

Neuroimagem e Biomarcadores no Prognóstico Funcional de Doentes com Acidente Vascular Cerebral



Neuroimaging and Blood Biomarkers in Functional Prognosis after Stroke

João Paulo BRANCO¹, Joana Santos COSTA², João SARGENTO-FREITAS³, Sandra OLIVEIRA², Bruno MENDES¹, Jorge LAÍNS¹, João PINHEIRO²

Acta Med Port 2016 Nov;29(11):749-754 • <http://dx.doi.org/10.20344/amp.7411>

RESUMO

Introdução: O acidente vascular cerebral é uma das principais causas de mortalidade e morbilidade em todo o mundo, associando-se a considerável incapacidade funcional. Atualmente sabe-se que tanto técnicas de neuroimagem como determinados biomarcadores fornecem informações úteis acerca da etiologia, decisão terapêutica, *follow-up* e prognóstico em doentes com acidente vascular cerebral isquémico. Assiste-se, porém, a um interesse particular na previsão do prognóstico vital em detrimento do prognóstico funcional. Antecipar o prognóstico funcional permitiria definir um programa de reabilitação adequado, objetivo e individualizado, com uma alocação de recursos mais eficiente. O presente trabalho tem como objetivo rever o conhecimento atual acerca do papel da neuroimagem e dos biomarcadores sanguíneos em fase aguda na previsão da recuperação funcional dos doentes que sobrevivem a um acidente vascular cerebral isquémico.

Material e Métodos: Revisão da literatura publicada entre 2005 e 2015, em língua inglesa, utilizando os termos “ischemic stroke”, “neuroimaging” e “blood biomarkers”.

Resultados: Foram selecionados nove artigos com base na leitura dos resumos.

Discussão: Técnicas de neuroimagem como a tomografia computadorizada, a ecografia *doppler* transcraniana, a angiografia cerebral e a imagem de difusão por ressonância magnética apresentam potencial preditivo do prognóstico funcional do acidente vascular cerebral, nomeadamente através da avaliação do fluxo sanguíneo e do volume e localização da lesão, sobretudo quando usados em associação com a *National Institutes of Health Stroke Scale*. Vários biomarcadores têm sido estudados como potenciais marcadores de diagnóstico, estratificação de risco e previsão de prognóstico no acidente vascular cerebral, em particular a S100 *calcium binding protein B*, a proteína C-reativa, as metaloproteinases de matriz e o peptídeo natriurético cerebral.

Conclusão: Apesar de alguns biomarcadores e técnicas de neuroimagem revelarem capacidade preditiva, nenhum dos estudos com estas metodologias, isoladamente ou em associação, é capaz de sustentar a validação de um potencial modelo clínico preditivo de funcionalidade, revelando-se assim insuficientes na determinação precisa, nas primeiras horas após o acidente vascular cerebral, do prognóstico funcional aos três meses. Considera-se que são necessários mais estudos nesta área para o seu esclarecimento.

Palavras-chave: Acidente Vascular Cerebral; Biomarcadores/sangue; Neuroimagem; Prognóstico; Recuperação Funcional.

ABSTRACT

Introduction: Stroke remains one of the leading causes of morbidity and mortality around the world and it is associated with an important long-term functional disability. Some neuroimaging resources and certain peripheral blood or cerebrospinal fluid proteins can give important information about etiology, therapeutic approach, follow-up and functional prognosis in acute ischemic stroke patients. However, among the scientific community, there is currently more interest in the stroke vital prognosis over the functional prognosis. Predicting the functional prognosis during acute phase would allow more objective rehabilitation programs and better management of the available resources. The aim of this work is to review the potential role of acute phase neuroimaging and blood biomarkers as functional recovery predictors after ischemic stroke.

Material and Methods: Review of the literature published between 2005 and 2015, in English, using the terms “ischemic stroke”, “neuroimaging” e “blood biomarkers”.

Results: We included nine studies, based on abstract reading.

Discussion: Computerized tomography, transcranial doppler ultrasound and diffuse magnetic resonance imaging show potential predictive value, based on the blood flow study and the evaluation of stroke’s volume and localization, especially when combined with the National Institutes of Health Stroke Scale. Several biomarkers have been studied as diagnostic, risk stratification and prognostic tools, namely the S100 calcium binding protein B, C-reactive protein, matrix metalloproteinases and cerebral natriuretic peptide.

Conclusion: Although some biomarkers and neuroimaging techniques have potential predictive value, none of the studies were able to support its use, alone or in association, as a clinically useful functionality predictor model. All the evaluated markers were considered insufficient to predict functional prognosis at three months, when applied in the first hours after stroke. Additional studies are necessary to identify reliable predictive markers for functional prognosis after ischemic stroke.

Keyword: Biomarkers/blood; Neuroimaging; Prognosis; Recovery of Function; Stroke.

INTRODUÇÃO

O acidente vascular cerebral (AVC) continua a ser uma patologia associada a elevada morbilidade e mortalidade.

A maioria é de natureza isquémica e ocorre principalmente

em indivíduos com idade superior a 65 anos, sendo a aterosclerose a causa mais frequente.

Atualmente a lesão vascular cerebral é considerada

1. Serviço de Medicina Física e de Reabilitação. Centro de Medicina de Reabilitação da Região Centro – Rovisco Pais. Tocha. Portugal.

2. Serviço de Medicina Física e de Reabilitação. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Coimbra. Portugal.

3. Serviço de Neurologia. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Coimbra. Portugal.

✉ Autor correspondente: João Paulo Branco. joaobrancofmc@hotmail.com

Recebido: 18 de janeiro de 2016 - Aceite: 08 de agosto de 2016 | Copyright © Ordem dos Médicos 2016



uma das principais causas de incapacidade funcional em todo o mundo.¹ A neuroplasticidade é superior nas primeiras 12 semanas após a lesão isquêmica, o que confere uma janela relativamente estreita de atuação para a recuperação do doente.² Aproximadamente 70% dos doentes que sobrevivem a um AVC apresentam, na fase aguda, uma hemiparésia de predomínio braquial,³ 20% destes doentes exigem cuidados institucionais durante os primeiros três meses após a lesão e 15% a 30% sofrem de incapacidade permanente.⁴

O prognóstico funcional em doentes com AVC é um tema de elevado interesse para clínicos e investigadores. O diagnóstico precoce e a identificação da etiologia são de crucial importância na previsão da recuperação dos múltiplos défices.⁵ Antecipar o prognóstico funcional durante a fase aguda permitiria definir um programa de reabilitação adequado, objetivo, individualizado com uma alocação de recursos mais eficiente.

Os atuais modelos de classificação, baseados na etiologia do AVC, revelam-se insuficientes na previsão do prognóstico funcional.⁴ A fiabilidade destes modelos poderá ser melhorada com recurso a biomarcadores sanguíneos (inflamação, hemostase, lesão neuronal ou glial e disfunção cardíaca) e a exames neuroimagiológicos.⁶ O grande desafio da investigação atual é definir um modelo reproduzível, sensível e exequível, preditor da funcionalidade do doente.

O presente trabalho tem como objetivo avaliar o potencial da neuroimagem e dos biomarcadores sanguíneos em fase aguda na previsão da recuperação funcional dos doentes que sobrevivem a um AVC isquémico.

MATERIAL E MÉTODOS

Os autores efetuaram uma revisão global da literatura com o objetivo de perceber qual o contributo da neuroimagem e dos biomarcadores no prognóstico funcional de doentes vítimas de AVC. A revisão foi complementada por uma pesquisa da literatura publicada entre os anos de 2005 - 2015, em língua inglesa, com recurso à PubMed, utilizando os seguintes termos “ischemic stroke”, “neuroimaging” e “blood biomarkers” e os filtros “10 years”, “human species”, “english language” e “adult: 19+ years”.

RESULTADOS

Da pesquisa efetuada resultaram 43 artigos. Após leitura do resumo por dois autores foram selecionados nove artigos com relevância para o presente trabalho. Os critérios de escolha assentaram fundamentalmente na metodologia envolvendo conteúdos como AVC isquémico, estudo de proteínas no sangue periférico e/ou neuroimagem como fator de diagnóstico e/ou prognóstico pós AVC. Estudos cuja amostra incluisse outra patologia neurológica ou comorbidade foram excluídos. Foi elaborada uma tabela resumo com as principais características dos nove estudos selecionados (Tabela 1).

DISCUSSÃO

Prognóstico e neuroimagem

A avaliação da imagem do parênquima cerebral em doentes com AVC é um tema de elevado interesse clínico, sendo a sua interpretação emergente e decisiva na intervenção clínica.

A tomografia computadorizada (TC) é atualmente o exame imagiológico mais usado em contexto de urgência na avaliação destes doentes durante a fase aguda. Segundo o *National Institute of Neurological Disorders and Stroke* (NINDS), a TC, usada como uma ferramenta de rastreio para exclusão de hemorragia intracraniana antes da administração do *recombinant tissue plasminogen activator (rt-PA)*, é o único instrumento eficaz na avaliação dos doentes submetidos a fibrinólise até três horas após o início dos sintomas.⁷ Este estudo foi suportado pela quantificação do *score ASPECTS (Alberta Stroke Program Early CT Score)*, baseado na avaliação da topografia da lesão cerebral. O *score ASPECTS* é obtido dividindo o território da artéria cerebral média (ACM) em 10 regiões de interesse, (M1-M6, I = ínsula, IC = cápsula interna, L = lenticular, e C = cauda). As áreas do território da ACM são assim ponderadas com base na importância funcional em detrimento da extensão da lesão. Uma pontuação de 10, pontuação máxima, é compatível com ausência de lesão visível no território da ACM. Trata-se um instrumento de avaliação do risco de transformação hemorrágica após fibrinólise, um potencial preditor de previsão da recuperação funcional⁸ e apresenta correlação inversa com a gravidade do acidente vascular cerebral avaliada pela escala NIHSS (*National Institutes of Health Stroke Scale*).

A ecografia *doppler* transcraniana (EDT) é um meio complementar de imagem com grande interesse e potencial, sendo um método não invasivo, economicamente rentável, portátil e seguro, que permite a avaliação do fluxo sanguíneo intracerebral. Em oclusões da ACM apresenta alta sensibilidade, especificidade e valor preditivo positivo em estudos de comparação com a angiografia; é uma ferramenta importante para detetar oclusões vasculares intracranianas, bem como monitorizar o tratamento trombolítico através da existência ou não de recanalização cerebral.⁹

A angiografia cerebral convencional é de todos os exames de imagem o mais específico e sensível, permitindo visualizar oclusões agudas da ACM nas primeiras seis horas, bem como a existência ou não de recanalização do fluxo sanguíneo. Permite uma excelente visualização da anatomia do vaso, da sua localização, extensão e grau de estenose, bem como da existência de circulação colateral. No entanto, o seu crescimento exponencial recente relaciona-se essencialmente com a sua aplicação terapêutica. Efetivamente, o tratamento endovascular para oclusões agudas de grande vaso intracraniano encontra-se já recomendado por todas as sociedades científicas internacionais.^{10,11} Trata-se contudo de uma técnica invasiva e como tal não é usada para triagem.

Estudos referem que a recanalização espontânea ocorre maioritariamente nas primeiras 48 horas e, em 86% dos casos, ao fim de duas semanas. Esta avaliação hemodinâmica do fluxo sanguíneo arterial pode ser avaliada pela

Tabela 1 – Resumo das principais características dos nove estudos selecionados para a elaboração deste artigo de revisão

Autor (ano)	Patologia estudo	Tipo de estudo	Amostra	Objetivo	Biomarcador	Exame de imagem
Wada M (2008) ²³	AVC	Transversal	604 idosos da população geral	Determinar a relação entre a PCR, função cognitiva e a doença cerebral de pequenos vasos.	PCR	RM
Undén J (2009) ²⁰	AVC	Prospetivo multicêntrico	97 doentes (83 AVC isquémico; 14 AVC hemorrágico)	Avaliar a utilização clínica de vários potenciais biomarcadores cerebrais como diferenciadores de AVC isquémico e AVC hemorrágico na fase aguda.	S100B, EEN, PAFG, PCA-IPC	TC
Scarcello E (2011) ²⁵	AVC	Prospetivo	100 doentes (76 pós <i>stenting</i> artéria carotídea; 24 pós endarterectomia carotídea)	Avaliar a proteína S100B como possível marcador de lesão isquémica após tratamento de estenose carotídea.	S100B	DRM ou TC
Youn CS (2012) ²⁴	AVC	Transversal	96 doentes com AVC isquémico agudo	Avaliar a relação dos fatores inflamatórios com a severidade do AVC através da avaliação volumétrica da região enfartada.	PCR	DRM
Shimizu K (2013) ¹⁷	AVC	Prospetivo	48 doentes com AVC isquémico agudo	Estudar a relação entre os níveis de vários biomarcadores após AVC e futura aterosclerose de grandes vasos cranianos.	PCR, IL-6, IL-18, FNT- α , MMP-2, MMP-9	Angiografia por RM
Montaner J (2012) ²⁸	AVC	Transversal	915 doentes (776 AVC isquémico, 139 AVC hemorrágico)	Estudar o valor preditivo de vários marcadores sanguíneos na diferenciação entre AVC isquémico e AVC hemorrágico.	PCR, D-dímeros, sRPGA, MMP9, S100B, BNP, NT-3, caspase-3, <i>chimerin-II</i> , <i>secretagogin</i> , <i>cerebellin</i> , NPY	TC
Montaner J (2012) ²²	AVC	Prospetivo	896 doentes com AVC	Estudar a relação entre os níveis de BNP no plasma e alterações neurológicas / morte após AVC (isquémico e hemorrágico).	BNP	-
Tu WJ (2013) ³¹	AVC	Prospetivo	189 doentes com AVC isquémico	Avaliar vários biomarcadores como fatores preditivos do prognóstico e mortalidade após AVC isquémico.	PNC, NT-pro-PNC, cortisol, coceptina	-
Koga M (2013) ³⁰	AVC	Retrospectivo	70 doentes com AVC isquémico tratados com rt-PA	Estudar os fatores associados ao insucesso da recanalização precoce após terapia intravenosa com rt-PA.	PCR, HDL	Angiografia por RM

S100B: S100 *calcium-binding protein* B; EEN: Enolase específica neuronal; PAFG: Proteína ácida fibrilar glial; PCA-IPC: Proteína C ativada – inibidor do complexo proteína C; PCR: Proteína C reativa; IL- 6: Interleucina-6; IL-8: Interleucina-8; FNT- α : Fator de necrose tumoral α ; MMP-2: Metaloproteinases de matriz 2; MMP-9: Metaloproteinases de matriz 9; sRPGA: Solúvel recetor dos produtos finais de glicosilação avançada; BNP: *Brain natriuretic peptide*; NT3: Neurotrofina 3; NPY: Neuropeptídeo Y; NT-pro-PNC: N-terminal peptídeo natriurético cerebral; rt-PA: Ativador do plasminogénio tecidual recombinante; HDL: Lipoproteína de alta intensidade; DRM: Difusão por ressonância magnética; TC: Tomografia computadorizada; RM: Ressonância magnética.

EDT, angio-TC ou angiografia tendo-se revelado como um importante preditor de bom resultado no AVC agudo.^{12,13} No entanto, a recanalização espontânea tardia não tem habitualmente impacto clínico, tendo obrigado ao desenvolvimento de estratégias terapêuticas para recanalização em fase hiperaguda, inicialmente por fibrinólise endovenosa e, mais recentemente, por via endovascular.

A imagem de difusão por ressonância magnética (DRM) representa um avanço tecnológico na área da neuroimagem, sendo um exame não invasivo que permite avaliar a difusão das moléculas de água no tecido cerebral. Está principalmente indicada na avaliação e no diagnóstico de lesões cerebrais agudas em doentes sintomáticos onde a TC e ressonância magnética (RM) ponderada em T2/FLAIR (*fluid-attenuated inversion recovery*) não evidenciam alterações. Apresenta uma taxa de deteção de lesões isquémicas superior a 95% e tem sido demonstrada a sua alta precisão para delinear danos tecidulares irreversíveis nas primeiras horas após o início da lesão. A componente clínica (duração dos sintomas, alterações da capacidade de comunicação, capacidade motora e etiologia), parece estar diretamente correlacionada com o grau de alterações tecidulares cerebrais identificadas na DRM.¹⁴ A DRM fornece, assim, informações clinicamente úteis no diagnóstico, etiologia, decisão terapêutica, prevenção, *follow-up* e no prognóstico funcional dos doentes após lesão cerebral aguda.¹⁵

Alterações cerebrais encontradas na RM convencional em doentes com lesão encefálica não apresentam valor preditivo robusto a longo prazo no prognóstico funcional do doente pós AVC.¹⁶

A avaliação imagiológica do volume da lesão mostrou correlação com o prognóstico funcional dos doentes.¹⁷ Assim, verificou-se que a neuroimagem, em combinação com a NIHSS, apresenta maior sensibilidade na previsão da capacidade funcional em atividades de vida diária aos três meses após o AVC do que a NIHSS isoladamente.

Prognóstico e marcadores biológicos

O termo “biomarcador” tem sido comumente usado para avaliação da função biológica desde há aproximadamente 25 anos (a primeira referência identificada na Medline reporta-nos a 1977), e o seu uso disseminou-se na última década. A National Institutes of Health define biomarcador como uma característica biológica que é objetivamente medida e avaliada como um indicador de processos biológicos normais, processos patogénicos ou respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica.¹⁸

Embora possa ser uma medida clínica ou imagiológica, o termo “biomarcador” é mais usado para moléculas encontradas nos fluidos corporais.¹⁹ O seu doseamento deverá ser eficaz, específico e sensível à patologia em estudo.

Os biomarcadores podem ser classificados de acordo com a aplicação clínica pretendida. No AVC o seu doseamento auxilia no diagnóstico permitindo determinar a sua etiologia,²⁰ extrapolar o grau de deterioração neurológica precoce²¹ e identificar os doentes que beneficiariam com intervenções específicas, incluindo hemicraniectomia des-

compressiva e recanalização arterial. Tem-se verificado um interesse crescente por parte da comunidade científica no uso dos biomarcadores na avaliação do prognóstico vital em detrimento do prognóstico funcional.²²

A recanalização do fluxo sanguíneo arterial é um importante preditor de bom resultado no AVC agudo.¹² Até à data, não foi identificado qualquer biomarcador diretamente relacionado com a penumbra isquémica no homem; no entanto verificou-se que a concentração de glicose nestes tecidos é superior à de glutamato, sendo esta correlação inversa no tecido cerebral saudável.²¹

No AVC isquémico, cuja etiologia apresenta grande heterogeneidade, o principal objetivo consiste na procura de uma proteína seletiva correlacionada com a fisiopatologia do evento.²³ A falta de especificidade, a impermeabilidade da barreira hemato-encefálica (BHE) e o difícil doseamento no sangue periférico manifestam-se como condicionantes para essa identificação.

Têm sido desenvolvidos métodos para identificação de potenciais biomarcadores no sangue periférico assentando não só na procura de proteínas bem como em ácidos ribonucleicos específicos. Áreas como a proteómica e a genómica têm oferecido um importante potencial na identificação de moléculas cada vez mais sensíveis e específicas para uso clínico.

São identificados como biomarcadores de AVC moléculas envolvidas na hemostase aguda, como o fibrinogénio, os D-dímeros e o fator de Von Willebrand, e proteínas envolvidas na inflamação e na resposta imunitária, incluindo a proteína C-reativa (PCR), a interleucina-6 (IL-6), o fator de necrose tumoral α (FNT- α), a molécula de adesão da célula vascular 1 (VCAM 1), a molécula de adesão intercelular 1 (ICAM 1), anticorpos do recetor de N-metil-D-aspartato (NMDA) e metaloproteinases de matriz (MMPs).²⁴

Entre os biomarcadores de AVC mais estudados, destacam-se a *S100 calcium binding protein B* (S100B), a enolase neuroespecífica (NSE), a proteína básica de mielina (MBP) e a proteína glial fibrilar ácida (GFAP). As MMPs estão envolvidas na destruição da integridade microvascular através da degradação da lâmina basal e matriz extracelular.

A proteína S100B é encontrada em altas concentrações nas células da glia e de Schwann. Vários estudos reportam um aumento significativo desta proteína no LCR (aproximadamente 40 vezes superior à do sangue periférico) logo após o AVC.^{4,25} No sangue periférico, aumenta aproximadamente 12 horas após a lesão com um pico entre o segundo e terceiro dias e tem um tempo de semivida de duas horas.²⁶ Um estudo mostrou alterações da permeabilidade da BHE quando o conteúdo da proteína S100B excede 0,027 ng/mL.²⁷

Em doentes com níveis de concentração de glutamato superiores a 200 $\mu\text{mol/l}$ no plasma e superiores a 8,2 $\mu\text{mol/l}$ no LCR, prevê-se uma deterioração neurológica precoce (com uma probabilidade de 92% e 93%, respetivamente). Manifesta-se assim como um mediador de lise celular e aumento do volume da lesão na DRM desde a admissão até às 72 horas pós lesão cerebral.²¹

Níveis elevados no sangue periférico de MMPs e S100B mostraram forte correlação com a transformação hemorrágica em doentes pós AVC isquémico²⁸; uma concentração de S100B superior a 0,23 µg/l apresenta uma sensibilidade de 46% e especificidade de 82%.²⁹ Os níveis de PCR apresentam correlação positiva e os de colesterol HDL (*high-density lipoprotein*) uma correlação negativa com o insucesso na recanalização vascular precoce em doentes enfartados.³⁰

Têm sido efetuados estudos na procura de potenciais marcadores do diagnóstico de AVC, estratificação de risco e previsão de prognóstico.³¹ Ainda são poucos os biomarcadores que preenchem os requisitos necessários para serem introduzidos na prática clínica.⁴ Embora alguns dos marcadores demonstrem capacidade preditiva, nenhum estudo foi suficiente para validar um modelo clínico baseado na utilização destes marcadores. A utilidade clínica dos biomarcadores como fator de prognóstico carece de estudos mais coerentes e válidos.³²

Os trabalhos selecionados na pesquisa efetuada são realizados na sua totalidade em doentes com AVC; maioritariamente estudos prospetivos. Os biomarcadores de maior interesse na pesquisa são a proteína S100B, PCR, MMPs e o PNC (peptídeo natriurético cerebral); imagiologicamente os autores recorrem preferencialmente à DRM, e RM isoladamente ou em associação com a TC ou angiografia. O objetivo dos autores foca-se primordialmente na avaliação e correlação clínica dos biomarcadores cerebrais como diferenciadores de isquémia ou hemorragia cerebral, existência ou não de recanalização do fluxo sanguíneo, avaliação imagiológica do volume da lesão e severidade do AVC.

Nenhum dos estudos selecionados procurou estudar a

funcionalidade dos doentes após AVC baseado na utilização de biomarcadores e/ou técnicas de imagem.

CONCLUSÃO

As técnicas de neuroimagem e biomarcadores fornecem informações clinicamente úteis na prevenção, diagnóstico, etiologia, decisão terapêutica, *follow-up* e prognóstico funcional dos doentes após lesão cerebral aguda.

Há interesse por parte da comunidade científica no uso de biomarcadores e neuroimagem na avaliação do prognóstico vital em detrimento do prognóstico funcional. A avaliação imagiológica do volume da lesão cerebral mostra correlação com o prognóstico funcional dos doentes após AVC. Níveis elevados no sangue periférico de MMPs e S100B revelam forte correlação com a transformação hemorrágica e predição de mau prognóstico funcional.

Contudo, apesar de alguns biomarcadores e técnicas de neuroimagem apresentarem capacidade preditiva, nenhum dos estudos com estas metodologias, isoladamente ou em associação, é capaz de sustentar a validação de um potencial modelo clínico preditivo de funcionalidade, revelando-se assim todos insuficientes na determinação precisa do prognóstico funcional aos 3 meses nas primeiras horas após o AVC.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não ter qualquer conflito de interesse relativamente ao presente artigo.

FONTES DE FINANCIAMENTO

Os autores declaram não ter recebido subsídios ou bolsas para a elaboração do artigo.

REFERÊNCIAS

1. Ward A, Payne KA, Caro JJ, Heuschmann PU, Kolominsky-Rabas PL. Care needs and economic consequences after acute ischemic stroke: The Erlangen Stroke Project. *Eur J Neurol*. 2005;12:264-7.
2. Shen J. Novel techniques for upper extremity training for hemiparesis after stroke. *UPMC Rehab Grand Rounds*. 2011:1-8.
3. Oujamaa L, Relave I, Froger J, Mottet D, Pelissier JY. Rehabilitation of arm function after stroke. Literature review. *Ann Phys Rehabil Med*. 2009;52:269-93.
4. Saenger AK, Christenson RH. Stroke biomarkers: progress and challenges for diagnosis, prognosis, differentiation, and treatment. *Clin Chem*. 2010;56:21-33.
5. Sun B, Liu H, Nie S. S100B protein in serum is elevated after global cerebral ischemic injury. *World J Emerg Med*. 2013;4:165-8.
6. Whiteley W, Jackson C, Lewis S, Lowe G, Rumley A, Sandercock P, et al. Inflammatory markers and poor outcome after stroke: A prospective cohort study and systematic review of interleukin-6. *PLoS Med*. 2009;6:e1000145.
7. Demchuk AM, Coutts SB. Alberta stroke program early CT score in acute stroke triage. *Neuroimaging Clin N Am*. 2005;15:409-19.
8. Barber PA, Demchuk AM, Zhang J, Buchan AM. Validity and reliability of a quantitative computed tomography score in predicting outcome of hyperacute stroke before thrombolytic therapy. ASPECTS Study Group. *Alberta stroke programme early CT score*. *Lancet*. 2000;355:1670-4.
9. Sarkar S, Ghosh S, Ghosh SK, Collier A. Role of transcranial doppler ultrasonography in stroke. *Postgrad Med J*. 2007;83:683-9.
10. Wahlgren N, Moreira T, Michel P, Steiner T, Jansen O, Cognard C, et al. Mechanical thrombectomy in acute ischemic stroke: Consensus statement by ESO-Karolinska Stroke Update 2014/2015, supported by ESO, ESMINT, ESNR and EAN. *Int J Stroke*. 2016;11:134-47.
11. Powers WJ, Derdeyn CP, Biller J, Coffey CS, Hoh BL, Jauch EC, et al. 2015 American Heart Association/American Stroke Association focused update of the 2013 Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke Regarding Endovascular Treatment: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2015;46:3020-35.
12. Yeo LL, Paliwal P, Teoh HL, Seet RC, Chan BP, Liang S, et al. Timing of recanalization after intravenous thrombolysis and functional outcomes after acute ischemic stroke. *JAMA Neurol*. 2013;70:353-8.
13. Demchuk AM, Burgin WS, Christou I, Felberg RA, Barber PA, Hill MD, et al. Thrombolysis in brain ischemia (TIBI) transcranial Doppler flow grades predict clinical severity, early recovery, and mortality in patients treated with intravenous tissue plasminogen activator. *Stroke*. 2001;32:89-93.
14. Yoo AJ, González RG. Clinical applications of diffusion MR imaging for acute ischemic stroke. *Neuroimaging Clin N Am*. 2011;21:51-69.
15. Engelter ST, Wetzel SG, Bonati LH, Fluri F, Lyrer PA. The clinical significance of diffusion-weighted MR imaging in stroke and TIA patients. *Swiss Med Wkly*. 2008;138:729-40.
16. Bang OY, Lee PH, Heo KG, Joo US, Yoon SR, Kim SY. Specific DWI lesion patterns predict prognosis after acute ischaemic stroke within the MCA territory. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2005;76:1222-8.
17. Shimizu K, Shimomura K, Tokuyama Y, Sakurai K, Isahaya K, Takaishi S, et al. Association between inflammatory biomarkers and progression of intracranial large artery stenosis after ischemic stroke. *J Stroke*

- Cerebrovasc Dis. 2013;22:211-7.
18. Atkinson AJ, Colburn WA, DeGruttola VG, DeMets DL, Downing GJ, Hoth DF, et al. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 2001;69:89-95.
 19. Whiteley W, Tian Y, Jickling GC. Blood biomarkers in stroke: research and clinical practice. *Int J Stroke.* 2012;7:435-9.
 20. Undén J, Strandberg K, Malm J, Campbell E, Rosengren L, Stenflo J, et al. Explorative investigation of biomarkers of brain damage and coagulation system activation in clinical stroke differentiation. *J Neurol.* 2009;256:72-7.
 21. Jickling GC, Sharp FR. Blood biomarkers of ischemic stroke. *Neurotherapeutics.* 2011;8:349-60.
 22. Montaner J, García-Berrococo T, Mendioroz M, Palacios M, Perea-Gainza M, Delgado P, et al. Brain natriuretic peptide is associated with worsening and mortality in acute stroke patients but adds no prognostic value to clinical predictors of outcome. *Cerebrovasc Dis.* 2012;34:240-5.
 23. Wada M, Nagasawa H, Kurita K, Koyama S, Arawaka S, Kawanami T, et al. Cerebral small vessel disease and C-reactive protein: results of a cross-sectional study in community-based Japanese elderly. *J Neurol Sci.* 2008;264:43-9.
 24. Youn CS, Choi SP, Kim SH, Oh SH, Jeong WJ, Kim HJ, et al. Serum highly selective C-reactive protein concentration is associated with the volume of ischemic tissue in acute ischemic stroke. *Am J Emerg Med.* 2012;30:124-8.
 25. Scarcello E, Morrone F, Piro P, Tarsitano S, Intriери F, Vaccarella S, et al. Protein S-100B as biochemical marker of brain ischemic damage after treatment of carotid stenosis. *Ann Vasc Surg.* 2011;25:975-8.
 26. Laterza OF, Modur VR, Crimmins DL, Olander JV, Landt Y, Lee JM, et al. Identification of novel brain biomarkers. *Clin Chem.* 2006;52:1713-21.
 27. Blyth BJ, Farhavar A, Gee C, Hawthorn B, He H, Nayak A, et al. Validation of serum markers for blood-brain barrier disruption in traumatic brain injury. *J Neurotrauma.* 2009;26:1497-507.
 28. Montaner J, Mendioroz M, Delgado P, García-Berrococo T, Giralt D, Merino C, et al. Differentiating ischemic from hemorrhagic stroke using plasma biomarkers: the S100B/RAGE pathway. *J Proteomics.* 2012;75:4758-65.
 29. Foerch C, Wunderlich MT, Dvorak F, Humpich M, Kahles T, Goertler M, et al. Elevated serum S100B levels indicate a higher risk of hemorrhagic transformation after thrombolytic therapy in acute stroke. *Stroke.* 2007;38:2491-5.
 30. Koga M, Arihiro S, Miyashita F, Yamamoto H, Yamada N, Nagatsuka K, et al. Factors associated with early recanalization failure following intravenous rt-PA therapy for ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis.* 2013;36:299-305.
 31. Tu WJ, Dong X, Zhao SJ, Yang DG, Chen H. Prognostic value of plasma neuroendocrine biomarkers in patients with acute ischaemic stroke. *J Neuroendocrinol.* 2013;25:771-8.
 32. Whiteley W, Chong WL, Sengupta A, Sandercock P. Blood markers for the prognosis of ischemic stroke: a systematic review. *Stroke.* 2009;40:e380-9.