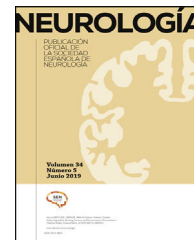




NEUROLOGÍA

www.elsevier.es/neurologia



REVISIÓN

Composición del trombo e implicaciones en la caracterización y el tratamiento en el ictus isquémico

J. Marta-Enguita^{a,b,c,d,*}, F.J.D. Machado^c, J. Orbe^{c,d} y R. Muñoz^{a,d}

^a Servicio de Neurología, Hospital Universitario Navarra, Pamplona, Navarra, España

^b Servicio de Neurología, Hospital Universitario Donostia, San Sebastián, Guipúzcoa, España

^c Laboratorio Aterotrombosis, CIMA/Universidad de Navarra, IdiSNA, Pamplona, Navarra, España

^d RICORS-ICTUS, ISCIII, Madrid, España

Recibido el 19 de julio de 2022; aceptado el 1 de noviembre de 2022

PALABRAS CLAVE

Ictus;
Trombo;
Fibrinólisis;
Neutrophil extracellular traps;
Coagulación

Resumen

Introducción: La obtención del material trombótico en el ictus isquémico desde la generalización de la trombectomía mecánica ha permitido un estudio exhaustivo del mismo y de los posibles mecanismos fisiopatológicos subyacentes a su formación.

Desarrollo: Los mecanismos trombóticos implicados en los diferentes lechos vasculares no difieren en exceso, condicionando una heterogeneidad importante que ha dificultado la identificación de patrones asociados al origen o etiología del ictus. Se ha observado, sin embargo, una mayor influencia de factores como el tiempo de desarrollo del coágulo, el estado inflamatorio sistémico o la activación de vías inmunes y de la coagulación (liberación de *Neutrophil extracellular traps* [NETs], agregación plaquetar, activación endotelial y liberación del factor de von Willebrand). Como resultado, en el seno del trombo conviven en proporciones variables áreas ricas en eritrocitos y áreas ricas en plaquetas/fibrina con una íntima relación entre ellas, y acompañadas con frecuencia de una coraza protectora con alto contenido en fibrina, factor von Willebrand y NETs. La presencia de estos componentes, así como su disposición e interrelación ha demostrado tener efectos en la resistencia a los diferentes tratamientos revascularizadores. El conocimiento de estas vías ha permitido el desarrollo de posibles terapias adyuvantes con capacidad de potenciar los tratamientos fibrinolíticos actuales y/o aumentar la eficacia del tratamiento endovascular.

Conclusión: El conocimiento de los componentes del trombo y los posibles mecanismos implicados en su formación es una potencial vía de desarrollo en el tratamiento del ictus isquémico con resultados prometedores.

© 2024 Sociedad Española de Neurología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: JUAN.MARTAENGUITA@osakidetza.eus (J. Marta-Enguita).

<https://doi.org/10.1016/j.nrl.2022.11.007>

0213-4853/© 2024 Sociedad Española de Neurología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

KEYWORDS

Stroke;
Thrombus;
Fibrinolysis;
Neutrophil
extracellular traps;
Coagulation

Thrombus composition and its implication in ischemic stroke assessment and revascularization treatments

Abstract

Introduction: Since mechanical thrombectomy has allowed ischemic stroke thrombi retrieval, its exhaustive study has involved a better knowledge of physiopathological processes implied in its formation.

Development: Thrombotic pathways involved in the different vascular beds shared common mechanisms conditioning difficulties in the identification of specific patterns associated with stroke etiology. Other factors as clot formation time, associated inflammatory status or activation of additional immune and coagulation pathways (Neutrophil extracellular traps [NETs] delivery, platelet aggregation, endothelial activation and Von Willebrand Factor release) have been described as determinants in thrombus characteristics. In consequence, variable proportions of fibrin/platelet-rich and erythrocyte-rich areas coexist among the thrombus with a close relation within them, accompanied frequently by a protective outer shell with high concentrations of fibrin, NETs and Von Willebrand Factor. The presence of these components, as well as its distribution and interrelationships have demonstrated to have effect on thrombus resistance to revascularization treatments. An adequate knowledge of this pathways has allowed to develop adjuvant therapies capable of enhance current fibrinolytic drugs and/or increase efficacy of endovascular treatments.

Conclusion: The knowledge of thrombus components and mechanisms involved in its formation open a potential way in ischemic stroke therapeutics with promising perspectives.

© 2024 Sociedad Española de Neurología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

El ictus es una de las causas principales de discapacidad y muerte en nuestro entorno¹, representando el ictus isquémico, producido por la obstrucción al paso de flujo arterial en las estructuras encefálicas, el 80% de todos los ictus². El principal agente oclusivo en las arterias cerebrales suele ser material trombótico resultante de procesos de trombosis causados por diversas etiologías. La extracción de este material trombótico con la llegada de procedimientos endovasculares³ ha permitido su análisis detallado y un crecimiento exponencial de estudios referentes al análisis histopatológico del trombo. En esta línea, se han publicado documentos de consenso que buscan la estandarización de los procesos de obtención, manipulación y estudio del trombo⁴.

En este documento se realiza una revisión del estado actual del estudio del trombo en el ictus isquémico, así como de algunas de sus aplicaciones: el conocimiento del proceso fisiopatológico subyacente a su formación; la identificación de patrones asociados a ictus de distintas etiologías que permitan su identificación en situaciones de incertidumbre (ictus indeterminado); el análisis de factores predictores de respuesta a los tratamientos revascularizadores actuales; o la posibilidad de nuevas terapias que potencien o sustituyan a los tratamientos actuales.

Desarrollo

Composición del trombo y conocimiento del proceso fisiopatológico subyacente

En el proceso de trombosis están implicados un compendio de agentes que interaccionan en distinto grado en cada caso hasta la consecución final en la formación del trombo oclusivo. Los mecanismos implicados en el desequilibrio trombosis/fibrinólisis que conducen hacia la formación del coágulo son variados, lo que explica la gran heterogeneidad observada mediante el análisis histológico del trombo⁶.

Uno de los factores más estudiados es el lugar y las condiciones de formación del trombo y cómo repercute el ambiente físico/químico en el que se crea en la composición del mismo. En trombos formados en el lecho arterial, secundarios al daño endotelial, la activación plaquetar⁵ por la vía del factor tisular y la acción del factor de Von Willebrand (FVW)⁶ conllevan una implicación precoz de la trombina, y la rápida formación de una malla extensa de fibrina cuyo entrecruzamiento está mediado por el factor XIII plaquetar (FXIII) liberado tras su activación⁷. Este fenómeno se produce en condiciones de flujos rápidos que favorecen la formación de capas con una intrincada interfaz entre zonas ricas en plaquetas/fibrina y zonas ricas en eritrocitos que dan lugar a las conocidas como líneas de Zahn⁸ (fig. 1). Sin

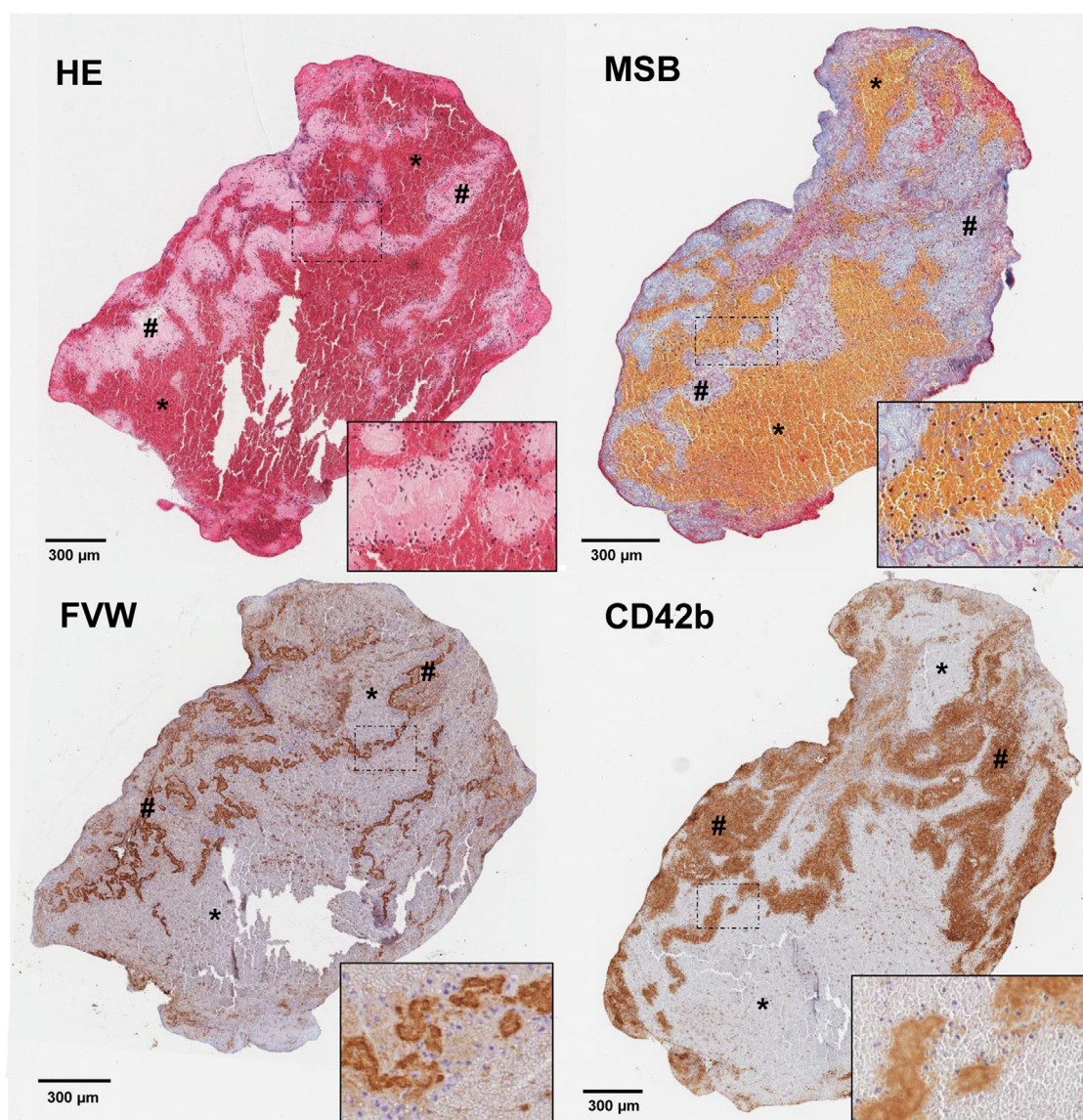


Figura 1 Cortes histológicos de trombo de paciente con ictus isquémico con las siguientes tinciones: hematoxilina-eosina (H&E); Martius Scarlet Blue (MSB); inmunotinción específica para el factor de Von Willebrand (FVW); e inmunotinción específica para plaquetas CD42b⁺. Se marcan con (*) las áreas ricas en plaquetas y con (#) las zonas ricas en eritrocitos. En la esquina inferior derecha de cada imagen se facilita un aumento $\times 20$ de las áreas señaladas.

Fuente: Imágenes cedidas por el Laboratorio de Aterotrombosis, CIMA/Universidad de Navarra.

embargo, este mecanismo no es único, y la presencia de estasis sanguínea con relación a placas de ateroma o alteraciones anatómicas⁹, y el ambiente protrombótico asociado al estado inflamatorio propio de la ateromatosis sistémica están también presentes¹⁰. A nivel de cavidades cardíacas, los mecanismos involucrados incluyen la activación de la vía extrínseca por una situación de endocardio dañado, un contexto de estasis sanguínea y la pérdida del equilibrio hemostático a favor de una situación protrombótica¹¹. Los mecanismos implicados en ambos territorios son por tanto similares, y a su vez variados, lo que apoya parte de la heterogeneidad y del solapamiento observados en los estudios realizados¹².

Muchos autores han intentado asociar el contenido relativo de cada uno de los componentes principales del

trombo con la etiología del ictus con resultados dispares (tabla 1). En los últimos años la publicación de series más largas^{13–15} sugiere una mayor presencia de eritrocitos en trombos de origen aterosclerótico, y especialmente en los secundarios a procesos de disección vascular o rotura de placa ateromatosa, y una mayor concentración de fibrina y plaquetas en los trombos de origen cardíaco, sin poder descartar, sin embargo, que esto último se deba al uso previo de anticoagulación¹⁶. No obstante, la gran variabilidad observada parece imposibilitar una clasificación etiológica factible considerando solo estos parámetros. En esta línea, en base a la serie más amplia publicada hasta la fecha¹⁵, Brinjikji et al. reconocen no encontrar diferencias clínicamente significativas que permitan discernir entre etiología cardioembólica y aterotrombótica conforme a

Tabla 1 Composición del trombo y etiología del ictus

Clasificación etiológica	Composición del trombo
Cardioembólico	↔ eritrocitos y fibrina entre etiologías N = 25⁹¹ ↔ eritrocitos y fibrina entre etiologías N = 50⁹² ↑ eritrocitos con ↔ fibrina entre etiologías N = 17⁹³ ↔ fibrina entre etiologías N = 22³² ↑ eritrocitos y ↓ fibrina con ↔ plaquetas entre etiologías N = 37⁹⁴ ↑ fibrina y ↑ cels inflamatorias N = 32²⁸ ↑ fibrina y ↑ cels inflamatorias con ↓ eritrocitos N = 137¹³ ↑ NETs N = 68²⁶ ↑ fibrina y ↑ cels inflamatorias con ↓ eritrocitos N = 187⁷⁰ ↑ fibrina y ↔ cels inflamatoria entre etiología N = 79⁶⁴ ↑ eritrocitos N = 37⁶⁶ ↑ macrófagos N = 85⁹⁵ ↑ NETs N = 80³³
Aterotrombótico	↑ fibrina y plaquetas y ↓ eritrocitos con ↔ cels inflamatorias N = 1.350¹⁵ ↑ fibrina con ↔ plaquetas entre etiologías N = 37⁹⁴ ↑ linfocitos T N = 54³⁴ ↑ eritrocitos y ↓ fibrina N = 32²⁸ ↑ eritrocitos y ↓ fibrina N = 79⁶⁴ ↑ plaquetas N = 105⁹⁶ ↑ eritrocitos y ↓ fibrina y plaquetas con ↔ cels inflamatorias N = 1.350¹⁵
Ictus asociado a cáncer/estado hipercoagulabilidad	↑ plaquetas N = 32⁴⁹ ↑ fibrina y plaquetas N = 152⁵⁰ ↑ fibrina y plaquetas N = 1.350¹⁵
Diseccción arterial	↑ eritrocitos N = 22³² ↑ eritrocitos N = 1.350¹⁵

cels: células; NETs: *Neutrophil extracellular traps*.

las tinciones histológicas habituales, a pesar de encontrar diferencias estadísticamente significativas dado el amplio tamaño muestral (n = 1.350 trombos).

Más allá de los componentes predominantes en el trombo (eritrocitos, plaquetas y fibrina), existen otros constituyentes importantes de la matriz del trombo en el ictus isquémico. Uno de los elementos más estudiados es el FVW, una glicoproteína implicada en la activación y adhesión de las plaquetas entre sí y con la matriz subendotelial. Su presencia se ha asociado con la concentración de plaquetas, leucocitos y fibrina en el trombo^{17,18} e inversamente con la de eritrocitos¹⁹, distribuyéndose especialmente en las áreas ricas en plaquetas y en los límites de las mismas próximos a regiones ricas en fibrina²⁰ (figs. 1 y 2). Está interrelación de la fibrina y el FVW en las regiones ricas en plaquetas sugiere una interacción directa entre estas 2 moléculas, con una potencial acción estabilizadora del trombo, pudiendo influir en la resistencia a la fibrinólisis observada en algunos trombos. Adicionalmente, el FVW está implicado en el proceso de reclutamiento de leucocitos en el trombo y su adhesión al resto de estructuras mediada por integrinas²¹.

En los últimos años, el concepto de inmunotrombosis ha dirigido el foco sobre los efectos de las células y moléculas inflamatorias sobre los procesos de trombosis y estabilización del coágulo. Así, las principales células inflamatorias, los leucocitos, han demostrado potenciar los mecanismos de trombosis tanto venosa como arterial mediante exposición

de factores procoagulantes, liberación de citocinas con capacidad de activación plaquetar y en especial, a través de la liberación de acúmulos de cromatina, histonas y DNA en forma de *Neutrophil extracellular traps* (NETs)²². La presencia de leucocitos en el trombo se centra en la interfaz entre regiones ricas en plaquetas y las ricas en eritrocitos^{18,20} (figs. 2 y 3), y una mayor concentración se ha asociado a etiología cardioembólica en algunos estudios (tabla 1), no pudiéndose descartar, sin embargo, la influencia de la edad del trombo en esta asociación. La activación secundaria de plaquetas y reclutamiento de nuevas células inflamatorias por las NETs ha demostrado aumentar la complejidad del trombo, su resistencia al tPA²³ y estar implicada en la formación de la capa externa del trombo con capacidad anti-fibrinolítica²⁴. Además, se ha demostrado colocalización de NETs y FVW en el seno de trombos de pacientes con ictus²⁰, sugiriendo una interacción entre ambas moléculas con un efecto proinflamatorio y protrombótico. La presencia de NETs parece reducir la actividad de ADAMTS13, una metaloproteasa implicada en la fragmentación y regulación de la actividad del FVW, favoreciendo la acumulación de FVW y su activación²⁵. Igualmente, se ha descrito la presencia de otros marcadores de actividad neutrofílica, como la elastasa de neutrófilo²⁶ o la calprotectina, como presentes en el trombo de pacientes con ictus isquémico y en el caso de la calprotectina (S100A9) asociada a las concentraciones de plaquetas, leucocitos y la propia elastasa de neutrófilo²⁷ (fig. 3).

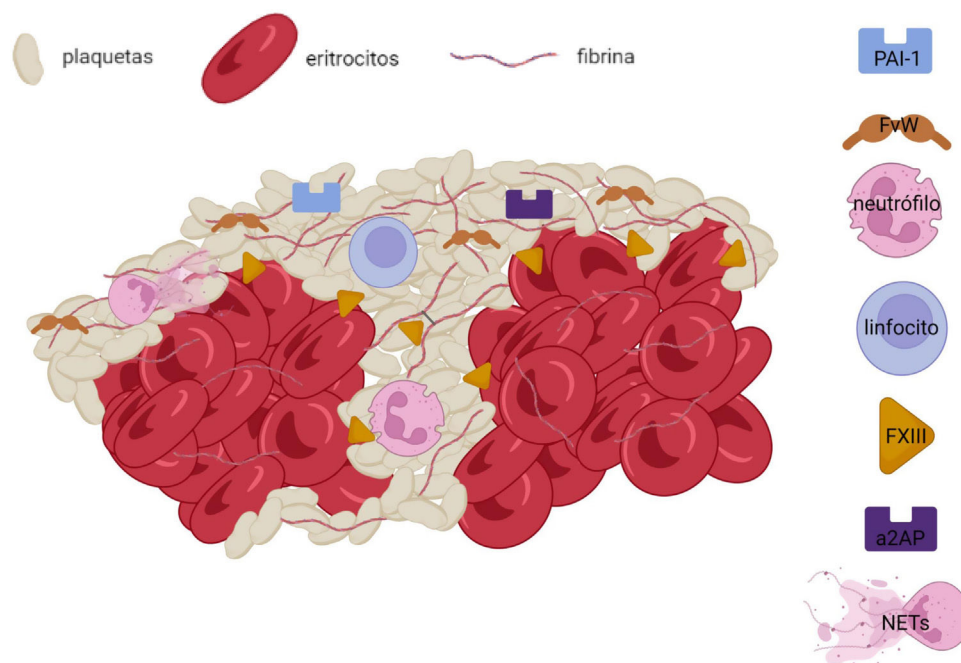


Figura 2 Esquema de la composición del trombo que muestra la interfaz entre áreas ricas en plaquetas/fibrina y 2 áreas ricas en eritrocitos. En el seno de las áreas ricas en plaquetas se sitúan múltiples agentes inflamatorios y hemostáticos implicados en la formación del mismo.

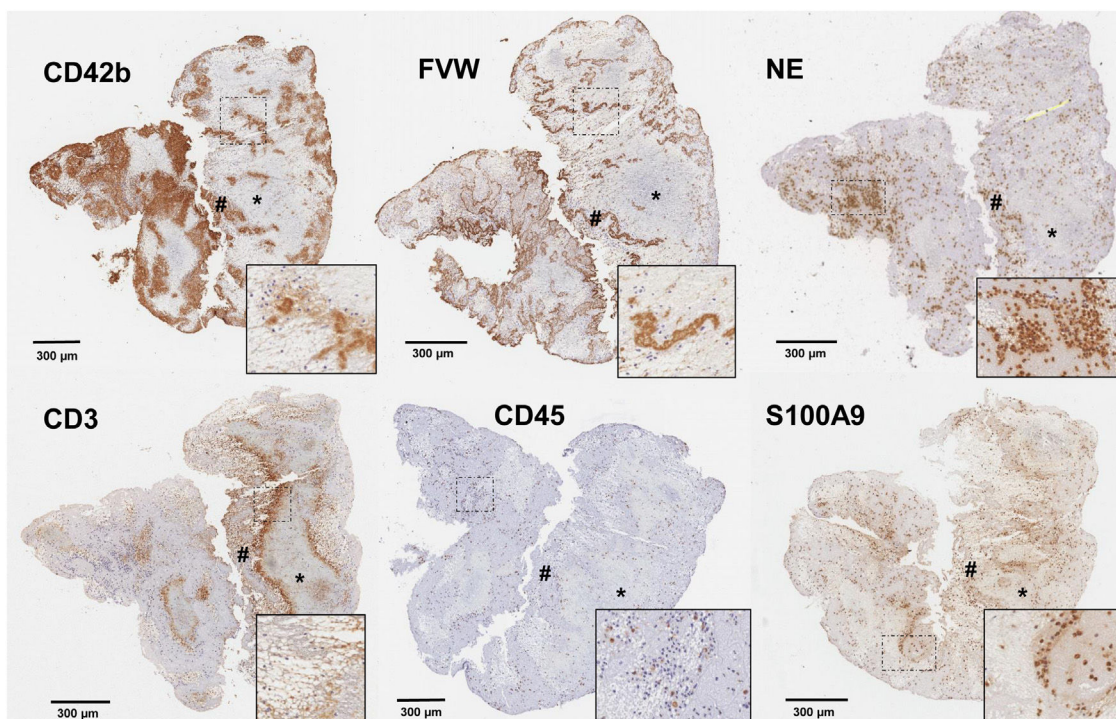


Figura 3 Cortes histológicos de trombo de paciente con ictus isquémico con las siguientes inmunotinciones específicas para: plaquetas CD42b⁺; factor de Von Willebrand (FvW); elastasa de neutrófilos (NE); linfocitos CD3⁺; leucocitos CD45⁺; y calprotectina (S100A9). Se marcan con (*) las áreas ricas en plaquetas y con (#) las zonas ricas en eritrocitos. En la esquina inferior derecha de cada imagen se facilita un aumento $\times 20$ de las áreas señaladas.

Fuente: Imágenes cedidas por el Laboratorio de Aterotrombosis, CIMA/Universidad de Navarra.

No solo la composición relativa de cada uno de los componentes se ha visto asociada a la etiología del ictus. La disposición de los distintos elementos se ha descrito como uno de los posibles marcadores etiológicos a estudio. Así, la disposición de las plaquetas en la periferia del trombo se ha asociado a etiología aterotrombótica²⁸, mientras que una distribución parcheada con áreas ricas en plaquetas y áreas ricas en eritrocitos se incluye en algunos algoritmos de predicción de etiología cardioembólica²⁹. Esta disposición periférica de las plaquetas se ha asociado a flujos laminares rápidos en situación de estenosis³⁰, habiéndose replicado en sistemas de microfluídica³¹.

Por otra parte, se han descrito patrones asociados a la «edad» del trombo. Así, se diferencian los trombos frescos, con horas de desarrollo, y que constituyen la gran mayoría de los trombos recuperados³²; de los trombos líticos y los trombos organizados en los que una infiltración progresiva de células inflamatorias conlleva una serie de procesos que favorecen la estabilización del mismo²⁸. Existen trabajos que encuentran una mayor presencia de leucocitos en trombos de origen cardíaco³³, y los hay que describen una mayor presencia de linfocitos T en pacientes con ictus aterotrombótico³⁴ (tabla 1). Sin embargo, probablemente la evidencia más sólida proceda de aquellos trabajos que sugieren que la presencia de leucocitos es mayor en función de la edad del trombo, y no de su origen, pudiendo ser las cavidades cardíacas el lugar más frecuente de formación de trombos con tiempo de evolución³⁵. En esta línea, la liberación de NETs, por los neutrófilos que infiltran el trombo se ha asociado a etiología cardioembólica³⁶. Sin embargo, de nuevo, parece probable que sea la edad del trombo y no la etiología por sí misma la que condicione el contenido de NETs²³. Conforme el tiempo pasa, el trombo responsable de la oclusión vascular se organiza, disminuyendo el componente eritrocítico en pos de la organización de la malla de fibrina y apareciendo fenómenos de retracción del coágulo y organización de la capa externa con fijación a la misma de algunas enzimas con capacidad inhibitoria de la fibrinólisis^{18,24,37} como el inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) o la α -2-antiplasmina (α 2AP) (fig. 2). Otro de los procesos tiempo/dependientes que se producen en el trombo y que condicionan su estructura es la retracción del trombo mediante fuerzas contráctiles mediadas por las plaquetas sobre la red de fibrina³⁸. Este proceso es por el momento un gran desconocido, y serán necesarios más estudios para entender los mecanismos de contracción de la malla de fibrina mediados por las plaquetas y la formación de densos acúmulos de eritrocitos deformados en forma de polihedrocitos³⁹, y cómo afecta esto a la rigidez del trombo, a su permeabilidad y a la resistencia a los mecanismos de trombólisis⁴⁰.

La presencia de células endoteliales en el seno del trombo se ha descrito hasta en un 16% de los coágulos en algunas series^{41,42}, en probable relación con el daño producido por los dispositivos de extracción en la pared del vaso continente. Estas células endoteliales, sin embargo, podrían ser constituyentes originales del trombo en sus fases más organizadas tras la epitelización del mismo, pudiendo dificultar la acción de los tratamientos fibrinolíticos⁴³. Estos trombos epitelizados se han observado sobre todo con relación a coágulos formados en áreas hipo o aquinéticas del ventrículo izquierdo y en dispositivos intracardíacos⁴⁴.

En los últimos años, cada vez más estudios dirigen los esfuerzos hacia la identificación de firmas moleculares específicas que puedan predecir características importantes del trombo, y afinar en la suposición del mecanismo fisiopatológico implicado en su formación. Así, mediante la caracterización proteómica del material trombótico se han identificado firmas proteicas presentes en los trombos de pacientes con ictus relacionadas con procesos inmunológicos, remodelación cardíaca y vías como la del TGF β ⁴⁵. En otro estudio, Suissa et al. realizan un análisis proteómico y una caracterización metabolómica de trombos de origen cardioembólico y aterotrombótico, estableciendo una combinación de marcadores que permiten predecir la etiología implicada con un área bajo la curva de 0,996 (IC 95%: 0,984-1)⁴⁶. Mediante un *array* de proteínas, otro grupo encuentra datos de mayor activación de vías de señalización plaquetar en trombos de origen cardioembólico frente a sus homólogos de origen aterotrombótico⁴⁷. En curso se encuentra un ensayo fundamentado en la secuenciación del RNA presente en trombos de pacientes con ictus isquémico (NCT03490552).

El trombo en el ictus indeterminado y de otras causas incluido ictus asociado a cáncer

La caracterización del proceso subyacente cobra especial interés en el ámbito del ictus isquémico de causa indeterminada en el que tras los estudios iniciales no se ha conseguido identificar la etiología del mismo y, por tanto, no se puede iniciar una prevención secundaria dirigida de eficacia demostrada. Sin embargo, la heterogeneidad observada dentro de los trombos obtenidos en este grupo de pacientes⁴⁸, y la ausencia de patrones específicos de las etiologías principales tal como se ha comentado, han impedido el desarrollo de esta herramienta dentro del proceso de caracterización etiológica en el ictus de causa indeterminada.

Otros procesos tromboembólicos subyacen con cierta frecuencia en pacientes con ictus isquémico. Así, un porcentaje nada desdeñable de pacientes con ictus asocia una neoplasia activa, con un estado protrombótico y una situación de inflamación sistémica asociada. Park et al.⁴⁹ estudian un total de 16 trombos de pacientes con cáncer activo, y realizan una comparativa con otros 32 trombos apreciando una mayor concentración de plaquetas y menor de eritrocitos, especialmente en aquellos con endocarditis marántica asociada. Una proporción de plaquetas/fibrina superior al 65% de la composición del trombo ha demostrado predecir de forma relativamente precisa la presencia de un cáncer activo subyacente en una población de 152 trombos analizados (AUC: 0,84; $p < 0,001$)⁵⁰. Ésta mayor implicación de la activación plaquetar en el ictus asociado a endocarditis marántica es conocida en la literatura⁵¹, apreciándose una importante concentración de plaquetas en el análisis patológico *post mortem* de las vegetaciones⁵².

Otro de los mecanismos implicados en la oclusión de arterias cerebrales es la disección de arterias extracraneales desencadenando procesos de trombosis a nivel local y embolización distal de los mismos. Estos trombos presentan una mayor concentración de eritrocitos que los originados por otros mecanismos de forma consistente en varios

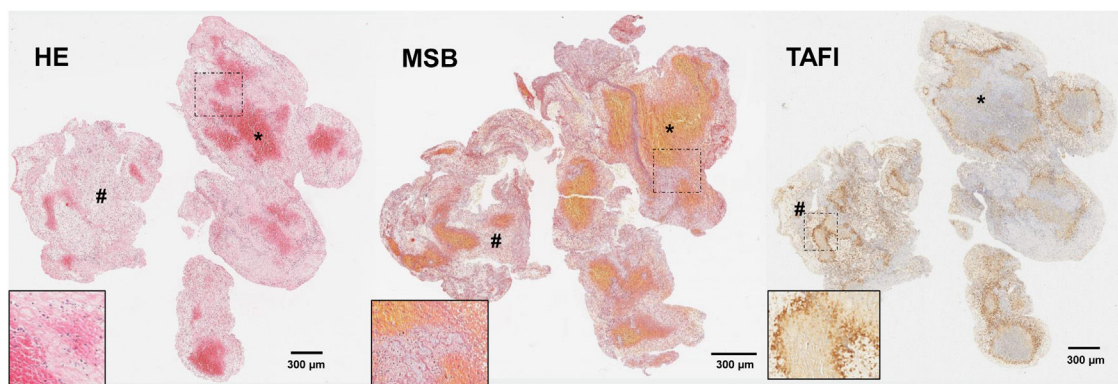


Figura 4 Cortes histológicos de trombo de paciente con ictus isquémico con las siguientes tinciones: hematoxilina-eosina (H&E); Martius Scarlet Blue (MSB); e inmunotinción específica para inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina (TAFI). Se marcan con (*) las áreas ricas en plaquetas y con (#) las zonas ricas en eritrocitos. En la esquina inferior derecha de cada imagen se facilita un aumento $\times 20$ de las áreas señaladas.

Fuente: Imágenes cedidas por el Laboratorio de Aterotrombosis, CIMA/Universidad de Navarra.

estudios^{32,53}. Este hecho podría tener sus implicaciones y ayudar en la selección del tratamiento más adecuado en estos casos, sin existir en la actualidad evidencias clínicas a favor de la anticoagulación o la antiagregación. Por último, se ha descrito recientemente el análisis histológico de una serie de 3 trombos en ictus secundario a web carotídeo sin encontrar peculiaridades propias de este mecanismo fisiopatológico⁵⁴.

Composición del trombo y respuesta a terapias revascularizadoras

En la actualidad existen únicamente 2 tratamientos con capacidad revascularizadora aprobados para el ictus isquémico con oclusión de gran vaso: la fibrinólisis endovenosa con activador tisular del plasminógeno (tPA) y el tratamiento endovascular mediante trombectomía mecánica. La composición y la estructura del trombo ha demostrado condicionar en gran medida la respuesta del mismo, tanto al proceso de fibrinólisis activado por el tPA, como a los fenómenos físico/mecánicos propios de la extracción del trombo con los dispositivos actuales de trombectomía endovascular⁵⁵.

En el trombo, el tPA actúa sobre el plasminógeno unido a la fibrina produciendo su activación en forma de plasmina y activando la fibrinólisis endógena. Esto logra la recanalización arterial en torno al 20-40% de los pacientes, dependiendo su eficacia del retraso en su administración, el nivel de oclusión y las características del trombo⁵⁶. Así, se ha demostrado que las características de la malla de fibrina son uno de los principales condicionantes de la respuesta a la fibrinólisis⁵⁷ y su compactación en las capas más externas del trombo conformando una coraza protectora dificulta la penetración del tPA en el seno del trombo²⁴. Ésta capa parece contener, además, una alta concentración de factores capaces de afectar la fibrinólisis, como NETs, FVW o inhibidores de la trombólisis como el PAI-1²³. Otro inhibidor de la fibrinólisis, el TAFI, se ha visto en proporciones variables en el seno de trombos extraídos de pacientes con ictus pudiendo condicionar la resistencia al tPA de los mismos¹⁸ (fig. 4).

Un buen número de estudios ha demostrado una mayor sensibilidad a la lisis por tPA de aquellos trombos con mayores concentraciones de eritrocitos frente a aquellos ricos en plaquetas^{32,58–60}. En las áreas ricas en plaquetas se ha observado un mayor entrecruzamiento de las fibras de fibrina²⁰ mediado entre otros por el FXIII de origen plaquetar⁶¹, que a su vez es el responsable de la unión a la fibrina de otro inhibidor de la fibrinólisis, la a2AP, pudiendo condicionar un aumento de la resistencia a la lisis⁶². A su vez, la unión a la red de fibrina del FVW⁶³ y las NETs²³ condiciona una mayor resistencia de la misma a la lisis mediante fuerzas de unión entre estas moléculas y participando en la retracción del trombo²⁵. Este proceso de retracción del coágulo conlleva la compactación de eritrocitos en el seno de la malla de fibrina en forma de polihedroцитos asociando una menor permeabilidad del coágulo al tPA y menor acción lítica⁴⁰.

En cuanto a la respuesta al tratamiento endovascular de los trombos, según su composición, se han descrito menores tiempos de procedimiento, menor número de maniobras^{64,65}, así como una mayor proporción de recanalización exitosa^{66,67} en aquellos trombos con alto contenido en eritrocitos. Estos trombos presentan características más blandas⁶⁸ y menores tasas de fricción⁶⁹, pudiendo explicar una mayor facilidad para su extracción con los dispositivos mecánicos. En contraste, los trombos ricos en fibrina con baja presencia de eritrocitos se asociaron con un tiempo de intervención más prolongado⁷⁰, así como trombos plaquetarios con altas concentraciones de FVW asociaron peores tasas de recanalización^{17,19}. Igualmente, una mayor proporción de leucocitos y NETs en el trombo asocia tiempos de recanalización aumentados, menores tasas de recanalización y peor pronóstico^{23,35}. En esta línea, se ha sugerido que una selección de la técnica y el dispositivo, adecuándola a la composición esperada del trombo puede mejorar la interacción coágulo/dispositivo y podría optimizar el tratamiento revascularizador^{71,72}.

En cuanto a complicaciones asociadas al tratamiento endovascular, la fragmentación del trombo y su embolización a territorios distales durante el procedimiento parece ser más frecuente en los trombos con una mayor concentración de leucocitos⁷³, así como en los trombos ricos

en fibrina y con menor concentración de eritrocitos⁷⁰. Por el contrario, algunos estudios *in vitro* encuentran una mayor fragmentación de estos trombos ricos en eritrocitos⁷⁴, siendo necesarios más estudios.

Potenciar tratamientos actuales: trombólisis más allá de la fibrinólisis

Un mayor conocimiento de la organización y estructura del trombo podría permitir implementar terapias específicas que potenciasen los tratamientos actuales.

Uno de los posibles mecanismos de potenciación de la fibrinólisis es la adyuvancia al tratamiento fibrinolítico de moléculas con capacidad de bloqueo de las vías inhibitorias de la activación del plasminógeno⁷⁵. Así, en modelos animales de ictus, la inhibición del TAFI logró reducir los procesos de microtrombosis⁷⁶ y su bloqueo conjunto con el PAI-1 por un diantico cuerpo biespecífico demostró un menor tamaño del infarto y mejor pronóstico tras el ictus^{77,78}. Adicionalmente, la inhibición del TAFI mediante administración de *matrix metalloproteinase-10* (MMP-10) ha demostrado reducir el tamaño del infarto en modelos experimentales, por sí sola⁷⁹ y en combinación con el tPA⁸⁰, aunque la ausencia de TAFI en un modelo experimental de ictus isquémico se asoció con un incremento del daño neuronal tras el tratamiento con tPA⁸¹. Por último, la inhibición de la $\alpha 2AP$ también se ha postulado como otra posible vía de adyuvancia del tPA al tratarse del principal inhibidor de la plasmina *in-vivo*³⁷.

La importante heterogeneidad observada en el trombo obliga a plantear otras vías de degradación del trombo que faciliten su disolución o ayuden a la revascularización. Algunos de los componentes mencionados previamente se han convertido en dianas terapéuticas a explorar en este campo. Como se ha comentado, la acción del FVW como promotor de la activación y agregación plaquetar, así como su interrelación con la fibrina conllevan una potencial acción estabilizadora del trombo en pacientes con ictus. Así, la adición de moléculas con capacidad de bloqueo sobre la acción del FVW en el trombo como el ADAMTS13^{63,82} o la N-acetilcisteína⁸³ han demostrado potenciar el efecto fibrinolítico del tPA en modelos animales. En esta línea, niveles más bajos de ADAMTS13 pre-tratamiento se han asociado con menores tasas de recuperación precoz⁸⁴, y peores tasas de recanalización tras tratamiento fibrinolítico con tPA⁸⁵. Otro de los mecanismos de inhibición de esta vía es el bloqueo de la interacción entre el receptor Gplb α plaquetar y el FVW. Varios estudios han demostrado eficacia antitrombótica de este mecanismo en modelos animales con un mejor pronóstico tras el ictus^{86,87}.

De la misma forma, la degradación de las NETs mediante la adición de DNasa1 al tratamiento con tPA ha demostrado un efecto coadyuvante con aumento de la lisis del trombo en modelos animales y *ex vivo*^{23,26,88}. Además, aquellos trombos con mayor concentración de plaquetas muestran una pérdida mayor de peso tras el tratamiento con DNasa1, reforzando la asociación entre plaquetas y NETs y su potencial efecto procoagulante⁸⁹. Igualmente, impidiendo la formación de NETs mediante la administración de Cl-amidina, un inhibidor PAD4, se logra inhibir el proceso de trombosis arterial en ratones reduciendo el tamaño del infarto y mejorando el estado funcional tras el ictus⁹⁰.

Conclusiones

La amplia variabilidad de los mecanismos fisiopatológicos implicados en la formación del trombo en el ictus isquémico explica la importante heterogeneidad observada en los estudios de composición del trombo, dificultando la identificación de patrones asociados a etiologías concretas. Parece claro que en el seno del trombo conviven en proporciones variables áreas ricas en eritrocitos y áreas ricas en plaquetas/fibrina con una íntima relación entre ellas y acompañadas de FVW, NETs e inhibidores de la fibrinólisis, con frecuencia formando una coraza protectora en la superficie del trombo. La presencia de estos componentes, así como su disposición e interrelación ha demostrado tener efectos en la resistencia a los diferentes tratamientos de revascularización. Por ello, se están desarrollando opciones terapéuticas dirigidas a la degradación de algunos de estos componentes en aras de potenciar la acción revascularizadora de los tratamientos actuales. El desarrollo de estudios de proteómica y la identificación de posibles biomarcadores circulantes podría permitir establecer marcadores específicos para la caracterización del trombo y la adecuación del tratamiento fibrinolítico y endovascular a la composición del mismo.

Financiación

La realización de este manuscrito se ha financiado gracias a la Red de Investigación Cooperativa Orientada a Resultados en Ictus (RICORS-Ictus) del Instituto de Salud-Carlos III (RD21/0006/0008) cofinanciado con fondos UE Next Generation y/o fondos FEDER.

Conflicto de intereses

No existen conflictos de intereses respecto a la realización de este manuscrito.

Bibliografía

1. Gorelick PB. The global burden of stroke: Persistent and disabling. *Lancet Neurol.* 2019;18:417–8, [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(19\)30030-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(19)30030-4).
2. Virani SS, Alonso A, Benjamin EJ, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2020 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation.* 2020;141:e139–596, <http://dx.doi.org/10.1161/CIR.0000000000000757>.
3. Goyal M, Menon BK, van Zwam WH, Dippel DWJ, Mitchell PJ, Demchuk AM, et al. Endovascular thrombectomy after large-vessel ischaemic stroke: A meta-analysis of individual patient data from five randomised trials. *Lancet.* 2016;387:1723–31, [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00163-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00163-X).
4. Staessens S, Fitzgerald S, Andersson T, Clarençon F, Denorme F, Gounis MJ, et al. Histological stroke clot analysis after thrombectomy: Technical aspects and recommendations. *Int J Stroke.* 2020;15:467–76, <http://dx.doi.org/10.1177/1747493019884527>.

5. Nieswandt B, Pleines I, Bender M. Platelet adhesion and activation mechanisms in arterial thrombosis and ischaemic stroke. *J Thromb Haemost*. 2011;9(Suppl 1):92–104, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1538-7836.2011.04361.x>.
6. Asada Y, Yamashita A, Sato Y, Hatakeyama K. Pathophysiology of atherothrombosis: Mechanisms of thrombus formation on disrupted atherosclerotic plaques. *Pathol Int*. 2020;70:309–22, <http://dx.doi.org/10.1111/pin.12921>.
7. Muszbek L, Bereczky Z, Bagoly Z, Shemirani AH, Katona É. Factor XIII and atherothrombotic diseases. *Semin Thromb Hemost*. 2010;36:18–33, <http://dx.doi.org/10.1055/s-0030-1248721>.
8. Lee R, Adlam D, Clelland CA, Channon KM. Lines of Zahn in coronary artery thrombus. *Eur Heart J*. 2012;33:1039, <http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehs028>.
9. Badimon L, Vilahur G. Thrombosis formation on atherosclerotic lesions and plaque rupture. *J Intern Med*. 2014;276:618–32, <http://dx.doi.org/10.1111/joim.12296>.
10. Catena C, Novello M, Lapenna R, Baroselli S, Colussi G, Nadalini E, et al. New risk factors for atherosclerosis in hypertension: Focus on the prothrombotic state and lipoprotein(a). *J Hypertens*. 2005;23:1617–31, <http://dx.doi.org/10.1097/01.hjh.0000178835.33976.e7>.
11. Ding WY, Gupta D, Lip GYH. Atrial fibrillation and the prothrombotic state: Revisiting Virchow's triad in 2020. *Heart*. 2020;106:1463–8, <http://dx.doi.org/10.1136/heartjnl-2020-316977>.
12. Jerjes-Sanchez C. Venous and arterial thrombosis: A continuous spectrum of the same disease? *Eur Heart J*. 2005;26:3–4, <http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehi041>.
13. Boeckh-Behrens T, Kleine JF, Zimmer C, Neff F, Scheipl F, Pelisek J, et al. Thrombus histology suggests cardioembolic cause in cryptogenic stroke. *Stroke*. 2016;47:1864–71, <http://dx.doi.org/10.1161/STROKEAHA.116.013105>.
14. Sporns PB, Hanning U, Schwindt W, Velasco A, Minnerup J, Zoubi T, et al. Ischemic Stroke: What Does the Histological Composition Tell Us about the Origin of the Thrombus? *Stroke*. 2017;48:2206–10, <http://dx.doi.org/10.1161/STROKEAHA.117.016590>.
15. Brinjikji W, Nogueira RG, Kivimäki P, Layton KF, Delgado Almandoz JE, Hanel RA, et al. Association between clot composition and stroke origin in mechanical thrombectomy patients: Analysis of the Stroke Thromboembolism Registry of Imaging and Pathology. *J Neurointerv Surg*. 2021;13:594–8, <http://dx.doi.org/10.1136/neurintsurg-2020-017167>.
16. Wang C, Hang Y, Cao Y, Zhao L, Jiao J, Li M, et al. Association Between Prior Anticoagulation and Thrombus Composition in Mechanical Thrombectomy Patients with Atrial Fibrillation. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2022;31:106347, <http://dx.doi.org/10.1016/J.JSTROKECEREBROVADIS.2022.106347>.
17. Prochazka V, Jonszta T, Czerny D, Krajca J, Roubec M, Macak J, et al. The role of von willebrand factor ADAMTS13, and cerebral artery thrombus composition in patient outcome following mechanical thrombectomy for acute ischemic stroke. *Med Sci Monit*. 2018;24:3929–45, <http://dx.doi.org/10.12659/MSM.908441>.
18. Marta-Enguita J, Navarro-Oviedo M, Muñoz R, Olier-Arenas J, Zalba G, Lecumberri R, et al. Inside the Thrombus: Association of Hemostatic Parameters With Outcomes in Large Vessel Stroke Patients. *Front Neurol*. 2021;12:599498, <http://dx.doi.org/10.3389/fneur.2021.599498>.
19. Douglas A, Fitzgerald S, Mereuta OM, Rossi R, O'Leary S, Pandit A, et al. Platelet-rich emboli are associated with von Willebrand factor levels and have poorer revascularization outcomes. *J Neurointerv Surg*. 2019;12, <http://dx.doi.org/10.1136/neurintsurg-2019-015410>.
20. Staessens S, Denorme F, François O, Desender L, Dewaele T, Vanacker P, et al. Structural analysis of ischemic stroke thrombi: Histological indications for therapy resistance. *Haematologica*. 2020;105:498–507, <http://dx.doi.org/10.3324/haematol.2019.219881>.
21. Pendu R, Terraube V, Christophe OD, Gahmberg CG, de Groot PG, Lenting PJ, et al. P-selectin glycoprotein ligand 1 and beta2-integrins cooperate in the adhesion of leukocytes to von Willebrand factor. *Blood*. 2006;108:3746–52, <http://dx.doi.org/10.1182/BLOOD-2006-03-010322>.
22. Swystun LL, Liaw PC. The role of leukocytes in thrombosis. *Blood*. 2016;128:753–62, <http://dx.doi.org/10.1182/BLOOD-2016-05-718114>.
23. Ducroux C, Di Meglio L, Loyau S, Delbosc S, Boisseau W, Deschildre C, et al. Thrombus neutrophil extracellular traps content impair tPA-induced thrombolysis in acute ischemic stroke. *Stroke*. 2018;49:754–7, <http://dx.doi.org/10.1161/STROKEAHA.117.019896>.
24. Di Meglio L, Desilles JP, Ollivier V, Nomenjana-hary MS, Di Meglio S, Deschildre C, et al. Acute ischemic stroke thrombi have an outer shell that impairs fibrinolysis. *Neurology*. 2019;93:E1686–98, <http://dx.doi.org/10.1212/WNL.0000000000008395>.
25. Yang J, Wu Z, Long Q, Huang J, Hong T, Liu W, et al. Insights Into Immunothrombosis: The Interplay Among Neutrophil Extracellular Trap, von Willebrand Factor, and ADAMTS13. *Front Immunol*. 2020;11:610696, <http://dx.doi.org/10.3389/FIMMU.2020.610696>.
26. Laridan E, Denorme F, Desender L, François O, Andersson T, Deckmyn H, et al. Neutrophil extracellular traps in ischemic stroke thrombi. *Ann Neurol*. 2017;82:223–32, <http://dx.doi.org/10.1002/ana.24993>.
27. Marta-Enguita J, Navarro-Oviedo M, Rubio-Baines I, Aymerich N, Herrera M, Zandio B, et al. Association of calprotectin with other inflammatory parameters in the prediction of mortality for ischemic stroke. *J Neuroinflammation*. 2021;18, <http://dx.doi.org/10.1186/s12974-020-02047-1>.
28. Ahn SH, Hong R, Choo IS, Heo JH, Nam HS, Kang HG, et al. Histologic features of acute thrombi retrieved from stroke patients during mechanical reperfusion therapy. *Int J Stroke*. 2016;11:1036–44, <http://dx.doi.org/10.1177/1747493016641965>.
29. Kim B, Kim YM, Jin SC, Lee JW, Lee BI, Kim SE, et al. Development of a predictive scale for cardioembolic stroke using extracted thrombi and angiographic findings. *J Clin Neurosci*. 2020;73:30–224, <http://dx.doi.org/10.1016/J.JOCN.202001089>.
30. Nesbitt WS, Westein E, Tovar-Lopez FJ, Tolouei E, Mitchell A, Fu J, et al. A shear gradient-dependent platelet aggregation mechanism drives thrombus formation. *Nat Med*. 2009;15:665–73, <http://dx.doi.org/10.1038/NM.1955>.
31. Van Rooij BJM, Zavodszky G, Hoekstra AG, Ku DN. Bioreology of occlusive thrombi formation under high shear: In vitro growth and shrinkage. *Sci Rep*. 2020;10:18604, <http://dx.doi.org/10.1038/S41598-020-74518-7>.
32. Niesten JM, van Der Schaaf IC, van Dam L, Vink A, Vos JA, Schonewille WJ, et al. Histopathologic composition of cerebral thrombi of acute stroke patients is correlated with stroke subtype and thrombus attenuation. *PLoS One*. 2014;9, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0088882>.
33. Genchi A, Semeraro A, Gullota GS, Strambo D, Schwarz G, Bergamaschi A, et al. Cerebral thrombi of cardioembolic etiology have an increased content of neutrophil extracellular traps. *J Neurol Sci*. 2021;423:117355, <http://dx.doi.org/10.1016/J.JNS.2021.117355>.
34. Dargazanli C, Rigau V, Eker O, Bareiro CR, Machi P, Gascou G, et al. High CD3+ cells in intracranial thrombi represent a biomarker of atherothrombotic stroke. *PLoS One*. 2016;11, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0154945>.
35. Boeckh-Behrens T, Schubert M, Förschler A, Prothmann S, Kreiser K, Zimmer C, et al. The Impact of Histological Clot Compo-

- sition in Embolic Stroke. *Clin Neuroradiol.* 2016;26:189–97, <http://dx.doi.org/10.1007/s00062-014-0347-x>.
36. Laridan E, Denorme F, Desender L, Francois O, Andersson T, Deckmyn H, et al. Neutrophil extracellular traps in thrombi from patients with acute ischemic stroke. *Eur Stroke J.* 2017;2:45.
37. Reed GL, Houg AK, Singh S, Wang D. α 2-Antiplasmin: New Insights and Opportunities for Ischemic Stroke. *Semin Thromb Hemost.* 2017;43:191–9, <http://dx.doi.org/10.1055/s-0036-1585077>.
38. Staessens S, de Meyer SF. Thrombus heterogeneity in ischemic stroke. *Platelets.* 2021;331–9, <http://dx.doi.org/10.1080/09537104.2020.1748586>.
39. Cines DB, Lebedeva T, Nagaswami C, Hayes V, Masefski W, Litvinov RI, et al. Clot contraction: Compression of erythrocytes into tightly packed polyhedra and redistribution of platelets and fibrin. *Blood.* 2014;123:1596–603, <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2013-08-523860>.
40. Tutwiler V, Peshkova AD, Le Minh G, Zaitsev S, Litvinov RI, Cines DB, et al. Blood clot contraction differentially modulates internal and external fibrinolysis. *J Thromb Haemost.* 2019;17:361–70, <http://dx.doi.org/10.1111/jth.14370>.
41. Mereuta OM, Abbasi M, Fitzgerald S, Dai D, Kadirvel R, Hanel RA, et al. Histological evaluation of acute ischemic stroke thrombi may indicate the occurrence of vessel wall injury during mechanical thrombectomy. *J Neurointerv Surg.* 2022;14:356–61, <http://dx.doi.org/10.1136/NEURINTSURG-2021-017310>.
42. Funatsu N, Hayakawa M, Hashimoto T, Yamagami H, Satow T, Takahashi JC, et al. Vascular wall components in thrombi obtained by acute stroke thrombectomy: Clinical significance and related factors. *J Neurointerv Surg.* 2019;11:232–6, <http://dx.doi.org/10.1136/NEURINTSURG-2018-014041>.
43. Almekhlafi MA, Hu WY, Hill MD, Auer RN. Calcification and endothelialization of thrombi in acute stroke. *Ann Neurol.* 2008;64:344–7, <http://dx.doi.org/10.1002/ANA.21404>.
44. Kitano T, Sakaguchi M, Yamagami H, Ishikawa T, Ishibashi-Ueda H, Tanaka K, et al. Mechanical thrombectomy in acute ischemic stroke patients with left ventricular assist device. *J Neurol Sci.* 2020;418, <http://dx.doi.org/10.1016/J.JNS.2020.117142>.
45. Muñoz R, Santamaría E, Rubio I, Ausín K, Ostolaza A, Labarga A, et al. Mass Spectrometry-Based Proteomic Profiling of Thrombotic Material Obtained by Endovascular Thrombectomy in Patients with Ischemic Stroke. *Int J Mol Sci.* 2018;19:498, <http://dx.doi.org/10.3390/ijms19020498>.
46. Suissa L, Guignon JM, Graslin F, Robinet-Borgomano E, Chau Y, Sedat J, et al. Combined Omic Analyses of Cerebral Thrombi: A New Molecular Approach to Identify Cardioembolic Stroke Origin. *Stroke.* 2021;52:2892–901, <http://dx.doi.org/10.1161/STROKEAHA.120.032129>.
47. Abbasi M, Fitzgerald S, Ayers-Ringler J, Espina V, Mueller C, Rucker S, et al. Proteomic Analysis of Cardioembolic and Large Artery Atherosclerotic Clots Using Reverse Phase Protein Array Technology Reveals Key Cellular Interactions Within Clot Microenvironments. *Cureus.* 2021;13:e13499, <http://dx.doi.org/10.7759/CUREUS.13499>.
48. Heo JH, Nam HS, Kim YD, Choi JK, Kim BM, Kim DJ, et al. Pathophysiologic and Therapeutic Perspectives Based on Thrombus Histology in Stroke. *J Stroke.* 2020;22:64–75, <http://dx.doi.org/10.5853/jos.2019.03440>.
49. Park H, Kim J, Ha J, Hwang IG, Song TJ, Yoo J, et al. Histological features of intracranial thrombi in stroke patients with cancer. *Ann Neurol.* 2019;86:143–9, <http://dx.doi.org/10.1002/ANA.25495>.
50. Fu CH, Chen CH, Lin YH, Lee CW, Tsai LK, Tang SC, et al. Fibrin and Platelet-Rich Composition in Retrieved Thrombi Hallmarks Stroke with Active Cancer. *Stroke.* 2020;51:3723–7, <http://dx.doi.org/10.1161/STROKEAHA.120.032069>.
51. Nogueira RG, Jadhav AP, Haussen DC, Bonafe A, Budzik RF, Bhuva P, et al. Thrombectomy 6 to 24 Hours after Stroke with a Mismatch between Deficit and Infarct. *N Engl J Med.* 2018;378:11–21, <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1706442>.
52. Biller J, Challa VR, Toole JF, Howard VJ. Nonbacterial thrombotic endocarditis. A neurologic perspective of clinicopathologic correlations of 99 patients. *Arch Neurol.* 1982;39:95–8, <http://dx.doi.org/10.1001/ARCHNEUR.1982.00510140029007>.
53. Brinjiki W, Nogueira RG, Kivimäki P, Layton KF, Delgado-Almandoz JE, Hanel RA, et al. Association between clot composition and stroke origin in mechanical thrombectomy patients: analysis of the Stroke Thromboembolism Registry of Imaging and Pathology. *J Neurointerv Surg.* 2021;13:594–8, <http://dx.doi.org/10.1136/NEURINTSURG-2020-017167>.
54. Koneru S, Nogueira RG, Osehobo E, Oprea-Ilie G, Al-Bayati AR, Brinjiki W, et al. Clot composition in retrieved thrombi after mechanical thrombectomy in strokes due to carotid web. *J Neurointerv Surg.* 2021;13:530–3, <http://dx.doi.org/10.1136/NEURINTSURG-2020-017112>.
55. Boodt N, Snouckaert van Schaumburg PRW, Hund HM, Fereidoonhezad B, McGarry JP, Akyildiz AC, et al. Mechanical Characterization of Thrombi Retrieved With Endovascular Thrombectomy in Patients With Acute Ischemic Stroke. *Stroke.* 2021;52:2510–7, <http://dx.doi.org/10.1161/STROKEAHA.120.033527>.
56. Bhatia R, Hill MD, Shobha N, Menon B, Bal S, Kocher P, et al. Low rates of acute recanalization with intravenous recombinant tissue plasminogen activator in ischemic stroke: Real-world experience and a call for action. *Stroke.* 2010;41:2254–8, <http://dx.doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.592535>.
57. Longstaff C, Varjú I, Sótónyi P, Szabó L, Krumrey M, Hoell A, et al. Mechanical stability and fibrinolytic resistance of clots containing fibrin DNA, and histones. *J Biol Chem.* 2013;288:6946–56, <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M112.404301>.
58. Jang IK, Gold HK, Ziskind AA, Fallon JT, Holt RE, Leinbach RC, et al. Differential sensitivity of erythrocyte-rich and platelet-rich arterial thrombi to lysis with recombinant tissue-type plasminogen activator. A possible explanation for resistance to coronary thrombolysis. *Circulation.* 1989;79:920–8, <http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.79.4.920>.
59. Nam HS, Kim EY, Kim SH, Kim YD, Kim J, Lee HS, et al. Prediction of thrombus resolution after intravenous thrombolysis assessed by CT-based thrombus imaging. *Thromb Haemost.* 2012;107:786–94, <http://dx.doi.org/10.1160/TH11-08-0585>.
60. Tomkins AJ, Schleider N, Murtha L, Kaps M, Levi CR, Nedelmann M, et al. Platelet rich clots are resistant to lysis by thrombolytic therapy in a rat model of embolic stroke. *Exp Transl Stroke Med.* 2015;7:2, <http://dx.doi.org/10.1186/S13231-014-0014-Y>.
61. Mitchell JL, Lionikiene AS, Fraser SR, Whyte CS, Booth NA, Mutch NJ. Functional factor XIII-A is exposed on the stimulated platelet surface. *Blood.* 2014;124:3982–90, <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2014-06-583070>.
62. Bagoly Z, Barath B, Orban-Kalmandi R, Szegedi I, Bogati R, Sarkady F, et al. Incorporation of α 2-Plasmin Inhibitor into Fibrin Clots and Its Association with the Clinical Outcome of Acute Ischemic Stroke Patients. *Biomolecules.* 2021;11:1–14, <http://dx.doi.org/10.3390/BIOM11030347>.
63. Denorme F, Langhauser F, Desender L, Vandenbulcke A, Rottensteiner H, Plaimauer B, et al. ADAMTS13-mediated thrombolysis of t-PA-resistant occlusions in ischemic stroke in mice. *Blood.* 2016;127:2337–45, <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2015-08-662650>.
64. Maekawa K, Shibata M, Nakajima H, Mizutani A, Kitano Y, Seguchi M, et al. Erythrocyte-rich thrombus is associated with reduced number of maneuvers and procedure time

- in patients with acute ischemic stroke undergoing mechanical thrombectomy. *Cerebrovasc Dis Extra*. 2018;8:39–49, <http://dx.doi.org/10.1159/000486042>.
65. Liu M, Hao Z, Li R, Cai J, Jiang C, Li Y. Erythrocyte-rich thrombi related to serum iron contribute to single stent retrieval and favorable clinical outcomes in acute ischemic stroke by endovascular treatment. *Thromb Res*. 2020;195:8–15, <http://dx.doi.org/10.1016/J.THROMRES.202006038>.
66. Shin JW, Jeong HS, Kwon HJ, Song KS, Kim J. High red blood cell composition in clots is associated with successful recanalization during intra-arterial thrombectomy. *PLoS One*. 2018;13:e0197492, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0197492>.
67. Hashimoto T, Hayakawa M, Funatsu N, Yamagami H, Satow T, Takahashi JC, et al. Histopathologic Analysis of Retrieved Thrombi Associated With Successful Reperfusion After Acute Stroke Thrombectomy. *Stroke*. 2016;47:3035–7, <http://dx.doi.org/10.1161/STROKEAHA.116.015228>.
68. Johnson S, Chueh J, Gounis MJ, McCarthy R, McGarry JP, Mchugh PE, et al. Mechanical behavior of in vitro blood clots and the implications for acute ischemic stroke treatment. *J Neurointerv Surg*. 2020;12:853–7, <http://dx.doi.org/10.1136/neurintsurg-2019-015489>.
69. Gunning GM, Mcardle K, Mirza M, Duffy S, Gilvarry M, Brouwer PA. Clot friction variation with fibrin content; Implications for resistance to thrombectomy. *J Neurointerv Surg*. 2018;34–8, <http://dx.doi.org/10.1136/neurintsurg-2016-012721>.
70. Sporns PB, Hanning U, Schwindt W, Velasco A, Buerke B, Cnyrim C, et al. Ischemic Stroke: Histological Thrombus Composition and Pre-Interventional CT Attenuation Are Associated with Intervention Time and Rate of Secondary Embolism. *Cerebrovasc Dis*. 2017;44(5–6):344–50, <http://dx.doi.org/10.1159/000481578>.
71. Hernández-Fernández F, Ramos-Araque ME, Barbella-Aponte R, Molina-Nuevo JD, García-García J, Ayo-Martin O, et al. Fibrin-Platelet Clots in Acute Ischemic Stroke. Predictors and Clinical Significance in a Mechanical Thrombectomy Series. *Front Neurol*. 2021;12, <http://dx.doi.org/10.3389/FNEUR.2021.631343>.
72. Dumitriu LaGrange D, Bernava G, Reymond P, Wanke I, Vargas MI, Machi P, et al. A high resolution scanning electron microscopy analysis of intracranial thrombi embedded along the stent retrievers. *Sci Rep*. 2022;12, <http://dx.doi.org/10.1038/S41598-022-11830-4>.
73. Kaesmacher J, Boeckh-Behrens T, Simon S, Maegerlein C, Kleine JF, Zimmer C, et al. Risk of Thrombus Fragmentation during Endovascular Stroke Treatment. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2017;38:991–8, <http://dx.doi.org/10.3174/AJNR.A5105>.
74. Maegerlein C, Prothmann S, Lucia KE, Zimmer C, Friedrich B, Kaesmacher J. Intraprocedural Thrombus Fragmentation During Interventional Stroke Treatment: A Comparison of Direct Thrombus Aspiration and Stent Retriever Thrombectomy. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2017;40:987–93, <http://dx.doi.org/10.1007/S00270-017-1614-4>.
75. Henderson SJ, Weitz JI, Kim PY. Fibrinolysis: strategies to enhance the treatment of acute ischemic stroke. *J Thromb Haemost*. 2018;16:1932–40, <http://dx.doi.org/10.1111/JTH.14215>.
76. Mertens JC, Boisseau W, Leenaerts D, DiMeglio L, Loyau S, Lambeir AM, et al. Selective inhibition of carboxypeptidase U may reduce microvascular thrombosis in rat experimental stroke. *J Thromb Haemost*. 2020;18:3325–35, <http://dx.doi.org/10.1111/JTH.15071>.
77. Wyseure T, Rubio M, Denorme F, De Lizarrondo SM, Peeters M, Gils A, et al. Innovative thrombolytic strategy using a heterodimer diabody against TAFI and PAI-1 in mouse models of thrombosis and stroke. *Blood*. 2015;125:1325–32, <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2014-07-588319>.
78. Denorme F, Wyseure T, Peeters M, Vandeputte N, Gils A, Deckmyn H, et al. Inhibition of Thrombin-Activatable Fibrinolysis Inhibitor and Plasminogen Activator Inhibitor-1 Reduces Ischemic Brain Damage in Mice. *Stroke*. 2016;47:2419–22, <http://dx.doi.org/10.1161/STROKEAHA.116.014091>.
79. Orbe J, Barrenetxe J, Rodriguez JA, Vivien D, Orset C, Parks WC, et al. Matrix metalloproteinase-10 effectively reduces infarct size in experimental stroke by enhancing fibrinolysis via a thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor-mediated mechanism. *Circulation*. 2011;124:2909–19, <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.047100>.
80. Roncal C, Martinez de Lizarrondo S, Salicio A, Chevilly A, Rodriguez JA, Rosell A, et al. New thrombolytic strategy providing neuroprotection in experimental ischemic stroke: MMP10 alone or in combination with tissue-type plasminogen activator. *Cardiovasc Res*. 2017;113:1219–29, <http://dx.doi.org/10.1093/cvr/cvx069>.
81. Orbe J, Alexandru N, Roncal C, Belzunce M, Bibiot P, Rodriguez JA, et al. Lack of TAFI increases brain damage and microparticle generation after thrombolytic therapy in ischemic stroke. *Thromb Res*. 2015;136:445–50, <http://dx.doi.org/10.1016/j.thromres.2015.06.010>.
82. South K, Denorme F, Salles-Crawley II, DeMeyer SF, Lane DA. Enhanced activity of an ADAMTS-13 variant (R568K/F592Y/R660K/Y661F/Y665F) against platelet agglutination in vitro and in a murine model of acute ischemic stroke. *J Thromb Haemost*. 2018;16:2289–99, <http://dx.doi.org/10.1111/JTH.14275>.
83. Martinez de Lizarrondo S, Gakuba C, Herbig BA, Repessé Y, Ali C, Denis CV, et al. Potent Thrombolytic Effect of N-Acetylcysteine on Arterial Thrombi. *Circulation*. 2017;136:646–60, <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.117.027290>.
84. Putzer AS, Worthmann H, Grosse GM, Goetz F, Martens-Lobenhoffer J, Dirks M, et al. ADAMTS13 activity is associated with early neurological improvement in acute ischemic stroke patients treated with intravenous thrombolysis. *J Thromb Thrombolysis*. 2020;49:67–74, <http://dx.doi.org/10.1007/S11239-019-01941-7>.
85. Bustamante A, Ning M, García-Berrocó T, Penalba A, Boada C, Simats A, et al. Usefulness of ADAMTS13 to predict response to recanalization therapies in acute ischemic stroke. *Neurology*. 2018;90:e995–1004, <http://dx.doi.org/10.1212/WNL.0000000000005162>.
86. LeBehot A, Gauberti M, MartinezDeLizarrondo S, Montagne A, Lemarchand E, Repesse Y, et al. GPIIb/IIIa-VWF blockade restores vessel patency by dissolving platelet aggregates formed under very high shear rate in mice. *Blood*. 2014;123:3354–63, <http://dx.doi.org/10.1182/BLOOD-2013-12-543074>.
87. Momi S, Tantucci M, VanRoy M, Ulrichs H, Ricci G, Gressele P. Reperfusion of cerebral artery thrombosis by the GPIIb-VWF blockade with the Nanobody ALX-0081 reduces brain infarct size in guinea pigs. *Blood*. 2013;121:5088–97, <http://dx.doi.org/10.1182/BLOOD-2012-11-464545>.
88. Jiménez-Alcázar M, Rangaswamy C, Panda R, Bitterling J, Simsek YJ, Long AT, et al. Host DNases prevent vascular occlusion by neutrophil extracellular traps. *Science*. 2017;358:1202–6, <http://dx.doi.org/10.1126/science.aam8897>.
89. Zhou P, Li T, Jin J, Liu Y, Li B, Sun Q, et al. Interactions between neutrophil extracellular traps and activated platelets enhance procoagulant activity in acute stroke patients with ICA occlusion. *EBioMedicine*. 2020;53, <http://dx.doi.org/10.1016/J.EBIOM.2020.102671>.
90. Peña-Martínez C, Duran-Laforet V, García-Culebras A, Ostos F, Hernández-Jiménez M, Bravo-Ferrer I, et al. Pharmacological Modulation of Neutrophil Extracellular Traps Reverses Thrombotic Stroke tPA (Tissue-Type Plasminogen Activator) Resistance. *Stroke*. 2019;50:3228–37, <http://dx.doi.org/10.1161/STROKEAHA.119.026848>.

91. Marder VJ, Chute DJ, Starkman S, Abolian AM, Kidwell C, Liebeskind D, et al. Analysis of Thrombi Retrieved From Cerebral Arteries of Patients With Acute Ischemic Stroke. *Stroke*. 2006;37:2086–93, <http://dx.doi.org/10.1161/01.STR.0000230307.03438.94>.
92. Liebeskind DS, Sanossian N, Yong WH, Starkman S, Tsang MP, Moya AL, et al. CT and MRI Early Vessel Signs Reflect Clot Composition in Acute Stroke. *Stroke*. 2011;42:1237–43, <http://dx.doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.605576>.
93. Sato Y, Ishibashi-Ueda H, Iwakiri T, Ikeda Y, Matsuyama T, Hatakeyama K, et al. Thrombus components in cardioembolic and atherothrombotic strokes. *Thromb Res*. 2012;278–80, <http://dx.doi.org/10.1016/j.thromres.2012.04.008>.
94. Kim SK, Yoon W, Kim TS, Kim HS, Heo TW, Park MS. Histologic Analysis of Retrieved Clots in Acute Ischemic Stroke: Correlation with Stroke Etiology and Gradient-Echo MRI. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2015;36:1756–62, <http://dx.doi.org/10.3174/AJNR.A4402>.
95. Goebel J, Gaida BJ, Wanke I, Kleinschnitz C, Koehrmann M, Forsting M, et al. Is Histologic Thrombus Composition in Acute Stroke Linked to Stroke Etiology or to Interventional Parameters? *AJNR Am J Neuroradiol*. 2020;41:650–7, <http://dx.doi.org/10.3174/AJNR.A6467>.
96. Fitzgerald S, Dai D, Wang S, Douglas A, Kadirvel R, Layton KF, et al. Platelet-Rich Emboli in Cerebral Large Vessel Occlusion Are Associated With a Large Artery Atherosclerosis Source. *Stroke*. 2019;50:1907–10, <http://dx.doi.org/10.1161/STROKEAHA.118.024543>.