

PERFIL SÉRICO DE APOLIPOPROTEÍNA D EN PACIENTES CON INFARTO CEREBRAL AGUDO

Curso 2020 - 2021



Universidad de Valladolid

Facultad de Medicina

Autora: Luz Labajos Samos

Tutores: Diego Sánchez Romero y Juan Francisco Arenillas Lara

Unidad de Ictus del Hospital Clínico Universitario de Valladolid e Instituto de Biología y Genética Molecular

ÍNDICE

1. RESUMEN	2
2. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	3
3. MATERIAL Y MÉTODOS	4
3.1 Diseño del estudio y selección de pacientes	4
3.2 Protocolo clínico	5
3.3 Protocolo de muestras biológicas	5
3.3.1. Protocolo hospitalario	5
3.3.2. Protocolo de laboratorio	6
3.4 Protocolo radiológico	6
3.5 Variables de partida	7
3.6 Variables pronósticas	8
3.7 Análisis de datos	8
4. RESULTADOS	10
4.1 Análisis de las variables de partida	10
4.2. Análisis multivariado de las variables de partida	11
4.3 Análisis bivariado de las variables pronósticas	12
5. DISCUSIÓN	12
6. CONCLUSIONES	15
7. TABLAS Y FIGURAS	16
8. BIBLIOGRAFÍA	22
9. AGRADECIMIENTOS Y FINANCIACIÓN	24
10. ANEXOS	25

1. Resumen:

Objetivos: Describir los niveles séricos de apolipoproteína D (ApoD) a lo largo de 5 días tras un infarto cerebral agudo y compararlos con los niveles de controles sanos. Estudiar la relación entre ApoD y su variación temporal y las variables de partida, y analizar si ApoD puede predecir la evolución clínico-radiológica del ictus.

Métodos: Estudio prospectivo de pacientes consecutivos ingresados en la Unidad de Ictus del Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Se incluyeron pacientes con ictus isquémico de < 24 horas de duración y se emplearon familiares de primer grado y edad similar como controles. Se extrajeron muestras sanguíneas específicamente para este trabajo a la llegada a la Unidad de Ictus, 24 horas, 48 horas y 5 días o al alta. Fueron procesadas para la obtención de suero o plasma y cuantificadas por el equipo investigador mediante ELISA. Se recogieron variables de partida que incluyen parámetros, clínicos, etiológicos, terapéuticos, temporales y radiológicos y variables pronósticas para definir la evolución clínico-radiológica del ictus.

Resultados: No se encontraron diferencias significativas en la concentración de ApoD en los distintos puntos temporales ni entre pacientes (n = 34) y controles (n = 7). Se observó una tendencia de disminución, siendo los niveles a la llegada los más altos observados. Se encontró que el colesterol total y el LDL modifican la variación temporal de ApoD ($p < 0.05$). Los individuos ≥ 80 años presentan niveles mayores a las 24 y 48 horas frente a los < 80 ($p < 0.05$). De forma relevante, los dislipémicos muestran concentraciones a la llegada más bajas que los no dislipémicos ($p < 0.05$). No se demostró que ApoD influyera en la evolución clínico-radiológica del ictus.

Conclusiones: La ApoD sérica no sigue un perfil de proteína de fase aguda en el ictus isquémico en la ventana temporal en que se ha estudiado. Nuestros resultados están influenciados por una gran heterogeneidad y un bajo tamaño muestral y deben interpretarse como un estudio exploratorio que ha originado nuevas hipótesis.

2. Introducción y objetivos:

El infarto cerebral agudo se produce por una disminución focal en la circulación arterial lo suficientemente duradera como para generar una lesión irreversible en el parénquima. Este daño se manifiesta clínicamente como una disfunción neurológica focal de inicio agudo, conocida como ictus [1]. El ictus se clasifica en isquémico y hemorrágico, representando el primero el 80% de todos los ictus. En España en 2018, la enfermedad cerebrovascular fue la primera causa de muerte de origen circulatorio tanto en hombres como mujeres, suponiendo un 7% de todas las defunciones en ese año, con una incidencia en 2011 de 252 casos por 100.000 habitantes. Además, el ictus es una causa importante de morbilidad y discapacidad [2,3].

En los últimos 10 años el manejo agudo del ictus ha cambiado drásticamente con la implementación de técnicas de imagen que permiten su diagnóstico precoz y los tratamientos endovasculares de reperfusión. La neuroprotección tiene un papel muy importante y es objeto de estudio farmacológico, aunque hasta la fecha no hay ningún medicamento aprobado específicamente para este fin [4].

La apolipoproteína D (ApoD) es una glicoproteína perteneciente a la familia de las lipocalinas, relacionadas con el transporte de moléculas hidrofóbicas de bajo peso molecular [5]. Es una proteína secretada, pudiendo encontrarse en tejidos que no la expresan directamente, como el hígado o la sangre [6]. Cuando se produce una lesión en el tejido nervioso, tanto periférico como central, los niveles de ApoD aumentan y la proteína se acumula en el tejido circundante [7,8]. En modelos animales de ictus, se ha comprobado que la cantidad de ApoD en el tejido cerebral aumenta tras la isquemia y niveles mayores se relacionan con una mejor recuperación funcional [9]. Este aumento sigue un perfil temporal y regional, incrementándose en regiones adyacentes a la zona de lesión instaurada (*core*) a partir de las 24 horas y especialmente a las 48 horas tras la isquemia [10]. ApoD se ha estudiado en enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, Parkinson o esclerosis múltiple, donde se encuentra elevada en líquido cefalorraquídeo. ApoD ejerce un papel neuroprotector frente al estrés oxidativo, inflamatorio y la excitotoxicidad que parece estar relacionado con su capacidad para unir lípidos como el ácido araquidónico, precursor de múltiples moléculas que intervienen en vías inflamatorias [6].

Hasta la fecha, ApoD no se ha estudiado en suero de pacientes que han sufrido un ictus. Conocer la dinámica de esta proteína podría ser útil para identificar marcadores pronósticos e investigar nuevas ventanas terapéuticas. Tomando los modelos animales de ictus como referencia, se espera observar un aumento sérico de ApoD, reflejo del

aumento en tejido cerebral, congruente con el tamaño, duración y localización del infarto.

Este estudio se ha diseñado para analizar el comportamiento de los niveles séricos de ApoD en pacientes que han sufrido un infarto cerebral agudo. Para ello se establecen los siguientes objetivos: 1 – Describir el perfil temporal de ApoD sérica en fase aguda del ictus isquémico y compararlo con el de los controles sanos. 2 – Estudiar la relación entre la concentración basal de ApoD y su variación temporal y variables de partida. 3 – Estudiar si la variación de la concentración de ApoD durante la fase aguda predice la evolución clínico-radiológica precoz de los pacientes.

3. Materiales y métodos:

3.1 Diseño del estudio y selección de pacientes:

Estudio prospectivo, longitudinal, unicéntrico y observacional que incluye a los pacientes consecutivos atendidos por la Unidad de Ictus del Hospital Clínico Universitario de Valladolid (HCUV) entre febrero y abril de 2021. Los pacientes se incluirán de acuerdo a los siguientes criterios:

1. Primer episodio de infarto cerebral agudo definido como ictus isquémico que ocasiona una lesión irreversible confirmada mediante neuroimagen: Tomografía computarizada (TC) y/o resonancia magnética cerebral (RM). Se incluyen también aquellos pacientes con tejido hipoperfundido (penumbra) demostrado mediante TC-perfusión que tras tratamiento de reperfusión no presentan lesión en neuroimagen.
2. Infarto de menos de 24 horas de evolución desde el momento en que el paciente fue visto bien por última vez.
3. No se prevé en el momento del ingreso necesidad de cuidados críticos (ingreso en UCI) ni tratamiento quirúrgico.
4. Ausencia de enfermedad neurodegenerativa o trastorno psiquiátrico coexistente. No deterioro cognitivo significativo previo al ictus.
5. Buena calidad de vida previa al ictus (Rankin previo 0-2).
6. Ausencia de tratamiento activo con tamoxifeno.
7. Obtención de consentimiento informado para la extracción de muestras biológicas (Ver Anexos).

Los controles sanos representan a familiares convivientes con el paciente, del mismo rango de edad y con similar hábito dietético. Tendrán que cumplir, además, los siguientes criterios:

1. Ausencia de antecedente de enfermedad cerebrovascular, enfermedades neurodegenerativas y mentales.
2. Ausencia de deterioro cognitivo significativo (comprendido como la ausencia de compromiso de las actividades básicas de la vida diaria).

El estudio contó con la aprobación del CEIC del HCUV y se realizó respetando los principios éticos de la Declaración de Helsinki y del Convenio de Oviedo. Los datos clínicos y radiológicos de los pacientes, así como sus muestras biológicas, se han tratado como estipula la normativa vigente de protección de datos de carácter personal.

Los criterios STROBE [11,12] se emplean como guía para reportar los datos de este estudio.

3.2 Protocolo clínico:

El manejo de los pacientes se lleva a cabo según el protocolo del HCUV, realizado siguiendo los protocolos clínicos internacionales para el diagnóstico y tratamiento del ictus [13]. Tras la activación del código ictus, cuyo objetivo final es permitir el tratamiento especializado precoz, el paciente es trasladado y valorado en urgencias empleando las escalas NIHSS (Ver Anexos) y escala modificada de Rankin (Ver Anexos) para determinar el grado de afectación neurológica y el grado de dependencia respectivamente. Se realiza neuroimagen urgente y se decide el tratamiento acorde al tiempo de evolución del ictus y las características del paciente. En caso de ser subsidiario de terapia de reperusión, esta se realiza en la sala de neurointervencionismo por un equipo de neurorradiólogos intervencionistas. En el supuesto de recibir tratamiento fibrinolítico, este se realiza mediante la administración de activador tisular del plasminógeno (rt-PA) intravenoso, siendo administrado en algunos casos en el hospital de origen antes del traslado al HCUV. Tras el tratamiento, los pacientes quedan ingresados en la Unidad de Ictus.

3.3 Protocolo de muestras biológicas:

3.3.1. Protocolo hospitalario.

Se realizaron extracciones sanguíneas en ayuno por venopunción antebraquial al momento de ingreso en la Unidad de Ictus, a las 24 horas del ingreso, a las 48 horas y a los 5 días o al alta, si este sucedió antes del 5º día. Sólo se extrajo una muestra al alta en caso de haber pasado 24 horas desde la última. Los puntos temporales se espacian siempre 24 horas salvo la llegada y la primera muestra, que se separan por 24 ± 12 horas. Se creó una base de datos diferente para organizar los días de extracción de

cada paciente (Ver Anexos). Se emplearon tubos con gel separador y tubos con heparina de litio para obtener suero y plasma respectivamente. Una vez obtenidas, las muestras se centrifugaron a 4°C, 3500 rpm, el suero y el plasma se alicuotaron con etiquetado anónimo y se almacenaron a -20°C hasta el momento de su análisis.

3.3.2. Protocolo de laboratorio.

Las muestras se transportaron en hielo seco desde el HCUV hasta el Instituto de Biología y Genética Molecular, donde se mantuvieron a -20°C. La cuantificación plasmática de ApoD se llevó a cabo mediante la técnica de ELISA (Mabtech Human Apolipoprotein D ELISA^{PRO}). Se seleccionaron las muestras descartándose aquellos pacientes con hemólisis en más de una muestra o hemólisis intensa en al menos una de ellas. Se descongelaron en frigorífico a 4°C y se centrifugaron durante 5 minutos a 16.000 g. Se emplearon 10 µl de cada muestra diluida 1:20.000. Se pipetearon las muestras diluidas en la placa de ELISA siendo las muestras de los pacientes cuantificadas por duplicado. Se procesaron siguiendo las instrucciones del kit y una vez finalizado el procedimiento se leyó la absorbancia a 450 y 650 nm en un lector de placas realizándose corrección por sustracción.

3.4 Protocolo radiológico:

Para la obtención de las variables radiológicas de partida y pronósticas se emplean las imágenes de TC simple, angio-TC y TC-perfusión siguiendo el protocolo de actuación del código ictus. A las 24 horas del ingreso se realiza una nueva prueba de imagen, habitualmente TC. En los casos de accidente isquémico transitorio (pacientes con ictus sin alteraciones en neuroimagen urgente) se hace una resonancia magnética (RM), pudiendo realizarse en el HCUV o en el hospital de origen en caso de que el paciente haya sido trasladado.

Se analizan las siguientes variables de partida en la neuroimagen aguda:

- Cambios isquémicos precoces empleando la escala ASPECTS (Ver Anexos) en las imágenes de TC simple sin contraste.
- Presencia de oclusión arterial intracraneal (IC) y vaso afectado en angio-TC.
- Presencia y grado de ateromatosis de troncos supra-aórticos en angio-TC
- Presencia y volumen de *core* y penumbra en el TC-perfusión empleando el software RAPID AI, definidos como un flujo sanguíneo cerebral < 34% y un Tmax > 6 segundos respectivamente.
- Grado de leucoaraiosis en TC simple medido siguiendo la escala Fazekas (Ver Anexos) adaptada a la TC.

En la neuroimagen subaguda pasadas 24 horas:

- Volumen de hipodensidad final, medido en TC sin contraste o en secuencias T2 FLAIR (*Fluid-Attenuated Inversion Recovery*) y DWI (*Diffusion-weighted Imaging*) en RM. Los volúmenes se calculan siguiendo la fórmula para volúmenes irregulares $\frac{A \times B \times C}{2}$, donde "A" es la longitud máxima donde la hipodensidad tiene el mayor diámetro, "B" la anchura máxima en el plano perpendicular a "A" y "C" la altura, obtenida contando el número de cortes que ocupa la hipodensidad multiplicado por el espesor del corte (descontando el corte más bajo y el más alto). Se utiliza de forma preferente la prueba de imagen más diferida, empleándose la prueba a las 24 horas por defecto.
- Tipo de afectación, definido como cortical, córtico-subcortical o subcortical y presencia y tipo de transformación hemorrágica (TH).

Las imágenes fueron analizadas y contrastadas con la información de los informes elaborados por los neurorradiólogos. El análisis se realizó de forma estructurada, empezando siempre por el TC simple, luego angio-TC, TC-perfusión y por último la neuroimagen subaguda. En el cálculo de los volúmenes se emplearon las imágenes de TC-perfusión como guía para identificar de forma aproximada la ubicación y magnitud del área isquémica.

3.5 Variables de partida:

Clínicas: Demográficas (sexo, edad), factores de riesgo cardiovascular (hipertensión arterial (HTA), diabetes tipo 2 (DM2), dislipemia (DL), tabaquismo, enolismo), tratamientos previos (antiagregación, anticoagulación, estatinas y fibratos), gravedad clínica (determinada mediante la escala de funciones neurológicas básicas NIHSS), grado de dependencia previa al ictus (según la escala modificada de Rankin), hora de inicio del ictus y si este fue presenciado, y datos analíticos obtenidos al ingreso en ayunas (glucemia, hemoglobina glicosilada, colesterol total, HDL, LDL y triglicéridos). La función neurológica y los niveles de ApoD se determinan al momento de ingreso, a las 24 horas, 48 horas y a los 5 días o al alta. Las variables "edad" y "sexo" serán registradas en los controles sanos.

Etiológicas: Ictus de causa cardioembólica, aterotrombótica, enfermedad de pequeño vaso, inhabitual o indeterminada según la clasificación TOAST [14].

Terapéuticas: Tipo de terapia de reperfusión: Ninguna, trombólisis endovenosa aislada, trombectomía mecánica aislada o tratamiento combinado (trombólisis endovenosa y trombectomía).

Temporales: El tiempo desde el inicio del ictus (tomando como tiempo de inicio la última hora en que el paciente fue visto asintomático, en caso de no haber sido presenciado) hasta la llegada al HCUV. El tiempo desde el inicio hasta el momento de reperfusión endovascular en pacientes tratados mediante trombectomía mecánica. El tiempo desde el inicio hasta el momento de fibrinolisis en los tratados exclusivamente mediante esta técnica.

Radiológicas: En TC cerebral simple se definirán: Extensión de los signos precoces de isquemia cerebral mediante la escala ASPECTS [15] y el grado de leucoaraiosis medido según la escala Fazekas y subclasificado como leve (puntuación total d 2) o grave (>2). En angio-TC: Presencia o no de oclusión de gran vaso IC y vaso afectado, presencia de ateromatosis en troncos supra-aórticos clasificada como: Nula, ligera (<50%), moderada (presencia de al menos 1 estenosis > 50%) o grave (al menos 1 estenosis > 70%), presencia de ateromatosis IC clasificada como: Nula, ligera (<50%) o moderada - severa (>50%). En TC perfusión: volumen de core (en mapa de CBF <34%) y volumen de penumbra (en mapa Tmax > 6s). Se recoge también si la afectación es cortical, córtico-subcortical o subcortical, empleando la neuroimagen a las 24h.

Neurointervencionismo: Grado de reperfusión final en pacientes tratados mediante trombectomía mecánica, determinada como la puntuación obtenida en la escala TICIm (*modified Thrombolysis in Cerebral Ischemia*) [16] (Ver Anexos). Se define reperfusión cerebral completa para puntuaciones de 2c – 3.

3.6 Variables pronósticas:

Variables de eficacia: La evolución clínica se evalúa según la diferencia entre la puntuación NIHSS a la llegada y el NIHSS final (5 días o al alta), definiéndose “Mejoría neurológica” como una diferencia e 4 o un NIHSS final d 1. La evolución radiológica se determina mediante el volumen de hipodensidad en neuroimagen pasadas las 24 horas.

Variables de seguridad: Presencia de TH mediante TC y clasificación de la misma según la escala ECASS (European Cooperative Acute Stroke Study) [17] (Ver Anexos).

3.7 Análisis de datos:

El análisis estadístico y la representación gráfica se realizaron con los programas Microsoft Office Excel 365 e IBM SPSS Statistics versión 24. Se comprobó la normalidad de las variables cuantitativas mediante la visualización en histograma con superposición de curva normal. Para las variables que se incluyen en las pruebas estadísticas de

contraste de hipótesis se comprobó la normalidad mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Se hizo un análisis univariado de las variables de partida: Las variables cuantitativas que siguen una distribución normal se presentaron como la media \pm desviación estándar, y en caso de no normalidad mediante mediana y rango intercuartílico (RIQ). Las variables cualitativas se expresaron como frecuencia y porcentaje.

Para el análisis estadístico se recodificaron las siguientes variables: La causa del ictus se agrupó como causa aterotrombótica o indeterminada y otras causas. El uso de estatinas y/o fibratos se recodificó como "Tratamiento hipolipemiente SI/NO". La puntuación ASPECTS se dicotomizó en <9 y ≥ 9 . Se crearon nuevas variables: ApoD se definió en términos porcentuales relativos a la ApoD de llegada. (ApoD24%, ApoD48%). Empleando estas nuevas variables se calculó la variable "Diferencia porcentual de ApoD (" ApoD%)" definida como $100 - \text{"ApoD 48h\%"}$. Por último, se sumaron las variables *core* y penumbra en la variable "Volumen de tejido hipoperfundido".

Se analizaron las diferencias en la concentración de ApoD entre los distintos puntos temporales (ApoD a la llegada, 24 y 48 horas) mediante el test ANOVA de medidas repetidas y se comprobó la diferencia entre los niveles basales de los pacientes y los controles empleando la prueba U de Mann-Whitney, dado el bajo tamaño muestral de estos últimos.

Posteriormente se llevaron a cabo test ANOVA múltiples de medidas repetidas con factores inter-sujeto o covariables, para evaluar la interacción de las variables más relevantes desde el punto de vista clínico con la diferencia temporal de ApoD. Se estudió la correlación entre la concentración de ApoD en los distintos momentos temporales y las variables de partida, empleándose aquellas en que se obtuvieron coeficientes significativos como covariables o factores inter-sujeto en el ANOVA. Para este análisis de correlación se emplearon los coeficientes de Pearson.

Por último, para analizar la interacción entre las variables pronósticas y ApoD se seleccionaron 2 variables independientes (variables-ApoD en adelante): "Diferencia porcentual de ApoD (" ApoD%)" y "ApoD a la llegada". Inicialmente se exploró la correlación entre las variables pronósticas cuantitativas y las variables-ApoD. Seguidamente, se realizó un análisis bivariado empleando el test de Mann Whitney entre las variables-ApoD y las variables pronósticas cualitativas no analizadas en la correlación. Finalmente se realiza regresión logística de forma individual con las variables dependientes "TH" y "Mejoría neurológica", y regresión lineal con la variable dependiente "Volumen de hipodensidad a las 24h". En caso de existir significación

estadística en este último análisis se realizaría un modelo de regresión logística multivariante incluyendo las variables significativas.

Se definió en todos los casos la significación estadística con valores de $p < 0.05$.

4. Resultados:

Desde el 8/02/2021 hasta el 2/04/2021, y de un total de 81 ingresos, se seleccionaron 41 pacientes según los criterios de selección definidos anteriormente, exceptuando los casos de traslado a otro centro hospitalario antes de las 48 horas, diagnóstico final diferente a ictus isquémico y diagnóstico final de accidente isquémico transitorio. De estos 41 pacientes se eliminaron 3 cuyas muestras presentaban hemólisis. Se realizó una selección final de pacientes, priorizando aquellos con características menos atípicas desde el punto de vista clínico y muestras de suero hasta 5 días, dadas las limitaciones de espacio de las placas de ELISA, incluyéndose finalmente 37 pacientes en la cuantificación (Ver Anexos). Se reclutaron como controles un total de 8 familiares de los pacientes. De los 37 pacientes y 8 familiares estudiados, 2 casos y 1 control obtuvieron valores no cuantificables para ApoD a la llegada, por lo que fueron eliminados, quedando finalmente una muestra de casos $n = 35$ y controles $n = 7$.

4.1. Análisis de las variables de partida.

Análisis de los niveles de ApoD en pacientes frente a controles:

Se compararon los niveles de ApoD de llegada en los pacientes con los de los controles. Las concentraciones de ApoD a la llegada en los pacientes (Mediana = 84.3) no fueron mayores a los valores obtenidos en los controles (Mediana = 78.66), $U(N_{\text{pacientes}} = 34, N_{\text{controles}} = 7) = 88.00$, $Z = -1.074$ $p = 0.283$ (Figura 3).

Se compararon las concentraciones de ApoD en los 3 momentos temporales mediante un ANOVA de medidas repetidas (Figura 1), no encontrándose diferencia estadísticamente significativa.

Análisis descriptivo:

Se obtuvo una muestra de pacientes con distribución de edad 72.91 ± 12.94 , siendo un 45.9% mujeres. Se observaron unos valores de ApoD (mg/l) de 91.83 ± 29.60 a la llegada, 79.60 ± 28.49 a las 24 horas, 78.82 ± 28.05 a las 48 horas y 81.27 ± 30.08 a los 5 días. Los controles presentan una edad de 57.57 ± 9.78 , el 71.4% mujeres y niveles

de ApoD de 77 ± 19.23 mg/l. El resto de las variables de partida de los pacientes se presentan en la Tabla 1.

Se realizó un diagrama de cajas con los valores de ApoD en los distintos tiempos y se empleó para identificar valores fuera de rango (Figura 1). Para el resto del estudio se eliminó al paciente 17. Se describió el perfil temporal de ApoD en los pacientes, representándose gráficamente junto con los valores de ApoD en los controles (Figura 2). Tras objetivar la semejanza en la distribución de los datos entre las 48 h y los 5 días y dado el bajo tamaño muestral en la medición a los 5 días ($n = 20$), se prosiguió el análisis descartando dicho momento temporal.

Aplicando el test de Kolmogorov-Smirnov se comprobó la normalidad en la distribución de las variables ApoD a la llegada, 24 horas y 48 horas (Ver Anexos).

4.2. Análisis multivariado de las variables de partida.

El análisis de correlación entre las variables de partida cuantitativas (Ver Anexos) mostró relaciones significativas entre las variables que se muestran en la Tabla 2. Se encontró una correlación leve entre la edad y ApoD 24 y 48h, una asociación moderada entre colesterol total y ApoD 48h y de forma relevante con " ApoD%. De forma análoga, las fracciones HDL y LDL que se correlacionaron con el colesterol total, también lo hicieron con " ApoD% aunque de forma leve. Se observó una asociación inversa entre el tiempo desde el inicio del ictus hasta la reperusión endovascular y los niveles de ApoD 48h ($r = - 0.567$).

Para este estudio se escogieron las siguientes variables de interés clínico: Edad, sexo, HTA, DM, DL, tratamiento hipolipemiente, colesterol total, causa de ictus, tiempo inicio-hospital, ASPECTS dicotomizada, ateromatosis TSA e IC, oclusión de gran vaso, leucoaraiosis y volumen de tejido hipoperfundido. Se escogieron también las siguientes variables de correlación: Tiempo inicio – reperusión endovascular, fracciones LDL y HDL, y se emplearon como factores inter-sujeto o covariables en el ANOVA de medidas repetidas para valorar la interacción con los valores de ApoD (Tabla 3). Se observó que el colesterol total y el LDL interaccionan con ApoD y modifican su variación a lo largo del tiempo (Figura 4), y que hay diferencias significativas entre los niveles de ApoD condicionadas por la edad y la DL (Tabla 3), aunque la variación temporal de ApoD no se ve significativamente modificada (Figura 5). En los sujetos dislipémicos se encontraron diferencias en la concentración de ApoD con respecto a los no dislipémicos a la llegada y a las 48h ($p = 0.029$) y $p=0.015$ con corrección de Bonferroni). También se dicotomizó la variable edad en <80 y ≥ 80 , y se encontró significación estadística

entre los momentos 24h y 48h ($p = 0.006$ y $p=0.001$ respectivamente, con corrección de Bonferroni) (Figura 6). El resto de comparaciones no fueron significativas.

4.3 Análisis bivariado de las variables pronósticas.

Se observó de mediana una mejoría de 3 puntos (RIQ: 0 – 8), un total de 22 pacientes (64.7%) mostraron mejoría neurológica. El volumen de hipodensidad a las 24 horas fue de 5.05 (0.7 – 10.4) y hubo 7 TH (20%) (Tabla 4).

Se explora la correlación entre las variables-ApoD (" ApoD% y ApoD a la llegada) y las variables pronósticas cuantitativas. Dada la no normalidad de " NIHSS, Volumen hipodensidad a las 24h y " ApoD% (Ver Anexos), se emplea el coeficiente ρ de Spearman, sin encontrar ninguna significación (Tabla 5). Se calculó también el coeficiente de Pearson obteniéndose exclusivamente correlación entre " ApoD% y " NIHSS (-0.368 , $p < 0.05$). Se hizo un análisis bivariado mediante el test de Mann-Whitney entre las variables-ApoD y las pronósticas: Mejoría neurológica y TH, no encontrándose diferencias significativas (Tabla 6). Por último, se realizó un análisis de regresión logística entre las variables-ApoD y las variables "Mejoría neurológica" y "TH" y regresión lineal con el "Volumen de hipodensidad 24h" que no resultaron significativos, por lo que no se realiza el modelo de regresión logística multivariante (Tabla 7).

5. Discusión:

Este estudio se ha diseñado específicamente para explorar el comportamiento de ApoD a lo largo de 5 días tras un evento de isquemia cerebral aguda. Se han obtenido resultados opuestos a los esperados según la dinámica de expresión de ApoD descrita en modelos animales de ictus [10]. A pesar de que no se han identificado diferencias significativas en la concentración de ApoD entre los momentos temporales, se observa una tendencia de disminución a lo largo del tiempo, siendo los niveles más altos observables los obtenidos en el momento de llegada. Lo que observamos podría ser la fase final de declive tras un aumento agudo de ApoD [18]. Siguiendo con esta idea, sería esperable encontrar niveles mayores cuanto más cercana fuera la extracción de llegada al inicio del infarto, pero no se encontró relación entre la ApoD de llegada y el tiempo inicio – hospital. Sin embargo, a este análisis hay que añadir la imprecisión que aportan los pacientes con un ictus de inicio desconocido, cuya duración habitualmente se sobreestima. No se pudo demostrar que estas concentraciones fueran diferentes a las de los controles, no obstante, la comparación se realizó con controles cuya media de edad es 58 años frente a 73 en los casos y con un tamaño muestral muy reducido ($n = 7$), lo que disminuye la potencia estadística y la comparabilidad entre los grupos, dado

que la concentración de ApoD sérica aumenta con la edad [19]. Empleando los valores observados en investigaciones que han empleado el mismo método de cuantificación, los niveles medidos para adultos sanos entre 40 y 65 años y > 65 son de 27.73 ± 7.26 y 34.61 ± 9.21 mg/l respectivamente (n = 30 para cada grupo) [19], notablemente inferiores a las observadas en este estudio. Cabe destacar que este trabajo se diseñó tomando como controles a los familiares directos con el fin de obtener individuos comparables a los pacientes y no tanto comparables a la población general.

El estudio multivariado trató de identificar qué factores podían estar detrás de comportamientos diferentes en la variación de ApoD, escogiéndose variables con relevancia clínica: Están descritos cambios en la expresión de ApoD en DM2 y patologías que alteran los niveles de colesterol y HDL. ApoD está presente en placas ateroscleróticas y su capacidad para unir colesterol podría tener importancia en el desarrollo y evolución de las mismas, evento clave en el ictus de origen aterotrombótico [6,20]. Por esta razón se incluyó el grado de ateromatosis y se estudiaron los tratamientos hipolipemiantes: Las estatinas actúan sobre la síntesis de colesterol y los fibratos modifican la producción de apoproteínas y las fracciones de colesterol. Las regiones de *core* y penumbra, e indirectamente el ASPECTS, componen el volumen total de tejido en situación de estrés oxidativo, estímulo para la producción de ApoD [18]. La diferencia encontrada en los sujetos dislipémicos podría significar que estos pacientes tienen niveles basales de ApoD menores. De la misma manera puede explicarse el efecto encontrado para la edad, siendo los pacientes más mayores aquellos con niveles más altos. De forma significativa esta diferencia se obtuvo sólo en los valores 24 y 48h y no en los de llegada, congruente con que el aumento de ApoD dependería del volumen hipoperfundido, pero el retorno a los niveles basales sí se vería influido por la edad. La interacción observada entre el colesterol y la fracción LDL con ApoD resulta interesante ya que objetiva una diferencia en la variación temporal de ApoD según los niveles de colesterol o LDL.

El análisis entre las variables-ApoD y las variables pronósticas se diseñó para responder a la pregunta de si esta molécula y su comportamiento determinan en alguna medida los resultados del infarto. Se ha descrito que no hay relación entre el aumento de ApoD en líquido cefalorraquídeo y la concentración de ApoD sérica, probablemente debido al efecto de la barrera hematoencefálica (BHE) [21]. En el ictus se produce una alteración de la BHE en relación con el volumen de tejido afectado. El principal problema con esta comparación es la poca variedad en el volumen final de infarto, siendo el 75% inferiores a 10 cc. Así, un volumen de tejido infartado muy pequeño podría condicionar una menor

alteración de la BHE y esto reflejarse en un menor paso de ApoD a la sangre. Por otra parte, si lo que sucede es que ApoD aumenta de forma precoz en respuesta al estrés oxidativo, el volumen de infarto a las 24 horas es una infraestimación, existiendo casos con un volumen hipoperfundido muy grande que pudo salvarse casi en su totalidad con el tratamiento reperfusor. En la interpretación de estos resultados influyen también los factores anteriormente mencionados como el colesterol, la edad o la DL.

El no haber visualizado un aumento a lo largo del tiempo en la concentración de esta molécula aporta información relevante, indicando que la ApoD sérica no se comporta como una proteína de fase aguda en el ictus para el intervalo de tiempo en que se ha estudiado. Esto plantea nuevas preguntas de investigación, si se conociera el perfil sérico temprano de ApoD, estas cuantificaciones podrían emplearse para estimar el tiempo de evolución del ictus, dato imprescindible para la toma de decisiones terapéuticas. En el diseño del estudio se incluyó la posibilidad de realizar un análisis posterior a la cuantificación consistente en estudiar el origen tisular de ApoD. El patrón de glicosilación de ApoD es distinto según su lugar de origen, lo que le confiere un peso molecular diferente [22]. La alteración de la BHE permitiría la salida de ApoD al espacio vascular, por lo que la existencia de ApoD de origen cerebral en las muestras a la llegada podría plantearse como marcador de daño de la BHE.

Las principales limitaciones de este trabajo son el bajo tamaño muestral global, especialmente en los controles, y la alta heterogeneidad de los casos incluidos. Esto último ha condicionado un análisis de datos bastante complejo y muy centrado en estudios que requerían agrupar pacientes, lo que disminuye aún más la potencia estadística. Un estudio con estos objetivos se hubiera favorecido de seleccionar casos según características concretas en las variables que más podrían influir en ApoD como el volumen de tejido hipoperfundido o la edad. Por otra parte, los modelos animales de ictus en los que se ha estudiado ApoD, ofrecen datos de cuantificación a nivel tisular pero no en suero o en líquido cefalorraquídeo, lo que dificulta la comparación directa con los resultados de este trabajo. Para valorar la hipótesis de que ApoD aumentara de forma hiperaguda, se seleccionarían pacientes con oclusión proximal de la ACM, inicio de ictus conocido y presencia de *core* inicial tratados con trombectomía, a fin de obtener un patrón de isquemia homogéneo y semejante al producido en los modelos animales. Se realizaría estudio de RM en secuencia HARM (*Hyperintense Acute Reperfusion Marker*) para valorar el daño de la BHE. Se obtendrían muestras seriadas lo más temprano posible, cada 24 horas durante el ingreso y se tomarían muestras adicionales a los 30 y a los 90 días.

6. Conclusiones:

La ApoD sérica no se comporta como una proteína de fase aguda en el infarto cerebral en el período temporal estudiado. Se ha observado que algunas variables como la DL y la edad afectan a los niveles de ApoD en distintos puntos temporales, siendo las concentraciones inferiores en dislipémicos y en menores de 80 años. Se ha encontrado también que el colesterol y la fracción LDL modifican la variación temporal de ApoD. Este trabajo y sus resultados están muy limitados por el bajo tamaño muestral, la gran heterogeneidad en los casos y la ausencia de estudios en suero en modelos animales de ictus. Debe interpretarse como un estudio exploratorio que permite la creación de nuevas hipótesis que merece la pena contrastar: 1) Determinar si la ApoD cuantificada es de origen cerebral. 2) Determinar si ApoD es una proteína de aumento en fase hiperaguda.

7. Tablas y figuras:

Tabla 1. Descripción de las variables de partida de los pacientes.

Edad	72.91 ± 12.94	n = 35	Temporales (minutos)		n = 35
Sexo (femenino)	17 (45.9%)	n = 35	Inicio – hospital	329.94 ± 227.30	
HTA	29 (82.9%)	n = 35	Inicio – RE	377.43 ± 185.39	
DM	8 (22.9%)	n = 35	Inicio – fibrinólisis	187.90 ± 98.56	
DL	19 (54.3%)	n = 35	ASPECTS	10 (9 – 10)	n = 35
Tabaquismo	7 (20%)	n = 35	Leucoaraiosis	19 (54.3%)	n = 35
Enolismo	5 (14.3%)	n = 35	Oclusión gran vaso	19 (54.3%)	n = 35
Antiagregación	6 (17.1%)	n = 35	Vaso afectado		n = 19
Anticoagulación	7 (20%)	n = 35	ACI Intracraneal	1 (2.9%)	
Estatinas	8 (22.9%)	n = 35	ACM M1	10 (52.6%)	
Fibratos	1 (2.9%)	n = 35	ACM M2	5 (26.3%)	
NIHSS		n = 35	ACM M3	2 (10.5%)	
Llegada	8 (3 - 18)		A. Basilar	1 (5.3%)	
24 h	5 (2 - 12)		Ateromatosis TSA		n = 35
48 h	3 (1 - 12)		Nula	10 (27%)	
Final	3 (1 – 10)		Ligera	23 (62.2%)	
Analíticas			Moderada	3 (8.1%)	
Glucemia (mg/dl)	114.97 ± 36.04	n = 35	Grave	1 (2.7%)	
HbA1c (%)	6.21 ± 0.91	n = 32	Ateromatosis IC		n = 35
Colesterol total (mg/dl)	176.22 ± 44.78	n = 32	Nula	8 (21.6%)	
HDL (mg/dl)	45.84 ± 10.06	n = 31	Leve	26 (70.3%)	
LDL (mg/dl)	107.61 ± 41.93	n = 31	Moderada – severa	3 (8.1%)	
TGs (mg/dl)	118.53 ± 39.69	n = 32	Volumen core	0.00 (0 - 13)	n = 26
ApoD (mg/l)			Volumen penumbra	59.85 (0 - 65)	n = 26
Llegada	91.83 ± 29.60	n = 35	Grado reperfusión (TICIm)		n = 14
24 h	79.60 ± 28.49	n = 35	Grado 0	0 (0%)	
48 h	78.82 ± 28.05	n = 35	Grado 1	0 (0%)	
Final	81.27 ± 30.08	n = 20	Grado 2a	0 (0%)	
Ictus presenciado	19 (54.3%)	n = 35	Grado 2b	2 (14.3%)	
Etiología ictus		n = 35	Grado 2c	3 (21.4%)	
Cardioembólica	12 (34.3%)		Grado 3	9 (25.7%)	
Aterotrombótica	4 (11.4%)		Tipo de afectación		n = 34
Indeterminada	14 (40%)		Cortical	2 (5.9%)	
Pequeño vaso	4 (11.4%)		Córtico-subcortical	16 (47.1%)	
Inhabitual	1 (2.9%)		Subcortical	16 (47.1%)	
Tratamiento		n = 35			
Ninguno	15 (42.9%)				
Trombolisis endovenosa	6 (17.1%)				
Trombectomía mecánica	10 (28.6%)				
Combinado	4 (11.4%)				

TGs: Triglicéridos. TSA: Troncos supra-aórticos. IC: Intracraneal. RE: Reperfusión endovascular (trombectomía).ACI: Arteria carótida interna. ACM: Arteria cerebral media. Se incluyen todos los individuos de la muestra (n = 35). Las variables se expresan como media ± desviación estándar en caso de distribución normal, mediana y rango intercuartílico en caso de no normalidad y frecuencia y porcentaje.

Figura 1. Distribución de los valores de ApoD en 3 momentos temporales.

Diagrama de cajas: Los márgenes superior e inferior de la caja son el percentil 75 y 25. La línea interior es la mediana. Las barras superior e inferior representan el P_{90} y P_{10} . Los puntos rojos en la parte superior del gráfico son aquellos valores en la muestra de pacientes con valores por encima del P_{90} y en la parte inferior, por debajo del P_{10} . Al lado de cada punto se indica el número del paciente de la muestra.

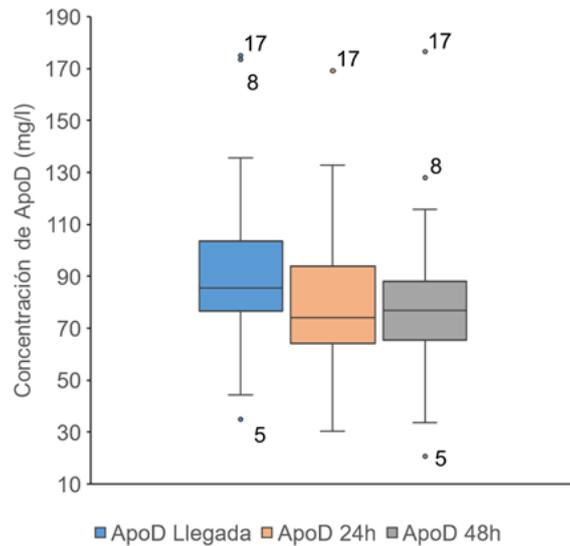
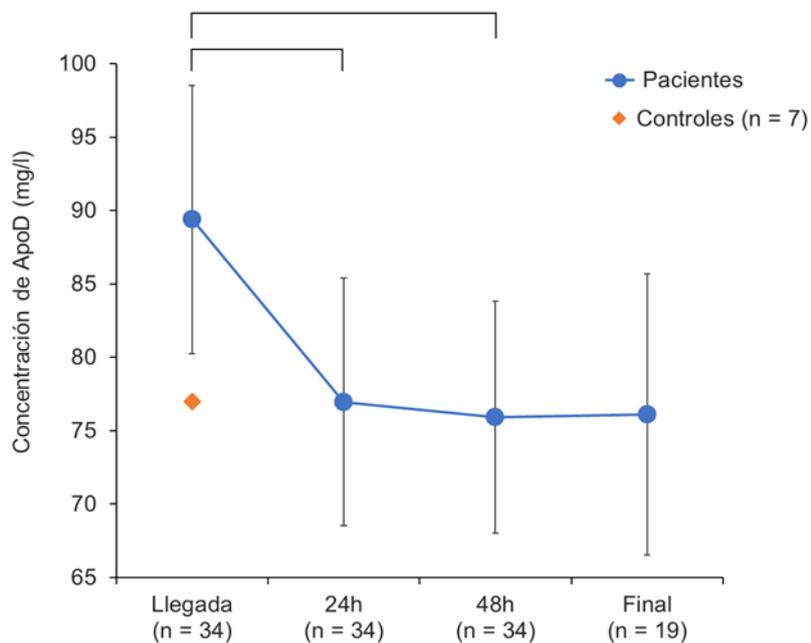
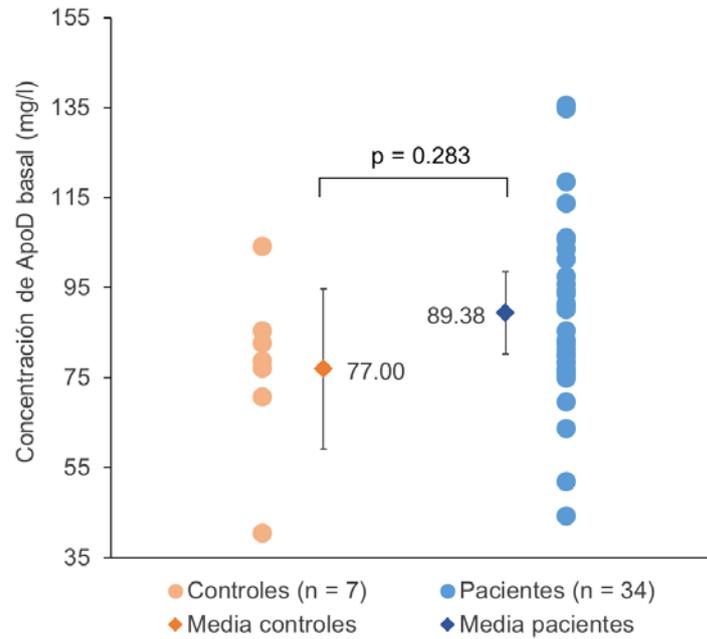


Figura 2. Perfil sérico de las concentraciones de ApoD a lo largo de 4 momentos temporales.



Cada punto representa la media de la concentración de ApoD y las barras, el intervalo de confianza al 95% para la media. La llegada al hospital es el momento de ingreso en la Unidad de Ictus y el momento final es un conjunto temporal que incluye el tiempo desde las 72 horas hasta el 5º día, como se explica en el apartado "protocolo hospitalario". Los niveles de ApoD de los controles se representan como niveles de "llegada". Las llaves muestran las comparaciones entre los distintos momentos temporales (ApoD llegada vs. ApoD24h y ApoD llegada vs. ApoD 48h).

Figura 3. Distribución de los valores de ApoD a la llegada en pacientes y controles.



Se representan los valores de cada uno de los individuos de la muestra a lo largo del eje de ordenadas. Al lado se muestra la media para cada grupo 89,38 en pacientes y 77,00 en controles, junto con los intervalos de confianza al 95% para la media. La llave superior indica el contraste de hipótesis realizado mediante el test U de Mann Whitney.

Tabla 2. Análisis de correlación entre las variables de partida cuantitativas.

	Edad	Colesterol total	HDL	LDL	ApoD Llegada	ApoD 24h	ApoD 48h
Edad		-0.267	0.144	-0.37	0.261	0.382	0.341
Colesterol total	-0.267		0.125	0.974	0.143	0.234	-0.250
HDL	0.144	0.125		-0.041	0.262	0.242	0.026
LDL	-0.37	0.974	-0.041		0.066	0.174	-0.273
ApoD Llegada	0.261	0.143	0.262	0.066		0.817	0.67
ApoD 24h	0.382	0.234	0.242	0.174	0.817		0.706
ApoD 48h	0.341	-0.250	0.026	-0.273	0.67	0.706	
Tiempo inicio-reperfusion endovascular	-0.403	0.155	0.041	0.163	-0.135	-0.231	-0.567

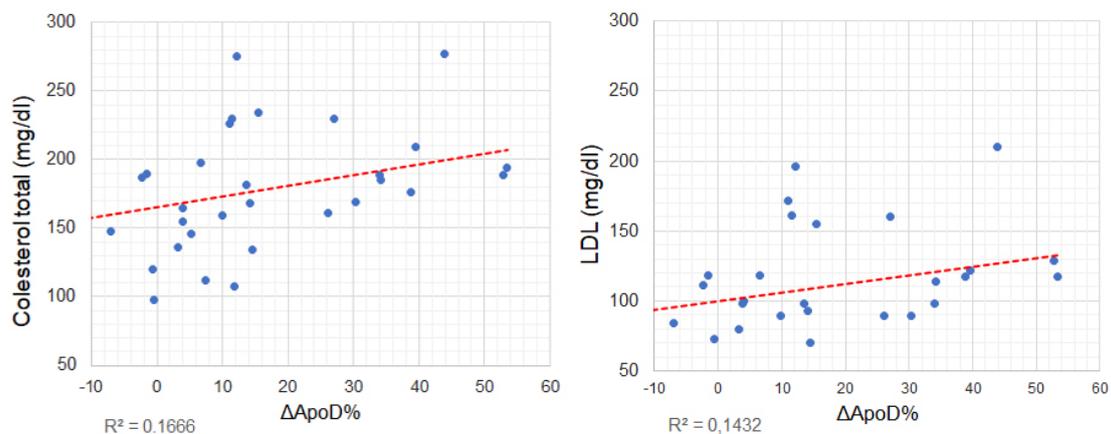
TGs: Triglicéridos. RE: Reperusión endovascular. Se muestran los coeficientes de correlación de Pearson para aquellas variables en que se obtiene algún valor significativo. En negrita los significativos con $p < 0.05$ y subrayados aquellos con $p < 0.01$.

Tabla 3. Análisis multivariante entre ApoD a la llegada, 24 horas y 48 horas y las variables de interés clínico y significación estadística en el estudio de correlación.

Factor/covariable	Test de Mauchly		Pruebas de contraste intra-sujeto			Pruebas de contraste inter-sujeto			
	χ^2	p valor	F	p valor	. ²	F	p valor	. ²	
Sexo	2.946	.229	(2,64)	.095	.909	.003	(1,32) 2.52	.122	.073
Edad	3.233	.199	(2,64)	48,8	.744	.009	(1,32) 4.74	.037	.129
HTA	2.904	.234	(2,64)	.255	.776	.008	(1,32) .265	.610	.008
DM	3.192	.203	(2,64)	1.07	.348	.032	(1,32) 1.38	.249	.041
DL	3.381	.184	(2,64)	.473	.625	.015	(1,32) 5.93	.021	.156
Tratamiento hipolipemiente	3.007	.222	(2,64)	.471	.471	.014	(1,32) .155	.696	.005
Colesterol	2.827	.243	(2,64)	7.94	.001	.215	(1,29) .085	.773	.003
LDL	3.467	.177	(2,56)	5.91	.005	.174	(1,28) .001	.972	.000
HDL	3.477	.176	(2,56)	2.04	.140	.068	(1,28) 1.18	.287	.040
Causa ictus	2.904	.243	(2,64)	.204	.816	.006	(1,32) 1.27	.269	.038
Tiempo I-H	2.960	.228	(2,64)	.054	.947	.002	(1,32) 2.27	.142	.066
Tiempo I-RE	3.823	.148	(2,24)	2.91	.740	.195	(1,12) 1.95	.188	.140
Ateromatosis TSA	2.515	.284	(6,60)	.656	.685	.062	(3,30) 2.22	.106	.182
Ateromatosis IC	3.218	.200	(4,62)	.405	.805	.025	(2,31) 1.60	.217	.094
ASPECTS	3.189	.203	(2,64)	.626	.538	.019	(1,32) .516	.478	.016
Oclusión gran vaso	2.656	.265	(2,64)	.784	.461	.024	(1,32) .715	.404	.022
Leucoaraiosis	4.124	.127	(2,64)	1.23	.296	.037	(1,32) .458	.504	.014
Volumen tejido hipoperfundido	3.138	.208	(2,46)	1.01	.371	.042	(1,23) .154	.699	.007

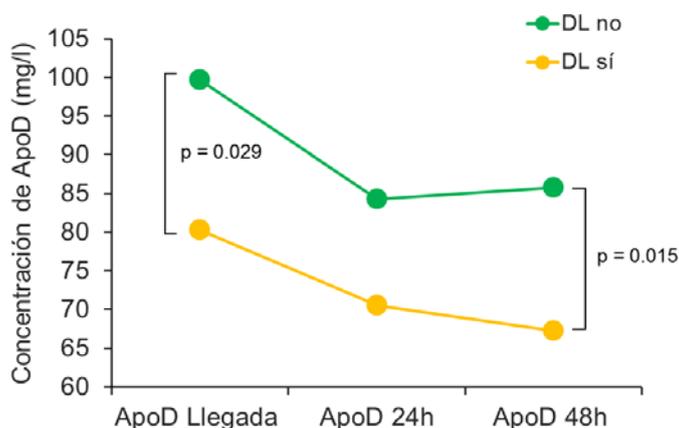
Tiempo I-H: Inicio – Hospital. Tiempo I-RE: Inicio – reperfusión endovascular. TSA: Troncos supra-aórticos. IC: Intracraneal. Causa ictus: se emplea la variable dicotomizada (causa aterotrombótica/indeterminada y otras causas). ASPECTS: se emplea la variable dicotomizada (<9 y ≥ 9). Valores obtenidos del test ANOVA de medidas repetidas con diseño inter-sujeto. El valor .² indica la proporción de la variabilidad total de la variable dependiente que se explica por la variación de la independiente. Las diferencias significativas se señalan con fondo gris.

Figura 4. Gráficos de dispersión para " ApoD% y colesterol total y LDL.



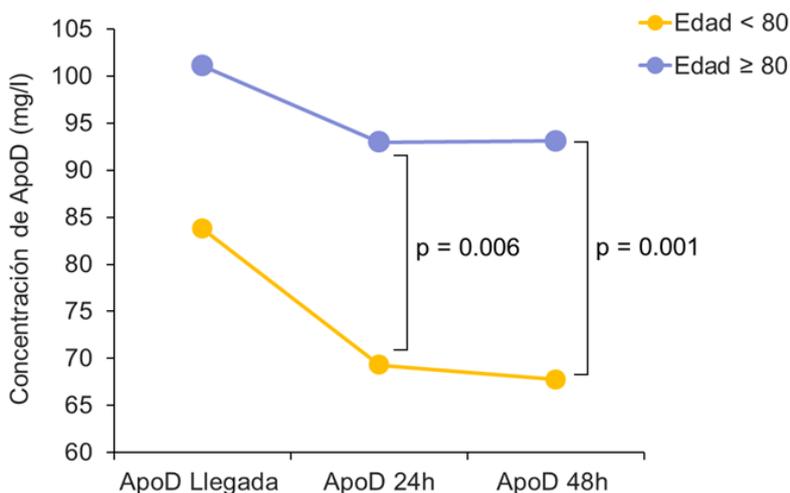
NOTA: En ambos gráficos se ha omitido la representación de un valor extremo de " ApoD% (-93.14), pero se ha tenido en cuenta a la hora de representar la línea de tendencia.

Figura 5. Relación entre la DL y los niveles de ApoD a lo largo del tiempo.



DL: Dislipemia. Se representan los valores medios de ApoD para cada momento temporal en dos tipos de individuos, pacientes dislipémicos y no dislipémicos. (*) Se observa significación estadística, con ajuste para varias comparaciones de Bonferroni, en la diferencia de las medias de ApoD a la llegada ($p = 0.029$) y a las 48h ($p = 0.015$) entre los pacientes dislipémicos y los no dislipémicos.

Figura 6. Relación entre la edad y los niveles de ApoD a lo largo del tiempo.



Se representan los valores medios de ApoD para cada momento temporal en dos grupos de individuos, pacientes < 80 y e 80 años. (*) Se observa significación estadística, con ajuste para varias comparaciones de Bonferroni, en la diferencia de las medias de ApoD a las 24h ($p = 0.006$) y a las 48h ($p=0.001$).

Tabla 4. Descripción de las variables pronósticas en la muestra global y variables pronósticas transformadas.

Volumen de hipodensidad 24h (cc)	5.05 (0.7 – 10.4)	n = 35
TH	7 (20%)	n = 35
TH sintomática	3 (50%)	n = 6
Clasificación ECASS TH		n = 7
HI1	0 (0%)	
HI2	2 (28.6%)	
PH1	2 (28.6%)	
PH2	3 (42.9%)	
Remota	0 (0%)	
<i>Variables transformadas/ nuevas</i>		n = 34
" NIHSS (mejoría neurológica)	3 (0.0 – 8.0)	
Mejoría neurológica (Sí)	22 (64.7%)	

TH: Transformación hemorrágica. " NIHSS: Variable resultado de la resta NIHSS basal – NIHSS final. Mejoría neurológica definida como " NIHSS e 4 o un NIHSS final d 1. Los valores se expresan como mediana y rango intercuartílico o como frecuencia y porcentaje.

Tabla 5. Coeficientes de Spearman para las variables ApoD y las pronósticas

	" ApoD%	" NIHSS	Volumen hipodensidad 24h
" ApoD%		-0.112	0.096
" NIHSS	-0.112		-0.256
Volumen hipodensidad 24h	0.096	-0.256	
ApoD Llegada	0.298	-0.007	0.106

" ApoD%: Diferencia de ApoD porcentual. " NIHSS: Diferencia NIHSS (basal-final). No se observa significación para $p < 0.05$.

Tabla 6. Análisis bivariado entre las variables ApoD y variables pronósticas: Mejoría neurológica y " NIHSS

	Mediana (No)	Mediana (Sí)	N (No)	N (Sí)	Estadístico U	Z-score	P valor
" ApoD%							
Mejoría NRL	10.10	11.98	12	22	118.000	-0.505	0.614
TH	11.73	12.24	27	7	83.000	-0.490	0.624
ApoD Llegada							
Mejoría NRL	81.82	90.50	12	22	117.000	-0.541	0.589
TH	90.13	76.79	27	7	93.000	-1.256	0.209

Mejoría NRL: Mejoría neurológica. TH: Transformación hemorrágica. Resultados del Test de Mann Whitney para la diferencia en los valores de " ApoD% y ApoD Llegada según la existencia de mejoría neurológica y la presencia o no de TH.

Tabla 7. Resultados del análisis de regresión logística y regresión lineal entre las variables ApoD y las variables pronósticas: Volumen de hipodensidad 24h, mejoría neurológica y transformación hemorrágica.

<i>Regresión logística</i>							
	<u>OR</u>	<u>IC (95%)</u>		<u>p valor</u>			
Mejoría NRL							
" ApoD%	0.998	[0.970 – 1.027]		0.889			
ApoD Llegada	1.005	[0.977 – 1.033]		0.744			
TH							
" ApoD%	1.016	[0.975 – 1.059]		0.453			
ApoD Llegada	0.976	[0.938 – 1.016]		0.232			
<i>Regresión lineal</i>							
	<u>F</u>	<u>P valor</u>	<u>R²</u>	<u>R² ajustado</u>	<u>Coef. Reg.</u>	<u>IC (95%)</u>	
Vol.hipodensidad 24h							
" ApoD%	(1,14) .060	0.808	0.002	-0.29	-0.485	[-1.107 , 0.869]	
ApoD Llegada	(1,32) 1.05	0.313	0.32	0.002	0.178	[-0.474 , 1.432]	

Mejoría NRL: Mejoría neurológica. TH: Transformación hemorrágica. OR: Odds Ratio. IC: Intervalo de Confianza. Coef.Reg: Coeficiente de Regresión. Se muestran en negrita las variables dependientes y debajo en sangría las independientes para cada regresión. En la regresión lineal el p valor indica la significación estadística del coeficiente de regresión. El intervalo de confianza muestra los valores que puede tomar el coeficiente de regresión, siendo no significativos aquellos que incluyen el 0.

8. Bibliografía:

1. Gutiérrez-Zúñiga R, Fuentes B, Díez-Tejedor E. Ictus isquémico. Infarto cerebral y ataque isquémico transitorio. Med. - Programa Form. Médica Contin. Acreditado 2019;12:4085-96.
2. Instituto Nacional de Estadística. (National Statistics Institute) [Internet]. [citado 2021 ene 10]; Available from: <https://www.ine.es/dynt3/inebase/index.htm?padre=1171&capsel=1174&L=0>
3. Brea A, Laclaustra M, Martorell E, Pedragosa À. Epidemiología de la enfermedad vascular cerebral en España. Clínica E Investig. En Arterioscler. 2013;25:211-7.
4. Hankey GJ. Stroke. The Lancet 2017;389:641-54.
5. Weech PK, Provost P, Tremblay NM, Camato RN, Milne RW, Marcel YL, et al. Apolipoprotein D--an atypical apolipoprotein. Prog. Lipid Res. 1991;30:259-66.
6. Rassart E, Bedirian A, Do Carmo S, Guinard O, Sirois J, Terrisse L, et al. Apolipoprotein D. Biochim. Biophys. Acta 2000;1482:185-98.
7. Boyles JK, Notterpek LM, Wardell MR, Rall SC. Identification, characterization, and tissue distribution of apolipoprotein D in the rat. J. Lipid Res. 1990;31:2243-56.
8. Terrisse L, Séguin D, Bertrand P, Poirier J, Milne R, Rassart E. Modulation of apolipoprotein D and apolipoprotein E expression in rat hippocampus after entorhinal cortex lesion. Brain Res. Mol. Brain Res. 1999;70:26-35.

9. Rickhag M, Deierborg T, Patel S, Ruscher K, Wieloch T. Apolipoprotein D is elevated in oligodendrocytes in the peri-infarct region after experimental stroke: influence of enriched environment. *J. Cereb. Blood Flow Metab. Off. J. Int. Soc. Cereb. Blood Flow Metab.* 2008;28:551-62.
10. Rickhag M, Wieloch T, Gidö G, Elmér E, Krogh M, Murray J, et al. Comprehensive regional and temporal gene expression profiling of the rat brain during the first 24 h after experimental stroke identifies dynamic ischemia-induced gene expression patterns, and reveals a biphasic activation of genes in surviving tissue. *J. Neurochem.* 2006;96:14-29.
11. STROBE_checklist_v4_combined.pdf [Internet]. [citado 2021 ene 1]; Available from: https://www.strobe-statement.org/fileadmin/Strobe/uploads/checklists/STROBE_checklist_v4_combined.pdf
12. Vandembroucke JP, Elm E von, Altman DG, Gøtzsche PC, Mulrow CD, Pocock SJ, et al. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE): Explanation and Elaboration. *Ann. Intern. Med.* 2007;147:W-163.
13. Protocolos de diagnóstico y tratamiento del ICTUS [Internet]. [citado 2020 dic 29]; Available from: <https://icscyl.com/ictus/>
14. Adams Harold P., Biller José. Classification of Subtypes of Ischemic Stroke. *Stroke* 2015;46:e114-7.
15. 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 Lond. Engl.* 2000;355:1670-4.
16. Goyal M, Fargen KM, Turk AS, Mocco J, Liebeskind DS, Frei D, et al. 2C or not 2C: defining an improved revascularization grading scale and the need for standardization of angiography outcomes in stroke trials. *J. Neurointerventional Surg.* 2014;6:83-6.
17. Fiorelli M, Bastianello S, von Kummer R, del Zoppo GJ, Larrue V, Lesaffre E, et al. Hemorrhagic transformation within 36 hours of a cerebral infarct: relationships with early clinical deterioration and 3-month outcome in the European Cooperative Acute Stroke Study I (ECASS I) cohort. *Stroke* 1999;30:2280-4.
18. Ganfornina MD, Do Carmo S, Lora JM, Torres-Schumann S, Vogel M, Allhorn M, et al. Apolipoprotein D is involved in the mechanisms regulating protection from oxidative stress. *Aging Cell* 2008;7:506-15.
19. Waldner A, Dassati S, Redl B, Smania N, Gandolfi M. Apolipoprotein D Concentration in Human Plasma during Aging and in Parkinson's Disease: A Cross-Sectional Study. *Park. Dis.* 2018;2018:3751516.
20. Caparosa EM, Sedgewick AJ, Zenonos G, Zhao Y, Carlisle DL, Stefanescu L, et al. Regional Molecular Signature of the Symptomatic Atherosclerotic Carotid Plaque. *Neurosurgery* 2019;85:E284-93.
21. Holmquist L, Fredrikson S, Vesterberg O. A zone immunoelectrophoresis assay method for quantification of apolipoprotein D in human cerebrospinal fluid. *J. Biochem. Biophys. Methods* 1996;33:1-8.
22. Li H, Ruberu K, Karl T, Garner B. Cerebral Apolipoprotein-D Is Hypoglycosylated Compared to Peripheral Tissues and Is Variably Expressed in Mouse and Human Brain Regions. *PloS One* 2016;11:e0148238.

9. Agradecimientos y financiación:

A Beatriz Gómez-Vicente, enfermera de la Unidad de Ictus, por la enseñanza y ayuda en la recogida de muestras.

A Javier Reyes, enfermero de la Unidad de Ictus, por la ayuda en la recogida de muestras.

Al personal de enfermería de la Unidad de Ictus por la colaboración en las extracciones.

A Lola Ganfornina, investigadora en el IBGM y profesora titular de fisiología en la Universidad de Valladolid, por la ayuda en el laboratorio y el análisis de datos.

A Diego Sánchez, tutor de este trabajo, por la ayuda en el laboratorio y la creación de imágenes en Excel.

A Juan Francisco Arenillas, tutor de este trabajo, por la ayuda en el análisis de imágenes radiológicas y selección de casos.

Este trabajo se ha financiado por medio de fondos de investigación propia del Programa de Ictus del servicio de Neurología del HCUV, gestionados a través de la Fundación General de la UVa (J.F.A.L.), y por el Ministerio de Ciencia e Innovación (Proyecto PID2019-110911RB-I00 (D.S.)).

PERFIL SÉRICO DE APOLIPOPROTEÍNA D EN PACIENTES CON INFARTO CEREBRAL AGUDO

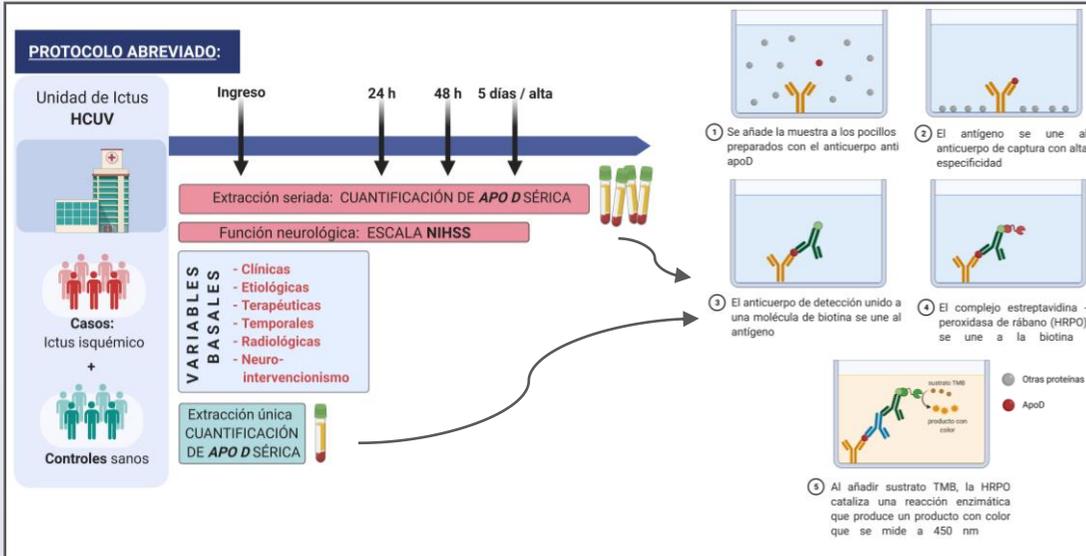
Autora: Luz Labajos Samos

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Introducción: ApoD es una proteína que aumenta en situaciones de lesión de tejido nervioso y tiene un papel relacionado con la neuroprotección frente al estrés oxidativo, inflamatorio y excitotoxicidad. Se ha descrito su aumento a nivel cerebral en modelos animales de ictus.

Objetivos: Describir los niveles séricos de apolipoproteína D (ApoD) a lo largo de 5 días tras un infarto cerebral agudo y compararlos con los niveles de controles sanos. Estudiar la relación entre ApoD y su variación temporal y las variables de partida, y analizar si ApoD puede predecir la evolución clínico-radiológica del ictus.

MATERIALES Y MÉTODOS

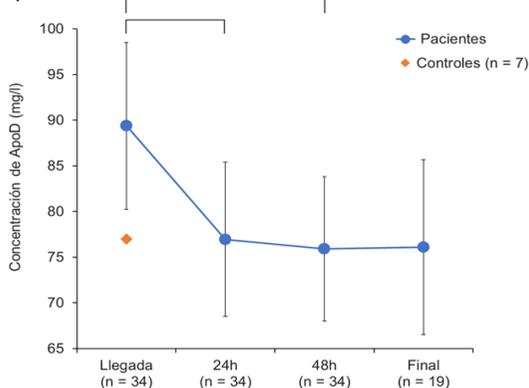


Estudio prospectivo de pacientes consecutivos ingresados en la Unidad de Ictus del Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Se incluyeron pacientes con ictus isquémico de < 24 horas de duración y se emplearon familiares de primer grado y edad similar como controles. Se extrajeron muestras sanguíneas específicamente para este trabajo a la llegada a la Unidad de Ictus, 24 horas, 48 horas y 5 días o al alta. Fueron procesadas para la obtención de suero o plasma y cuantificadas por el equipo investigador mediante ELISA. Se recogieron variables de partida que incluyen parámetros, clínicos, etiológicos, terapéuticos, temporales y radiológicos y variables pronósticas para definir la evolución clínico-radiológica del ictus.

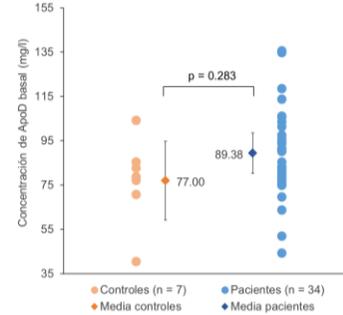
RESULTADOS

No se encontraron diferencias significativas en la concentración de ApoD en los distintos puntos temporales ni entre pacientes (n = 34) y controles (n = 7). Se observó una tendencia de disminución, siendo los niveles a la llegada los más altos observados. Se encontró que el colesterol total y el LDL modifican la variación temporal de ApoD (p < 0.05). Los individuos ≥ 80 años presentan niveles mayores a las 24 y 48 horas frente a los < 80 (p < 0.05). De forma relevante, los dislipémicos muestran concentraciones a la llegada más bajas que los no dislipémicos (p < 0.05). No se demostró que ApoD influyera en la evolución clínico-radiológica del ictus.

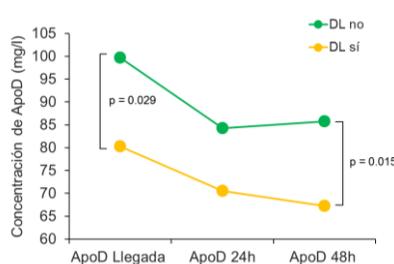
1. Perfil sérico de las concentraciones de ApoD a lo largo de 4 momentos temporales.



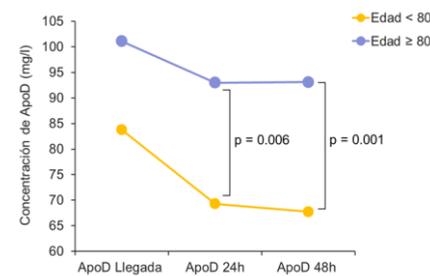
2. Comparación entre los valores de ApoD a la llegada en pacientes y controles



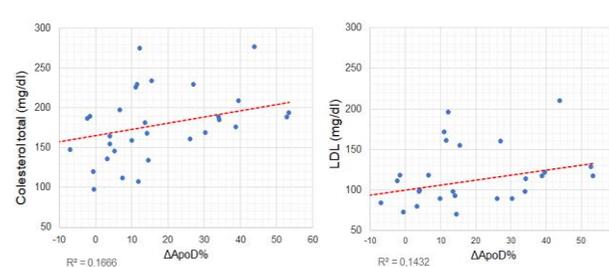
3. Relación entre la DL y los niveles de ApoD a lo largo del tiempo



4. Relación entre la edad y los niveles de ApoD a lo largo del tiempo



5. Relación entre la diferencia de ApoD (ΔApoD%) y el colesterol total y LDL.



CONCLUSIONES

La ApoD sérica no sigue un perfil de proteína de fase aguda en el ictus isquémico en la ventana temporal en que se ha estudiado. Nuestros resultados están influenciados por una gran heterogeneidad y un bajo tamaño muestral y deben interpretarse como un estudio exploratorio que ha originado nuevas hipótesis.

Imágenes en materiales y métodos diseñadas con Biorender.com



Universidad de Valladolid

Facultad de Medicina