



MÁSTER
UNIVERSITARIO EN
INVESTIGACIÓN
EN MEDICINA
CLÍNICA



FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

TRABAJO FIN DE MÁSTER

**Análisis histológico del trombo arterial en el ictus
isquémico agudo y su aportación en el estudio
etiológico.**

Alumno: Claudia Muñoz Martínez

Tutor: Rosa M^a Sánchez Pérez.

Curso: 2019-2020.

ÍNDICE

I. Resumen y Abstract

II. Proyecto de investigación Clínica

II.1. Introducción

II.2. Hipótesis

II.3. Objetivos

II.4. Metodología

II.4.1. Diseño

II.4.2 Lugar y tiempo de ejecución

II.4.3. Sujetos

II.4.4 Variables a estudio

II.4.5 Recogida de variables

II.4.6. Análisis de datos

II.4.7. Limitaciones y dificultades

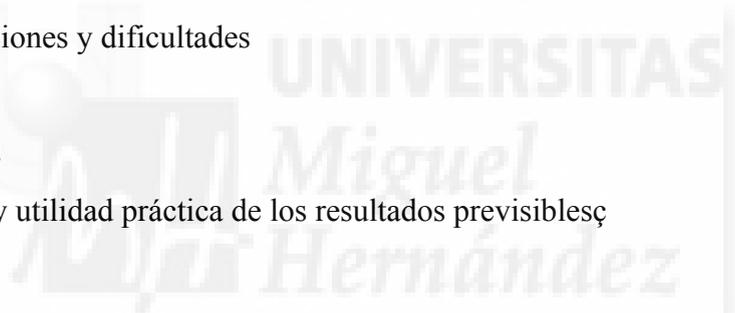
II.5. Plan de trabajo

II.6. Aspectos éticos

II.7. Aplicabilidad y utilidad práctica de los resultados previsibles

II.8. Presupuesto

III. Bibliografía.



I. Resumen y Abstract

Resumen

Introducción: Actualmente el estudio etiológico del ictus isquémico se realiza mediante múltiples pruebas complementarias (neuroimagen por resonancia magnética o TC craneal, un estudio de monitorización de ritmo cardíaco, estudio analítico de posible trombofilia y ecocardiografía...). Pero, a pesar de esta cantidad de pruebas, hasta un 40% de los ictus isquémicos quedan sin diagnóstico, con el alto riesgo de recurrencia que supone este hecho. En los últimos años, algunos investigadores ensalzan la potencial utilidad del estudio histológico de los componentes del trombo, extraído mediante trombectomía mecánica, en la clasificación etiológica del ictus isquémico. A pesar de ello, los resultados de estos estudios no definen unos patrones histológicos claros para poder aplicar este procedimiento dentro de la práctica clínica habitual. En este contexto planteamos nuestro estudio, el cual pretende ampliar el grado de evidencia sobre la utilidad de la utilización del estudio histológico en nuestro medio.

Objetivos: Estudiar la asociación entre los patrones histológicos del trombo extraído mediante trombectomía mecánica y los subtipos etiológicos. Asimismo estudiaremos la relación entre la presencia de túnica íntima en el trombo, como indicador de daño vascular, con la técnica de recanalización endovascular y con el resultado clínico final.

Diseño: Estudio transversal descriptivo con un periodo de reclutamiento de un año.

Ámbito: Servicio de Neurología y Radiología del Hospital Virgen de las Nieves

Sujetos: Pacientes con ictus isquémico candidatos a tratamiento endovascular mediante trombectomía mecánica.

Mediciones principales: Proporción de plaquetas, eritrocitos, leucocitos y fibrina del trombo, presencia de túnica íntima, subtipo etiológico del ictus.

Palabras claves: ictus, trombo, histología, etiología, trombectomía.

Abstract

Introduction: Currently, the etiological study of ischemic stroke is carried out through multiple complementary tests (neuroimaging by magnetic resonance imaging or cranial CT, a study of heart rate monitoring, an analytical study of possible thrombophilia, echocardiography ...). Despite this amount of evidence, up to 40% of ischemic strokes remain undiagnosed, with the high risk of recurrence that this implies. In recent years, some researchers highlight the potential utility of the histological study of the components of the thrombus, extracted by mechanical thrombectomy, in the etiologic classification of ischemic stroke. Despite this, the results of these studies do not define clear histological patterns to be able to apply this procedure within routine clinical practice. In this context, we propose our study, which aims to expand the degree of evidence on the usefulness of using the histological study in our setting.

Objectives: Our objective is to study the association between the histological patterns of the thrombus extracted by mechanical thrombectomy and the etiological subtypes. Likewise, we will study the relationship between the presence of intimal layer in the thrombus, as an indicator of vascular damage, with the endovascular recanalization technique and with the final clinical result.

Design: Descriptive cross-sectional study with a recruitment period of one year.

Setting: Neurology and Radiology Service of the Virgen de las Nieves Hospital

Subjects: Patients with ischemic stroke candidates for endovascular treatment by mechanical thrombectomy.

Main measurements: Proportion of platelets, red blood cells, white blood cells, and thrombin fibrin, presence of intima tunic, etiologic subtype of stroke.

Keywords: stroke, thrombi, histology, etiology, thrombectomy.

II. Proyecto de investigación

II.1. Introducción

El ictus isquémico se encuentra actualmente entre las primeras causas de mortalidad en nuestro entorno, siendo considerada la primera causa de incapacidad a nivel mundial. La incidencia de esta patología en España se estima en unos 150-200 casos/100.000 habitantes-año.

La clasificación TOAST permite catalogar el ictus isquémico según la etiología más probable en ictus aterotrombótico, cardioembólico, lacunar, infrecuente e indeterminado¹ (tabla 1).

Clasificación etiológica TOAST de ictus isquémico
<ul style="list-style-type: none">● Aterosclerosis de grandes arterias● Cardioembolismo● Enfermedad de pequeño vaso/lacunar● Infrecuente● Indeterminado<ul style="list-style-type: none">○ Dos o más causas posibles.○ Evaluación incompleta.○ Evaluación negativa.

Tabla 1. Extraída de HP Adams Jr et al. *Stroke*. 1993.

Los ictus aterotrombóticos son aquellos producidos por estenosis u oclusión ateromatosa de arterias de gran tamaño. Los ictus cardioembólicos se producen como consecuencia de la migración de un trombo desde el corazón hasta una arteria del territorio encefálico; la causa principal es la fibrilación auricular. Entre los ictus infrecuentes destacan como causa las arteriopatías no ateroscleróticas como la displasia fibromuscular, la disección y las situaciones de hipercoagulabilidad.

Se clasifican como ictus de etiología indeterminada aquellos que pueden ser secundarios a más de una etiología y los que no presentan ninguna posible causa, bien porque no se ha completado el estudio etiológico o porque pese a realizarlo de forma íntegra no se ha demostrado una etiología. Estos últimos son los también llamados criptogénicos.

En la población general la etiología más prevalente es la indeterminada que llega a alcanzar el 40 % del total de ictus isquémicos, seguida de la etiología cardioembólica en un 25%, lacunar 19%, aterotrombótico en un 9% e inhabitual en un 4%. La edad es un factor que modifica significativamente el riesgo de cada una de estas etiologías, con un incremento en la etiología cardioembólica a mayor edad².

Para poder clasificar a los pacientes dentro de estas categorías etiológicas se deben llevar a cabo diversas pruebas complementarias. El diagnóstico etiológico actual incluye pruebas analíticas que comprendan un estudio hematológico y bioquímico, estudio de neuroimagen con tomografía computarizada (TC) o resonancia magnética (RM) craneal, estudio del árbol cerebrovascular mediante estudio neurosonológico, angio-TC o angio-RM de troncos supraaórticos y polígono de Willis, estudio cardiológico con ecocardiografía transtorácica y/o ecografía transesofágica y un registro Holter-ECG de al menos 24 horas. Este estudio se ampliaría según las características individuales del paciente con otras pruebas: una analítica más amplia (coagulación especial, autoinmunidad, marcadores tumorales...) o con la colocación de un registro holter-ECG prolongado (pacientes con muy alta sospecha de arritmia cardíaca a pesar de un primer estudio negativo), estudio genético...

La importancia de la clasificación etiológica del ictus radica en que según la etiología hallada tras el estudio complementario se procederá a la aplicación del tratamiento preventivo secundario más óptimo. Los casos de ictus de etiología criptogénica plantean una problemática puesto que el desconocimiento de la causa más probable impide que puedan beneficiarse de un tratamiento preventivo secundario selectivo que permitiría bajar el riesgo de recurrencia de ictus en el primer año en este subgrupo, que llega hasta el 30% en algunos estudios³. Un ejemplo son los pacientes con fibrilación auricular paroxística que no se ha podido corroborar con los registros realizados durante el estudio y que por tanto no se le prescribirá tratamiento anticoagulante oral.

Con la llegada de la trombectomía mecánica a nuestro país a principios del año 2000 como tratamiento del ictus isquémico agudo, numerosos pacientes se han podido beneficiar de la extracción del trombo intracraneal. Este procedimiento se puede realizar mediante dispositivos de stent-retriever, de aspiración simple o utilizando ambas técnicas. Respecto a la técnica más idónea a utilizar dependerá de las características individuales de cada paciente; el daño a nivel vascular es un parámetro que está adoptando más valor en este aspecto. Se conoce que la erosión a nivel endotelial y de la túnica íntima es muy difícilmente evitable en cualquiera de ellas aunque parece que la técnica de aspiración podría presentar menor sufrimiento intimal que la utilización del stent retriever⁴⁻⁶. Este tratamiento ha permitido tener acceso directo a la muestra biológica el trombo y poder analizar sus características y componentes.

Los primeros estudios científicos que consideraban la composición de trombo arterial lo

relacionaron con el resultado óptimo de la recanalización o las características de la neuroimagen por TC craneal⁷⁻⁹. Estos estudios reflejaban que la arquitectura del trombo era variable y que presentaba unos componentes principales comunes aunque en diferentes proporciones. Estos componentes son la fibrina, las plaquetas, los glóbulos rojos y los glóbulos blancos. Posteriores estudios enfocaron sus objetivos en la asociación de los hallazgos histológicos del trombo y los subtipos etiológicos del ictus, diferenciando entre cardioembólico y no cardioembólico puesto que el tromboembolismo se produce principalmente por ateromatosis de grandes arterias o por embolismos cardíacos, siendo más infrecuente la disección arterial como causa¹⁰⁻¹³.

J. M. Niesten et al¹⁴. realizaron un análisis histológico de 22 trombos procedentes de ictus isquémicos estudiando la asociación entre la composición de los trombos y las diferentes etiologías del ictus. Como resultado del estudio se evidenció una mayor proporción de glóbulos rojos en los pacientes con ictus aterotrombóticos frente a los ictus cardioembólicos con una p estadísticamente significativa (50% vs 35% p=0.013). No se encontraron asociaciones con el resto de componentes.

T. Boeckh-Behrens et al¹⁵. en 2016 llevaron a cabo un estudio descriptivo analizando un total de 145 muestras con el mismo objetivo aunque en esta ocasión se comparaba el resultado histológico en los grupos de ictus cardioembólico, no cardioembólico y criptogénico. Para el estudio histológico se utilizó la tinción de hematoxilina-eosina que permite distinguir entre glóbulos rojos, glóbulos blanco y fibrina/plaquetas. Una vez realizado el análisis estadístico describían una diferencia estadísticamente significativa con p<0.05 entre los grupos cardioembólico y no cardioembólico. El ictus cardioembólico se caracterizó por presentar mayor número de fibrina/plaquetas (52.6±18.6% vs 40.9±23.3%) y glóbulos blancos (9.1±6.4% vs 6.5±3.8%) y menor número de glóbulos rojos (38.3±20% vs 52.7±25.2). Asimismo establecían el parámetro de fibrina/plaquetas como el principal indicador del origen cardioembólico del ictus estableciendo el punto de corte en 60% con una especificidad de 81.8% y una sensibilidad del 35.8%. No se encontraron diferencias entre los grupos de ictus criptogénico y cardioembólico reforzando la idea de que la mayor parte de los ictus criptogénicos se deben a arritmias cardíacas no descubiertas.

Peter B. Sporns et al¹⁶. un año más tarde realizaron un estudio de características similares con una muestra de 198 pacientes donde vuelve a quedar manifiesta la diferencia entre la proporción de fibrina/plaquetas, glóbulos rojos y glóbulos blancos entre el ictus

cardioembólico y el ictus aterotrombótico pero sin diferencias entre el ictus cardioembólico y el criptogénico.

En este contexto S. Fitzgerald et al¹⁷ en 2019 realizaron un estudio descriptivo en 105 pacientes con ictus isquémico analizando la muestra de los trombos. En esta ocasión se añade a las técnicas de tinción utilizadas en los anteriores estudios la tinción de Martius Scarlet Blue. Esta técnica de tinción nos permite diferenciar entre la composición de fibrina y la de plaquetas. Se analizaron los porcentajes de fibrina, plaquetas, glóbulos rojos y glóbulos blancos en los grupos de ictus isquémico cardioembólico, aterotrombótico, criptogénico y otra causa. El estudio mostró que los ictus aterotrombóticos presentaban un contenido medio de plaquetas significativamente mayor que los ictus cardioembólicos ($22.1 \pm 18.6\%$ versus $13.9 \pm 14.3\%$; $P = 0.03$), no encontrando diferencias significativas de proporción de plaquetas en el resto de los grupos. El resto del estudio no mostró diferencias significativas entre las etiologías y los componentes principales del coágulo. El estudio comenta que el hallazgo histológico de un porcentaje alto de plaquetas en un ictus de etiología criptogénica podría determinar la etiología aterotrombótica del mismo.

Los estudios realizados hasta el momento actual nos aportan una evidencia muy limitada, siendo sus resultados poco consistentes e importantes para poder llevar a cabo cambios en la práctica clínica. Nuestra finalidad es por tanto ampliar la evidencia acerca de la histología de los trombos arteriales en el contexto del ictus isquémico realizando el primer estudio de estas características en nuestro país así como plantear el estudio histológico como una prueba más dentro del estudio etiológico clínico ya disponible.

II. 2. Hipótesis.

El estudio histológico de las muestras de coágulo obtenidas tras un procedimiento de recanalización endovascular en un ictus isquémico, mediante la determinación del porcentaje de sus componentes principales, puede ayudar a determinar la naturaleza etiológica del ictus isquémico.

II.3. Objetivos.

Objetivo principal: comparar el resultado del estudio histológico del trombo extraído mediante trombectomía mecánica en situación de ictus isquémico con el diagnóstico etiológico emitido tras el estudio clínico habitual.

Objetivos secundarios

- Determinar si el tipo de técnica empleada en el procedimiento de recanalización endovascular (dispositivo stent o mediante aspiración) se asocia a la presencia de túnica íntima en la muestra histológica.
- Determinar si un mal resultado clínico (NIHSS a las 24 horas) se asocia con la presencia o no de túnica íntima en la muestra histológica.

II.4. Metodología

II.4.1. Diseño

Se trata de un estudio transversal descriptivo con un periodo de reclutamiento de un año.

Diseño de procedimientos

Los procedimientos a realizar son práctica clínica habitual en el tratamiento del ictus agudo, sin que la entrada o no del paciente en el estudio influya en la atención al paciente.

Procedimiento de trombectomía mecánica

La trombectomía mecánica será realizada por neurorradiólogos intervencionistas experimentados bajo sedación a cargo de la unidad de anestesia o de cuidados intensivos. El procedimiento implica la colocación de un catéter-guía 6F en el segmento cervical de la arteria carótida interna. Según las características anatómicas de cada paciente se utilizarán las distintas técnicas de recanalización (uso de stents, catéteres de aspiración, o bien la combinación de ambos). Posteriormente se realizará un informe con el resultado de la recanalización según la escala de TICI.

Procesamiento y análisis histológico del trombo arterial.

El análisis histológico se realizarán según las recomendaciones de Staessens S el al¹⁸. Los coágulos se fijarán inmediatamente en formol tamponado al 10% y posteriormente una vez en el laboratorio se incluirá en parafina. Se realizarán secciones de 3 a 5 μ m. Las muestras se

teñirán con las tinciones de hematoxilina-eosina y de Martius Scarlett azul. La cuantificación histológica de los distintos componentes del coágulo se realizará utilizando el software Orbit Image Analysis (www.Orbit.bio) según el procedimiento operativo estándar.

Estudio etiológico clínico.

Una vez realizada la trombectomía mecánica, los pacientes permanecerán en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Virgen de las Nieves (HVN) durante 24 horas. Posteriormente serán trasladados a planta de hospitalización de su hospital de referencia (Hospital Virgen de las Nieves u Hospital San Cecilio) donde se concluirá el estudio etiológico. Las pruebas complementarias que se aplicarán serán: analítica completa de perfil vascular (colesterol, glucemia, hemoglobina glicosilada...), RM o TC craneal, estudio de árbol vascular con angio-TC, angio-RM o estudio doppler de troncos supraaórticos y cráneo, ecocardiograma transtorácico/transesofágico y registro Holter-ECG de al menos 24 horas. Tras esto, los facultativos realizarán un diagnóstico según la clasificación etiológica TOAST.

II.4.2. Lugar y tiempo de ejecución.

Se analizarán los pacientes tratados en el Hospital Virgen de las Nieves de Granada. El tiempo de reclutamiento de los pacientes será de un año con inicio de septiembre de 2020 (09/2020-09/2021). Posteriormente se procederá al análisis de los datos durante tres meses (10/2021-12/2021). Se completará el estudio con la redacción del texto en dos meses (01/2022-02/2022).

II.4.3 Sujetos

Se reclutan de forma consecutiva a los pacientes diagnosticados de ictus isquémico con oclusión de gran vaso que son tratados mediante trombectomía mecánica por nuestro servicio de neurorradiología intervencionista en el hospital Virgen de las nieves de Granada desde septiembre de 2020 hasta Septiembre de 2021. Tomando como referencia el número de trombectomías del año previa durante el mismo período se espera un reclutamiento de 240 pacientes.

Criterios de inclusión:

- Edad mayor de 18 años.
- Pacientes con diagnóstico de ictus isquémico con oclusión de gran vaso.

- Pacientes subsidiarios de tratamiento revascularizador mediante trombectomía mecánica.
- Firma del consentimiento informado por parte del paciente o su representante legal.

Criterios de exclusión:

- Imposibilidad para la obtención de muestra del trombo tras el procedimiento de trombectomía mecánica.
- Retirada del consentimiento informado.

II.4.4 Variables a estudio.

1. Variable identificativa: número de historia clínica. Variable cuantitativa discreta.
2. Variables demográficas: edad y el sexo. La edad se expresará en años como variable cuantitativa y el sexo como variable cualitativa dicotómica.
3. Variables clínicas: antecedentes de ictus previo, hipertensión arterial, diabetes mellitus, dislipemia, infección por SARS-CoV-2, fibrilación auricular, cardiopatía isquémica, trombofilia, ateromatosis de arterias intracraneales, neoplasia, tabaquismo y tratamiento antiagregante o anticoagulante previo. Todas ellas se analizarán como variables cualitativas nominales dicotómicas (presencia Sí/No)
4. Variables necesarias para analizar el objetivo principal destacamos:
 - Variables relacionadas con el estudio histológico del trombo: proporción del trombo de glóbulos rojos, glóbulos blancos, fibrina y plaquetas. Se trata de variables cuantitativas continuas expresadas en porcentaje.
 - Variable de subtipo etiológico: aterotrombótico, cardioembólico, enfermedad de pequeño vaso/lacunar, infrecuente, indeterminado por evaluación incompleta, indeterminado por combinación de varias causas y criptogénico. Se trata de variables cualitativas ordinales.
5. Variables que permiten el estudio de los objetivos secundarios se encuentran:
 - Variable de presencia de túnica íntima en el estudio histológico del trombo. Se trata de una variable cualitativa nominal dicotómica
 - Variable de técnica de recanalización utilizada: aspiración simple, stent retriever, combinación de aspiración y stent retriever. Se trata de una variable cualitativa nominal.

- Variable de resultado clínico tras la realización del procedimiento mediante la escala NIHSS. Se trata de una variable cualitativa ordinal con rango de puntuación de 0 a 42.

II.4.5 Recogida de variables

Se recogerán de forma prospectiva desde el inicio del estudio. Todas las variables necesarias para el estudio serán extraídas de las historias clínicas a través del soporte informático del hospital (Diraya Clínico) del hospital Virgen de las Nieves. Todos los datos serán revisados y plasmados en una planilla del programa Excel para su posterior análisis por dos investigadores para asegurar que no falten datos y corroborar que dichos datos sean precisos y exactos.

II.4.6 Análisis de los datos.

Para el análisis estadístico los datos se informatizarán anónimamente y serán analizados con el paquete estadístico SPSS versión 23.00.

En primer lugar realizaremos una descripción de las características clínicas de los pacientes. Para las variables cuantitativas describiremos la media y la desviación estándar, la mediana y el rango intercuartílico. Para las variables cualitativas o categóricas describiremos la frecuencia absoluta y su porcentaje.

Para estudiar la relación de las variables numéricas con el resultado etiológico, se aplicará el test t de Student para muestras independientes, o Mann-Whitney en los casos no paramétricos. Cuando las dos variables se midan de forma continua, se calculará el coeficiente de correlación de Pearson o Spearman, según normalidad. Cuando las dos variables se consideren de forma categórica, se aplicará el test chi-cuadrado de Pearson o test exacto de Fisher. La normalidad de los datos se contrastará con el test de Kolmogorov-Smirnov. Para analizar la posible asociación entre el tipo de técnica y el resultado clínico con la presencia/ausencia de túnica íntima, se empleará el test chi-cuadrado de Pearson o Fisher cuando no se cumplan las condiciones de aplicabilidad. Para todos los contrastes se considerará un nivel de significación de 0.05.

II.4.7. Dificultades y limitaciones.

1. En el análisis del trombo: fragmentación/técnicas de tinción/utilización de fibrinolisis iv.
2. En el estudio etiológico.
3. Aparición de nuevos factores que pueden modificar la histología de los trombos (infección Sars-Cov-2). ¿Puede esto alterar la histología del trombo?.

El uso de tratamiento fibrinolítico asociado a la trombectomía podría alterar la composición de los trombos extraídos. Una limitación es que la extracción del trombo podría no siempre reflejar el trombo de forma completa, lo que podría suponer un sesgo ya que quedarían sobrerrepresentados los componentes más estables del trombo.

Otra variable a tener en cuenta es que la determinación etiológica del ictus se realizará en dos hospitales diferentes (HVN y HSC), por tanto podría existir una variabilidad en la interpretación de los criterios TOAST. Para ello se revisarán los datos por dos neurólogos diferentes.

La tinción de Martius Scarlet-Blue no diferencia entre plaquetas y otros componentes relacionados con las plaquetas como el factor de Von Willebrand que podría tener su implicación en la composición del trombo.

La infección por SARS-CoV- 2 promueve un estado protrombótico en una de sus etapas. Debido a esto los pacientes que presentan la conjunción de ictus isquémico e infección por este virus podrían presentar características histológicas propias y suponer un factor de confusión. Para evitar este sesgo potencial, analizaremos los hallazgos histológicos en este subgrupo de pacientes.

II.5. Plan de trabajo

Equipo investigador

Investigador principal: Claudia Muñoz Martínez. Médico Interno Residente (MIR) en neurología en el Hospital Virgen de las Nieves.

Investigadores colaboradores: Juan Carlos Romero Fábrega (MIR neurología), Maria Dolores Fernández Pérez Maria (neuróloga), Clara Eugenia Chamorro Santos (Anatomopatóloga), Pablo Tomás Muñoz (neurorradiólogo intervencionista), Ernesto García Bautista (neurorradiólogo intervencionista), Pedro Pablo Alcazar Romero (neurorradiólogo intervencionista), Rosa M. Martinez Moreno (neurorradióloga intervencionista).

Experiencia del equipo investigador

Todos los investigadores que colaboran en este proyecto son licenciados/graduados en Medicina. Cuentan con una amplia experiencia en cuanto a investigación con comunicaciones a congresos nacionales e internacionales así como publicaciones tanto españolas como internacionales en revistas de alto impacto (más de 1,5 de factor de impacto en JCR)”.

Asignación de tareas y cronograma de actividades.

La asignación del trabajo será la siguiente

Reclutamiento

Desde el día 1 de junio de 2020 se recogerán los datos clínicos de los pacientes con ictus isquémico que se realicen tratamiento endovascular en el hospital Virgen de las Nieves de Granada. Claudia Muñoz Martínez (investigadora principal) y Juan Carlos Romero Fábrega (investigador colaborador), se encargarán de revisar cada semana los nuevos pacientes tratados para incorporarlos según criterios de inclusión y exclusión a la muestra.

Variables de estudio histológico y procedimiento endovascular.

El radiólogo intervencionista que realice cada trombectomía realizará un informe describiendo el dispositivo utilizado y el resultado angiográfico (escala TICI).

La Dra. Chamorro se encargará del análisis histológico de los trombos y facilitará un informe describiendo las características macroscópicas y microscópicas del trombo, la presencia de túnica íntima y el porcentaje de sus componentes principales.

Revisión y recogida de variables

Juan Carlos Romero Fábrega, Claudia Muñoz Martínez y la Dra. Fernández revisarán las historias clínicas de todos los pacientes y recogerán variables. En caso de desacuerdo con alguna variable del estudio se pondrá en común con el resto del equipo en la reunión programada.

Reuniones

Al finalizar el primer mes y a mitad del reclutamiento se realizará una reunión con todo el equipo investigador para poner en común las dificultades que se hayan presentado y los casos concretos que generen dudas.

Estudio estadístico

El estudio estadístico se realizará por Claudia Muñoz Martínez y Juan Carlos Romero Fábrega y será revisado por la estadística del Hospital Virgen de las Nieves.

Final del proyecto

Los resultados del estudio serán publicados en la revista Neurología y se expondrá en el congreso de la Sociedad Española de Neurología.

ACTIVIDAD	PERSONAS IMPLICADAS	TIEMPO
Selección de pacientes	Claudia Muñoz Martínez Juan Carlos Romero Fábrega	Septiembre/20-Septiembre/21
Informe radiológico	Dr. Tomás Muñoz Dr García Bautista Dra. Martinez Moreno Dr. Alcazar Romero	Septiembre/20-Septiembre/21
Análisis histológico	Dra. Chamorro	Septiembre/20-Octubre/21
Recogida de variables	Dra. Fernández Claudia Muñoz Juan Carlos Romero Fábrega	Septiembre/20-Noviembre/21
Análisis estadístico	Claudia Muñoz Martínez Juan Carlos Romero Fábrega	Diciembre/21
Redacción de resultados	Claudia Muñoz Martínez	Enero-Febrero/22
Comunicación de resultados	Todos	Abril/22- Diciembre/22
Reuniones	Todos	Octubre/20 Marzo/21 Febrero/22

II. 6. Aspectos éticos.

El uso de la información necesaria para la realización de este proyecto se encuentra sujeto al desarrollo legal contenido en la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales¹⁹.

El equipo investigador se compromete a salvaguardar la confidencialidad de todos los pacientes incluidos en el estudio. Los datos de los pacientes serán codificados, destacando la ausencia de carácter identificador directo de los pacientes. Únicamente tendrá acceso a la base de datos el investigador principal y los investigadores secundarios.

El protocolo de investigación será presentado al Comité de Ética de Investigación del Hospital Virgen de las Nieves para su lectura y aprobación.

Cada paciente o su representante legal otorgará el consentimiento informado (ver ANEXO II) previamente a ser introducido en el estudio.

II.7. Aplicabilidad y utilidad de los resultados.

El ictus isquémico de etiología criptogénica repercute, como hemos comentado previamente, en una situación de gran incertidumbre. El análisis histológico del trombo no supone ninguna intervención cruenta y la extracción de la muestra es parte del procedimiento cotidiano del ictus con oclusión de gran vaso. Este análisis podría ser la clave que permitiera el diagnóstico etiológico si logramos identificar patrones específicos para cada subtipo.

En relación con la aplicabilidad; el precio de las técnicas histológicas y el tiempo dedicado por parte del profesional sanitario para llevarlas a cabo podría suponer una limitación en la realización de esta prueba de forma sistemática. Por este motivo recomendamos su realización inicialmente sólo en aquellos ictus de etiología no identificada (indeterminados) como ayuda para el diagnóstico.

II.8. Presupuesto

Gastos de personal

No se prevén gastos derivados de la contratación de personal.

Gastos de ejecución

Bienes inventariables: el Hospital Virgen de las Nieves cuenta con la infraestructura y equipación necesaria para realizar todos los procesos y actividades.

Material fungible

- Procesamiento histológico de una muestra:
 - Un cassette: 1,08€

- Dos portas/cubreobjetos: uno para tinción hematoxilina-eosina y otro para Martius Scarlett azul. 0,684€/porta/cubre x2=1,368€.
- Una tinción de Hematoxilina-eosina: 0,05€.
- Una tinción de Martius Scarlett azul: 7,13€.
- Coste Xylol para un caso: 0,04€.
- Coste parafina para un caso: 0,054€.
- Material bibliográfico, didáctico y fotocopias de consentimiento informado.

Gastos de viaje

El proyecto incluye un plan de difusión de los resultados mediante la participación del equipo investigador en congresos nacionales e internacionales.

Desglose de presupuesto

Gastos	Euros
Material de laboratorio	2335
Material bibliográfico, didáctico y fotocopias	300
Viajes	2000
Total	4635

III. Bibliografia.

1. Adams HP Jr, Bendixen BH, Kappelle LJ, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke*. 1993;24(1):35-41.
2. Foulkes MA, Wolf PA, Price TR et al. The Stroke Data Bank: design, methods, and baseline characteristics. *Stroke*. 1988;19(5):547-554.
3. Bang OY, Lee PH, Joo SY et al. Frequency and mechanisms of stroke recurrence after cryptogenic stroke. *Ann Neurol*. 2003;54(2):227-234.
4. Singh P, Doostkam S, Reinhard M et al. Immunohistochemical analysis of thrombi retrieved during treatment of acute ischemic stroke: does stent-retriever cause intimal damage?. *Stroke*. 2013;44(6):1720-1722.
5. Arai D, Ishii A, Chihara H et al. Histological examination of vascular damage caused by stent retriever thrombectomy devices. *J Neurointerv Surg*. 2016;8(10):992-995.
6. Funatsu N, Hayakawa M, Hashimoto T, et al. Vascular wall components in thrombi obtained by acute stroke thrombectomy: clinical significance and related factors. *J Neurointerv Surg*. 2019;11(3):232-236.
7. Liebeskind DS, Sanossian N, Yong WH, et al. CT and MRI early vessel signs reflect clot composition in acute stroke. *Stroke*. 2011;42(5):1237-1243.
8. Singh P, Kaur R, Kaur A. Clot composition and treatment approach to acute ischemic stroke: The road so far. *Ann Indian Acad Neurol*. 2013;16(4):494-497.
9. Hashimoto T, Hayakawa M, Funatsu N, et al. Histopathologic Analysis of Retrieved Thrombi Associated With Successful Reperfusion After Acute Stroke Thrombectomy. *Stroke*. 2016;47(12):3035-3037.
10. Marder VJ, Chute DJ, Starkman S, et al. Analysis of thrombi retrieved from cerebral arteries of patients with acute ischemic stroke. *Stroke*. 2006;37(8):2086-2093.
11. Boeckh-Behrens T, Schubert M, Förschler A, et al. The Impact of Histological Clot Composition in Embolic Stroke. *Clin Neuroradiol*. 2016;26(2):189-197.
12. Brinjikji W, Duffy S, Burrows A, et al. Correlation of imaging and histopathology of thrombi in acute ischemic stroke with etiology and outcome: a systematic review. *J Neurointerv Surg*. 2017;9(6):529-534.

13. De Meyer SF, Andersson T, Baxter B, et al. Analyses of thrombi in acute ischemic stroke: A consensus statement on current knowledge and future directions. *Int J Stroke*. 2017;12(6):606-614.
14. Niesten JM, van der Schaaf IC, van Dam L, et al. Histopathologic composition of cerebral thrombi of acute stroke patients is correlated with stroke subtype and thrombus attenuation. *PLoS One*. 2014;9(2):e88882.
15. Boeckh-Behrens T, Kleine JF, Zimmer C, et al. Thrombus Histology Suggests Cardioembolic Cause in Cryptogenic Stroke. *Stroke*. 2016;47(7):1864-1871.
16. Sporns PB, Hanning U, Schwindt W, et al. Ischemic Stroke: What Does the Histological Composition Tell Us About the Origin of the Thrombus?. *Stroke*. 2017;48(8):2206-2210
17. Fitzgerald S, Dai D, Wang S, et al. Platelet-Rich Emboli in Cerebral Large Vessel Occlusion Are Associated With a Large Artery Atherosclerosis Source. *Stroke*. 2019;50(7):1907-1910.
18. Staessens S, Fitzgerald S, Andersson T, et al. Histological stroke clot analysis after thrombectomy: Technical aspects and recommendations [published online ahead of print, 2019 Nov 3]. *Int J Stroke*. 2019;1747493019884527.
19. Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales. Boletín Oficial del Estado, núm. 294, de 06/12/2018. <https://www.boe.es/eli/es/lo/2018/12/05/3/con>

ANEXO I

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE Y/O REPRESENTANTE LEGAL

Título del estudio

Análisis histológico del trombo arterial en el ictus isquémico agudo y su aportación en el estudio etiológico.

Centro del estudio y servicios implicados

- Hospital Universitario Virgen de las Nieves (HUVN)
- Servicio de Neurología, Radiología y Anatomía Patológica.
- Ciudad: Granada

Propuesta de participación

Le proponemos participar en un estudio de investigación. Antes de tomar su decisión es importante que comprenda cuál es el motivo para realizar este estudio y qué implicaciones tendría para usted. Por favor, tómese su tiempo en leer detenidamente la información que a continuación le detallamos. Consúltelo con quién crea necesario y pregúntenos si algo no le ha quedado claro o si desea más información.

Naturaleza del estudio e importancia del mismo.

El ictus isquémico puede ser producido por diversas patologías. Actualmente para descubrir la causa principal del evento se realizan múltiples pruebas complementarias. Pero, a pesar de esta cantidad de pruebas, hasta un 40% de los ictus isquémicos quedan sin diagnóstico claro, con el riesgo de recurrencia que supone este hecho. En la fase aguda del ictus isquémico existe la opción de tratar mediante la extracción del material trombótico que está originando los síntomas (trombectomía mecánica). Nuestra hipótesis se centra en que el estudio de este material podría ayudarnos en la detección de la causa final del ictus.

¿Qué pacientes son seleccionados?

Se solicita la participación de aquellos pacientes que son sometidos al tratamiento de trombectomía mecánica en nuestro centro hospitalario.

¿Es obligatoria la participación?

La inclusión en el estudio es voluntaria. Si se acepta la participación, se le prestará la información pertinente, resolviendo las dudas que surjan y se solicitará aceptación del consentimiento. En cualquier momento podrá cambiar de opinión sin necesidad de explicar los motivos.

¿Cómo se llevará a cabo el estudio?

Se estudiará la relación entre las causas del ictus isquémico mediante el estudio clínico habitual y estudio del material trombótico para identificar patrones específicos que podrían ayudar a distinguir las causas del mismo.

¿Se precisa algún tipo de intervención?

Debido a que es un estudio descriptivo en el que simplemente se lleva a cabo un análisis de datos, no se realizarán intervenciones diagnósticas, terapéuticas ni procedimientos invasivos más allá de los realizados en la práctica clínica habitual.

Implicaciones para el participante

La participación es totalmente voluntaria. El paciente puede retirarse del estudio cuando así lo manifieste, sin dar explicaciones y sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.

Todos los datos carácter personal, obtenidos en este estudio son confidenciales y se tratarán conforme a la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales. La información obtenida se utilizará exclusivamente para los fines específicos de este estudio. Los participantes del estudio no obtendrán un beneficio directo de su participación en el mismo. Sin embargo, su inclusión permitirá llevar a cabo un estudio que permita avanzar en las posibilidades diagnósticas del ictus isquémico.

¿Quién conocerá mi participación y los resultados que se obtengan?

Su participación en el estudio será en todo momento confidencial y anónima. Todos los datos obtenidos se tratarán conforme a la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal (Ley 15/1999 de 13 de diciembre). El acceso a sus datos médicos quedará restringido a los investigadores del estudio, que se responsabilizarán de su custodia en condiciones de seguridad. Los resultados de la investigación podrán ser difundidos en alguna publicación médica o comunicados en reuniones científicas. En cualquier caso, no se utilizarán nombres o apellidos y no se darán a conocer otros datos de carácter personal sin la autorización expresa del paciente.

¿Participar en el estudio implica algún riesgo?

Dado que el estudio sólo implica recopilar y analizar datos clínicos de los participantes, no existe ningún riesgo en términos de salud.

¿Quién organiza la investigación?

El estudio está organizado por el servicio de Neurología del Hospital Universitario Virgen de las Nieves y el investigador principal del mismo es Claudia Muñoz Martínez.

¿Quién ha valorado los aspectos éticos del estudio?

El estudio ha sido valorado por el Comité Ético del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada.

Si requiere información adicional se puede poner en contacto con nuestro personal a través del teléfono de la Secretaria del Servicio de Neurología del Hospital Universitario Virgen de las Nieves.



ANEXO II - CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo (nombre y apellidos del participante), _____, con DNI manifiesto que, tras ser informado por el médico responsable de este estudio de investigación:

Yo (nombre y apellidos del representante legal) _____, con DNI manifiesto que, tras ser informado por el médico responsable de este estudio de investigación:

- He recibido información suficiente en relación con la justificación, objetivos y metodología del estudio.
- He podido realizar preguntas respecto a dudas sobre el estudio, las cuales han sido suficientemente aclaradas.
- Se me ha informado que todos los datos obtenidos en este estudio serán confidenciales y se tratarán conforme establece la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal 15/99, de manera que la información obtenida sólo se utilizará para los fines específicos del estudio.
- Comprendo que la participación en este estudio es voluntaria y que puedo cambiar de opinión cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que ello suponga ninguna repercusión en cuestiones de salud.
- Se ha ofrecido la posibilidad de ser informado acerca de datos de carácter personal que se obtengan en el curso de la investigación, incluidos los descubrimientos inesperados que se puedan producir, siempre que esta información sea necesaria para evitar un perjuicio para la salud del participante. A este respecto, deseo ser informado: Sí / No.
- Del mismo modo, debido a las limitaciones asociadas con transmisión de información presencial y de firma por escrito derivadas de la pandemia por SARS-CoV-2, acepto que la transmisión de la información y aceptación del presente consentimiento sea verbal y por vía telefónica.

Por todo ello, presto libremente conformidad para participar en el estudio titulado “Análisis histológico del trombo arterial en el ictus isquémico agudo y su aportación en el estudio etiológico.”

Firma del participante o tutor legal

Firma del profesional sanitario

Fecha, nombre y apellidos:

Fecha, nombre y apellidos:

REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Yo (nombre y apellidos del participante), _____ , con DNI
..... retiro mi consentimiento para este estudio de investigación.

Yo (nombre y apellidos del representante legal) _____ , con DNI
..... retiro mi consentimiento para este estudio de investigación.

Firma del participante o tutor legal

Firma del profesional sanitario

Fecha, nombre y apellidos:

Fecha, nombre y apellidos:

