

# Detección de la Isoenzima Glucógeno Fosforilasa BB Mediante Prueba Rápida de Inmuncromatografía en Evento Vascular Cerebral Agudo: Estudio Piloto

HUMBERTO CARRASCO VARGAS, OMAR ISAAC CASTILLO GARCÍA

**Resumen**— La enfermedad vascular cerebral, en general, se constituye como la tercera causa de muerte en México, la primera de discapacidad adquirida y la segunda de demencia. Este padecimiento puede ocurrir por isquemia o por una hemorragia intracerebral. En el caso de la enfermedad isquémica, o infarto, se produce una obstrucción de la circulación cerebral. Esta disminución del flujo sanguíneo inicia una cascada inflamatoria que aumenta el daño y la muerte celular del área afectada. Se ha observado que durante la isquemia el glucógeno astrocitario ofrece un recurso energético que se traslada a las neuronas y axones adyacentes, mediante la activación de la isoenzima glucógeno fosforilasa cerebral BB. La detección en sangre mediante inmuncromatografía de esta enzima puede representar un importante recurso diagnóstico para el paciente que se presenta con un déficit neurológico agudo, particularmente en sitios donde se carece de estudios de imagen como la tomografía o resonancia magnética, o bien, durante la atención de emergencia en un medio prehospitalario. El objetivo de este estudio piloto es determinar la sensibilidad y especificidad de dicha prueba en el diagnóstico de un evento vascular cerebral isquémico agudo.

## I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad vascular cerebral (EVC) es considerada como un problema de salud pública, tanto por su magnitud como por su trascendencia. De acuerdo con datos estadísticos, se la considera como la tercera causa de muerte, así como la causa más común de discapacidad en personas mayores de 65 años [1], [2], [3]. La enfermedad vascular cerebral se clasifica, atendiendo a su mecanismo de producción, como isquémica, cuando se obstruye el flujo sanguíneo arterial hacia una zona determinada del encéfalo, o hemorrágica, cuando es causada por la ruptura de un vaso sanguíneo intracraneal. La disminución del flujo sanguíneo cerebral inicia una cascada inflamatoria que aumenta el daño y la muerte celular en la zona afectada, lo que puede traer como consecuencia un daño neurológico permanente [4], [5]. En años recientes, se ha observado que durante el proceso de isquemia el glucógeno astrocitario ofrece un recurso energético que es trasladado a las neuronas y axones

adyacentes [6], [7]. Se inicia con la activación de diversas enzimas, entre ellas la isoenzima glucógeno fosforilasa cerebral (GPBB por sus siglas en inglés) en el tejido glial. La glucógeno fosforilasa (GP), en general, es esencial en el metabolismo del glucógeno. Cataliza la conversión de glucógeno en glucosa-1-fosfato, el cual representa el primer paso limitante de la glucogenólisis. Se han identificado tres diferentes isoenzimas: GP hepática (LL), GP muscular (MM) y GP cerebral (BB) [8]. Cuando se presenta un estado de hipoxia tisular, hipoglucemia o isquemia, se inicia la glucogenólisis necesaria para satisfacer la necesidad emergente de Adenosin Trifosfato (ATP) mediante la conversión de alguna de las isoenzimas de GP a su forma citoplásmica más activa y soluble por la actividad de una fosforilasa kinasa [9]. La isquemia aumenta la permeabilidad de las membranas celulares y, en el caso del cerebro, de la barrera hematoencefálica. Debido a ello, la GP se libera al torrente sanguíneo antes que cualquier otro marcador de necrosis, contribuyendo también el aumento de su actividad [10], [11].

En el año 2012, Avery y colaboradores realizaron un estudio ciego (asignación de casos-control) en el que se midieron los niveles plasmáticos de la GPBB de 172 pacientes que se presentaron con una EVC isquémica confirmada mediante estudios de imagen en dos tiempos: antes de transcurridas 9 horas del inicio de los síntomas y 48 horas después. El grupo control se formó con 97 individuos sanos pareados de acuerdo con la edad. Se determinaron los niveles plasmáticos de GPBB, dando como resultado 46.3 ng/ml ( $\pm$  38.6 ng/ml) en el grupo de casos y 4.8 ng/ml ( $\pm$  8.0 ng/ml) en el grupo control. Sobre la base de 6 ng/dl como punto de corte, la determinación enzimática en plasma mostró una sensibilidad de 94% y 90% de especificidad para el diagnóstico de una EVC isquémica aguda [12]. En la actualidad, el diagnóstico de un infarto o una hemorragia cerebral es un proceso que requiere una evaluación clínica adecuada y el apoyo de métodos de imagen cerebral, como la tomografía y la resonancia magnética. La sospecha clínica es la primera parte del diagnóstico, ya que de ella

HUMBERTO CARRASCO VARGAS pertenece a la MAESTRÍA DE FARMACOLOGÍA CLÍNICA de la Facultad de Ciencias Químicas y realizó el proyecto dentro del curso de Farmacovigilancia (Email: humberto.carrasco@lasallistas.org.mx) OMAR ISAAC CASTILLO GARCIA es adscrito al servicio de Neurología del Hospital Central Militar. Los autores agradecen a: Vanquish Neurología S.A. de C.V.

dependen los siguientes pasos en la evaluación. Un déficit neurológico agudo, es decir, la pérdida de una función del sistema nervioso de aparición súbita debe hacer sospechar siempre estos diagnósticos, particularmente si dicha pérdida de función afecta a un lado del cuerpo (los síntomas laterales). Sin embargo, desde un punto de vista exclusivamente clínico, es imposible establecer sin ninguna duda la etiología del déficit, ya que una hemorragia cerebral, un hematoma subdural o epidural espontáneo, un infarto o incluso un tumor cerebral, pueden presentarse con signos, síntomas y forma de evolución idénticos [13]. De ahí que los estudios de imagen sean esenciales en una segunda etapa de la evaluación. La tomografía simple de cráneo es el estudio más accesible y generalmente suficiente para diferenciar entre una hemorragia o isquemia, pues en el caso de la hemorragia, ésta puede observarse inmediatamente después de producirse como una lesión densa dentro del tejido nervioso de forma oval o redondeada. Un infarto cerebral, por otro lado, puede no ser evidente en la tomografía si ésta se realiza antes de transcurridas tres horas del inicio del cuadro clínico, es decir, puede ser normal. La resonancia magnética posee una mayor sensibilidad para la detección de los signos más tempranos de isquemia, pero es un estudio mucho más costoso y no está disponible en muchos lugares [14].

El dispositivo DIASTROKE-POCT® (*Point-Of-Care-Test*) (Imágenes 1 y 2) contiene una tira de prueba basada en inmunocromatografía rápida para detectar GPBB como un biomarcador de isquemia específica del cerebro. En la tira reactiva, se colocaron anticuerpos monoclonales dispuestos en filas, mismos que capturan la enzima GPBB (anticuerpo de captura). Después de que una gota de sangre se añade a la tira reactiva, un segundo anticuerpo (anticuerpo marcador) contenido en un diluyente especial se adhiere al otro lado del complejo ya formado de GPBB-anticuerpo de captura produciendo un cambio de color en la tira reactiva. La reacción se hace visible con un punto de corte preestablecido de 10ng/dl. Se requieren solo 50 µl de sangre para producir un resultado sólido [15]. La prueba puede leerse en 10 minutos. El método es muy similar al utilizado en una prueba de embarazo de orina e igual de sencilla para utilizarse e interpretarse [16].

## II. MÉTODO

Se realizó un estudio piloto observacional, prospectivo y longitudinal. Por la naturaleza del estudio, se empleó un muestreo no probabilístico de casos secuenciales hasta completar los pacientes necesarios y agotar los dispositivos disponibles. El tamaño de la muestra se calculó mediante la fórmula  $n = (4(Z\alpha)^2 pq) / IC^2$ , donde p es la sensibilidad esperada de la prueba, q el complemento, IC el rango del intervalo de confianza aceptable y  $\alpha$  el error tipo I [17]. Se estableció un error  $\alpha$  de 0.05, una sensibilidad esperada de 0.94 (por Avery y cols.) y un rango aceptable del intervalo de confianza de 0.15. Se obtuvo un tamaño de muestra mínima de 10 pacientes. El protocolo fue revisado y aprobado por los comités de investigación y de ética en investigación del Hospital Central Militar, institución donde laboran los autores. La población de estudio se constituyó

CUADRO I  
RESULTADOS DE LA DETECCIÓN DE GPCC MEDIANTE CROMATOGRAFÍA RÁPIDA EN PACIENTES CON CUADRO CLÍNICO DE EVC AGUDA.

Tiempo Evol. (Horas)	Escala NIH (Puntos)	Resultado	Tomografía
Incierto	4	Positivo	Normal al inicio Infarto a las 48 horas
4	12	Negativo	Hemorragia cerebral
18	8	Positivo	Infarto cerebral
12	12	Positivo	Normal inicial Infarto a 48 horas
3	15	Positivo	Normal inicial Infarto a 48 horas
8	6	Positivo	Normal inicial Infarto a las 48 horas
Incierto	25	Positivo	Infarto cerebral
16	12	Positivo	Infarto cerebral
8	2	Negativo	Hemorragia cerebral
Incierto	4	Positivo	Normal inicial Infarto a 48 horas
4	6	Negativo	Normal inicial Infarto a las 48 horas
9	12	Positivo	Infarto inicial

Cuadro I. Datos clínicos respecto a la severidad, diagnóstico y evolución posterior de los pacientes con enfermedad vascular cerebral aguda

por los pacientes ya hospitalizados por otros motivos o bien, los que ingresaron al servicio de urgencias de dicha institución con un cuadro clínico compatible con evento vascular cerebral de no más de 4.5 horas de evolución, durante los meses de noviembre de 2016 a abril de 2017. Se incluyeron pacientes con edades comprendidas entre los 30 y los 85 años. Se excluyó a los pacientes que se acudieron con un tiempo de evolución mayor al indicado o que, después de realizar un interrogatorio y exploración neurológica se concluyó que no tenían una enfermedad vascular cerebral aguda. A cada uno de los pacientes que participaron se les informó de manera verbal el motivo del estudio y se solicitó su participación en el mismo al propio paciente o al familiar responsable. Una vez obtenida la aceptación, se leyó el consentimiento informado y se solicitó mediante la firma del mismo su anuencia. A los pacientes con sospecha de EVC aguda se les realizó la valoración clínica neurológica para obtener los datos generales, así como la puntuación en la escala de gravedad de isquemia (escala del *National Institute of Neurological Disorders and Stroke*, NINDS, por sus siglas en inglés). Posteriormente se obtuvieron cuando menos 0.2 ml de sangre mediante punción con lanceta en los pulpejos de los dedos o de las muestras tomadas previamente para estudios de laboratorio generales. Se colocaron dos gotas de sangre en el dispositivo de lectura, dos gotas de diluyente y se leyó el resultado después de 10 minutos, verificando la aparición de la banda de comprobación, en cuyo caso la prueba se declaró positiva. Como parte de protocolo de atención de la enfermedad vascular cerebral, se realizó una tomografía computada simple de cráneo para confirmar mediante el análisis del estudio con un radiólogo la existencia de evento vascular cerebral y su naturaleza. En caso de no apreciarse datos claros en la primera tomografía de infarto cerebral se

CUADRO 2  
RESULTADO DE LA DETECCIÓN DE GPBB EN PACIENTES CON  
DIAGNÓSTICO DISTINTO DE EVC

Diagnóstico	Resultado
Migraña basilar	Negativo
Epilepsia Mioclónica juvenil	Negativo
Delirio	Negativo
Síndrome medular, mieloma múltiple	Negativo
Polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica	Negativo
Síndrome de Guillain-Barré	Negativo

Cuadro 2. Resultados de las pruebas realizadas en pacientes del grupo control. Todos resultaron negativos.

realizó un segundo estudio a las 24 o 48 horas. Por otro lado, se realizó la prueba de inmunocromatografía rápida para detección de GPBB en un grupo de pacientes con diagnóstico distinto a enfermedad vascular cerebral atendidos en el servicio de neurología y que aceptaron participar en el estudio para utilizar sus resultados en el análisis estadístico como grupo control. Los datos así obtenidos se agruparon en una tabla de contingencia 2x2 para calcular la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, el índice de Youden, el índice de validez y la razón de verosimilitud negativa de esta prueba diagnóstica. Se utilizó el programa EPIDAT versión 3.1 para el análisis de datos tabulados. Se trata de un software de libre distribución de la Consejería de Salud de la Junta de Galicia y avalado por la Organización Panamericana de Salud. Se definió un error  $\alpha$  de 0.05 y un índice de confianza del 95% para el cálculo de los intervalos respectivos.

### III. RESULTADOS

Se lograron reclutar doce pacientes que cumplían con los criterios de inclusión para el grupo de estudio. En el cuadro I se muestran los resultados que se obtuvieron en la detección de GPBB mediante la prueba DIASTROKE-POCT® en pacientes con cuadro clínico de EVC aguda, así como otros datos relevantes de su enfermedad. Las imágenes 1 y 2 muestran como se visualiza una prueba positiva y una negativa. De los 12 pacientes estudiados, 9 resultaron positivos en la detección de la GPBB. En todos ellos se confirmó el diagnóstico de un infarto cerebral agudo ya fuese en la tomografía inicial, o bien en la tomografía de control realizada a las 48 horas de su ingreso. En tres pacientes no se pudo establecer el tiempo de inicio o evolución de los síntomas debido a que, como es frecuente, éstos pacientes despertaron con el déficit neurológico ya establecido en la mañana, es decir, el infarto ocurrió durante la noche mientras el paciente dormía. Tres pacientes dieron una reacción negativa en la prueba rápida, de ellos, dos presentaban una hemorragia cerebral notoria desde la tomografía inicial y un paciente resultó negativo en la tomografía realizada en urgencias con un infarto cerebral evidente en la tomografía de control a las 48 horas. El tiempo de evolución de inicio del cuadro clínico más corto, cuando se conocía, fue de 3 horas y el máximo de 18 horas.

Como ya se mencionó, en tres pacientes fue imposible establecer dicho tiempo. Se aplicó la misma prueba a 6 pacientes con un padecimiento neurológico diferente a enfermedad vascular cerebral con la finalidad de determinar su resultado y poder realizar los cálculos necesarios. Todos estos pacientes resultaron negativos. (Cuadro 2)

Con los datos anteriores se procedió a calcular la sensibilidad y especificidad de la prueba con relación al diagnóstico de EVC confirmada mediante estudio de imagen. Con un cálculo realizado considerando tanto los eventos isquémicos como hemorrágicos se obtendrían nueve verdaderos positivos, tres falsos negativos (dos hemorragias y un infarto) y seis verdaderos negativos, cero falsos positivos. Esto significa una sensibilidad del 75% (95% IC 0.47 a 0.91) y una especificidad de 100% (95% IC 0.61 a 1.0) para el diagnóstico de un evento vascular cerebral mediante la detección de la enzima GPBB (tabla 1) Por otro lado, si consideramos que la prueba está diseñada para la detección de enfermedad isquémica y no hemorrágica, se pueden considerar las hemorragias como pruebas negativas verdaderas, entonces tenemos: 9 verdaderos positivos, 1 falso negativo, 8 verdaderos negativos y ningún resultado falso positivo. Esto corresponde a una sensibilidad de 90% (IC 95% 0.6 a 0.98) y una especificidad del 100% (IC 95% 0.68 a 1.0). (tabla 2) El valor predictivo positivo de la prueba fue del 100% en ambas situaciones. El índice de Youden, una prueba estadística que informa del rendimiento de la prueba en forma dicotómica fue de 0.75 (IC 95% 0.51-0.99) cuando se incluyeron las hemorragias cerebrales y de 0.90 (IC 95% 0.71-1.09) cuando se comparó el diagnóstico de infarto contra cualquier otro diagnóstico. Una prueba perfecta tendría un valor de 1. Finalmente, la razón de verosimilitud negativa, un cálculo que nos informa cuantas veces es más probable que la prueba sea negativa en los pacientes que no tienen un infarto, fue de 10 veces. El índice de validez de la prueba supera el 83% (los correctos positivos). Estos diferentes índices de validez nos indican que la determinación de la enzima GPBB por inmunocromatografía en pacientes con EVC isquémica aguda es un método confiable con un elevado nivel de certeza.

Tabla 1. Pacientes agrupados sin discriminar si existió infarto o hemorragia cerebral			
Resultado de la prueba	Déficit agudo	No Infarto	Total
Positivo	9	0	9
Negativo	3	6	9
<b>Total</b>	12	6	18
Sensibilidad: 0.75 (IC 95% 0.47-0.91) Especificidad: 1 (IC 95% 0.61-1.0) Valor predictivo positivo: 1.0 (IC 95% 0.7-1.0) Valor predictivo negativo: 0.67 (IC 95% 0.35-0.88) Índice de Youden (rendimiento de la prueba): 0.75 (IC 95% 0.51-0.99) Índice de Validez 83.33% (IC95% 63.34-100) Razón de verosimilitud negativa: 0.25 (IC 95% 0.09-0.67) = (1/0.25) = 4			
Tabla 1. Los índices de validez de la prueba. La razón de validez negativa de 0.25 indica que la probabilidad de que la prueba sea negativa es 4 veces mayor cuando se incluyen las hemorragias cerebrales.			

Tabla 2. Pacientes con diagnóstico de infarto cerebral confirmado contra otros diagnósticos, incluyendo las hemorragias

Resultado de la prueba	Infarto	No Infarto	Total
Positivo	9	0	9
Negativo	1	8	9
<b>Total</b>	<b>10</b>	<b>8</b>	<b>18</b>

Sensibilidad: 0.9 (IC95% 0.6-0.98)  
 Especificidad: 1 (IC 95% 0.68-1.0)  
 Valor predictivo positivo: 1.0 (IC 95% 0.7-1.0)  
 Valor predictivo negativo: 0.89 (IC 95% 0.56-0.98)  
 Índice de Youden (rendimiento de la prueba): 0.90 (IC 95% 0.71-1.09)  
 Índice de Validez 94.44% (IC 95% 81.08-100)  
 Razón de verosimilitud negativa: 0.10 (IC 95% 0.02-0.64) = (1/0.10) = 10

Tabla 2 Los índices de validez de la prueba. La razón de validez negativa de 0.10 indica que la probabilidad de que la prueba sea negativa es 10 veces mayor en los pacientes que no tienen un infarto cerebral.



Imagen 1. Prueba negativa.



Imagen 2. Prueba positiva. Nótese la segunda banda en la ventanilla (flecha blanca).

#### IV. DISCUSIÓN

En el momento actual, el diagnóstico de la enfermedad vascular cerebral depende, en primera instancia, de la sospecha clínica, seguida de una rápida evaluación diagnóstica para determinar, mediante estudios de imagen como la tomografía o resonancia magnética, si existe un infarto cerebral o una hemorragia [18]. Esto es fundamental, debido a que el tratamiento es radicalmente diferente en estas situaciones. En el caso de la sospecha de un infarto, se tiene un tiempo límite de 4.5 horas a partir del inicio de los síntomas para poder administrar el tratamiento trombolítico por vía intravenosa [19] y, hasta 6 horas, para la trombolisis intra arterial [20]. Estos procedimientos son los únicos que pueden mejorar el pronóstico de recuperación neurológica. En el caso de las hemorragias, muchas de ellas serán candidatas a un procedimiento de evacuación quirúrgica del hematoma. La distinción entre un infarto en evolución y una hemorragia no puede hacerse sobre bases meramente clínicas, ya que el cuadro clínico puede ser exactamente igual, aunque se han descrito diferencias sutiles. Por esta razón, se requiere un estudio de imagen definitivo, como los mencionados anteriormente. Sin embargo, muchas veces los médicos no neurólogos confunden el cuadro clínico y en ocasiones piensan en enfermedad vascular cerebral cuando se trata, en realidad, de otros padecimientos que también pueden causar un cuadro clínico agudo caracterizado por un déficit neurológico y viceversa [21], [22]. El problema es más frecuente de lo que se piensa, incluso en hospitales donde se cuenta con servicios de neurología. [23]. En aquellos lugares donde no se tiene un rápido acceso a una tomografía o resonancia, o bien, en el medio prehospitalario, por ejemplo, cuando personal paramédico acude en ambulancia a atender un paciente, una prueba diagnóstica sencilla, rápida y fácil de utilizar como el dispositivo Diastroke puede ser de enorme utilidad. Avery y colaboradores demostraron que la detección en sangre de la GPBB tiene una alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de infarto cerebral, pero hasta donde sabemos, dicha detección mediante un dispositivo como el DIASTROKE-POCT® no se ha validado en el mundo real. De acuerdo con la información disponible en <http://diagenics.de/index.php/en/products/neurology/diastroke-poct>, sitio web oficial de Diagenics Group SE, una compañía con sede en Alemania y fabricante de este dispositivo, se están realizando estudios multinacionales similares al presente trabajo para obtener la aprobación para su comercialización por las agencias reguladoras. En este estudio piloto de doce pacientes que se presentaron al servicio de urgencias con un cuadro clínico de EVC agudas se demostró una sensibilidad del 90% y una especificidad del 100% para distinguir entre infarto cerebral y no infarto cerebral. Esto sugiere que la detección de la GPBB mediante el dispositivo de inmunocromatografía rápida es lo suficientemente sensible y específica para el diagnóstico de isquemia cerebral, encontrándose positiva de manera muy precoz, incluso cuando no se apreciaron datos de un infarto cerebral en la tomografía computada.

La utilidad de este dispositivo en las mencionadas situaciones prehospitalarias o donde no se cuenta con rápido

acceso a un estudio de imagen cerebral es enorme, en virtud de que pueden tomarse decisiones importantes en pocos minutos, tales como decidir a dónde se debe trasladar a un paciente. El diagnóstico diferencial de un déficit neurológico agudo es extenso [13]. Considerando los resultados obtenidos, una prueba negativa es un fuerte argumento en contra del diagnóstico de un infarto cerebral, pero si existen síntomas laterales y hay un deterioro progresivo del nivel de conciencia, es muy probable que el paciente esté sufriendo una hemorragia cerebral (nuestros pacientes con hemorragia cerebral fueron negativos a la prueba) o que tenga otro tipo de lesión ocupativa como un hematoma o un tumor. En esta situación, se debe conducir al paciente a un lugar que cuente con un neurocirujano. Si, por el contrario, se presentan síntomas laterales con una prueba positiva, el diagnóstico más probable es de un infarto cerebral y el paciente deberá ser trasladado a un sitio en el que se cuente con los recursos necesarios para realizar una tomografía y una trombolisis intravenosa lo antes posible, para poderlo tratar dentro de la ventana terapéutica actualmente aceptada de 4.5 a 6 horas [18], [19]. Esta distinción es fundamental, ya que el pronóstico de ambas situaciones es muy diferente, con una mortalidad mayor en los pacientes con una hemorragia cerebral [24]. Este estudio piloto no permite, por las limitaciones inherentes al tamaño de muestra y su diseño, realizar conclusiones de mayor poder estadístico, pero abre una enorme área de oportunidad para realizar estudios con un mayor número de pacientes, o incluso en el medio extra hospitalario previo al ingreso a urgencias, donde la prueba podría ser realizada fácilmente por el personal paramédico de la ambulancia en su trayecto hacia el hospital. Este diagnóstico prehospitario de un EVC sigue siendo una necesidad aún no satisfecha. Incluso se han desarrollado y validado algoritmos para los despachadores de las ambulancias, por ejemplo [25], pero seguimos dependiendo de la tecnología de imagen para el diagnóstico definitivo [26]. Sin embargo, como ya se comentó, este dispositivo útil y sencillo promete contribuir a un diagnóstico más certero y oportuno de estos pacientes y, por lo tanto, ofrecerles una atención más expedita y un mejor pronóstico.

#### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Vanquish Neurología S.A. de C.V. por haber facilitado los dispositivos DIASTROKE-POCT necesarios para llevar a cabo el presente estudio.

#### REFERENCIAS

- [1]. A. Yazdanyar and A. Newman, "The Burden of Cardiovascular Disease in the Elderly: Morbidity, Mortality, and Costs," *Clin. Geriatr. Med.*, vol. 25, pp. 563–567, 2009
- [2]. R.W. Flynn, R.S. MacWalter and A.S. Doney, "The cost of cerebral ischaemia," *Neuropharmacology*, vol. 55, pp.250-256, 2008
- [3]. J.L. Ruiz-Sandoval, E. Chiquete, A. Garate-Carrillo, A. Ochoa-Guzman, A. Arauz, C. Leon-Jimenez, K. Carrillo-Loza, L.M. Murillo-Bonilla, J. Villarreal-Careaga, F. Barinagarrementeria and C. Cantu-Brito, "Factores de riesgo, causas y pronóstico de los tipos de enfermedad vascular cerebral en México (RENAMEVASC)," *Rev. Neurol.*, vol. 53, pp. 705–712, 2011
- [4]. A. Ropper, R. Adams, R. Brown and M. Adams, "Principles of neurology," New York: McGraw-Hill, pp. 686–704, 2005
- [5]. U. Dirnagl, "Pathobiology of injury after stroke: the neurovascular unit and beyond," *Ann. New York Acad. Sci.*, vol. 1268, pp. 21–25, 2012
- [6]. G. Öz, E. Seaquist, A. Kumar, A. Criego, L. Benedict, J. Rao, P. Henry, P. Van De Moorlele and R. Gruetter, "Human brain glycogen content and metabolism: implications on its role in brain energy metabolism," *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metabol.*, vol. 292, pp. E946-E950, 2007
- [7]. A. Brown and B. Ransom, "Astrocyte glycogen and brain energy metabolism," *Glia*, vol. 55, pp. 1263-1271, 2007
- [8]. C.B. Newgard, P.K. Hwang, R.J. Fletterick, "The family of glycogen phosphorylases: structure and Function," *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, vol. 24, pp. 69-99, 1989
- [9]. K. Kato, A. Shimizu, N. Kurobe, M. Takashi, T. Koshikawa, "Human brain-type glycogen phosphorylase: quantitative location in human tissues determined with an immunoassay System," *J. Neurochem.* vol. 52, pp. 1425-1432, 1989
- [10]. M.I. Hossain, C.L. Roulston and D.I. Stapleton, "Molecular Basis of Impaired Glycogen Metabolism during Ischemic Stroke and Hypoxia," *PLoS ONE*, vol. 9, pp. e97570, 2014
- [11]. G. Lippi, C. Mattiuzzi, I. Comelli and G. Cervellin, "Glycogen phosphorylase isoenzyme BB in the diagnosis of acute myocardial infarction: a meta-analysis," *Biochemia Medica*, vol. 23, pp. 78-82, 2013
- [12]. R. Avery, J. Caceres, K. Park, S. Lorenzano, O. Pontes, M. Siket, L. Ay and F. Buonanno, "Abstract 29: A New Biomarker for Diagnosis of Ischemic Stroke: Plasma Glycogen Phosphorylase-BB," *Stroke*, vol. 44, pp. A29, 2013
- [13]. C.M.C. Allen, "Differential Diagnosis of Acute Stroke: A Review," *J. R. Soc. Med.* vol.77, pp.878-881, 1984
- [14]. A. Srinivasan, M. Goyal, F. Al Azri and C. Lum, "State-of-the-Art Imaging of Acute Stroke," *RadioGraphics*, vol. 26, pp. S75–S95, 2006
- [15]. D. Steskal, B. Lacnak, L. Jedelsky, L. Stepanova, J. Proskova, P. Solichova, L. Kadalova, M. Janosova, P. Seitlova, M. Karpisek, L. Sprongi, "Use of Glycogen Phosphorylase BB measurement with POCT in the Diagnosis of Acute Coronary Syndromes. A Comparison with the ELISA Method," *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech. Repub.*, vol. 151, pp. 247-249
- [16]. Diagenics. Diastroke-poct  
[en <http://diagenics.com/index.php/en/products/neurology/diastroke-poct>]
- [17]. V. M. Velasco-Rodríguez, V. A. Martínez-Ordaz, J. Roiz-Hernandez, F. Huazano-García, A. Nieves-Rentería. "Muestreo y Tamaño de Muestra. Una Guía Práctica Para Personal de Salud que Realiza Investigación," Buenos Aires, e-libro-net, pp. 82-84, 2003
- [18]. E. C. Jauch, J.L. Saver, H. P. Adams, A. Bruno, J. J. Connors, B. M. Demaerschalk, P. Khatri, P. W. McMullan, A. I. Qureshi, K. Rosenfield, P. A. Scott, D. R. Summers, D. Z. Wang, M. Wintermark and H. Yonas, "Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association," *Stroke*, vol. 44, pp. 870-947, 2013
- [19]. S. Prabhakaran, I. Ruff and R.A. Bernstein, "Acute Stroke Intervention a Systematic Review," *JAMA*, vol. 313, pp. 1451-1462, 2015
- [20]. O. A. Berkhemer, P. S. S. Fransen, D. Beumer, L. A. van den Berg, H. F. Lingsma, A. J. Yoo, W. J. Schonewille, J. A. Vos, P. J. Nederkoorn, M. J. H. Wermer, M. A. A. van Walderveen, J. Staals, J. Hofmeijer, J. A. van Oostayen, G.J. Lycklama a Nijeholt, J. Boiten, P.A. Brouwer, B. J. Emmer, S. F. de Bruijn, L. C. van Dijk, L. J. Kappelle, R. H. Lo, E. J. van Dijk, J. de Vries, P. L. M. de Kort, W. J. J. van Rooij, J. S. P. van den Berg, B. A. A. M. van Hasselt, L. A. M. Aerden, R. J. Dallinga, M. C. Visser, J. C. J. Bot, P. C. Vroomen, O. Eshghi, T. H. C. M. L. Schreuder,

R. J. J. Heijboer, K. Keizer, A. V. Tielbeek, H. M. den Hertog, D. G. Gerrits, R. M. van den Berg-Vos, G. B. Karas, E. W. Steyerberg, H. Z. Flach, H. A. Marquering, M. E. S. Sprengers, S. F. M. Jenniskens, L. F. M. Beenen, R. van den Berg, P. J. Koudstaal, W. H. van Zwam, Y. B. W. E. M. Roos, A. van der Lugt, R. J. van Oostenbrugge, C. B. L. M. Majoie, and D.W.J. Dippel, for the MR CLEAN Investigators, "A Randomized Trial of Intrarterial Treatment for Acute Ischemic Stroke," *N. Engl. J. Med.* vol. 372, pp. 11-20, 2015

[21] A. L. Liberman and S. Prabhakaran, "Stroke Chameleons and Stroke Mimics in the Emergency Department," *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.*, vol. 1, pp 1-11, 2017

[22] A.A. Tarsnutzer, S. H. Lee, K. A. Robinson, Z. Wang, J.A. Edlow and D. E. Newman-Toker, "ED misdiagnosis of cerebrovascular events in the era of modern neuroimaging. A meta-analysis," *Neurology*, vol. 88, pp. 1-10, 2017

[23] A. E. Arch, D.C. Weisman, S. Coca, K.V. Nystrom, C. R. Wira and J. L. Schindler, "Missed Ischemic Stroke Diagnosis in the Emergency Department by Emergency Medicine and Neurology Services," *Stroke*, vol. 47, pp. 1-6, 2016

[24] K. K. Andersen, T. S. Olsen, C. Dehlendorff, L.P. Kammersgaard. "Hemorrhagic and Ischemic Strokes Compared: Stroke Severity, Mortality, and Risk Factors," *Stroke*, vol. 40, pp. 2068-2072, 2009

[25]. S. Krebes, M. Ebinger, A.M. Baumann, P.A. Kellner, M. Rozanski, F. Doepp, J. Sobesky, T. Gensecke, B.A. Leidel, U. Malzahn, I. Wellwood, P. U. Heuschmann, H.J. Audebert, "Development and Validation of a Dispatcher Identification Algorithm for Stroke Emergencies," *Stroke* vol. 43, pp. 776-781, 2012

[26]. H.J. Audebert, J.L. Saber, S. Starkman, K.R. Lees, M. Endres, "Prehospital Stroke Care. New Prospects for Treatment and Clinical Research," *Neurology* vol. 81, pp. 501-508, 2013