologice de accident vascular cerebral ischemic, de vârste și gen comparabile cu lotul de cercetare (pentru a se dovedi încadrarea în limite fiziologice a nivelurilor analizelor recoltate).

Date colectate retrospectiv și la momentul includerii în studiu: vârstă, gen, antecedente personale patologice (afecțiuni asociate), date paraclinice (CT cranian), test PCR.

Date colectate pe parcursul cercetării: biologic: IL-6, TNF alpha, IL-1  $\beta$  și paraclinic: ecografie Doppler carotidiană extracraniană.

#### **Criterii de includere în studiu:**

- Pacienți adulți, care au fost internați în Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu, cu suspiciune de AVC ischemic
- Simptome și semne neurologice care să ridice suspiciunea unui AVC ischemic la debut (debut < 24 ore)
- Imagistică cerebrală care să excludă o tumoră cerebrală sau AVC hemoragic

#### **Criterii de excludere din studiu:**

- Oricare patologie medicală care poate influența markerii inflamației: infecții, boli autoimune, neoplazii, boli hematologice (limfom, mielom multiplu, etc), boli reumatologice (artrita reumatoidă).
- Pacienți care au urmat recent (ultimele 30 zile) tratament cu corticosteroizi sau imunosupresoare.
- Pacienți cunoscuți în ultimele 180 zile cu infarct miocardic acut, miocardită sau AVC ischemic acut
- Pacienți care au suferit traumatisme anterior prezentării în serviciul de gardă și care au fost puse în evidență la momentul internării.

## Recoltarea probelor biologice și măsurarea biomarkerilor

Toate probele au fost recoltate în vacutainere EDTA, centrifugate la  $1500 \times g$  pentru 15 minute și ulterior au fost congelate la  $-80^{\circ}\text{C}$ . Din probe s-au lucrat biomarkerii IL-6, IL-1  $\beta$  și TNF alpha. Probele care nu au fost conforme, au fost excluse.

Ca și markeri imagistici, s-a efectuat ecografie doppler extracraniană de artere carotide, prin intermediul acesteia stabilindu-se gradul ateromatozei carotidiene:

- ateromatoză carotidiană incipientă – mici plăci ateromatoase dispuse la nivelul ACI
- ateromatoză carotidiană moderată – stenoze carotidiene (ACI) de 50-69%
- ateromatoză carotidiană severă – stenoze carotidiene (ACI)  $>70\%$

### 2.3 Rezultate

În cazul lotului studiu, cel mai frecvent factor de risc a fost hipertensiunea arterială, aceasta fiind regăsită în cazul a 62,5% pacienți, fiind urmată de fibrilația atrială (32,14%) și diabetul zaharat tip II (19,64%) (tabelul 10).

Markerii inflamatori, respectiv IL-6, TNF-alpha și IL1 $\beta$  (prima recoltare), s-au corelat pozitiv, direct proporțional, cu NIHSS-ul la internare. Valorile acestora au fost semnificativ crescute la pacienții cu AVC ischemice extinse, care au totalizat un punctaj mare la scorul NIHSS (figura 15-19).

Biomarkerul IL6 – recoltarea ziua 1 (figura nr. 15) și recoltarea ziua 7 (figura nr. 16) se corelează semnificativ statistic, direct proporțional, cu  $r = 0,951$ , respectiv  $r = 0,940$ ,  $p < 0,001$ , cu scorul NIHSS la internare, respectiv severitatea AVC ischemic.

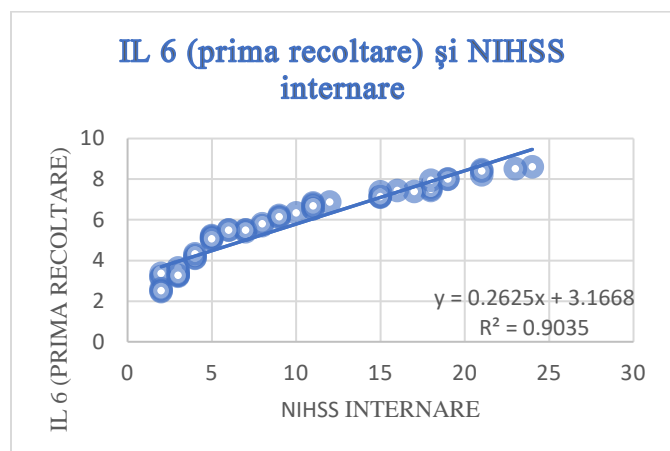


Figura 15 – Corelație între IL-6 (prima recoltare) și NIHSS internare

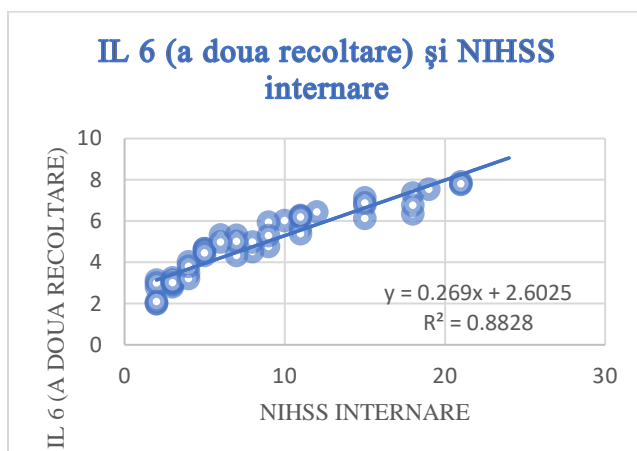


Figura 16 – Corelație între IL-6 (a doua recoltare) și NIHSS internare

Biomarkerul IL1 $\beta$ , recoltare ziua 1, se corelează direct proporțional, semnificativ statistic,  $r = 0,424$ ,  $p < 0,001$ , cu scorul NIHSS la internare, la pacienții cu AVC ischemic acut (figura 17).

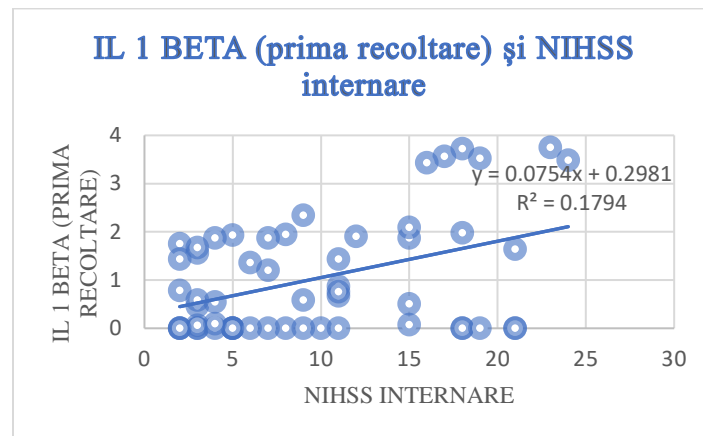


Figura 17 – Corelație între IL-1  $\beta$  și NIHSS internare

Similar, biomarkerul TNF-alpha, ambele recoltări, respectiv ziua 1 și ziua 7, se corelează semnificativ statistic, direct proporțional,  $r = 0,972$ , respectiv  $r = 0,671$ ,  $p < 0,001$ , cu punctajul totalizat pe scala NIHSS de către pacienții care au suferit un AVC ischemic acut (figura 18 și figura 19).

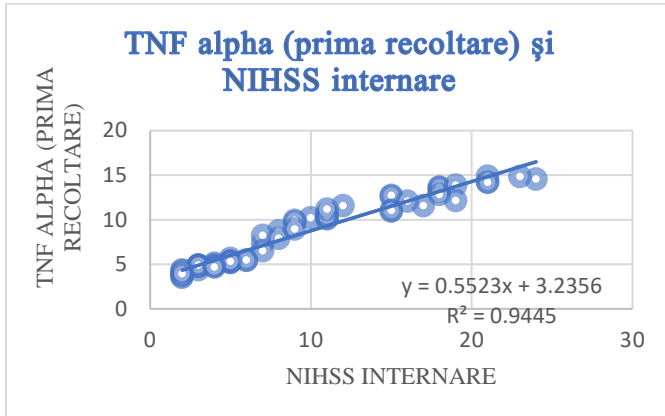


Figura 18 – Corelație între TNF alpha (prima recoltare) și NIHSS internare

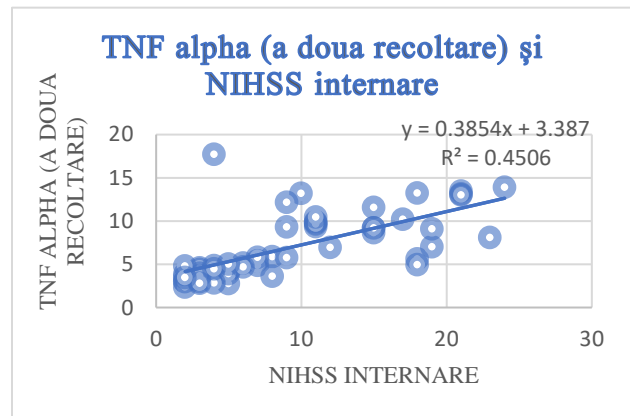


Figura 19 – Corelație între TNF alpha (a doua recoltare) și NIHSS internare

În ceea ce privește NIHSS-ul la externare, markerii inflamatori s-au corelat pozitiv, respectiv direct proporțional cu punctajul obținut la acest scor de către pacienții care au suferit AVC ischemice. IL6 și TNF alpha, ambele recoltări, s-au corelat pozitiv cu NIHSS la externare (figura 21-24), (valorile acestor markeri au crescut în cazul pacienților care s-au agravat și au obținut un NIHSS la externare mai mare decât cel din ziua 1, respectiv au scăzut la pacienții care s-au ameliorat și au obținut un scor mai mic



comparativ cu cel din ziua 1, respectiv ziua internării). Dintre markerii luați în considerare, a doua recoltare a TNF-alpha (respectiv recoltarea din ziua 7) a avut cea mai bună corelație cu NIHSS-ul la externare la pacienții incluși în studiu.

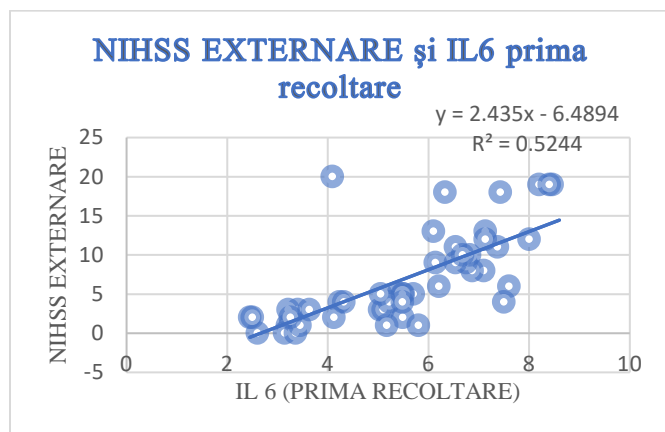


Figura 21 – Corelație între IL-6 (prima recoltare) și NIHSS externare

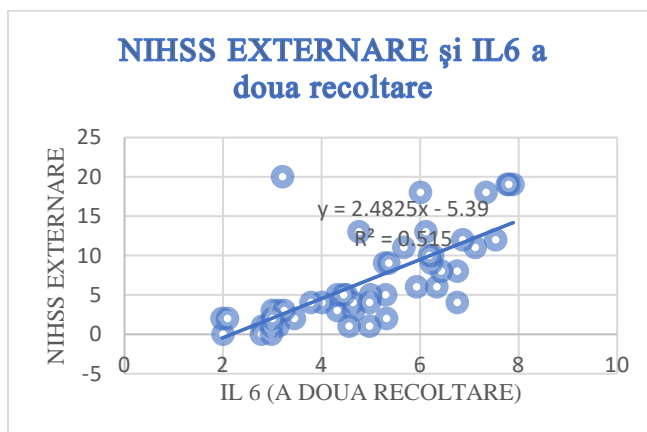


Figura 22 – Corelație între IL-6 (a doua recoltare) și NIHSS externare

Ambele recoltări ale biomarkerului TNF-alpha se corelează semnificativ statistic, direct proporțional,  $r = 0,746$ , respectiv  $r = 0,968$ ,  $p < 0,001$ , cu scorul NIHSS la externare (figura 23). A doua recoltare a TNF-alpha are cea mai bună corelație cu acest scor, acesta fiind practic cel mai fidel biomarker în ceea ce privește prognosticul pacienților cu AVC ischemic la 7 zile de la debut (figura 24).

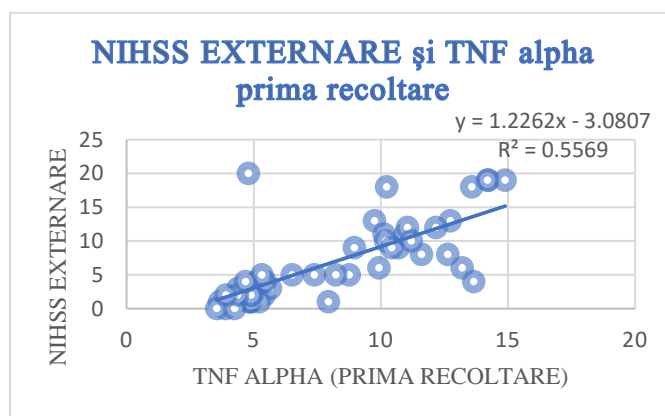


Figura 23 – Corelație între TNF-alpha (prima recoltare) și NIHSS externare

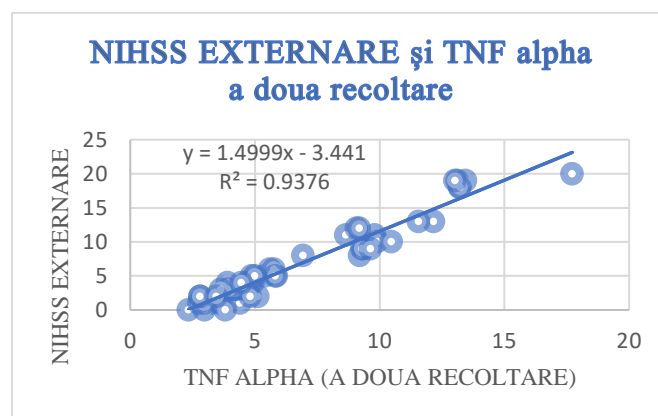


Figura 24 – Corelație între TNF-alpha (prima recoltare) și NIHSS externare

Există însă diferențe semnificative între punctajul obținut la scala Rankin la externare și tipul AVC ischemic ( $p=0.001$ ). Pacienții care au suferit AVC ischemice în teritoriul anterior au totalizat un punctaj mai mare la scala Rankin, comparativ cu cei care au suferit AVC ischemice în teritoriul posterior sau ictusuri lacunare (figura 34).

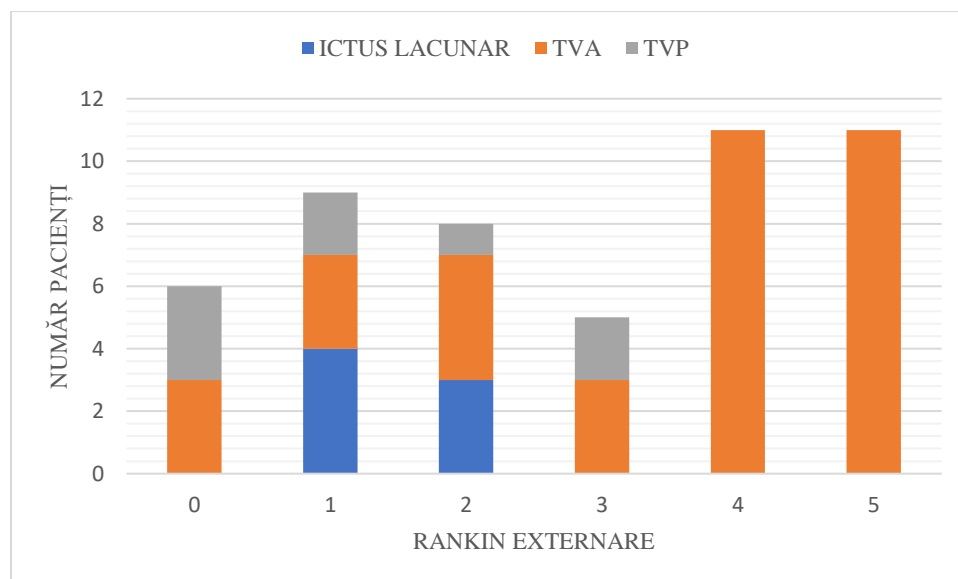


Figura 34 – Rankin externare in funcție de tip AVC

### Corelație IL1beta și ecografie doppler extracraniană artere carotide

(\*=semnificativ statistic ( $p<0.05$ ), \*\*=inalt semnificativ statistic ( $p<0.001$ ))

VARIABILĂ	NIHSS INTERNARE	ECO DOPPLER CAROTIDE
<b>tot lotul</b>		
<b>IL 1 BETA (prima recoltare)</b>	0,238	,529**
<b>IL 1 BETA (a doua recoltare)</b>	0,102	,653**

Tabelul 22 – Corelație între IL1 $\beta$  (prima recoltare și a doua recoltare) și NIHSS internare, IL1 $\beta$  și ecografie doppler extracraniană artere carotide

Markerul inflamator IL1 $\beta$ , respectiv ambele recoltări, s-au corelat pozitiv, direct proporțional, semnificativ statistic cu gradul ateromatozei carotidiene ( $p < 0,001$ ).

Stenozele severe ale arterei carotide interne, determinate prin intermediul ecografiei doppler extracraniene s-au corelat semnificativ statistic, direct proporțional, cu valoarea biomarkerului IL1 $\beta$ , ambele recoltări (figura 35 și figura 36).

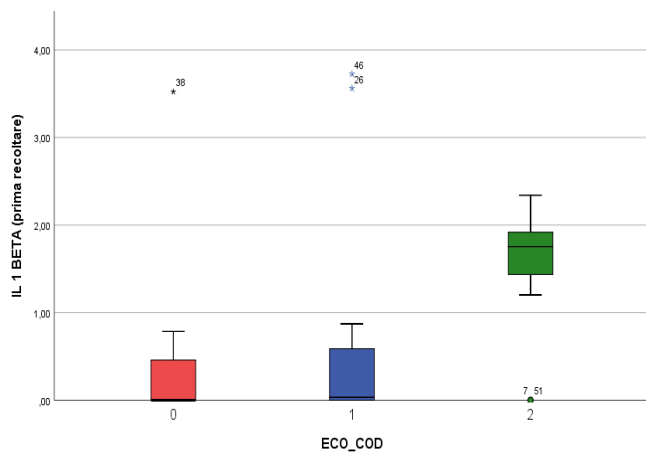


Figura 35 – Corelații între IL-1  $\beta$  (prima recoltare) și ecografia doppler extracraniană artere carotide

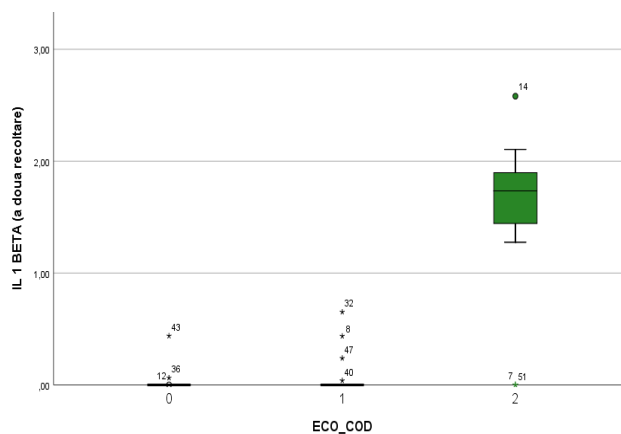


Figura 36 – Corelații între IL-1  $\beta$  (a doua recoltare) și ecografia doppler extracraniană artere carotide

## **CORELAȚII ALE BIOMARKERILOR INFLAMAȚIEI LA PACIENȚII CU INFECȚIE**

### **SARS-COV 2**

Pacienții incluși în studiu au fost împărțiți în două loturi, respectiv pacienți cu infecție SARS-COV 2 și pacienți fără infecție SARS-COV2. Vârsta pacienților incluși în ambele loturi a fost în medie de 70 de ani, cu un NIHSS la internare cu o medie de 12,5 puncte la pacienții cu infecție SARS-COV 2, respectiv 11 puncte la cei fără infecție SARS-COV 2.

În lotul de pacienți fără infecție SARS-COV2, 32,5% din pacienții care au suferit un AVC ischemic au beneficiat de tratament trombolitic, comparativ cu 15% în lotul cu infecție SARS-COV2. Infecția cu SARS-COV2 s-a corelat semnificativ cu decesul pacienților cu AVC ischemic incluși în studiu, OR=4.2 (95%CI 1.35 - 13.065), riscul ca un pacient cu infecție SARS COV 2 să decedeze fiind de 4.2 ori mai mare față de cei fără infecție SARS-COV2 asociată.

NIHSSul la internare se corelează semnificativ cu scorul de severitate descris pe computer tomografia toracelui la pacienții cu AVC ischemic și infecție SARS-COV 2:  $r=0.742$  ( $p<0.001$ ) – corelație foarte bună, semnificativă statistic, direct proporțională (când scorul NIHSS crește, crește și scorul de severitate CT torace).

Un scor NIHSS >15 influențează semnificativ decesul, cei care totalizează un punctaj peste 15 pe scala NIHSS au un risc de 9,16 ori mai mare să decedeze. Acesta se corelează în analiza multivariată cu fibrinogenul și IL 6, adică toate cele 3 variabile influențează în același timp decesul.

În cazul pacienților cu infecție SARS-COV 2 variabilele fibrinogen, VSH, D-dimeri și IL6 au fost corelate pozitiv cu gradul de severitate al AVC ischemic, corelație pozitivă, direct proporțională.

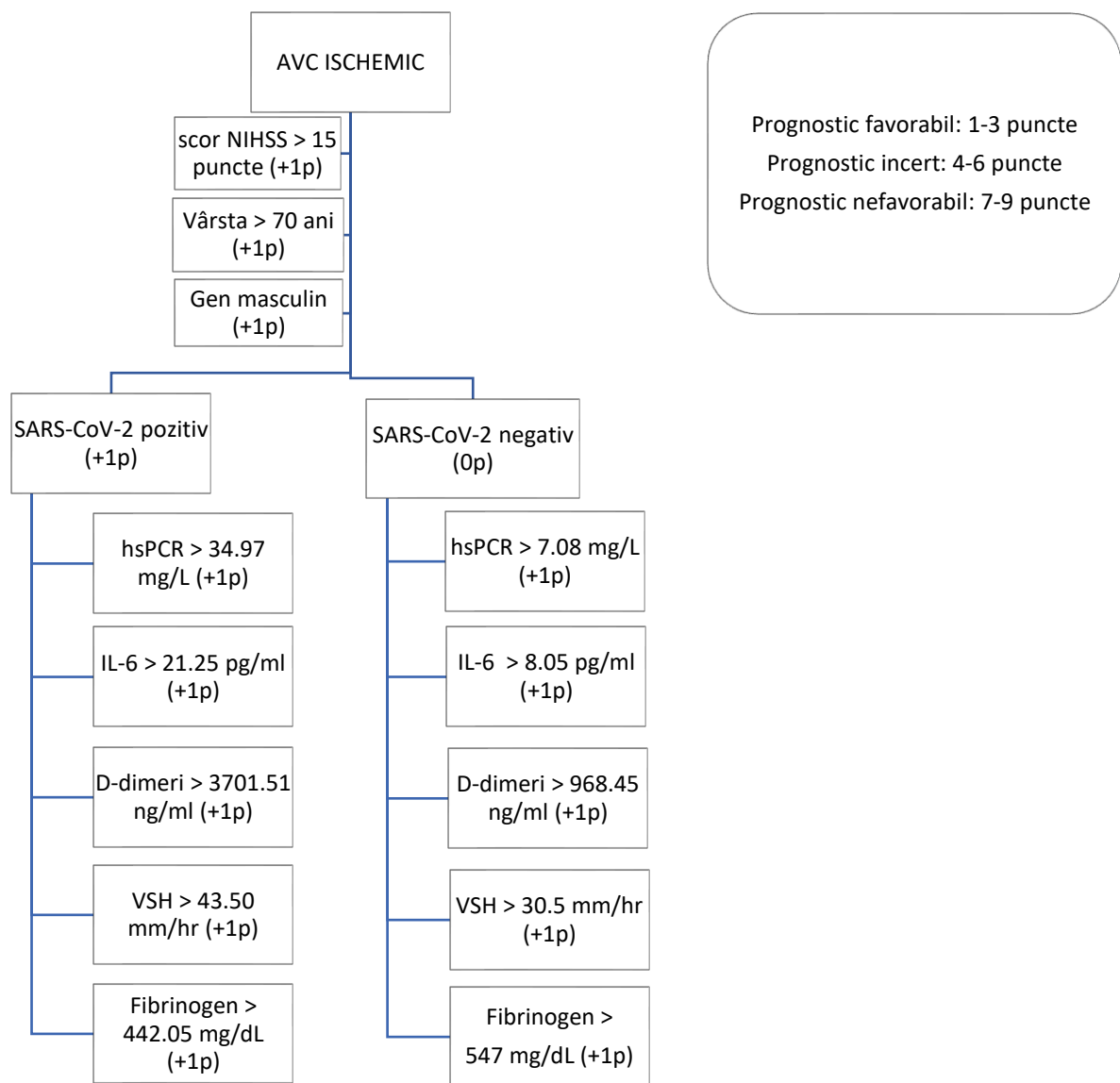


Figura 61 – Scor severitate și prognostic pacienți cu AVC ischemic acut cu sau fără infecție SARS-COV2 asociată

## 1.5 Concluzii

1. La pacienții cu AVC ischemic acut markerii inflamației, respectiv IL6 (prima recoltare – ziua 1 și a doua recoltare – ziua 7), TNF-alpha (prima recoltare – ziua 1 și a doua recoltare – ziua 7), IL1 $\beta$  (prima recoltare – ziua 1) se corelează pozitiv, direct proporțional cu punctajul totalizat de pacienții cu AVC ischemic acut pe scala NIHSS la internare.
2. Nu există nicio corelație semnificativă, la pacienții cu AVC ischemic acut, între NIHSS la internare și IL1 $\beta$  a doua recoltare – ziua 7.
3. La pacienții cu AVC ischemic acut, NIHSS-ul la externare, se corelează pozitiv, direct proporțional cu markerii inflamației, respectiv IL6 (prima recoltare – ziua 1 și a doua recoltare – ziua 7), TNF-alpha (prima recoltare – ziua 1 și a doua recoltare – ziua 7). NIHSS-ul la externare nu se corelează cu IL1 $\beta$ .
4. IL6 și TNF-alpha sunt markerii care au avut cele mai bune corelații atât cu NIHSS-ul la internare, cât și cu NIHSS-ul la externare, la pacienții cu AVC ischemic acut.
5. IL1 $\beta$  (prima recoltare – ziua 1 și a doua recoltare – ziua 7) se corelează pozitiv și direct proporțional cu stenozele carotidiene moderate (50-69%) și severe ( $\geq 70\%$ ) – (cut off value – 1,0375).
6. Scala RANKIN la externare se corelează pozitiv, direct proporțional, cu IL6 și TNF-alpha. TNF-alpha a doua recoltare având cea mai bună corelație cu această scală dintre toți markerii incluși în studiu, concluzionând astfel că acesta poate fi considerat un marker fidel al prognosticului dizabilității pacienților cu AVC ischemic.
7. Pacienții cu AVC ischemic în teritoriul vascular anterior au valori mai crescute ale markerilor inflamației comparativ cu pacienții cu AVC ischemic în teritoriul posterior, respectiv comparativ cu cei care au suferit un ictus lacunar.
8. La debutul AVC ischemic acut (primele 24 ore de la debutul simptomatologiei), cut off value de 5,310 (IL6), 1,938 (IL1 $\beta$ ) și 6,095 (TNF-alpha) fac diferența între teritoriile afectate de ischemia cerebrală, respectiv teritoriul vascular anterior și teritoriul vascular posterior.
9. Pacienții cu AVC ischemic acut în teritoriul vascular anterior totalizează un punctaj mai mare pe scala Rankin la externare, având o dizabilitate mai accentuată comparativ cu pacienții cu AVC ischemic acut în teritoriul posterior sau ictus lacunar.

10. Valorile biomarkerilor IL6, TNF-alpha și IL1 $\beta$  din primele 24 ore pot fi considerate predictibile pentru decesul pacienților (nivelurile biomarkerilor recoltați în primele 24 ore au fost semnificativ mai ridicate la pacienții care au decedat).
11. Infecția cu SARS-COV 2 și NIHSS-ul  $\geq 15$  la pacienții cu AVC ischemic influențează semnificativ decesul. Decesul acestor pacienți, se corelează totodată cu IL6 și fibrinogenul.
12. Pacienții cu AVC ischemic acut și infecție SARS-COV 2 au un risc de deces de 4,2 ori mai mare decât pacienții cu AVC ischemic acut fără infecție SARS-COV 2 asociată.
13. Pacienții cu AVC ischemic acut, infecție SARS-COV2 și NIHSS  $\geq 15$  au un risc de 9,16 ori mai mare să decedeze, comparativ cu pacienții cu AVC ischemic acut fără infecție SARS-COV2 asociată.
14. NIHSS-ul la internare la pacienții cu AVC ischemic acut și infecție SARS-COV2 se corelează semnificativ, direct proporțional, cu scorul de severitate al CT torace.
15. Severitatea AVC ischemic acut la pacienții cu infecție SARS-COV2 se corelează semnificativ, pozitiv, direct proporțional cu IL6, VSH, fibrinogen și D-Dimeri.

## **STUDIUL 3 – Importanța disfuncției tiroidiene în accidentul vascular cerebral ischemic acut**

### **3.1 Introducere**

Disfuncția tiroidiană este o patologie relativ frecventă, însă până în acest moment efectele pe termen lung asupra morbidității și mortalității nu sunt pe deplin elucidate.

Hormonul de stimulare tiroidiană (TSH) reglează sinteza și eliberarea hormonilor tiroidieni prin bucla de feedback negativ a axei hipotalamo-hipofizo-tiroidiene. Astfel, TSH este un marker important al disfuncției tiroidiene: TSH crescut indică hipotiroidism și TSH sub limitele fiziologice indică hipertiroidism [195].

Disfuncția tiroidiană subclinică este definită de valorile hormonului de stimulare a tiroidei (TSH) din ser în afara intervalului de referință, dar cu concentrații normale de tiroxină liberă (T4), precum și triiodotironina liberă (T3) în caz de hipertiroidism subclinic [196].

Disfuncția tiroidiană în intervalul subclinic este foarte frecventă, cu o prevalență a hipotiroidismului subclinic variind între 4 și 14 % la adulți, acest procent crescând odată cu vârsta. Hipertiroidismul subclinic este mai puțin frecvent în populația generală cu o prevalență variind de la 0,7% [16] până la 10% la femei [197].

În hipertiroidism creșterea hormonilor tiroidieni duce la elevarea contractilității cardiace, a debitului și ritmului cardiac și reduc rezistența vasculară. Acest lucru poate duce la hipertrofie cardiacă și aritmie. Efectul disfuncției tiroidiene subclinice asupra factorilor de risc pentru bolile cardiovasculare poate fi mai puțin pronunțat [196]. Factorii de risc pot crește însă riscul de boală cardiacă ischemică, accident vascular cerebral și mortalitate. O certitudine este însă faptul că importanța clinică, mai ales în disfuncția tiroidiană subclinică, este încă un mare semn de întrebare în cercetările actuale.

### **3.2 Material și metode**

În studiu au fost incluși 80 pacienți de vârstă adultă care au fost diagnosticați cu hipertiroidism latent (TSH scăzut, FT4 în limite de referință) și hipotiroidism latent (TSH crescut, FT4 în limite de referință), internați consecutiv în cadrul Spitalului Clinic Județean de Urgență Sibiu, clinica de Neurologie, cu diagnostic de AVC ischemic acut (simptomatologie debutată). Studiul s-a desfășurat pe parcursul a 3 ani (ianuarie 2020 – decembrie 2022), perioada de recrutare a fost de 24 de luni, cele 12 de luni restante fiind alocate urmării pacienților.

Pacienții au fost distribuiți în două subloturi de studiu:

- Un lot de cercetare – care a inclus pacienți cu patologie tiroidiană subdivizat în:
  - Sublot 1 – pacienți cu hipertiroidism subclinic – FT4 în limite de referință, TSH scăzut.
  - Sublot 2 – pacienți cu hipotiroidism subclinic – FT4 în limite de referință, TSH crescut.

Date colectate retrospectiv și la momentul includerii în studiu: vârstă, gen, APP (afecțiuni asociate), date paraclinice (ecografie Doppler carotidiană extracraniană), biologic: hemoleucograma, nivelurile serice FT4, TSH, colesterolemie.

Date colectate pe parcursul cercetării: corelații între markerii biologici specifici hipo și hipertiroidismului și ischemia cerebrală suferită.

Ca și markeri imagistici, s-a efectuat ecografie doppler extracraniană de artere carotide, prin intermediul acestora stabilindu-se gradul ateromatozei carotidiene:

- a. ateromatoză carotidiană incipientă – mici plăci ateromatoase dispuse la nivelul ACI (eco 0)
- b. ateromatoză carotidiană moderată – stenoze carotidiene (ACI) de 50-69% (eco 1)
- c. ateromatoză carotidiană severă – stenoze carotidiene (ACI) >70% (eco 2)

Criterii includere:

- Pacienți fără AVC ischemic cronic în antecedentele personale patologice și fără patologie tiroidiană cunoscută la momentul includerii în studiu
- Pacienți cu AVC ischemic acut, cu debutul simptomatologiei  $\leq 24$  ore.
- Hipertiroidism subclinic: nivel TSH – 0,01 – 0,04 mU/L
- Hipotiroidism subclinic: nivel TSH  $\leq 10$  mU/L

Criterii excludere:

- Pacienți care urmau tratament cu statine
- Patologie tiroidiană și endocrinologică cunoscută
- AVC ischemic cronic



### 3.3 Rezultate

Majoritatea pacienților incluși în studiu au fost de gen feminin (83,75%). Patologia tiroidiană cea mai des întâlnită a fost hipotiroidismul subclinic, 67 de pacienți au fost diagnosticați de novo cu hipotiroidism subclinic la momentul internării, iar 13 pacienți cu hipertiroidism subclinic. Din punct de vedere al patologiei neurologice, 45% dintre pacienții incluși în studiu au suferit un AVC ischemic în teritoriul vascular anterior și doar 11% ictusuri lacunare.

Există o asociere semnificativă statistic ( $p < 0.05$ ) între colesterol și TSH (tabelul 36). Nu există asocieri semnificative între TSH și celelalte variabile incluse în studiu, respectiv tipul AVC ischemic, genul pacienților sau gradul ateromatozei carotidene.

Un procent de 91 % din pacienții incluși în studiu au avut niveluri ale colesterolului mărite, corelate cu niveluri ridicate ale TSH (figura 62).

Dat fiind faptul că un număr mai mare de pacienți au suferit AVC ischemice în teritoriul vascular anterior, acest lucru s-a regăsit și în diagnosticul hipotiroidismului subclinic, respectiv, cei mai mulți pacienți cu hipotiroidism subclinic, au fost diagnosticați cu ischemii cerebrale în teritoriul anterior (figura 63).

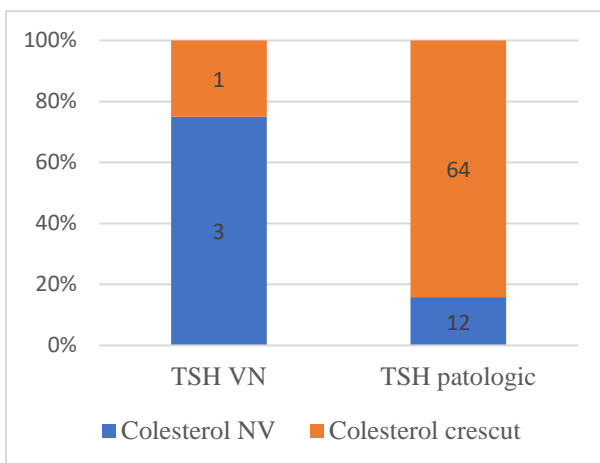


Figura 62 – Corelație TSH și colesterol

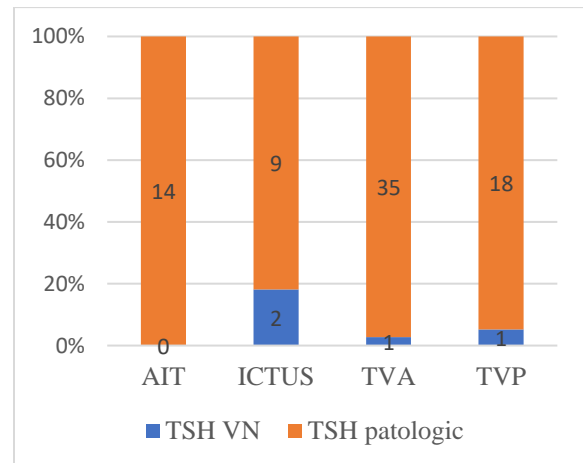


Figura 63 – Corelație între TSH patologic și tip AVC

Tuturor pacienților incluși în studiu li s-a efectuat la momentul internării ecografie doppler extracranienă artere carotide și s-a observat o corelație semnificativă statistic, direct proporțională, între nivelurile TSH și gradul stenozei carotidiene (figura 64).

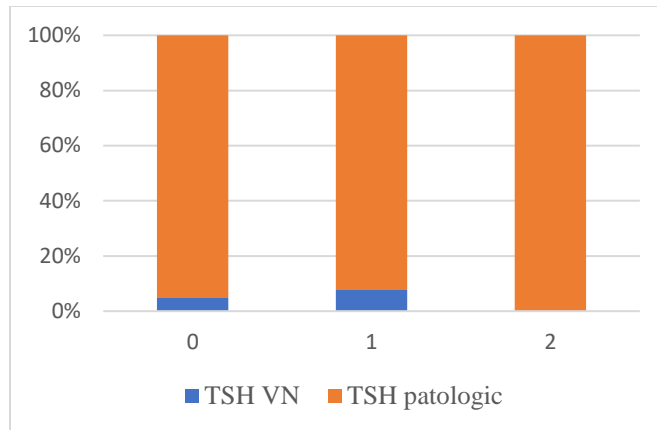


Figura 64 – Corelație între niveluri serice TSH și gradul stenozei arterei carotide interne

Între TSH și colesterolul total există o corelație liniară pozitivă foarte bună, semnificativă statistic ( $r=0.794$ ,  $p<0.001$ ) (figura 65).

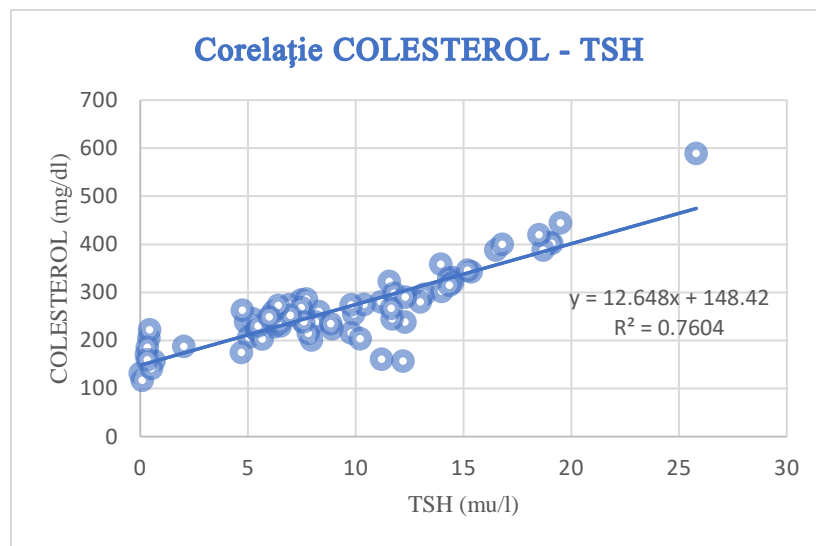


Figura 65 – Corelație semnificativă între nivelurile TSH seric și nivelurile colesterol total

TSH s-a corelat semnificativ, direct proporțional, cu NIHSS-ul la internare la pacienții cu AVC ischemic în teritoriul anterior, însă nu s-a observat o corelație semnificativă între acesta și AIT, ictus lacunar sau AVC în teritoriul posterior (figura 66).

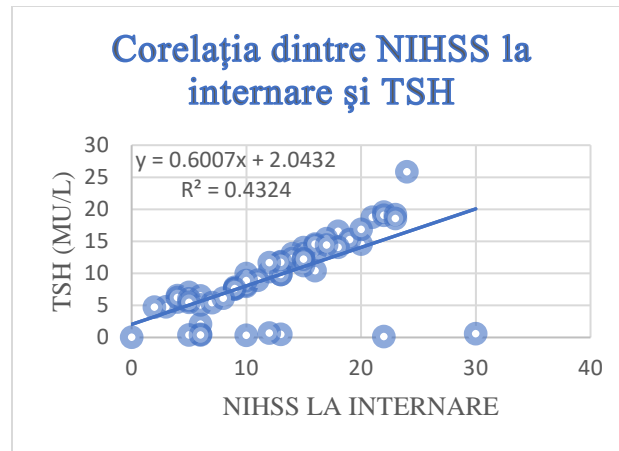


Figura 66 - Corelație între scorul NIHSS la internare și TSH

### 3.4 Concluzii

1. Pacienții de gen feminin sunt majoritari în ceea ce privește diagnosticul cu hipotiroidism subclinic, 83,75% din pacientele incluse în studiul nostru fiind diagnosticate cu această patologie.
2. Un procent de 45% din pacienții incluși în studiu au suferit un AVC ischemic acut în teritoriul vascular anterior.
3. În cazul pacienților cu AVC ischemic acut în teritoriul vascular anterior, nivelurile serice de TSH se corelează semnificativ, direct proporțional, cu severitatea ischemiei cerebrale, respectiv cu scorul NIHSS la internare.
4. Nivelurile serice TSH la internare s-au corelat semnificativ statistic, direct proporțional, cu scala RANKIN la externare la pacienții cu AVC ischemic acut în teritoriul vascular anterior, constituind astfel un factor de predictibilitate pentru gradul de dizabilitate la acești pacienți.
5. Nivelurile TSH s-au corelat semnificativ, direct proporțional, cu gradul stenozelor carotidiene. O valoare a  $TSH \geq 4,7$  mUI/L face diferența între pacienții fără ateromatoză carotidiană și cei cu ateromatoză carotidiană moderat-severă.
6. Pacienții cu hipotiroidism subclinic, cu niveluri TSH ridicate, au fost diagnosticați cu hipercolesteremie (corelație semnificativă, foarte bună, direct proporțională între TSH și colesterol total).
7. Majoritatea pacienților diagnosticați cu hipertiroidism subclinic (78%), au fost diagnosticați la momentul internării cu fibrilație atrială de novo.

8. În cazul pacienților cu hipertiroidism subclinic, TSH nu s-a corelat semnificativ statistic cu NIHSS la internare.
9. Hipertiroidismul subclinic este factor protectiv pentru eco 1 (stenoză carotidiană 50-69%) sau eco 2 (stenoză carotidiană  $\geq 70\%$ ): OR=0.211 (95%CI 0.043-0.996), p=0.038, semnificând faptul că, pacienții cu hipertiroidism subclinic sunt diagnosticați mai rar cu ateromatoză carotidiană moderată sau severă.
10. Pe parcursul desfășurării studiului s-au observat 9 recidive (13,43%) ale AVC ischemic la pacienții cu hipotiroidism subclinic și 1 pacient (7,69%) cu hipertiroidism subclinic a prezentat un AIT CS (pacient diagnosticat cu fibrilație atrială, însă cu tratament medicamentos corect urmat la domiciliu). Considerăm astfel necesar tratamentul medicamentos și la pacienții cu patologie tiroidiană subclinică.

## **CONCLUZII GENERALE**

1. Cel mai frecvent, accidentele vasculare cerebrale ischemice afectează teritoriul anterior, pacienții de gen feminin, prezentând accidente vasculare cerebrale ischemice la vârste mai înaintate și cu o severitate crescută, cu punctaj NIHSS mai mare, comparativ cu pacienții de gen masculin.
2. Trei dintre cele mai des întâlnite antecedente personale patologice în cazul pacienților cu AVC ischemic acut sunt hipertensiunea arterială, fibrilația atrială și diabetul zaharat tip II.
3. Biomarkerul hsPCR se corelează pozitiv, direct proporțional, semnificativ statistic, cu NIHSS-ul pacienților la internare, ceea ce îl face un marker de încredere în ceea ce privește evoluția și prognosticul pacienților cu accident vascular cerebral ischemic.
4. Rapoartele între neutrofile și limfocite și plachete și limfocite sunt influențate de ischemia cerebrală și se corelează pozitiv, direct proporțional cu severitatea accidentului vascular cerebral ischemic, dar studii ulterioare trebuie dezvoltate pentru a stabili cu exactitate detaliile acestei corelații.
5. Pacienții care prezintă stenoze moderat-severe ( $\geq 50\%$ ) ale arterei carotide interne, asociate cu un raport al neutrofilelor și limfocitelor (NEU/LYM) mai mare de 2,61 prezintă un risc înalt de accident vascular cerebral.
6. Markerii inflamației, respectiv interleukina 6 (IL6), interleukina 1 $\beta$  (IL1 $\beta$ ), factorul de necroză tumorală alpha (TNF-alpha) recoltate în primele 24 de ore de la debutul simptomatologiei accidentului vascular cerebral ischemic, se corelează semnificativ statistic, direct proporțional cu severitatea ischemiei cerebrale și cu gradul de dizabilitate al acestor pacienți.
7. Interleukina 6 (IL 6) și factorul de necroză tumorală alpha (TNF-alpha) se corelează semnificativ statistic, direct proporțional cu scorul NIHSS la externare, ceea ce înseamnă că acești markeri ai inflamației pot fi folosiți în dinamică pentru a stabili evoluția și prognosticul pacienților cu accident vascular cerebral ischemic atât pe parcursul internării, cât și la externare.
8. Factorul de necroză tumorală (TNF-alpha) este cel mai fidel marker în ceea ce privește gradul de dizabilitate la externare a pacienților cu accident vascular cerebral ischemic, având o corelație foarte bună, direct proporțională, cu scala RANKIN la externare.
9. Gradul stenozelor arterelor carotide interne se corelează semnificativ, direct proporțional, cu markerul inflamației IL1 $\beta$ ; valoarea cut off – 1,0375 poate face diferența între stenoze carotidiene moderate (50-69%) și stenoze carotidiene severe ( $\geq 70\%$ ).

10. Accidentele vasculare ischemice în teritoriul vascular anterior produc valori ale markerilor inflamației mai ridicate în primele 24 de ore de la debutul simptomatologiei comparativ cu ischemiile cerebrale în teritoriul posterior, motiv pentru care valorile cut-off ale markerilor incluși în studiu (IL6 – 5,310 pg/mL, IL1 $\beta$  – 1,938 pg/mL și TNF-alpha – 6,095 pg/mL) pot face diferența, încă de la internare, între teritoriile afectate.
11. Inflamația ridicată se menține și la 7 zile de la debutul accidentului vascular cerebral, putându-se face astfel diagnosticul diferențial cu certitudine între teritoriul afectat și chiar stroke-mimics (valori cut off – IL6 – 4,705 pg/mL, IL1 $\beta$  – 1,906 pg/mL și TNF-alpha – 4,210 pg/mL). Totodată, valorile markerilor inflamatori scad progresiv de la debutul accidentului vascular cerebral.
12. Nivelurile mult ridicate ale biomarkerilor inflamației (valori cut off – IL6 – 8,24 pg/mL, IL1 $\beta$  – 3,54 pg/mL și TNF-alpha – 14,22 pg/mL) și un NIHSS  $\geq$  21 puncte în primele 24 de ore de la debutul simptomatologiei accidentului vascular cerebral pot fi considerate predictibile în ceea ce privește decesul pacienților.
13. Infecția cu SARS-COV 2 și NIHSS-ul  $\geq$  15 la pacienții cu accident vascular cerebral ischemic influențează semnificativ decesul, aceștia prezentând un risc de 9,6 ori mai mare de exitus comparativ cu pacienții cu accident vascular cerebral ischemic acut fără infecție SARS-COV 2 asociată.
14. Dacă scorul NIHSS  $\leq$  15 puncte, pacienții cu AVC ischemic acut și infecție SARS-COV 2 au un risc de deces de 4,2 ori mai mare decât pacienții cu AVC ischemic acut fără infecție SARS-COV 2 asociată.
15. NIHSS-ul la internare la pacienții cu AVC ischemic acut și infecție SARS-COV2 se corelează semnificativ, direct proporțional, cu scorul de severitate al CT torace efectuat la internare. Practic, afectarea pulmonară în cadrul infecției cu SARS-COV 2 este un factor negativ în ceea ce privește ischemia cerebrală.
16. Severitatea AVC ischemic acut la pacienții cu infecție SARS-COV2 se corelează semnificativ, pozitiv, direct proporțional cu IL6 (valoare cut off – 21,25 pg/mL), VSH (valoare cut-off – 43,50 mm/h), fibrinogen (valoare cut-off – 442,05 mg/dL) și D-Dimeri (valoare cut-off – 3701,51 ng/mL).
17. În cazul pacienților cu accident vascular cerebral ischemic acut, fără infecție SARS-COV 2 asociată, severitatea ischemiei cerebrale se corelează semnificativ, direct proportional, cu hsPCR

(7,08 mg/L), fibrinogenul (547 mg/dL), VSH (30,5 mm/h), D-dimerii (968,45 ng/mL), IL-6 (8,05 pg/mL).

18. Patologia tiroidiană, respectiv hipotiroidismul subclinic, poate influența severitatea accidentului vascular cerebral, motiv pentru care trebuie luată în considerare terapia substitutivă cu hormoni tiroidieni la acești pacienți.
19. Nivelurile serice ale hormonului de stimulare tiroidiană (TSH – recoltat în primele 24 de ore de la debutul simptomatologiei ischemiei cerebrale) se corelează semnificativ statistic, direct proporțional, cu scorul NIHSS la internare al pacienților cu accident vascular cerebral ischemic acut în teritoriul vascular anterior și hipotiroidism subclinic.
20. Hormonul de stimulare tiroidiană (TSH), se corelează semnificativ statistic, direct proporțional, cu nivelurile colesterolului total la 82% din pacienții incluși în studiu.
21. Valorile hormonului de stimulare tiroidiană pot fi predictibile pentru gradul de dizabilitate a pacienților cu accident vascular cerebral ischemic acut, aceste valori corelându-se direct proporțional, semnificativ statistic cu scala RANKIN la externare.
22. Gradul stenozelor arterelor carotide interne se corelează semnificativ, direct proporțional, cu hormonul de stimulare tiroidiană (TSH), niveluri serice  $\geq 4,7$  mUI/L fiind întâlnite în stenozele carotidiene moderate și severe.
23. Hipertiroidismul subclinic poate fi considerat factor protectiv pentru stenozele carotidiene moderat-severe.
24. Pe parcursul desfășurării studiului s-au observat 9 recidive (13,43%) ale AVC ischemic la pacienții cu hipotiroidism subclinic și 1 pacient (7,69%) cu hipertiroidism subclinic a prezentat un AIT CS (pacient diagnosticat cu fibrilație atrială, însă cu tratament medicamentos corect urmat la domiciliu). Considerăm astfel necesar instituirea tratamentului medicamentos și la pacienții cu patologie tiroidiană subclinică.

# AVC ischemic acut

teritoriul vascular anterior

teritoriul vascular posterior

IL6 > 5,310  
pg/mL

IL1β > 1,938  
pg/mL

TNF alpha >  
6,095 pg/mL

IL6 < 5,310  
pg/mL

IL1β > 1,938  
pg/mL

TNF alpha <  
6,095 pg/mL

SARS-COV 2  
pozitiv (+1p)

SARS-COV 2  
negativ (+0p)

NIHSS >  
15 puncte  
(+1p)

vârsta >  
70 ani  
(1p)

gen  
masculin  
(+1p)

D-dimeri  
> 3701.51  
ng/ml  
(+1p)

hsPCR >  
34.97  
mg/L  
(+1p)

VSH >  
43.50  
mm/hr  
(+1p)

Fibrinogen  
> 442.05  
mg/dL  
(+1p)

NIHSS >  
15 puncte  
(+1p)

vârsta >  
70 ani  
(1p)

gen  
feminin  
(+1p)

D-dimeri  
> 968.45  
ng/ml  
(+1p)

hsPCR >  
7.08 mg/L  
(+1p)

VSH >  
30.5 mm/h  
(+1p)

Fibrinogen  
> 547  
mg/dL  
(+1p)

prognostic  
nefavorabil de la  
internare dacă:

IL6 = 8,24  
pg/mL  
(+2p)

IL1β =  
3,54  
pg/mL  
(+2p)

TNF  
alpha =  
14,22  
pg/mL  
(+2p)

suspiciune  
stenoză  
carotidiană  
moderat-severă?

NLR >  
2,61

IL1β >  
0,964  
pg/mL

TSH >  
4,7 mu/L

suspiciune  
FiA de  
novo

recoltează  
hormoni  
tiroidieni

**PUNCTAJ MINIM = 1 punct**

**PUNCTAJ MAXIM = 14 puncte**

(cu cât punctajul totalizat este mai mare, cu atât prognosticul pacientului este mai grav, cu risc mai mare de deces)



## **Contribuții personale și elemente de originalitate ale tezei**

Studiile incluse în această teză își propun să vină în ajutorul clinicienilor cu un set de biomarkeri care să alcătuiască împreună cu alți factori de risc un scor de severitate și prognostic în ceea ce privește pacienții care au suferit un accident vascular cerebral ischemic acut. Este primul studiu din țară care abordează această temă și care, totodată, încearcă să coreleze biomarkerii biologici cu severitatea ateromatozei carotidiene.

Ne-am propus să alcătuiim acest scor din biomarkeri accesibili, care pot fi recoltați în dinamică pentru o mai bună acuratețe a rezultatului final.

Privind din sfera socio-economică, deși costul acestor analize poate părea ridicat, totuși o parte din biomarkerii incluși în studiu sunt recoltați ca și analize uzuale în cazul pacienților cu accident vascular cerebral ischemic acut. Aplicarea lor însă poate fi de mare ajutor pentru preîntâmpinarea complicațiilor, recidivelor sau chiar ischemiilor cerebrale de novo.

Considerăm că lucrarea de față este un punct de plecare în ceea ce privește biomarkerii biologici ai accidentului vascular cerebral ischemic acut, care vin în completarea și nu excluderea biomarkerilor din sfera imagistică.

## **Limitele cercetărilor proprii**

În primul rând, una din limitările importante ale studiului de față este numărul relativ mic de pacienți înrolați pentru ținta de cercetare propusă.

Recoltările biomarkerilor au fost efectuate la 24 de ore de la debutul simptomatologiei și la 7 zile, fără a se continua urmărirea pacienților în dinamică (la 3 luni, la 6 luni, la un an).

În cercetările viitoare ar trebui luate în considerare și antecedentele personale patologice, cum sunt hipertensiunea arterială sau diabetul zaharat, care conform ultimelor publicații din literatura de specialitate pot influența markerii inflamației. Totodată, trebuie luat în considerare indicele de masă corporală al pacienților incluși în studiu și coroborat cu rezultatele markerilor, dat fiind ca studii recente susțin că pacienții obezi pot avea niveluri serice crescute ale interleukinelor.

Accidentul vascular cerebral ischemic rămâne una din provocările pe care le întâmpină medicii neurologi, atât prin prisma tratamentului, cât și prin prisma incertitudinii prognosticului pacientului.

## Bibliografie

1. Liu R, Pan MX, Tang JC, Zhang Y, Liao HB, Zhuang Y, Zhao D, Wan Q. Role of neuroinflammation in ischemic stroke. *Neuroimmunology and Neuroinflammation*. 2017 Aug 28;4:158-166.
2. Feigin VL, Krishnamurthi R. Stroke is largely preventable across the globe: where to next?. *The Lancet*. 2016 Aug 20;388(10046):733-734.
3. Won SJ, Kim JE, Cittolin-Santos GF, Swanson RA. Assessment at the single-cell level identifies neuronal glutathione depletion as both a cause and effect of ischemia-reperfusion oxidative stress. *Journal of Neuroscience*. 2015 May 6;35(18):7143-7152.
4. Iadecola C, Anrather J. The immunology of stroke: from mechanisms to translation. *Nature medicine*. 2011 Jul;17(7):796-808.
5. Amantea D, Micieli G, Tassorelli C, Cuartero MI, Ballesteros I, Certo M, Moro MA, Lizasoain I, Bagetta G. Rational modulation of the innate immune system for neuroprotection in ischemic stroke. *Frontiers in neuroscience*. 2015 Apr 29;9:147.
6. Dorrance AM, Fink G. Effects of stroke on the autonomic nervous system. *Compr Physiol*. 2015 Jul 1;5(3):1241-1263.
7. Becker KJ, Buckwalter M. Stroke, inflammation and the immune response: dawn of a new era. *Neurotherapeutics*. 2016 Oct;13:659-660.
8. Ransohoff RM, Schafer D, Vincent A, Blachère NE, Bar-Or A. Neuroinflammation: ways in which the immune system affects the brain. *Neurotherapeutics*. 2015 Oct;12:896-909.
9. Ahmadi-Ahangar A. Predictive ability of C-reactive protein for stroke. *Caspian Journal of Internal Medicine*. 2016 Jul 10;7(3):151-152.
10. Xie D, Deng L, Liu XD, Li JM, Zhang YB. Role of high sensitivity C-reactive protein and other risk factors in intracranial and extracranial artery occlusion in patients with ischaemic stroke. *Journal of International Medical Research*. 2015 Oct;43(5):711-717.
11. Balogun IO, Roberts LN, Patel R, Pathansali R, Kalra L, Arya R. Thrombin generation in acute ischaemic stroke. *Stroke Research and Treatment*. 2016 Oct;2016.
12. Loeffen R, Winckers K, Ford I, Jukema JW, Robertson M, Stott DJ, Spronk HM, ten Cate H, Lowe GD, PROSPER Study Group. Associations between thrombin generation and the risk of cardiovascular disease in elderly patients: results from the PROSPER Study. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*. 2015 Aug 1;70(8):982-988.
13. Li L, Scott CA, Rothwell PM, Oxford Vascular Study. Trends in stroke incidence in high-income countries in the 21st century: population-based study and systematic review. *Stroke*. 2020 May;51(5):1372-1380.
14. Danaei G, Finucane MM, Lu Y, Singh GM, Cowan MJ, Paciorek CJ, Lin JK, Farzadfar F, Khang YH, Stevens GA, Rao M. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2·7 million participants. *The lancet*. 2011 Jul 2;378(9785):31-40.

15. Nogueira RG, Jadhav AP, Haussen DC, Bonafe A, Budzik RF, Bhuva P, Yavagal DR, Ribo M, Cognard C, Hanel RA, Sila CA. Thrombectomy 6 to 24 hours after stroke with a mismatch between deficit and infarct. *New England Journal of Medicine*. 2018 Jan 4;378(1):11-21.
16. Powers WJ, Rabinstein AA, Ackerson T, Adeoye OM, Bambakidis NC, Becker K, Biller J, Brown M, Demaerschalk BM, Hoh B, Jauch EC. Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke: 2019 update to the 2018 guidelines for the early management of acute ischemic stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2019 Dec;50(12):e344-418.
17. Jurcau A, Ardelean IA. Molecular pathophysiological mechanisms of ischemia/reperfusion injuries after recanalization therapy for acute ischemic stroke. *Journal of integrative neuroscience*. 2021 Sep 30;20(3):727-744.
18. Lin L, Wang X, Yu Z. Ischemia-reperfusion injury in the brain: mechanisms and potential therapeutic strategies. *Biochemistry & pharmacology: open access*. 2016;5(4).
19. Simion A, Jurcau A. The role of antioxidant treatment in acute ischemic stroke: Past, present and future. *Neurol. Res. Surg*. 2019;2:1-7.
20. Jayaraj RL, Azimullah S, Beiram R, Jalal FY, Rosenberg GA. Neuroinflammation: friend and foe for ischemic stroke. *Journal of neuroinflammation*. 2019 Dec;16(1):1-24.
21. Anttila JE, Whitaker KW, Wires ES, Harvey BK, Airavaara M. Role of microglia in ischemic focal stroke and recovery: focus on Toll-like receptors. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2017 Oct 3;79:3-14.
22. Ma MW, Wang J, Zhang Q, Wang R, Dhandapani KM, Vadlamudi RK, Brann DW. NADPH oxidase in brain injury and neurodegenerative disorders. *Molecular neurodegeneration*. 2017 Dec;12:1-28.
23. Maida CD, Norrito RL, Daidone M, Tuttolomondo A, Pinto A. Neuroinflammatory mechanisms in ischemic stroke: focus on cardioembolic stroke, background, and therapeutic approaches. *International journal of molecular sciences*. 2020 Sep 4;21(18):6454.
24. Wang H, Song G, Chuang H, Chiu C, Abdelmaksoud A, Ye Y, Zhao L. Portrait of glial scar in neurological diseases. *International journal of immunopathology and pharmacology*. 2018 Oct;31:2058738418801406.
25. Rempe RG, Hartz AM, Bauer B. Matrix metalloproteinases in the brain and blood–brain barrier: versatile breakers and makers. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2016 Sep;36(9):1481-1507.
26. Pluta R, Januszewski S, Czuczwar SJ. Neuroinflammation in post-ischemic neurodegeneration of the brain: friend, foe, or both?. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021 Apr 23;22(9):4405.
27. Wang H, Wang Z, Wu Q, Yuan Y, Cao W, Zhang X. Regulatory T cells in ischemic stroke. *CNS Neurosci. Ther*. 2021, 27, 643–651.
28. Bladowski M, Gawrys J, Gajewski D, Szahidewicz-Krupska E, Sawicz-Bladowska A, Doroszko A. Role of the platelets and nitric oxide biotransformation in ischemic stroke: a translative review from bench to bedside. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2020 Aug 28;2020.

29. Ramiro L, Simats A, Berrocoso TG, Montaner J. Inflammatory molecules might become both biomarkers and therapeutic targets for stroke management. *Ther. Adv. Neurol. Disord.* 2018, 11, 1–24.
30. Yang C, Hawkins KE, Doré S, Candelario-Jalil E. Neuroinflammatory mechanisms of blood-brain barrier damage in ischemic stroke. *American Journal of Physiology-Cell Physiology.* 2019 Feb 1;316(2):C135-153.
31. Cekanaviciute E, Buckwalter MS. Astrocytes: integrative regulators of neuroinflammation in stroke and other neurological diseases. *Neurotherapeutics.* 2016 Oct;13:685-701.
32. Rietdijk CD, VanWezel RJA, Garssen J, Kraneveld AD. Neuronal toll-like receptors and neuroimmunity in Parkinson’s disease, Alzheimer’s disease and stroke. *Neuroimmunol. Neuroinflamm.* 2016, 3, 27
33. Shi L, Rocha M, Leak RK, Zhao J, Bhatia TN, Mu H, Wei Z, Yu F, Weiner SL, Ma F, Jovin TG. A new era for stroke therapy: Integrating neurovascular protection with optimal reperfusion. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism.* 2018 Dec;38(12):2073-2091.
34. Rajkovic O, Potjeyd G, Pinteaux E. Regenerative medicine therapies for targeting neuroinflammation after stroke. *Frontiers in neurology.* 2018 Sep 3;9:734.
35. Liu W, Wang X, O’Connor M, Wang G, Han F. Brain-derived neurotrophic factor and its potential therapeutic role in stroke comorbidities. *Neural plasticity.* 2020 Oct;2020.
36. Ashayeri Ahmadabad R, Mirzaasgari Z, Gorji A, Khaleghi Ghadiri M. Toll-like receptor signaling pathways: Novel therapeutic targets for cerebrovascular disorders. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 6153.
37. Abdul Y, Abdelsaid M, Li W, Webb RC, Sullivan JC, Dong G, Ergul A. Inhibition of Toll-like receptor-4 (TLR-4) improves neurobehavioral outcomes after acute ischemic stroke in diabetic rats: Possible role of vascular endothelial TLR-4. *Mol. Neurobiol.* 2019, 56, 1607–1617.
38. Lin SY, Wang YY, Chang CY, Wu CC, Chen WY, Liao SL, Chen CJ. TNF-receptor inhibitor alleviates metabolic and inflammatory changes in a rat model of ischemic stroke. *Antioxidants* 2021, 10, 851.
39. Guzman R, Janowski M, Walczak P. Intra-arterial delivery of cell therapies for stroke. *Stroke* 2018, 49, 1075–1082.
40. Jurcau A, Simion A. Neuroinflammation in cerebral ischemia and ischemia/reperfusion injuries: from pathophysiology to therapeutic strategies. *International journal of molecular sciences.* 2021 Dec 21;23(1):14.
41. Gregersen I, Holm S, Dahl TB, Halvorsen B, Aukrust P. A focus on inflammation as a major risk factor for atherosclerotic cardiovascular diseases. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2016;14(3):391-403. doi:10.1586/14779072.2016.1128828
42. Hansson GK. Inflammation and Atherosclerosis: The End of a Controversy. *Circulation.* 2017;136(20):1875-1877. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030484
43. Miura Y, Suzuki H. Dyslipidemia and atherosclerotic carotid artery stenosis. *Vessel Plus.* 2019 Jan 21;3(1):2574-1209.
44. Orekhov AN, Ivanova EA. Introduction of the special issue “Atherosclerosis and Related Diseases”. *Vessel Plus.* 2017 Nov 27.

45. Kitagami M, Yasuda R, Toma N, Shiba M, Nampei M, Yamamoto Y, Nakatsuka Y, Sakaida H, Suzuki H. Impact of hypertriglyceridemia on carotid stenosis progression under normal low-density lipoprotein cholesterol levels. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2017 Aug 1;26(8):1793-1800.
46. Benjamin EJ, Muntner P, Alonso A, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP, Chamberlain AM, Chang AR, Cheng S, Das SR, Delling FN. Heart disease and stroke statistics—2019 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2019 Mar 5;139(10):e56-28.
47. Viola J, Soehnlein O. Atherosclerosis—a matter of unresolved inflammation. In *Seminars in immunology* 2015 May 1 (Vol. 27, No. 3, pp. 184-193). Academic Press.
48. Chistiakov DA, Bobryshev YV, Orekhov AN. Macrophage-mediated cholesterol handling in atherosclerosis. *J. Cell. Mol. Med.* 2016, 20, 17–28.
49. Wu MY, Li CJ, Hou MF, Chu PY. New insights into the role of inflammation in the pathogenesis of atherosclerosis. *Int. J. Mol. Sci.* 2017, 18, 2034.
50. England BR, Thiele GM, Anderson DR, Mikuls TR. Increased cardiovascular risk in rheumatoid arthritis: mechanisms and implications. *Bmj*. 2018 Apr 23;361.
51. Andrews JP, Fayad ZA, Dweck MR. New methods to image unstable atherosclerotic plaques. *Atherosclerosis*. 2018 May 1;272:118-128.
52. Sun R, Wang L, Guan C, Cao W, Tian B. Carotid atherosclerotic plaque features in patients with acute ischemic stroke. *World Neurosurgery*. 2018 Apr 1;112:e223-228.
53. Kapourchali FR, Surendiran G, Chen L, Uitz E, Bahadori B, Moghadasian MH. Animal models of atherosclerosis. *World Journal of Clinical Cases: WJCC*. 2014 May 5;2(5):126.
54. Tarkin JM, Joshi FR, Rajani NK, Rudd JH. PET imaging of atherosclerosis. *Future cardiology*. 2015 Jan;11(1):115-131.
55. Nguyen MT, Fernando S, Schwarz N, Tan JT, Bursill CA, Psaltis PJ. Inflammation as a therapeutic target in atherosclerosis. *Journal of clinical medicine*. 2019 Jul 26;8(8):1109.
56. Wann S, Thomas GS. What can ancient mummies teach us about atherosclerosis? *Trends Cardiovasc Med* 2014;24:279-284
57. Matsuura E, Atzeni F, Sarzi-Puttini P, Turiel M, Lopez LR, Nurmohamed, M.T. Is atherosclerosis an autoimmune disease? *BMC Med*. 2014, 12, 47.
58. Bohula EA, Giugliano RP, Cannon CP, Zhou J, Murphy SA, White JA, Tershakovec AM, Blazing MA, Braunwald E. Achievement of dual low-density lipoprotein cholesterol and high-sensitivity c-reactive protein targets more frequent with the addition of ezetimibe to simvastatin and associated with better outcomes in improve-it. *Circulation* 2015, 132, 1224–1233.
59. Hosomi N, Kitagawa K, Nagai Y, Nakagawa Y, Aoki S, Nezu T, Kagimura T, Maruyama H, Origasa H, Minematsu K, Uchiyama S. Desirable low-density lipoprotein cholesterol levels for preventing stroke recurrence: a post hoc analysis of the J-STARS study (Japan statin treatment against recurrent stroke). *Stroke*. 2018 Apr;49(4):865-871.
60. Mujaj B, Bos D, Selwaness M, Leening M, Kavousi M, Wentzel J, Van der Lugt A, Hofman A, Stricker B, Vernooij M, Franco O. Statin use is associated with carotid plaque composition: The Rotterdam Study. *European Heart Journal*. 2017 Aug 1;38.

61. Martinez E, Martorell J, Riambau V. Review of serum biomarkers in carotid atherosclerosis. *J Vasc Surg.* 2020;71(1):329-341. doi:10.1016/j.jvs.2019.04.488
62. Paraskevas KI, Veith FJ, Spence JD. How to identify which patients with asymptomatic carotid stenosis could benefit from endarterectomy or stenting. *Stroke Vasc Neurol* 2018;3:92-100
63. Bekkering S, van den Munckhof I, Nielen T, Lamfers E, Dinarello C, Rutten J, de Graaf J, Joosten LA, Netea MG, Gomes ME, Riksen NP. Innate immune cell activation and epigenetic remodeling in symptomatic and asymptomatic atherosclerosis in humans in vivo. *Atherosclerosis.* 2016 Nov 1;254:228-236
64. Mayer FJ, Binder CJ, Wagner OF, Schillinger M, Minar E, Mlekusch W, Tsiantoulas D, Goliash G, Hoke M. Combined effects of inflammatory status and carotid atherosclerosis: a 12-year follow-up study. *Stroke.* 2016 Dec;47(12):2952-2958.
65. Eltoft A, Arntzen KA, Hansen J-B, Wilsgaard T, Mathiesen EB, Johnsen SH. C-reactive protein in atherosclerosis: a risk marker but not a causal factor? A 13-year population-based longitudinal study: the Tromsø study. *Atherosclerosis* 2017;263:293-300.
66. Duivenvoorden R, Mani V, Woodward M, Kallend D, Suchankova G, Fuster V, Rudd JH, Tawakol A, Farkouh ME, Fayad ZA. Relationship of serum inflammatory biomarkers with plaque inflammation assessed by FDG PET/CT: the dal-PLAQUE study. *JACC: Cardiovascular Imaging.* 2013 Oct;6(10):1087-1094.
67. Millán J, Hernández-Mijares A, Ascaso JF, Blasco M, Brea A, Díaz Á, González-Santos P, Mantilla T, Pedro-Botet J, Pintó X. The real measurement of non-HDL-cholesterol: Atherogenic cholesterol. *Clinica e Investigacion en Arteriosclerosis: Publicacion Oficial de la Sociedad Espanola de Arteriosclerosis.* 2016 Sep 12;28(6):265-270.
68. Wang A, Huang X, Liu X, Su Z, Wu J, Chen S, Liu X, Ruan C, Guo X, Wu S, Zhao X. No association between high-sensitivity C-reactive protein and carotid intima-media progression: the APAC Study. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases.* 2017 Feb 1;26(2):252-259.
69. Zhou Y, Han W, Gong D, Man C, Fan Y. Hs-CRP in stroke: a meta-analysis. *Clin Chim Acta* 2016;453:21-27.
70. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, MacFadyen JG, Chang WH, Ballantyne C, Fonseca F, Nicolau J, Koenig W, Anker SD. Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease. *N. Engl. J. Med.* 2017, 377, 1119–1131.
71. Rigamonti F, Carbone F, Montecucco F, Bonaventura A, Liberale L, Burger F, Roth A, Bertolotto M, Spinella G, Pane B, Palombo D. Serum lipoprotein (a) predicts acute coronary syndromes in patients with severe carotid stenosis. *European journal of clinical investigation.* 2018 Mar;48(3):e12888.
72. Hamur H, Duman H, Demirtas L, Bakirci EM, Durakoglugil ME, Degirmenci H, Kalkan K, Yildirim E, Vuruskan E. Total bilirubin levels predict subclinical atherosclerosis in patients with prediabetes. *Angiology.* 2016 Nov;67(10):909-915.
73. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, Honarpour N, Wiviott SD, Murphy SA, Kuder JF, Wang H, Liu T, Wasserman SM, Sever PS, Pedersen TR; FOURIER Steering Committee and Investigators. Evolocumab and clinical outcomes in patients with cardiovascular disease. *N Engl J Med.* 2017;376:1713–1722. doi: 10.1056/NEJMoa1615664.

74. Ridker PM, Everett BM, Pradhan A, MacFadyen JG, Solomon DH, Zaharris E, Mam V, Hasan A, Rosenberg Y, Iturriaga E, Gupta M. Low-dose methotrexate for the prevention of atherosclerotic events. *New England Journal of Medicine*. 2019 Feb 21;380(8):752-762.
75. Teague H, Mehta NN. The link between inflammatory disorders and coronary heart disease: A look at recent studies and novel drugs in development. *Curr. Atheroscler. Rep.* 2016, 18, 3.
76. Gorgui J, Gasbarrino K, Georgakis MK, Karalexi MA, Nauche B, Petridou ET, Daskalopoulou SS. Circulating adiponectin levels in relation to carotid atherosclerotic plaque presence, ischemic stroke risk, and mortality: a systematic review and meta-analyses. *Metabolism*. 2017 Apr 1;69:51-66.
77. Lashin MA, Khalil SH, Alloush TK, Anis S, Fouad MM. Neutrophil to lymphocyte ratio in acute ischemic stroke. *Neuroscience and Medicine*. 2020 Jun 4;11(02):52-62.
78. Maitrias P, Metzinger-Le Meuth V, Nader J, Reix T, Caus T, Metzinger L. The involvement of miRNA in carotid-related stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2017;37:1608-1617.
79. Chan CK, Zhang L, Cheng CK, Yang H, Huang Y, Tian XY, Choi CH. Recent advances in managing atherosclerosis via nanomedicine. *Small*. 2018 Jan;14(4):1702793.
80. Bao Y, Li S, Ding Y, Du X, Zhang M, Tang W, Zhou S. MiRNA: a potential target for gene diagnosis and treatment of atherosclerotic stroke. *International Journal of Neuroscience*. 2021 Mar 4;131(3):283-288.
81. Roy P, Ali AJ, Kobiyama K, Ghosheh Y, Ley K. Opportunities for an atherosclerosis vaccine: From mice to humans. *Vaccine*. 2020;38(28):4495-4506. doi:10.1016/j.vaccine.2019.12.039
82. Lim HY, O'Malley C, Donnan G, Nandurkar H, Ho P. A review of global coagulation assays - Is there a role in thrombosis risk prediction? *Thromb Res*. 2019 Jul;179:45-55. doi: 10.1016/j.thromres.2019.04.033. Epub 2019 May 1. PMID: 31078120.
83. Veltkamp R, Gill D. Clinical trials of immunomodulation in ischemic stroke. *Neurotherapeutics* 13, 791–800. <https://doi.org/10.1007/s13311-016-0458-y>. Verheijden, S., Beckers, L., Casazza, A., Butovsky, O., Mazzone, M., Baes, M., 2015.
84. Verheijden S, Beckers L, Casazza A, Butovsky O, Mazzone M, Baes M. Identification of a chronic non-neurodegenerative microglia activation state in a mouse model of peroxisomal  $\beta$ -oxidation deficiency. *Glia*. 2015 Sep;63(9):1606-1620.
85. Chen Y, Xiao Y, Lin Z, Xiao X, He C, Bihl JC, Zhao B, Ma X, Chen Y. The Role of Circulating Platelets Microparticles and Platelet Parameters in Acute Ischemic Stroke Patients. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2015 Oct;24(10):2313-20. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.06.018. Epub 2015 Jul 11. PMID: 26169549; PMCID: PMC4592794.
86. Pryzdial ELG, Lee FMH, Lin BH, Carter RLR, Tegegn TZ, Belletrutti MJ. Blood coagulation dissected. *Transfus Apher Sci*. 2018 Aug;57(4):449-457. doi: 10.1016/j.transci.2018.07.003. Epub 2018 Jul 20. PMID: 30049564.
87. Golebiewska EM, Poole AW. Platelet secretion: from haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Rev* 2015;29(3):153–162.
88. Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. *Nat Rev Immunol* 2018;18(2):134–147.

89. Schubert S, Weyrich AS, Rowley JW. A tour through the transcriptional landscape of platelets. *Blood* 2014;124(4):493–502.
90. Smith SA, Morrissey JH. Polyphosphate: a new player in the field of hemostasis. *Curr Opin Hematol* 2014;21(5):388–394.
91. Yau JW, Teoh H, Verma S. Endothelial cell control of thrombosis. *BMC Cardiovasc Disord* 2015;15:130.
92. Kamikubo Y, Mendolicchio GL, Zampolli A, Marchese P, Rothmeier AS, Orje JN. Selective factor VIII activation by the tissue factor-factor VIIa-factor Xa complex. *Blood* 2017;130(14):1661–1670.
93. Maas C, Renne T. Coagulation factor XII in thrombosis and inflammation. *Blood* 2018;131(17):1903–1909.
94. Hopp S, Albert-Weissenberger C, Mencl S, Bieber M, Schuhmann MK, Stetter C. Targeting coagulation factor XII as a novel therapeutic option in brain trauma. *Ann Neurol* 2016;79(6):970–982.
95. Peyvandi F, Garagiola I, Young G. The past and future of haemophilia: diagnosis, treatments, and its complications. *Lancet* 2016;388(10040):187–197
96. Rijken DC, Uitte de WS. Inhibition of fibrinolysis by coagulation factor XIII. *Biomed Res Int* 2017;2017:1209676.
97. Pryzdial EL, Meixner SC, Talbot K, Eltringham-Smith LJ, Baylis JR, Lee FM, Kastrup CJ, Sheffield WP. Thrombolysis by chemically modified coagulation factor Xa. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2016 Sep 1;14(9):1844-1854.
98. Longstaff C, Kolev K. Basic mechanisms and regulation of fibrinolysis. *J Thromb Haemost* 2015;13(Suppl. 1):S98–105.
99. Mast AE. Tissue factor pathway inhibitor: multiple anticoagulant activities for a single protein. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2016;36(1):9–14.
100. Marar TT, Boffa MB. Identification of a thrombomodulin interaction site on thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor that mediates accelerated activation by thrombin. *J Thromb Haemost* 2016;14(4):772–783
101. Mackman N, Bergmeier W, Stouffer GA, Weitz JI. Therapeutic strategies for thrombosis: new targets and approaches. *Nature reviews Drug discovery*. 2020 May;19(5):333-352.
102. Grover SP, Bergmeier W, Mackman N. Platelet signaling pathways and new inhibitors. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2018 Apr;38(4):e28-35.
103. Fredenburgh JC, Gross PL, Weitz JI. Emerging anticoagulant strategies. *Blood* 129, 147–154 (2017).
104. McFadyen JD, Schaff M, Peter K. Current and future antiplatelet therapies: emphasis on preserving haemostasis. *Nature Reviews Cardiology*. 2018 Mar;15(3):181-191.
105. Stefanini L, Bergmeier W. Negative regulators of platelet activation and adhesion. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2018 Feb 1;16(2):220-230.
106. Stefanini L, Bergmeier W. RAP GTPases and platelet integrin signaling. *Platelets*. 2019 Jan 2;30(1):41-47.



107. Tjärnlund-Wolf A, Lassila R. Phenotypic characterization of haemophilia B—Understanding the underlying biology of coagulation factor IX. *Haemophilia*. 2019 Jul;25(4):567-574.
108. Grover SP, Mackman N. Intrinsic pathway of coagulation and thrombosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 39, 331–338 (2019).
109. Thalín C, Hisada Y, Lundström S, Mackman N, Wallén H. Neutrophil extracellular traps: villains and targets in arterial, venous, and cancer-associated thrombosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 39, 1724–1738 (2019).
110. Raimondi P, Hylek EM, Aronis KN. Reversal agents for oral antiplatelet and anticoagulant treatment during bleeding events: current strategies. *Curr. Pharm. Des.* 23, 1406–1423 (2017).
111. Nagalla S, Sarode R. Role of platelet transfusion in the reversal of anti-platelet therapy. *Transfus. Med. Rev.* 33, 92–97 (2019).
112. Bhatt DL, Pollack CV, Weitz JI, Jennings LK, Xu S, Arnold SE, Umstead BR, Mays MC, Lee JS. Antibody-based ticagrelor reversal agent in healthy volunteers. *New England Journal of Medicine*. 2019 May 9;380(19):1825-1833.
113. Weitz JI, Jaffer IH, Fredenburgh JC. Recent advances in the treatment of venous thromboembolism in the era of the direct oral anticoagulants. *F1000Research*. 2017;6.
114. Al-Samkari H, Connors JM. The role of direct oral anticoagulants in treatment of cancer-associated thrombosis. *Cancers* 10, E271 (2018).
115. Nieman MT. Protease-activated receptors in hemostasis. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2016 Jul 14;128(2):169-177.
116. Wong PC, Seiffert D, Bird JE, Watson CA, Bostwick JS, Giancarli M, Allegretto N, Hua J, Harden D, Guay J, Callejo M. Blockade of protease-activated receptor-4 (PAR4) provides robust antithrombotic activity with low bleeding. *Science translational medicine*. 2017 Jan 4;9(371):eaaf5294.
117. Arboix A, Jiménez C, Massons J, Parra O, Besses C. Hematological disorders: a commonly unrecognized cause of acute stroke. *Expert review of Hematology*. 2016 Sep 1;9(9):891-901.
118. DeBaun MR, Kirkham FJ. Central nervous system complications and management in sickle cell disease. *Blood* 2016;127:829-838
119. Jackson SP, Darbousset R, Schoenwaelder SM. Thromboinflammation: challenges of therapeutically targeting coagulation and other host defense mechanisms. *Blood*. 2019 Feb 28;133(9):906-918. doi: 10.1182/blood-2018-11-882993. Epub 2019 Jan 14. PMID: 30642917.
120. Wilson SJ, Ismat FA, Wang Z, Cerra M, Narayan H, Raftis J, Gray TJ, Connell S, Garonzik S, Ma X, Yang J. PAR4 (protease-activated receptor 4) antagonism with BMS-986120 inhibits human ex vivo thrombus formation. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2018 Feb;38(2):448-456.
121. Rayes J, Watson SP, Nieswandt B. Functional significance of the platelet immune receptors GPVI and CLEC-2. *J. Clin. Invest.* 129, 12–23 (2019).
122. Slater A, Perrella G, Onselae MB, Martin EM, Gauer JS, Xu RG, Heemskerk JW, Ariëns RA, Watson SP. Does fibrin (ogen) bind to monomeric or dimeric GPVI, or not at all?. *Platelets*. 2019 Apr 3;30(3):281-289.

123. Wheeler AP, Gailani D. The intrinsic pathway of coagulation as a target for antithrombotic therapy. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* 30, 1099–1114 (2016).
124. Nickel KF, Long AT, Fuchs TA, Butler LM, Renne T. Factor XII as a therapeutic target in thromboembolic and inflammatory diseases. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 37, 13–20 (2017).
125. Lincoff AM, Mehran R, Povsic TJ, Zelenkofske SL, Huang Z, Armstrong PW, Steg PG, Bode C, Cohen MG, Buller C, Laanmets P. Effect of the REG1 anticoagulation system versus bivalirudin on outcomes after percutaneous coronary intervention (REGULATE-PCI): a randomised clinical trial. *The Lancet.* 2016 Jan 23;387(10016):349-356.
126. Weitz JI, Bauersachs R, Becker B, Berkowitz SD, Freitas MC, Lassen MR, Metz C, Raskob GE. Effect of osocimab in preventing venous thromboembolism among patients undergoing knee arthroplasty: the FOXTROT randomized clinical trial. *Jama.* 2020 Jan 14;323(2):130-139.
127. Chen X, Li S, Chen W, Xu F, Wang Y, Zou G, Ren B. The potential value of D-dimer to fibrinogen ratio in diagnosis of acute ischemic stroke. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases.* 2020 Aug 1;29(8):104918.
128. Weitz JI, Harenberg J. New developments in anticoagulants: past, present and future. *Thromb. Haemost.* 117, 1283–1288 (2017).
129. Huang G, Wang P, Li T, Deng X. Genetic association between plasminogen activator inhibitor-1 rs1799889 polymorphism and venous thromboembolism: evidence from a comprehensive meta-analysis. *Clin. Cardiol.* 42, 1232–1238 (2019)
130. Zhou Y, Han W, Gong D, Man C, Fan Y. Hs-CRP in stroke: a meta-analysis. *Clinica chimica acta.* 2016 Jan 30;453:21-27.
131. Soeki T, Sata M. Inflammatory biomarkers and atherosclerosis. *International heart journal.* 2016;57(2):134-139.
132. Surma S, Czoher T, Lepich T, Sierka O, Bajor G. Selected biomarkers of atherosclerosis-clinical aspects. *Acta Angiologica.* 2020;26(1):28-39.
133. Martinez E, Martorell J, Rimbau V. Review of serum biomarkers in carotid atherosclerosis. *Journal of Vascular Surgery.* 2020 Jan 1;71(1):329-341.
134. Churov A, Summerhill V, Grechko A, Orekhova V, Orekhov A. MicroRNAs as potential biomarkers in atherosclerosis. *International Journal of Molecular Sciences.* 2019 Nov 7;20(22):5547.
135. Wang C, Li Z, Liu Y, Yuan L. Exosomes in atherosclerosis: performers, bystanders, biomarkers, and therapeutic targets. *Theranostics.* 2021;11(8):3996.
136. Orekhov AN, Sobenin IA. Modified lipoproteins as biomarkers of atherosclerosis. *Frontiers in Bioscience-Landmark.* 2018 Mar 1;23(8):1422-1444.
137. Tibaut M, Caprnda M, Kubatka P, Sinkovič A, Valentova V, Filipova S, Gazdikova K, Gaspar L, Mozos I, Egom EE, Rodrigo L. Markers of atherosclerosis: part 1–serological markers. *Heart, Lung and Circulation.* 2019 May 1;28(5):667-677.
138. Kobiyama K, Saigusa R, Ley K. Vaccination against atherosclerosis. *Current opinion in immunology.* 2019 Aug 1;59:15-24.
139. Amirfakhryan H. Vaccination against atherosclerosis: An overview. *Hellenic Journal of Cardiology.* 2020 Mar 1;61(2):78-91.

140. Nilsson J, Hansson GK. Vaccination strategies and immune modulation of atherosclerosis. *Circulation Research*. 2020 Apr 24;126(9):1281-1296.
141. Roy P, Ali AJ, Kobiyama K, Ghosheh Y, Ley K. Opportunities for an atherosclerosis vaccine: from mice to humans. *Vaccine*. 2020 Jun 9;38(28):4495-4506.
142. Hansson GK, Nilsson J. Developing a vaccine against atherosclerosis. *Nature Reviews Cardiology*. 2020 Aug;17(8):451-452.
143. Rambe AS, Fithrie A, Nasution I, Tonam. Stroke Patients Profile in 25 Hospitals in North Sumatera 2012, Hospital Based Survey. *Neurona*. 2013;30:1-7.
144. Pranata H, Sinurat PP, Batubara CA. Correlation between neutrophil-to-lymphocyte ratio and high sensitivity c reactive protein with severity and outcome in acute ischemic stroke patient, *Int J Res Science & Management*. 2020;7:75-80.
145. Boehme AK, Esenwa C, Elkind MS. Stroke Risk Factors, Genetics, and Prevention. *Circ Res*. 2017;120:472-495.
146. Świtońska M, Słomka A, Korbal P, Piekus-Słomka N, Sinkiewicz W, Sokal P, Żekanowska E. Association of neutrophil-to-lymphocyte ratio and lymphocyte-to-monocyte ratio with treatment modalities of acute ischaemic stroke: a pilot study. *Medicina*. 2019 Jul 5;55(7):342.
147. Singh B, Kalra S, Saxena GN, Singh P, Vij A. To the correlation of hsCRP and ESR with severity of Acute Ischemic Stroke: A case control study. *Journal of Medical Science and Clinical Research*; 2019;7:841-847.
148. Ormstad H, Aass HC, Lund-Sørensen N, Amthor KF, Sandvik L. Serum levels of cytokines and C-reactive protein in acute ischemic stroke patients, and their relationship to stroke lateralization, type, and infarct volume. *J Neurol*. 2011;258:677–685.
149. Ghabaee M, Zandieh A, Mohebbi S, Fakhri M, Sadeghian H, Divani F, Amirifard H, Mousavi-Mirkala M, Ghaffarpour M. Predictive ability of C-reactive protein for early mortality after ischemic stroke: comparison with NIHSS score. *Acta Neurologica Belgica*. 2014 Mar;114:41-45.
150. Zhang J, Ren Q, Song Y, He M, Zeng Y, Liu Z, Xu J. Prognostic role of neutrophil–lymphocyte ratio in patients with acute ischemic stroke. *Medicine*. 2017 Nov;96(45).
151. Lök U, Gülaçtı U. The Predictive Effect of the Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio (NLR) on the Mortality of Acute Ischemic Stroke and Its Subtypes: a Retrospective Cross-Sectional Study. *Eurasian J Emerg Med*. 2016;15:69-72.
152. Xue J, Huang W, Chen X, Li Q, Cai Z, Yu T, Shao B. Neutrophil-to-lymphocyte ratio is a prognostic marker in acute ischemic stroke. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2017 Mar 1;26(3):650-657.
153. Onder H, Cankurtaran M, Ozyurek O, Arslan G. Neutrophil-to-Lymphocyte ratio may have a role in the differential diagnosis of ischemic stroke. *Neurology Asia*. 2020 Jun 1;25(2).
154. Halil O, Cankurtaran M, Ozyurek O, Arslan G. Neutrophil-to-Lymphocyte ratio may have a role in the differential diagnosis of ischemic stroke. *Neurology Asia*. 2020;25:93-101.
155. Lashin M, Khalil S, Alloush T, Anis S, Fouad M. Neutrophil to Lymphocyte Ratio in Acute Ischemic Stroke. *Neuroscience and Medicine*. 2020;11:52-62.

156. Du J, Wang Q, He B, Liu P, Chen JY, Quan H, Ma X. Association of mean platelet volume and platelet count with the development and prognosis of ischemic and hemorrhagic stroke. *International journal of laboratory hematology*. 2016 Jun;38(3):233-239.
157. Kocaturk O, Besli F, Gungoren F, Kocaturk M, Tanriverdi Z. The relationship among neutrophil to lymphocyte ratio, stroke territory, and 3-month mortality in patients with acute ischemic stroke. *Neurol Sci*. 2019;40:139-146.
158. Köklü E, Yüksel İÖ, Arslan Ş, Bayar N, Çağırıcı G, Gencer ES, Alparslan AŞ, Çay S, Kuş G. Is elevated neutrophil-to-lymphocyte ratio a predictor of stroke in patients with intermediate carotid artery stenosis?. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2016 Mar 1;25(3):578-584.
159. Massiot N, Lareyre F, Voury-Pons A, Pelletier Y, Chikande J, Carboni J, Umbdenstock E, Jean-Baptiste E, Hassen-Khodja R, Raffort J. High neutrophil to lymphocyte ratio and platelet to lymphocyte ratio are associated with symptomatic internal carotid artery stenosis. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2019 Jan 1;28(1):76-83.
160. Hyun S, Kwon S, Cho S, Park S, Jung W, Moon S, Park J, Ko C, Cho K. Can the neutrophil-to-lymphocyte ratio appropriately predict carotid artery stenosis in patients with ischemic stroke?— a retrospective study. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2015 Nov 1;24(11):2646-2651.
161. Yüksel İÖ, Köklü E, Arslan Ş, Çağırıcı G, Göksu EÖ, Koç P, Çay S, Kızılırmak F. Association of neutrophil/lymphocyte ratio with plaque morphology in patients with asymptomatic intermediate carotid artery stenosis. *Korean Circulation Journal*. 2016 Sep 1;46(5):699-705.
162. Dagonnier M, Donnan GA, Davis SM, Dewey HM, Howells DW. Acute stroke biomarkers: are we there yet?. *Frontiers in neurology*. 2021 Feb 5;12:619721.
163. Liu C, Chu D, Kalantar-Zadeh K, George J, Young HA, Liu G. Cytokines: from clinical significance to quantification. *Advanced Science*. 2021 Aug;8(15):2004433.
164. Ceulemans AG, Zgavc T, Kooijman R, Hachimi-Idrissi S, Sarre S, Michotte Y. The dual role of the neuroinflammatory response after ischemic stroke: modulatory effects of hypothermia. *Journal of neuroinflammation*. 2010 Dec;7(1):1-8.
165. Jickling GC, Sharp FR. Biomarker panels in ischemic stroke. *Stroke*. 2015 Mar;46(3):915-920.
166. Kowalski RG, Ledreux A, Violette JE, Neumann RT, Ornelas D, Yu X, Griffiths SG, Lewis S, Nash P, Monte AA, Coughlan CM. Rapid Activation of Neuroinflammation in Stroke: Plasma and Extracellular Vesicles Obtained on a Mobile Stroke Unit. *Stroke*. 2023 Mar;54(3):e52-57.
167. Todd J, Simpson P, Estis J, Torres V, Wub AH. Reference range and short-and long-term biological variation of interleukin (IL)-6, IL-17A and tissue necrosis factor-alpha using high sensitivity assays. *Cytokine*. 2013 Dec 1;64(3):660-665.
168. Mendiola, A.S.; Cardona, A.E. The IL-1 phenomena in neuroinflammatory diseases. *J. Neural Transm*. 2018, 125, 781–795.
169. Denes A, Pinteaux E, Rothwell NJ, Allan SM. Interleukin-1 and stroke: Biomarker, harbinger of damage, and therapeutic target. *Cerebrovasc. Dis*. 2011, 32, 517–527.
170. Jayaraj RL, Azimullah S, Beiram R, Jalal FY, Rosenberg GA. Neuroinflammation: Friend and foe for ischemic stroke. *J. Neuroinflamm*. 2019, 16, 142.

171. Simats A, Liesz A. Systemic inflammation after stroke: Implications for post-stroke comorbidities. *EMBO Mol. Med.* 2022, 14, e16269.
172. Krishnan S, O'boyle C, Smith CJ, Hulme S, Allan SM, Grainger JR, Lawrence CB. A hyperacute immune map of ischaemic stroke patients reveals alterations to circulating innate and adaptive cells. *Clin. Exp. Immunol.* 2021, 203, 458–471.
173. Jurcau A, Simion A. Neuroinflammation in cerebral ischemia and ischemia/reperfusion injuries: From pathophysiology to therapeutic strategies. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 23, 14.
174. Boutin H, LeFeuvre RA, Horai R, Asano M, Iwakura Y, Rothwell NJ. Role of IL-1 and IL-1 in ischemic brain damage. *J. Neurosci.* 2001, 21, 5528–5534.
175. Jiang C, Kong W, Wang Y, Ziai W, Yang Q, Zuo F, Li F, Wang Y, Xu H, Li Q, Yang J. Changes in the cellular immune system and circulating inflammatory markers of stroke patients. *Oncotarget.* 2017 Jan 1;8(2):3553.
176. Rafieian-Kopaei M, Setorki M, Douidi M, Baradaran A, Nasri H. Atherosclerosis: Process, indicators, risk factors and new hopes. *Int. J. Prev. Med.* 2014, 5, 927.
177. Planas AM, Gómez-Choco M, Urra X, Gorina R, Caballero M, Chamorro Á. Brain-derived antigens in lymphoid tissue of patients with acute stroke. *J. Immunol.* 2012, 188, 2156–2163.
178. Mai W, Liao Y. Targeting IL-1 in the Treatment of Atherosclerosis. *Front. Immunol.* 2020, 11, 589654.
179. Gomez D, Baylis RA, Durgin BG, Newman AAC, Alencar GF, Mahan S, Hilaire CS, Müller W, Waisman A, Francis SE. Interleukin-1 has atheroprotective effects advanced atherosclerotic lesions of mice. *Nat. Med.* 2018, 24, 1418–1429.
180. Grebe A, Hoss F, Latz E. NLRP3 inflammasome and the IL-1 pathway in atherosclerosis. *Circ. Res.* 2018, 122, 1722–1740.
181. Roth S, Cao J, Singh V, Tiedt S, Hundeshagen G, Li T, Boehme JD, Chauhan D, Zhu J, Ricci A. Post-injury immunosuppression and secondary infections are caused by an AIM2 inflammasome-driven signaling cascade. *Immunity* 2021, 54, 648–659.
182. Jain A, Kasliwal R, Jain SS, Gupta D, Jain R. Comparison of Predictive Ability of Epidemiological Factors, Inflammatory Biomarkers, and CT Severity Score for Mortality in COVID-19. *The Journal of the Association of Physicians of India.* 2021 Aug 1;69(8):11-20.
183. Ramiro L, Abraira L, Quintana M, García-Rodríguez P, Santamarina E, Álvarez-Sabín J, Zaragoza J, Hernández-Pérez M, Ustrell X, Lara B, Terceño M. Blood biomarkers to predict long-term mortality after ischemic stroke. *Life.* 2021 Feb 10;11(2):135.
184. Zeng F, Huang Y, Guo Y, Yin M, Chen X, Xiao L, Deng G. Association of inflammatory markers with the severity of COVID-19: A meta-analysis. *International Journal of Infectious Diseases.* 2020 Jul 1;96:467-474.
185. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ. “COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression,” *Lancet*, vol. 395, no. 10229, pp. 1033-1034, 2020.
186. Stebbing J, Phelan A, Grimm I, Tucker C, Oechsle O, Smith D, “COVID-19: combining antiviral and antiinflammatory treatments,” *9e Lancet Infectious Diseases*, vol. 20, no. 4, pp. 400–402, 2020.

187. Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. "Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China," *Intensive Care Medicine*, vol. 46, no. 5, pp. 846–848, 2020.
188. Georgakis MK, Malik R, Gill D, Franceschini N, Sudlow CL, Dichgans M. Interleukin-6 signaling effects on ischemic stroke and other cardiovascular outcomes: a Mendelian randomization study. *Circulation: Genomic and Precision Medicine*. 2020 Jun;13(3):e002872.
189. McCabe JJ, O'reilly E, Coveney S, Collins R, Healy L, McManus J, Mulcahy R, Moynihan B, Cassidy T, Hsu F, Worrall B. Interleukin-6, C-reactive protein, fibrinogen, and risk of recurrence after ischaemic stroke: systematic review and meta-analysis. *European stroke journal*. 2021 Mar;6(1):62-71.
190. Reiche EM, Gelinski JR, Alfieri DF, Flauzino T, Lehmann MF, de Araújo MC, Lozovoy MA, Simão AN, de Almeida ER, Maes M. Immune-inflammatory, oxidative stress and biochemical biomarkers predict short-term acute ischemic stroke death. *Metabolic Brain Disease*. 2019 Jun 15;34:789-804.
191. Simats A, Garcia-Berrocso T, Montaner J. "Neuroinflammatory biomarkers: from stroke diagnosis and prognosis to therapy," *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 1862, no. 3, pp. 411–424, 2016.
192. Shenhar-Tsarfaty S, Assayag EB, Bova I, Shopin L, Fried M, Berliner S, Shapira I, Bornstein NM. Interleukin-6 as an early predictor for one-year survival following an ischaemic stroke/transient ischaemic attack. *International Journal of Stroke*. 2010 Feb;5(1):16-20.
193. Bustamante A, Simats A, Vilar-Bergua A, Garcia-Berrocso 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: The Journal of the American Society for Experimental Neurotherapeutics*, vol. 13, no. 4, pp. 671–684, 2016.
194. Sobolewski P, Antecki J, Broła W, Fudala M, Bieniaszewski L, Kozera G. "Systemic thrombolysis in ischaemic stroke patients with COVID-19," *Acta Neurologica Scandinavica*, vol. 145, no. 1, pp. 47–52, 2021.
195. Peeters RP. Subclinical hypothyroidism. *New England Journal of Medicine*. 2017 Jun 29;376(26):2556-2565.
196. Delitala AP, Scuteri A, Maioli M, Mangatia P, Vilardi L, Erre GL. Subclinical hypothyroidism and cardiovascular risk factors. *Minerva medica*. 2019 Nov 11;110(6):530-545.
197. Inoue K, Ritz B, Brent GA, Ebrahimi R, Rhee CM, Leung AM. Association of subclinical hypothyroidism and cardiovascular disease with mortality. *JAMA Network Open*. 2020 Feb 5;3(2):e1920745-.
198. Yoo WS, Chung HK. Subclinical hypothyroidism: prevalence, health impact, and treatment landscape. *Endocrinology and Metabolism*. 2021 Jun 18;36(3):500-513.
199. Chaker L, Baumgartner C, Ikram MA, Dehghan A, Medici M, Visser WE, Hofman A, Rodondi N, Peeters RP, Franco OH. Subclinical thyroid dysfunction and the risk of stroke: a systematic review and meta-analysis. *European journal of epidemiology*. 2014 Nov;29:791-800.

200. Smedegaard SB, Riis AL, Christiansen MK, Linde JK. Subclinical hyperthyroidism and the risk of developing cardiovascular disease-a systematic review. *Dan. Med. J.*. 2020 Oct 15;67:A12190701.
201. Rakhmatullov RF, Rakhmatullov AF, Rakhmatullov FK, Burmistrova LF, Moiseeva IJ. Thyroid status in the combination of atrial fibrillation with subclinical thyrotoxicosis. *Bangladesh Journal of Medical Science*. 2019;18(2):402.
202. Sohn SY, Lee E, Lee MK, Lee JH. The association of overt and subclinical hyperthyroidism with the risk of cardiovascular events and cardiovascular mortality: meta-analysis and systematic review of cohort studies. *Endocrinology and Metabolism*. 2020 Nov 25;35(4):786-800.
203. Teixeira PD, Dos Santos PB, Pazos-Moura CC. The role of thyroid hormone in metabolism and metabolic syndrome. *Therapeutic advances in endocrinology and metabolism*. 2020 May;11:2042018820917869.
204. Rabelo MM, Rabelo LM, Saldanha AL, Gasparoto AL, Margeotto AP, da Rocha Martinez TL. Stepwise interpretation of low density lipoprotein hypercholesterolemia and total lipid profile in clinical and subclinical hypothyroidism. *ES J. Cardiol.* 2020;1(2):1008.
205. Davies TF, Latif R. TSH receptor and autoimmunity. *Frontiers in Endocrinology*. 2019 Jan 30;10:19.
206. Calissendorff J, Falhammar H. To treat or not to treat subclinical hypothyroidism, what is the evidence?. *Medicina*. 2020 Jan 19;56(1):40.
207. Bekkering GE, Agoritsas T, Lytvyn L, Heen AF, Feller M, Moutzouri E, Abdulazeem H, Aertgeerts B, Beecher D, Brito JP, Farhoumand PD. Thyroid hormones treatment for subclinical hypothyroidism: a clinical practice guideline. *Bmj*. 2019 May 14;365.