



**UNIVERSIDAD DE SEVILLA**  
**FACULTAD DE MEDICINA**

**Micropartículas circulantes y eventos trombóticos asociados al  
paciente con cáncer.**

Trabajo que presenta la licenciada Marta Ferrer Galván  
Para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía  
Sevilla, 2017

DÑA. REMEDIOS OTERO CANDELER, PROFESORA ASOCIADA DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA

CERTIFICA: Que Dña. Marta Ferrer Galván, Licenciada en Medicina y Cirugía, ha realizado bajo mi dirección el trabajo titulado “MICROPARTÍCULAS CIRCULANTES Y EVENTOS TROMBÓTICOS ASOCIADOS AL PACIENTE CON CÁNCER”. Revisado el presenta trabajo por creer que reúne las condiciones necesarias, estimamos que puede ser presentado como Tesis Doctoral.

**En Sevilla, mayo 2017**

**Directora de tesis, Remedios Otero Candelera.**

**Tutor de tesis, Jerónimo Pachón Díaz**

**Doctoranda, Marta Ferrer Galván.**

*A mis padres*

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi directora de tesis Remedios Otero por su valentía en iniciar este proyecto, por su capacidad de trabajo y por contar conmigo para desarrollarlo. Gracias por tu orientación y entrega siempre.

A mi familia trombo, Luis Jara y Teresa Elías, porque he aprendido mucho de ellos.

A los compañeros de Oncología del Hospital Universitario Virgen del Rocío, por su ayuda en la inclusión y selección de pacientes.

A Carmen Beato por su asesoramiento y por su ilusión en la enfermedad tromboembólica y el cáncer.

A Antonia Sáez, por su ayuda en el procesamiento estadístico, su paciencia y su ánimo constante.

A Virtudes Vila y su equipo del Centro de Investigación del Hospital Universitario la Fe de Valencia. Por su generosidad, su entusiasmo por la hemostasia y coagulación y su ayuda en la determinaciones analíticas.

A Verónica Sánchez del Instituto de Biomedicina de Sevilla , cuya colaboración en la determinación de laboratorio ha sido indispensable.

A los técnicos y enfermeros del Hospital Universitario Virgen del Rocío, por su servicio muchas veces desinteresado en la recogida de muestras.

A Rosa, por su participación en este y otros tantos proyectos desarrollados en nuestras consultas de Enfermedad Tromboembólica Venosa.

A todos los pacientes anónimos que no dudan en colaborar a pesar de sus circunstancias, por su confianza.

Y especialmente gracias a mis padres y hermano por su paciencia, ánimo y ayuda en esta tarea. A mis padres siempre por ser ejemplo de lucha y sacrificio.



## ÍNDICE

	<b>Pág.</b>
<b>RESUMEN</b>	8
<b>ABREVIATURAS</b> .....	10
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	11
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	12
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	14
1.1. Incidencia de cáncer en la población general.....	14
1.2. Incidencia de la ETEV en la población general .....	15
1.3. Relación cáncer y trombosis.....	18
1.3.1. Incidencia de trombosis en pacientes con cáncer .....	19
1.3.2. Fisiopatología de la activación de la hemostasia asociada al cáncer...	19
1.3.3. Factores de riesgo de trombosis en pacientes con cáncer .....	23
1.3.4. Biomarcadores de trombosis en pacientes con cáncer .....	28
1.3.5. Escala predictiva de trombosis en pacientes con cáncer. Tromboprolifaxis en pacientes con cáncer	36
1.4. Micropartículas .....	37
1.4.1. Definición. Formación de micropartículas (MPs) .....	37
1.4.2. Estructura de las micropartículas y función .....	41
1.4.3. Origen celular de las micropartículas .....	42
1.4.4. Micropartículas en la enfermedad tromboembólica venosa y cáncer ...	45
<b>2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b> .....	49
2.1. Hipótesis .....	49
2.2. Objetivos .....	50
2.2.1. Objetivos principales .....	50
2.2.2. Objetivo secundario.....	50
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	51
3.1. Diseño del estudio .....	51
3.2. Participantes.....	51

3.3. Variables.....	52
3.4. Medición de variables analíticas.....	53
3.5. Tamaño muestral .....	60
3.4 Análisis estadístico.....	61
<b>4. RESULTADOS</b> .....	62
4.1. Características generales de los pacientes.....	63
4.2. Analizar las características clínicas de pacientes con cáncer que sufren eventos trombóticos en su evolución .....	66
4.3. Analizar los parámetros analíticos de pacientes con cáncer que sufren eventos trombóticos en su evolución. ....	72
4.4. Identificar factores predictores de trombosis en pacientes con cáncer.....	80
4.5. Analizar la supervivencia de los pacientes oncológicos. .....	89
<b>5. DISCUSIÓN</b> .....	92
5.1. Características clínicas de los pacientes con cáncer que sufren eventos trombóticos en su evolución .....	92
5.2. Analizar los parámetros analíticos de pacientes con cáncer que sufren eventos trombóticos en su evolución. ....	95
5.3. Identificar perfiles de pacientes con cáncer con predisposición a padecer trombosis.....	98
5.4. El impacto sobre la supervivencia de los pacientes oncológicos de determinantes clínicos y/o analíticos .....	99
<b>6. CONCLUSIONES</b> .....	102
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	103
<b>8. ANEXOS</b> .....	114
Anexo I. Resumen de tratamiento oncológico por familias	114
Anexo II: ECOG	115
Anexo III: Hoja de información al paciente	116
Anexo IV: Consentimiento informado .....	117

## RESUMEN

El cáncer lleva a un estado de hipercoagulabilidad debido a una activación aberrante del sistema de coagulación de la sangre, que aún hoy día no está completamente dilucidado. Esto supone, por tanto, un factor de riesgo para desarrollar enfermedad tromboembólica venosa, influyendo de forma negativa en la morbimortalidad del paciente oncológico.

Conocemos algunos factores que pueden favorecer el desarrollo de enfermedad tromboembólica venosa en el paciente oncológico, y que están en relación con el propio paciente (como la edad, obesidad), con el tumor (estadio, localización) y otros factores relacionados con el tratamiento (quimioterapia, uso de catéter venoso central). Basados en estos factores se han desarrollado escalas predictivas de desarrollo de trombosis. En los últimos años se están estudiando biomarcadores que junto con las escalas ayuden al clínico a tomar una decisión para indicar de forma más adecuada la tromboprofilaxis, no solo para evitar eventos si no porque también pudiera influir en la propia biología del tumor y frenar su progresión.

En la presente tesis se propuso la búsqueda de perfiles clínicos y/o analíticos, principalmente basado en el análisis de las micropartículas (MPs), de eventos trombóticos en pacientes con neoplasias en estadios avanzados de pulmón y aparato digestivo.

Hemos encontrado una incidencia más elevada de la referida en la bibliografía de eventos trombóticos en los pacientes neoplásicos en esta serie, que atribuimos a un seguimiento más estrecho que ha posibilitado el describir trombosis pauciasintomáticas. Los niveles más elevados de factor tisular en plasma se han relacionado con eventos trombóticos en el seguimiento. También los niveles de P-selectina altos se relacionan con la trombosis aparecida sólo hasta los tres meses de seguimiento.

Se ha observado que las cifras de DD podrían ser útil como valor discriminante para la aparición de trombosis, con un valor predictivo negativo de cerca al 92%.



El análisis de las micropartículas (MPs) nos apuntan sobre una subclase de las mismas, aquellas que proceden de plaquetas y exhiben en su superficie factor tisular, como las que ayudarían a distinguir a los pacientes que desarrollan trombosis. De hecho se ha observado que el perfil que comprende pacientes neoplásicos que no estén en progresión de la enfermedad, en la mayoría con tratamiento con quimioterapia, con PMP-FT y DD elevados, es el que se agrupa en torno a los eventos trombóticos en el seguimiento.

Se ha puesto de manifiesto la heterogenicidad que existe en la biopatología del paciente con cáncer a través del análisis de parámetros clínicos y analíticos de las MPs por lo que el papel que las éstas últimas tengan como biomarcador tendrán que circunscribirse a contextos determinados, como por ejemplo: tipo y localización de la neoplasia, estadio de la enfermedad y tratamiento quimioterápico.

<b>ABREVIATURAS</b>	
<b>ACCP</b>	<b>American College of Chest Physicians</b>
<b>AVK</b>	<b>Antivitamina K</b>
<b>bFGF</b>	<b>fibroblast growth factor</b>
<b>CATS</b>	<b>Vienna Cancer and Thrombosis Study</b>
<b>CVC</b>	<b>Cateter venoso central</b>
<b>DD</b>	<b>Dímeros D</b>
<b>ECM</b>	<b>Matriz extracelular</b>
<b>EMPs</b>	<b>Micropartículas derivadas de células endoteliales</b>
<b>EP</b>	<b>Embolia Pulmonar</b>
<b>EPOC</b>	<b>Enfermedad pulmonar obstructiva crónica</b>
<b>ETEVE</b>	<b>Enfermedad tromboembólica venosa</b>
<b>FNT alfa</b>	<b>Factor de necrosis tumoral alfa</b>
<b>FT</b>	<b>Factor tisular</b>
<b>HBPM</b>	<b>Heparina de bajo peso molecular</b>
<b>HNF</b>	<b>Heparina no fraccionada</b>
<b>HR</b>	<b>Hazart ratio</b>
<b>IARC</b>	<b>Agencia Internacional de Investigación del Cáncer</b>
<b>ICOPER</b>	<b>International Cooperative Pulmonary Embolism Registry</b>
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	<b>interleukina-1<math>\beta</math></b>
<b>IMC</b>	<b>Índice de masa corporal</b>
<b>IMC</b>	<b>Índice de masa corporal</b>
<b>LMP</b>	<b>Micropartículas derivadas de leucocitos</b>
<b>MMP-2</b>	<b>Metaloproteasas 2</b>
<b>MPs</b>	<b>Micropartículas</b>
<b>NK</b>	<b>Natural killer</b>
<b>PAR</b>	<b>Receptores activadores de proteasas</b>
<b>PAR</b>	<b>Receptores activadores de proteasas</b>
<b>PE</b>	<b>Fosfatidiletanolamina</b>
<b>PF4</b>	<b>Factor-4 plaquetario</b>
<b>PS</b>	<b>Fosfatidilserina</b>
<b>PSLG-1</b>	<b>Ligando glicoprotéico Selectina P</b>
<b>RIETE</b>	<b>Registro informatizado de la Enfermedad Tromboembólica venosa</b>
<b>RIETE</b>	<b>Registro Informatizado de la Enfermedad TromboEmbólica</b>
<b>TDA</b>	<b>Tracto digestivo alto</b>
<b>TDB</b>	<b>Tracto digestivo bajo</b>
<b>TEP</b>	<b>Tromboembolismo Pulmonar</b>
<b>TFPI</b>	<b>Tissue factor pathway inhibitor</b>
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	<b>factor de crecimiento de transformación-<math>\beta</math></b>
<b>TMPs</b>	<b>Micropartículas derivadas de células tumorales</b>
<b>TVP</b>	<b>Trombosis venosa profunda</b>
<b>VEGF</b>	<b>Vascular endotelial growth factor</b>
<b>VEGFR</b>	<b>vascular endotelial growth factor receptor</b>
<b>VMP</b>	<b>Volumen medio de plaquetas</b>

## LISTA DE FIGURAS

	<u>Pág.</u>
Figura 1. Factor tisular en la cascada de la coagulación.....	20
Figura 2. Papel central del factor tisular en la progresión del tumor y trombosis.....	21
Figura 3. Trombosis microvascular en las metástasis e impacto potencial de agentes antitrombóticos y antiplaquetarios.....	23
Figura 4. Expresión del FT en el tejido cerebral normal y expresión aumentada en las células del tejido cerebral maligno.....	30
Figura 5. Adhesión endotelio-plaqueta. ....	33
Figura 6. Función del dímero D en el proceso de coagulación.....	35
Figura 7. Visualización de micropartículas por microscopíe electrónica.....	37
Figura 8. Formación de micropartículas y liberación.....	38
Figura 9. Montaje de complejos de coagulación en la membrana de fosfolípidos PS.....	39
Figura 10. Estructura de la micropartícula.....	40
Figura 11. Caracterización de MPs circulantes por citometría de flujo.....	54
Figura 12. Curva generación de trombina.....	58
Figura 13. DD basales en función del tipo de tumor.....	63
Figura 14. selectina P basales en función del tipo de tumor.....	64
Figura 15. FT antigénico en función de evento trombótico.....	72
Figura 16. DD en grupo control, cáncer sin trombosis y cáncer con trombosis.....	73
Figura 17. DD en pacientes con tumor TDB en función de evento trombótico.....	74
Figura 18. Diferencias nivel MPs positivas para MUC1 en pacientes neoplásicos con o sin eventos trombóticos durante el seguimiento.....	75
Figura 19. Diferencias nivel de MP procedentes de células que expresan MUC-1 ligadas a PSGL-1 en función de evento trombótico.....	75
Figura 20. Área bajo la curva para DD en pacientes con cáncer y trombosis.....	77
Figura 21. Resumen-esquema conglomerado para todos los tipos de	79

tumores.....	
Figura 22. Tamaño de los conglomerados en todos los pacientes oncológicos.....	80
Figura 23. Resumen-esquema conglomerado para tumor de origen pulmonar.....	82
Figura 24. Tamaño de los conglomerados en pacientes con cáncer de pulmón.....	83
Figura 25. Resumen-esquema conglomerado para tumor de tracto digestivo alto.....	84
Figura 26. Tamaño de los conglomerados en pacientes con cáncer de tracto digestivo alto.....	85
Figura 27. Resumen-esquema conglomerado para tumor tracto digestivo bajo.....	86
Figura 28. Tamaño de los conglomerados en pacientes con cáncer del tracto digestivo bajo.....	87
Figura 29. Curva COR para dímero D.....	90

## LISTA DE TABLAS.

	<u>Pág.</u>
Tabla 1. Principales factores de riesgo para ETEV en pacientes con cáncer	24
Tabla 2. Índice de Khorana.....	27
Tabla 3. Resumen de los anticuerpos utilizados para identificar los diferentes tipos de micropartículas. ....	42
Tabla 4. Criterios utilizados para identificar subpoblaciones de MPs mediante citometría de flujo utilizando anticuerpos monoclonales específicos.....	55
Tabla 5. Características clínicas y demográficas de los pacientes oncológicos.....	64
Tabla 6. Niveles basales de DD en función del tipo de tumor.....	65
Tabla 7. Niveles basales de P selectina en función del tipo de tumor.....	66

Tabla 8. Resultados de selectina P, FT antigénico, LMPs con PSGL-1 según la función renal.....	67
Tabla 9. Resumen de las características clínicas de los pacientes oncológicos con trombosis.....	69
Tabla 10. Comparación de las características clínicas de pacientes neoplásicos con o sin trombosis en el seguimiento.....	71
Tabla 11. Determinaciones analíticas para grupo control, cáncer sin trombosis y cáncer con trombosis.....	78
Tabla 12. Sensibilidad y Especificidad de diferentes puntos de corte de DD para predicción de evento trombotico en pacientes neoplásicos.....	80
Tabla 13. Características pronósticas del punto de corte DD: 992 ng/ml para predicción de evento trombotico en pacientes neoplásicos.....	80
Tabla 14. Modelo cluster para todos los tipos de neoplasia con evento trombotico.....	83
Tabla 15. Características de los conglomerados según diferentes variables clínicas y analíticas en cáncer de pulmón.....	86
Tabla 16. Características de los conglomerados según diferentes variables clínicas y analíticas con cáncer de TDA.....	87
Tabla 17. Características de los conglomerados según diferentes variables clínicas y analíticas en cáncer de TDB.....	90
Tabla 18. Supervivencia de los pacientes oncológicos.....	91
Tabla 19. Supervivencia media tras evento trombotico según la localización de la neoplasia.....	92

## **1.INTRODUCCIÓN**

El cáncer es un factor de riesgo para la enfermedad tromboembólica (ETE) que conlleva un aumento de la morbi-mortalidad en estos pacientes oncológicos. Este estado de hipercoagulabilidad es debido a una activación aberrante del sistema de coagulación de la sangre, que aún no está completamente dilucidado y que entraña gran complejidad por los diferentes mecanismos de activación, las diversas células implicadas y la participación de multitud de proteínas, mediadores quimiotácticos, factores de crecimiento, citoquinas, factores de coagulación y otras moléculas bioactivas.

Las micropartículas son vesículas formadas por un proceso de gemación de la membrana externa de las diferentes células (plaquetas, leucocitos, eritrocitos, células endoteliales, macrófagos, células tumorales) y se comportan como macromensajeros de la célula origen. La estructura de las micropartículas define sus funciones, entre la que se encuentra la actividad procoagulante. Por eso, en los últimos años está siendo estudiado su papel en el proceso de coagulación, entre otros.

### **1.1. INCIDENCIA DE CÁNCER EN LA POBLACIÓN GENERAL**

En Estados Unidos fueron notificadas en 2013 un total de 2.596.993 muertes, de las cuales, 584.881 (22.5 %) fueron por cáncer, una de cada 4 muertes fue debida a neoplasia. Es por ello que el cáncer es uno de los mayores problemas de salud pública en los Estados Unidos (EEUU) al igual que otras partes del mundo <sup>1</sup>

El cáncer es la segunda causa de muerte seguida de la enfermedad cardiovascular. Sin embargo, cuando lo agrupamos por franjas de edad, supone la primera causa de muerte entre los 40 y los 79 años.

El último informe publicado en marzo 2016 recoge que entre 2003 y 2012 los índices de incidencia de cáncer (casos nuevos de cáncer en 100.000 personas en EE.UU.) están decreciendo entre los hombres y permanecen estables entre las

mujeres. El cáncer de colon, recto, estómago, pulmón y bronquios mostraron un descenso en la incidencia tanto en hombres como en mujeres, siendo atribuido el descenso de casos nuevos de cancer de pulmón al menor consumo de tabaco.<sup>2</sup>

En España, si atendemos a las cifras publicadas por el Ministerio de Sanidad y Consumo (extraídas de la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC)<sup>3, 4</sup> y del estudio europeo EURO CARE-5<sup>5</sup>, en términos absolutos, el cáncer es la primera causa de muerte en España, con 106.887 defunciones en 2012 lo que supuso el 26,5% de todas las defunciones. Al igual que en España, en otros países de la Unión Europea la mortalidad por cáncer supone la primera causa de muerte: es el caso de Francia, Italia, Holanda o Bélgica. El envejecimiento de la población, el incremento de la incidencia de muchos tumores malignos y la mayor supervivencia de los enfermos de cáncer debida a los avances diagnósticos y terapéuticos, va a suponer un aumento significativo del número de pacientes con cáncer.

Para el conjunto de grupos de edad, las localizaciones tumorales más frecuentes en España son: el cáncer de próstata (23,6 %), el cáncer de pulmón (15,6 %) y el cáncer de colon (8,3 %) en hombres; en mujeres, el cáncer de mama (30,2 %), cáncer de colon (8,5 %) y el cáncer de pulmón (7,9 %).

## **1.2. INCIDENCIA DE LA ETEV EN LA POBLACIÓN GENERAL**

La enfermedad tromboembólica venosa (ETEV) incluye la trombosis venosa profunda (TVP) y el tromboembolismo pulmonar (TEP).

La ETEV comienza habitualmente como TVP de miembros inferiores, mediante la formación de un trombo que bloquea parcial o totalmente la circulación de la sangre.

En el 90 % de los casos la ETEV se inicia a nivel de las válvulas de las venas profundas de las pantorrillas (poplítea, tibial posterior, tibial anterior o peronea), pudiendo extenderse a las venas del muslo y pelvis y luego fragmentarse, generando émbolos que terminarán en el árbol pulmonar. Si bien existen

trombosis venosas en otros territorios profundos, tales como miembros superiores, yugular interna y cámaras derechas, éstas son menos frecuentes <sup>6</sup>.

Estos émbolos de material trombótico terminarán enclavándose en el árbol arterial pulmonar, conformando un Tromboembolismo Pulmonar (TEP). En raras ocasiones el émbolo puede pasar a la circulación sistémica a través de un foramen oval permeable, generando así una embolia en el territorio arterial sistémico, generalmente cerebral, llamada Embolia Paradójica (EP). Si bien existen otras causas de embolismo pulmonar tales como aire, médula ósea, líquido amniótico, tejido adiposo, cemento proveniente de cirugía traumatológica, tumores o vegetaciones a partir de una endocarditis derecha, la TVP es por lejos la causa más frecuente de embolismo pulmonar.

La ETEV es un problema de salud pública importante y en aumento<sup>7</sup>, ya que muchos de los factores de riesgo conocidos como –edad avanzada, inmovilidad, cirugía y obesidad–, están aumentando en nuestra sociedad.

No existen datos sobre la incidencia real de la enfermedad tromboembólica venosa. Las cifras de las que disponemos son extraídas de las bases de datos de las administraciones públicas, hospitales y análisis retrospectivos de algunas regiones. Existen tres grandes registros epidemiológicos. El primero, realizado por un grupo de Minnesota que<sup>8</sup>, analizó la incidencia de ETEV en 25 años (1966-1990) encontrando una incidencia de ETEV de 117 casos por 100.000 habitantes (48 por 100.000 de trombosis venosa profunda; 69 por 100.000 de embolia de pulmón), con unas tasas ajustadas mayores entre los hombres. Similares datos encontraron el grupo de Spencer et al<sup>9</sup>, con una incidencia de 104 a 128 casos de trombosis venosa por cada 100.000 habitantes.

El último gran estudio epidemiológico del que hay recogido datos es el realizado sobre la población de Worcester (Massachusetts), donde se incluyeron pacientes diagnosticados de embolia de pulmón y/o trombosis venosa profunda de miembro inferior entre los años 1985-2009. Se observó que la incidencia de tromboembolismo venoso había aumentado de 73 (I.C.del 95 %, 64-82) por



100.000 habitantes en 1985/1986 a 133 (IC: 122-143) en 2009. Este incremento se debía, en su mayor parte, a la embolia de pulmón.<sup>10</sup>

Sin embargo, esta incidencia difiere en base a la edad, raza y género<sup>11</sup>: La incidencia puede oscilar desde 1 por 100.000 en gente joven hasta un 1 por 100 en gente con edad > 80 años. En población blanca y negra la incidencia es mayor que sobre otras razas y etnias. Los hombres tienen una incidencia ligeramente mayor que las mujeres, pero esta diferencia se invierte durante los años reproductivos de la mujer.

Esta enfermedad causa una morbilidad y una mortalidad sustancial, incluyendo la necesidad de hospitalizaciones repetidas, el síndrome postflebítico crónico incapacitante, la hipertensión pulmonar tromboembólica crónica y la muerte por TEP. Siendo prevenible con frecuencia, sigue siendo una de las principales causas de muerte inesperada en pacientes hospitalizados. Se estima que el 20%-25% de todos los casos de TEP presentan muerte súbita<sup>12</sup>.

La patogenia de la ETEV se basa en la tríada de Virchow: éstasis, lesión endotelial e hipercoagulabilidad, que concurren en situaciones adquiridas o congénitas que se denominan factores de riesgo. Es frecuente la presencia simultánea de varios de ellos. Existen factores de riesgo genéticos (déficit de antitrombina, déficit de proteína C, S, factor V de Leiden, mutación del gen de la protrombina, disfibrinogenemia, déficit de plasminógeno o la resistencia a la proteína C activada) y factores adquiridos (reposo, enfermedad médica aguda, cirugía mayor, traumatismo, embarazo y postparto, neoplasia, quimioterapia, catéter venoso central, etc).

Entre los factores de riesgo más importantes para la ETEV se encuentra el cáncer, como se concluye en los tres grandes registros hasta la fecha:

El registro ICOPER, en el que se incluyeron 2.454 pacientes con embolia de pulmón (se excluyeron los casos de TVP sola) de 52 hospitales de un total de 7 países de Europa y Norte América. Cuando analizaron los factores de mayor riesgo asociados encontraron: edad > 75 años, cáncer, patología cardíaca y EPOC<sup>6</sup>.

El RIETE (Registro informatizado de la Enfermedad Tromboembólica venosa) en el que se incluyeron un total de 15.520 pacientes con EP y TVP sintomática durante el periodo comprendido entre 2001-2006. El factores asociados con trombosis más frecuentes fueron: sexo varón (49.9 %), edad > 75 años (36.9 %), IMC  $\geq$  30 KG/m<sup>2</sup> (27.3 %) y cáncer (20.2 %) <sup>13</sup>

Por último el estudio de Cushman et al.<sup>12</sup>, el más numeroso con 21.680 pacientes, que une dos cohortes representativas de diferentes regiones de EE.UU. y analizan la etiología de la trombosis. Del total de los casos de trombosis, un 48% fue idiopático frente a un 52 % que fue secundario. La mayoría de las trombosis secundarias estaban asociadas a más de un factor de riesgo. El más frecuente fue la hospitalización (52%), seguido del cáncer (48%), cirugía (42%) y traumatismo mayor (6%).

Por tanto, el cáncer es una de los factores de riesgo más frecuentes en la ETEV. Además, se encuentra dentro de las tres causas más frecuentes de recurrencia trombotica a pesar del tratamiento anticoagulante <sup>14,15</sup>.

La incidencia anual de ETEV en el cáncer está estimada en aproximadamente 1 de 200 (0,5 %), y hasta cuatro a cinco veces más alta que en la población general <sup>16,17</sup>.

### **1.3. RELACIÓN CÁNCER Y TROMBOSIS**

La relación entre cáncer y trombosis es bidireccional. Por un lado, los pacientes con cáncer tienen un estado de hipercoagulabilidad que favorece el desarrollo de trombosis, con el consecuente aumento de la morbi-mortalidad. Por otro lado, alguno de los factores que intervienen en la coagulación están implicados también en la angiogénesis y progresión tumoral.

### **1.3.1. INCIDENCIA DE TROMBOSIS EN PACIENTES CON CÁNCER.**

Aunque la primera observación de la asociación entre cáncer y ETEV la hizo Bouillard en 1823, Trousseau fue el primero en describirla en 1865<sup>18</sup>. Desde entonces múltiples estudios han respaldado la evidente relación entre ETEV y cáncer.

La activación sistémica aberrante del sistema de coagulación de la sangre provoca un estado de hipercoagulabilidad que ocurre en la mayoría de las neoplasias (16). Como resultado de esto el individuo desarrolla una marcada predisposición para el desarrollo de trombosis, siendo el riesgo de presentar un episodio tromboembólico de 4 a 7 veces mayor que en la población general <sup>19</sup>, además de suponer un factor de mal pronóstico en los pacientes con cancer y ser la segunda causa de muerte en esta población <sup>20</sup>. La incidencia acumulada de eventos tromboembólicos (TVP y EP) se estima entre el 1-8% de todos los pacientes con cáncer <sup>21,22</sup>, aunque probablemente sea mayor ya que hay muchos eventos tromboembólicos incidentales.

### **1.3.2. FISIOPATOLOGÍA DE LA ACTIVACIÓN DE LA HEMOSTASIA ASOCIADA AL CÁNCER**

La triada de Virchow (éstasis, trombofilia y daño endotelial) describe la fisiopatología de la ETEV, sin embargo hay una segunda triada que comprende los cambios en la biología del tumor, la activación de la coagulación y la inflamación, que nos describe mejor la patogénesis de la ETEV en el paciente con cáncer. <sup>23</sup>

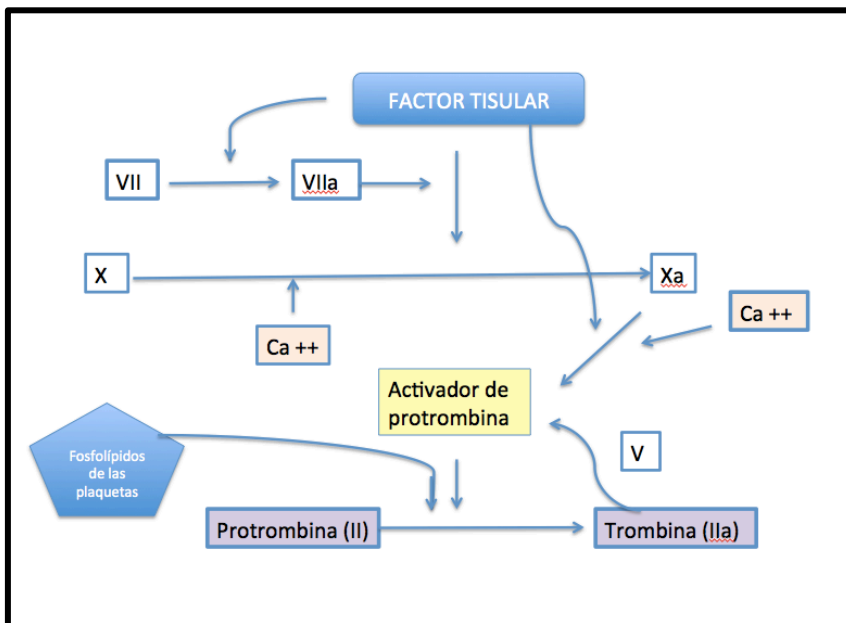
Los mecanismos fisiopatológicos implicados en la activación del sistema hemostático en las neoplasias son múltiples, pero de forma específica la expresión de diversas proteínas procoagulantes por las células tumorales, sobre todo el factor tisular (FT), son la causa principal en la generación de trombina, la activación de las plaquetas, leucocitos y células endoteliales.

## Coagulación

El factor tisular, también denominado factor tisular de tromboplastina o factor III, es un receptor de membrana, presente en los fibroblastos de la pared de los vasos sanguíneos y otras células. En condiciones fisiológicas, cuando se produce la rotura de un vaso sanguíneo, por ejemplo a consecuencia de una herida, el factor tisular entra en contacto con la sangre y se desencadena la cascada de coagulación.

El FT tiene alta afinidad para el factor VII. El complejo FT-factor VII activado se une a los fosfolípidos de la membrana plaquetaria activando al factor X, que a su vez inducirá la generación de trombina a partir del factor II o protrombina. Esta trombina generada en exceso será la responsable de ese estado hipercoagulable, ya que provocará la propagación de la coagulación de la sangre vía activación plaquetaria y de los factores V y VIII, que a su vez retroalimentan el sistema para producir más trombina de nuevo (figura 1).

**Figura 1. Factor tisular en la cascada de la coagulación**

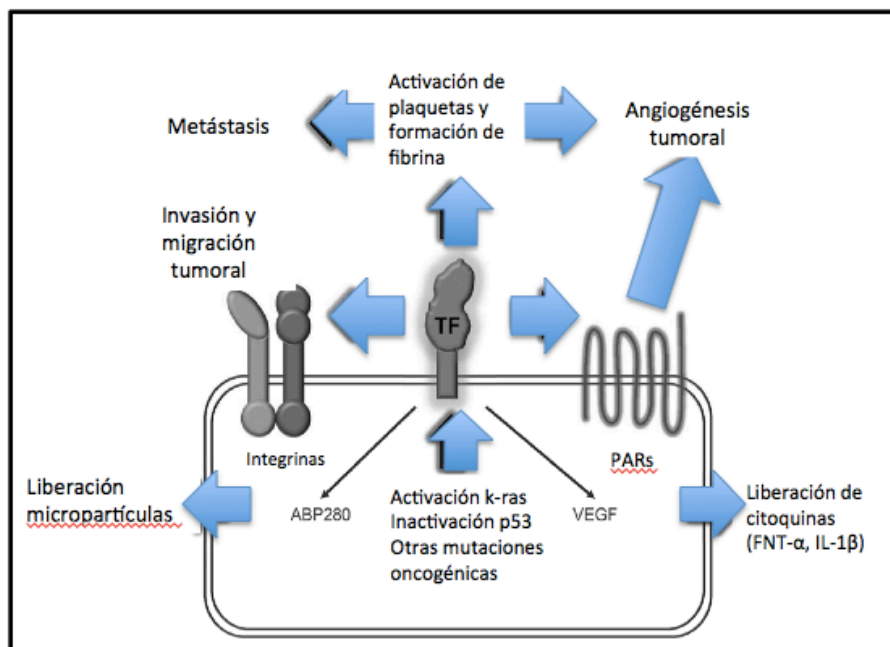


El FT presente en las células malignas conduce a un estado de hipercoagulabilidad local y sistémico. Las micropartículas, que son pequeñas vesículas procedentes de las plaquetas, leucocitos, células endoteliales y/o células del músculo liso, tienen también actividad procoagulante, que es debida a la expresión de fosfatidilserina y FT en la membrana de las MP.

Por otro lado las células cancerosas pueden expresar una proteína procoagulante específica que puede generar trombina por activación directa del factor X, sin intervención del factor VII, que es el sustrato sobre el que actúa el FT para activar la hemostasia.

La trombina y el FT participan, asimismo, en la progresión tumoral mediante la activación de receptores activadores de proteasas (PAR) expresados en plaquetas, células tumorales, endoteliales, músculo liso y macrófagos (figura 2).

**Figura 2. Papel central del factor tisular en la progresión del tumor y trombosis.**



Abreviaturas: ABP280 (actin-binding protein 280); IL-1 $\beta$ , interleukina-1 $\beta$ ; PARs protease-activated receptors; TF tissue factor; TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ ; y VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular)

En las células endoteliales, la trombina ayuda a la sobreexpresión de genes proangiogénicos como VEGF (vascular endothelial growth factor), VEGFR (vascular endothelial growth factor receptor), bFGF (fibroblast growth factor) y metaloproteasas (MMP-2), a la vez que disminuye la expresión de genes antiangiogénicos como la trombospondina.

Además de los efectos procoagulantes de la trombina, también se han descrito efectos pleiotrópicos por su relación con una situación de inflamación local y sistémica.

### ***Inflamación***

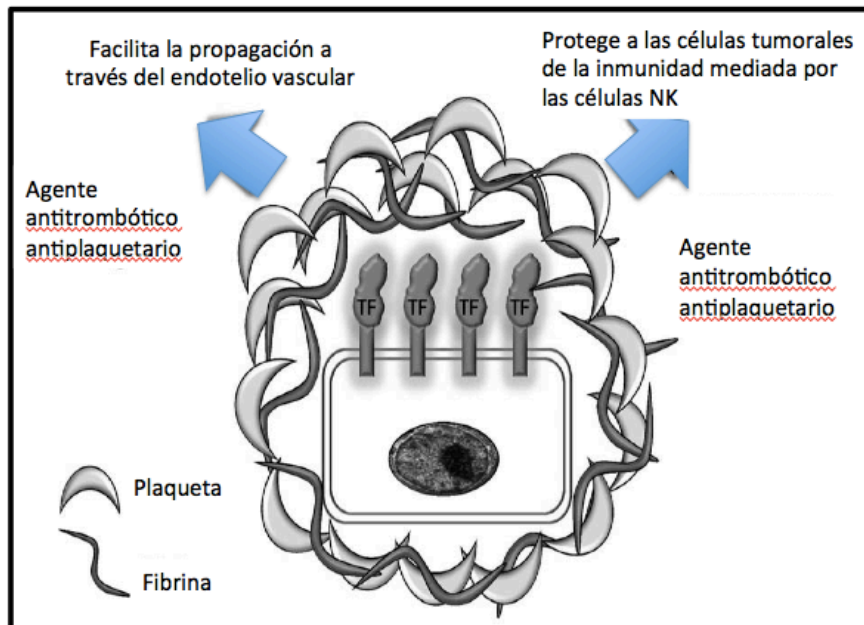
La activación de la coagulación en los pacientes con cáncer promueve una inflamación sistémica y local que contribuye recíprocamente a un estado protrombótico. La trombina y los factores activadores de la coagulación VIIa y Xa parecen modular la expresión génica a través de los PARs (receptores activadores de proteasas), dando como resultado un aumento de citocinas proinflamatorias como la interleukina-6, interleukina-8 e interleukina-10. La activación plaquetaria además favorece la inflamación aumentando la expresión de receptores como la selectina P y el ligando CD40.

Los factores inflamatorios promueven la trombosis favoreciendo la expresión de las moléculas de adhesión y moléculas procoagulantes que se encuentran en la superficie de las células endoteliales y monocitos. La expresión de citocinas incluye el FNT-alfa y la interleukina 1b, que induce la expresión del factor tisular en las células endoteliales y disminuye la expresión de trombospondina, favoreciendo un estado protrombótico en las paredes del vaso.

Las células tumorales se rodean de fibrina y plaquetas, conformando un trombo microvascular que favorece la migración a través del endotelio vascular y lo protege de la respuesta inmune mediada por NK, favoreciendo ambas condiciones la metástasis, como se verá más adelante. Por eso, el efecto

antineoplásico de los agentes antitrombóticos y antiplaquetarios puede deberse en parte, a la capacidad para inhibir la trombosis microvascular (figura 3)<sup>23</sup>.

**Figura 3. Trombosis microvascular en las metástasis e impacto potencial de agentes antitrombóticos y antiplaquetarios** (extraída de Venous Thromboembolism and Cancer. Gregory Piazza. Circulation, 2013)



Abreviaturas: NK (natural killer); TF (factor tisular).

### 1.3.3. FACTORES DE RIESGO DE TROMBOSIS EN PACIENTES CON CÁNCER.

El riesgo de ETEV en pacientes con cáncer se ve incrementado no sólo como resultado de un estado de hipercoagulabilidad intrínseca causada por el propio tumor, sino por factores relacionados con el propio paciente y factores extrínsecos derivados del tratamiento del cáncer (quimioterapia, terapia hormonal, intervención quirúrgica) o los periodos de hospitalización.

En la tabla 1 se resumen los principales factores de riesgo <sup>24</sup>(modificada)

<b>Tabla 1.- Principales factores de riesgo para ETEV en pacientes con cáncer</b>
<p><b>Dependientes del paciente</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Edad avanzada</li> <li>Raza</li> <li>Obesidad (<math>\geq 35 \text{ kg/m}^2</math>)</li> <li>Sexo</li> <li>Comorbilidades (infección activa, EPOC, IRC, ICC)</li> <li>Historia previa de ETEV</li> </ul>
<p><b>Dependientes del tumor</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Estadio</li> <li>Histología</li> <li>Localización</li> </ul>
<p><b>Dependientes del tratamiento</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Catéter venoso central</li> <li>Quimioterapia</li> <li>Terapia hormonal</li> <li>Agentes eritropoyéticos</li> <li>Transfusiones</li> <li>Hospitalización</li> <li>Agentes antiangiogénicos</li> </ul>
<p><b>Biomarcadores</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Trombocitosis prequimioterapia (<math>\geq 350.000/\mu\text{l}</math>)</li> <li>Leucocitosis prequimioterapia (<math>&gt; 11.000/\mu\text{l}</math>)</li> <li>Hemoglobina (<math>&lt; 10 \text{ g/dl}</math>)</li> </ul>
<p><b>En investigación</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Elevación de la fracción soluble de selectina P (53,1 ng/ml)</li> <li>Elevación del factor VIII</li> <li>Factor tisular</li> <li>Activación de fragmentos 1+2 de la protrombina</li> </ul>



En primer lugar tenemos los factores de riesgo dependientes del paciente. En la mayoría de los estudios la edad, el género y la obesidad no han mostrado impacto en la incidencia de trombosis venosa en pacientes con cáncer <sup>25</sup>, sin embargo, un estado general malo es factor predictor de trombosis, especialmente si a esto se une la inmovilización del paciente oncológico <sup>26</sup>.

En segundo lugar nos encontramos con los factores de riesgo dependientes del cáncer. El riesgo de trombosis varía en función del tipo de tumor, la agresividad del mismo y el tiempo desde el diagnóstico de la neoplasia.

El riesgo de trombosis parece no ser el mismo en función del tipo de tumor, aunque los estudios de los cuales se extraen estas conclusiones son variables en su diseño (tipo de población incluida, periodo de estudio, tipo de tratamiento, duración del seguimiento, y el método de detección y notificación de los eventos tromboembólicos). En consenso general, cuando se ajusta por la prevalencia de la enfermedad en la población general, los cánceres que con mayor incidencia se asocian a trombosis son el páncreas, cerebro y estómago <sup>16,27,28,29,30</sup>. También se ha encontrado una tasa alta de ETEV entre las neoplasias hematológicas, particularmente en el linfoma y el mieloma múltiple (MM), riñón, útero, vejiga, pulmón y colon <sup>16,27</sup>. Con riesgo significativamente más bajo se sitúan el cáncer de próstata y de mama <sup>31</sup>.

El riesgo de trombosis también varía a medida que transcurren los meses tras el diagnóstico del tumor. Durante los tres primeros meses tras el diagnóstico, los pacientes tienen un riesgo mayor de un evento tromboembólico <sup>31</sup>, como se confirmó también en la cohorte del estudio CATS (the Vienna Cancer and Thrombosis Study), en el que el tiempo medio al evento fue 103.5 días (percentil 25-75 de 43-215).

Los modelos ajustados de riesgo sugieren que la enfermedad avanzada metastásica en particular se asocia a un aumento de la incidencia de las complicaciones tromboembólicas y mal pronóstico de la enfermedad neoplásica <sup>32,33,34,35</sup>.

Por último, la agresividad del tumor se correlaciona con la incidencia de eventos tromboembólicos. En el registro de California se observó que la incidencia acumulada de trombosis a dos años fue de 4.7 % entre los pacientes con metástasis comparado con el 1.8 % de los pacientes con enfermedad limitada<sup>33,34</sup>. En el modelo multivariante se encontró un aumento del riesgo de trombosis venosa en estadio metastásico (HR:3.2; 95 % CI: 2.8 a 3.8) frente a estadios con enfermedad limitada (HR: 2.1; 95 % CI: 1.8 a 2.4).

Similares conclusiones se extrajeron de otro gran estudio prospectivo observacional del grupo de Viena, CATS (Vienna Cancer and Thrombosis Study) con un total de 832 pacientes<sup>36</sup>. La presencia de afectación adenopática en tumores de órgano sólido está significativamente asociada con el riesgo de trombosis en el seguimiento a 17 meses, siendo de 3.7 veces (95 % CI: 1.5 a 9.6) a 5.4 veces mayor (95 % CI: 2.3 a 12.9) respectivamente en pacientes con afectación regional y enfermedad metastásica frente a estadios tumorales locales. No obstante, pueden existir factores confusores, ya que estadios de la enfermedad oncológica más avanzados también se corresponden con estado general del paciente peor, con más inmovilización y tratamientos más agresivos.

#### ***Factores de riesgo dependientes del tratamiento:***

Por último tenemos los factores de riesgo dependientes del tratamiento. Entre ellos encontramos principalmente la cirugía, la quimioterapia y el uso de catéteres centrales venosos.

Los pacientes con neoplasia que son intervenidos tienen un riesgo doble de padecer TVP y triple de EP mortal en comparación con aquellos pacientes con el mismo tipo de cirugía y sin cáncer<sup>37</sup>. La profilaxis con HBPM o con fondaparinux reduce la incidencia de ETV en estos pacientes.

El tratamiento quimioterápico aumenta el riesgo de ETV, especialmente los tratamientos con platino, talidomida, lenalomida y bevacizumab. En los últimos años se han desarrollado diversos índices para predecir el riesgo clínico de ETEV asociado a la quimioterapia en pacientes oncológicos ambulatorios. El más extendido es el índice de Khorana, que divide a los pacientes en 3 grupos de riesgo en función de las variables clínicas y de laboratorio (tabla 2)<sup>38</sup> en bajo (0 puntos), intermedio (1-2) y alto ( $\geq 3$ )

<b>Tabla 2: Índice de Khorana</b>	
<b>Características del paciente</b>	<b>Puntuación</b>
Riesgo muy alto: páncreas y estómago	2
Riesgo alto: pulmón, linfoma, ginecológico, testicular y vesical.	1
Recuento de plaquetas prequimioterapia $\geq 350.000/\mu\text{l}$	1
Nivel de hemoglobina prequimioterapia $< 10 \text{ g/dl}$ y/o uso de agentes eritropoyéticos	1
Recuento de leucocitos prequimioterapia $> 11.000/\mu\text{l}$	1
Índice de masa corporal $\geq 35 \text{ kg/m}^2$	1

No obstante hay limitaciones ya que el seguimiento fue a 2.5 meses, los pacientes incluidos tenían buen estado general y había una infrarrepresentación de neoplasias de alto riesgo (siendo la neoplasia más frecuente en el estudio la de mama [34,6 % de la muestra]). Posteriormente se han añadido a este índice 2 biomarcadores, la selectina-P y los dímeros D, “Vienna CATS Score”

La presencia de un catéter venoso central (CVC) se relaciona con una mayor frecuencia de episodios de TVP del miembro superior cuando se inserta desde una vía venosa periférica (en vez de desde la subclavia o la vena yugular interna), así como cuando el extremo proximal queda situado en la vena cava superior o más periférica que en la aurícula derecha. Por ello, la ACCP (American College of Chest Physicians) en su novena Conferencia recomienda, basado en una revisión sistemática de 12 ensayos clínicos aleatorizados con 3.611pacientes con cáncer y un CVC, valorar dosis profilácticas de heparinas (HNF o HBPM) o bajas dosis de AVK.<sup>39</sup>

Otros factores de riesgo asociados al tratamiento son los agentes estimuladores de eritropoyesis, las transfusiones de hemoderivados y la hospitalización prolongada.

#### **1.3.4. BIOMARCADORES DE TROMBOSIS EN PACIENTES CON CÁNCER**

##### **Factor tisular**

La expresión del factor tisular juega un papel importante en la trombosis y en la angiogénesis (favoreciendo la invasión local del cáncer y metástasis).

El factor tisular (FT) es una glicoproteína que presenta 3 dominios con estructuras y funciones claramente diferenciadas. El dominio o porción externa de la membrana (se une al FVIIa y tiene un papel definitivo en la activación de la coagulación), el dominio transmembrana (atraviesa y se relaciona con los fosfolípidos de la membrana celular interviniendo también en la coagulación) y

el dominio intramembrana o citoplasmático (tiene un papel en los mecanismos de señalización celular).

El FT se ha localizado en lugares separados de la circulación sanguínea (ej. adventicia de vasos sanguíneos, cápsula fibrosa de hígado, bazo y riñón). Normalmente no se expresa en las células sanguíneas ni endoteliales y, tan solo un daño vascular activaría la cascada de la coagulación.

Las mutaciones en los oncogenes kras y p53 dan lugar a la expresión constitutiva del factor tisular en las células neoplásicas., que actúa mediante diferentes mecanismos:

- Los *mecanismos dependientes de la coagulación*; el papel clásico atribuido al factor tisular es el de “trigger” de la cascada de coagulación que favorece la trombosis. Incluye la generación de trombina, el paso de fibrinógeno a fibrina, activación plaquetaria y la formación de una matriz extracelular rica en plaquetas derivadas de los factores de crecimiento angiogénicos (figura 1)

- Los *mecanismos independientes de la coagulación*; incluyen la señalización del factor tisular medida por la activación de los receptores proteasa (PAR 2) que favorecen la proliferación de las células tumorales, la invasión y la angiogénesis (figura 2).

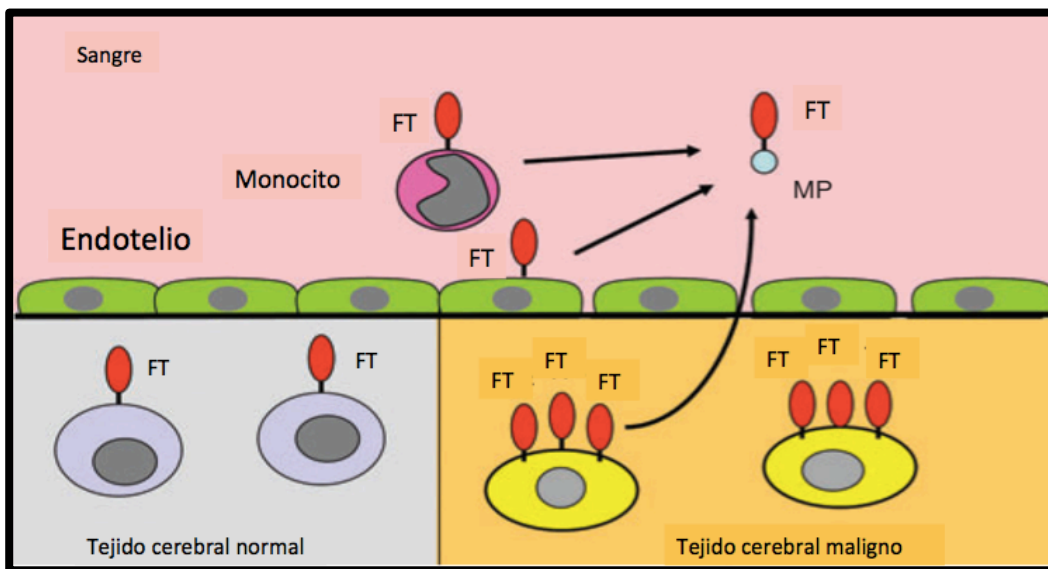
El dominio citoplasmático del factor tisular está directamente relacionado con la angiogénesis mediante el aumento de la expresión vascular del factor de crecimiento endotelial, la regulación de la migración celular y la invasión a través de la interacción con las integrinas y la proteína de unión.

El FT también se ve implicado en la metastatización vía hematológica de los tumores, al inducir una malla de fibrina alrededor de las células tumorales que quedarán atrapadas en la microcirculación y por vía linfática mediante M-CSF, regulador de la linfangiogénesis y del micromedioambiente, que facilita la salida y dispersión de las células tumorales (figura 3)

## FT-Micropartículas

El FT puede encontrarse en muchas células tumorales y también unido a las micropartículas siendo liberadas al torrente sanguíneo por las células tumorales. En pacientes con tumor pancreático<sup>40, 41</sup>, colorectal<sup>42</sup> o cerebral<sup>43</sup> (figura 4) se ha objetivado un aumento de la actividad del FT asociado a MP, estando incluso más aumentado en los pacientes que tenían eventos tromboembólicos agudos frente a los que no.

**Figura 4. Expresión del FT en el tejido cerebral normal y expresión aumentada en las células del tejido cerebral maligno<sup>43</sup> (extraída de Jenkins EO et al J Thrombo Haemost.2010 )**



Por eso el FT unido a las MP (FT-MP) se ha propuesto como un marcador de trombosis en los pacientes con neoplasia. En los tumores pancreáticos, los niveles elevados de FT-MP se han asociado con un riesgo aumentado de eventos tromboembólicos y muerte<sup>40,44</sup>. La cohorte más amplia de pacientes es la de CATS en esta cuando se analiza la asociación entre eventos trombóticos futuros y la actividad del FT-MP no se encuentra asociación significativa entre pacientes con cáncer gástrico, colorectal y cerebral, sin embargo sí hay una

tendencia a que la actividad del FT-MP tenga un valor predictivo alto de trombosis en pacientes con cáncer de páncreas, estando además relacionado con una supervivencia global baja<sup>45</sup>. El aumento de la actividad de las MP-FT se corresponde con tumores poco diferenciados no resecables, metástasis, tumores pancreáticos e invasión de los vasos sanguíneos<sup>46</sup>. Esto refuerza la teoría de que la actividad del FT-MP está en relación con la invasión del tumor, la angiogénesis y la diseminación metastásica.

### **Generación endógena de trombina**

La generación endógena de trombina es un buen determinante del funcionamiento total del sistema hemostático. En general se recoge en la mayoría de los estudios que niveles altos de generación de trombina pico se relacionan con mayor riesgo de trombosis.

Una de las cohortes más numerosas es la extraída del Vienna Cancer and Thrombosis Study (CATS), con 1133 pacientes con tumores de diferentes orígenes (mama, pulmón, gastrointestinal alto y bajo, páncreas, riñón, próstata, cerebro, linfoma, mieloma múltiple y otros tumores) seguidos una media de 517 días. El número de eventos trombóticos fue del 7.5 % (n=77). Concluyeron que los pacientes con trombina pico elevada (definido como valores  $\geq 611$  nM,) tuvieron un riesgo de trombosis con un hazard ratio de 2.1 ( IC 95%, 1.3 a 3.3., P=0.002) en el análisis multivariante incluido la edad, sexo, cirugía, quimioterapia y radioterapia. La probabilidad acumulada de desarrollar ETEV a los 6 meses fue significativamente mayor en pacientes con trombina pico elevada que en aquellos con trombina pico baja (11 % vs 4 %; log-rank test p=0.002).<sup>47</sup>

En las neoplasias hematológicas como los trastornos mieloproliferativos<sup>48</sup> o la leucemia linfoblástica aguda<sup>49</sup>, también ha resultado ser un marcador útil como predictor de trombosis.

## **Volumen medio de plaquetas**

La asociación entre el volumen medio de plaquetas (VMP) y la presencia de trombosis en pacientes con cáncer es todavía contradictoria. En el estudio prospectivo de Riedlt et al<sup>50</sup>, en que se incluyeron un total de 1544 pacientes observaron que un aumento del MPV estaba asociado con una disminución del riesgo de trombosis (HR:0.6 [0.37-0.98], p=0.051) y también una disminución del riesgo de mortalidad (HR: 0.72 [0.59-0.88], P=0.001). Estos hallazgos son contradictorios con otros estudios de la población en el que se sugiere que un VMP aumentado está asociado con un riesgo aumentado de eventos tromboémbolicos venosos y arteriales y un aumento de la mortalidad<sup>51, 52</sup>

## **Recuento leucocitario**

En el estudio Awareness of Neutropenia in Chemotherapy, los pacientes con un recuento leucocitario elevado presentaron una incidencia de ETEV 2 veces superior respecto a los pacientes sin leucocitosis<sup>53</sup>. En el estudio RIETE (Registro Informatizado de la Enfermedad TromboEmbólica), en el cual se incluyeron 3.805 pacientes con ETEV, aquellos con leucocitos  $> 11 \times 10^9 / l$  presentaron 1,6 veces más riesgo de ETEV<sup>54</sup>

El motivo por el cual la leucocitosis aumenta la probabilidad de ETEV no está claro. Se ha descrito una liberación de citocinas inflamatorias por el tumor que activa el factor tisular expresado en monocitos y células endoteliales. Asimismo, las células tumorales favorecen la expresión de selectina, un mediador de la adhesión plaquetaria que, además, induce una mayor expresión de FT por los monocitos<sup>55</sup>

## **Selectina P**

Cuando se afecta la integridad de la pared del vaso sanguíneo, las plaquetas circulantes se activan y secretan varias moléculas bioactivas que se expresan en la superficie de la plaqueta. Estas moléculas bioactivas incluyen el factor de crecimiento de transformación- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), el factor anti-angiogénesis Factor-4

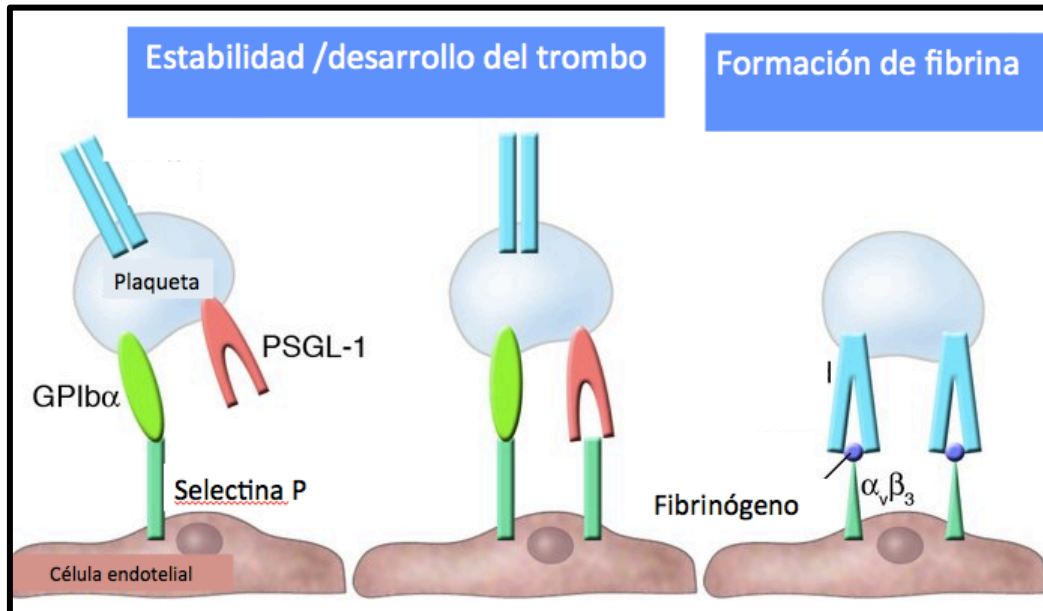


plaquetario (PF4) y los mediadores quimiotácticos o quimiocinas; aquellas que se expresan sobre la superficie de la plaqueta incluyen el ligando CD40 y la Selectina P.

Las selectinas formadas por las glicoproteínas (CD62), son una familia de moléculas transmembranales que están involucradas en la unión inicial de los leucocitos durante el proceso inflamatorio. El evento inicial contempla la marginación, el rodamiento y la adherencia laxa de los leucocitos al endotelio y se origina por la interacción transitoria de las moléculas de adhesión de la familia de las selectinas con sus ligandos. Se ha establecido que la selectina-P tiene un papel bien definido en la trombosis. La Selectina-P es la más larga de las selectinas con un peso molecular de 140 kDa, el prefijo (P) hace referencia al lugar donde fue identificada inicialmente (plaquetas). Esta presente en las membranas de los compartimentos granulares tanto en plaquetas (gránulos  $\alpha$ ) como en las células endoteliales (Cuerpos de Weibel Palade). La presencia de la Selectina P en los compartimentos granulares permite su rápida regulación sobre la superficie de la célula hasta la activación celular, un fenómeno que gobierna su actividad biológica. Debido a esta localización la Selectina P (también conocida como CD62P) se puede expresar muy rápidamente en la membrana (10-30 minutos) y se mantiene por períodos de tiempo de 1 a 2 horas. También esta presente en el plasma una cantidad significativa de Selectina P soluble, originada mayormente de la división de Selectina P de la superficie de las plaquetas activadas.

La Selectina P, ya sea presente en la superficie de las plaquetas activadas (y células endoteliales) o en su forma soluble en el plasma, impacta en la trombosis y en la coagulación en muchas formas.

**Figura 5. Adhesión endotelio-plaqueta.** (Activación de la superficie endotelial que expresa P-selectina. Los receptores de la superficie plaquetar GPIb $\alpha$  y PSGL-1 interaccionan con la P-selectina endotelial. La adhesión posterior es mediada por las integrinas  $\beta_3$ ).



En primer lugar afecta directamente la estabilidad del trombo vía interacción con su receptor-respondedor GPIb $\alpha$  de la membrana plaquetaria. En segundo lugar, afecta la coagulación a través del reclutamiento de los leucocitos procoagulantes y las micropartículas derivadas de los leucocitos, las cuales interaccionan con la selectina P expuesta en la superficie de las plaquetas adheridas vía su PSGL-1 (Ligando glicoprotéico Selectina P) (figura 5). Los leucocitos reclutados y las micropartículas derivadas de los leucocitos contribuyen a la estabilidad/desarrollo del trombo y la formación de fibrina en las arterias dañadas mediante la localización del factor tisular, el cual inicia la formación del coágulo. Por último, la forma soluble de la Selectina P presente en el plasma también es procoagulante, la actividad se lleva a cabo mediante la generación de factor tisular derivado de leucocitos llevando micropartículas.

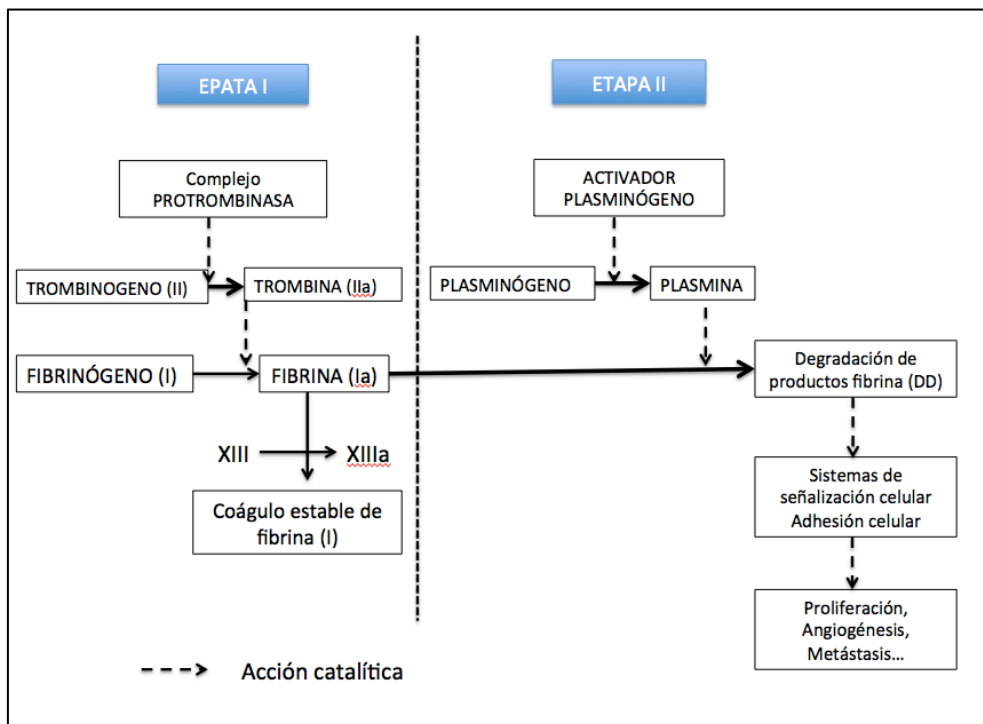
La Selectina P, ya sea en la superficie activada de las plaquetas o en su forma soluble en el plasma, es por tanto un marcador de eventos trombóticos y ha sido por ello estudiado como biomarcador de ETEV.

En el estudio CATS se analizó la selectina P soluble en 687 pacientes con cáncer de nuevo diagnóstico o en progresión<sup>55</sup>. Valores elevados de P-selectina (> 53,1 ng/ml) se asociaron a un riesgo de ETEV 2,6 veces superior respecto a los pacientes con valores normales de selectina P<sup>56</sup>

### Dímero D y fragmento de la protrombina F1+2

El dímero-D es un indicador global de la fibrinólisis, que aparece por la acción de la plasmina sobre la fibrina (figura 6). Por tanto, aunque sea un producto de la destrucción de fibrina, nos está indicando una situación previa de activación de la hemostasia que conduce a la formación de un trombo. Tiene un valor predictivo negativo del 91%, por lo que un resultado negativo (< 500 ng/ml) excluye con muy alta probabilidad la presencia de ETEV. Se ha descrito un mayor riesgo de ETEV en pacientes con dímero-D elevado<sup>57</sup>. También ha demostrado su utilidad como marcador de predicción de recurrencia de ETEV en pacientes con cáncer que discontinúan la anticoagulación<sup>58</sup>

**Figura 6. Función del dímero D en el proceso de coagulación.** Etapa I es el proceso de coagulación de la sangre. Etapa II es el proceso de fibrinólisis, como la degradación de los productos de fibrina, el dímero D puede promover el crecimiento y metástasis de tumores.



Sin embargo, el dímero-D no solo aumenta en el contexto de ETEV, sino también en otras situaciones como infarto de miocardio, neoplasias, coagulación intravascular diseminada, procesos infecciosos, insuficiencia cardíaca y en pacientes sometidos a cirugía. El contexto clínico es, por tanto, fundamental y, en conjunto con los datos analíticos, establecemos un diagnóstico que nos permita un tratamiento adecuado y personalizado de cada paciente.

Ay et al<sup>55</sup>, en un estudio prospectivo, observaron que los pacientes con valores elevados de dímero-D (al menos 1,44 µg/ml) presentaban mayor riesgo de desarrollo de ETEV.

### **1.3.5. ESCALA PREDICTIVA DE TROMBOSIS EN PACIENTE CON CÁNCER. TROMBOPROFILAXIS EN PACIENTE CON CÁNCER**

Se han desarrollado varias escalas para predecir el riesgo trombotico en pacientes oncológicos en régimen ambulatorio. De todas, la que ha sido validada en la mayor cohorte independiente, con 1365 pacientes, es la escala de<sup>59</sup> (tabla 2). La escala de Khorana está calculada otorgando una puntuación en función de la presencia o no de una serie de variables clínicas del paciente oncológico. La suma total de la puntuación estratifica el sujeto en uno de los tres grupos de riesgo. Posteriormente esta escala fue validada sobre la cohorte del estudio austriaco CATS (Vienna Cancer adn Thrombosis Study), obteniéndose la versión modificada que incluía como tumores de alto riesgo también al tumor cerebral, el mieloma y riñon; y por otro lado añadía dos biomarcadores, P-selectina soluble y dímeros D.<sup>60,61</sup>

Es probable que en los próximos años esta escala y otras propuestas sufran modificaciones, incorporando otros marcadores de coagulación como la generación de trombina pico, fragmento 1+2 protrombina, factor tisular soluble, FT unido a micropartículas y fibrinógeno<sup>62,63</sup>.

La tromboprofilaxis del paciente oncológico ambulatorio es por tanto un escenario controvertido, y no se recomienda de rutina. En la novena guía de la ACCP se revisaron 6 ensayos clínicos que valoraron la eficacia de la tromboprofilaxis con HNF (1 ensayo) o HBPM (5 estudios) frente a placebo <sup>64</sup>El efecto global de las heparinas en la mortalidad a 12 meses no fue significativo, si bien a 24 meses sí eran eficaces, así como en la prevención de episodios de TEV sintomáticos, sin producir más hemorragias o influir en la calidad de vida de los pacientes.

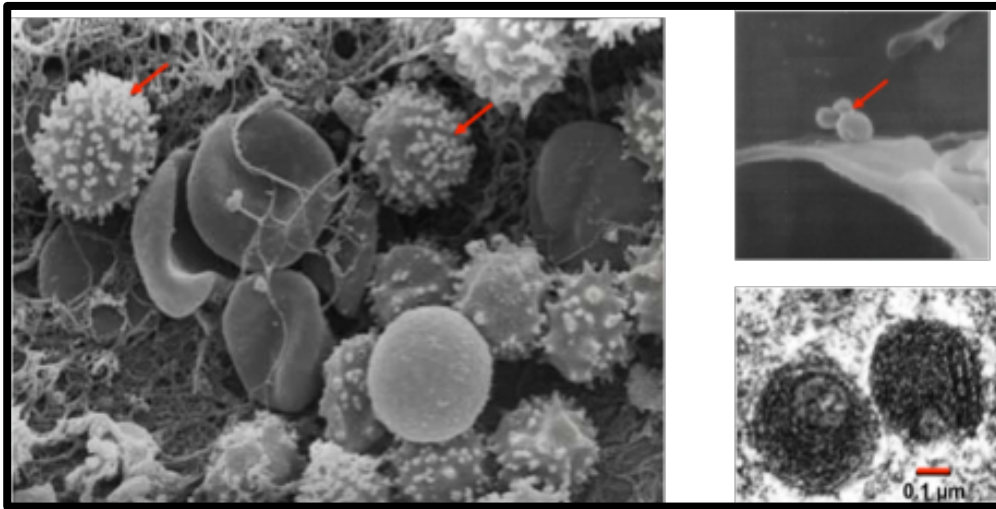
Probablemente si seleccionamos los pacientes oncológicos con mayor riesgo de ETEV (tratamiento con quimioterapia, cáncer de páncreas, inmovilización,..) y bajo riesgo de sangrado, la profilaxis con HBPM evite eventos trombóticos y aumente, por tanto, la supervivencia. Actualmente, como indicamos anteriormente usamos la escala de Khorana, debiendo ser considerados para tromboprofilaxis los pacientes con alto riesgo de trombosis (puntuación Khorana  $\geq 3$ ).

#### **1.4- MICROPARTÍCULAS**

##### ***Definición. Formación de micropartículas (MP)***

Las micropartículas son vesículas de fosfolípidos de 0.1-1  $\mu$  derivadas de vesiculación de la membrana plasmática. Las MPs son generadas desde diversas células circulantes (plaquetas, leucocitos, eritrocitos, células endoteliales, macrófagos y células de músculo liso) o desde células tumorales, por gemación de la membrana externa de la célula. Las MPs son distintas de los cuerpos apoptóticos y los exosomas; la primera puede surgir en las etapas finales de la muerte celular programada y son generalmente más grandes que las MPs, mientras que los segundos se forman intracelularmente y se liberan por fusión con la membrana celular.

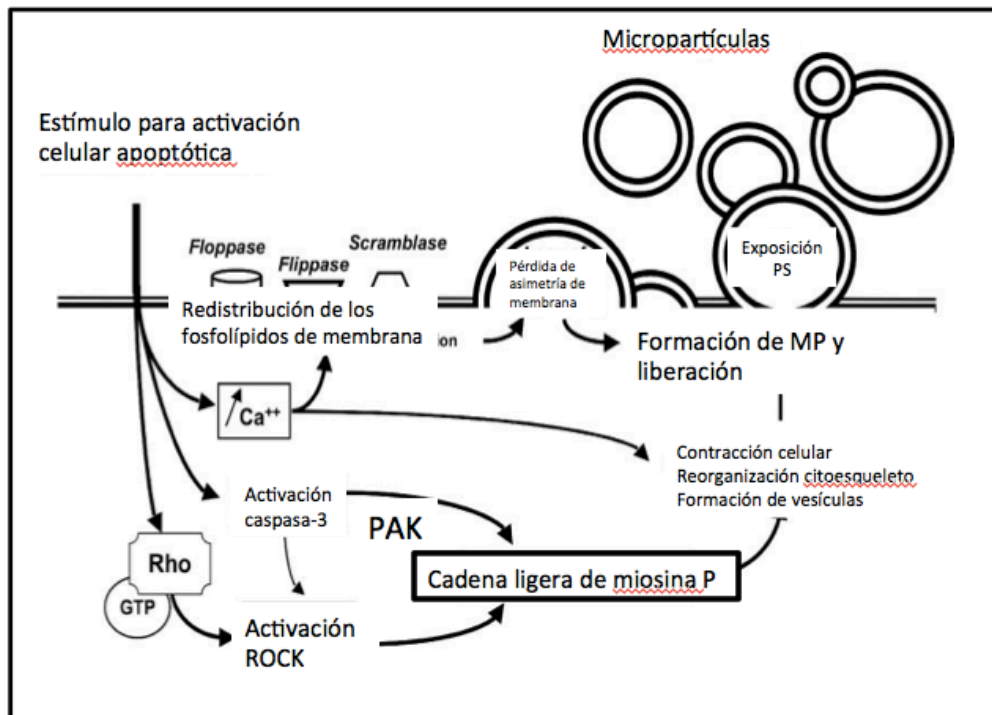
**Figura 7. Visualización de MP por microscopía electrónica.**



En las células normales, la formación de MPs está iniciada como consecuencia de una señal activadora o apoptótica. Bajo condiciones de reposo los aminofosfolípidos de la fosfatidilserina (PS) y la fosfatidiletanolamina (PE) están concentrados casi exclusivamente en el interior (citoplasma), mientras que en el exterior (exoplasma) está enriquecido en colina, fosfolípidos esfingomielina y fosfatidilcolina.

La liberación de las MPs es fundamentalmente dependiente de la migración transversa y la externalización de los fosfolípidos PS procoagulantes en respuesta de un aumento del calcio citosólico y un aumento concomitante en en la actividad enzimática, con resultado de un desbalance en la asimetría de los fosfolípidos de membrana .

**Figura 8. Formación de micropartículas y liberación.** (Extraída de Boulanger et al)<sup>65</sup>



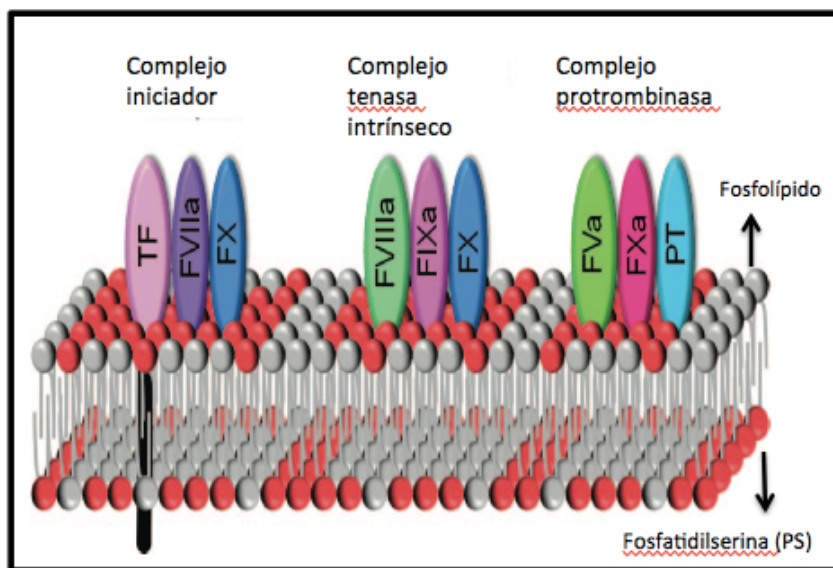
El paso inicial de formación de MPs requiere el cierre de la membrana plasmática, que permite la formación de vesículas de membrana. Este paso requiere un aumento del calcio intracelular, cambios en la asimetría de la membrana lipídica y reorganización de la proteína del citoesqueleto.

La formación de las vesículas de membrana está también asociada con la pérdida de la asimetría de la membrana plasmática.

La membrana plasmática de las células normales tiene una distribución asimétrica de los lípidos en las membranas externa e interna. Los fosfolípidos aniónicos, como la PS, están localizados casi exclusivamente en la monocapa interior. Durante la formación de las MPs hay una pérdida de la asimetría de la membrana con los fosfolípidos iónicos que se transfieren al exterior de la membrana de las MPs. La presencia de PS aumenta de forma significativa la actividad procoagulante de las MPs porque facilita el ensamblaje de los componentes de la cascada de la coagulación. Esto es debido a la interacción

electroestática entre el dominio de carga positiva ácido carboxiglutámico (GLA) de las proteínas de la cascada de la coagulación y la PS en la membrana. Las proteínas de la cascada de la coagulación que contienen un dominio GLA incluyen los factores VII, IX, X y protrombina. La PS de la superficie de las MPs puede ser detectada por citometría de flujo. Las plaquetas activadas generan MP PS+.

**Figura 9. Montaje de complejos de coagulación en la membrana de fosfolípidos (PS)**



El complejo de coagulación ( FT: FVIIa, FVIIIa: FIXa y FVa:FXa) está montado en la superficie de membrana. La presencia de fosfolípidos aniónicos, como la PS(rojo), facilita la unión del FVIIa, FIXa, FXa y protrombina (PT) mediante interacción con el dominio GLA dentro de las proteínas. Los fosfolípidos que se originan en la membrana externa antes de la desorganización de la asimetría de la membrana se muestran en gris.

Esto permite la exposición de la capa exterior de fosfatidilserina como consecuencia de la activación calcio-dependiente de la escramblasa y flopasa/ABC1 y la inhibición de las actividades traslocasa/flipasa. La exposición de fosfatidilserina no está siempre seguida de la formación de MPs, ya que



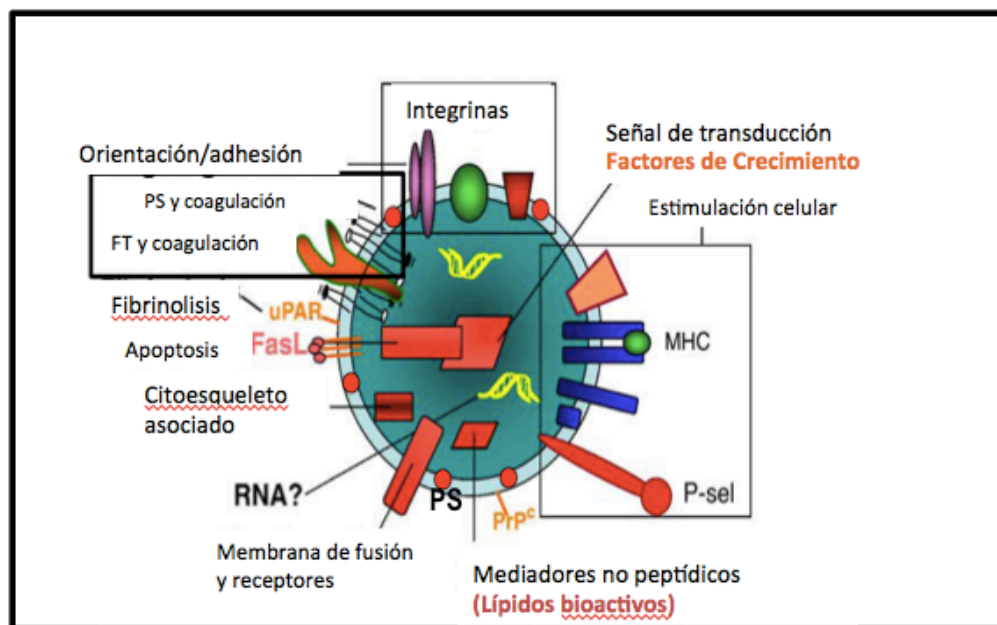
necesita también que se produzcan también una reorganización del citoesqueleto de la célula.

En las plaquetas, la liberación de MPs parece estar controlada por la activación calcio-dependiente de calpaína, una proteasa cisteína citosólica involucrada en la nueva disposición de las proteínas del citoesqueleto y el aclaramiento de proteínas para activar varios receptores y proenzimas.

### Estructura de las micropartículas y función

Las micropartículas son heterogéneas y carecen de núcleo. Contienen un almacén dinámico y diseminado de efectores bioactivos, por lo que se comportan como macromensajeros (figura 10).

**Figura 10. Estructura de la micropartícula.<sup>66</sup>**



La estructura de la micropartícula define sus funciones. Todas las MPs son procoagulantes porque la superficie de la membrana está provista de componentes de la cascada de coagulación. La actividad procoagulante está aumentada por la presencia de fosfolípidos aniónicos, particularmente fosfatidilserina (PS) y la proteína procoagulante factor tisular (FT), que es el mayor activador celular de la cascada de la coagulación. En individuos sanos

hay altos niveles de MPs PS+ derivados de plaquetas, mientras que el número de MPs con FT+ es indetectable o muy bajo. Sin embargo los niveles de MP PS+, FT+ son detectados en una gran variedad de enfermedades, entre ellas el cáncer.

Las micropartículas contienen ambos, PS y la proteína procoagulante FT, que tiene la actividad procoagulante mayor. El FT es el activador celular primario de la cascada de la coagulación. La actuación sinérgica de PS con el FT amplifica su papel en la iniciación de la coagulación sanguínea extendiendo la disponibilidad de la superficie de fosfolípidos para la unión de factores de coagulación y para facilitar la unión de los complejos tenasa y protrombinasa responsables de la formación de trombina.

Se cree que en individuos sanos los niveles de actividad del FT en la forma de MP son bajos (sólo el 5%), correspondiendo el otro 95 % a la actividad del FT en sangre de individuos sanos presente en las células mononucleares de la sangre periférica.

### **Origen celular de MPs**

Las MPs presentan en su membrana antígenos de célula específicos. Estos antígenos son actualmente usados para identificar los tipos de MPs presentes en la circulación, sin embargo la presencia de un antígeno de célula específico en una micropartícula no identifica necesariamente el origen celular. Es posible que los antígenos solubles circulantes en la sangre derivados de un tipo de célula específica se puedan adherir a las MPs derivadas de otros tipos celulares, o que las MPs derivadas de un tipo de célula puedan fusionarse con la membrana de un tipo de célula diferente; estas células pueden por tanto teóricamente liberar MPs que tengan un antígeno “adoptado”. Por eso hay que ser cautos a la hora de interpretar los resultados del inmunofenotipo. Igualmente las propiedades funcionales y el papel biológico de las MPs puede diferir de su origen celular <sup>67</sup>. Los subtipos específicos de MPs son identificados usando los anticuerpos monoclonales específicos de la célula. Hay varios requisitos para las dianas de antígenos: especificidad celular, abundancia de Ag en las MPs, estabilidad del

antígeno, disponibilidad comercial de anticuerpos ávidos, preferiblemente monoclonal. Hay una amplia variedad de anticuerpos que son usados para marcar MPs de un determinado origen celular <sup>68</sup>.

En la tabla 3 se resumen los anticuerpos más comúnmente utilizados para identificar los diferentes tipos de MPs en función del tipo celular de origen específico.

<b>Tabla 3. Resumen de los anticuerpos utilizados para identificar los diferentes tipos de micropartículas.</b>		
<b>Origen celular de las MPs</b>	<b>Antígeno</b>	<b>Nombre alternativo</b>
Célula roja	CD235a	Glicoporina A
Leucocito	CD45	Leucocito
Monocito	D14	Origen común
Granulocito	CD66b	
Linfocito T helper	CD4	
Linfocito T Killer	CD8	
Linfocito B	CD20	
Plaqueta	CD41	GPIIb
	CD41a	GPIIb/IIIa
	CD42a	GPIX
	CD42b	GPIb $\alpha$
	CD61	GPIIIa
	CD62P	Selectina P
Endotelio	CD31	PECAM-1
	CD34	Gp105-120
	CD62E	Selectina E
	CD51	$\alpha$ v integrina
	CD105	Endogлина
	CD144	VE-cadherina (la más específica para
	CD146	EMPs) S-Endo/Muc 18

El uso de diferentes anticuerpos para identificar las MPs específicas celulares en un individuo a menudo resulta en diferentes cantidades de MPs que son indentificadas por diferentes anticuerpos. El origen de las MPs del mismo tipo celular expresa diferentes antígenos de superficie en función del estímulo que da lugar a su liberación. Por ejemplo CD 41+PMP y CD42+ PMP no son idénticas y reflejan fenómenos fisiopatológicos diferentes.

Las MPs circulantes unidas a las células pueden potencialmente alterar la actividad biológica de la célula receptora, bien a) transfiriendo receptores que pueden inducir señalización celular o incluso transformación o b) transfiriendo información genética (mRNA) y segundos mensajeros. Se ha visto que las MPs transfieren mRNA que codifica para CD81 entre los leucocitos y las TMPs eran capaces de transferir mRNA a los monocitos. Esa unión de los antígenos de superficie de las MP a su contrarreceptor específico en las células puede permitir la señalización intercelular, algunas veces entre células muy alejadas, así como otros procesos, como regulación de la apoptosis, modulación de la respuesta inmune, inflamación, angiogénesis y coagulación.

En individuos sanos, la mayores fuentes de MPs son las células endoteliales y las plaquetas, que contribuyen respectivamente con un 43.8% y un 38.5% del total de MPs<sup>69,70</sup> aunque esta proporción es variable en la literatura, en función del método de preparación y procesado. Cuando se considera la cantidad total del área de superficie de la célula endotelial (una media en el adulto de 350 m<sup>2</sup>), es posible que las EMPs predominen en la circulación. El perfil de las MPs circulantes varía en función del estado de enfermedad; los pacientes con neoplasia tienen aumentado el número de MPs derivadas de células tumorales (TMPs)<sup>71,72,73</sup>.

En los pacientes con neoplasia y/o trombosis venosa además hay evidencia de disfunción endotelial, inflamación vascular y estado protrombótico por lo que el número de MPs se encuentra aún más elevado.

## **MPs en ETEV y Cáncer**

Como se comentó anteriormente los pacientes con cáncer tienen un riesgo aumentado de enfermedad tromboembólica venosa (ETEVE), la incidencia depende del tipo de cáncer y el estadio fundamentalmente.

Hasta el momento se conocen algunos parámetros que parecen útiles en la predicción del riesgo trombótico como son el DD, el fragmento 1+2 de protrombina (Lawerence), la Selectina P soluble, el factor de coagulación VIII y la generación potencial de trombina. Sin embargo, los resultados del nivel de MPs unidas al factor tisular en pacientes con neoplasia y ETEVE son heterogéneos. En el estudio de Tesselaar et al detectaron unos niveles de actividad elevado de las MPs asociado a FT en 7 pacientes con cáncer de páncreas y ETEVE, en comparación con los controles sanos.

Esta correlación no se ha confirmado en otros tipos de cáncer como el glioblastoma, el cáncer colorectal o el carcinoma gástrico. En el estudio de Thaler et al<sup>45</sup> se cuantificaron el número total de MPs procoagulantes en 728 pacientes con cáncer. No se encontró una asociación significativa entre las MPs procoagulantes y la ETEVE, pero sí que los niveles de MPs fueron significativamente mayores en los pacientes con cáncer que en los controles sanos cuando se ajustaba por género y edad. A conclusiones similares llegaron el estudio de casos control de Manly et al<sup>41</sup>, que incluía pacientes con diversas neoplasias. En ambos estudios se sugiere que la actividad elevada de las MP-FT juega un papel importante en el desarrollo de ETEVE secundaria a neoplasia, sin embargo esto no se ha confirmado en los estudios prospectivos posteriores .

Se cree que las MPs contribuyen a la supervivencia del cáncer a través de varios mecanismos diferentes. Las células liberan MPs como parte de los mecanismos que protegen frente al estrés intracelular: cuando la liberación de las MPs es inhibida, hay una acumulación intracelular de la caspasa 3 que permite la apoptosis celular; por otro lado la liberación de la caspasa 3 que contiene MPs favorece la supervivencia celular <sup>74</sup>

Las MPs también contribuyen a la resistencia a múltiples drogas de algunos tumores. Algunos tumores quimioresistentes se ha mostrado que liberan TMPs con altas concentraciones de agentes quimioterápicos cuando se compara con los tipos celulares quimiosensibles <sup>75</sup>.

Las MPs también interactúan con el sistema inmune, y pueden por lo tanto suprimir la respuesta inmune a los tumores. Esto a su vez puede promover la proliferación y la diseminación del tumor. TMPs son capaces de fusionarse con los monocitos de membrana del plasma, mermando la capacidad de este último para diferenciarse en células presentadoras de antígenos; algunas TMPs expresan Fas ligando (un ligando CD95, receptor de muerte Fas) que induce la apoptosis de la célula T, disminuyendo la respuesta inmune adaptativa; las MPs de las células del linfoblastoma expresan proteínas I de membrana (LMP-I), otra proteína de supresión inmune transmembrana que inhibe la proliferación de leucocitos y que podría potencialmente explicar la falta de proliferación de las células T en pacientes con tumores asociados a virus de Epstein-Barr. Las células tumorales pueden también escapar del sistema inmune simulando el entorno de acogida a través de su interacción con las MPs- las células tumorales pueden fusionarse con las MPs derivadas de células no tumorales, recibiendo de este modo fosfolípidos y proteínas específicas de membrana que puede ayudarlas a “escondarse” de la vigilancia inmune. Las plaquetas activadas, y las MPs que ellas liberan probablemente también contribuyan a la diseminación hematogena de las células tumorales: las plaquetas activadas expresan la adhesión al receptor de selectina P mientras que las células tumorales expresan los ligandos P selectina correspondientes como las selectina P GP y Sialyl Lewis, por lo que las plaquetas que llevan selectina P y /o PMPs alrededor “esconden “ las células tumorales del sistema inmune. Las MPs también protegen a los tumores de la lisis mediada por el complemento: las células tumorales pueden almacenar MPs que contengan CD46, el cofactor de membrana proteico que inhibe el complemento y que promueve la inactivación del complemento C4b y C3b <sup>76</sup>. La liberación de CD46 tiene un efecto antiinflamatorio de los tumores del medio ambiente, que protegen al tumor del ataque por el sistema de complemento.

Se hipotetiza que el papel procoagulante de las MPs también contribuye a la supervivencia de las células tumorales. El FT y los fosfolípidos de la membrana de las MPs pueden iniciar y facilitar la coagulación intravascular respectivamente <sup>77</sup>.

La fibrina formada por este proceso recubre las células tumorales, protegiéndolas del ataque inmune mediado y forma una matriz que mantiene la angiogénesis. La trombina, la enzima final de la cascada de la coagulación, se une a varios receptores proteasa activos que a su vez pueden iniciar la angiogénesis. Las células tumorales pueden por sí mismas inducir angiogénesis mediante la liberación de MPs que contienen mRNA que codifica los factores de crecimiento y por exposición de FT, que juega un papel crítico en la angiogénesis (activación de la cola citoplasmática del FT y como consecuencia el resto de la cascada que induce angiogénesis).

La progresión del cáncer es altamente dependiente de la angiogénesis- la formación de nuevos vasos asegura un suplemento de nutrientes, oxígeno y factores de crecimientos para el crecimiento del tumor y también facilita la diseminación del tumor <sup>78</sup>. Se ha encontrado que el nivel de expresión del FT en las células tumorales se correlaciona con el estadio y progresión del tumor <sup>79, 80, 81</sup>, y probablemente refleje el papel del FT en la angiogénesis y en la invasión tumoral.

Las MPs también facilitan la invasión tumoral (y las metástasis) mediante su participación en la degradación de la matriz extracelular, esencial para el crecimiento del tumor <sup>82</sup>

Las MPs transportan proteasas, que incluyen la metaloproteinasa (MMP)-2 y MMP-9, y el activador de plasminógeno tipo-urokinasa (Upa). Las MMPs son una familia de endopeptidasas que contienen zinc cuyo papel en la invasión tumora, metástasis y angiogénesis está establecido; uPA cataliza la conversión del plasminógeno en plasmita, una proteína serina que degrada numerosos componentes de la matriz extracelular, incluyendo fibrina y activa los cimógenos MMP). MMPs degradan los componentes (membrana de colágeno) de la matriz

extracelular (ECM) así como muchos substratos no ECM, como las moléculas quimotácticas, los factores de crecimiento lento, receptores de la superficie celular y las moléculas de adhesión a la matriz. Estas son principalmente secretadas en una forma soluble de proenzima aunque algunos [MMPs de membrana (MT-)] están anclados en la superficie celular. De las MMPs solubles, MMP-2 y MMP-9 parecen tener un papel más importante en la invasión del tumor como resultado de la degradación del colágeno tipo IV (el principal componente de la membrana basal subendotelial). De las MT-MMPs, MT1-MMP parece jugar un papel importante en la invasión del tumor debido a la habilidad de activar pro-MMP2. Hay un número de estudios que muestran que las MPs y su expresión de MMPs pueden correlacionarse con el estadio y la capacidad de invasión del tumor <sup>83</sup>

Las TMPs también contribuyen a las metástasis tumorales transfiriendo oncogenes como el MET y el ERBB2 o otra información genética a las células distantes de la localización tumoral original, causando transformaciones maligna de estas células.

El conocimiento de la función biológica de las MPs puede ayudar a diseñar nuevas dianas terapéuticas en el cáncer. La inhibición de la liberación de MP por las células tumorales es considerado que está asociado con una mejoría en la supervivencia del cáncer y en el crecimiento tumoral a través de varios mecanismos. Algunos agentes quimioterapéuticos inhiben parcialmente el mecanismo de liberación de MP, a través de la inhibición del paso Rho/Rock <sup>84</sup>



## **2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

### **HIPÓTESIS**

Partiendo de las observaciones anteriormente comentadas, que la incidencia de trombosis está significativamente aumentada en los pacientes con cáncer si la comparamos con la población general, que el cáncer está asociado con un riesgo hasta 4 veces mayor de desarrollar enfermedad tromboembólica venosa (ETEVE), y la quimioterapia aumenta este riesgo hasta 7 veces. Y por otra parte, el importante papel de las MPs en los procesos de coagulación y hemostasia, se considera en esta tesis que existe un cuerpo de doctrina sólido para explorar el papel de las MPs como biomarcador de eventos trombóticos en pacientes con cáncer. Las potenciales MPs, biomarcadoras del evento trombótico, podrían estar relacionadas con una estirpe celular en concreto o bien relacionadas con antígenos de superficie conocidos por su importante papel en procesos de coagulación, tales como el factor tisular o el ligando de la P-selectina, implicados en estudios experimentales en la relación trombosis-cáncer. Otras determinaciones relacionadas con la hemostasia/coagulación podrían tener también un papel relevante como biomarcadores (dímeros D, generación endógena de trombina, P selectina y factor tisular antigénico). La implicación práctica de la confirmación de estos supuestos , sería la incorporación de estas determinaciones a algoritmos de decisión sobre tratamiento profiláctico anticoagulante en pacientes neoplásicos seleccionados.

## **OBJETIVOS:**

El objetivo global es la búsqueda de perfiles clínicos y/o analíticos, principalmente basado en el análisis de las MPs, de eventos trombóticos en pacientes con neoplasias en estadios avanzados de pulmón y aparato digestivo.

### **Principales**

1. Analizar si las características clínicas de los pacientes con cáncer pueden determinar eventos trombóticos en su evolución.
2. Analizar si las MPs y otros parámetros analíticos se relacionan con eventos trombóticos en pacientes con cáncer.
3. Identificar perfiles clínicos y/o analíticos de paciente con cáncer y con mayor probabilidad de eventos trombóticos.

### **Secundarios:**

4. Analisis de la supervivencia de los pacientes con cáncer pulmonar y aparato digestivo en estadio avanzado según características clínicas, estudio de MPs y otros parámetros analíticos .

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **1. Diseño del estudio**

Estudio observacional prospectivo de seguimiento a dos años, en el que se incluyeron pacientes atendidos entre marzo 2011 y noviembre 2013 remitidos desde las consultas de Oncología. Durante el seguimiento se detectaron y recogieron datos acerca de los eventos tromboembólicos (objetivo principal), así como fallecimiento (objetivo secundario).

### **2. Participantes**

Mediante la participación en el proyecto de los oncólogos clínicos, se identificaron a los pacientes oncológicos en régimen ambulatorio susceptibles de ser reclutados en el estudio.

Los criterios de inclusión fueron los siguientes: 1. Pacientes diagnosticados mediante confirmación histológica de cáncer gastrointestinal o pulmonar en estadio avanzado, estadio IIIB y IV. 2. Pacientes mayores de 18 años. 3. Firma del consentimiento informado para participar en el estudio.

Los criterios de exclusión fueron: 1. Rechazo a la firma del consentimiento informado. 2. Haber sido diagnosticado de enfermedad tromboembólica venosa previa. 3. Estar bajo tratamiento anticoagulante bien con heparinas de bajo peso molecular o anticoagulantes orales a dosis profilácticas o terapéuticas independientemente de la indicación que estableció el inicio de este tratamiento.

En el momento de la inclusión en el estudio, se recogían los datos en relación con la localización del tumor, histología, estadio y tratamiento. A todos los pacientes en el momento de la inclusión se les extraía una muestra de sangre que tras su procesamiento se congelaba a -80°C hasta su análisis en el laboratorio. A todos los pacientes se les proporcionó información sobre los síntomas y signos sugestivos de ETEV (TVP y TEP), facilitando un teléfono de contacto para poder consultar ante cualquier duda o aparición de síntomas o signos que alarmaran a los pacientes y familiares durante el periodo de seguimiento.

En el grupo de sujetos sanos se incluyeron voluntarios sanos sin antecedentes ni de ETEV ni de cáncer que no estuvieran en situación de riesgo para desarrollar trombosis (inmovilización por periodos prolongados, tratamientos anticonceptivos orales, cirugía reciente...) y que no estuvieran bajo tratamiento anticoagulante.

## **Variables**

### **Variables independientes:**

En relación a los antecedentes personales clínicos de los pacientes se recogieron las siguientes variables: alergias a medicamentos, hábitos tóxicos (tabaco, alcohol), HTA, Diabetes Mellitus, dislipemia, enfermedad renal, enfermedad respiratoria crónica ( EPOC, SAOS, Asma, TBC, bronquiectasias), arteriopatía periférica, síndrome dispéptico, enfermedad inflamatoria intestinal, hepatopatía, conectivopatía, cardiopatía isquémica, insuficiencia cardiaca crónica, enfermedad inflamatoria y degenerativa articular, osteoporosis, fibromialgia, hiperuricemia, hiperplasia benigna de próstata, enfermedad psiquiátrica, demencia o enfermedad neurológica.

En cuanto a la historia oncológica, se recogieron: tipo de neoplasia, localización, histología, estudio de mutaciones, número de líneas de tratamiento recibidos, quimioterapia en el momento de la extracción de sangre, familia de quimioterapia (**anexo I**), radioterapia y cirugía en el mes previo a la inclusión, tratamiento con eritropoyetina o GCFS, escala performance status o ECOG en el momento de la inclusión (anexo I) y conceptos oncológico de progresión de la enfermedad. Se consideró, en consenso con los oncólogos clínicos, que el paciente estaba “sin progresión” al cumplír alguno de los siguientes supuestos:

1. Paciente en tratamiento con quimioterapia que no tuviera clínica de progresión.
- 2 Paciente que tras último esquema de quimioterapia ha tenido respuesta clínica, radiológica y marcadores negativos. Se consideró “progresión” de enfermedad cuando radiológicamente se producía una reducción tumoral menor del 30 % de la suma de los diámetros mayores de todas las lesiones, existía crecimiento tumoral o aparecían lesiones nuevas, acompañado o no de otros parámetros subjetivos de respuesta como ECOG, dolor, apetito o mejoría del estado de ánimo.

### **Variables dependientes o de resultado:**

Principal : Evento tromboembólico venoso, bien en su expresión de TVP y/o bien como TEP. También se incluyeron trombosis en territorios arteriales.

Secundario: Fallecimiento y sus causas

El diagnóstico de TEP se confirmó mediante el hallazgo en la angio-tomografía computarizada (TC) de un defecto intraluminal parcial rodeado de contraste o una oclusión completa de una arteria pulmonar en 2 cortes consecutivos de TC.<sup>85</sup> El angioTAC de tórax era solicitado ante una sospecha clínica de EP, tal y cómo recomiendan las GPC sobre el diagnóstico de EP. Además, se revisaron todos los TAC de torax con contraste practicados en los pacientes durante el seguimiento de la enfermedad neoplásica para detectar embolismos pulmonares asintomáticos o pauciasintomáticos. Ante sospecha de TVP de miembros inferiores o superiores se practicó bien una ecografía venosa compresiva ó bien ecografía-doppler. El principal criterio diagnóstico de trombosis venosas fue la falta de compresibilidad del territorio venoso profundo mediante la maniobra exploratoria por la cual se ejerce presión a través del transductor con una sola mano. Ante una alta sospecha clínica y una ecografía venosa negativa se solicitaban pruebas de imagen que requería el uso de contrastes yodados, fleboTAC o flebografía convencional.

Para el diagnóstico de un evento trombótico arterial se requería la visualización de un defecto total o parcial de un vaso arterial mediante angioTAC o arteriografía.

### **3. Medición de variables analíticas:**

#### ***Extracción de sangre venosa***

De todos los participantes se recogió sangre venosa con una aguja de calibre 21 (descartando los primeros 3 ml) en tubos de 3,5 ml con citrato de sodio al 3,2 % Vacuette® (Greiner bio-one, North Carolina, EE. UU). Los tubos se colocaron en posición vertical y cuando el procesamiento de las muestras requería su

transporte éste se llevó a cabo en frío. El tiempo transcurrido entre la extracción y el procesamiento de la muestra fue inferior a 2 h en todos los casos.

### ***Preparación de Plasma pobre en plaquetas (PPP)***

Se obtuvo a partir de centrifugación de 1500 g durante 30 min a 4 °C. En todas las centrifugaciones se quitó el freno de parada de la centrifuga para evitar que las diferentes fases separadas por el gradiente de centrifugación se mezclaran. En las centrifugaciones se obtuvo PPP de cada paciente que se recogió en un tubo de plástico estéril de 50 mL y tras mezclarlo suavemente, se realizaron alícuotas de 200 µL y 500 µL en tubos previamente identificados con el código de cada sujeto. La recogida de PPP se detuvo 1 cm por encima de la capa leucocitaria para evitar la contaminación celular. Las alícuotas así preparadas fueron congeladas a -80°C hasta su análisis. Todas las determinaciones (contaje de MPs totales y caracterización fenotípica, procedencia celular de MPs, sP-selectina y FT antigénico) se realizaron a partir de PPP congelado-descongelado.

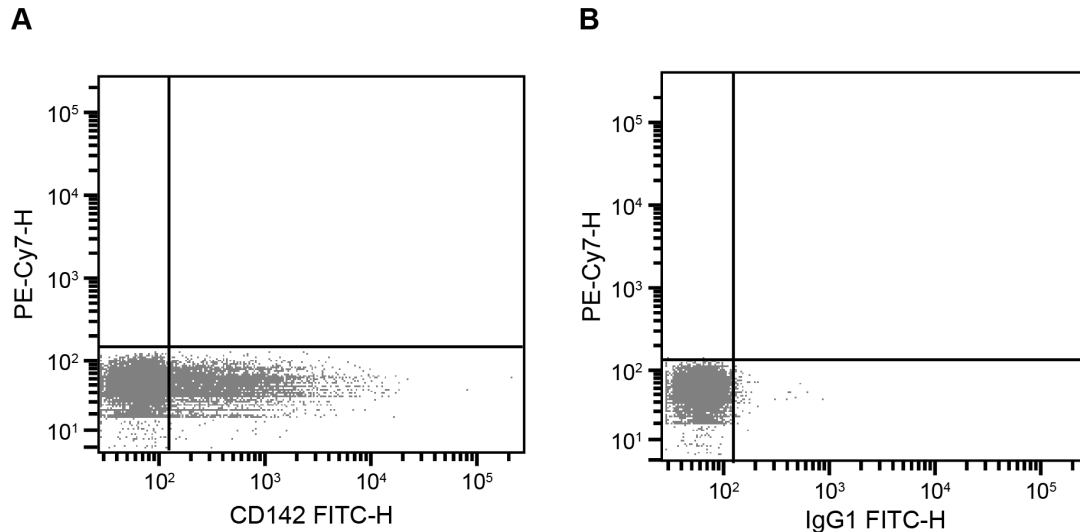
### ***Medición de micropartículas mediante Citometría de Flujo***

Para ello 30 µL de PPP se descongelaron a temperatura ambiente y se incubaron durante 15 min a 20 °C – 25 °C y en oscuridad con 2 µL utilizando Anexina V conjugada con isotiocianato de fluoresceína-fluorescein isothiocyanate (FITC; Immunostep, Salamanca, Spain) y 20 µL de tampón de unión de la Anexina V (10 mM HEPES, 140mM NaCl, 2.5 Mm CaCl<sub>2</sub>, pH 7.4). Tras la incubación se añadieron 450 µL más de tampón de unión de Anexina V e inmediatamente se adquirieron las muestras por el citómetro. Para la calibración del citómetro se utilizó un mix de bolas fluorescentes de diferentes tamaños (0.16, 0.20, 0.24, 0.5 µm, Megamix-plus SSC Biocytex, Marseille, France) siguiendo las especificaciones del fabricante. La cuantificación de las MPs circulantes se llevó a cabo en un BD LSR Fortessa (Becton Dickinson, San José, CA, EE.UU)

Se consideraron MPs a los eventos con un tamaño comprendido entre 0,5-1 µm y con positividad para Anexina V y el anticuerpo específico del origen celular.

En la tabla 4 se resumen los criterios utilizados para identificar las subpoblaciones de MPs utilizando el anticuerpo monoclonal específico. Para la cuantificación del valor absoluto del número de MPs justo antes de la adquisición de la muestra en el citómetro se añadieron 30  $\mu$ L de esferas de conteo (6  $\mu$ m de diámetro) con una concentración alrededor de 1000 esferas/ml (Perfect-Count Microspheres; Cytognos, Salamanca, Spain).

**Figura 11. Caracterización de MPs circulantes por citometría de flujo.** A modo de ejemplo se exponen dos dot plot representativos que ilustran la identificación de las MPs con factor tisular (MP+FT) en un paciente diagnosticado de Cancer. **A.** Las MPs+FT se identifican en la region inferior derecho utilizando un marcador específico para FT (CD142). **B.** Correspondiente control de isotipo negativo. IgG1: inmunoglobulina G1; FITC: isotiocianato de fluoresceína; PECy7: ficoeritrina-cianina 7; H: señal en pico.



<b>Tabla 4. Criterios utilizados para identificar subpoblaciones de MPs mediante citometría de flujo utilizando anticuerpos monoclonales específicos</b>							
	<b>AnV- CF Blue o AnV-FITC</b>	<b>CD162 PE</b>	<b>CD14 2 FITC</b>	<b>CD31 PE</b>	<b>CD41 PECy7</b>	<b>CD45 FITC</b>	<b>CD227</b>
MPs totales	P	-	-	-	-	-	-
MPs+PSGL1	P	P	-	-	-	-	-
MPs+FT	P	-	P	-	-	-	-
EMPs	P	-	-	P	N	-	-
EMPs+FT	P	-	P	P	N	-	-
PMPs	P	-	-	P	P	-	-
PMPs+FT	P	-	P	P	P	-	-
LMPs	P	-	-	-	-	P	-
LMPs+PSGL 1	P	P	-	-	-	P	-

AnV: anexina V; PMPs: MPs de procedencia plaquetar; EMPs: MPs de procedencia endotelial; LMPs: MPs de procedencia leucocitaria; FT: factor tisular; PSGL1: glicoproteína ligando 1 de la P-selectina; PE: ficoeritina; FITC: fluorescein isotiocianato; PECy7: ficoeritrina-cianina 7; P: positividad; N: negatividad. MUC1-MPs: MPs que exhiben MUC1.



### ***Determinaciones de Dímero D***

Los niveles de dímero D se analizaron en el laboratorio del Servicio de Hematología del Hospital Universitario Virgen del Rocío mediante el método de dímero D Acute Care™ de Stratus® CS (Siemens Healthcare Diagnostics, Newark, DE, EEUU) siguiendo las recomendaciones del fabricante. Este test es un ensayo tipo “sándwich two-site” doble, basado en la técnica de inmunoensayo de participación radial en fase sólida. Para realizarlo, se añadió un anticuerpo monoclonal específico para la molécula de dímero D a la porción central de un trozo cuadrado de papel de fibra de vidrio junto con la muestra de PPP descongelada. Tras un breve periodo de incubación se agregó el anticuerpo monoclonal esta vez conjugado con una enzima que reconoce un segundo sitio antigénico específico del dímero D. Durante este periodo de incubación, el anticuerpo conjugado reaccionó con el dímero D unido, formando un sándwich anticuerpo, antígeno, anticuerpo marcado. El anticuerpo marcado no unido se eliminó mediante lavados con una solución de lavado que incluía el sustrato de la enzima del anticuerpo conjugado iniciándose así la reacción enzimática. La tasa enzimática de la fracción unida aumentaba de forma directamente proporcional a la cantidad de dímero D presente en la muestra. La velocidad de reacción se midió mediante un sistema óptico. Los resultados se expresaron en  $\mu\text{g/L}$ .

### ***Determinación de P selectina soluble***

Los niveles de sP-selectina se analizaron en muestras de PPP previamente descongeladas mediante ELISA tipo sándwich (figura XX, Human sP-selectin/CD62P Quantikine R&D Systems Minneapolis, MN, EEUU) siguiendo las recomendaciones del fabricante. Para ello 100  $\mu\text{L}$  de PPP (previamente diluido 1:20) ó 100  $\mu\text{L}$  de calibrador (8 en total) y 100  $\mu\text{L}$  de anticuerpo policlonal para sP-selectina conjugado con peroxidasa se añadieron en una placa de pocillos tapizados con anticuerpos monoclonales específicos para sP-selectina. Tras 1 h de incubación la muestra se lavó con una solución tamponada para eliminar el resto de muestra no unida al anticuerpo. A continuación se le añadió tetrametilbenzidina y tras 15 min, la reacción se paró con 100  $\mu\text{L}$  de

ácido hidrociorídrico 1 N. Los valores se expresaron como concentración de sP-selectina (ng/mL).

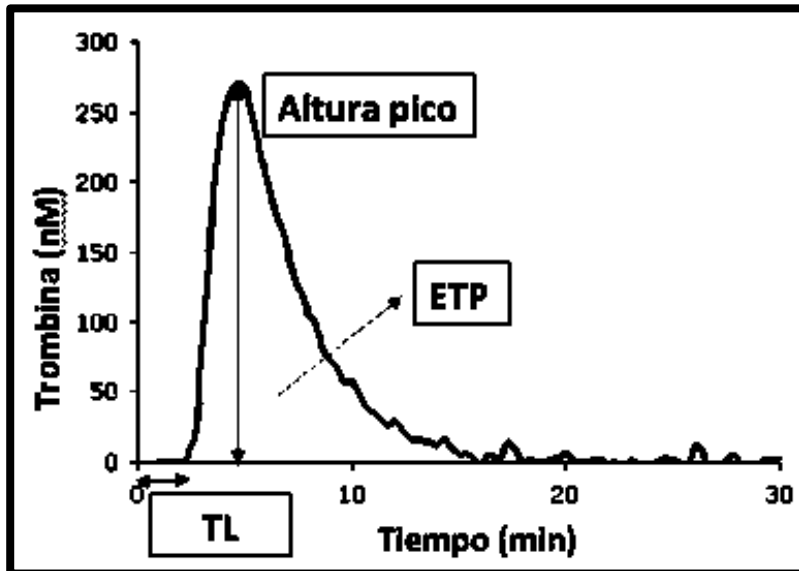
### ***Determinación de FT antigénico***

Los niveles de FT antigénico se determinaron en muestras de PPP previamente descongeladas por el método ELISA tipo sándwich ( Figura XX, Imubind® tissue factor ELISA, Sekisui Diagnostics, LLC, Stamford, CT EEUU). Brevemente, 100 µL de PPP previamente diluido 1:4 ó 100 µL de los estándares (6 en total) se añadieron en las placas de 96 pocillos tapizadas con el anticuerpo monoclonal para FT. Tras 12 h de incubación a 4 °C el resto de muestra no unida se eliminó con lavados de solución salina (PBS, 0,1% Tritón X-100, pH: 7,4). A continuación se agregó el anticuerpo para FT biotinilado y se incubó 1 h a temperatura ambiente. Tras eluir el exceso de anticuerpo mediante lavados, se añadió la enzima conjugada estreptavidin peroxidasa se incubó durante una hora y se lavó siguiendo el procedimiento anterior. Acto seguido se añadieron 100 µL de tetrametilbenzidina y pasados 20 minutos se paró la reacción con 50 µL de ácido sulfúrico 0,5 M. Los valores se expresaron en pg/mL.

### ***Determinación de generación de trombina***

El perfil transitorio de generación de trombina (TG) en plasma coagulado es un buen determinante del funcionamiento total del sistema hemostático. Su medición se hace con el trombograma automatizado calibrado (CAT). Los parámetros más importantes del test de generación de trombina son el tiempo de latencia (TL) requerido para la formación de 10 nM de trombina; el tiempo al pico (AP) requerido para alcanzar la máxima concentración de trombina o la altura del pico ( AP) y el potencial endógeno de trombina (ETP) que representa la capacidad máxima de generación de trombina de la muestra, en la gráfica es equivalente al área bajo la curva de la concentración de trombina.

**Figura 12. Curva generación de trombina.** La línea continua: plasma pobre en plaquetas (PPP) al que se añade factor tisular y fosfolípidos, tiempo de coagulación 3 minutos.



Para estudiar la actividad procoagulante mediada por MP, a partir de muestras PPP, se utilizó el método de trombograma automatizado calibrado (CAT, Thrombinoscope BV, Maastricht, NL y Diagnostica Stago, Asnières, Francia, ). La generación de trombina se inició mediante la adición de 20  $\mu$ l de reactivo denominado PRP (contiene gran cantidad de FT y una cantidad escasa de fosfolípidos) y 20  $\mu$ l de reactivo FluCa (sustrato fluorogénico de trombina y calcio) a 80  $\mu$ l de muestra.. No se añadió ni factor tisular exógeno, ni fosfolípidos. La trombina generada bajo estas condiciones fue, por tanto, críticamente dependiente de las MPs presentes en plasma. La actividad de trombina se midió en forma de fluorescencia en un fluorímetro Fluoroskan FL (Thermo Labsystem, Helsinki, Finlandia) equipado con filtros de 390/460 nm cada 20 segundos durante 90 minutos bajo el control del software Thrombinoscope (Thrombinoscope BV). y los resultados se expresaron como trombina (nM). Se midieron el tiempo de latencia (LT), tiempo al pico ( AP) y el potencial endógeno de trombina (ETP).

### ***Determinación del tiempo de coagulación dependiente de fosfolípidos (PPL)***

La determinación del tiempo de coagulación dependiente de fosfolípidos procoagulante, se llevó a cabo utilizando el kit , STA Procoag-PPL (Diagnostica Stago, París, Francia) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En resumen, 25 µL de muestra se diluyeron con 25 µL de plasma humano desprovisto de fosfolípidos y se incubaron durante 120 s a 37 ° C en un tubo con una bolita esférica. Acto seguido se añadieron 100 µL de factor X activado (0,01 U/mL) y se sometió al tubo a una agitación suave de vaivén hasta que se detectó que la bolita esférica dejaba de moverse. Este tiempo era inversamente proporcional a la capacidad procoagulante asociada a fosfolípidos. Los resultados se expresaron como tiempo de coagulación (s).

### **5. Tamaño muestral**

Tomando los datos del último registro de cáncer de Andalucía (fuente: Estimación de la incidencia y prevalencia de cáncer en Andalucía. Registro de cáncer. EASP. Granada), la incidencia total de cáncer en 2007 para las localizaciones tumorales (pulmón, colon-recto y estómago) es de 9.912 casos por 100.000 habitantes ( $q=0.092$ ) Tomando un nivel de confianza del 95 % ( $Z=1,96$ ), (margen de error máximo) del 5 % ( $d=0.05$ ) y siendo  $p$  (proporción de eventos trombóticos que esperamos encontrar en la población oncológica) del 8 % ( $p = 8$ ) el tamaño muestral debería ser 113 siguiendo la fórmula:

$$n = \frac{Z_a^2 \times p \times q}{d^2}$$

## 6. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versión 21 (IBM Corporation, Somers, Nueva York, EE.UU.).

Para describir las variables se emplean las frecuencias absolutas y relativas en el caso de variables cualitativas. Las variables cuantitativas se describen mediante la media y la desviación estándar ó medianas rango intercuartílicos si la muestra no siguió una distribución normal.

El estudio de las características clínicas del grupo de paciente oncológico con y sin trombosis se realizó con tablas cruzadas o de contingencia. Para el contraste de la hipótesis nula de independencia se empleó la Chi cuadrado de Pearson o test de Fisher si en alguna de las casillas de la tabla de contingencia hubo un valor esperado menor de 5. En cuanto a la comparación de los parámetros analíticos entre sujetos sanos, pacientes con cáncer que sufren eventos trombóticos y pacientes con cáncer sin trombosis empleamos pruebas no paramétricas para muestras independientes mediante U Man Whitney.

Los estudios de correlación entre los parámetros analíticos en el grupo de oncológicos y en el grupo de controles se realizó mediante correlaciones bivariadas simples, calculado el coeficiente de correlación de Pearson (Spearman en caso de distribución no paramétrica de las variables), calculando el coeficiente de determinación.

Se realizó un análisis de conglomerados en dos fases que permitiera clasificar en grupos el perfil clínico y/o analítico de los pacientes con y sin trombosis.. Se consideró que el valor de la calidad de los grupos obtenidos era bueno si eran mayores de 0.5

Para analizar la supervivencia se emplearon las curvas de Kaplan-Meier..

## 4. RESULTADOS

### *Características generales de los pacientes*

Se estudiaron 157 sujetos, 120 pacientes con neoplasia estadio IV y 14 controles sanos. Las características basales de la población oncológica se muestra en la tabla 5. La distribución por tipo de neoplasia fue un 49,2 % pulmonar, un 21,7 % de tracto digestivo alto (T.D.A) y en el 29.2% de tracto digestivo bajo (T.D.B.). En su mayoría fueron hombres, con edad media 62 ( $\pm$  10,52) años. En cuanto a la actividad de la enfermedad neoplásica, el 75,8 % de los pacientes no tenían enfermedad en progresión y un 17,5 % del total de la muestra llevaban más de 6 meses libres de enfermedad. El 77,6 % de los pacientes estaba en tratamiento oncológico en el momento de la inclusión al estudio. En la tabla 5 se describe también el tipo de tratamiento agrupado por grupos de quimioterapia y otros tratamientos diferentes a la quimioterapia; factor estimulante de colonias de granulocitos (GCSF), eritropoyetina (EPO), tratamiento con radioterapia y cirugía un mes antes de la inclusión.

<b>Tabla 5. Características clínicas y demográficas de pacientes oncológicos</b>	
<b>PACIENTES (N:120)</b>	
Edad; media±DS	62,01 ± 10,52
IMC; media±DS	26,45 ±5,34
Género masculino;n, %	84 (70 %)
Localización del tumor; n ,%	
<i>Pulmón</i>	59 (49,2 %)
<i>Esofágico-gastrico-pancreatico</i>	26 (21,7 %)
<i>Colon</i>	35 (29,2 %)
Pacientes sin progresión de la enfermedad oncológica en el momento de la inclusión; n ,%	91 (75,8 %)
Pacientes con más de 6 meses de tiempo libre de enfermedad en el momento de la inclusión; n ,%	21 (17,5%)
Antecedentes personales; n ,%	
<i>Habito enólico</i>	31 (25,8 %)
<i>Fumador</i>	76 (63,3 %)
<i>HTA</i>	35 (29,2 %)
<i>Dislipemia</i>	31 (25,8 %)
<i>D.M.</i>	21 (17,5 %)
<i>Enfermedad respiratoria crónica</i>	22 (18,3 %)
<i>Hepatopatía</i>	8 (6,7 %)
<i>Cardiopatía isquémica</i>	3 (2,5 %)
<i>Insuficiencia renal crónica</i>	6 (5%)
Tratamiento oncológico en el momento de la inclusión; n, %	93 (77,5 %)
<i>Antimetabolito en monoterapia</i>	23 (19,2 %)
<i>Biológico en monoterapia</i>	14 (11,7%)
<i>Tratamiento combinado que incluye alquilante</i>	47 (39,2 %)
<i>Otros</i>	9 (7,5 %)
<i>Sin tto</i>	27 (22,5 %)

En cuanto a los datos analíticos determinados se han encontrado diferencias significativas en Dímero- D ( $p < 0,048$ ) y P selectina soluble ( $p < 0,042$ ) según las diferentes localizaciones de las neoplasias. Tablas 6-7, figura 13-14.

<b>Tabla 6: Niveles basales de DD en función del tipo de tumor</b>				
	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>
<b>Pulmón</b>	41	1175,68	1175,68	4482,00
<b>T.D.A.</b>	17	1823,76	2102,11	8714,00
<b>T.D.B.</b>	26	1273,65	1119,78	3472,00

**Figura 13. Niveles basales de DD en función del tipo de tumor.**

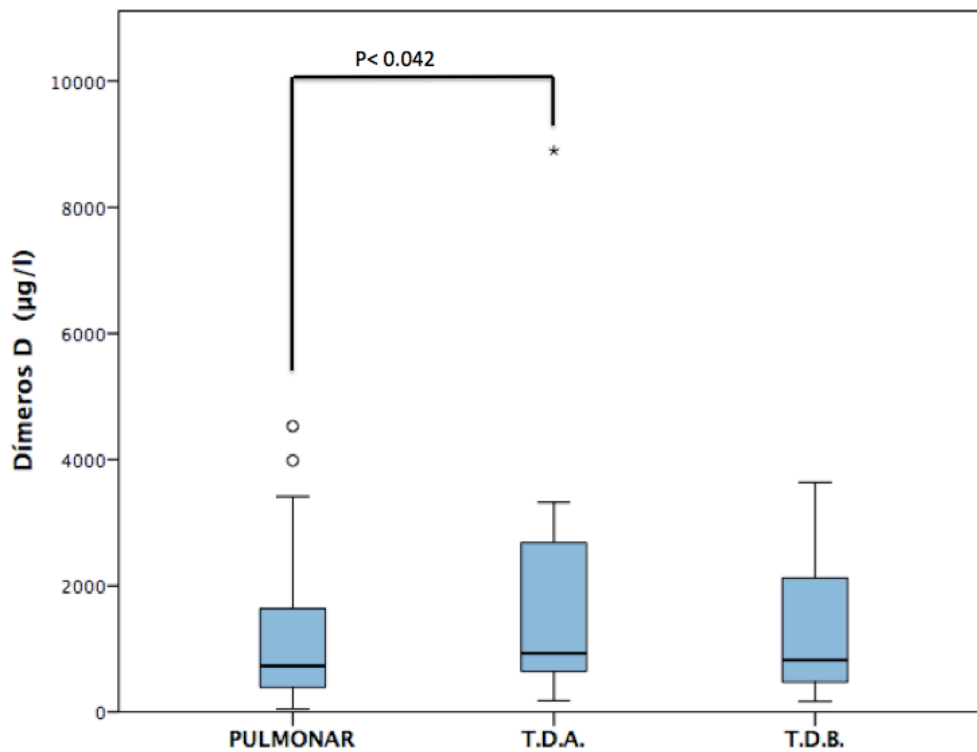
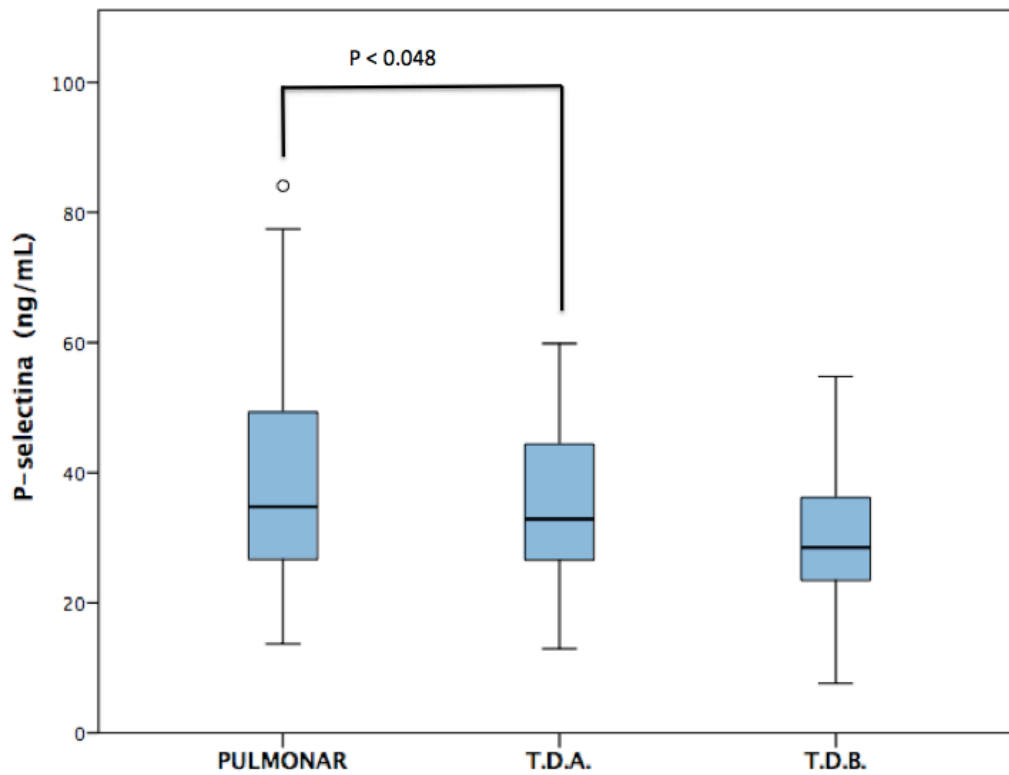




Tabla 7: Niveles basales de P selectina en función del tipo de tumor				
	N	Media	Desviación estándar	Rango
<b>Pulmón</b>	58	39,94	17,36	70,40
<b>T.D.A.</b>	26	35,26	12,94	46,88
<b>T.D.B.</b>	35	30,26	10,38	47,18

Figura 14. Niveles basales de selectina P en función del tipo de tumor.



Curiosamente, los pacientes con insuficiencia renal [filtrado glomerular (F.G.) calculado por Modification of Diet in Renal Disease (MDR) < 60 ml/min ] presentaban diferencias en las determinaciones plasmáticas de P-selectina, FT antigénico y LMPs con PSGL-1 en su superficie, independientemente del tipo de neoplasia (tabla 8).

**Tabla 8. Resultados de selectina P, FT antigénico, LMPs con PSGL-1 según la función renal.**

	Insuficiencia Renal		p
	Si	No	
P selectina soluble (ng/ml)	56,67	34,98	0,021
F.T. Antigénico (pg/ml)	368,32	234,76	0,019
MP de origen leucocitario unida a PSGL-1/ uL	4,24	2,55	0,015

***Analizar las características clínicas de pacientes con cáncer que sufren eventos trombóticos en su evolución.***

Los pacientes fueron seguidos durante  $12,99 \pm 8,14$  meses. En 18 pacientes se detectaron eventos trombóticos (15 %), de los cuales 7 fueron tromboembolismo pulmonar, 6 trombosis venosa profunda, 3 trombosis de la vena porta y mesentérica superior, uno de la vena esplénica y una trombosis arterial del territorio femoral. El tiempo medio desde el diagnóstico de la neoplasia al evento trombótico fue de  $33,89$  meses ( $\pm 26,72$ ). Posteriormente al evento trombótico, 13 pacientes fallecieron durante el seguimiento (72,2 %), (pulmón:5, T.D.A.:4, T.D.B.:4). Las causas del fallecimiento fueron debidas a la neoplasia en 7 pacientes, por el mismo evento trombótico en 4 pacientes y en dos pacientes no se pudo identificar con precisión la causa. La muerte tras el episodio de trombosis sobrevino a los  $4,54 \pm 4,9$  meses. En la tabla 9 se incluyen datos relevantes de los 18 pacientes que sufrieron episodios trombóticos durante el seguimiento.

En cuanto a la comparación de las características clínicas de los pacientes con o sin trombosis, no se detectaron diferencias que significativamente caracterizara a alguno de los grupos (tabla 10). A pesar de ello, se observa algunas tendencias

pero no llegaron a ser relevantes. En el grupo de pacientes con trombosis durante el seguimiento no hubo ningún paciente con antecedentes de insuficiencia renal crónica. Hay un ligero incremento de los pacientes con neoplasias que afectan al tracto digestivo, alto o bajo con respecto a las de pulmón en el grupo de pacientes que sufren trombosis. El tipo histológico adenocarcinoma fue el más frecuente en ambos grupos, pero no se encontró ningún tipo epidermoide en el grupo de trombosis. En el grupo sin trombosis hay un discreto aumento del número de pacientes en progresión de enfermedad en el momento de la inclusión en el estudio y también de pacientes en tratamiento oncológico. La mayoría de pacientes tenían un ECOG entre 0-1 que corresponde al estatus funcional que normalmente tienen los pacientes neoplásicos ambulatorios, población diana de nuestro estudio, no hubo diferencias entre el grupo que desarrolla trombosis frente al que no lo desarrolla según la clasificación ECOG en el momento de la inclusión.

**Tabla 9. Resumen de las características clínicas de los pacientes oncológicos con trombosis.**

Paciente	Sexo	Edad	Tipo de cáncer	Histología	Tipo de trombosis	Seguimiento hasta evento trombótico	Progresión de enfermedad en la inclusión	Libre de enfermedad $\geq$ 6 meses	Tto. QT	Fallecimiento	Tiempo desde la trombosis a fallecimiento
1	H	60	TDB	Adeno	TEP	2	No	No	Si	Si	0
2	H	60	TDB	Adeno	TEP	5	Si	No	Si	Si	1
3	H	58	Pulmón	Adeno	TVP	6	No	Si	Si	Si	16
4	H	45	TDA	Adeno	TEP	2	No	No	Si	Si	5
5	M	54	TDA	Adeno	Vena porta y mesenterica superior	2	No	Si	No	Si	5
6	H	45	TDB	Adeno	TVP	3	No	No	Si	No	No aplica
7	H	76	TDA	Adeno	TVP	4	No	No	Si	No	No aplica
8	M	51	TDB	Carcinoide	TVP	4	No	No	No	Si	5
9	H	40	Pulmón	Adeno	TEP	7	Si	No	No	Si	0
10	H	55	TDB	Adeno	TVP	9	No	No	Si	Si	3
11	H	78	TDA	Adeno	Vena porta y mesentérica superior	7	No	Si	No	Si	12
12	M	59	Pulmón	Adeno	TEP	16	No	Si	No	Si	0
13	M	65	Pulmón	Adeno	TVP	4	No	No	Si	No	No aplica
14	H	66	TDB	Adeno	Vena esplénica	9	No	No	Si	No	No aplica

15	M	44	Pulmón	Adeno	TEP	7	No	Si	No	Si	6
16	H	79	Pulmón	Adeno	Arteria femoral	7	No	No	No	No	No aplica
17	M	70	TDA	Adeno	Vena porta y mesentérica superior	13	No	No	Si	Si	6
18	M	49	Pulmón	Microcítico	TEP	22	No	No	Si	Si	0 ( 3 días)

(TDB: tracto digestivo bajo. T.D.A.: Tracto digestivo alto. Adeno: adenocarcinoma. TEP: Tromboembolismo pulmonar. TVP: Trombosis venosa profunda. M: mujer. H: hombre)

**Tabla 10 : Comparación de las características clínicas de pacientes neoplásicos con y sin trombosis en el seguimiento**

Variables	Cáncer <b>sin</b> trombosis (n= 102) 85 %	Cáncer <b>con</b> trombosis (n=18) 15 %
<b>VARIABLES EN RELACIÓN AL PACIENTE</b>		
Edad; media±DS	62,61 (± 10,18)	58,18 (±10,97)
IMC; media±DS	26,44 (+ 5,62)	26,52 (+ 3,48)
Género masculino; n, %	71,56 % (73)	61,11 % (11)
Antecedentes personales; n, %		
<i>Habito enólico:</i>	29 (28,4 %)	2 (11,1 %)
<i>Fumador</i>	67 (65,7 %)	9 (50 %)
<i>HTA</i>	30 (29,4 %)	5 (27,8 %)
<i>Dislipemia</i>	28 (27,5 %)	3 (16,7 %)
<i>D.M.</i>	19 (18,6 %)	2 (11,1 %)
<i>Enfermedad respiratoria crónica</i>	21 (20,6 %)	2 (11,1 %)
<i>Insuficiencia renal crónica</i>	6 (5,9 %)	0
ECOG (0-5); n, %		
0	22 (21,6 %)	4 (22,2 %)
1	59 (57,8 %)	13 (72,2 %)
2	15 (14,7 %)	1 (5,6 %)
3	6 (5,9 %)	0
<b>VARIABLES EN RELACIÓN A LA NEOPLASIA</b>		
Localización del tumor; n, %		
<i>Pulmón</i>	52 (51 %)	7 (38,9 %)
<i>TDA: Esofágico-gástrico-pancreático</i>	21 (20,6 %)	5 (27,8 %)
<i>TDB: Colon, recto, ano</i>	29 (28,4 %)	6 (33,3 %)
Tipo histológico		

<i>Adenocarcinoma</i>	76 (74,5 %)	14 (77,8 %)	
<i>Epidermoide</i>	12 (11,8 %)	0	
<i>Microcítico</i>	8 (7,8 %)	1 (5,6 %)	
<i>Otros</i>	6 (5,9 %)	3 (16,6 %)	
Pacientes en progresión de la enfermedad oncológica en el momento de la inclusión;	26 (25,5%)	3 (16,7 %)	0,420
Pacientes con más de 6 meses de tiempo libre de enfermedad en el momento de la inclusión;	17 (23,3 %)	4 (22,2%)	0,561
<b>Variables en relación al tratamiento oncológico</b>			
Tratamiento oncológico en el momento de inclusión; n, %	80 (78,4%)	13 (72,2 %)	0,898
<i>Antimetabolito en monoterapia</i>	20 (19,6 %)	3 (16,7 %)	
<i>Biológico en monoterapia</i>	11 (10,8 %)	3 (16,7 %)	
<i>Tto. combinado que incluye alquilante</i>	41 (40,2 %)	6 (33,3 %)	
<i>Otros</i>	8 (7,8 %)	1 (5,6 %)	
<i>Sin tto</i>	22 (21,6 %)	5 (27,8 %)	
Primera línea	58 (56,9%)	10 (55,6%)	0,910
Segunda línea o más	24 (23,5 %)	5 (27,8 %)	
Otros	20 (19,6 %)	3 (16,7%)	
Radioterapia	3 (2,9 %)	0	0,461
Cirugía previa	1 (1%)	0	0,673
Tratamiento de soporte	7 (6,9 %)	0	0,252
Variable: evolución			
Mortalidad total	76 (74,5 %)	14 (77,8 %)	0,768

***Analizar los parámetros analíticos de pacientes con cáncer que sufren eventos trombóticos en su evolución.***

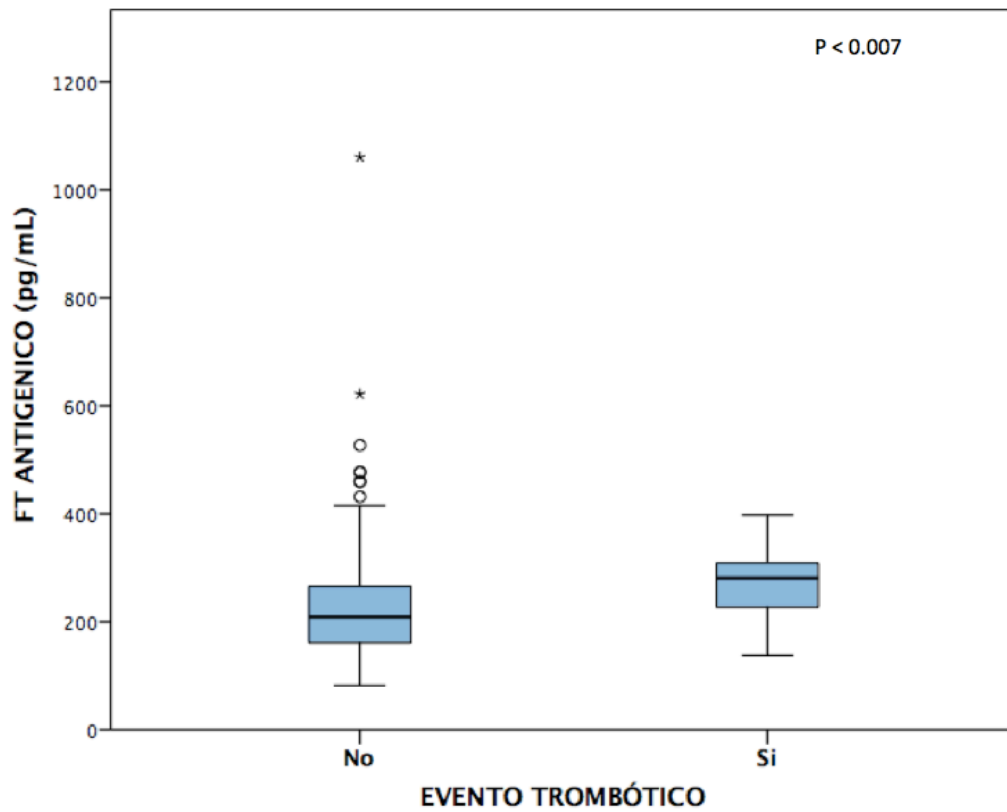
En la tabla 10 se expresan los resultados de las determinaciones practicadas tanto a los sujetos controles como a los pacientes neoplásicos agrupados en función si tuvieron trombosis o no en su seguimiento.

Encontramos diferencias significativas en las determinaciones de P-selectina soluble y LMPs (micropartículas de origen leucocitario) que exhibían en su superficie PSGL-1, aquellos pacientes que sufrieron trombosis en el seguimiento tenían niveles mas bajos de estas determinaciones cuando se les extrajo la muestra sanguínea al incluirlos en el estudio (tabla 11). Hay que puntualizar que los eventos trombóticos fueron diagnosticados en un intervalo entre 2 y 22 meses tras la recogida de muestra sanguínea basal. No obstante, en aquellos pacientes con eventos trombóticos hasta 3 meses, se observaron las cifras más elevadas de Pselectina por encima del p75: 31,67 ng/ml del grupo que sufrió trombosis.

El Factor tisular antigénico se encontró elevado en el grupo que sufrió trombosis de forma significativa  $p < 0,007$  (figura 15).



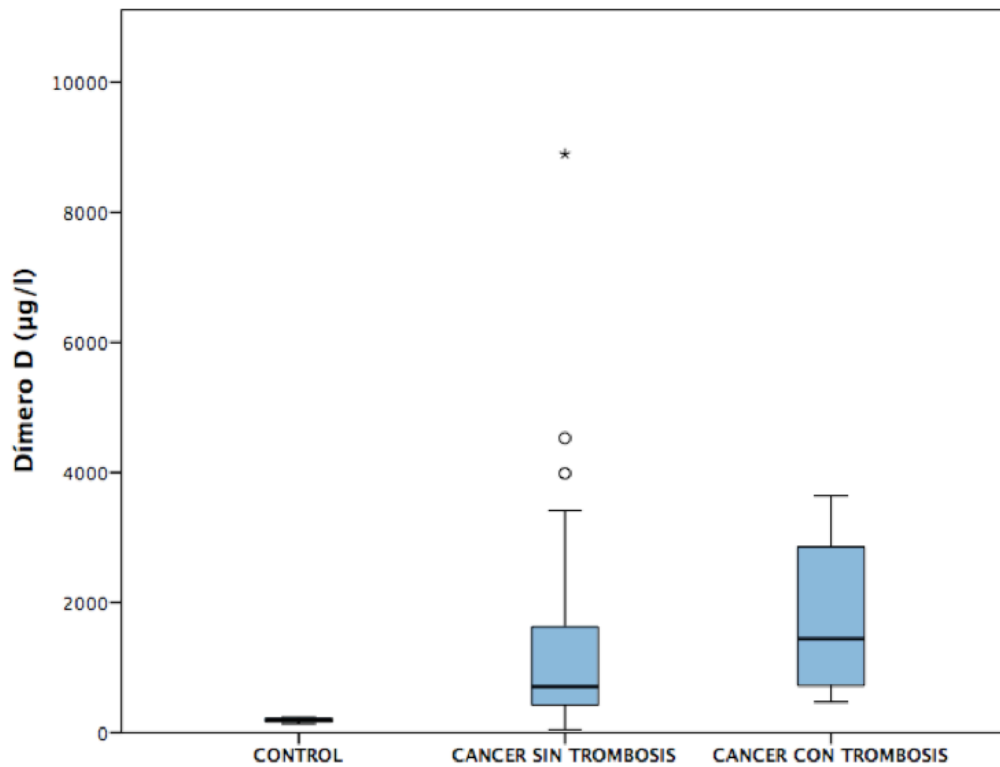
**Figura 15. FT antigénico en función de evento trombótico.**



En cuanto al test de la Generación de Trombina ocurre un fenómeno similar a la Pselectina, encontrando niveles mas bajos en pacientes que sufrieron trombosis, pero lamentablemente no tenemos determinaciones de los pacientes que sufrieron el evento trombótico antes de los 3 meses, para poder constatar el mismo fenómeno observado con la Pselectina.

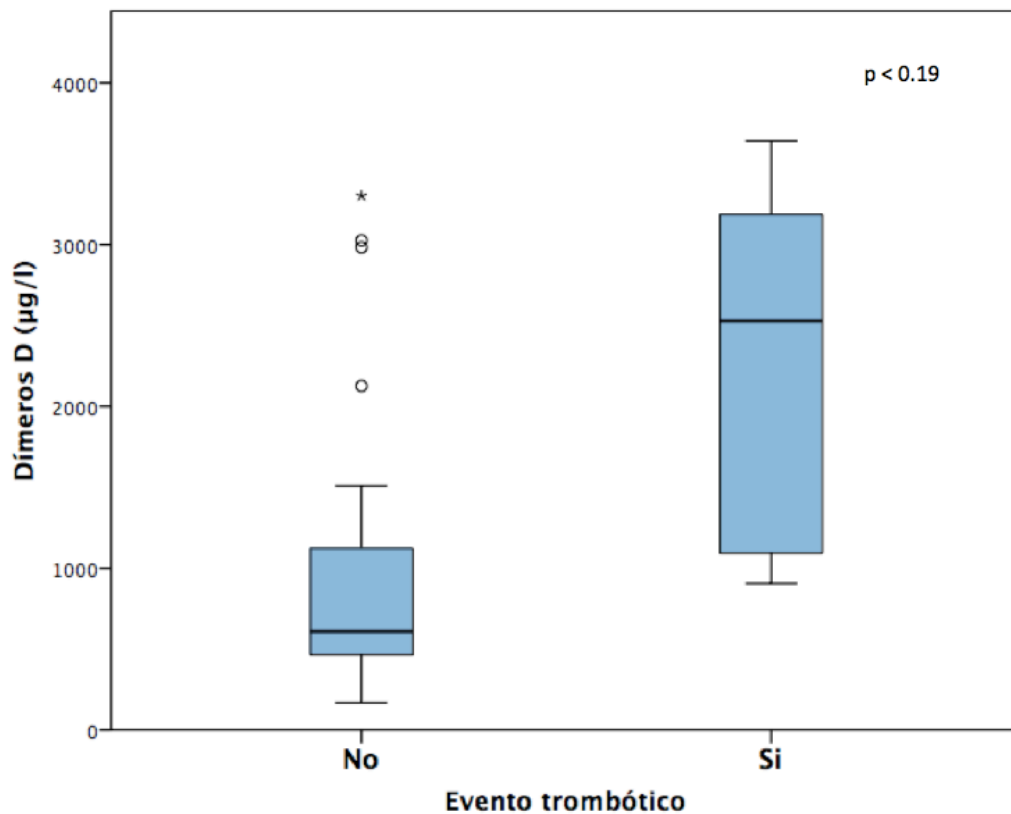
Aunque no se ha alcanzado una diferencia significativa en los valores de DD ( $p=0,068$ ), se observaron niveles más bajos en los sujetos controles y los más altos en el grupo de pacientes neoplásicos que sufren trombosis (figura 16).

**Figura 16. DD en grupo control, cáncer sin trombosis y cáncer con trombosis.**



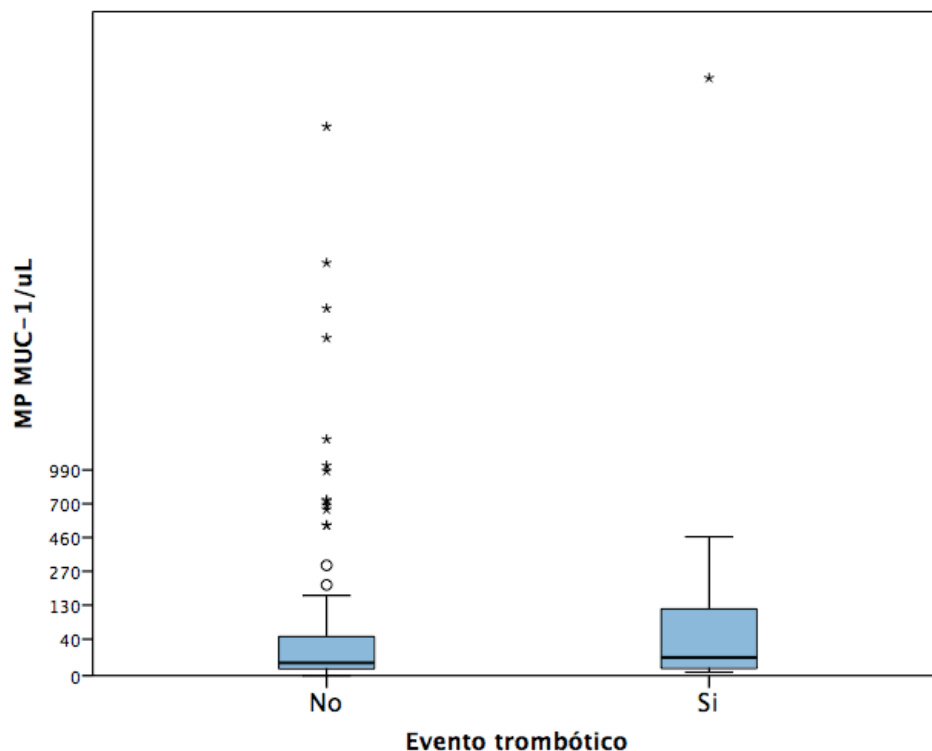
Las diferencias fueron significativas, cuando se analizaron las cifras de DD atendiendo a los grupos de cáncer. Se encontraron diferencias significativas entre pacientes con o sin trombosis en el subgrupo de las neoplasias del tracto digestivo bajo ( figura 17).

**Figura 17. DD en pacientes con tumor TDB en función de evento trombótico.**



En cuanto a las determinaciones de las MPs observamos que hay un aumento de MPs procedentes de células que expresan MUC-1 (indirectamente origen adenocarcinoma) en los pacientes que presentan trombosis en su seguimiento, esto ocurre tanto si se determina solo MUC-1 en las MPs como si se determinan MUC-1 y PSGL-1, aunque la diferencia no es significativa ( figuras 18 y 19).

**Figura 18. MPs positivas para MUC1 en pacientes neoplásicos con o sin eventos trombóticos durante el seguimiento.**



**Figura 19. MP procedentes de células que expresan MUC-1 ligadas a PSGL-1 en función de evento trombótico.**

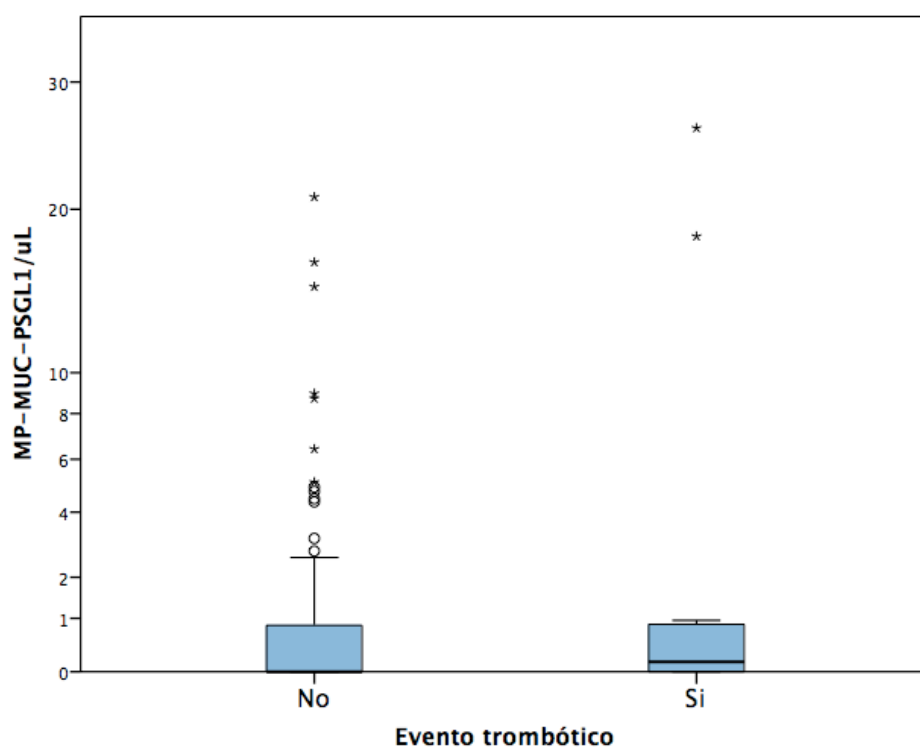


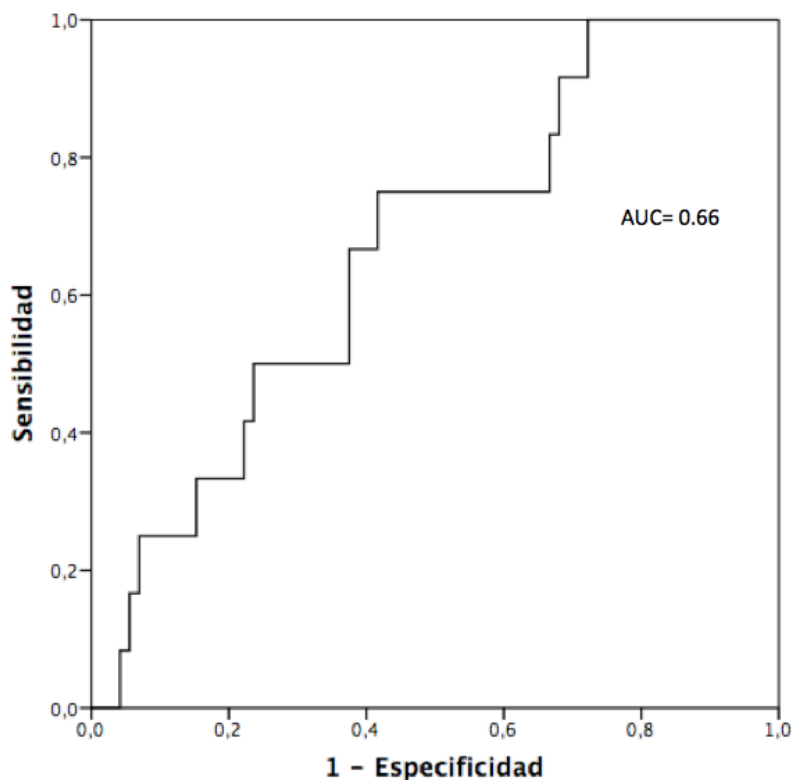
Tabla 1. Determinaciones analíticas para grupo control, cáncer sin trombosis y cáncer con trombosis.				
Variables	Controles (n=14) Mediana;RI	Cáncer sin trombosis (n= 102) Media ± DS	Cáncer con trombosis (n= 18) Media ± DS	p
Dímeros D(μg/l)	186,00;0 ± 98,00	1266,87 ± 1375,42	1758,91 ± 1175,07	0,068
P-selectina (ng/ml)	24,52; 15,	37,61 ± 15.48	27,40 ± 9,48	0,002
FT antigénico (pg/ml)	268,5; 24,46	235,84 ± 132,63	275,47 ± 69,04	0,007
GET TL; (sec)	17,00 , 10,50	14,20 ± 5,39	13,98 ± 3,19	0,320
GET-ETP(nM trombina x min)	1262,33 ± 984.25	1732,85 ± 1033,63	1577,37 ± 610,18	0,222
GET-Altura pico) ( nM trombina)	196,80;141,92	281,32 ± 142,17	193,62 ± 86,13	0,049
PPL (s)	36,30;21,20	33,05 ± 9,95	38,61 ± 11,60	0,165
<b>Micropartículas</b>				
MPs totales (AnnV total/uL)	9655,50;13341	24617,14 ±30232,27)	15379,77 ± 12938,65	0,097
MP-FT/uL	4,24;17,66	25,91 ± 47,63	25,07 ± 36,35	0,351
PMP-FT/uL	2,33;5,73	17,54 ± 47,63	14,55 ± 26,76	0,369
EMP FT/uL	0,00;1,74	0,62 ± 2,73	0,200 ± 0,40	0,622
LMP/uL	39,81;96,25	95,73 ± 69,95	66,56 ± 35,16	0,074
MP-PSGL-1 /uL	3,61;15,56	11,09 ± 15,44	5,13 ± 4,33	0,09
LMP-PSGL/uL	1,14;2,13	2,88 ± 3,77	1,40 ± 1,31	0,047
MP-MUC-1/uL	3,76;1492,98	252,10 ±873,31	506,93 ± 1877,39	0,587
MP-MUC- PSGL-1	0,00;2,62	1,32 ±3,36	2,70 ± 7,21	0,628

Abreviaturas: GET (generación endógena de trombina), ETP (potencial endógeno de trombina), TL (tiempo de latencia), PPL (tiempo de coagulación de pendiente de fosfolípidos), MPs (micropartículas), Ann (Anexina), FT (factor tisular), PMP (micropartículas derivadas de plaquetas), EMP (micropartículas derivadas de células endoteliales), LMP (micropartículas de las células del leucocitos), PSGL-1 (ligando glicoproteico selectina P), MUC 1 (mucina 1)

Mención aparte tiene la utilidad del dímero D en la población oncológica. Para los pacientes con cáncer se ha calculado un punto de corte de 992 ng/ml, aunque con una discreta área bajo la curva, AUC:0,66(IC: 0,513-0,818,  $p < 0,068$ ) y con un valor predictivo negativo (VPN) del 91,8 % (80,8 %-96,8 %) como se muestra en la figura 20 y tablas 12,13.

Además se observa que el nivel de dímeros D era mayor en pacientes que desarrollaban trombosis en los primeros seis meses tras la inclusión en el estudio, respecto a los pacientes oncológicos que desarrollaban un evento trombótico después de los seis meses (DD: 2122,00 frente a DD: 1395,83 respectivamente).

**Figura 20. Área bajo la curva para DD en pacientes con cáncer y trombosis.**



Tablas 12: Sensibilidad y Especificidad de diferentes puntos de corte de DD para predicción de evento trombótico en pacientes neoplásicos.		
Niveles de DD	Sensibilidad	1-Especificidad
473.0	1	0.722
533.0	0.833	0.667
619.0	0.750	0.611
664.5	0.750	0.542
755.0	0.750	0.472
917.0	0.667	0.417
945.0	0.667	0.403
970.0	0.667	0.389
992.0	0.667	0.375
1048.5	0.583	0.375
1140.0	0.500	0.361
1252.0	0.500	0.333
1421.00	0.500	0.319
1549.5	0.500	0.278
1624.5	0.500	0.250
1812.5	0.417	0.236
2119.0	0.333	0.222

Tabla 13. Características pronósticas del punto de corte DD: 992 ng/ml para predicción de evento trombótico en pacientes neoplásicos.	
Sensibilidad	66,7 % (39,1 %-86,2 %)
Especificidad	62,5 % (51,0 %-72,8 %)
<b>Valor predictivo negativo</b>	<b>91,8 % (80,8 %-96,8 %)</b>
Valor predictivo positivo	22,9 % (12,1 %-39,0 %)
Porcentaje de falsos positivos	37,5 % (27,2%-49,9 %)
Porcentaje de falsos negativos	33,3 % (13,8 %-30,9 %)

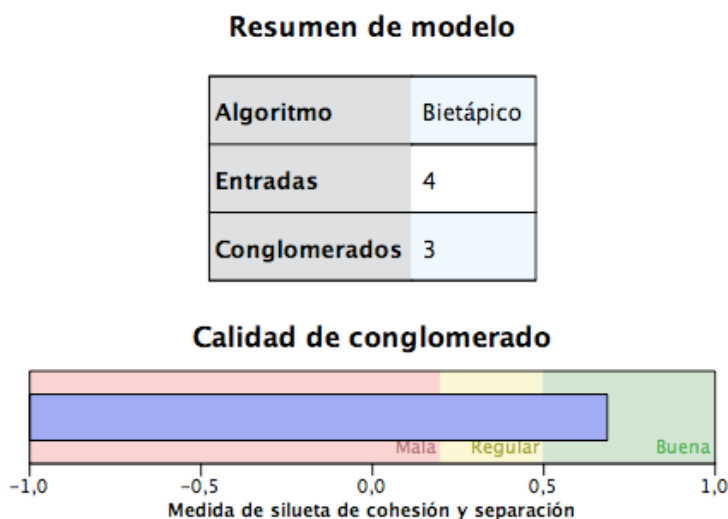
***Identificar perfiles clínicos y/o analíticos de eventos trombóticos en pacientes con cáncer.***

Se ha llevado a cabo un análisis de conglomerados o clusters en dos fases para identificar perfiles clínicos y/o analíticos de eventos trombóticos en pacientes con neoplasias. Este tipo de análisis nos permite clasificar grupos tanto por criterios cualitativos como cuantitativos. Utilizando estas variables realizamos el análisis por conglomerados o cluster, en primer lugar de todos los pacientes oncológicos y posteriormente dividiendo los pacientes en función del tipo de neoplasia.

A continuación se presenta de manera gráfica la composición de los grupos conseguidos.

Como se muestra en la Figura 21, en el resumen del modelo general se han incluido 4 variables que corresponden a las variables categóricas, progresión de la enfermedad oncológica en el momento de inclusión y evento trombótico, y a las variables continuas PMP-FT (micropartículas procedentes de plaquetas con FT en su superficie) y dímeros D. En 83 pacientes (69%) disponemos de todos los datos en las 4 variables. Con esto se han definido 3 grupos de clasificación o conglomerados. El valor de la calidad de los grupos obtenidos es de 0,6852, por lo que al ser mayor de 0,5 se considera de buena calidad.

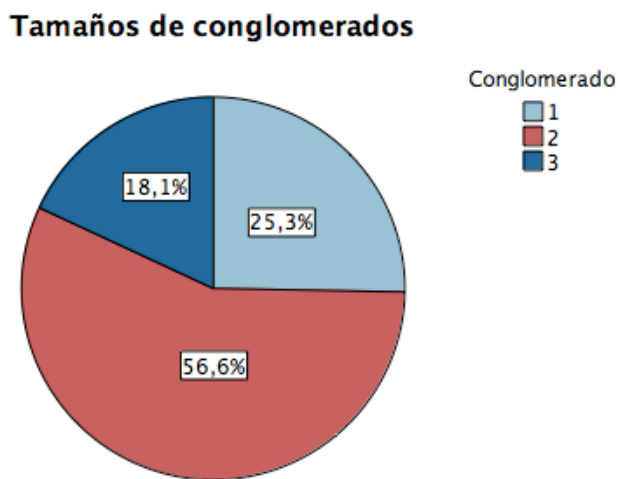
**Figura 21. Resumen-esquema conglomerado para todos los tipos de tumores.**





En la figura 22 se observa que no existe ningún caso perdido por lo que podemos considerar que el número de grupos es adecuado para el objetivo planteado. El grupo 2 es el grupo predominante, porque es el que más número de casos agrupa con las mismas características. Según el tamaño del conglomerado, después del grupo 2 el más importante sería el 1 seguido del 3, pero los tres conglomerados son válidos por tener más del 15 % de los sujetos.

**Figura 22: Tamaño de los conglomerados en todos los pacientes oncológicos.**



Tamaño de conglomerado más pequeño	15 (18,1%)
Tamaño de conglomerado más grande	47 (56,6%)
Cociente de tamaños: Conglomerado más grande a conglomerado más pequeño	3,13

En la tabla 14 aparece resumido las características de cada uno de los grupos conglomerados en los que se clasificaron los pacientes.

<b>Tabla 14 : Modelo Cluster para todos los tipos de neoplasia con evento trombótico</b>			
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
N (%)	21 (25,3 %)	47 (56,6%)	15 (18,1%)
Evento trombótico	No	No	Sí
Progresión enfermedad oncológica	Si	No	No
PMP-FT / uL	16,12	6,91	57,20
Dímeros D	802,38	1485,68	1600,33

De los datos extraemos que la mayoría de los pacientes incluidos en nuestra muestra están definidos por las características del grupo 2, pacientes oncológicos

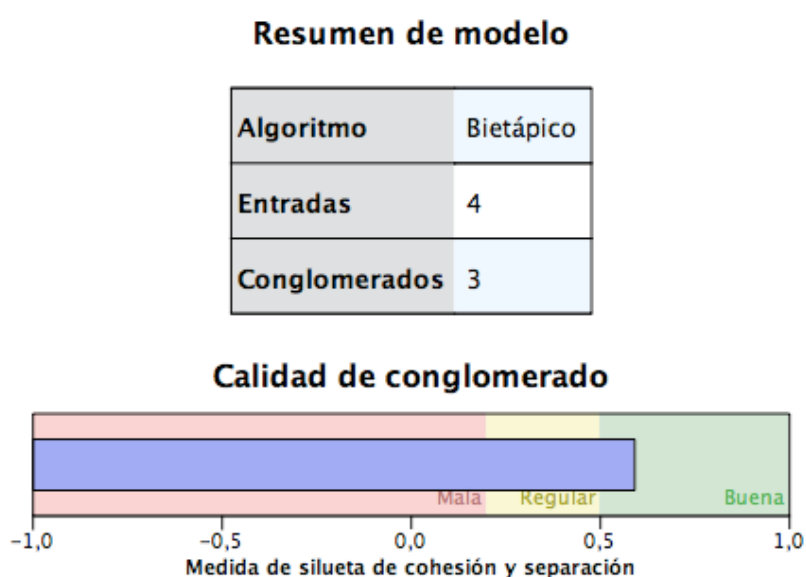
sin trombosis y sin progresión de la enfermedad oncológica. Este grupo presentaba en el momento de la inclusión valores de PMP-FT de 6,91/uL y un valor medio de Dímero D de 1485,68 ng/ml. El grupo 3 presenta un aumento llamativo del PMP-FT/uL, con respecto a los grupos 1 y 2, enfermos que no desarrollan trombosis. También el grupo 3 presenta niveles más elevados de DD con respecto al 1 y 2. El grupo 1 se caracteriza frente al resto que son pacientes en progresión de la enfermedad, pero con valores de DD más bajos. El hecho que la característica clínica en el momento de la inclusión del estudio en progresión de la enfermedad no esté presente en el grupo que desarrolla trombosis en el seguimiento es coherente con los análisis previos.

Cuando realizamos el análisis de conglomerados o clusters por tipo de neoplasia observamos que se mantienen dentro del modelo de agrupación predictivo las mismas variables analíticas, PMP-FT/ uL y dímeros D.

### 1. Modelo de conglomerados o clusters para neoplasia de origen pulmonar con evento trombótico.

Para el modelo en pacientes con neoplasia pulmonar se han definido también 3 grupos. El valor de la calidad de los grupos obtenidos es de 0,5906, por tanto de buena calidad tal como se muestra en la figura 23.

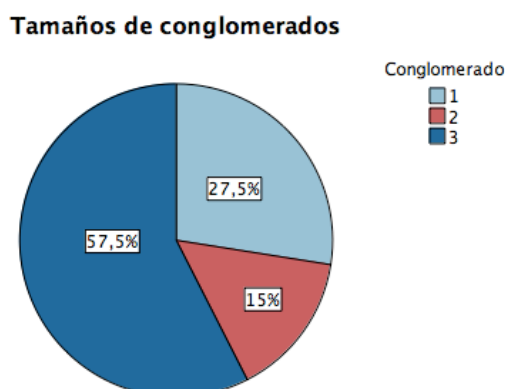
**Figura 23. Resumen-esquema conglomerado para tumor de origen pulmonar.**



Se observa en la figura 24 que no existe ningún caso perdido por lo que podemos considerar que el número de grupos es adecuado para el objetivo planteado. En total son 40 pacientes los que tienen todas las variables incluidas en el modelo de clasificación. Todos los sujetos incluidos se han agrupado en alguno de los 3 grupos, sin quedar ningún caso no clasificado. El grupo 3 es el grupo predominante donde se agrupa más de la mitad de los pacientes de la muestra. porque es el que más número de casos agrupa con las mismas características. Los tres conglomerados son válidos por tener más del 15 % de los sujetos.

En la figura 24 se muestra como se agruparon los pacientes y el tamaño de esos conglomerados.

**Figura 24: Tamaño de los conglomerados en pacientes con cáncer de pulmón**



Tamaño de conglomerado más pequeño	6 (15%)
Tamaño de conglomerado más grande	23 (57,5%)
Cociente de tamaños: Conglomerado más grande a conglomerado más pequeño	3,83

En la tabla 15 se muestra los resultados del análisis de conglomerados cluster para los pacientes con cáncer de pulmón, con las características de los sujetos de la muestra.

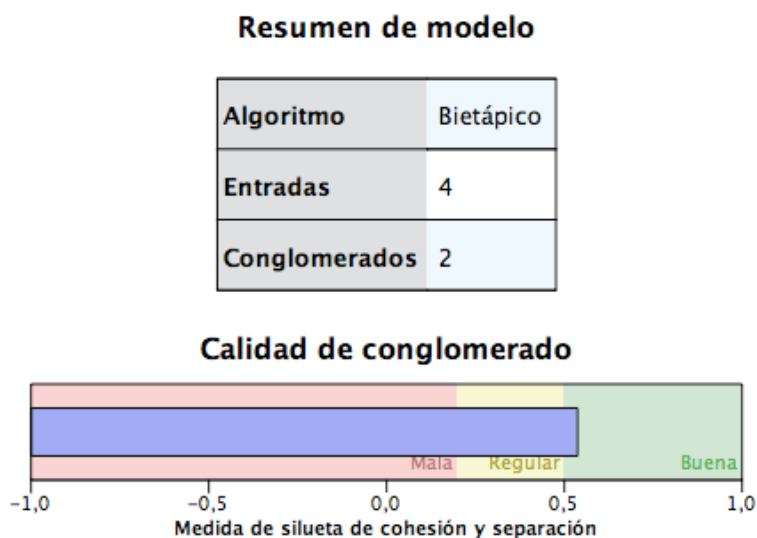
En el caso del tumor pulmonar, el grupo definido por evento trombótico corresponde al minoritario (solo 6 pacientes incluidos). Lo que sigue diferenciando el grupo de evento trombótico frente al que no desarrolla trombosis es el nivel de PMP-FT/uL. Se sigue observando la misma tendencia que en el modelo general, los pacientes sin progresión tienen la cifra de dímeros D más elevadas que los que están en progresión. Hay que tener en cuenta que de los pacientes sin progresión de enfermedad el 78 % estaban en tratamiento oncológico.

<b>Tabla 15: Características de los conglomerados según diferentes variables clínicas y analíticas en cáncer de pulmon</b>			
	Grupo 3	Grupo 1	Grupo 2
N (%)	57,5 % (23)	27,5 % ( 11)	15,06 % ( 6)
Evento trombótico	No	No	Sí
Progresión de enfermedad oncológica	No	Sí	No
PMP-FT/ uL	5,39	6,42	55,18
Dímeros D	1403,57	661,82	1166,83

## 2. Modelo Cluster para tumores de tracto digestivo alto con evento trombótico.

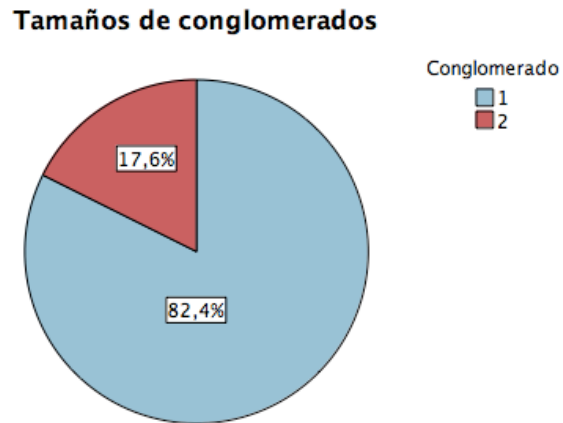
En el caso del tumor digestivo alto encontramos para las mismas variables definidas anteriormente, solo 2 modelos, siendo el valor de la calidad de los grupos obtenidos de 0,537 (figura 25).

Figura 25. Resumen-esquema conglomerado para tumor de tracto digestivo alto.



Este grupo incluye menor número de casos, n=17, no obstante siguen siendo superior al 15 %.

**Figura 26: Tamaño de los conglomerados en pacientes con cáncer del tracto digestivo alto**



Tamaño de conglomerado más pequeño	3 (17,6%)
Tamaño de conglomerado más grande	14 (82,4%)
Cociente de tamaños: Conglomerado más grande a conglomerado más pequeño	4,67

En la tabla 16 se muestra la distribución de los grupos con las características diferenciales entre ambos.

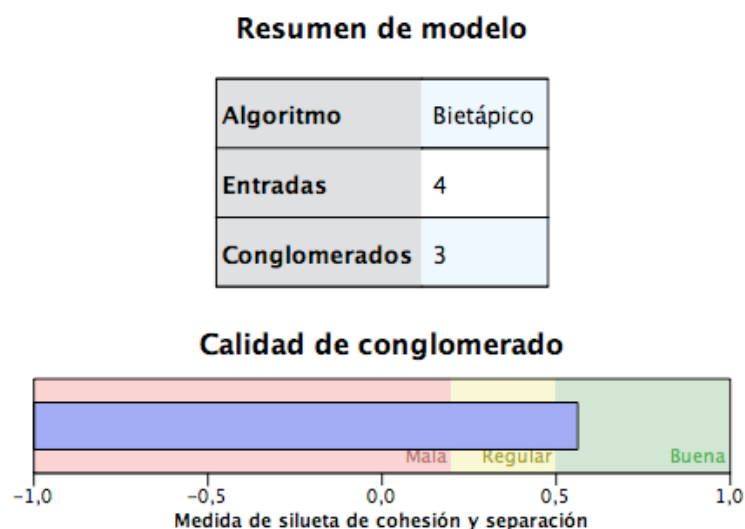
<b>Tabla 16: Características de los conglomerados según diferentes variables clínicas y analíticas con cáncer de TDA</b>		
	Grupo 1	Grupo 2
N (%)	82,4 % (14)	17,6 % ( 3)
Evento trombótico	No	Sí
Progresión de su enfermedad	No	No
PMP-FT/uL	46,52	3,73
Dímeros D	1907,29	1434,00

Curiosamente el tumor de TDA se comporta de manera diferente al tumor pulmonar, tumor TDB y al modelo global de tumores. Como se observa en la tabla en el grupo de pacientes definidos por evento trombótico el nivel de FT-Plaqueta/uL en lugar de incrementarse como ocurría en el resto de modelos, disminuye. Igualmente los valores de Dimeros D no se incrementan de la forma esperada en el grupo trombosis. Probablemente como se indicó anteriormente el pequeño número de sujetos incluidos para este modelo hace que la calidad para clasificarlos sea peor.

### 3. Modelo Cluster para neoplasia de origen gastrointestinal bajo con evento trombótico.

Como se muestra en la figura 27 para el tumor de T.D.B. se han definido 3 grupos de clasificación o conglomerados. El valor de la calidad de los grupos obtenidos es de 0,5618, por lo que al ser mayor de 0.5 se considera de buena calidad.

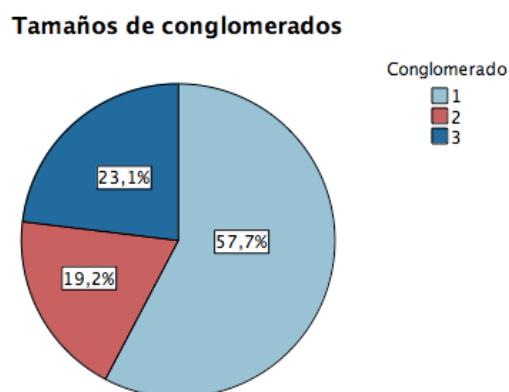
**Figura 27. Resumen-esquema conglomerado para tumor de tracto digestivo bajo.**



Se observa en la figura 28 que no existe ningún caso perdido, sin en total 26 paciente incluídos. El grupo 1 es el grupo predominante donde se agrupa más de la mitad de los pacientes de la muestra. porque es el que más número de casos agrupa con las mismas características, pacientes sin progresión y sin trombosis. Los tres conglomerados son válidos por tener más del 15 % de los sujetos.

En la figura 28 se muestra como se agruparon los pacientes y el tamaño de esos conglomerados.

**Figura 28: Tamaño de los conglomerados en pacientes con cáncer del tracto digestivo bajo**



Tamaño de conglomerado más pequeño	5 (19,2%)
Tamaño de conglomerado más grande	15 (57,7%)
Cociente de tamaños: Conglomerado más grande a conglomerado más pequeño	3,00



<b>Tabla 17: Características de los conglomerados según diferentes variables clínicas y analíticas en cáncer del TDB</b>			
	Grupo 1	Grupo 3	Grupo 2
N (%)	57,7 % (15)	23,1 % (6)	19,2 % (5)
Evento trombótico	No	No	Sí
Progresión enfermedad oncológica	No	Sí	No
FT-Plaqueta/uL	7,6	6,93	35,56
Dímeros D	1122,20	821,50	2270,60

Se sigue observando la misma tendencia que en el modelo global en dos sentidos. En primer lugar que los pacientes con eventos trombóticos tienen los niveles de FT-plaqueta/uL más elevados (FT-plaqueta: 35,56/uL) y en segundo lugar los pacientes con progresión son a los que corresponden los niveles de Dímeros D más bajos .

***Analisis de la supervivencia de los pacientes con cáncer pulmonar y aparato digestivo en estadio avanzado según características clínicas, estudio de MPs y otros parámetros analíticos .***

Durante  $12,99 \pm 8,14$  meses de seguimiento fallecieron 89 pacientes (74.2 %). Se han considerado las variables que podrían influir en el tiempo medio de supervivencia, analizando género, tipo de neoplasia, tratamiento quimioterápico y progresión de la enfermedad en el momento de la inclusión y si la aparición de un evento trombotico impactaría en la supervivencia. No se incluyó dentro de estas covariables la existencia de metástasis ya que los criterios de inclusión partían de pacientes en estadios avanzados de neoplasias, IIB y IV. En la tabla 18 se muestran dichas variables con la media de supervivencia en meses y su nivel de significación estadística.

Curiosamente aquellos pacientes con algún evento trombotico en su evolución presentaron mayor supervivencia, 8,75 meses, que los que no sufrieron trombosis, 12,69 meses ( $p=0,027$ ).

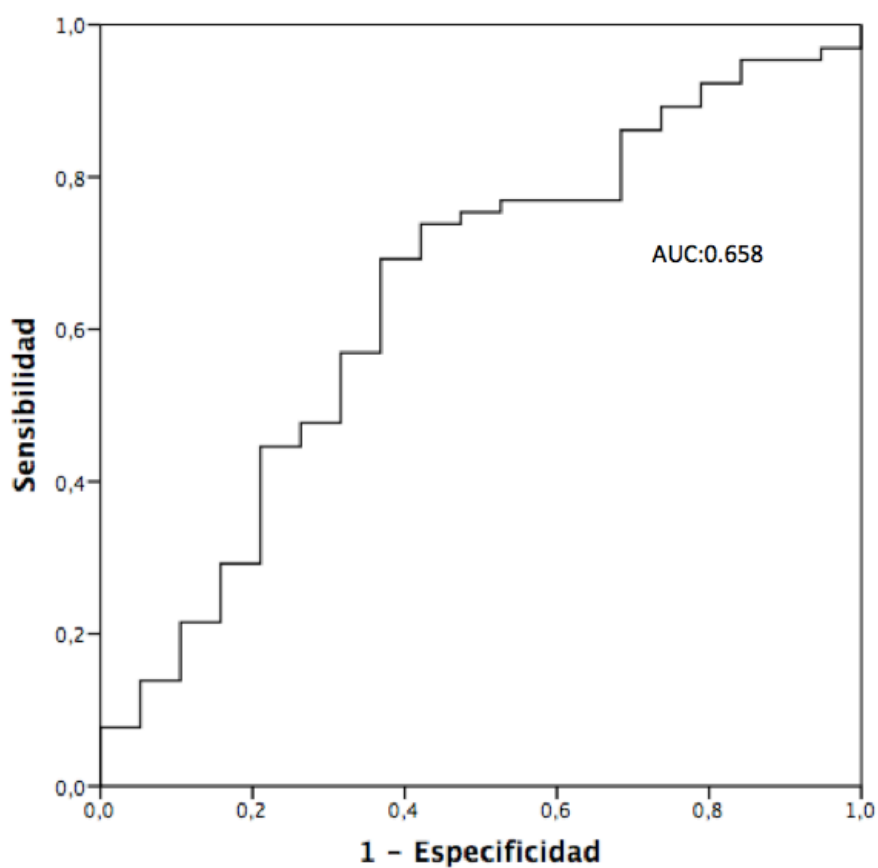
La supervivencia media global tras el evento trombótico fue de 5,71 meses. No se encontró diferencias significativas cuando se analizó el tiempo de supervivencia tras el evento trombótico según diferentes localizaciones de la neoplasia; pulmón, gastrointestinal alto y gastrointestinal bajo, en la tabla 19 se resumen los datos del análisis de supervivencia según localización de la neoplasia

Aunque no llega a ser significativo existe un impacto del concepto oncológico progresión de la enfermedad en la supervivencia 7,43 meses versus 9,95 meses según si había progresión o no respectivamente ( $p=0,06$ ) tal como está reflejado en la tabla 18.

<b>Tabla 18. Supervivencia de los pacientes oncológicos</b>					
<b>Variabes</b>	<b>Categoría</b>	<b>N=87</b>	<b>Meses</b>	<b>IC95 %</b>	<b>p</b>
Sexo	Hombre	59	8,86	7,33-10,39	0,432
	Mujer	28	10,36	8,08-10,61	
Tipo de neoplasia	Digestiva alta	23	7,22	4,79- 9,64	0,138
	Digestiva baja	19	10,10	8,26-11,94	
	Pulmonar	45	10,11	8,19- 12,03	
Tratamiento quimioterápico en el momento de la inclusión	Sí. Primera línea	50	9,38	7,71- 11,04	0,960
	Sí. Más de una línea	18	9,61	6,86-12,36	
	No	19	9,00	6,12-11,88	
Progresión de la enfermedad en el momento de la inclusión	Si	21	7,43	5,15-9,71	0,06
	No	66	9,95	8,47-11,43	
Evento trombótico	No	74	8,75	7,44-10,07	0,027
	Sí	13	12,69	9,12-16,26	

Para estudiar el impacto en la supervivencia, se han analizado todos los parámetros analíticos determinados en este estudio: MPs totales y subclases según estirpe celular y otras características fenotípicas de las mismas, además de otros parámetros analíticos como la generación de trombina, Pselectina, FT antigénico y DD. Sólo se ha encontrado asociación entre los niveles basales de DD y mortalidad con un área bajo la curva ROC del 65,8%. En la figura 29 está representada la curva ROC del DD [0,658 (0,510-0,806),  $p < 0,04$ ].

**Figura 29. Curva COR para dímero D.**



<b>Tabla 19. Supervivencia media tras evento trombotico según localización de la neoplasia</b>				
<b>Localización neoplasia</b>	<b>N</b>	<b>Media (meses)</b>	<b>Error típico</b>	<b>IC95 %</b>
Pulmonar	5	4,40	3.12	0-10.52
Gastrointestinal alto	4	7,00	1.68	3.7-10.29
Gastrointestinal bajo	5	6,00	3.84	0-13.54
Global	14	5,71	1.72	2.33-9.09

## **DISCUSIÓN**

### **Características clínicas de los pacientes con cáncer que sufren eventos trombóticos en su evolución.**

La incidencia de trombosis en nuestra serie fue del 15 % (trombosis n=18, sin trombosis n=102), superior al del resto de series que tiene una incidencia acumulada entre el 1-8%<sup>21,22</sup>, probablemente porque algunos de nuestros casos corresponden a eventos tromboembólicos incidentales y por el estrecho seguimiento que hemos realizado de todos los pacientes en colaboración con las consultas externas de Oncología.

No hemos encontrado diferencias clínicas significativas entre los pacientes con cáncer que sufrían en el seguimiento algún evento trombótico frente a los que no. No obstante sí observamos una tendencia en dos sentidos; en primer lugar, hay una mayor proporción de trombosis en los pacientes con tumor de origen digestivo (alto y bajo) que en el tumor pulmonar; además la mayoría de los eventos tuvieron lugar en pacientes que al inicio del estudio estaban en tratamiento quimioterápico (n= 13, 72.2 %), considerados entonces sin progresión de enfermedad, siendo el esquema más frecuente el que incluye alquilante (cisplatino, carboplatino, oxaliplatino). Lo que podría apoyar que el tratamiento oncológico impacta más en cuanto a aparición de la complicación tromboembólica en el paciente con cáncer que la enfermedad

neoplásica en sí misma, este supuesto debería ser comprobado en estudios más amplios.

La observación de una mayor proporción de trombosis en pacientes con neoplasia de origen digestivo coincide con la literatura. Los tumores con mayor riesgo de trombosis son el tumor de estómago y el páncreas; seguido de linfoma, pulmón, tumores ginecológicos, próstata y testículo<sup>86, 87</sup>. Así las tasas de incidencia varían entre los diferentes tipos de neoplasia desde 98 casos por 1.000 habitantes (IC 80-119) en el tumor pancreático frente a un 3,1 (IC 1,5-6,5) en el tumor de tiroides.

Además del tipo y el estadiaje del tumor, la cirugía, el uso de transfusiones, el empleo de estimulantes de la eritropoyesis, el uso de catéteres centrales y los diferentes tratamientos del tumor influyen también en el potencial trombótico. Aunque en nuestra serie, dentro del grupo trombosis no tenemos ningún paciente con cirugía o radioterapia previa, tampoco con tratamiento de soporte (EPO o factor estimulante de colonias de granulocitos).

El tratamiento quimioterápico influye en mayor o menor medida, según las series, sobre la incidencia de trombosis. En pacientes que reciben quimioterapia, la incidencia puede aumentar al año entre un 11% a un 20 %<sup>88</sup>, Estos resultados provienen de estudios con claros sesgos, son estudios observacionales en los que la decisión de tratar o no, está basada en el tipo de tumor, el estado general del paciente, el estadio de la enfermedad y el pronóstico, por lo que los pacientes tratados y no tratados no son directamente comparables. En cuanto a los esquemas de tratamiento utilizados, parece que también hay diferencias en la incidencia de trombosis, especialmente con el uso de alquilantes e inhibidores de la angiogenesis. En el estudio de Starling et al encontraron una incidencia acumulada de trombosis venosa en pacientes que recibían un regimen en combinación con cisplatino del 12,2 %, mayor los que recibían oxaliplatino, 6,5 %, en pacientes con cáncer gastroesofágico<sup>89</sup>. En otro metaanálisis de ensayos clínicos, evidenciaron que los pacientes que recibían inhibidores de angiogénesis con bevacizumab tenían un riesgo aumentado de trombosis venosa (RR 1,3; 95 % CI: 1,1-1,6)<sup>90</sup>

En nuestra serie, el esquema de quimioterapia más frecuente en el grupo trombosis fue el que incluía tratamiento combinado con alquilante (cisplatino/oxalaplato) (33,3% n=6), seguido por igual con un 16,7 % n=3 de pacientes con biológicos (cetuximab y otros 2 de ensayo) y 16,7 % (n=3) antimetabolito (premetexed, capecitabina, 5 FU). Aunque hay mayor proporción de eventos en los pacientes con alquilantes, dado el escaso número de eventos no encontramos diferencias significativas respecto al grupo sin trombosis.

El análisis de conglomerados o clusters nos permite tener una visión desde otra perspectiva, más flexible, en cuanto a condicionantes clásicos de la significación estadística, entiéndase el resultado de p. Dicho análisis ha puesto de manifiesto que los pacientes que no estaban en progresión de la enfermedad en el momento de la inclusión y esto era porque recibían tratamiento quimioterápico, predominantemente con agentes alquilantes, eran los que se clasificaron en el grupo de los que hacían trombosis. Indirectamente el análisis de conglomerados está dando un mayor protagonismo a considerar al factor externo del tratamiento como factor de riesgo precipitante para trombosis en los pacientes con cáncer.

Aparte de los factores relacionados con el cáncer, existen factores en relación con el paciente que juegan un papel importante en el desarrollo de trombosis como la inmovilidad prolongada, edad avanzada y otras comorbilidades como enfermedad pulmonar, enfermedad renal, infección o anemia, aumentando el riesgo (ORs 1.4,1.5,1.8 y 1.4 respectivamente). En pacientes con más de 3 comorbilidades el riesgo de trombosis aumenta incluso al doble (HR:2,0; 95% CI: 1,7-2,3)<sup>91</sup>. En nuestra serie no había diferencias significativas en cuanto a los factores de riesgo cardiovascular, edad media, ni otras comorbilidades como la enfermedad renal crónica o enfermedad pulmonar. Tampoco en cuanto al estado general del paciente, encontrándose la mayoría de pacientes con buen estado general (ECOG 0-1), ya que en el diseño del estudio solo eran incluidos pacientes ambulatorios.

Nuestros resultados fueron coherentes con los del estudio de Khorana et al,<sup>92</sup>. La incidencia de trombosis al año del inicio de quimioterapia fue del 12,6 % frente al 1,4 % de controles, siendo el rango de incidencia entre el 8,2% (próstata) y el 19,2 %, (páncreas). Los factores predictores de trombosis fueron el tipo de cancer

[pancreático OR:5,39 IC 95 % (4,26-6,8), gástrico OR:4,00, IC 95 % ( 3,04-5,25) y pulmonar OR:3,15, IC 95 % (2,55-3,89)]; la presencia de comorbilidades (índice de Charlson elevado) y el uso de algunos quimioterápicos y tratamiento de soporte: cisplatino (OR:1,36, IC 95 % 1,19-1,55), bevacizumab (OR. 1,43, IC 95% 1,24-1,65) y EPO (OR:1.56 , IC 95% 1,41-1,73). Como diferencias respecto a nuestro estudio, desconocemos el estado general de los pacientes, aunque como están en regimen ambulatorio igual que en nuestra muestra, suponemos un ECOG bajo, en segundo lugar el índice de comorbilidades era alto, el 79,3 % tenían comorbilidad alta o muy alta, que puede sobreestimar la incidencia de trombosis.

### **Analizar los parámetros analíticos de pacientes con cáncer que sufren eventos trombóticos en su evolución.**

En cuanto a las determinaciones analíticas hemos encontrado diferencias entre los pacientes con y sin trombosis para los niveles de: P selectina soluble, FT antigénico soluble, Generación trombina altura pico y micropartículas de origen leucocitario que tienen PSGL-1 (LMP-PSGL-1).

La selectina P se expresa constitutivamente pero es almacenada en gránulos intracitoplásmicos de plaquetas y células endoteliales. Los leucocitos procoagulantes y las micropartículas derivadas de los leucocitos interaccionan con la selectina P expuesta en la superficie de las plaquetas adheridas vía su PSLG-1 (Ligando glicoprotéico Selectina P), contribuyendo a la estabilidad/desarrollo del trombo y la formación de fibrina en las arterias dañadas mediante la localización del factor tisular, el cual inicia la formación del coágulo. Al activarse estas células, la selectina P es traslocada a la membrana plasmática, permitiendo la interacción con sus ligandos, detectándose en situación de trombosis niveles elevados de P selectina, como se ha demostrado en los dos estudios principales de biomarcadores de trombosis en población oncológica.

El estudio con mayor número de pacientes con cáncer seguidos durante más de un año es el CATS (Vienna Cancer and Thrombosis Study) que es una cohorte prospectiva con 687 pacientes. Incluía tumores gastrointestinales de pulmón y

mama en su mayoría con enfermedad tumoral en progresión y sin tratamiento quimioterápico en los 3 meses previos a la inclusión. La incidencia de trombosis fue del 6,4 %. En el análisis multivariante se encontró que niveles elevados de selectina P soluble (punto de corte de 53,1 ng/ml ) era un factor de riesgo significativo para tener trombosis cuando se ajustaba por edad, sexo, cirugía, quimioterapia y radioterapia<sup>93</sup>.

En el estudio de Reitter et al<sup>94</sup>, en el que se incluían pacientes con tumor cerebral, pulmón, colon y páncreas en tratamiento observaron que la P selectina presentaba niveles significativamente mayores en pacientes con metástasis a distancia que en aquellos sin metástasis y que los pacientes que desarrollaron trombosis tenían niveles P-selectina más elevados., incrementándose el riesgo de trombosis a más del doble ( HR 2,44 con un IC:95 % (1,31-4,53, P=0,005).

En nuestro caso, tenemos resultados en el mismo sentido, cuando analizamos los niveles de P selectina en pacientes que sufren trombosis hasta 3 meses después de la inclusión en el estudio. Aunque al incluir el total de eventos a lo largo de todo el seguimiento esta diferencia se invierte, y encontramos que la P selectina está disminuída ( $27,40 \pm 9,48$ ) en los pacientes con cáncer y trombosis respecto a los pacientes con cáncer sin trombosis ( $p < 0,002$ ). Esto puede ser debido en primer lugar al tiempo que transcurre desde la inclusión y extracción sanguínea hasta el evento trombótico en el seguimiento, ya que casi la mitad de los eventos se producen transcurridos más de 6 meses de la inclusión. Otras condiciones que diferencian nuestro estudio de las dos cohortes anteriormente mencionadas son; en primer lugar que los tipos de neoplasia incluídos difieren de los nuestros, y en segundo lugar que uno de los criterios de exclusión era estar recibiendo tratamiento quimioterápico, no siendo así en nuestro caso. Cuando realizamos un subanálisis solo con los pacientes en progresión (sin tratamiento quimioterápico) encontramos una tendencia similar a la que teníamos de la muestra global, los niveles de selectina P soluble son mayores en pacientes sin trombo (36,11 ng/ml en pacientes sin trombo vs 22,81 ng/ml en pacientes con trombo), si bien el grupo es pequeño y no encontramos diferencias significativas (n=26 sin evento, n=3 con evento).

Por otro lado, tampoco están definidos los puntos de corte de normalidad para la P selectina soluble. Los niveles basales para los diferentes tipos de tumores en



nuestro estudio son similares a los recogidos en el trabajo de Reitter et al<sup>94</sup> y ligeramente más bajos que en el estudio CATS. En el estudio de Reitter los niveles de selectina P totales eran 33,5 (25,9-43,1), cuando se agrupan en función del tipo de tumor estaba pulmón [34,3 (25,6-43,1)], colorectal [36,0 (26,2-47,1)] y páncreas [35,7 (25,9-45,8)]. A lo largo del seguimiento, una vez iniciado el tto con QT, los valores globales se mantienen sin cambios significativos entre (28,6-36,2). En el estudio CATS los valores fueron para. pulmón 43,9 (35,5-55,5), GIA 44,9 (40,0-59,5), páncreas 40,2 (32,7-52,4) y colorectal 43,2 (32,7-52,8). En nuestra serie el valor de Selectina P soluble media en global fue de 36,07 ±15,15; para pulmón (39,94 ± 17,36), GIA (35,26 ± 12,94) y GIP (30,26 ±10,38) superponibles a los encontrados en los estudios comentados.

El factor tisular es una glicoproteína con diferentes funciones entre las que se encuentra la activación de la coagulación. En este trabajo, se ha encontrado que los pacientes oncológicos con trombosis tienen niveles significativamente superiores a los pacientes con cáncer sin trombosis (275,47 ± 69,04 vs 235,84 ± 132,63) (p< 0,007). Al igual que con los niveles de selectina P no disponemos de unos valores de referencia. De lo recogido en la literatura sabemos que el nivel de FT en plasma de pacientes con cáncer está más aumentado que en sujetos sanos, según el estudio de Golding-Lang et al 334,9+/-95,4 pacientes con cáncer vs. 124,1+/-14,8 pg/ml sujetos sanos; p=0,02<sup>95</sup>. También está más aumentado en aquellos subtipos de tumores que tienen comportamiento más agresivo y en estadio más avanzado (diferencia entre estadio I y IV, con un punto de corte para FT > 310 (P=0,01)<sup>96</sup>. No hemos encontrado muchos trabajos similares que comparen niveles de FT soluble en pacientes oncológicos sin y con desarrollo de evento tromboembólico, a excepción del estudio de Feras et al, en el que encuentran niveles de expresión de FT en tumor de ovario significativamente mayor en pacientes que desarrollan trombosis (380 pg/mg en pacientes con trombosis vs 210 sin trombosis)<sup>97</sup>. Y más recientemente el ensayo CATH<sup>98</sup> (Comparison of Acute Treatments in Cancer Hemostasis) en el que se incluyeron 900 pacientes con cáncer y ETEV, observando como único biomarcador de recidiva el FT. Los pacientes que tenían niveles de FT más elevados (> 64.6 pg/ml) tenían un riesgo 3,3 veces mayor de tener evento tromboembólico [RR: 3,3, (IC 95 % 2,1-5,1) p < 0.001].

La determinación de Dímero D no alcanza diferencias significativas, aunque se observa un aumento esperable de los niveles de DD en la población oncológica respecto a los controles, y más aún en los pacientes oncológicos con trombosis.

El dímero D es una molécula que proviene de la degradación de moléculas de fibrina que se forma cuando se produce un evento trombótico. Una cifra de dímeros D elevados (mayor de 500  $\mu\text{g/l}$ ) unido a una probabilidad clínica de ETEV nos obliga a descartar trombosis. Sin embargo en la población oncológica los dímeros D se encuentran basalmente elevados, por lo que su uso para predecir trombosis es más discutible. En nuestro caso obtuvimos valores medios de DD en población oncológica  $1266,87 \pm 1375,2 \mu\text{g/l}$  y en población oncológica con trombosis  $1758,91 \pm 1175,07 \mu\text{g/l}$ . Solo para el grupo de tumores del T.D.B. encontramos diferencias significativas entre los niveles de DD,  $p < 0,19$ . Nuestros resultados son coherentes a otros encontrados, de forma basal encuentran un aumento del DD en pacientes oncológicos que varía en las distintas series desde  $981 \mu\text{g/l}$ <sup>99</sup> a  $3231 \mu\text{g/l}$ . Por otro lado, una elevación de DD al doble de su basal se asocia con un incremento de riesgo de trombosis de 1,3 (95 % CI 1,1.-1,5,;  $p < 0001$ ) en pacientes con reciente diagnóstico de cáncer o con progresión de enfermedad (es decir, que no recibían tratamiento con QT)<sup>99</sup>. Parece entonces que, también en la población oncológica el aumento de DD debe hacer sospechar ETEV sin embargo la discusión está en elegir un punto de corte para esta población, ya que hay muchas variables como el tipo de neoplasia y el tratamiento con quimioterapia que influyen. En nuestro caso encontramos una aceptable área bajo la curva para DD [AUC= 0.66, (IC:0,513-0,818)  $p < 0,068$  ], con un VPN del 91,8 % ( IC: 95 %, 80,8 %-96,8 %) para el valor de corte de 992 ng/ml..

### **Identificar perfiles de pacientes con cáncer con predisposición a padecer trombosis**

El análisis de conglomerados o clusters ha identificado globalmente a un grupo de pacientes caracterizados por no estar en progresión de la enfermedad pero presenta niveles elevados de DD y de MP-FT, micropartículas de origen plaquetar que exhiben factor tisular en su superficie, los cuales presentan mayor tendencia o

predisposición a padecer trombosis en la evolución de su enfermedad. Como se ha mencionado anteriormente, este grupo que no estaba en progresión de la enfermedad estaban generalmente tratados con quimioterapia.

Cuando se analizan solo los tumores de la misma localización, no todos siguen el mismo patrón de agrupación. En los cánceres de pulmón y colón siguen el mismo comportamiento global, pero no así el cáncer gástrico y pancreático. Para los tumores del tracto digestivo alto el patrón de agrupación en torno a padecer un evento trombotico es diferente. Estos resultados refuerzan lo ya conocido de la compleja heterogenicidad de los pacientes con cáncer. A pesar de haber seleccionados localizaciones con incidencia mas elevada de trombosis<sup>27,28</sup> y con caracteristicas comunes, todos estaban en estadio clinicos avanzados IIIB o IV, casi todos compartían igual histología, adenocarcinoma, los canceres del tracto digestivo alto presentan conglomerados diferentes en torno a la aparición del evento trombotico. Aunque estos resultados pueden ser debidos al escaso número de pacientes que son clasificados en los grupos cuando se divide la muestra, también puede ser debido a la idiosincrasia de la biopatologia particular de los tumores gastricos y pancreáticos.

Llevandonos a la idea que las MPs o sus diferentes subclases como marcadores tromboticos en pacientes con cáncer se circunscribiría a un contexto determinado, por lo menos, por tipo y localización de la neoplasia, estadio de la enfermedad y tratamiento quimioterápico.

### **El impacto sobre la supervivencia de los pacientes oncológicos de determinantes clínicos y/o analíticos.**

Durante  $12,99 \pm 8,14$  meses de seguimiento fallecieron 89 pacientes (74.2 %), de los cuales fallecidos sin trombosis  $n=76$  (74.5%) y con trombosis  $n=13$  (72.2 %). La única variable clínica que hemos encontrado significativa en relación con la supervivencia de los pacientes oncológicos en nuestra muestra es el hecho de tener evento trombotico.

Curiosamente y en aparente contradicción a lo conocido, los pacientes con trombosis muestran mayor supervivencia media (12,69 meses) frente a los que no

desarrollaban trombosis (8,75 meses). Diversas consideraciones tenemos que hacer en torno a esta observación, sabemos que los pacientes con trombosis se agrupaban en torno a la característica clínica de no progresión de la enfermedad en el momento de inclusión, y que éstos estaban tratados con quimioterapia en su mayoría. El tratamiento con quimioterapia ha aumentado la supervivencia en nuestros pacientes, pero también ha favorecido la aparición de trombosis, bien por el efecto del fármaco “per se” bien por el riesgo que supone el incremento del tiempo de supervivencia y la concurrencia de otras circunstancias que favorezcan la aparición de trombosis, condiciones medicas o quirúrgicas añadidas y no recogidas en el estudio. Otra explicación, atractiva pero improbable, pudiera ser el efecto terapéutico de la heparina de bajo peso molecular (HBPM) en el propio tumor. La células tumorales se rodean de fibrina y plaquetas, conformando un trombo microvascular que favorece la migración a través del endotelio vascular y lo protege de la respuesta inmune mediada por NK, favoreciendo la metástasis. Por eso, se postula que la capacidad para inhibir la trombosis microvascular mediante agentes antitrombóticos tiene efecto antineoplásico y por tanto mejora la supervivencia <sup>23</sup>. En la novena guía de la ACCP se revisaron 6 ensayos clínicos que valoraron la eficacia de la tromboprolifaxis con HNF (1 ensayo) o HBPM (5 estudios) frente a placebo <sup>100</sup> El efecto global de las heparinas en la mortalidad a 12 meses no fue significativo, si bien a 24 meses sí eran eficaces, así como en la prevención de episodios de TEV sintomáticos, sin producir más hemorragias o influir en la calidad de vida de los pacientes. Aun no existe suficiente evidencia para el uso de HBPM como parte integrante de pacientes con cáncer, no obstante nuestros resultados podrían alentar esta vía de investigación.

El nivel de DD se ha relacionado con progresión de la enfermedad, factor predictor de supervivencia y quimiorresistencia, reflejando de algún modo la biología subyacente del tumor. No obstante la variabilidad en los criterios de inclusión de las diferentes series publicadas y el tipo de tumor, hacen todavía difícil la comparación. En esta serie al estudiar el Dímero D y la mortalidad de los pacientes, se determinó un area bajo la curva ROC de 0,658 (95 % IC: 0,510-0,806 p:0,04 ). El análisis del DD en un contexto oncológico no es nuevo y existen diversos estudios que han relacionado DD con resultados como predicción de metástasis, niveles de DD de media  $2200 \pm 1510 \mu\text{g/l}$  fueron predictor de metástasis y de  $1360 \pm 1130 \mu\text{g/l}$  de

mortalidad para el cáncer gástrico <sup>101,102</sup>. En el cáncer de esófago según el número de estaciones ganglionares afectadas más aumentado estaba el dímero D<sup>103</sup>. En el caso del cáncer de pulmón se encuentra que los pacientes no respondedores tras 4 ciclos de tratamiento tenían los niveles más altos de DD 1900 µg/l, p=0.000 y también relacionándose además con mayor mortalidad. <sup>104,105</sup>.

## CONCLUSIONES

1. Cuando existe un seguimiento de los pacientes neoplásicos especialmente sensibilizado para la complicación de eventos trombóticos, la incidencia de éstos es superior a la esperada.
2. No hemos podido identificar variables clínicas en pacientes con neoplasia avanzadas de pulmón y aparato digestivo que se asocien a padecer trombosis, sin embargo niveles más elevados de Factor Tisular en plasma discrimina a pacientes que desarrollan eventos trombóticos en el seguimiento. Los niveles de Pselectina elevados pueden estar relacionados con la incidencia de eventos trombóticos, pero sólo hasta 3 meses de seguimiento.
3. Los niveles de DD son más elevados en pacientes neoplásicos que desarrollan trombosis respecto a los que no la desarrollan durante su seguimiento. Un valor de DD > 992 ng/ml presenta un valor predictivo negativo cercano al 92%.
4. Las micropartículas procedentes de plaquetas y que exhiban factor tisular (PMP-FT) en su superficie podrían ayudar a discriminar a los pacientes neoplásicos que van a sufrir eventos trombóticos en su evolución.
5. Los pacientes con cáncer avanzado de pulmón y aparato digestivo que no estén en progresión de la enfermedad, con PMP-FT y DD elevados, es el perfil que se agrupa en torno a los eventos trombóticos en el seguimiento.
6. El análisis de parámetros clínicos y analíticos, MPs y subclases y otras determinaciones, como DD, apuntan a la heterogenicidad que existe en la biopatología del paciente con cáncer por lo que el papel que las MPs tengan como biomarcador tiene que circunscribirse a contextos determinados..

## BIBLIOGRAFÍA

---

<sup>1</sup> Jiaquan Xu, Sherry Murphy, Kenneth Kochanek, Brigham A. Bastian. Deaths: Final Data for 2013. Center for Disease Control and Prevention. National Vital Statistics Reports. Vol. 64. No. 2. February 16, 2016.

<sup>2</sup> Blythe Ryerson, Christie R. Ehemann, Sean Altekruse, John Ward, Ahmedin Jemal et al. Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, 1975-2012, Featuring the Increasing Incidence of Liver Cancer. Cancer May 1, 2016.

<sup>3</sup> La situación del cáncer en España. Planificación sanitaria. Ministerio de Sanidad y Consumo.

<http://www.msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfNoTransmisibles/cancer/home.htm>

<sup>4</sup> Patrones de mortalidad en España, 2012. Madrid. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, 2015. <http://www.msssi.gob.es/estadEstudios/estadisticas/estadisticas/estMinisterio/mortalidad/mortalidad.htm>

<sup>5</sup> Paolo Baili, Francesca Di Salvo, Rafael Marcos-Gragera, Sabine Siesling, Sandra Mallone, Mariano Santaquilani, Andrea Micheli, Roberto Lillini, Silvia Francisci and the EURO-CARE-5 Working Group. Age and case mix-standardised survival for all cancer patients in Europe 1999–2007: Results of EURO-CARE-5, a population-based study. European Journal of Cancer (2015) 51, 2120-2129.)

<sup>6</sup> Goldhaber SZ, Visani L, De Rosa M. Acute pulmonary embolism: clinical outcomes in the International Cooperative Pulmonary Embolism Registry (ICOPER). Lancet. 1999; 353: 1386–1389)

<sup>7</sup> Michele G, Beckman, MPH, W. Craig Hooper, PhD, Sara E, Critchely MS, Thomas L, et al. Venous Thromboembolism. A public Health Concern. American Journal of Preventive Medicine 2010; 38(4S): S495-S500.)

<sup>8</sup> Silverstein MD, Heit JA, Mohr DN, Petterson TM, O'Fallon WM, Melto LJ. Trends in the incidence of deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a 25 year population-based study. Arch Intern Med 1998; 158 : 585-93)

<sup>9</sup> Spencer F., Emery C, Lessard D, Anderson F, Emani S, Aragam J, Becker RC, Goldberg RJ. The Worcester Venous Thromboembolism study: a population-based

---

study of the clinical epidemiology of venous thromboembolism. *J. Gen Intern Med* 2006; 21: 722-7)

<sup>10</sup> Wei Huang, Robert J. Goldberg, Frederick A. Anderson, Catarina I. Kiefe, Frederick A. Spencer. Secular Trends in Occurrence of Acute Venous Thromboembolism: The Worcester VTE Study (1985-2009). *The American Journal of Medicine*, Vol 127, No 9, September 2014)

<sup>11</sup> White R, Zhou H, Murin S, Harvey D. Effect of ethnicity and gender on the incidence of venous thromboembolism in a diverse population in California in 1996. *Thromb Haemost* 2005; 93: 298-305).

<sup>12</sup> Cushman M, Tsai AW, White RH, Heckbert SR, Rosamond WD, Enright P, Folsom AR. Deep vein thrombosis and pulmonary embolism in two cohorts: the longitudinal investigation of thromboembolism etiology. *Am J Med* 2004; 117:19-25)

<sup>13</sup> Laporte S, Mismetti P, Decousus H, et al. Clinical predictors for fatal pulmonary embolism in 22,002 patients with venous thromboembolism: findings from the Registro Informatizado de la Enfermedad TromboEmbolica venosa (RIETE) Registry. *Circulation* 2008;117: 1711–6.))

<sup>14</sup> Nijkeuter M, Sohne M, Tick LW, et al. The natural course of hemodynamically stable pulmonary embolism: clinical outcome and risk factors in a large prospective cohort study. *Chest* 2007;131: 517–23.)

<sup>15</sup> Klerk CPW, Smorenburg SM, Otten H-M, Lensing AWA, Prins MH, Piovella F, et al. The Effect of Low Molecular Weight Heparin on Survival in Patients With Advanced Malignancy. *J Clin Oncol* 2005;23 (10):2130-5.)

<sup>16</sup> Falanga A, Russo L. Epidemiology, risk, and outcomes of venous thromboembolism in cancer. *Hamostaseologie* 2012;32 (2):115-25.

<sup>17</sup> Sud R, Khorana AA, Cancer-associated thrombosis: risk factors, candidate biomarkers and a risk model. *Thromb Res* 2009; 123 (Suple 4):S18-21)

<sup>18</sup> Trousseau A. Plegmasia alba dolens. In: *Lectures on clinical medicine*, delivered at the Hotel-Dieu, Paris. Cormack JR, trans. London: New Sydenham Society, 1872:281-95.)

<sup>19</sup> Heit JA, Silverstein MD, Mohr DN, Petterson TM, O’Fallon WM, Melton LJ III. Risk factors for deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a population based case-control study. *Arch Intern Med*. 2000;160:809-15.



- 
- <sup>20</sup> Khorana AA, Francis CW, Culakova E, Kuderer NM, Lyman GH. Thromboembolism is a leading cause of death in cancer patients receiving outpatient chemotherapy. *J Thromb Haemost*. 2007;5:632-4.
- <sup>21</sup> Timp JF, Braekkan SK, Versteeg HH, Cannegieter SC. Epidemiology of cancer-associated venous thrombosis. *Blood* 2013;122:1712-23.
- <sup>22</sup> Sallah S, Wan JY, Nguyen NP. Venous thrombosis in patients with solid tumors: determination of frequency and characteristics. *Thromb Haemost* 2002;87:575-9.
- <sup>23</sup> Piazza, G. Venous Thromboembolism and Cancer. *Circulation*. 2013; 128:2614-2618.)
- <sup>24</sup> Pachón Olmos V., Ramos Gallo, M.J., Antonio Rebollo M., Ballesteros Ortega D., Iglesias Docampo Lara, Romera-Villegas A., Gallardo Díaz E., Muñoz Martín A. Manejo de la enfermedad tromboembólica venosa en pacientes oncológicos: guías de práctica clínica española. Consenso SEACV-SEOM. *Medicina Clínica*, 2015; 144 (Supl 1):3-15.
- <sup>25</sup> Pabinger I, Ay C Risk of venous thromboembolism and primary prophylaxis in cancer. Should all patients receive thromboprophylaxis? *Hamostaseologie* 2012;32:132-7.
- <sup>26</sup> Numico G., Garrone O, Dongiovanni V, Silvestris N, Colantonio I, Di Costanzo G, et al. Prospective evaluation of major vascular events in patients with nonsmall cell lung carcinoma treated with cisplatin and gemcitabine. *Cancer* 2005;103:994-9.
- <sup>27</sup> Caine CG, Stonelake PS, Lip GYH, Kehoe ST. The hypercoagulable state of malignancy: Pathogenesis and current debate. *Neoplasia* 2002;4 (6):465-73)---
- <sup>28</sup> Khorana AA, Francis CW, Culakova E, Kuderer NM, Lyman GH. Frequency, risk factors, and trends for venous thromboembolism among hospitalised cancer patients, *Cancer* 2007;110 (10):2339-46.
- <sup>29</sup> Stein, P. D., Beemath, A., Meyers, F. a, Skaf, E., Sanchez, J., & Olson, R. E. (2006). Incidence of venous thromboembolism in patients hospitalized with cancer. *The American Journal of Medicine*, 119, 60–68. 2006).
- <sup>30</sup> Rickles FR, Levine MN. Epidemiology of trombosis in cancer. *Acta Hematol* 2001; 106; 6-12).
- <sup>31</sup> Blom J, Doggen C. Malignancies, prothrombotic mutations, and the risk of venous thrombosis. *JAMA* 2005;293:715-22.

- 
- <sup>32</sup> Maraveyas A, Waters J, Roy R, Fyfe D, Propper D, Lofts F, et al. Gemcitabine versus gemcitabine plus dalteparin thromboprophylaxis in pancreatic cancer. *Eur J Cancer* 2012; 48 (9):1283-92.
- <sup>33</sup> Alcalay A, Wun T, Khatri V, Chew HK, Harvey D, Zhou H, et al Venous Thromboembolism in Patients With Colorectal Cancer: Incidence and Effect on Survival. *J Clin Oncol* 2006; 24 (7): 112-8.
- <sup>34</sup> Chew HK, Wun T, Harvey D, Zhou H, White RH. Incidence of venous thromboembolism and its effect on survival among patients with common cancers. *Arch Intern Med* 2006; 166(4):458-64
- <sup>35</sup> Sallah S, Wan JY, Nguyen NP. Venous thrombosis in patients with solid tumors: determination of frequency and characteristics. *Thromb Haemost* 2002;87:575-9.
- <sup>36</sup> Dickmann B, Ahlbrecht J, Ay C, Dunkler D, Thaler J, Scheithauer W, et al. Regional lymph node metastases are a strong risk factor for venous thromboembolism: results from the Vienna Cancer and Thrombosis Study. *Haematologica* 2013;98:1309-14
- <sup>37</sup> Trinh VQ, Karakiewicz PI, Sammon J, Sun M, Sukumar S, Gervais M-K, et al. Venous Thromboembolism After Major Cancer Surgery: Temporal Trends and Patterns of Care. *JAMA* 2005;293:715-22
- <sup>38</sup> Khorana AA, Kuderer NM, Culakova E, Lyman GH, Francis CW. Development and validation of a Predictive model for chemotherapy-associated thrombosis. *Blood* 2008;111:4902-7).
- <sup>39</sup> 9th Ed: ACCP Guidelines Chest. 2012; 141(2 suppl):53S-70S).
- <sup>40</sup> Bhartuar A, Khorana AA, Hutson A, Wang J-G, Key NS, Mackman N, et al. Circulating microparticle tissue factor, thromboembolism and survival in pancreaticobiliary cancers. *Thromb Res* 2013; 132:180-4
- <sup>41</sup> Manly D., Wang J, Glover S. Increased microparticle tissue factor activity in cancer patients with venous thromboembolism. *Thromb Res* 2010;125:511-1. 58,59)
- <sup>42</sup> Hron G, Kollars M, Weber H, Sagaster V, Quehenberger P, Eichinger S, et al. Tissue factor-positive microparticles: Cellular origin and association with coagulation activation in patients with colorectal cancer 2007:119-23. 60

- 
- <sup>43</sup> E.O. Jenkins, D. Schiff, N. Mackman, N.S.Key. Venous thromboembolism in malignant gliomas. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*,8:221-227.2009
- <sup>44</sup> Khorana A. Francis C. Plasma tissue factor may be predictive of venous thromboembolism in pancreatic cancer. *J Thromb Haemost* 2008;6:1983-5.
- <sup>45</sup> Thaler J, Ay C, Mackman N, Bertina RM, Kaider A, Marosi C, et al. Microparticle-associated tissue factor activity, venous thromboembolism and mortality in pancreatic, gastric, colorectal and brain cancer patients. *J Thromb Haemost* 2012;10:1363-70
- <sup>46</sup> Thaler J. Ay C, Mackman N, Metz-Schimmerl S, Stift J. Kaider A, et al. Microparticle-associated tissue factor activity in patients with pancreatic cancer: correlation with clinicopathological features. *Eur J Clin Invest* 2013; 43:277-85.
- <sup>47</sup> Ay C, Dunkler D, Simanek R, Thaler J, Koder S, Marosi C, Zielinski C, Pabinger I. Prediction of venous thromboembolism in patients with cancer by measuring thrombin generation: results from the Vienna Cancer and Thrombosis Study. *J Clin Oncol* 2011 May 20; 29 (15). 2011.
- <sup>48</sup> Mihaila RG. Thrombin generation- a potentially useful biomarker of thrombotic risk in Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2017 Jan 6,
- <sup>49</sup> Mitchell L, Hoogendoorn H, Giles AR, Vegh P, Andrew M. Increased endogenous thrombin generation in children with acute lymphoblastic leukemia: risk of thrombotic complications in L-Asparaginase-induced antithrombin III deficiency. *Blood* 1994 Jan 15; 83 (2):386-91.
- <sup>50</sup> Riedl J. Kaider A. Reitter E-M, Marosi C. Jäger U, Schwarzinger I, et al. Association of mean platelet volume with risk of venous thromboembolism and mortality in patients with cancer: results from the Vienna Cancer and Thrombosis Study (CATS). *Thromb Haemost* 2013;111:670-8
- <sup>51</sup> Braekkan SK. Mathiesen EB, Njølstad I., Wilsgaard T, Størmer J. Hansen JB. Mean platelet volume is a risk factor for venous thromboembolism; the Tromsø Study, Norway. *J Thromb Haemost* 2010;8:157-62.
- <sup>52</sup> Lishner M., Leader A. Pereg D. Are platelet volume indices of clinical use? A multidisciplinary review. *Ann Med* 2012:1-12.

- 
- <sup>53</sup> Khorana AA, Francis CW., Culakova E, Lyman GH. Risk factors for chemotherapy-associated in venous thromboembolism in a prospective observational study. *Cancer*, 2005; 104:2822-9.
- <sup>54</sup> Trujillo-Santos J. , Di Micco P. Lannuzzo M, Lecumberri R, Guijarro R, Madridano O et al. RIETE investigators. Elevated White blood cell count and outcome in cancer patients with venous thromboembolism. Findings from the RIETE registry. *Thromb Hemost* 2008;100;905-11.
- <sup>55</sup> Ay C., Simanek R, Vormittag R, Dunkler D, Alguel G, Koder S, et al. High plasma levels of soluble P-selectin are predictive of venous thromboembolism in cancer patients: results from the Vienna Cancer and Thrombosis Study (CATS). *Blood* 2008;112:2703-8
- <sup>56</sup> Polgar J. Matuskova J. Wagner DD. The P-selectin, tissue factor, coagulation triad. *J Thromb Haemost*. 2005;3:1590-6.
- <sup>57</sup> Arpaia G, Carpenedo M, Verga M, Mastrogiacomo O, Fagnani D, Lanfredini M, et al. D-dimer before chemotherapy might predict venous thromboembolism. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2009;20:170-5
- <sup>58</sup> Cosmi B, Legnani C, Cini M, Guazzaloca G, Palareti G. The role of D-dimer and residual venous obstruction in recurrence of venous thromboembolism after anticoagulation withdrawal in cancer patients. *Haematologica*. 2005;90:713-5.
- <sup>59</sup> Khorana AA, Kuderer NM, Culakova E, Lyman GH, Francis CW. Development and validation of a predictive model for chemotherapy-associated thrombosis. *Blood*. 2008;111(10):4902.
- <sup>60</sup> Ay C, Dunkler D, Marosi C, Chiriac AL, Vormittag R, Simanek R, Quehenberger P, Zielinski C, Pabinger I. Prediction of venous thromboembolism in cancer patients. *Blood*. 2010;116(24):5377. Epub 2010 Sep 9. )
- <sup>61</sup> Mandala M, Clerici M, Corradino I, et al. Incidence, risk factors and clinical implications of venous thromboembolism in cancer patients treated within the context of phase I studies: the 'SENDO experience'. *Ann Oncol* 2012; 23:1416.
- <sup>62</sup> Ay C, Pabinger I. Predictive potential of haemostatic biomarkers for venousthromboembolism in cancer patients. *Thromb Res*. 2012;129 Suppl: S6-9.
- <sup>63</sup> Nisio M, Porreca E, Ferrante N, Otten HM, Cuccurullo F, Rutjes AW. Primaryprophylaxis for venous thromboembolism in ambulatory cancer patients receiving chemotherapy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;2:CD008500

- 
- <sup>64</sup> Akl EA, Gunukula S, Barba M, et al. Parenteral anticoagulation in patients with cancer who have no therapeutic or prophylactic indication for anticoagulation. *Cochrane Database Syst Rev* 2011
- <sup>65</sup> M. Boulanger, Nicolas Amabile, Alain Tedgui. Circulating Microparticles. A Potential Prognostic Marker for Atherosclerotic Vascular Disease *Chantal Hypertension*. 2006;48:180-186).
- <sup>66</sup> A. Phillip Owens III and Nigel Mackman. Microparticles in Hemostasis and Thrombosis. *Circulation Research*. 2011;108:1284-1297.
- <sup>67</sup> Gelderman MP, Simak J. Flow cytometric analysis of cell membrane microparticles. *Methods Mol Biol*. 2008;484:79-93.
- <sup>68</sup> Arne Trummer , Christiane De Rop, Andreas Tiede, Arnold Ganser, Roswith Eisert. Isotype controls in phenotyping and quantification of microparticles: A major source of error and how to evade it. *Thrombosis Research* (2008) 122, 691–700.
- <sup>69</sup> Berckmans, R.J., Neuwland, R., Boing, A.N., Romijn, F.P., Hack, C.E. & Sturk, A. (2001) Cell-derived microparticles circulate in healthy humans and support low grade thrombin generation. *Thrombosis and Haemostasis*, 85, 639–646.
- <sup>70</sup> Shah, M.D., Bergeron, A.L., Dong, J.F. & Lopez, J.A. (2008) Flow cytometric measurement of microparticles: pitfalls and protocol modifications. *Platelets*, 19, 365– 372).),
- <sup>71</sup> Margot E.T. Tesselaar and Susanne Osanto. Risk of venous thromboembolism in lung cancer. *Current Opinion in Pulmonary Medicine* 2007, 13:362–367.
- <sup>72</sup> Jeffrey I. Zwicker. Tissue Factor–Bearing Microparticles and Cancer. *Semin Thromb Hemost* 2008; 34(2): 195-198
- <sup>73</sup> F.F. van Doormaal, A. Kleinjan, M. Di Nisio , H.R. Büller, R. Nieuwland. Cell-derived microvesicles and cancer *The Netherland Journal of Medicine*, 2009, Vol. 67, No. 7
- <sup>74</sup> Abid Hussein, Böing AN, Sturk A, Hau CM, Nieuwland R. Inhibition fo microparticle release triggers endothelial cell apoptosis and detachment. *Thrombosis and Haemostasi*. 2007 Noviembre; 98 (5):1096-107.
- <sup>75</sup> Kerby Shedden, Xue Tao Xie, Parthapratim Chandaroy, Young Tae Chang, and Gustavo R. Rosania. Expulsion of Small Molecules in Vesicles Shed by Cancer

---

Cells: Association with Gene Expression and Chemosensitivity Profiles. *Cancer research* 63, 4331–4337, august 1, 2003.

<sup>76</sup> Juha Hakulinen, Sami Junnikkala, Timo Sorsa, Seppo Meri. Complement inhibitor membrane cofactor protein (MCP; CD46) is constitutively shed from cancer cell membranes in vesicles and converted by a metalloproteinase to a functionally active soluble form. *Eur. J. Immunol.* 2004. 34: 2620–2629.

<sup>77</sup> P.K. Y. Goon, G. Y. H. Lip, C. J. Boos, P. S. Stonelakey and A. D. Blann. Circulating Endothelial Cells, Endothelial Progenitor Cells, and Endothelial Microparticles in Cancer Neoplasia . Vol. 8, No. 2, February 2006, pp. 79 – 88

<sup>78</sup> Judah Folkman. Angiogenesis inhibitors generated by tumors *Molecular Medicine*. Volume 1, Number 2, January 1995 120-122.

<sup>79</sup> Kakkar AK, Lemoine NR, Scully MF, Tebbut S, Williamson RC. Tissue factor expression correlates with histological grade in human pancreatic cancer. *The British Journal of surgery* 1995 Aug;82(8):1101-4.

<sup>80</sup> Julie A. Vrana, Michael T. Stang, Joseph P. Grande, and Michael J. Ge. Expression of Tissue Factor in Tumor Stroma Correlates with Progression to Invasive Human Breast Cancer: Paracrine Regulation by Carcinoma Cell derived Members of the Transforming Growth Factor. *Cancer Research* 56, 5063-5070, november 1, 1996.

81 Ueno H. Okada S. Okusaka T. Ikeda M .Prognostic Factors in Patients with Metastatic Pancreatic Adenocarcinoma Receiving Systemic Chemotherapy. *Oncology* 2000;59:296–301

82 Leroyer AS, Anfosso F, Lacroix R, Sabatier F, Simoncini S, Njock SM, Jourde N, Brunet P, Camoin-Jau L, Sampol J, Dignat-George F. Endothelial-derived microparticles: Biological conveyors at the crossroad of inflammation, thrombosis and angiogenesis. *Thromb Haemost.* 2010 Sept; 104 (3):456-63.

83 Anna Janowska-Wieczorek, Leah A. Marquez-Curtis, Marcin Wysoczynski, and Mariusz Z. Ratajczak. Enhancing effect of platelet-derived microvesicles on the invasive potential of breast cancer cells. *Transfusion* Volume 46, July 2006).

84 Rattan R, Giri S, Singh AK, Singh I. Rho/ROCK pathway as a target of tumor therapy. *J Neurosciencie Research.* 2006 Feb 1; 83 (2):243-55.

85 Remy-Jardin M, Remy J, Wattinne L, Giraud F. Central pulmonary thromboembolism: Diagnosis with spiral volumetric CT with the singlebreath-

---

hold-technique-comparison with pulmonary angiography. *Radiology*. 1992;185:381–7.

86 Horsted F, West J, Grainge MJ. Risk of venous thromboembolism in patients with cancer: a systematic review and meta-analysis. *Plos Med*. 2012; 9(7):e1001275.//

87 Walker AJ, Card TR, West J, Crooks C, Grainge MJ. Incidence of venous thromboembolism in patients with cancer—a cohort study using linked United Kingdom databases. *Eur J Cancer*. 2013; 49 (6):1404-1413

88 Haddad TC, Greeno EW. Chemotherapy-induced thrombosis. *Thromb Res*.2006; 118 (5): 555-568.

89 Starling N., Rao S, Cunningham D, et al. Thromboembolism in patients with advanced gastroesophageal cancer treated with anthracycline, platinum and fluoropyrimidine combination chemotherapy: a report from the UK National Cancer Research Institute Upper Gastrointestinal Clinical Studies Group. *J Clin Oncol*. 2009; 27 (23):3786-3793.)

90 Nalluri SR, Chu D, Keresztes R, Zhu X, Wu S. Risk of venous thromboembolism with the angiogenesis inhibitor bevacizumab in cancer patients: a meta-analysis. *JAMA*. 2008; 300 (19):2277-2285.)

91 Alcalay A, Wun T, Khatri V, Chew HK, Harvey D, Zhou H, With RH. Venous thromboembolism in patients with colorectal cancer: incidence and effect on survival. *J Clin Oncol*. 2006;24 (7):1112-1118.

92 Alok A. Khorana, MD; Mehul Dalal, Jay Lin, Gregory C. Connolly. *Cancer* 2013; 119:648-55. Incidence and Predictors of Venous Thromboembolism (VTE) among Ambulatory High-Risk Cancer Patients Undergoing Chemotherapy in the United States.

93 Ay C, Simanek R, Vormittag R, et al. High plasma levels of soluble P-selectin are predictive of venous thromboembolism in patients with cancer Results from the Vienna Cancer and Thrombosis Study (CATS). *Blood* 2008: 112:2703-2708, 2008.)

94 Reitter EM, Kaider A, Ay C, Quehenberger P, Marosi C, Zielinski C, Pabinger I. Longitudinal analysis of hemostasis biomarkers in cancer patients during antitumor treatment. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2016 Feb; 14 (2):294-305

---

95 Goldin-Lang P, Tran QV, Fichtner I, Eisenreich A, Antoniak S, Schulze K, Coupland SE, Poller W, Schultheiss HP, Rauch U. Tissue factor expression pattern in human non-small cell lung cancer tissues indicate increased blood thrombogenicity and tumor metastasis. *Oncol Rep.* 2008. Jul; 20 (1):123-8. )

<sup>96</sup> Lo L, Valentine H, Harrison J, Hayes S, Welch I, Pritchard S, West C, Ang Y. Tissue factor expression in the metaplasia-adenoma-carcinoma sequence of gastric cancer in a European population. *Br J Cancer* 2012 sept 25; 107 (7): 1125-30.

<sup>97</sup> Feras Abu Saadeh, Lucy Norris, Sharon O'Toole, Bashir M. Mohamed, Ream Langhe, John O'Leary, Noreen Gleeson. Tumour expression of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor in ovarian cancer-relationship with venous thrombosis risk. *Thrombosis Research* 132 (2013):627-634

<sup>98</sup> Khorana AA, Kamphuisen PW, Meyer G, Bauersachs R, Janas MS, Jarner MF, Lee AY. Tissue factor as a Predictor of Recurrent Venous Thromboembolism in Malignancy: Biomarker Analyses of the CATCH Trial. *Journal of Clinical Oncology* 2017 Apr 1; 35 (10).

<sup>99</sup> Chong Chen, Gang Li, Yun-De Liu, Ya-Jun Gu. A New D-dimer Cutoff Value to Improve the Exclusion of Deep Vein Thrombosis in Cancer Patients, *Asian Pac J Cancer Prev*, 15 (4), 1655-1658.

<sup>100</sup> Akl EA, Gunukula S, Barba M, et al. Parenteral anticoagulation in patients with cancer who have no therapeutic or prophylactic indication for anticoagulation. *Cochrane Database Syst Rev* 2011

<sup>101</sup> Long Liu, Xi Zhang, Bing Yan, Qunhao Gu, Xiadong Zhang, Jianpeng Jiao, Dazhi Sun, Ning Wang, Xiaoqiang Yue. Elevated Plasma D-Dimer Levels Correlate with Long Term Survival of Gastric Cancer Patients. *Plos One*, Volumen 9, issue 3.e90547

<sup>102</sup> Dongmei Diao, Zhe Wang, Yao Cheng, Hao Zhang, Qui Guo, Yongchun Song, Kun Zhu, Kang Li, Di Liu, Chengxue Dang. Not Just an Indicator of Venous Thrombosis but a Predictor of Asymptomatic Hematogenous Metastasis in Gastric Cancer Patients. *Plos One* July 2014, volumen 9, issue 7, e101125.)

<sup>103</sup> Tomimaru Y, Yano M, Takachi K, Kishi K, Miyashiro I, Ohue M, Ohigashi H, Sasaki Y, Ishikawa O, Imaoka S. Plasma D dimer levels show correlation with



---

number of lymph nodes metastases in patients with esophageal cancer. Arch Inter Med 2002 Sep 9; 162 (16):1880-4.

<sup>104</sup> Inal T, Anar C, Polat G, Ünsal I, Halilcolar H. The prognostic value of D-dimer in lung cancer. Clinical Respiratory Journal 2015 Jul; 9 (3): 305-13

<sup>105</sup> Zhu LR, Li J, Chen P, Jiang Q, Tang XP. Clinical significance of plasma fibrinogen and D dimer in predicting the chemotherapy efficacy and prognosis for small cell lung cancer patients. Clinical Traslational Oncology. 2016 Feb; 18(2):178-88.

**Resumen tratamiento oncológico por familias:**

- Agentes alquilantes: Sales de metales (Cisplatino, carboplatino, oxaliplatino).
- Biológicos
- Fármacos antimetabolitos: antifolato (premetexed, raltitrexed), antagonistas del ácido fólico (metotrexato), antagonistas de la pirimidina (5 FU, floxuridina, citarabina, capecitabina y gemcitabina), antagonistas de las purinas (6-mercaptopurina y 6-tioguanina), inhibidores de la adenosina deaminasa (cladribina, fludarabina y pentostatina).
- Alcaloides vegetales: alcaloides de la vinca (vincristina, vinblastina, vinorelbina), taxanos (paclitaxel y docetaxel) podofilotoxinas (etopósido y tenipósido que son inhibidores de la topoisomerasa II) y análogos de camptotecina (irinotecán y topotecán que son inhibidores de la topoisomerasa I)
- Antibiótico antitumoral: Antraciclinas (epirubicina, idarubicina, doxorubicina), misceláneo (mitomicina, bleomicina)
- Tratamiento de soporte: como son pocos casos he pensado que podría incluirlos todos aquí, los que están con factores estimulantes de colonias de granulocitos, EPO.

**ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group)**

ECOG valora la evolución de las capacidades del paciente en su vida diaria manteniendo al máximo su autonomía. Este dato es muy importante cuando se plantea un tratamiento, ya que de esta escala dependerá el protocolo terapéutico y el pronóstico de la enfermedad. La escala ECOG se puntúa de 0 a 5 y sus valores son:

ECOG 0	El paciente se encuentra totalmente asintomático y es capaz de realizar un trabajo y actividades normales de la vida diaria.
ECOG 1	El paciente presenta síntomas que le impiden realizar trabajos arduos, aunque se desempeña normalmente en sus actividades cotidianas y en trabajos ligeros. El paciente sólo permanece en la cama durante las horas de sueño nocturno.
ECOG 2	El paciente no es capaz de desempeñar ningún trabajo, se encuentra con síntomas que le obligan a permanecer en la cama durante varias horas al día, además de las de la noche, pero que no superan el 50% del día. El individuo satisface la mayoría de sus necesidades personales solo.
ECOG 3	El paciente necesita estar encamado más de la mitad del día por la presencia de síntomas. Necesita ayuda para la mayoría de las actividades de la vida diaria como por ejemplo el vestirse.
ECOG 4	El paciente permanece encamado el 100% del día y necesita ayuda para todas las actividades de la vida diaria, como por ejemplo la higiene corporal, la movilización en la cama e incluso la alimentación.
ECOG 5	Fallecido.

---

### ANEXO III

#### HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE: ESTUDIO DE MICROPARTICULAS CIRCULANTES EN PACIENTES CON ENFERMEDAD TROMBOEMBOLICA VENOSA Y CANCER.

Se le ha solicitado su participación en el estudio de investigación llamado: “Estudio de Micropartículas circulantes en pacientes con Enfermedad Tromboembólica Venosa y Cáncer”, cuyo Investigador Principal es la Dra. Remedios Otero Candelera.

Desde hace muchos años los médicos sabemos que existe una relación entre el hecho de padecer trombosis venosas y de padecer algún tipo de tumor. El diagnóstico del tumor o de la trombosis puede ser indistintamente antes o después. En otras palabras, se puede diagnosticar una trombosis y meses después el tumor o viceversa. Esto ocurre en el 16% de trombosis venosas que no se conoce la causa. En el caso de los tumores, existe entre un 5 a un 15% que posteriormente padecen trombosis.

El presente estudio pretende hallar un marcador en sangre que nos indique con más precisión cuales son los pacientes más predispuestos. Los beneficios de esta investigación serían conocer en qué enfermos tendríamos que intensificar la búsqueda de un tumor oculto para diagnosticarlo lo antes posible, tratar y mejorar el pronóstico. Por otro lado, serviría para realizar medidas de prevención antitrombótica en pacientes con tumores.

Su participación se concreta en una extracción de sangre venosa periférica y una serie de revisiones médicas. Su participación en el estudio es voluntaria. Puede negarse a participar y suspender su participación en cualquier momento sin penalización alguna ni pérdida de beneficios de asistencia médica a los que tiene derecho.

Trataremos de hacer coincidir la extracción sanguínea y las revisiones con las que usted tendrá concertadas para su asistencia médica. Así le evitaremos más molestias y desplazamientos de los necesarios a las consultas.

CONSENTIMIENTO INFORMADO:

Título: “Estudio de Micropartículas circulantes en pacientes con Enfermedad Tromboembólica Venosa y Cáncer”.

Yo,.....(Nombre y apellidos)

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con:

.....(Nombre del investigador)

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1º Cuando quiera.

2º Sin tener que dar explicaciones.

3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad a participar en el estudio.

Fecha Firma del participante

CONSENTIMIENTO INFORMADO ANTE TESTIGOS:

Título: “Estudio de Micropartículas circulantes en pacientes con Enfermedad Tromboembólica Venosa y Cáncer”.

Yo,.....(Nombre y apellidos)

Declaro bajo mi responsabilidad que:

.....(Nombre del participante en el ensayo)

Ha recibido la hoja de información sobre el estudio.

Ha podido hacer preguntas sobre el estudio.

Ha recibido suficiente información sobre el estudio.

Ha sido informado por:

.....(Nombre del investigador)

Comprende que su participación es voluntaria.

Comprende que puede retirarse del estudio:

1º Cuando quiera.

2º Sin tener que dar explicaciones.

3º Sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.

Y ha expresado libremente su conformidad para participar en el estudio.

Fecha Firma del testigo