

Importancia de los Biomarcadores en la Recurrencia Tromboembólica

Susana María Ouviaña

**Doctora de la Universidad de Buenos Aires, área Química Biológica, FCEyN
Servicio de Hematología Clínica – Hospital Churruca**

Revelación de conflictos de interés

Susana Ouviaña

“Importancia de los Biomarcadores en la Recurrencia Tromboembólica “

Declaro no tener ningún conflicto de interés

BIOMARCADORES ASOCIADOS A TEV

DIMERO D

Potencial Endógeno de Trombina

FVIII

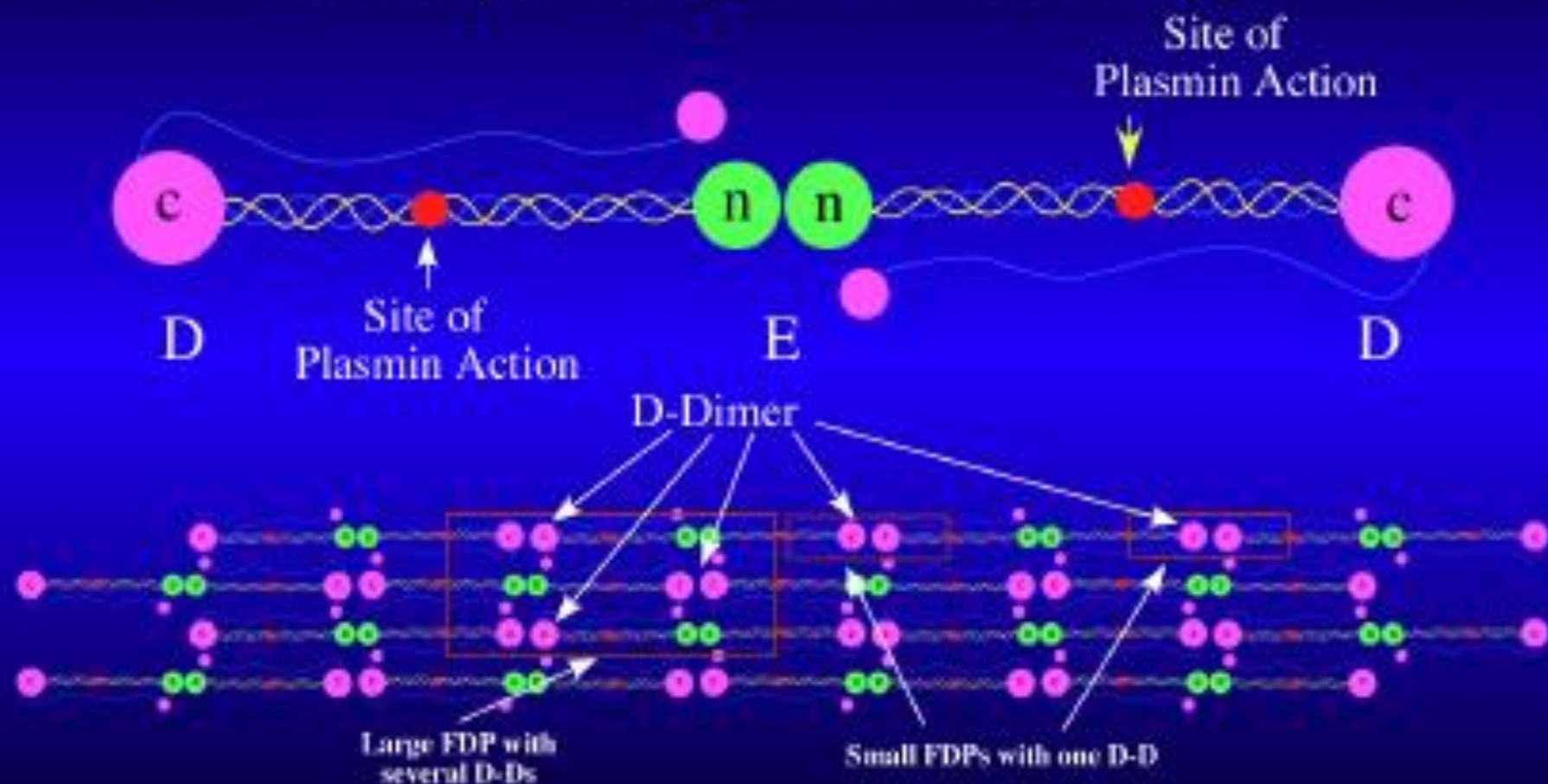
P-Selectina

Citoquinas Proinflamatorias

Test Comerciales de Dímero D

Método	Test	Sensibilidad	Especificidad	Comentarios
ELISA	Asserachrom Dd (Stago)	Alta	Baja	Gold Standard, laborioso, batch, tiempo
ELISA y fluorescencia (ELFA)	Vidas DD (bioMerieux) Stratus Ddimer (Dade Behring)	Alta	Baja	Sensib similar al ELISA, rápido, equipamiento, costos
ELISA y quimioluminiscencia	Immulate (Siemens) Pathfast (Mitsubishi)	Alta	Baja	Sensib similar al ELISA, equipamiento, rápido
Inmunofiltración	Nycocard (Nycomed) Cardiac D-dimer (Roche)	Alta	Intermedia	Menos sensible que el ELISA, rápido, equipamiento
Aglutinación látex semicuantitativo	Dimertest latex (IL) Fibrinosticon (boMerieux)	Intermedia-Baja	Intermedia-Baja	Rápido , operador dependiente, sensib insuficiente para test de excl
Aglutinación de sangre entera	SimpliRed (Agen) Clearview Simplify Ddimer (Agen)	Alta-Intermedia	Alta-Intermedia	Rápido, sangre entera, operador dependiente
Inmunoturbidimétrico	STA DD Liatest (Stago) D-dimer IL Test (IL) TinaQuant (Roche)	Alta	Intermedia	Sensib similar al ELISA, cuantitativo, rápido, mismo equipo de coagulación

Fibrinogen: Polymerization and Lysis



Dímero D: Test de elección

- Cuantitativo
- Amplio rango de detección
- No deben interferir los productos de degradación del fibrinógeno
- Test disponible en todo momento, automatizado, no operador-dependiente
- Resultados en menos de 30 min
- Método debe estar evaluado en estudios clínicos apropiados

- **DD con sensibilidad > 95% y VPN cercano a 100% podría utilizarse como test de exclusión de TEV , en pacientes con pre test bajo**
- **Baja especificidad para TEV, DD integrado a algoritmos diagnósticos que incluyen la determinación de la probabilidad clínica y técnicas de imágenes.**
- **Especificidad disminuye en pac hospitalizados, edad, embarazo, cáncer, infecciones.**
- **Método con mayor especificidad tiene menos falsos positivos (menos diagnósticos por imágenes)**

Dímero D como biomarcador de recurrencia tromboembólica

Estudio prospectivo, 396 pacientes con 1er episodio de TEV, D dimer VIDAS, valor de corte < 500 ng/ml, VPN: 95.6%.

Mayor recurrencia en pac con DD anormal vs normal a los 3 meses (2.5, 95% CI: 1.3-4.5).

En 186 pac con DD normal hubo 5 recurrencias.

Risk of venous thromboembolism recurrence: high negative predictive value of D-dimer performed after oral anticoagulation is stopped. Palareti G et al. Thromb Haemost 2002; 87: 7-12

599 pac con 1er episodio de TEV con o sin trombofilia congénita, DD (VIDAS) medido 1 mes después de suspender TAO.

DD anormal asociado a mayor recurrencia

TEV idiopática (2.4, 95% CI: 1.2-4.6) VPN: 93%

**en pac con trombofilia (8.3, 95% CI: 2.7-17.4)
VPN: 96%**

Predictive value of D dimer test for recurrent venous thromboembolism after anticoagulation withdrawal in subjects with a previous idiopathic event and in carriers of congenital thrombophilia. Palareti G et al, Circulation 2003; 108: 313-18

En 610 pac con 1er episodio de TEV idiopática, DD (Asserachrom D-dimer, Stago, France) 3 semanas después de suspender TAO, probabilidad acumulada de riesgo de recurrencia a los 2 años:

3.7% (95% CI: 0.9-6.5) en pac con DD < 250 ng/ml

11.5% (95% CI: 8.0-15.0) en pac con DD elevado

D dimer levels and risk of recurrent venous thromboembolism.

Eichinger S et al, JAMA 2003; 290: 1071-4

Review: 7 estudios 1888 pac con 1er episodio de TEV idiopático que recibieron al menos 3 meses de TAO

Recurrencia de 8.9% (95% CI: 5.8-11.9) en pac con DD positivo vs 3.5% (95% CI: 2.7-4.3) en pac con DD negativo

Systematic review: D-dimer to Predict Recurrent Disease after Stopping Anticoagulant Therapy for Unprovoked Venous Thromboembolism. Verhovsek M et al, Ann Inter Med 2008; 149: 481-490, W494.

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

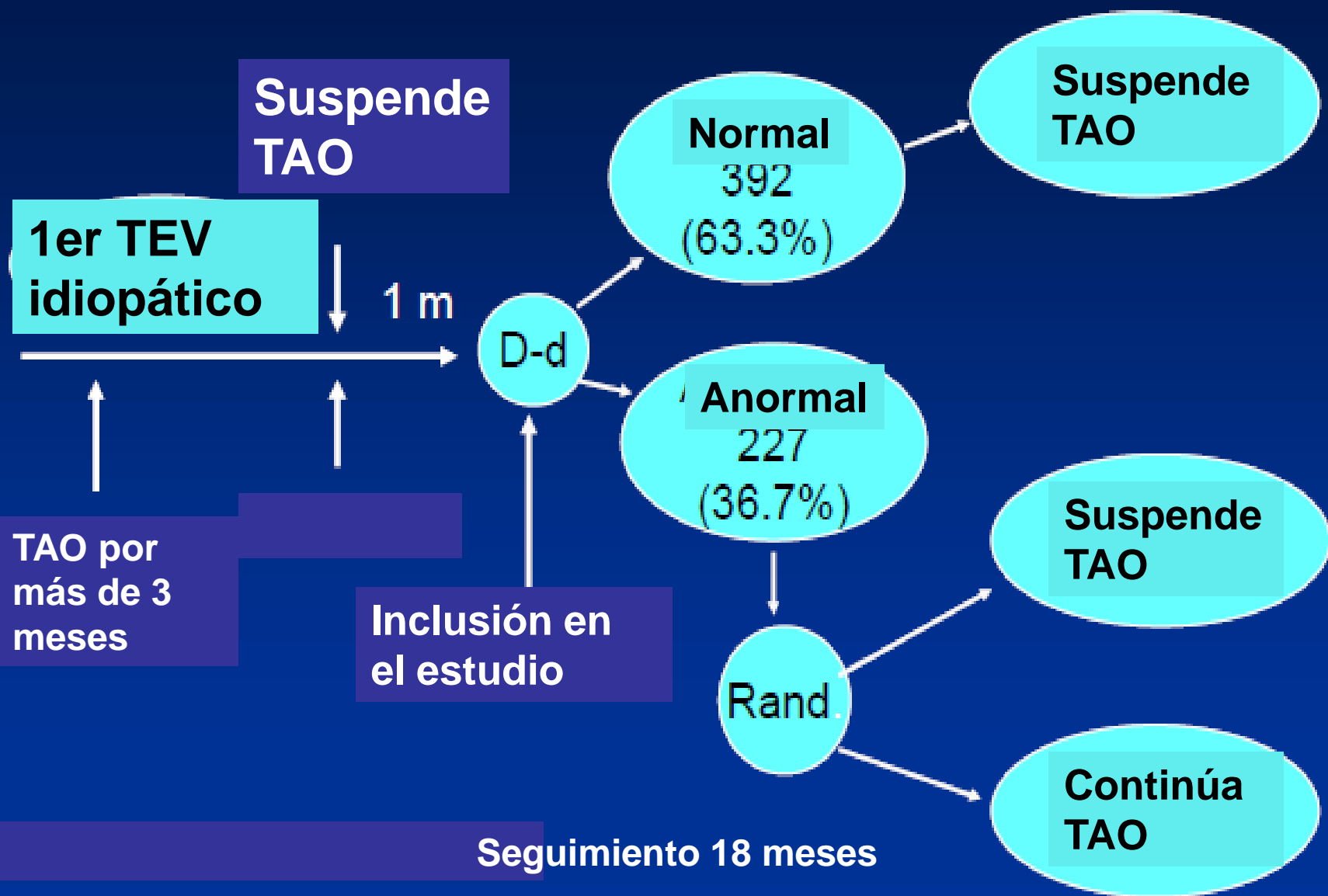
ORIGINAL ARTICLE

D-Dimer Testing to Determine the Duration of Anticoagulation Therapy

Gualtiero Palareti, M.D., Benilde Cosmi, M.D., Ph.D.,
Cristina Legnani, D.Sci., Ph.D., Alberto Toso, M.D., Carlotta Brusi, M.D.,
Alfonso Iorio, M.D., Vittorio Pengo, M.D., Angelo Ghirarduzzi, M.D.,
Corrado Pattacini, M.D., Sophie Testa, M.D., Anthonie W.A. Lensing, M.D.,
and Armando Tripodi, D.Sci., Ph.D., for the PROLONG Investigators*

N Engl J Med 2006; 355: 1780-9

Prolong Study



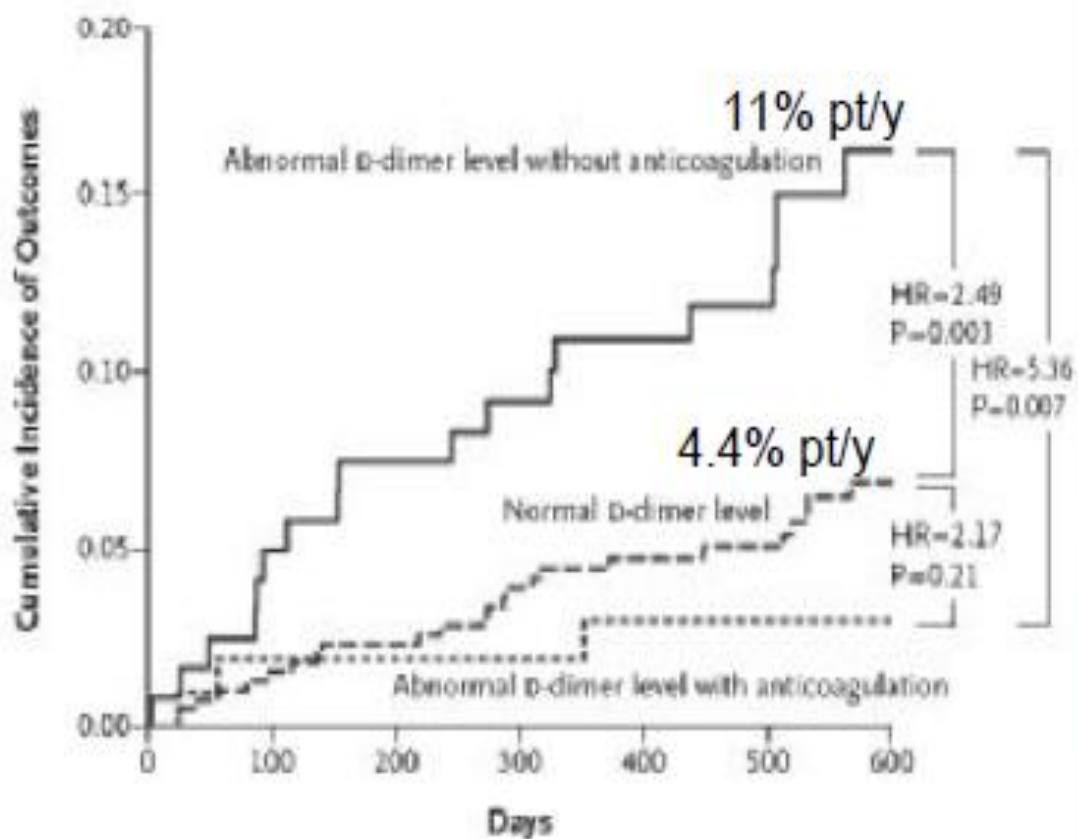


Figure 2. Cumulative Incidence of and Hazard Ratios (HRs) for Main Outcomes.

The graph compares the outcomes among patients who had a normal D-dimer level with those among patients who had an abnormal level and either resumed or stopped anticoagulation therapy.

(Palareti et al., NEJM 2006)

Limitaciones del Prolong Study

- **Método utilizado para DD: Clearview Simplify D dimer, métodos cuantitativos pueden mejorar los resultados.**
- **DD originalmente normal puede haber cambiado a anormal durante el seguimiento. Frecuencia con que ocurre y si podría estar asociado a mayor riesgo de recurrencia.**

Prolong II

Cosmi B et al. Usefulness of repeated D-dimer testing after stopping anticoagulation for a first episode of unprovoked venous thromboembolism: the Prolong II prospective study. Blood 2010; 115: 481-488

1er episodio de TEV idiopático

TAO por 6 m

D-d

Anormal

Normal

Todos los pac suspenden TAO por 1 mes

Recurrencias tempranas

D-d

Anormal

Normal

Continúan TAO por 3-6 m

Recurrencias tardías

DD cada 2 m por 1 año

Dímero D	Normal (%)	Anormal (%)
1 mes después de suspender TAO	213 (67%)	63 (23%)

Entre los 213 pac en seguimiento sin TAO con DD normal :

En 1-3er mes después de suspender TAO

1TVP proximal idiopática

1 TVP proximal secundaria

3 TEP

Prolong II

Después de 3 m de suspender TAO	N (%)	Recurrencias
DD persistentemente normal	147 (71)	5 eventos 3.4%
DD persistentemente anormal	15 (8)	5 eventos 33%
DD fluctuante	44 (21)	1 evento 2.2%

- **DD permaneció normal en 67% de los pac y la tasa de recurrencia después de 3 meses fue baja: 3.4%**
- **DD inicialmente normal se vuelve anormal al 3er mes en el 14% de los pac y está asociado con tasa de recurrencia mayor que pac que seguían con DD normal a los 3 meses.**
- **La tasa de recurrencia en pac con DD normal 1 mes después de suspender TAO es más alta en el 3er a 5^o mes.**
- **Determinación de DD en los primeros 3 meses después de suspender TAO en pac con 1er episodio de TEV idiopático, podría identificar un subgrupo de pac con un bajo riesgo de recurrencia.**

CORRELACIÓN ENTRE ULTRASONOGRAFÍA Y NIVELES DE DÍMERO D EN PACIENTES CON TROMBOSIS VENOSA PROFUNDA

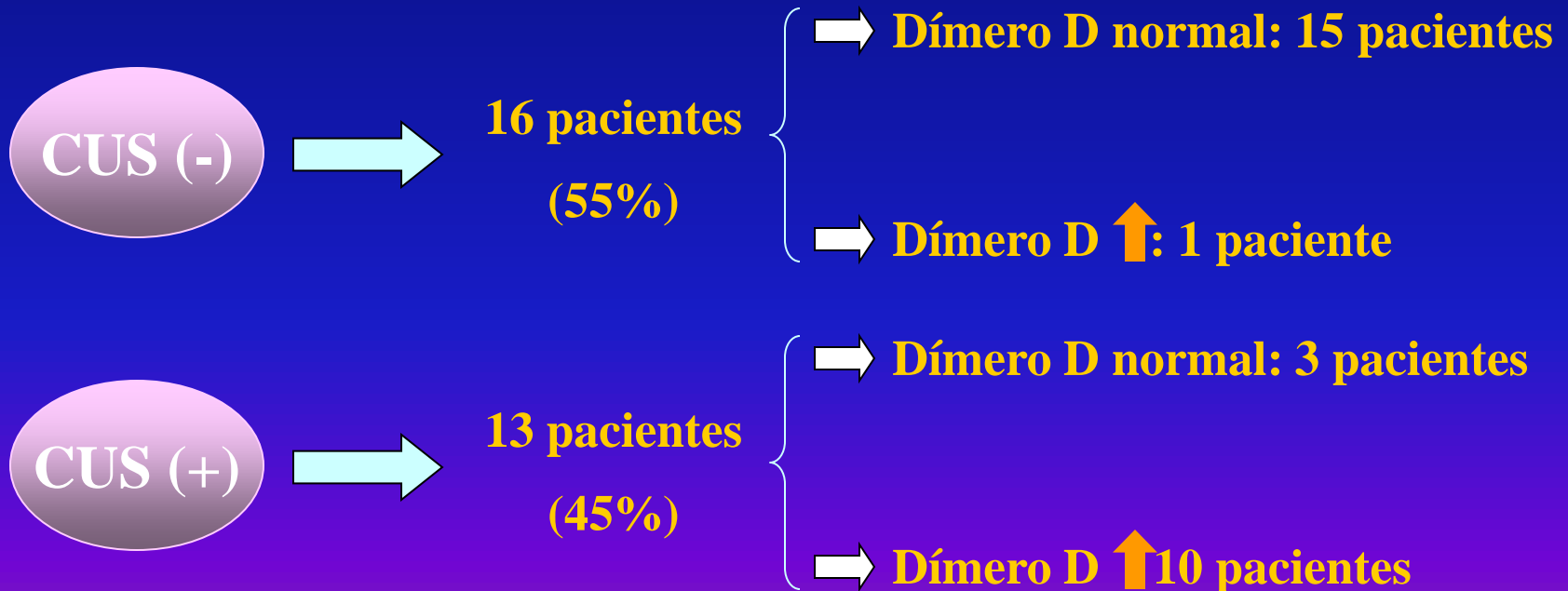
**Adriana Moreno, Alberto Maneyro, Susana Ouviaña, Juan José Real,
Luis Quiroga, Laura Etchevarria, María Silvana Cugliari, Luis Palmer
Servicio de Hematología Clínica
Complejo Médico Churruca – Visca**

- **Objetivo: Evaluar la correlación entre ultrasonografía de compresión y los niveles de dímero D en pacientes con diagnóstico de trombosis venosa profunda idiopática.**
- **29 pacientes (18 mujeres y 11 varones)**
- **Edad media: 60,6 años**
- **Diagnóstico de trombosis venosa proximal de miembros inferiores**
- **Sospecha clínica y confirmación diagnóstica por ultrasonografía**
- **Se excluyeron:**
 - ✓ **pacientes con factores desencadenantes de trombosis**
 - ✓ **pacientes con patología protrombótica subyacente**

- **Determinación cuantitativa plasmática basal de dímero D (D-Dimer HemosIL[®])**
- **Valor de corte: 255 ng/ml.**
- **Todos los pacientes recibieron tratamiento anticoagulante (heparina seguida de dicumarínicos) por un periodo de 6 meses**
- **A los 6 meses se repitieron la ultrasonografía y el dímero D**
- **Todos los pacientes con ultrasonografía normal luego de 6 meses de tratamiento suspendieron los dicumarínicos**
- **Todos los pacientes con ultrasonografía patológica mantuvieron el tratamiento anticoagulante, con controles ultrasonográficos periódicos**

RESULTADOS

- **N: 29 pacientes**
- **10 pacientes: dímero D normal al diagnóstico**
- **A los 6 meses:**

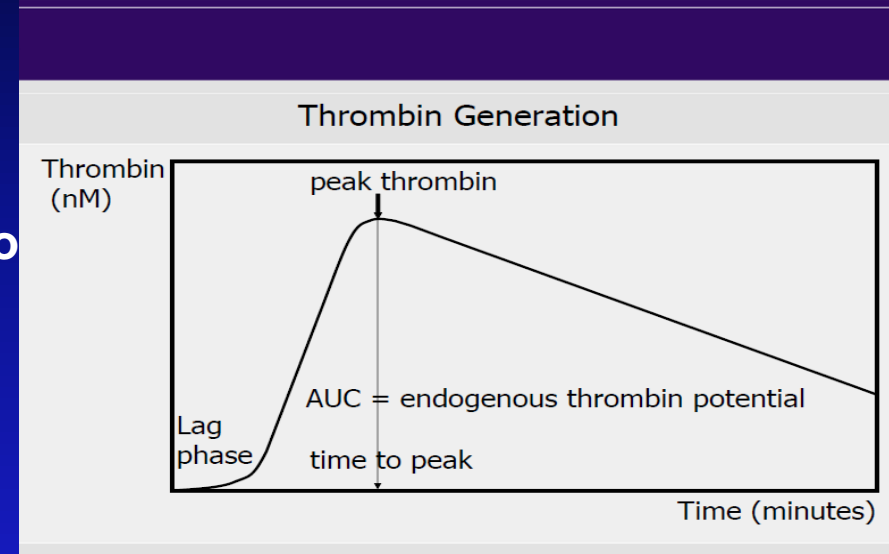


CONCLUSIONES

- **El dímero D fue menos sensible que la ultrasonografía en el diagnóstico de trombosis venosa profunda**
- **Se evidenció buena correlación entre la ultrasonografía y el dímero D luego del tratamiento anticoagulante**
- **La normalización de la ultrasonografía y del dímero D previamente elevado, luego de 6 meses de tratamiento anticoagulante oral identificaría a un grupo de pacientes de bajo riesgo de recurrencia trombótica pasibles de suspender el tratamiento anticoagulante.**
- **La persistencia de trombosis, evidenciada por ultrasonografía y niveles elevados de dímero D definiría un grupo de pacientes de alto riesgo, con mayor posibilidad de recurrencia y, por lo tanto, con necesidad de tratamiento anticoagulante prolongado.**

Potencial Endógeno de Trombina

- **Lag time (tiempo hasta que ocurre el estallido de trombina)**
- **Pico de trombina**
- **Area bajo la curva: Potencial endógeno de trombina, representa la cantidad total de trombina generada.**
- **Ensayo Cromogénico comercial (Dade Behring, Germany)**
- **Ensayo Fluorogénico comercial (Technothrombin TGA®, Technoclone, Austria)**
- **Necesidad de más estudios prospectivos e intervencionales y estandarización del test para la aplicación en la práctica diaria.**



Potencial Endógeno de Trombina y Recurrencia de TEV

- **254 pac con 1er episodio de TEV idiopático seguidos durante 2.7 años después de discontinuar TAO. Pacientes con elevado PET, pico de trombina o fase lag tienen un riesgo aumentado de recurrencia (3.4, 95% CI: 1.3-8.7 y 4.6, 95% CI: 1.7-12.2 respect,). Tripodi A et al. High thrombin generation measured in the presence of thrombomodulin is associated with an increased risk of recurrent venous thromboembolism. J Thromb Haemost 2008; 6(8): 1327-33.**
- **Pacientes con 1er episodio idiopático de TEV y alto PET tienen significativamente aumentado riesgo de recurrencia (4.0, 95% CI: 1.3-11.8). Besser M et al. High rate of unprovoked recurrent venous thrombosis is associated with high thrombin-generating potencial in a prospective cohort study, J Thromb Haemost 2008; 6: 1720-25.**

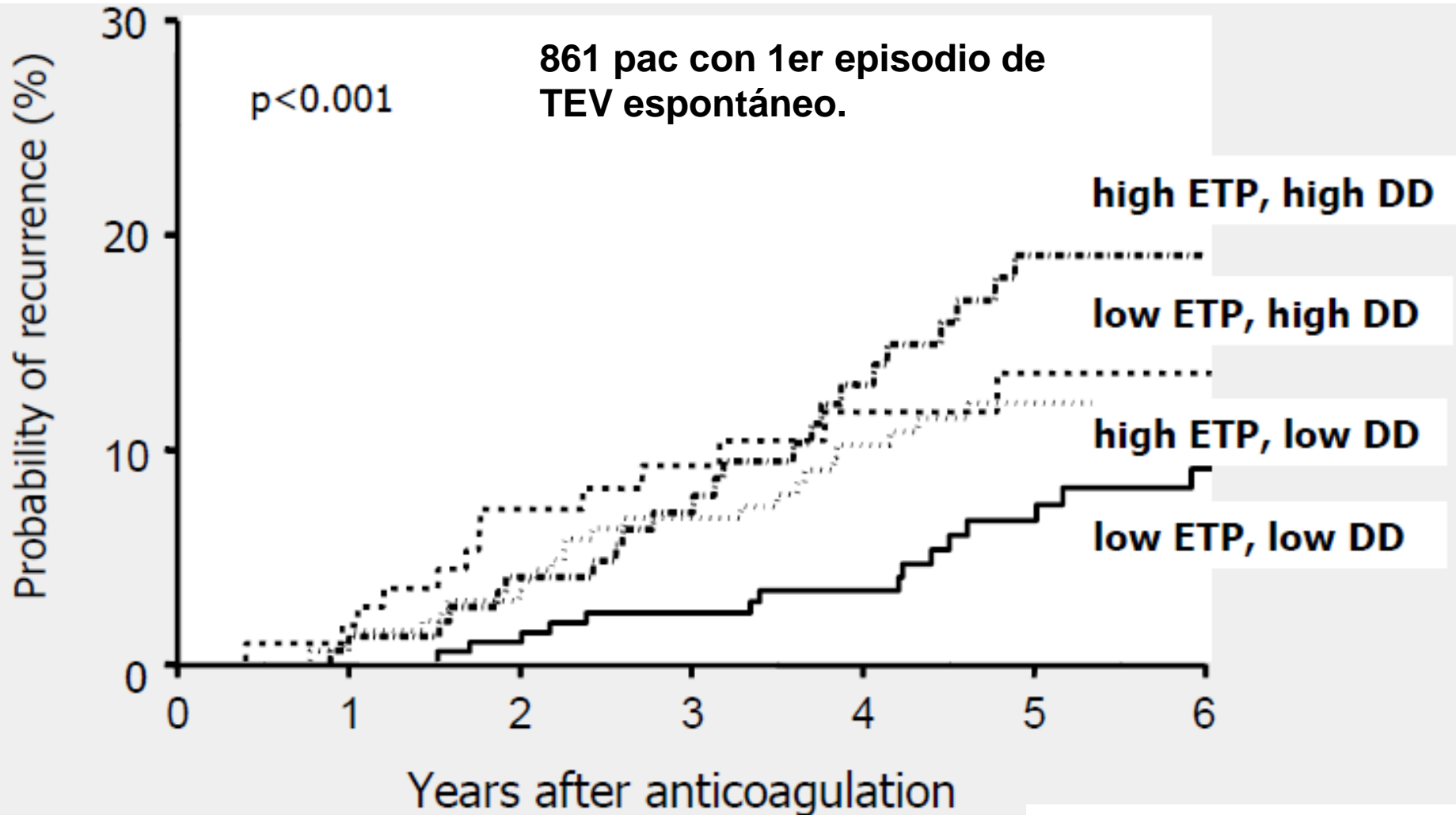
- 914 pac con 1er episodio de TEV espontánea se estudió la relación entre GT y el riesgo de recurrencia. En 100 pac (11%) se observó recurrencia
- Luego de 4 años la probabilidad de recurrencia se redujo a 6.5% en pac con GT < 400 nM comparado con 20% para valores > 400 nM. Sugiriendo que pac con GT < 400 nM probablemente no se beneficiarían de TAO prolongados.

Pac	GT (nM)	P
814	349.2	<0.001
100 (11%)	419.5	

Identification of patients at low risk for recurrent venous thromboembolism by measuring thrombin generation. Hron G et al. JAMA, 2006; 296:397-402.

Potencial Endógeno de Trombina y Dímero D: Riesgo de Recurrencia

Eichinger S et al. Prediction of Recurrent Venous Thromboembolism by endogenous thrombin potential and D-dimer.
Clin Chem 2008; 54: 2042-2048.



Niveles elevados de FVIII y riesgo de recurrencia tromboembólica

- 564 pac: 309 con 1er episodio de TEV idiopática, recurrencia en 39 pac (12.6%) y 255 pac con 1er evento secundario, recurrencia en 14 pac (5.5%)
- En pac con 1er episodio idiopático el riesgo de recurrencia fue 5 veces más alto en pac con FVIII > percentilo 90: FVIII cromogénico: RR 5.43 (95% CI 1.76-16.8) FVIII coag: RR 6.21 (95% CI 1.57-24.5).
- En pac con 1er episodio secundario el riesgo de recurrencia fue ligeramente más alto en pac con niveles elevados de FVIII: FVIII cromogénico: RR 2.62(95% CI 0.34-19.9) FVIII coag: RR 1.74 (95% 0.25-12.1).
- Niveles elevados de FVIII están asociados con aumento del riesgo de recurrencia en pac con 1er evento idiopático.
- No se encontraron diferencias significativas entre los niveles de FVIII medidos por ambos métodos, sugieren el cromogénico para evitar posibles interferencias con el método coagulométrico.

Legnani C et al, High plasma levels of factor VIII and risk of recurrence of venous thromboembolism. Br J Haematol 2004; 124: 504-510.

FVIII

- **Niveles elevados de FVIII como factor de riesgo para TEV en estudios prospectivos y caso-control.**

Tsai AW et al, Coagulation factors, inflammation markers and venous thromboembolism: the longitudinal investigation of thromboembolism etiology (LITE). Am J Med 2002; 113: 636-642.

Koster T et al Role of clotting factor VIII in effect of von Willebrand factor on occurrence of deep-vein thrombosis. Lancet 1995; 345: 152-155.

- **Niveles elevados de FVIII serían factor de riesgo de recurrencia de TEV.**

Kyrle PA et al. High plasma levels of FVIII and the risk of recurrent venous thromboembolism. N Engl J Med 2000; 343: 457-462.

Cosmi B et al, D-dimer and FVIII are independent risk factors for recurrence after anticoagulation withdrawal for a first idiopathic deep vein thrombosis. Thromb Res 2008; 122: 610-617.

FVIII

- El incremento del riesgo no sería lineal, estaría presente si FVIII > 230-250%, el riesgo de recurrencia sería cercano a 30% 2 años después de suspender TAO.
- FVIII reactante de fase aguda
- Relación de nivel de FVIII y grupo sanguíneo (no O niveles mayores que O)
- FVIII podría ser un predictor de riesgo de TEV y de recurrencia, no hay estudios intervencionales diseñados para establecer la relevancia de FVIII en la duración de TAO.

P-Selectina soluble

- **Miembro de flia de Selectinas, moléculas de adhesión celular**
- **Almacenada en gránulos α de las plaquetas y en cuerpos de WP de CE**
- **Activación plaquetaria: P-Sel en superficie y liberada al plasma**
- **Media interacción plq,CE, leucocitos, favorece la formación de fibrina y el crecimiento del trombo.**
- **Concentraciones elevadas de sP-Sel se han observado en enfermedad cardíaca isquémica, aterosclerosis, stroke, TEV.**

sP-Selectina como marcador de recurrencia en TEV

- Estudio prospectivo en 544 pac con 1er episodio de TEV idiopático, se evaluó sP-Sel (ELISA) al terminar TAO.
- Se observó recurrencia en 63 pac (12%): sP-Sel 45.8 ng/dl vs 40.1 ng/dl ($p=0.006$). A los 4 años la recurrencia fue del 20% en pac con sP-Sel > percentilo 75 y del 10% en pac con niveles bajos.

Kyrle PA et al. Circulating P-Selectin and the Risk of Recurrent Venous Thromboembolism. *Thromb Haemost* 2007; 97 (6): 880-883.

Nivel de sP-Selectina y genotipo

- 116 pac con TEV recurrente y 1 episodio de TVP o TEP idiopático y 129 controles normales comparables en edad y sexo.
- Se determinó sP-Sel (ELISA) y la variante Thr715Pro de P-Sel 2.55 años después del evento.
- sP-Sel en pac > controles 47.3 µg/l vs 36.8 µg/l $p < 0.001$.
- Thr715Pro fue más prevalente entre los controles que en los paciente: 21.7% vs 14.7%. Niveles de sP-Sel fueron menores que en los no portadores del genotipo.
- Niveles elevados de s-PSel están asociados con TEV y el genotipo.

Citoquinas Proinflamatorias

- Edad avanzada, obesidad, embarazo, cáncer, cirugía: factores de riesgo para TEV , elevación de marcadores de inflamación CPR, IL 1 β , 6, 8, 10, TNF
- En 2 importantes estudios prospectivos:
 - Ridker PM et al, Inflammation, Aspirin and the Risk of Cardiovascular Disease in Apparently Healthy Men, N Engl J Med 1997; 336: 973-979**
 - Tsai AW et al, Coagulation Factors, Inflammation Markers and Venous Thromboembolism: The Longitudinal Investigation of Thromboembolism Etiology (LITE). Am J Med 2002; 113: 636-642**
- No se encontró aumento de riesgo de recurrencia relacionado a aumento de citoquinas proinflamatorias
- Aumento de citoquinas proinflamatorias no serían marcadores de recurrencia.

CONCLUSIONES

- **Varios biomarcadores han sido evaluados en cuanto a su utilidad para prevenir, ya sea primario o TEV recurrente, pero los resultados todavía no son concluyentes.**
- **Se dispone de más estudios sobre DD como marcador de riesgo de recurrencia de TEV.**
- **Casos individuales la decisión de la duración de TAO es tomada evaluando el riesgo/beneficio, biomarcadores de riesgo de recurrencia con probado valor predictivo pueden ayudar a la toma de decisión.**

Gracias por su atención