

“El proteoma de vesículas extracelulares derivadas del sistema nervioso y del sistema inmunitario como biomarcador de evolución en la hemorragia cerebral”

Rebeca Gallego Ruiz¹, Javier Pozo Novoa¹, Fernando Laso García², Ángela Calzado-González¹, Jorge Rodríguez-Pardo¹, Susana-Belén Bravo³, Exuperio Díez Tejedor¹, María Alonso de Leciñana¹, María Gutiérrez-Fernández¹

1- Laboratorio de Ciencias Neurológicas y Cerebrovascular, Servicio de Neurología y Centro de Ictus, Grupo de Neurología y Enfermedades Cerebrovasculares, Área de Neurociencias del Instituto para la Investigación Sanitaria del Hospital La Paz – IdiPaz (Hospital Universitario La Paz – Universidad Autónoma de Madrid), Madrid.

2- Laboratorio de Ictus Traslacional (C042) (TREAT), Laboratorio de Investigación en Neurociencias Clínicas (LINC), Instituto de Neurociencias del Hospital de Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela.

3- Unidad de Proteómica, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela.

INTRODUCCIÓN

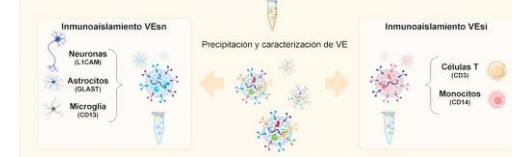
Las vesículas extracelulares circulantes (VE) emergen como biomarcadores de respuestas biológicas dinámicas tras la hemorragia intracerebral (HIC), con perfiles proteómicos temporales asociados al pronóstico. Este estudio analiza el proteoma de VE del sistema nervioso (VESn) e inmune (VESi) durante la evolución de la HIC experimental en ratas.

MÉTODOS

a. Cronograma experimental



b. Aislamiento de VE



c. Análisis proteómico



d. Análisis estadístico

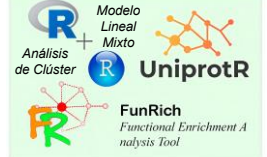


Fig.1. Flujo de trabajo del estudio

RESULTADOS

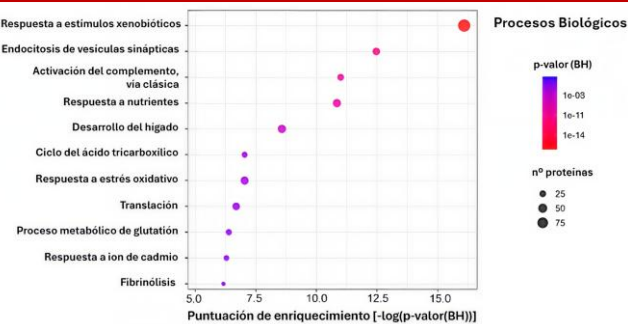


Fig.2. Análisis de enriquecimiento GO de procesos biológicos en el proteoma completo.

Globalmente, se identificaron un total de 1.183 proteínas. Destacando procesos biológicos como endocitosis de vesículas sinápticas, activación del complemento, estrés oxidativo, síntesis proteica, fibrinólisis y glucólisis (Fig.2).

Se observaron cuatro grupos distintos según el comportamiento temporal en las VESn, con 35 proteínas mostrando cambios significativos entre los distintos puntos temporales (Fig.3). Las variaciones más destacadas ocurrieron a las 24 horas, involucrando proteínas relacionadas con metabolismo, regulación sináptica e iónica, inflamación, respuestas vasculares y muerte celular. A los 28 días, incluyeron proteínas ribosomales y una disminución de mediadores de respuesta al estrés (Fig. 5a).

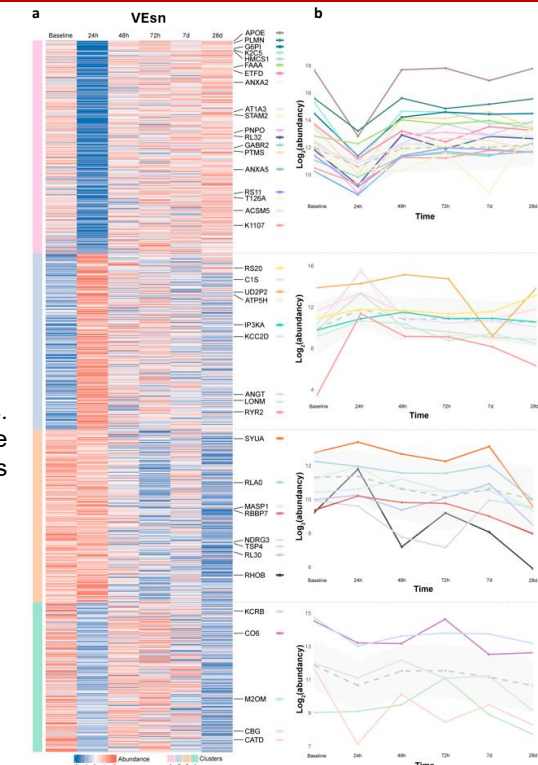


Fig.3. Análisis de la dinámica de abundancia proteica de las nsEVs. (a) Análisis de clústeres. (b) Cambios temporales de las proteínas diferencialmente abundantes.



Fig.4. Análisis de la dinámica de abundancia proteica de las isEVs. (a) Análisis de clústeres. (b) Cambios temporales de las proteínas diferencialmente abundantes.

En las VESi, los cambios fueron menos pronunciados, ya que solo 7 proteínas mostraron diferencias significativas en abundancia entre los distintos puntos temporales, observándose las mayores variaciones a partir del día 7 (Fig.4). Las proteínas se relacionaban con procesos biológicos de reprogramación metabólica, defensa antioxidante, remodelado de la matriz extracelular, modulación inmune y plasticidad sináptica (Fig. 5b).

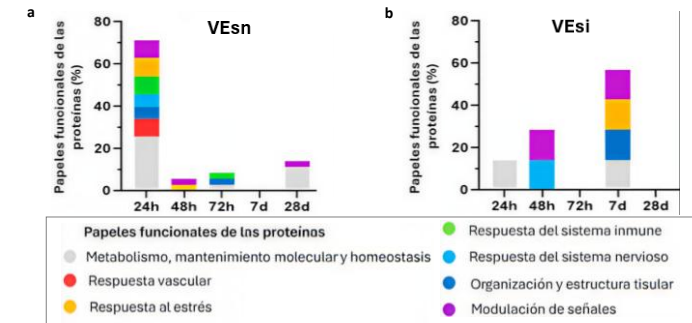


Fig.5. Funciones biológicas de las proteínas significativas.

CONCLUSIÓN

El proteoma de VESn y VESi comparte funciones biológicas, con patrón temporal diferencial tras la HIC. En las VESn refleja el daño cerebral en la fase aguda y la transición a resolución en fase crónica, mientras que en las VESi en fase subaguda se relaciona con procesos de reparación.

EFICIENCIA DE LA ECOGRAFÍA FOCALIZADA REALIZADA POR NEUROLOGOS EN LA ATENCIÓN DEL ICTUS AGUDO (S-FoCUS)

Eduardo Mariño¹, Lara Pulido Fráiz¹, Carlos Hervás¹, Ricardo Rigual¹, Gerardo Ruiz-Ares¹, Laura Casado¹, Blanca Fuentes¹, Esther Pérez-David², Gabriela Guzmán², María Alonso de Leciñana¹, Jorge Rodríguez-Pardo¹

1 Department of Neurology and Stroke Center, La Paz University Hospital, Universidad Autónoma de Madrid, IdiPAZ, Madrid, Spain
2 Cardiac Image Unit, Department of Cardiology, La Paz University Hospital, Universidad Autónoma de Madrid, IdiPAZ, Madrid, Spain



INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

- Las fuentes cardioembólicas representan aproximadamente entre una quinta parte y un tercio de los ictus isquémicos, y se asocian con recurrencia temprana y peores resultados clínicos.
- La ecocardiografía transtorácica estándar (ETT) forma parte del estudio cardiológico rutinario, pero requiere muchos recursos y no es coste-efectiva para todos los pacientes.
- S-FoCUS** es una ecografía focalizada a pie de cama realizada por neurólogos entrenados para agilizar la evaluación estructural cardíaca inicial.
- Objetivo:** evaluar si una vía de triaje basada en S-FoCUS mejora la eficiencia, el uso de recursos y la fiabilidad diagnóstica en la atención del ictus agudo.

MÉTODOS

- Estudio de cohortes retrospectivo antes-después realizado en un centro integral de ictus (Madrid, España).
- Periodo pre-S-FoCUS (dic 2023–may 2024): ecocardiografía transtorácica estándar (ETT) como técnica de imagen cardíaca de primera línea.
- Periodo post-S-FoCUS (dic 2024–may 2025): S-FoCUS a pie de cama como primera evaluación; ETT estándar solo ante hallazgos anormales o cardiopatía compleja predefinida. Se incluyeron pacientes ingresados con sospecha de ictus isquémico o AIT que se sometieron a ecografía cardíaca.
- Variables principales: tiempo hasta la primera prueba cardíaca, proporción de pacientes estudiados dentro de las primeras 24 h, duración de la estancia hospitalaria (LOS) y costes intrahospitalarios estimados.
- Evaluación diagnóstica: frecuencia de hallazgos predefinidos de alto riesgo y concordancia S-FoCUS/ETT (índice kappa de Cohen, IC del 95% mediante bootstrap).

S-FoCUS evalúa: disfunción/dilatación sistólica del VI y alteraciones segmentarias de la contractilidad; dilatación de la AI; valvulopatía significativa; placas en el arco aórtico; masas/trombos; dilatación de la VCI; y signos indirectos de hipertensión pulmonar.

ECOGRAFÍA CARDIACA

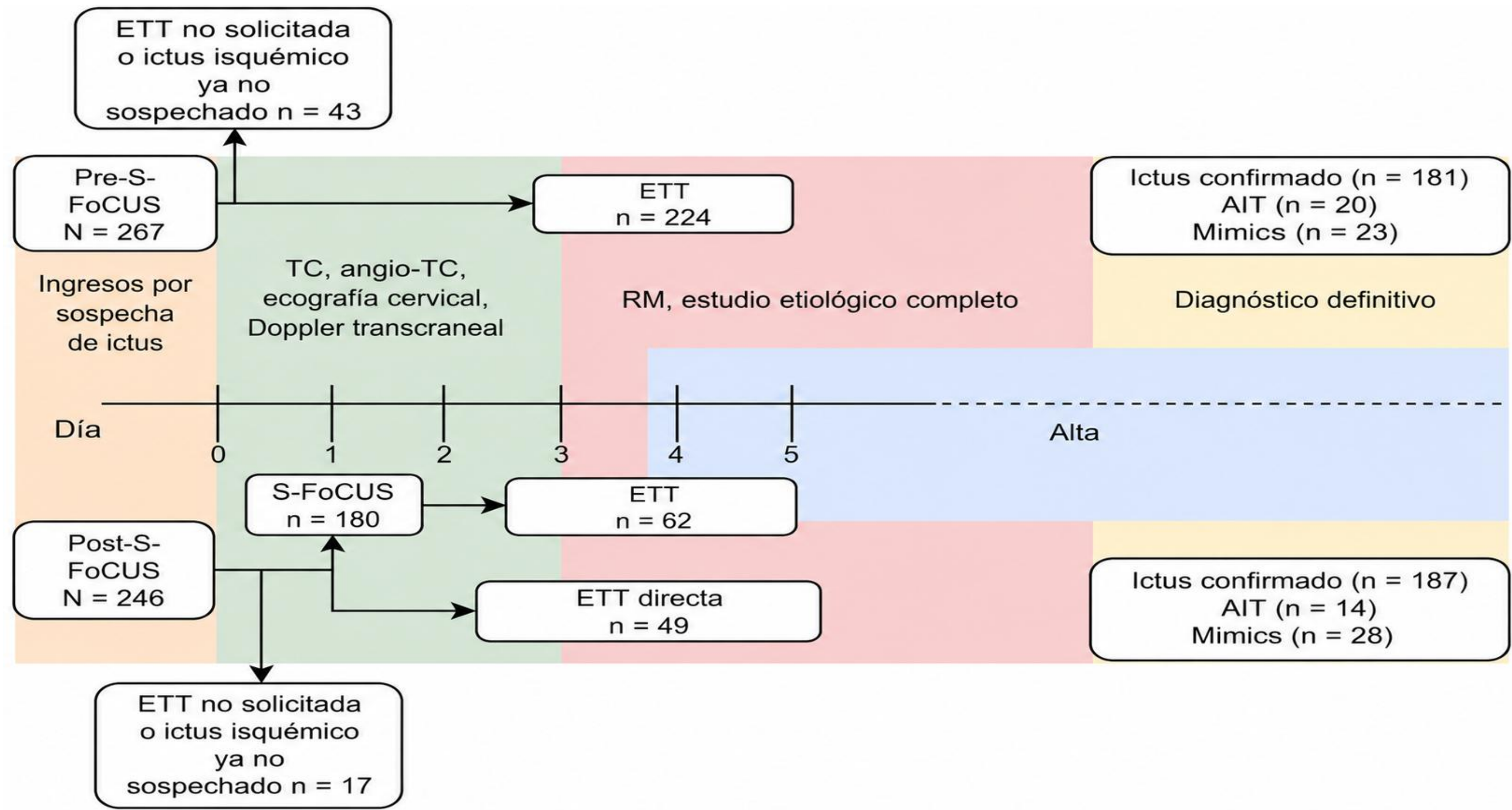


Figura 1. Evaluación rutinaria mediante ecografía cardíaca

HALLAZGOS ECOCARDIOGRÁFICOS PREDEFINIDOS ENTRE PERIODOS

Hallazgo	Pre-S-FoCUS (n=224)	Post-S-FoCUS (n=229)	p
Dilatación auricular izquierda	105 (46.9)	111 (48.5)	0.734
Calcificación del anillo mitral	27 (12.1)	16 (7.0)	0.066
Estenosis mitral	7 (3.1)	12 (5.2)	0.283
Dilatación ventrículo izquierdo	3 (1.3)	10 (4.3)	0.059
FEVI deprimido	13 (5.8)	21 (9.2)	0.174
Anomalías de la motilidad del VI	22 (9.8)	21 (9.0)	0.813
Hipertrofia grave VI	10 (4.5)	8 (3.4)	0.565
Estenosis aórtica	13 (5.8)	10 (4.3)	0.454
Dilatación raíz aórtica	5 (2.2)	6 (2.6)	0.789

CONCLUSIONES

- En nuestro centro, el S-FoCUS realizado por neurólogos agilizó la vía de imagen cardíaca en pacientes con sospecha de ictus isquémico/AIT.
- En comparación con una estrategia basada inicialmente en ETT, S-FoCUS se asoció con una evaluación cardíaca más precoz a pie de cama y con un menor número de solicitudes de ETT formal.
- Estos hallazgos respaldan el uso de S-FoCUS como una herramienta organizativa pragmática para mejorar la eficiencia asistencial, aunque su efecto sobre la estancia hospitalaria y los resultados clínicos posteriores requiere estudios adicionales.

CONFLICTOS DE INTERÉS/FINANCIACIÓN

Eduardo Mariño recibió financiación de Daiichi Sankyo y de RICORS-ICTUS (RD24/0009/0009) para gastos de viaje y alojamiento para ESOC 2026.
Financiación: Comunidad de Madrid LUNABRAIN-CM (TEC-2024/TEC-43); RICORS-ICTUS (ISCIII/EU-NextGenerationEU); Contrato Río Hortega CM25/00155.

KEY RESULTS

3 -> 1 días Mediana de tiempo a primera imagen cardíaca	5.4% -> 63.8% Imagen cardiac en las primeras 24h
6 -> 5 días Descenso de estancia mediana global	91.8% -> 50.0% Reducción de ETT convencional
-64.3% Reducción relativa de ETT en subgrupo AIT	EUR 716 Ahorro estimado por paciente

CARACTERÍSTICAS BASALES

Characteristic	Pre-S-FoCUS (n=224)	Post-S-FoCUS (n=234)	P
Edad, mediana (RIC), días	77 (64-85)	72 (62-83)	0.146
Sexo, mujer, n (%)	104 (46)	94 (41)	0.248
Mediana de NIHSS al ingreso (RIC)	3 (1-9)	4 (1-9)	0.327
Diagnóstico final, n (%)			0.451
Ictus isquémico	181 (81)	187 (82)	
AIT	20 (9)	14 (6)	
Ictus mimic	23 (10)	28 (12)	

EFICIENCIA

Resultado	Pre	Post	p	S-FoCUS*	p
Tiempo a primera imagen cardíac, mediana (RIC), días	3 (2-5)	1 (1-2)	<0.001	1 (1-2)	<0.001
Imagen en las primeras 24h, n (%)	12 (5.4)	143 (63.8)	<0.001	129 (71.3)	<0.001
Mediana estancia (RIC), días	6 (4-9)	5 (3-10)	0.014	5 (3-9)	<0.001

*Pacientes con S-FoCUS, con o sin ETT

CONCORDANCIA ENTRE S-FoCUS Y ETT (n=62)

Hallazgo	S-FoCUS n (%)	ETT n (%)	kappa	95% CI
FEVI deprimida (<50%)	10 (16.1)	10 (16.1)	0.880	0.681-1
Estenosis mitral	6 (9.7)	4 (6.5)	0.783	0.384-1
Dilatación de VI o aneurisma apical	10 (16.1)	6 (9.7)	0.716	0.413-0.938
Dilatación grave de auricular izquierda	9 (14.5)	9 (14.5)	0.742	0.402-0.943
Hipo o akinesia de VI	12 (19.4)	11 (17.7)	0.839	0.626-1
Calcificación mitral	7 (11.3)	6 (9.7)	0.914	0.659-1
Estenosis aórtica	5 (8.1)	5 (8.1)	1.000	1-1
Insuficiencia mitral grave	3 (4.8)	5 (8.1)	0.734	0.328-1
Dilatación de raíz aórtica	4 (6.5)	4 (6.5)	0.732	0.243-1
Hipertrofia grave de VI	6 (9.7)	4 (6.5)	0.566	-0.022-0.9
Insuficiencia aórtica grave	6 (9.7)	3 (4.8)	0.644	0.265-1
VCI dilatad	4 (6.5)	4 (6.5)	0.732	0.201-1
Otros signos de HTP	6 (9.7)	9 (14.5)	0.774	0.46-1

LIMITACIONES Y FORTALEZAS

- Estudio de implementación en práctica clínica real centrado en el impacto sobre el flujo asistencial en un centro integral de ictus.
- Diseño retrospectivo unicéntrico; es posible un sesgo de confirmación, ya que la ETT se realizó principalmente tras hallazgos anormales en S-FoCUS.
- Los hallazgos respaldan la viabilidad de esta estrategia asistencial más que la equivalencia entre S-FoCUS y la ecocardiografía completa.

IMPLICACIONES CLÍNICAS

- S-FoCUS funcionó como una herramienta de triaje inicial, más que como un sustituto de la ecocardiografía completa.
- Esta estrategia es especialmente atractiva para las unidades de ictus que buscan una evaluación más precoz a pie de cama, reservando los recursos de cardiología para los casos de mayor complejidad diagnóstica.

Asociación entre las moléculas inflamatorias liberadas por placas carotídeas cultivadas y la presencia de placas predominantemente hipoecoicas

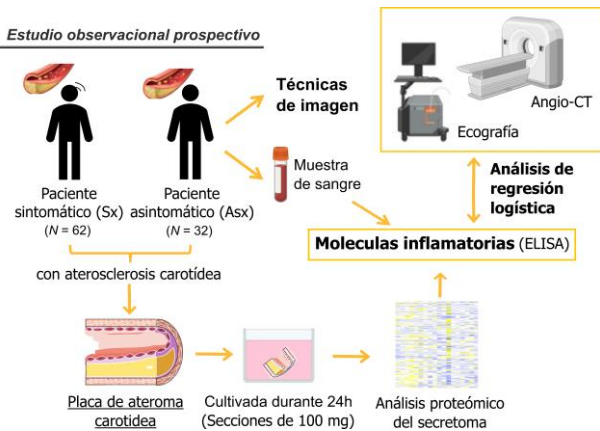
Núria Puig¹, Montserrat Moncunill-Copoví^{1,2,3}, Marina Guasch-Jiménez⁴, Joan Miquel Fernández-Vidal^{1,3}, Mercedes Camacho^{5,6}, Luis Prats-Sánchez⁴, Jose Luis Sánchez-Quesada^{3,7}, Sonia Benítez^{3,7}, Pol Camps-Renom⁴

1. Unidad de Ictus, Departamento de Neurología, Institut de Recerca Sant Pau (IR SANT PAU), Barcelona, España | 2. Universitat Autònoma de Barcelona, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Cerdanyola del Vallès, España | 3. Departamento de Bioquímica Cardiovascular, IR SANT PAU, Barcelona, España | 4. Unidad de Ictus, Departamento de Neurología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, España | 5. Departamento de Enfermedades Genéticas Complejas, IR SANT PAU, Barcelona, España | 6. CIBER, Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV), Madrid, España | 7. CIBER, Diabetes y Enfermedades Metabólicas (CIBERDEM), Madrid, España.

Introducción y Objetivo

La inflamación es clave en el ictus isquémico asociado a aterosclerosis carotídea. El **objetivo** del estudio fue comparar los niveles de moléculas inflamatorias en el suero y en el secretoma de las placas carotídeas cultivadas de pacientes sintomáticos (Sx) y asintomáticos (Asx), analizando su asociación con la vulnerabilidad de la placa.

Métodos



Conclusiones

Los pacientes sintomáticos presentaron mayores niveles de IL-6 en suero y secretoma. IL-6, ICAM-1, VCAM-1 y LDH se asociaron con placas hipoecoicas en ecografía, e ICAM-1 con hipodensidad en angio-TC, sugiriendo actividad inflamatoria relacionada con la vulnerabilidad de la placa.

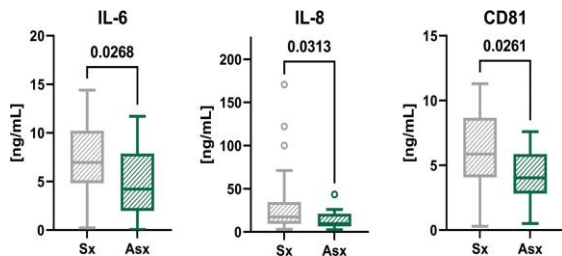
Resultados

La **Tabla 1** muestra las variables clínicas y una selección de moléculas inflamatorias en el **suero** de los pacientes (N=94, 62 Sx and 32 Asx), basada en resultados proteómicos previos. No se vieron diferencias significativas entre los dos grupos de pacientes, excepto en el tratamiento con antiagregantes previo. Los pacientes Sx presentaban niveles mas elevados de IL-6 en el suero que los pacientes Asx, sin asociarse con las características de vulnerabilidad de la placa evaluadas por técnicas de imagen.

Tabla 1: Características clínicas y parámetros inflamatorios de los pacientes.

	Sx (N = 62)	Asx (N = 32)	p
Edad, media (DE)	72,1 (8,8)	70,1 (7,2)	0,201
Sexo (mujer), n (%)	16 (25,8)	4 (12,5)	0,220
Estenosis >70%, n (%)	50 (80,6)	29 (90,6)	0,366
Ictus previo, n (%)	25 (40,3)	15 (46,9)	0,987
Antiagregantes previos, n (%)	39 (62,9)	29 (90,6)	0,009
Estatinas previas, n (%)	44 (71,0)	29 (90,6)	0,057
Marcadores inflamatorios			
- hsCRP (mg/L), mediana (RIQ)	71,0 (26,4-78,4)	65,5 (2,2-86,0)	0,500
- ICAM-1 (ng/mL), mediana (RIQ)	153,7 (139,2-164,3)	146,3 (125,7-166,0)	0,359
- VCAM-1 (ng/mL), mediana (RIQ)	613,8 (572,5-650,0)	548,3 (503,3-615,2)	0,079
- IL-6 (pg/mL), mediana (RIQ)	8,6 (7,1-9,7)	6,9 (6,2-8,0)	0,016
- IL-8 (pg/mL), mediana (RIQ)	12,2 (11,0-13,7)	11,4 (9,8-13,7)	0,460
- CD81 (ng/mL), mediana (RIQ)	1,6 (1,4-1,7)	1,4 (1,3-1,6)	0,338

En el **secretoma**, las placas carotídeas de los pacientes Sx no solo liberaban mas IL-6, sino también IL-8 y CD81, como se muestra en la **Figura 1**



En el análisis bivariado, los niveles en el secretoma de IL-6, VCAM-1, ICAM-1 y LDH se asociaron con la presencia de placas predominantemente hipoecoicas en ecografía, mientras que solo ICAM-1 se asoció con placas hipodensas en angio-TC (**Tabla 2**).

En los modelos multivariantes, VCAM-1 y LDH se asociaron de forma independiente con hipoecogenicidad. Las placas hipodensas mostraron asociación independiente con sICAM-1 (**Tabla 3**).

Tabla 2: Análisis de regresión logística bivariado de las moléculas inflamatorias como predictor de placas carotídeas hipoecoicas y hipodensas.

	OR	RIQ	p
Placa predominantemente hipoecoica			
- ICAM-1 (incremento x10 ng/mL)	1,04	1,25-37,65	0,046
- VCAM-1 (incremento x10 ng/mL)	1,62	1,08-2,55	0,025
- IL-6 (incremento x10 ng/mL)	4,81	1,05-26,17	0,052
- IL-8 (incremento x10 ng/mL)	1,08	0,90-1,33	0,398
- CD81 (incremento x10 ng/mL)	1,26	0,22-7,34	0,746
- LDH (incremento x10 U/L)	1,04	1,01-1,08	0,011
Placa hipodensa			
- ICAM-1 (xlog ₂)	2,2	1,1-5,38	0,044
- VCAM-1 (incremento x10 ng/mL)	1,46	0,86-2,69	0,178
- IL-6 (incremento x10 ng/mL)	3,27	0,52-24,75	0,219
- IL-8 (incremento x10 ng/mL)	1,32	1,00-2,08	0,128
- CD81 (incremento x10 ng/mL)	4,33	0,31-79,0	0,289
- LDH (incremento x10 U/L)	1,01	0,98-1,05	0,552

Tabla 3: Análisis de regresión logística multivariable de las moléculas inflamatorias como predictor de placas carotídeas hipoecoicas y hipodensas.

	OR	IQR	p
Predominantly hipoechoic plaque			
Model 1 (R ² = 0,204)			
VCAM-1 (incremento x10 ng/mL)	1,79	1,10-2,89	0,019
Edat	0,37	0,15-0,96	0,041
Estenosis >70%	4,39	0,45-42,8	0,203
Model 2 (R ² = 0,220):			
LDH (incremento x10 U/L)	1,05	1,01-1,09	0,007
Edat	0,32	0,12-0,84	0,023
Hypodense plaque			
Model 1 (R ² = 0,222)			
ICAM-1 (xlog ₂)	2,31	0,92-5,85	0,041

Figura 6. Perfil proteómico y análisis de redes funcionales de vesículas extracelulares derivadas de oligodendrocitos (oEVs) en CADASIL.

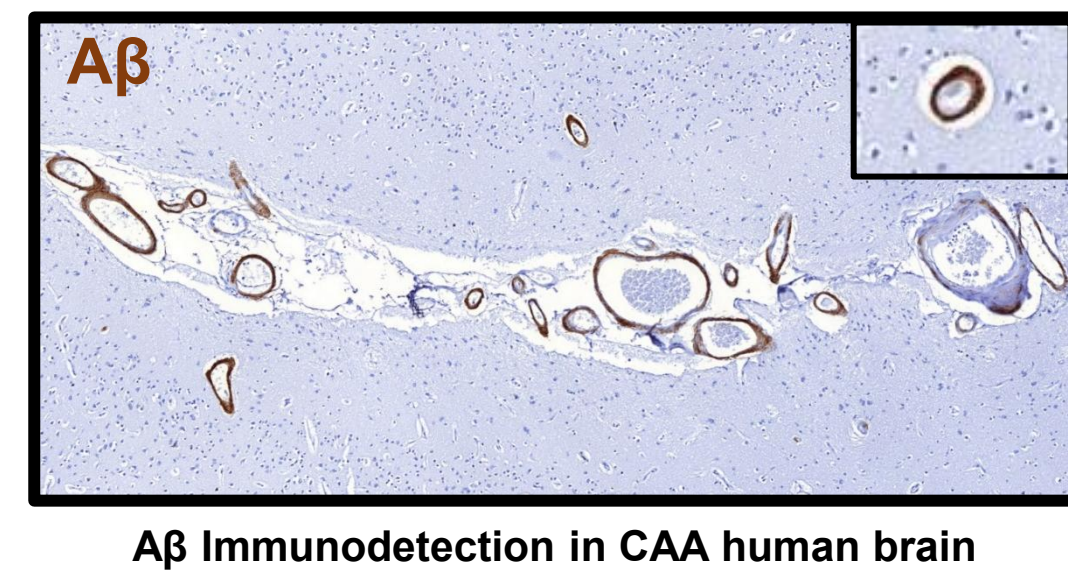
PLASMA BIOMARKERS OF CEREBRAL AMYLOID ANGIOPATHY ACROSS HEMORRHAGIC AND NON-HEMORRHAGIC PHENOTYPES

Liubovi Sopco¹, Alejandro Ballvé², Olalla Pancorbo³, David Rodríguez-Luna³, David Ferrando⁴, Anna Penalba¹, Jesús Pizarro², Laura Castillo-Ribelles⁵, Anna Rosell¹, Alex Rovira⁴, Pilar Delgado², Mar Hernández-Guillamon¹

¹Neurovascular Research Laboratory, Vall d'Hebron Research Institute, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain. ²Dementia Unit, Vall d'Hebron University Hospital, Barcelona, Spain. ³Stroke Research Group, Vall d'Hebron University Hospital, Barcelona, Spain. ⁴Section of Neuroradiology, Department of Radiology, Vall d'Hebron University Hospital, Vall d'Hebron Research Institute, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain. ⁵Clinical Biochemistry Department, Vall d'Hebron University Hospital, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain.

Introduction

Cerebral amyloid angiopathy (CAA) is a small vessel disease (SVD) characterized by β -amyloid ($A\beta$) deposition in cortical and leptomeningeal vessels and a major cause of lobar intracerebral hemorrhage in the elderly, as well as an important contributor to early cognitive decline. Because CAA frequently coexists with Alzheimer's disease (AD), differential diagnosis remains challenging. Current CAA diagnosis relies mainly on MRI using the Boston Criteria v2.0 (Charidimou et al. 2022). Although cerebrospinal fluid biomarkers provide insights into amyloid pathology, their invasive nature limits routine use.



A β Immunodetection in CAA human brain

Objective:

- To assess candidate plasma biomarkers for their ability to discriminate CAA from controls and AD patients without CAA, and to differentiate hemorrhagic versus non-hemorrhagic CAA phenotypes.
- In particular, we have analyzed in plasma core AD biomarkers ($A\beta$ 40, $A\beta$ 42, and pTau217), along with $A\beta$ 38 and MFG-E8 (lactadherin) because their preference for vascular deposition in CAA.

Candidate Plasma Biomarkers

$A\beta$ 40

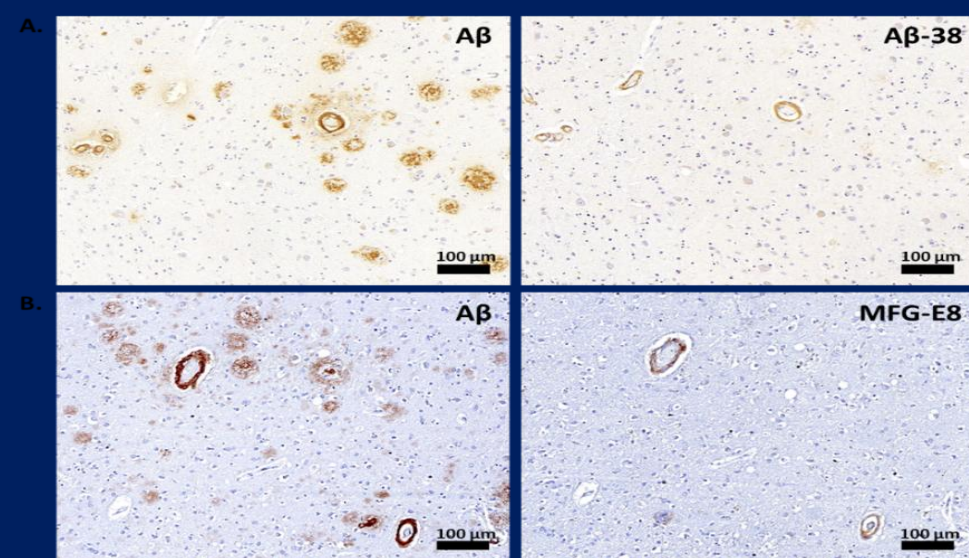
$A\beta$ 42

pTau217

Novel Candidates

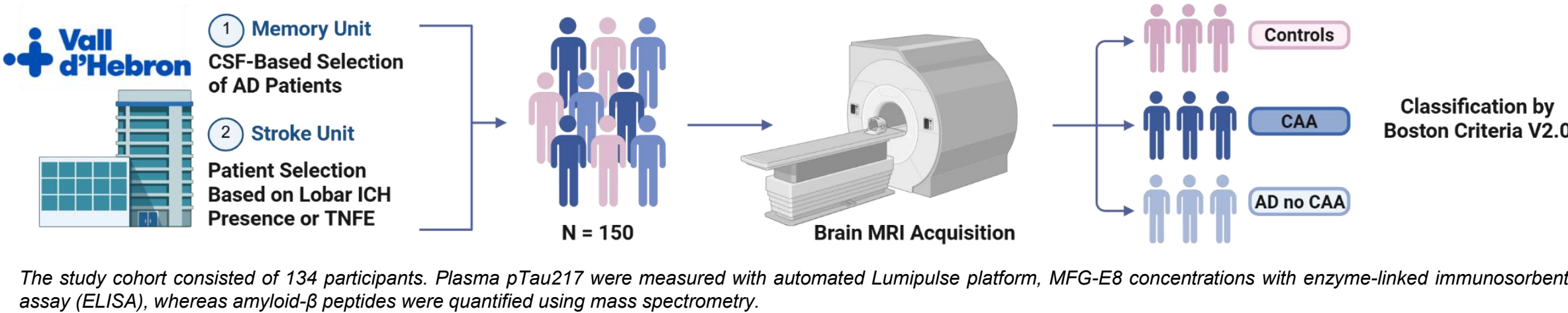
$A\beta$ 38

MFG-E8



$A\beta$ 38 and MFG-E8 Immunodetection in CAA

Methodology



The study cohort consisted of 134 participants. Plasma pTau217 were measured with automated Lumipulse platform, MFG-E8 concentrations with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), whereas amyloid- β peptides were quantified using mass spectrometry.

Results

Demographic characteristics

	Control N = 50 (37.31%)	CAA N = 55 (41.04%)	AD no CAA N = 29 (21.64%)	p-value
Mean Age	71.2 (2.5)	73.4 (8.4)*	70.3 (7.4) [‡]	0.003
Female, n (%)	21 (42%)	33 (60%)	17 (58.6%)	0.144
Cognitive impairment or Dementia, n (%)	0 (0%)	34 (68%)*	29 (100%)* [‡]	<0.001
APOE4, n (%)	14 (28%)	16 (29.6%)	13 (44.8%)	0.262
APOE2, n (%)	6 (12%)	4 (7.4%)	2 (6.9%)	0.722
ICH, n (%)				
Absent	50 (100%)	16 (29.1%)*	29 (100%) [‡]	<0.001
Lobar ICH	0 (0%)	38 (69.1%)	0 (0%)	

Note: Values are mean (sd) or n (%). *p<0.05 vs. Control group; [‡]p<0.05 vs. CAA group.

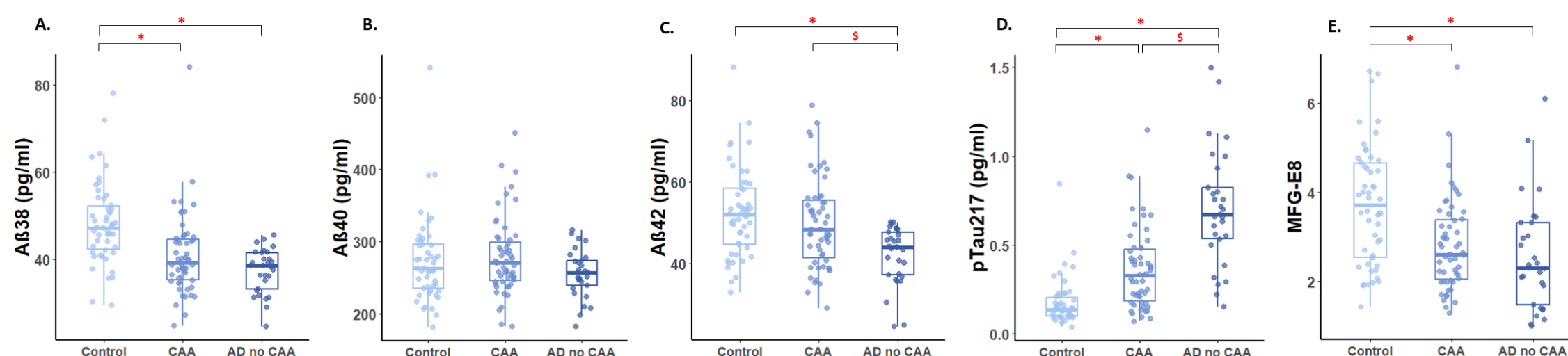


FIGURE 1 | Plasma biomarker levels of healthy control, CAA and AD without CAA group. Box plots represent the distribution of data A. $A\beta$ 38, B. $A\beta$ 40, C. $A\beta$ 42, D. pTau217, and E. MFG-E8 within each group. Significant differences are indicated as: *p<0.05 vs. Control group; [‡]p<0.05 vs. CAA group.

Quantile Regression estimates of biomarker levels: Adjusted for age, sex, and APOE4

	CAA	Control	Adjusted, p-value	FDR adj. p-value	AD no CAA	Adjusted, p-value	FDR adj. p-value
$A\beta$ 38 (pg/ml)	39.20 [36.72, 41.68]	8.19 [4.51, 11.88]	<0.001	<0.001	1.71 [5.65, 2.31]	0.397	0.505
$A\beta$ 40 (pg/ml)	270.60 [256.95, 284.25]	3.89 [-16.64, 24.42]	0.711	0.711	-6.86 [-30.98, 17.26]	0.578	0.617
$A\beta$ 42 (pg/ml)	48.30 [44.48, 52.12]	5.29 [0.22, 10.36]	0.063	0.077	-3.71 [-8.09, 0.68]	0.100	0.200
Plasma pTau217 (pg/ml)	0.33 [0.25, 0.41]	0.02 [0.01, 0.03]	0.003	0.005	0.36 [0.19, 0.52]	<0.001	<0.001
MFG-E8	2.60 [2.29, 2.91]	1.12 [0.46, 1.79]	0.001	0.002	-0.43 [-1.02, 0.16]	0.153	0.245
$A\beta$ 38/40	0.14 [0.14, 0.15]	0.03 [0.02, 0.04]	<0.001	<0.001	-0.00 [-0.01, 0.01]	0.411	0.505
$A\beta$ 38/42	0.82 [0.79, 0.84]	0.08 [0.03, 0.14]	0.003	0.005	0.05 [-0.01, 0.12]	0.131	0.232
$A\beta$ 42/40	0.18 [0.17, 0.19]	0.02 [0.01, 0.03]	0.004	0.006	-0.01 [-0.03, 0.00]	0.008	0.026
pTau217/ $A\beta$ 38 (scaled $\times 1000$)	7.09 [5.48, 8.71]	-4.11 [-5.56, -2.65]	<0.001	<0.001	11.04 [7.98, 14.10]	<0.001	<0.001
pTau217/ $A\beta$ 40 (scaled $\times 1000$)	1.05 [0.84, 1.27]	-0.56 [-0.79, -0.32]	<0.001	<0.001	1.49 [0.82, 2.16]	<0.001	<0.001
pTau217/ $A\beta$ 42 (scaled $\times 1000$)	6.03 [4.82, 7.24]	-3.07 [-4.49, -1.66]	<0.001	<0.001	9.67 [5.92, 13.41]	<0.001	<0.001
$A\beta$ 38/MFG-E8	14.66 [12.77, 16.55]	-1.76 [-5.14, 1.61]	0.308	0.329	-0.07 [-1.46, 5.31]	0.979	0.979
$A\beta$ 40/MFG-E8	104.30 [91.18, 117.42]	-3.07 [-4.49, -1.66]	0.004	0.005	16.54 [-18.24, 51.33]	0.353	0.505
$A\beta$ 42/MFG-E8	18.00 [16.04, 19.96]	-2.93 [-4.09, 0.24]	0.072	0.082	1.74 [-4.10, 7.59]	0.560	0.617
pTau217/MFG-E8 (scaled $\times 1000$)	132.50 [98.99, 166.01]	-93.70 [-131.36, -55.04]	<0.001	<0.001	97.57 [13.76, 181.37]	0.024	0.064

Values are estimates (95% CI), p-values, and Bonferroni-adjusted p-values (FDR).

Abbreviations: $A\beta$, Amyloid beta; AD, Alzheimer's disease; CAA, Cerebral amyloid angiopathy; FDR, False discovery rate; MFG-E8, Milk Fat Globule-EGF Factor 8 (lactadherin); pTau217, phosphorylated tau.

*Adjusted, p-value refers to the p-value adjusted for the covariates Age, Sex, and APOE4 using quantile regression.

[‡]FDR adj. p-value is the p-value adjusted for Age, Sex, and APOE4 using quantile regression and corrected for multiple comparisons (FDR).

Biomarkers with the best diagnostic performance

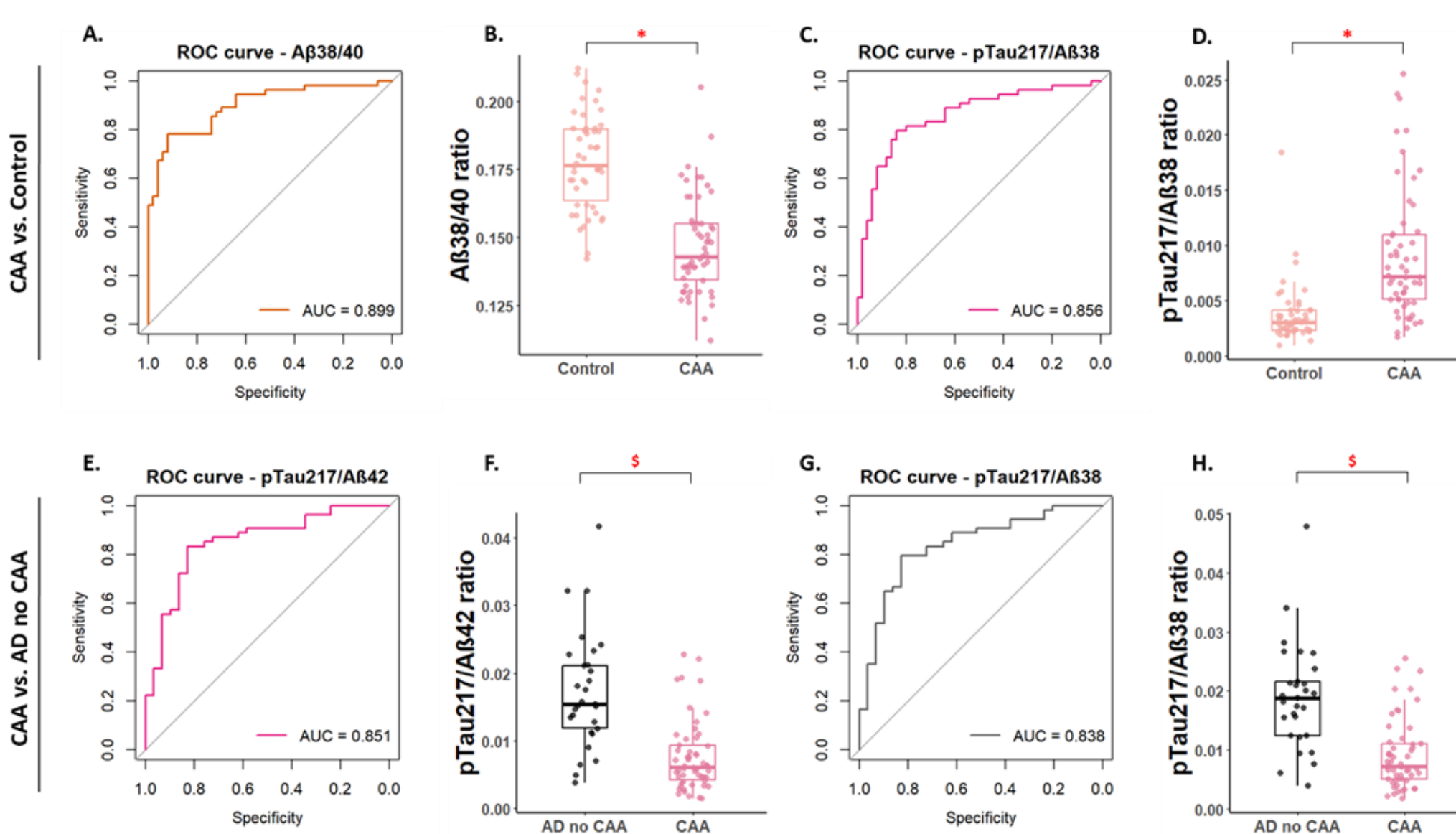


FIGURE 2 | ROC curves of biomarkers with the best diagnostic performance for differentiation CAA vs. Control and AD no CAA. For CAA vs. Control, $A\beta$ 38/40 and pTau217/ $A\beta$ 38 biomarker ratios (A-D) showed the largest areas under the curve (AUC); and for CAA vs. AD no CAA, pTau217/ $A\beta$ 42 and pTau217/ $A\beta$ 38 biomarker ratios (E-H) showed the largest AUC. AUC, area under curve; ROC, receiver-operating characteristic curves. *p<0.05 vs. Control group; [‡]p<0.05 vs. CAA group.

Correlation analysis between plasma biomarkers and CAA-associated neuroimaging features

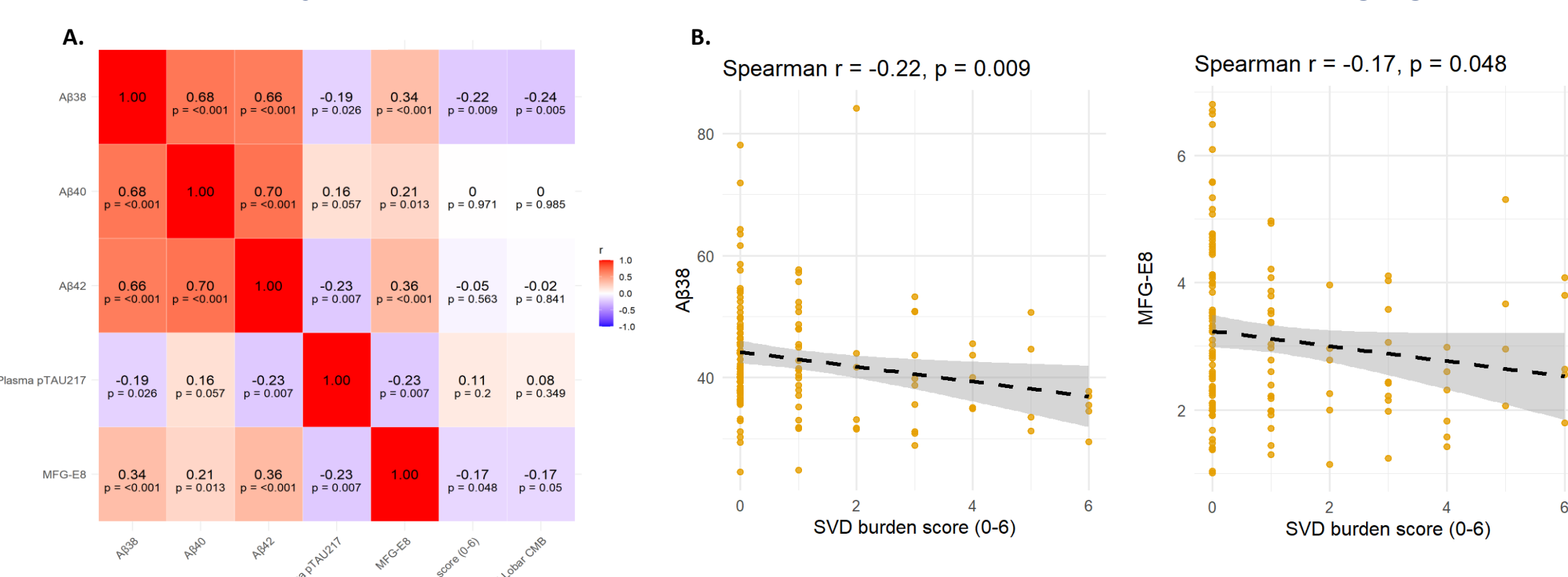
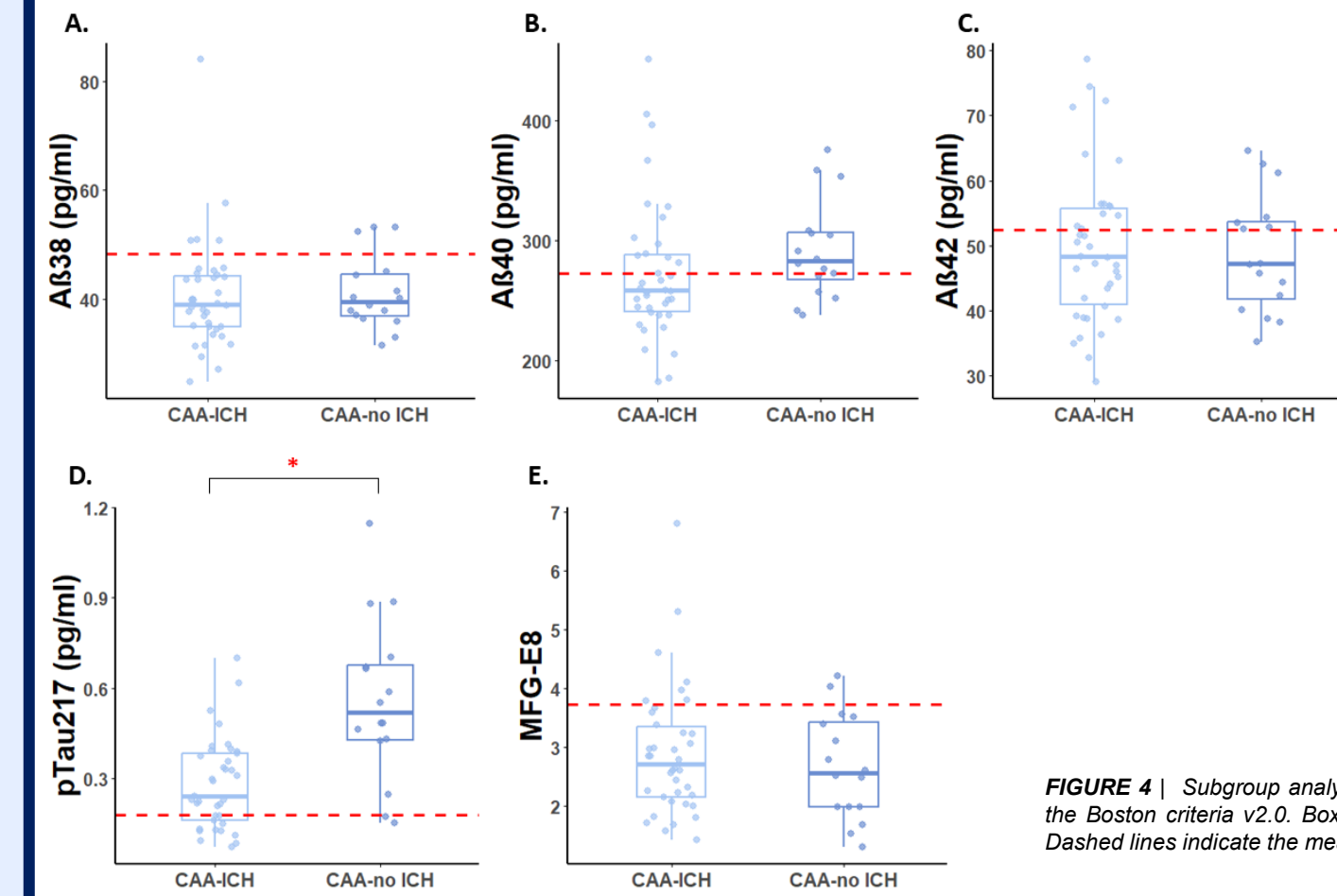


FIGURE 3 | Spearman's rank correlation analysis of plasma biomarkers and CAA-neuroimaging features. A heatmap illustrates the overall correlations among plasma biomarkers ($A\beta$ 38, $A\beta$ 40, $A\beta$ 42, plasma pTau217, and MFG-E8) and CAA-associated neuroimaging features, including the CAA-SVD burden score (Charidimou et al. 2018), and number of lobar cerebral microbleeds (CMBs). The analysis was performed on the entire dataset (without group stratification). B. Correlations between SVD burden score and $A\beta$ 38 and MFG-E8. Individual scatter plots with confidence interval (CI) are shown to visualize specific pairwise relationships.

CAA with vs. without Lobar ICH



Demographic characteristics

	CAA-ICH N = 38	CAA-no ICH N = 16	p-value
Mean Age	75 (66, 78)	77 (74, 81)	0.047
Female, n (%)	20 (53%)	12 (75%)	0.127
Cognitive impairment or dementia, n (%)	18 (55%)	15 (94%)	0.006
APOE4, n (%)	9 (24%)	7 (47%)	0.080
APOE2, n (%)	4 (11%)	0 (0%)	0.130
Boston 2.0, n (%)			
Negative for CAA	0 (0%)	0 (0%)	
Confirmed	3 (7.9%)	0 (0%)	<0.001
Possible	6 (16%)	15 (94%)	
Probable	29 (76%)	1 (6.3%)	

[‡]Median (Q1, Q3); n (%).
p<0.05 vs. CAA-ICH

FIGURE 4 | Subgroup analysis of selected biomarker levels within CAA cases with lobar intracerebral hemorrhage (ICH) and without, according to the Boston criteria v2.0. Box plots represent the distribution of data A. $A\beta$ 38, B. $A\beta$ 40, C. $A\beta$ 42, D. pTau217, and E. MFG-E8 within each group. Dashed lines indicate the mean of the control group. Significant differences are indicated as: *p-value < 0.05.

Conclusion

- Plasma $A\beta$ 38/ $A\beta$ 40 and pTau217/ $A\beta$ 38 ratios may support the non-invasive identification of CAA patients compared with controls. In contrast, pTau217/ $A\beta$ 42 and pTau217/ $A\beta$ 38 ratios showed the best performance for differentiating CAA from AD without CAA. However, discrimination between CAA and AD using plasma biomarkers may be limited and influenced by the CAA phenotype and overlapping amyloid-related pathology.
- $A\beta$ 38 and MFG-E8 alone showed limited diagnostic performance; however, their association with CAA-related neuroimaging markers suggests a complementary role in reflecting vascular pathology.



Project: 101126533 — TOUCH — HORIZON-MSCA-2022-COFUND-01

Acknowledgment: This project has received funding from the European Union's Horizon Europe research and innovation programme under the Marie Skłodowska-Curie grant agreement No 101126533.

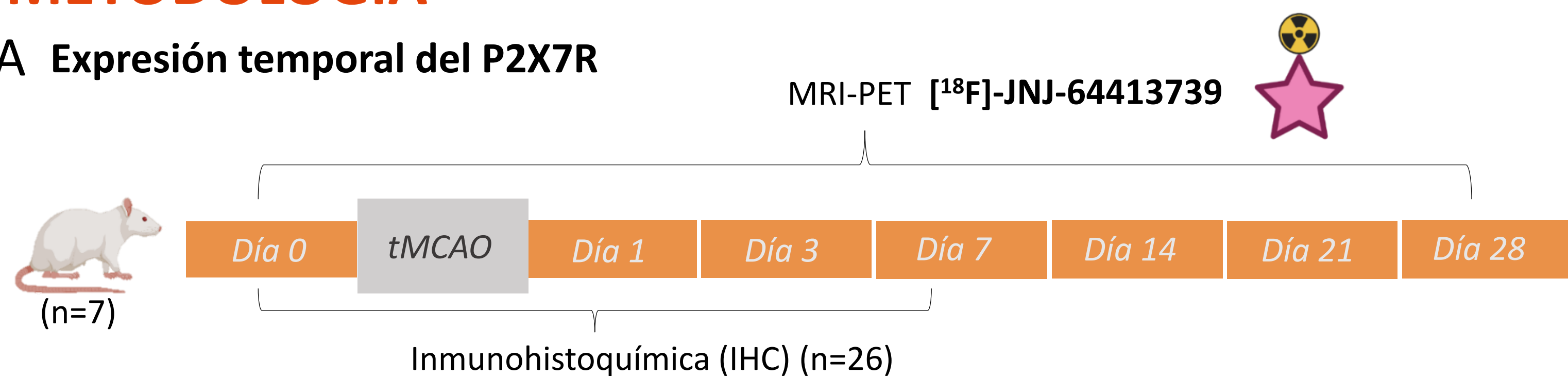
Disclaimer: Co-funded by the European Union. Views and opinions expressed are however those of the author(s) only and do not necessarily reflect those of the European Union. Neither the European Union nor the granting authority can be held responsible for them.

INTRODUCTION

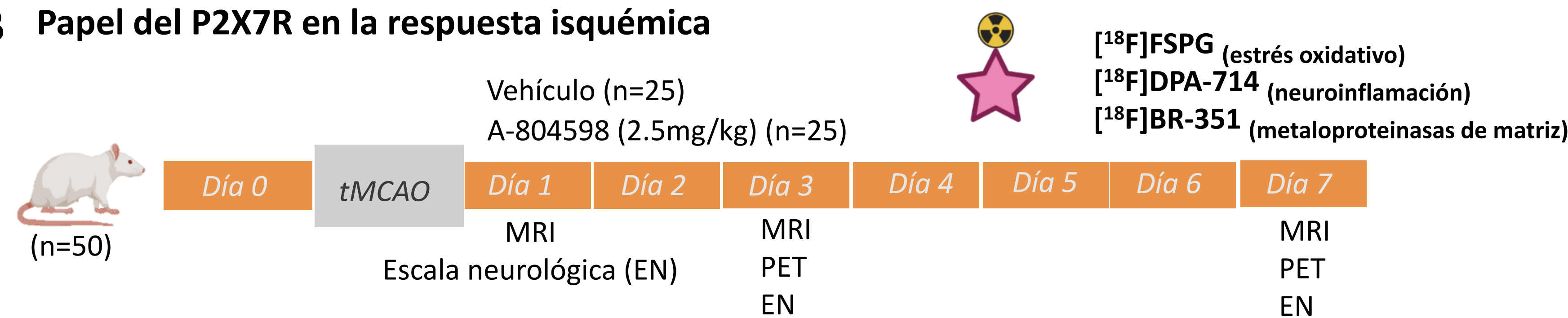
El **ictus isquémico** provoca un aumento de la concentración de adenosín 5'-trifosfato (ATP), lo que convierte a los receptores purinérgicos, en particular al receptor P2X7 (P2X7R), en posibles dianas terapéuticas de creciente relevancia¹. A pesar de su importancia, el potencial diagnóstico y terapéutico de estos receptores ha sido escasamente explorado. Por ello, el objetivo de este trabajo es monitorizar la expresión *in vivo* de P2X7R en ratas tanto en condiciones sanas como isquémicas y evaluar el papel de P2X7R en la inflamación cerebral mediante técnicas de imagen no invasivas.

METODOLOGÍA

A Expresión temporal del P2X7R



B Papel del P2X7R en la respuesta isquémica



Planificación experimental de los estudios de imagen y tratamiento. Expresión temporal de P2X7R mediante PET-[18F]-JNJ-644137392 tras la isquemia cerebral (A) y evaluación del papel de P2X7R en la respuesta isquémica (B).

RESULTADOS

1. Imagen PET de la expresión de P2X7R en condiciones saludables

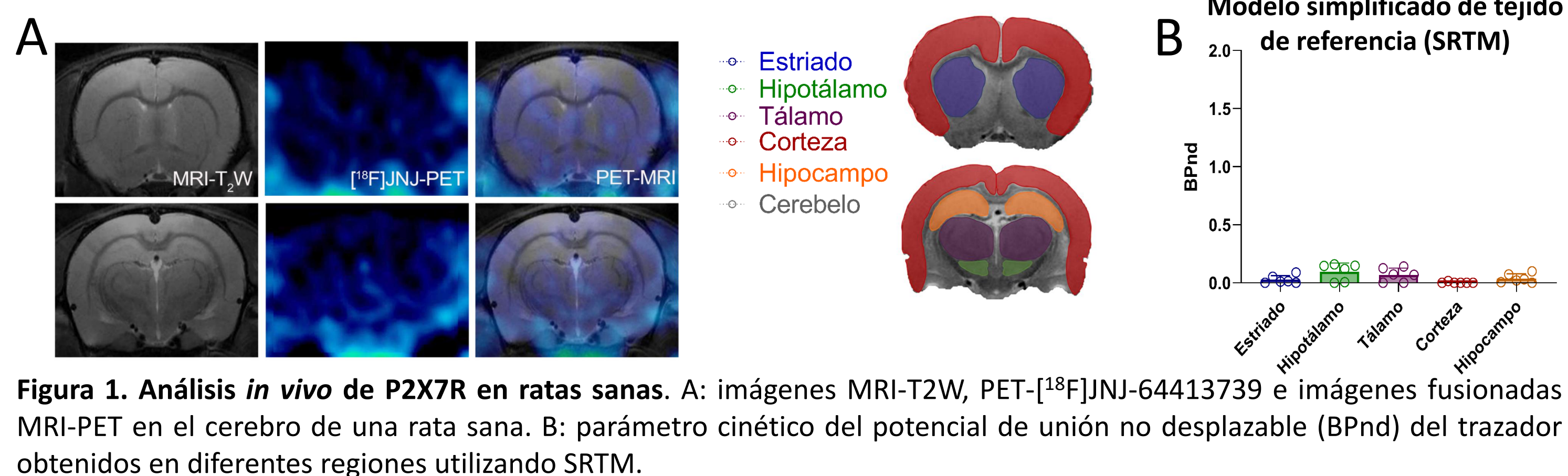


Figura 1. Análisis *in vivo* de P2X7R en ratas sanas. A: imágenes MRI-T2W, PET-[18F]JNJ-64413739 e imágenes fusionadas MRI-PET en el cerebro de una rata sana. B: parámetro cinético del potencial de unión no desplazable (BPnd) del trazador obtenidos en diferentes regiones utilizando SRTM.

4. Expresión temporal *ex vivo* de P2X7R después de tMCAO

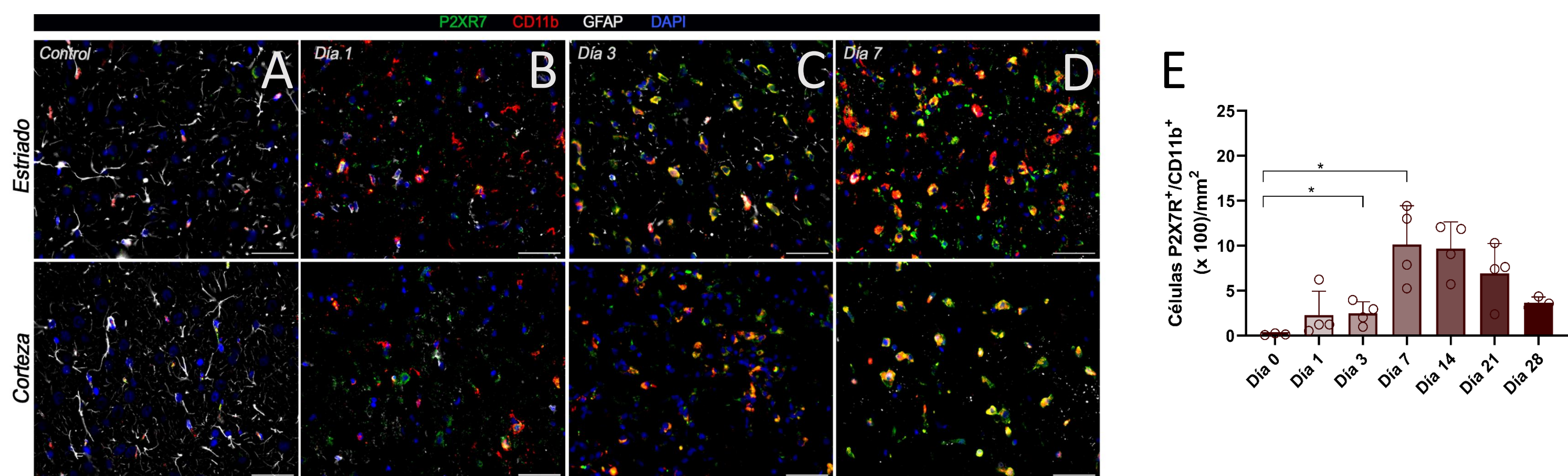


Figura 4. Expresión *ex vivo* de P2X7R. Marcaje inmunofluorescente de P2X7R (verde), CD11b (rojo), GFAP (gris) y DAPI (azul) tanto en el estriado como en la corteza día 0 (A), 1 (B), 3 (C) y 7 (D), mostrados como canales fusionados (barras de escala: 50 µm). E: Cuantificación de células P2X7R+/CD11b+ en el hemisferio ipsilateral.

6. Efecto de la inhibición del P2X7R en la respuesta neuroinflamatoria

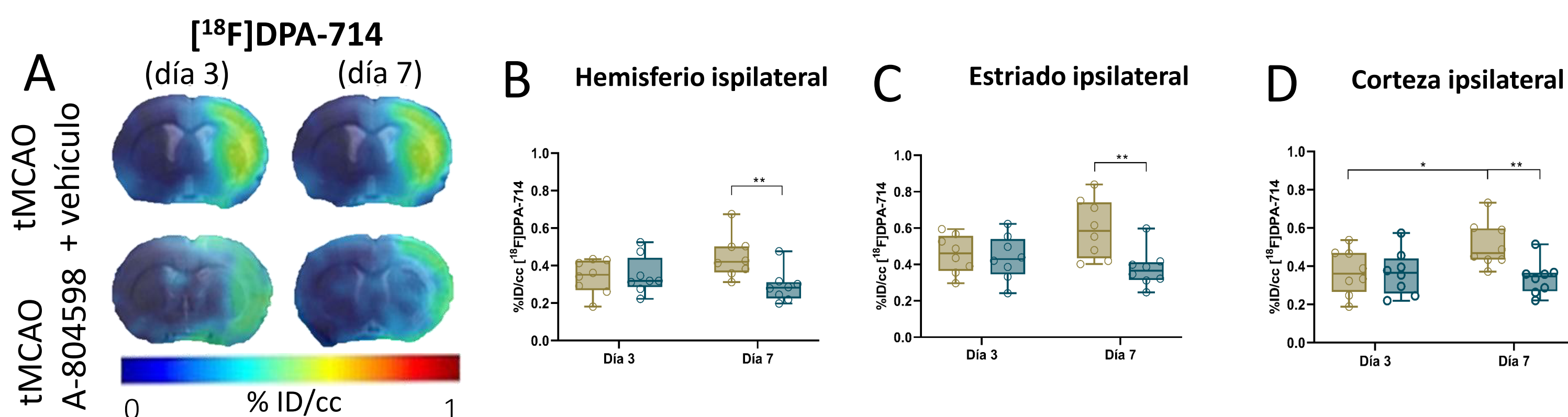


Figura 6. El papel de P2X7R en la respuesta neuroinflamatoria. A: imágenes de señal MRI-PET al nivel de la lesión isquémica. B a D: cuantificación de la señal PET de [18F]DPA-714 a los días 3 y 7 después del ictus en el hemisferio ipsilateral (B), el estriado (C) y la corteza (D) (*p < 0.05, **p < 0.01).

REFERENCIAS

[1] Martín A, et al. (2018) Therapeutic Advances in Neurological Disorders, 11; [2] Berdyeva, T., et al. (2019). Molecular imaging and biology, 21, 871-878.; [3] Lammertsma, AA, & Hume, SP (1996), NeuroImage, 4(3), 153–158.

2. Descripción del infarto cerebral a 24 horas

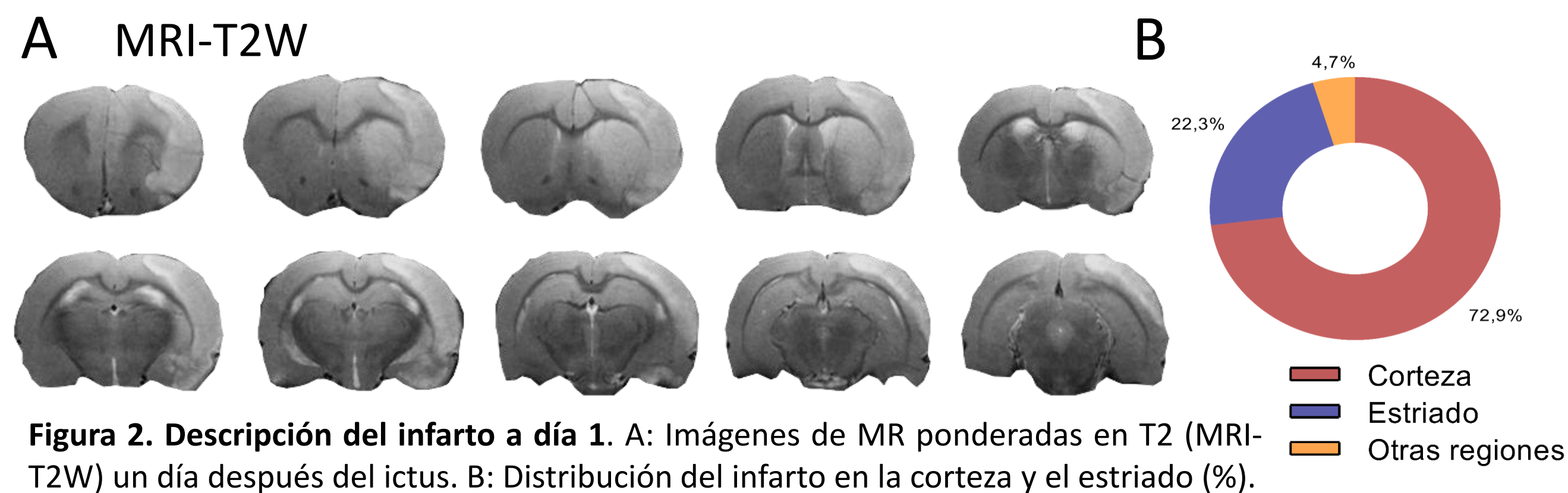


Figura 2. Descripción del infarto a día 1. A: Imágenes de MR ponderadas en T2 (MRI-T2W) un día después del ictus. B: Distribución del infarto en la corteza y el estriado (%).

5. Efecto de la inhibición de P2X7R en el daño neurológico y el estrés oxidativo

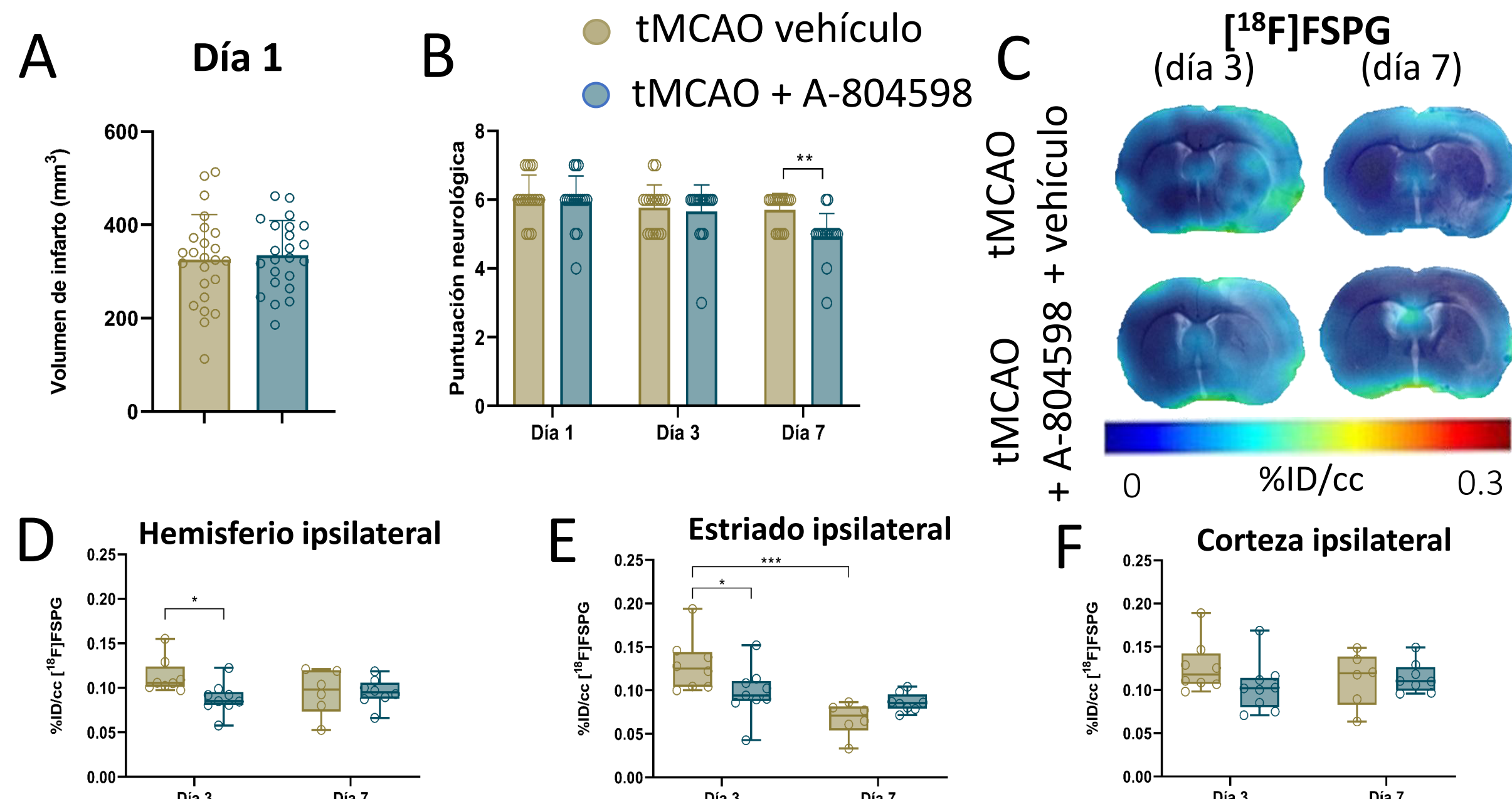


Figura 5. El papel de P2X7R en el estrés oxidativo. A : Volumen del infarto a día 1 (antes del tratamiento). B: puntuación neurológica a día 1, 3 y 7 después de la isquemia. C: imágenes de señal MRI-PET al nivel de la lesión isquémica. D a F: cuantificación de la señal PET de [18F]FSPG a día 3 y 7 después del ictus en el hemisferio ipsilateral (D), el estriado (E) y la corteza (F) (*p < 0.05, **p < 0.01).

7. Efecto de la inhibición del P2X7R en la activación de las metaloproteinasas de matriz

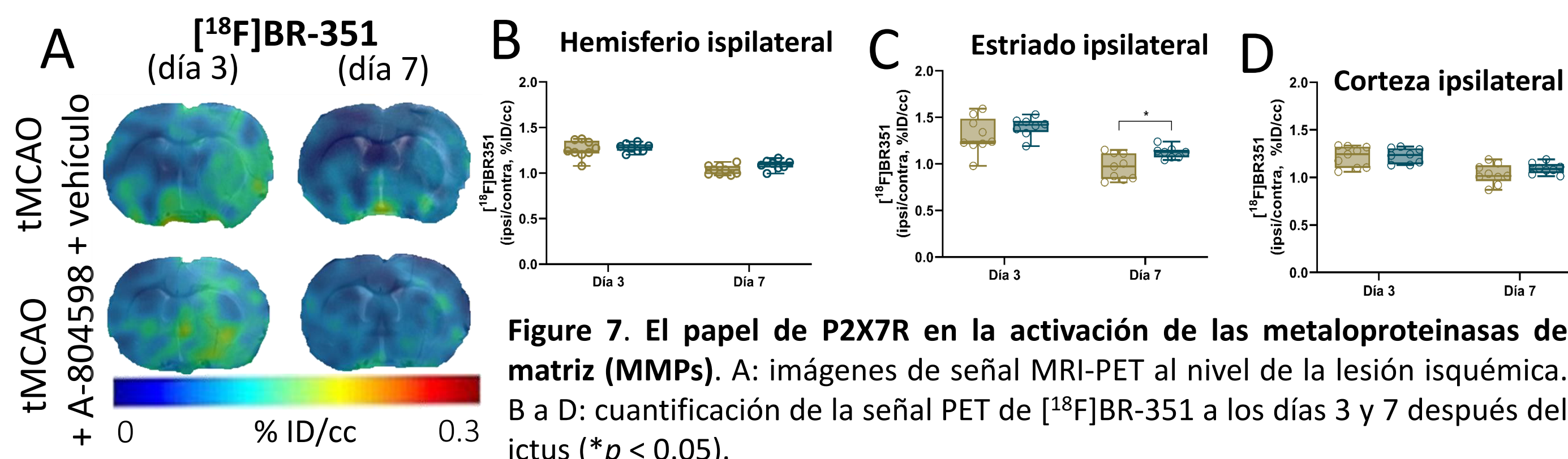


Figura 7. El papel de P2X7R en la activación de las metaloproteinasas de matriz (MMPs). A: imágenes de señal MRI-PET al nivel de la lesión isquémica. B a D: cuantificación de la señal PET de [18F]BR-351 a los días 3 y 7 después del ictus (*p < 0.05).

3. Imágenes de resonancia magnética (MRI) y PET-[18F]JNJ-64413739 antes y después de la isquemia

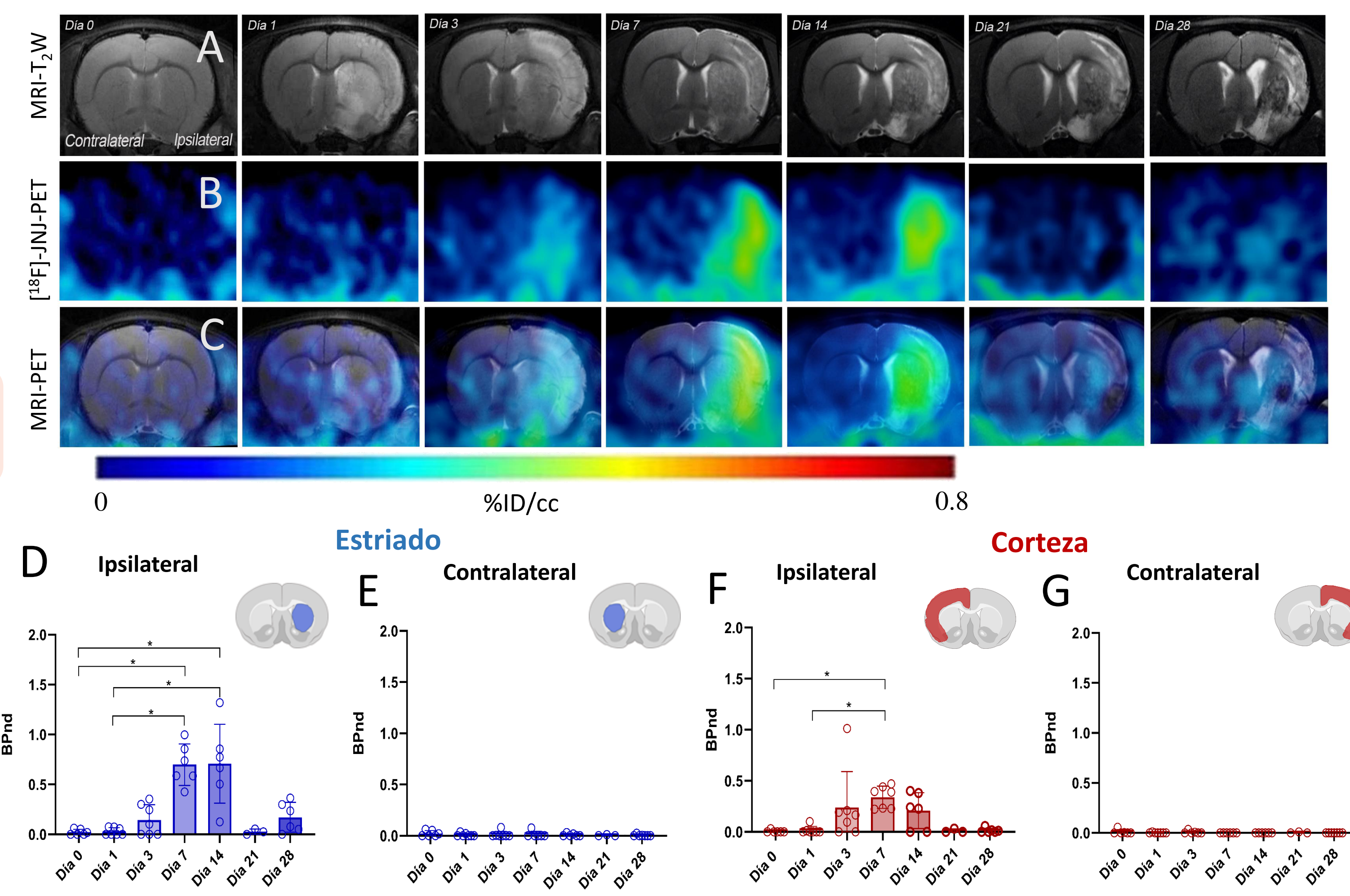


Figura 3. Expresión *in vivo* de P2X7R antes y después de la isquemia. A a C: las imágenes MRI-T2W, PET-[18F]JNJ-64413739 y las imágenes fusionadas MRI-PET muestran la evolución de la lesión isquémica durante un mes tras el inicio del ictus. D a G: parámetros cinéticos de BPnd en el estriado ipsilateral y contralateral (D y E) y en la corteza (F y G) (*p < 0.05).

CONCLUSIONES

- Este estudio muestra valores bajos de BPnd de [18F]JNJ-64413739 en el cerebro de ratas en condiciones saludables, que aumentan significativamente tras un ictus isquémico, en relación con un incremento de **microglía/macrófagos** que expresan **P2X7R**
- Los datos obtenidos demuestran el papel de este receptor en el **estrés oxidativo**, la **neuroinflamación** y la **activación de las metaloproteinasas de matriz**, respaldando su potencial como diana terapéutica
- Este estudio posiciona la PET con **[18F]-JNJ-64413739** como una herramienta adecuada para investigar la distribución *in vivo* de **P2X7R** en el ictus isquémico

MODULACIÓN PROTEÓMICA MEDIANTE TDCS EN ICTUS ISQUÉMICO EN RATA INDUCIDO POR ENDOTELINA-1

Antonio J. Rodríguez-Sánchez^{1,2}, Carmen del Río-Mercado^{3,4}, Víctor Toscano-Durán^{3,5}, Fernando Laso-García⁶, Álvaro López-Villegas⁷, Laura Amaya-Pascasio², José García-Pinteño^{1,2}, Margarita Moreno⁷, María Gutiérrez-Fernández⁶, Blanca Fuentes-Gimeno⁶, Joan Montaner-Villalonga³, Patricia Martínez-Sánchez^{2,8}

¹FIBAO, ²Neurología. HUT, ³IBiS, Sevilla, ⁴Biología Celular, Universidad de Sevilla, ⁵Matemática Aplicada, Universidad de Sevilla, ⁶IdiPAZ, Madrid, ⁷Psicología, CIBIS, Universidad de Almería, ⁸Enfermería, Fisioterapia y Medicina, CEINSA, Universidad de Almería.

INTRODUCCIÓN

El ictus isquémico induce una respuesta sistémica detectable en el perfil proteómico plasmático. La identificación de biomarcadores tempranos y su evolución podría mejorar la comprensión de los mecanismos de daño y recuperación, así como el efecto de terapias emergentes de neuromodulación como la estimulación transcraneal (tDCS)

MATERIAL Y MÉTODOS

Ratas Wistar fueron asignadas a **control o ictus por inyección de endotelina en corteza prefrontal**. Los animales con ictus recibieron **tDCS anodal, catodal o sham**. La tDCS (1 mA; 1.5 cm²) se inició a los 10 días (5 sesiones, 20 min/día). Se analizaron muestras plasmáticas a 24-48h (T1) y 18 días (T2) tras el ictus (n=8-12 ratas/condición). Se evaluaron cambios en el perfil proteómico mediante el panel Olink Target 96 entre tiempos y tratamientos.

RESULTADOS

Figura 1. Firma proteómica aguda (24-48h)

A Proteínas diferencialmente expresadas (ictus vs control)

↑ Aumentadas en ictus

- ACVRL1
- EDA2R
- ENO2
- FLRT2
- MIA
- SEZ6L2
- TNFRSF12A
- TPP1
- WISP1

↓ Disminuidas en ictus

- LPL
- TNF

B Ejemplos representativos

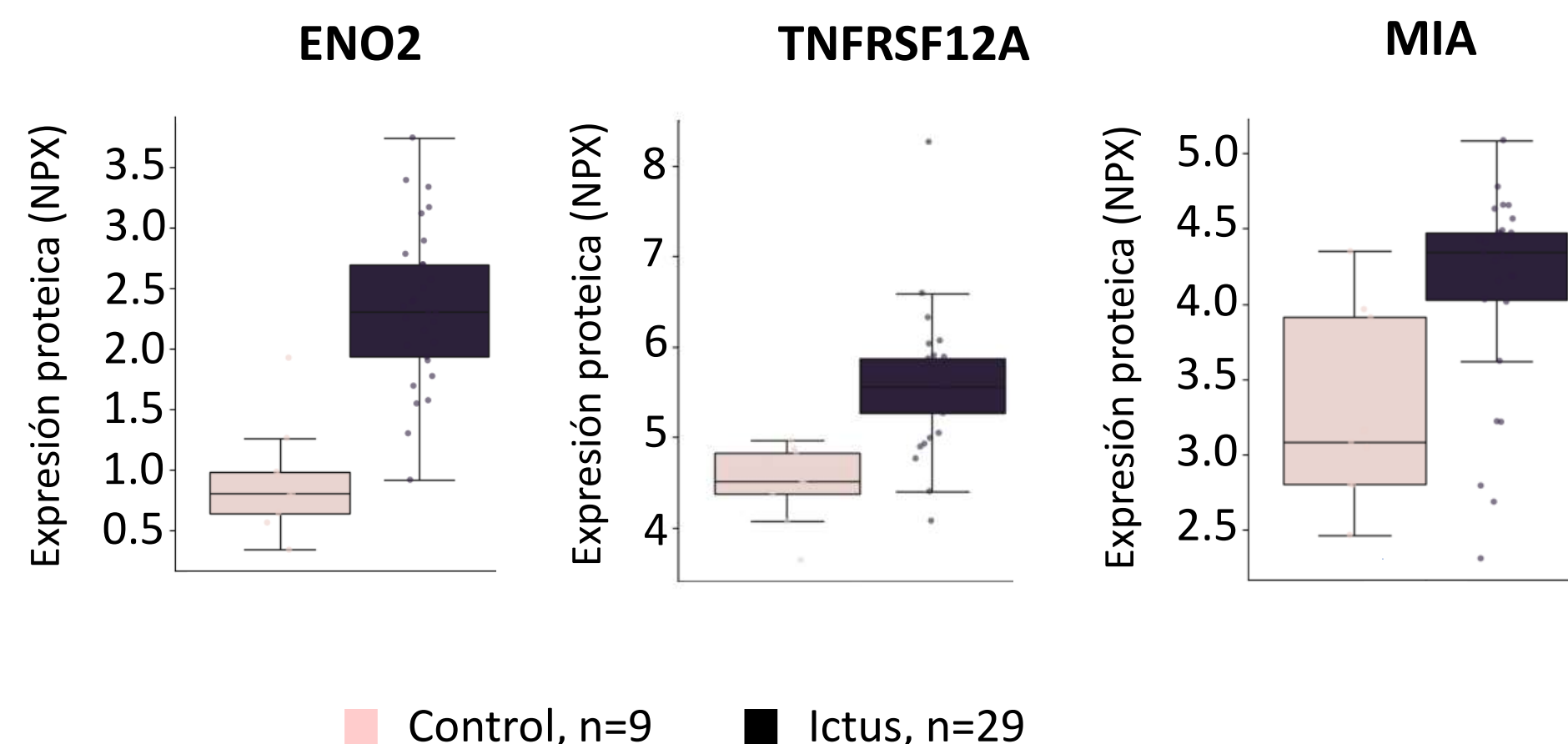


Figura 2. Evolución temporal de proteínas seleccionadas

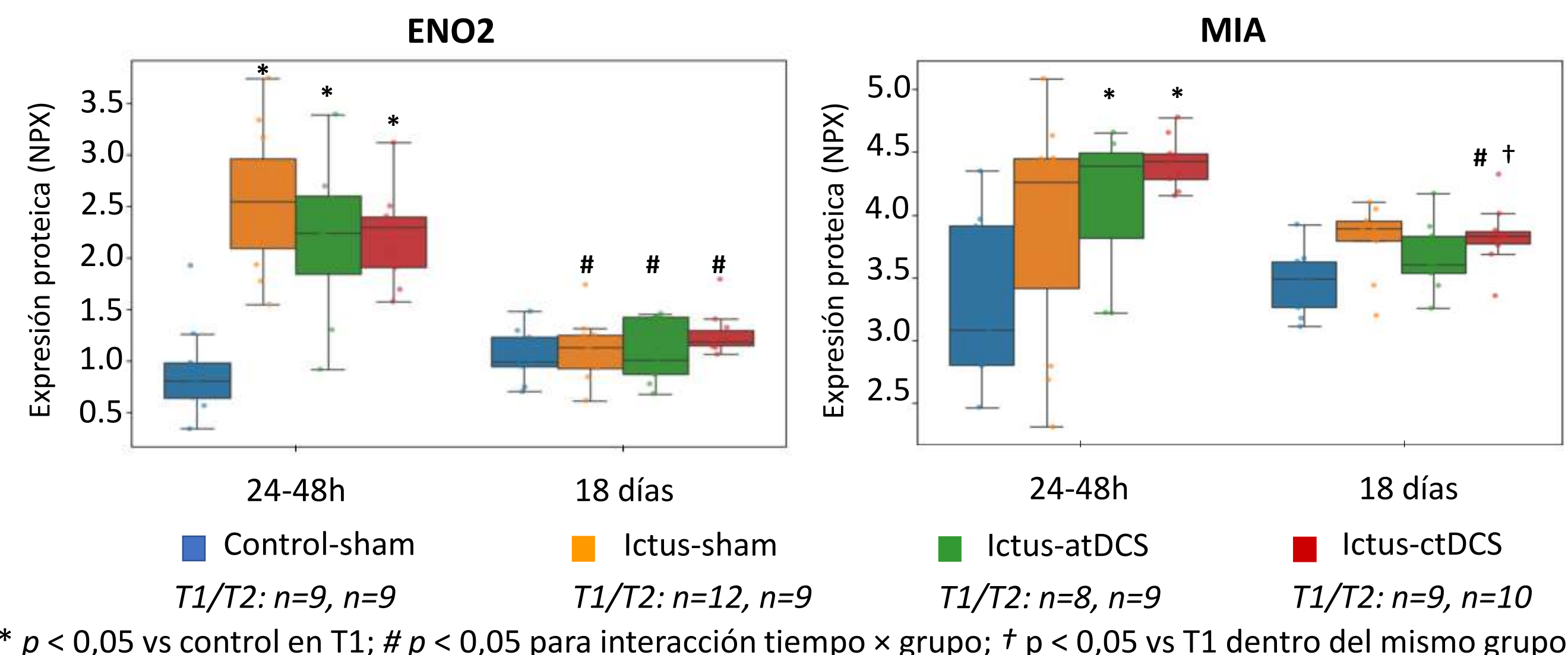
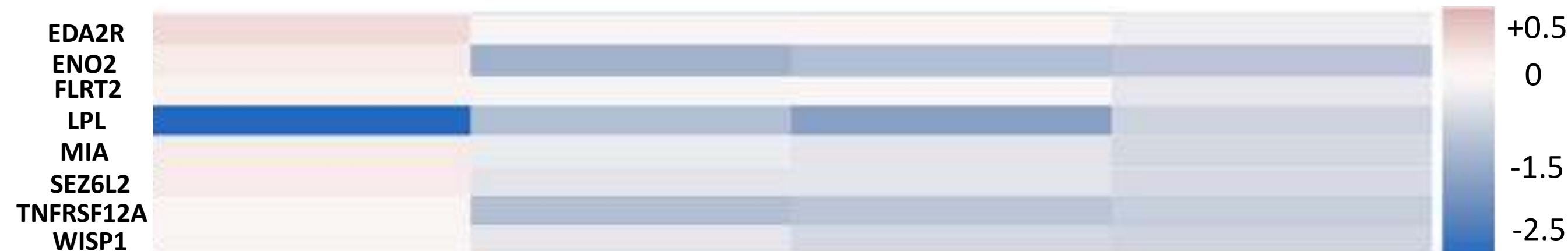


Figura 3. Evolución diferencial de proteínas seleccionadas según grupo experimental ($\Delta T2-T1$)



CONCLUSIONES

- El ictus experimental induce una firma proteómica aguda asociada a daño neuronal, inflamación, remodelado tisular y homeostasis metabólica.
- Parte de esta respuesta se atenúa espontáneamente con el tiempo, lo que puede dificultar la detección de efectos terapéuticos tardíos.
- La tDCS catodal mostró un posible efecto modulador sobre MIA, cuya confirmación requerirá estudios con mayor tamaño muestral y evaluación en fases más tempranas tras el ictus.

PROTEOMIC DISCOVERY AND CLINICAL VALIDATION OF STROKE BIOMARKERS HPX AND HSP27

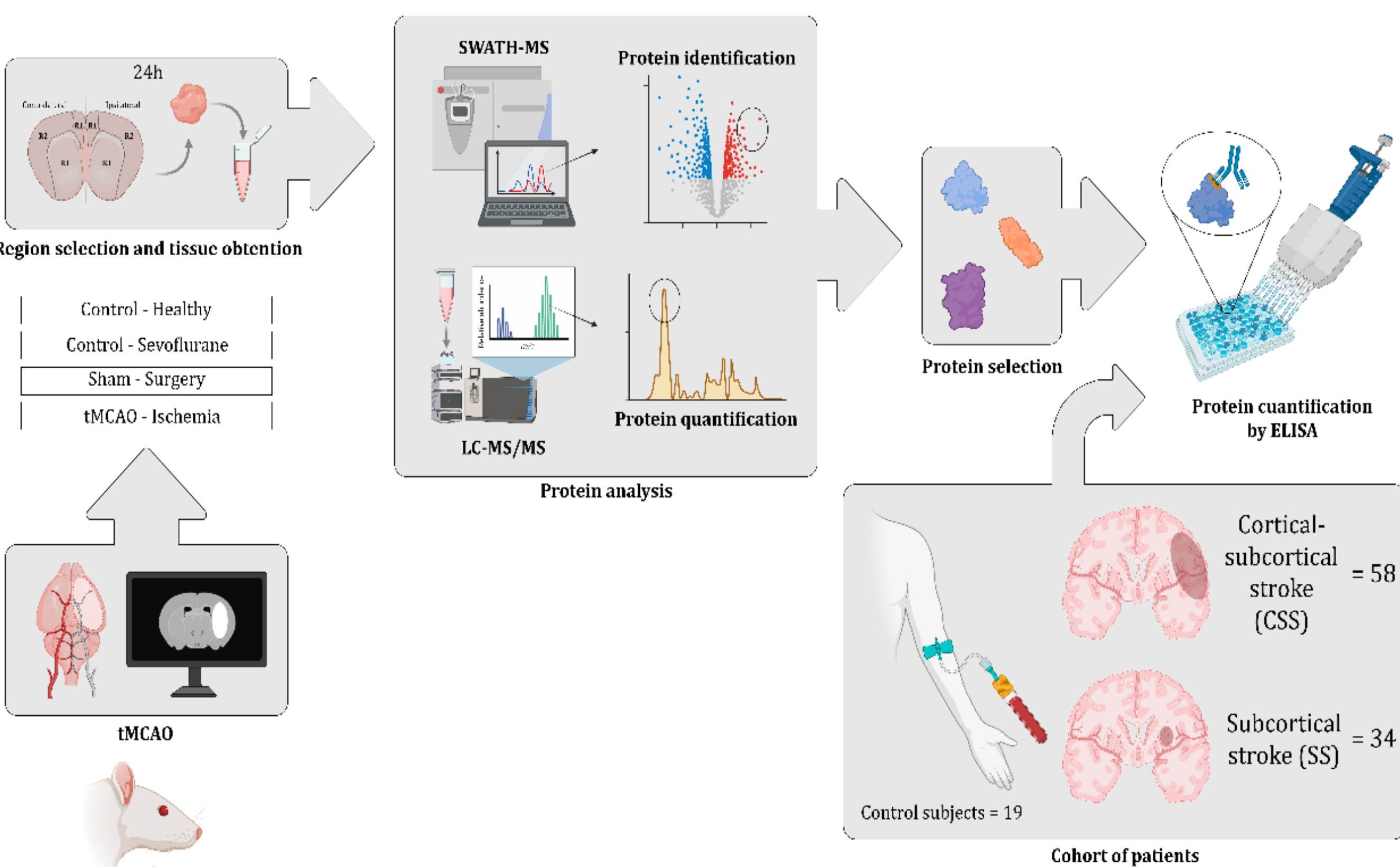
María Pérez-Mato,¹ Fernando Laso,¹ Nuria Palomar,¹ María Gutiérrez-Fernández,² Elisa Alonso-López,² Exuperio Díez Tejedor,² Blanca Fuentes,² María Santamaria Cadavid,¹ Manuel Rodríguez-Yáñez,¹ Francisco Campos¹

¹ Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, Spain.
² Hospital La Paz Institute for Health Research – IdiPAZ (La Paz University Hospital- Universidad Autónoma de Madrid), Madrid, Spain

BACKGROUND AND AIMS

Ischemic stroke is a leading cause of mortality and long-term disability. Despite the efficacy of intravenous thrombolysis and mechanical thrombectomy, their use is limited by narrow therapeutic windows and strict eligibility criteria. Blood-based biomarkers could improve early diagnosis, stroke subtype classification, and prognosis. This study aimed to identify biomarkers associated with infarct topography, combining proteomic discovery in experimental models with clinical validation in patients.

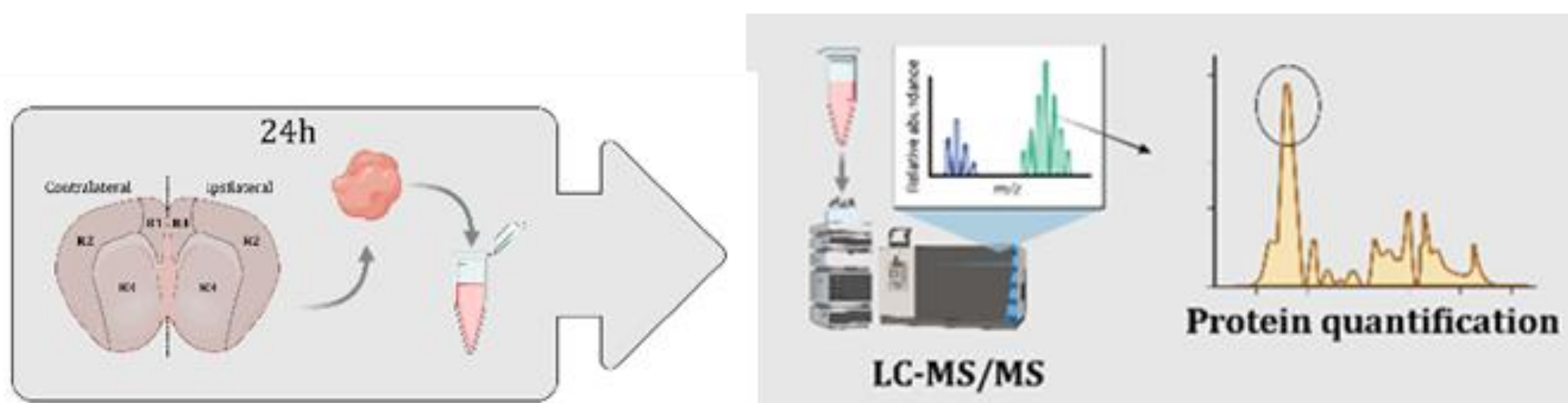
METHODS



Proteomic analysis of ischemic brain tissue was performed in a rat model of stroke using liquid chromatography tandem mass spectrometry. Candidate proteins were selected based on differential expression, and subsequently assessed in retrospective serum samples from patients with cortical–subcortical stroke (CSS, n=58) and subcortical stroke (SS, n=34), collected at 24 hours and 3 months post-stroke, and compared with controls (n=19). Demographic and clinical variables were collected, including age, sex, comorbidities, NIHSS score, blood pressure, and laboratory parameters

RESULTS

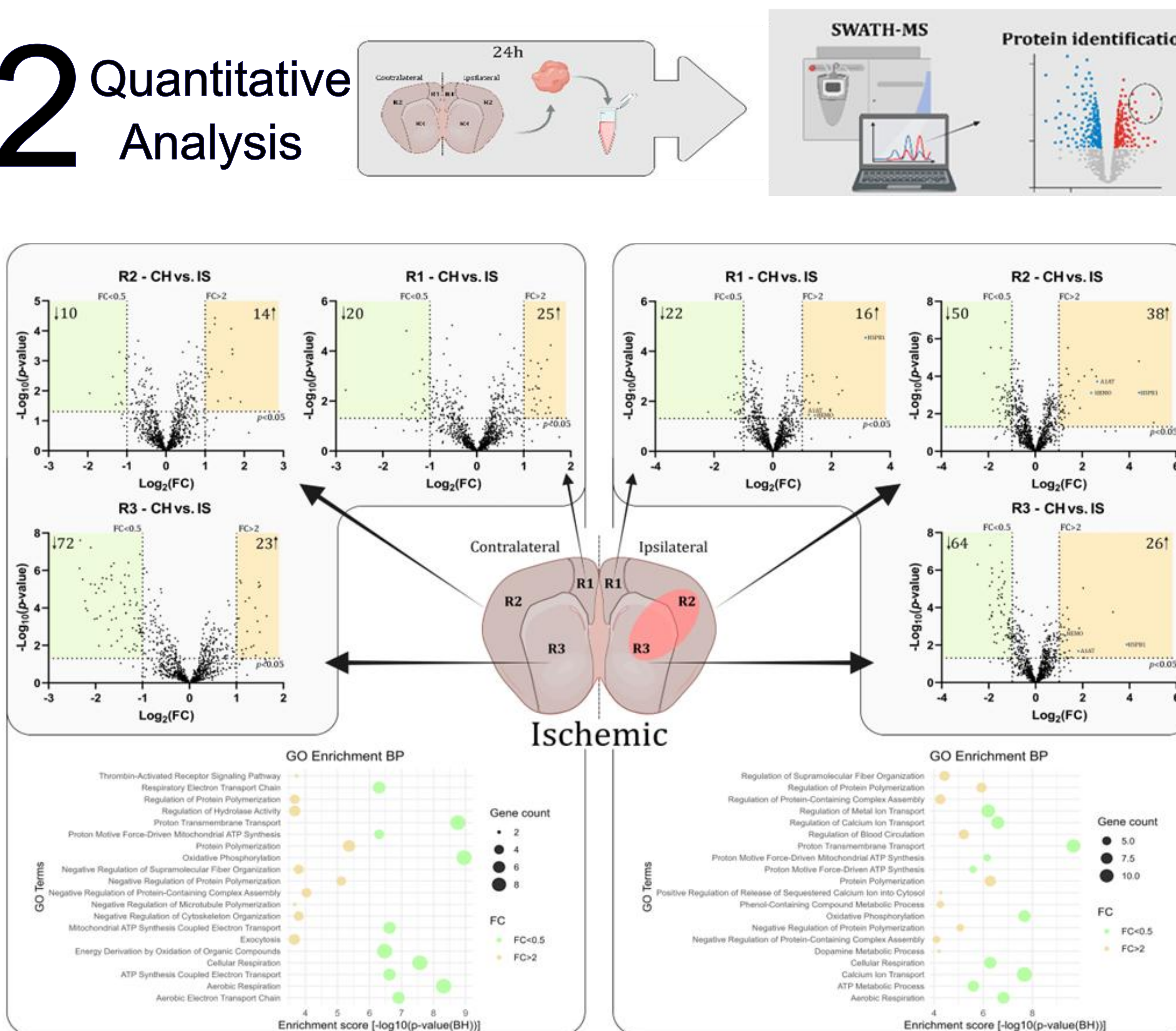
1 Qualitative Analysis



Protein name	UniProt ID	Gene Name	Spectral Count R1	Spectral Count R2	Spectral Count R3
Alpha-1-antiproteinase	P17475	A1AT	36	114	50
Hemopexin	P20059	HEMO	9	81	11
Heat shock protein beta-1	P42930	HSPB1	8	17	9

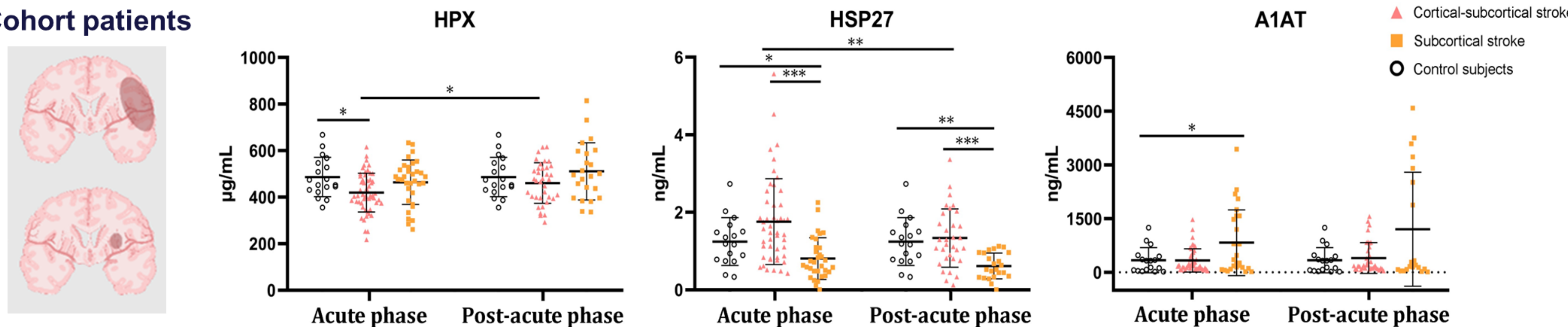
METHODS

2 Quantitative Analysis



3 Validation of HPX, HSP27 and A1AT

Cohort patients



CONCLUSION:

HPX and HSP27 emerged as candidate biomarkers reflecting infarct topography in ischemic stroke. Their consistent profiles across acute and post-acute phases support their potential for patient stratification and for guiding more personalized therapeutic strategies.

EPIGENETIC TEMPORAL PROFILE AFTER ISCHEMIC STROKE

Longitudinal DNA methylation dynamics and its relationship with immune cells changes



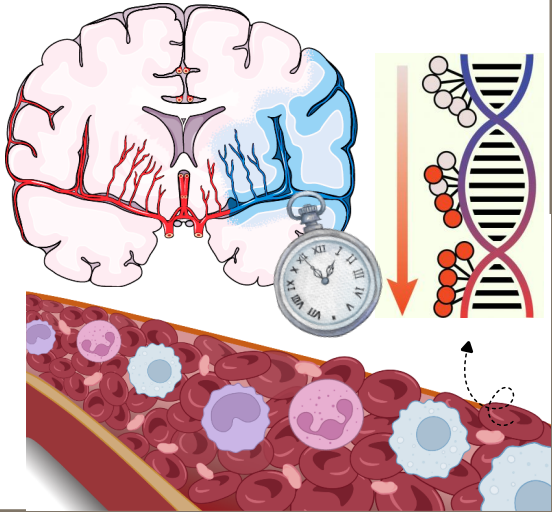
MARC ARREAZA-BAENA, MARTA VALLVERDÚ, ISABEL FERNÁNDEZ-PÉREZ, LORENA FERNÁNDEZ, JORDI JIMENEZ-CONDE, JOAN JIMÉNEZ-BALADO

INTRODUCTION

Stroke remains the second leading cause of death worldwide, with ischemic stroke (IS) accounting for approximately 85% of all cases. Although we know that epigenetic mechanisms are involved in stroke risk and prognosis¹, no study has characterized DNA methylation (DNAm) changes in the *acute-to-chronic* transition after event.

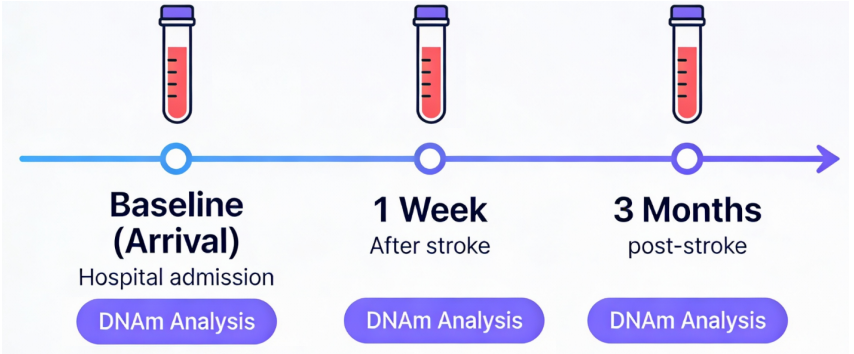
OBJECTIVE

Here, we characterize whole-blood DNAm dynamics that occur in the acute phase, decomposing epigenetic driven by changes in immune cell (IC) composition.



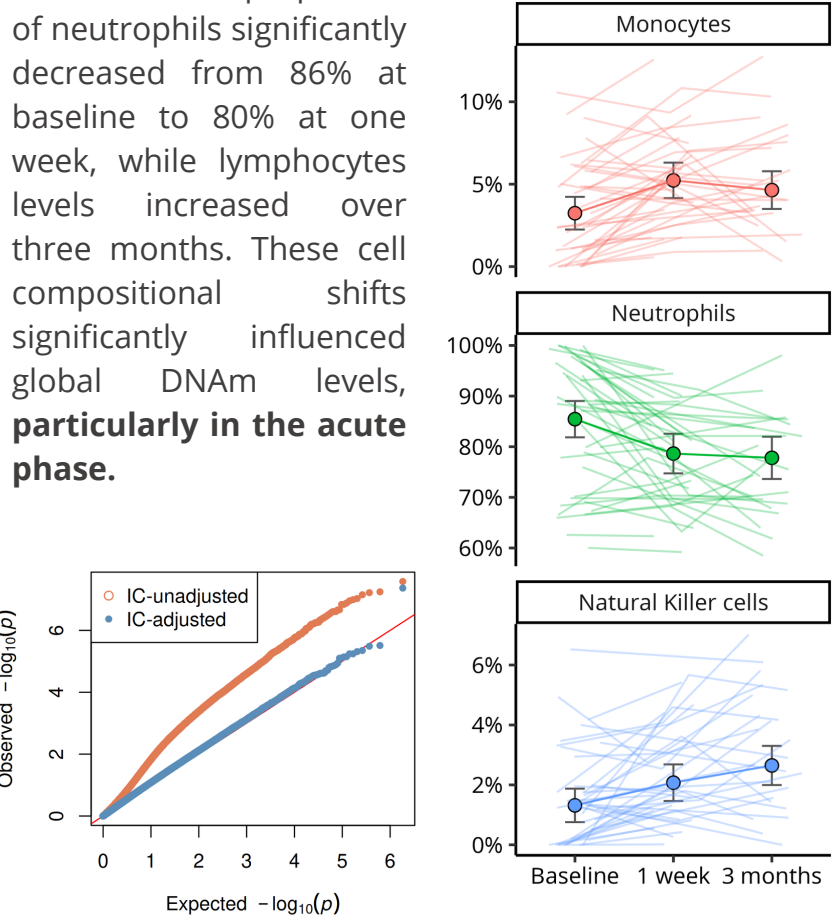
METHODOLOGY

We recruited 40 patients with IS, pre-stroke mRS <2, and NIHSS >3. Whole-blood DNAm (Illumina EPICv2; 918,999 CpGs) was assessed at <24 hours (acute), 1-week and 3-months after stroke. We evaluated changes of twelve immune cell (IC) subtypes estimated from DNAm data. *Acute-to-chronic transition* was defined as DNAm changes between acute and 3-months timepoints for each CpG. Models were adjusted for age, sex and smoking.

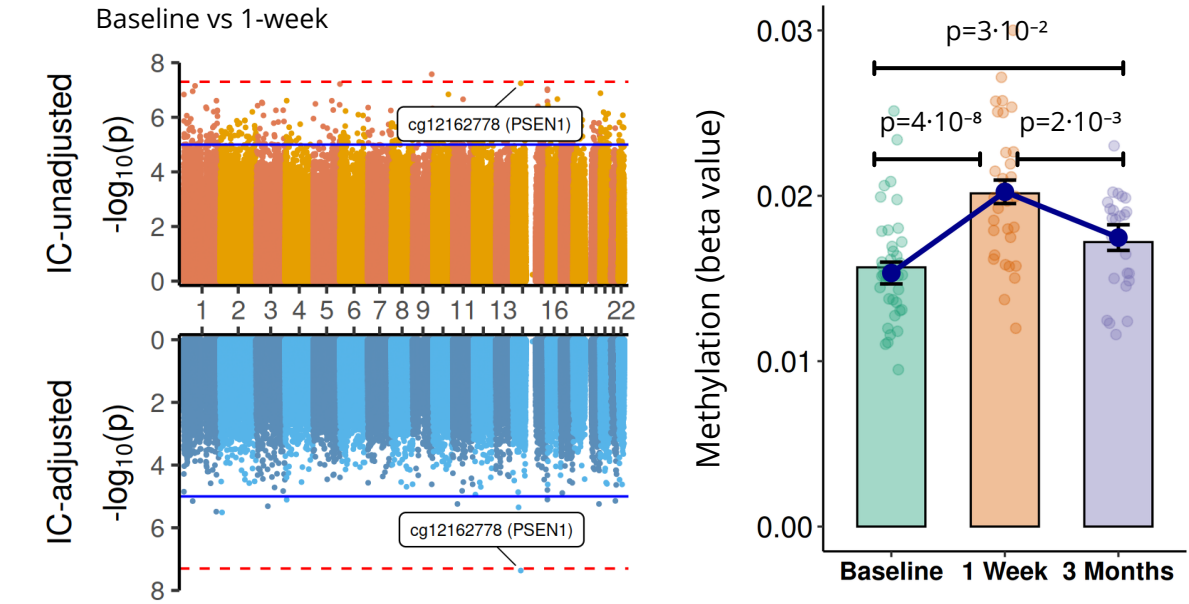


RESULTS

The estimated proportion of neutrophils significantly decreased from 86% at baseline to 80% at one week, while lymphocytes levels increased over three months. These cell compositional shifts significantly influenced global DNAm levels, **particularly in the acute phase.**



A total of **883 CpGs** showed a suggestive longitudinal change across the *acute-to-chronic* transition ($p < 5 \cdot 10^{-5}$), although most results disappeared when we adjusted for IC subtypes. One locus (cg12162778) reached at the genome-wide threshold ($p < 5 \cdot 10^{-8}$), **independently of IC composition, annotated to *PSEN1*.**



Analysis of pathways with the most suggestive CpGs showed epigenetic regulation at biological processes such as collagen formation, extracellular matrix organization, and interleukin signaling in the *acute-to-chronic* transition.

DISCUSSION

Most DNAm changes after stroke are sensible to immune cell composition², highlighting the need of cell-type adjustments in case of analyzing whole-blood DNAm changes. The *PSEN1* signal, a key gene in amyloid processing, suggests a potential epigenetic contribution on this process that may lead to post-stroke cognitive decline.

CONCLUSION

We observed a substantial change in DNAm profile between the acute phase (<24h) and 3-months after stroke. Most of these changes are explained by the changes in immune cell (IC) distribution. However, cg12162778 (*PSEN1*) showed significant IC-independent changes in DNAm levels.

1 Jiménez-Balado, J., Fernández-Pérez, I., Gallego-Fábrega, C., Lazcano, U., Soriano-Tárraga, C., Vallverdú-Prats, M., Mola-Caminal, M., Rey-Álvarez, L., Macías-Gómez, A., Suárez-Pérez, A., Giralte-Steinhauer, E., Rodríguez-Campello, A., Cuadrado-Godia, E., Ois, Á., Esteller, M., Roquer, J., Fernández-Cadenas, I., & Jiménez-Conde, J. (2024). DNA methylation and stroke prognosis: an epigenome-wide association study. *Clinical Epigenetics*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/S13148-024-01690-2>

2 Simats, A., & Liesz, A. (2022). Systemic inflammation after stroke: implications for post-stroke comorbidities. *EMBO Molecular Medicine*, 14(9). <https://doi.org/10.15252/emmm.202216269>

Senescencia periférica y cerebral en ictus y síndrome metabólico: hacia nuevos biomarcadores traslacionales

Ana Belén López-Rodríguez^{1,2}, Bruno Soto-Lumpuy¹, Laura Ávila-Pozo¹, Céline Decouty-Pérez¹, Esther Fuertes¹, María Álvarez-Rubal¹, Javier Egea¹, Inés Valencia¹

1. Fundación Investigación Biomédica Hospital Universitario de La Princesa. Hospital Universitario Santa Cristina, Instituto de Investigación Sanitaria Hospital Universitario de La Princesa, Madrid, España.
2. Servicio de Neurología. Hospital Universitario de La Princesa, Instituto de Investigación Sanitaria Hospital Universitario de La Princesa, Madrid, España.

1. CONTEXTO, HIPÓTESIS Y OBJETIVO

CONTEXTO

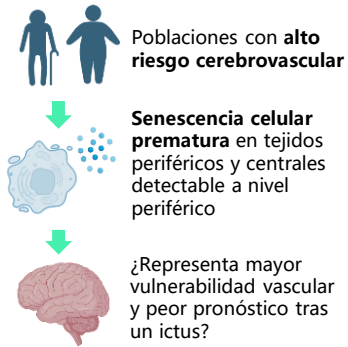
La senescencia celular emerge como mecanismo clave en la susceptibilidad y evolución del daño cerebral tras un ictus

HIPÓTESIS

La carga senescencia periférica refleja un estado cerebral vulnerable y predice el pronóstico tras el ictus

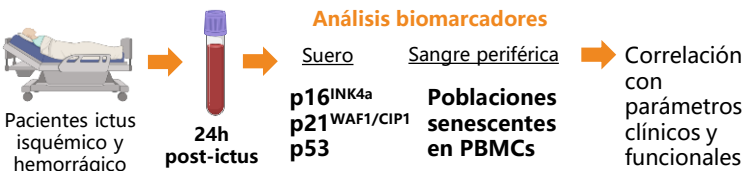
OBJETIVO

Identificar biomarcadores traslacionales de senescencia celular en pacientes y validar su equivalencia cerebral en modelos animales

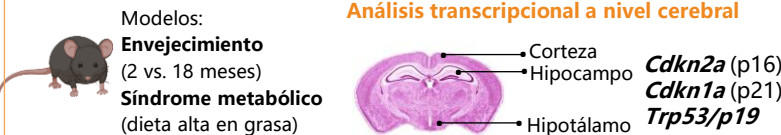


2. DISEÑO DEL ESTUDIO

ESTUDIO EN PACIENTES



ESTUDIO EN MODELOS ANIMALES



1 Senescencia sistémica cuantificable en sangre

Controles
n=7
Edad: 33,7±7,5
Sexo (M/H): 7/2

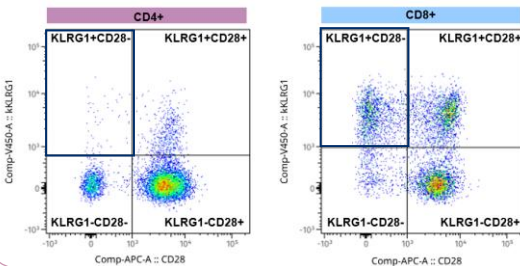
Pacientes Ictus
n=10-30
Edad: 75,2±8,6
Sexo (M/H): 13/17

Escala mRS
Modified Rankin Scale

- 0 Sin síntomas
- 1 Sin discapacidad significativa
- 2 Discapacidad leve
- 3 Discapacidad moderada
- 4 Discapacidad moderadamente grave
- 5 Discapacidad grave
- 6 Fallecimiento

(A-C) Concentración sérica de marcadores de senescencia determinada por ELISA. *p < 0.05 vs. control por t-test o Mann-Whitney test. Los pacientes se clasificaron de acuerdo con parámetros clínicos y funcionales, observándose una tendencia al aumento de los niveles de (D) p16^{INK4a} y (E) p53 en función de la puntuación en la escala mRS al alta. *p < 0.05 vs. control por One-Way ANOVA.

2 Inmunosenescencia: detección de linfocitos T CD28-KLRG1+

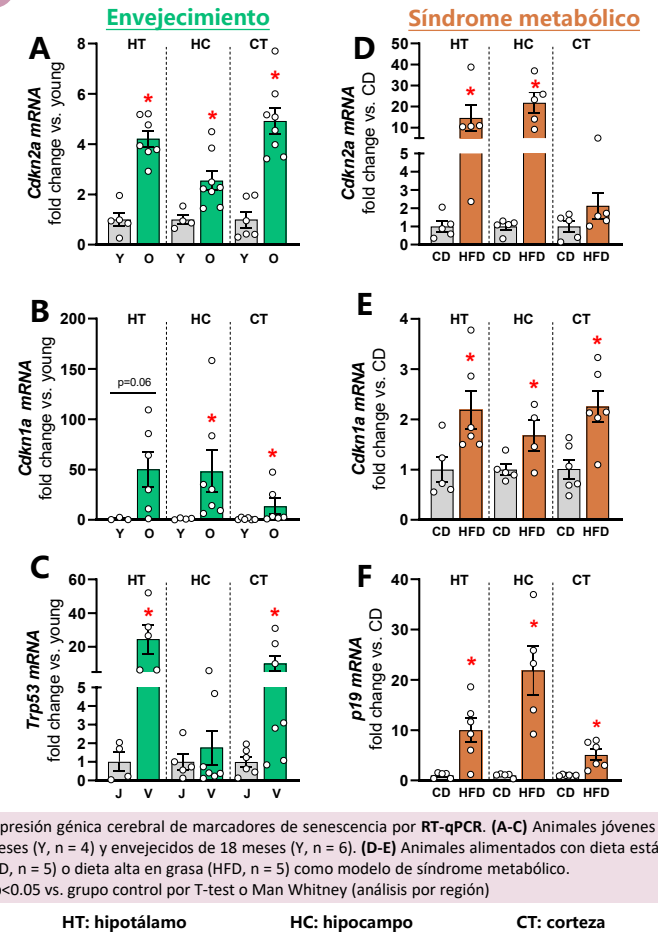


Identificación por citometría de flujo de linfocitos T (CD45+CD19-CD3+CD4+/CD8+) CD28⁺KLRG1⁺ Gating representativo en subpoblaciones CD4⁺ y CD8⁺ en un sujeto control de 50 años.

Perspectiva futura

3. RESULTADOS

3 Senescencia cerebral en modelos animales



La senescencia sistémica se asocia con el pronóstico funcional temprano post-ictus y muestra una firma molecular coherente con la observada en modelos animales de alto riesgo cerebrovascular

Estos biomarcadores emergen como potenciales herramientas pronósticas y refuerzan la relación funcional entre la senescencia celular y la vulnerabilidad cerebrovascular

TEMPORAL PROFILE OF SOLUBLE TLR4 AND ITS ASSOCIATION WITH HAEMATOMA EXPANSION IN INTRACEREBRAL HAEMORRHAGE

Maria Lucas-Parra¹ , Carme Gubern-Mérida¹ , Laia Carballo-Perich¹ , Sofia Dávila² , Alan Murillo³ , Víctor Vera-Monge³ , Juan Alvarez-Cienfuegos^{1, 3} , Tomàs Xuclà-Ferrarons^{1, 3} , Mikel Terceño^{1, 3} , Yolanda Silva^{1, 3}

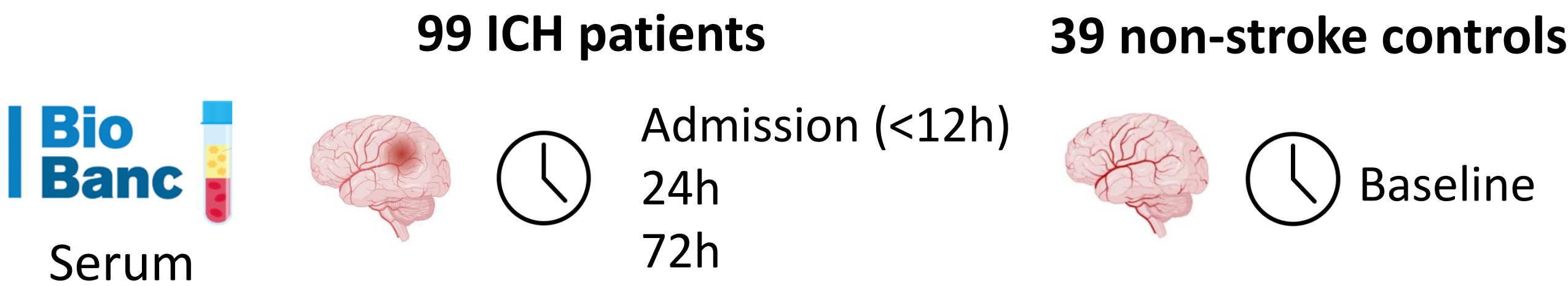
¹ Institut d'Investigació Biomèdica de Girona (IDIBGI), Cerebrovascular Pathology group, Salt, Spain; ² Medical student at the University of Girona (UdG), Girona, Spain; ³ Hospital Universitari Dr. Josep Trueta, Stroke Unit, Girona, Spain

BACKGROUND AND AIMS

Inflammation contributes to haematoma expansion (HE) and poor prognosis in spontaneous intracerebral haemorrhage (ICH). This study aimed to characterise the temporal profile of soluble Toll-like receptor 4 (sTLR4) during the hyperacute and acute phases of ICH and evaluate its association with HE.

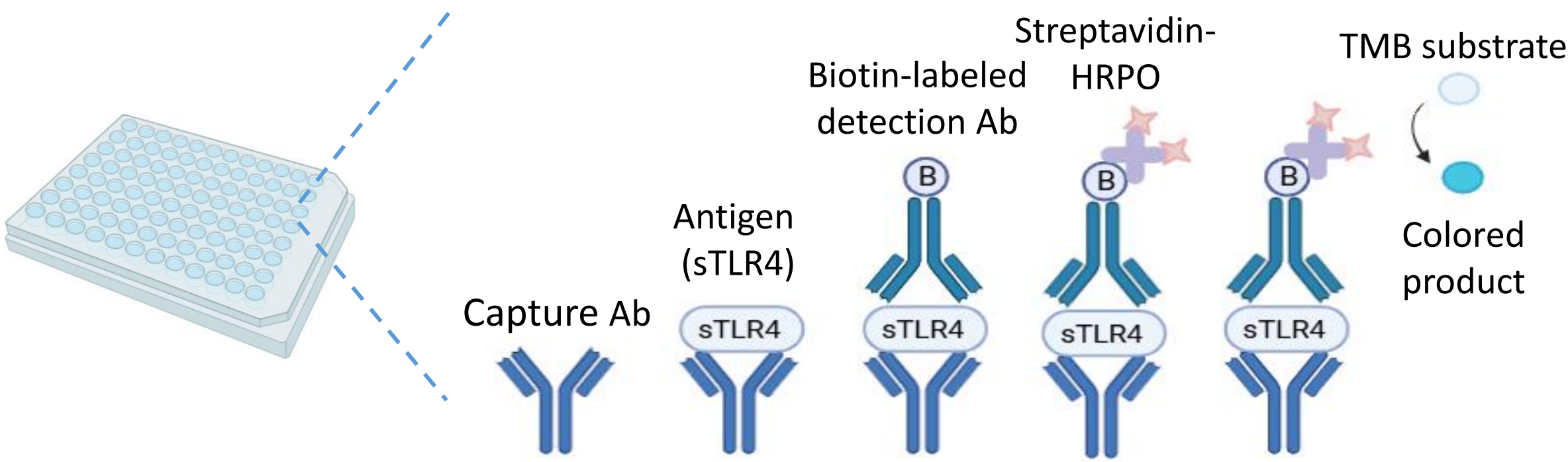
METHODS

Sample and data collection of ICH patients and non-stroke controls



Haematoma expansion (HE): absolute growth of $\geq 33\%$ and/or ≥ 6 mL over initial volume during first 24 hours

sTLR4 analysis (ELISA Sandwich)



Statistical analysis

sTLR4 levels in ICH patients and controls: U-Mann Whitney test

Independent prognosticators of HE: binary multivariable logistic regression

Longitudinal changes in sTLR4: linear mixed-effects models

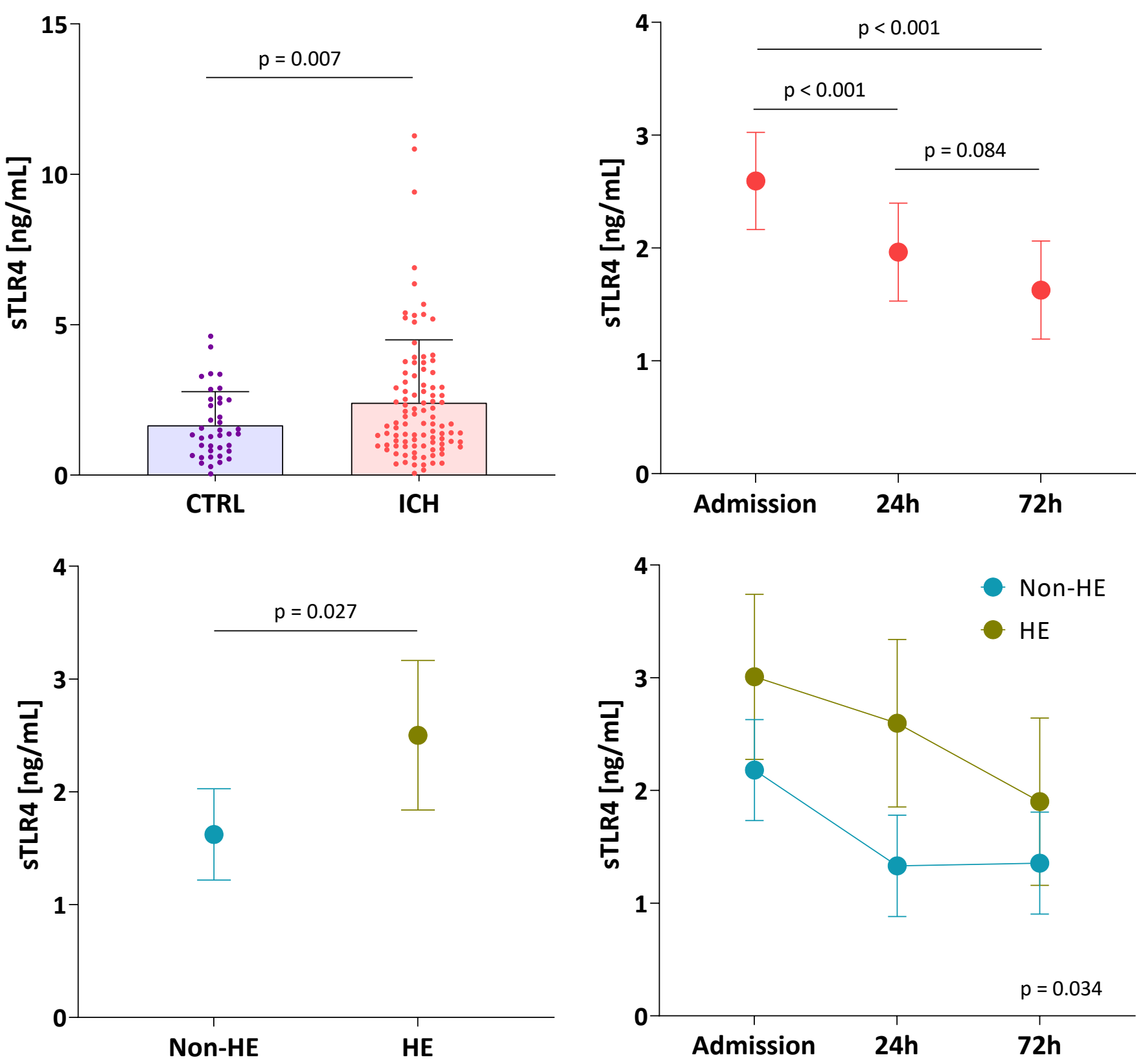
Prognostic performance of the defined model: ROC curve analysis. PPV and NPV based on a prevalence of HE 25%

RESULTS

Cohort baseline characteristics

	Non-HE (n=72)	HE (n=27)	p-value
Age, years	68.4 ± 13.2	73.3 ± 11.8	0.094
Female sex	25 (34.7)	13 (48.1)	0.251
Hypertension	60 (83.3)	17 (63.0)	0.055
Diabetes mellitus	18 (25.0)	3 (11.1)	0.172
Dyslipidaemia	27 (37.5)	7 (25.9)	0.346
Current smoking	15 (21.7)	4 (14.8)	0.574
Current drinking	19 (27.5)	8 (29.6)	1.000
BP at admission			
Systolic, mmHg	171.0 [150.0 - 190.0]	165.0 [147.5 - 183.8]	0.466
Diastolic, mmHg	90.0 [71.5 - 104.5]	86.0 [78.8 - 97.3]	0.844
Antiplatelet treatment	16 (22.2)	6 (22.2)	1.000
Anticoagulant treatment	12 (16.7)	3 (11.1)	0.754
NIHSS at admission	8.0 [5.0 - 16.0]	19.0 [7.0 - 21.0]	0.004
Onset time to CT, hours	2.3 [1.8 - 4.0]	2.0 [1.7 - 5.5]	0.680
ICH volume, mL	5.9 [2.3 - 13.2]	27.0 [13.3 - 43.8]	< 0.001
Intraventricular haemorrhage	13 (18.1)	9 (33.3)	0.113
Lobar ICH location	12 (16.7)	9 (33.3)	0.097
Spot sign	9 (12.5)	10 (37.0)	0.010
Early neurological deterioration	8 (11.1)	5 (18.5)	0.334

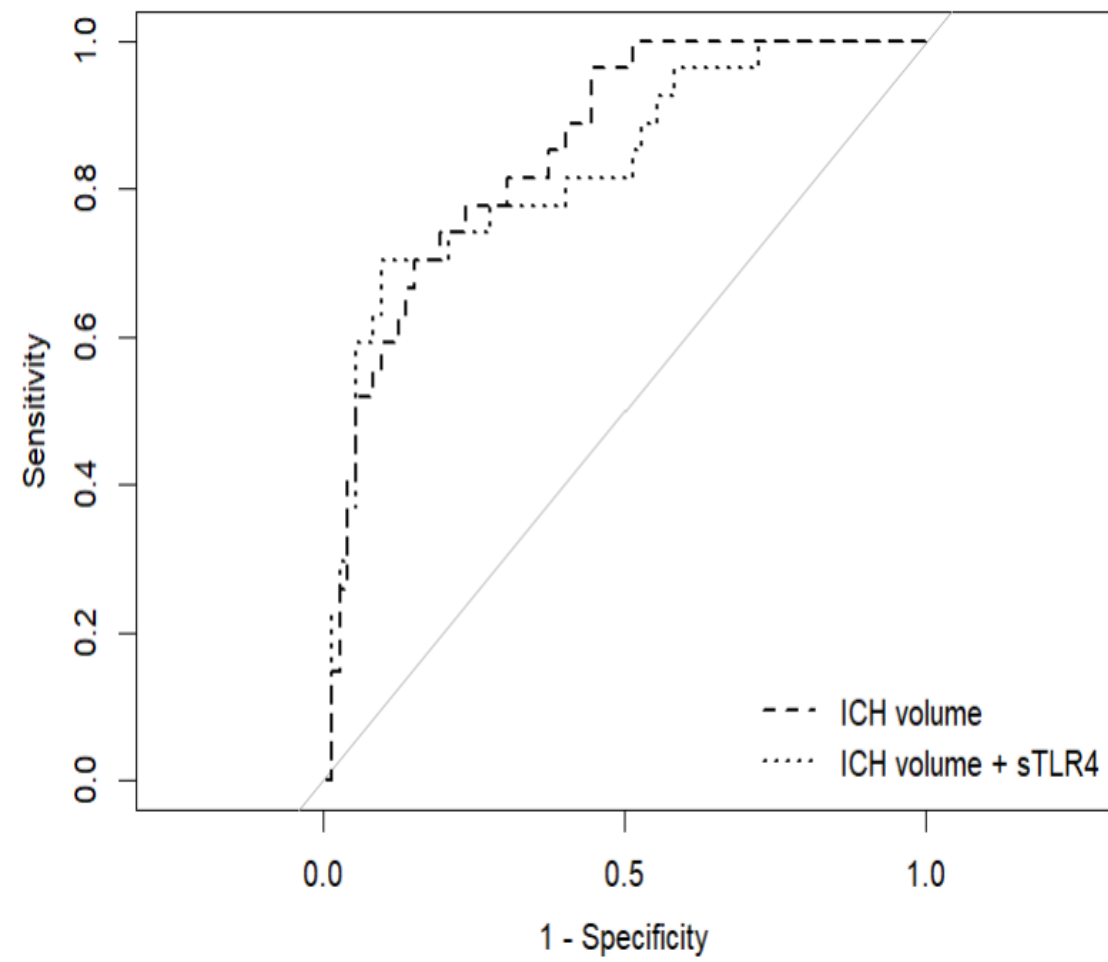
Temporal profile of sTLR4



Association of sTLR4 concentration at admission and HE

Variables	Univariable analysis			Multivariable analysis		
	OR	95% CI	p-value	OR	95% CI	p-value
Age, years	1.032	0.994 - 1.071	0.097	-		
Female sex	1.746	0.712 - 4.282	0.224			
Hypertension	0.340	0.125 - 0.922	0.034			
Diabetes mellitus	0.375	0.101 - 1.395	0.143			
Dyslipidaemia	0.583	0.218 - 1.561	0.283			
Current smoking	0.626	0.187 - 2.091	0.447			
Current drinking	1.108	0.146 - 2.954	0.838			
BP at admission						
Systolic, mmHg	0.996	0.979 - 1.012	0.591			
Diastolic, mmHg	1.001	0.978 - 1.024	0.949			
Antiplatelet treatment	1.000	0.345 - 2.898	1.000			
Anticoagulant treatment	0.625	0.162 - 2.413	0.495			
NIHSS at admission	1.108	1.036 - 1.185	0.003			
Onset time to CT, hours	1.033	0.878 - 1.215	0.695			
ICH volume, mL	1.073	1.037 - 1.111	< 0.001	1.073 ^a 1.073 ^b	1.037 - 1.111 1.035 - 1.111	< 0.001 < 0.001
Intraventricular haemorrhage	2.269	0.834 - 6.171	0.108			
Lobar ICH location	2.500	0.909 - 6.879	0.076			
Spot sign	4.118	1.444 - 11.741	0.008			
Early neurologic deterioration	1.818	0.538 - 6.145	0.336			
sTLR4 at admission, ng/mL	1.192	0.972 - 1.461	0.092	1.164 ^b	0.928 - 1.460	0.189

^a Variables retained in the last step of the backward conditional model. ^b Variables retained in the penultimate step of the backward conditional model.



	AUC	95% CI	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)
Baseline ICH volume	0.852	0.775 - 0.930	70.4	84.7	60.5	89.6
Baseline ICH volume + sTLR4 levels	0.829	0.734 - 0.923	70.4	90.3	70.8	90.1

CONCLUSIONS

These findings suggest a potential role of TLR4 in HE development and highlight it as a potential target for future therapeutic investigation. In addition, baseline sTLR4 levels may help in identifying ICH patients at higher and lower risk of developing HE.