



Evaluación de Biomarcadores Endoteliales en Pacientes con Enfermedad Tromboembólica

Tesis de Maestría PRO.IN.BIO

Dra Sabrina Ranero Ferrari

Director Académico: Prof. Agda. Dra Sofia Grille

Tutor de la Especialidad: Prof. Dra Cecilia Guillermo

Laboratorio de Citometría y Biología Molecular “Roberto Caldeyro Barcia” Hospital de Clínicas, Montevideo

Unidad Académica de Hematología, Hospital de Clínicas, Montevideo



Agradecimientos

A mi familia, Diego, Juana y Julieta

Mama, papa y mis hermanos

Muchas Gracias

A mis tutores, Sofia y Cecilia , pilar fundamental en mi formacion

A mis compañeros de la Unidad Academica de Hematologia

Al departamento Basico de Medicina

COMUNICACIONES Y PUBLICACIONES DERIVADAS DE ESTA TESIS

- S. *Ranero*, G. *Silveira*, N. *Trias*, A. *Brugnini*, I. *Rodriguez*, L. *Díaz*, C. *Guillermo*, S. *Grille*. Circulating progenitor and mature endothelial cells in patients with venous thromboembolic disease. 64th Annual Scientific and Standardization Committee (SSC) Meeting. International Society of Thrombosis and Haemostasis Dublin 2018.
- S. *Ranero*, G. *Silveira*, N. *Trias*, A. *Brugnini*, B. de Leon, D. *Lens*, C. *Guillermo*, S. *Grille*. Endothelium-biomarkers for post-thrombotic syndrome: a case-control study. 25th Congress of European Hematology Association. 2020
- *Ranero S*, *Silveira G*, *Trias N*, *Brugnini A*, de Leon B, *Lens D*, *Guillermo C*, *Grille S*. Biomarcadores endoteliales en síndrome postrombótico: estudio de casos y controles. Semana Académica Hospital de Clinicas 2020
- *Perdomo S*, *Brugnini A*, *Trias N*, *Menyou A*, *Silveira G*, *Ranero S*, *Lens D*, *Díaz L*, *Grille S*. Mobilized and apheresis-collected endothelial progenitor cells with plerixafor. *J Clin Apher.* 2022. Jun;37(3):245-252.
- *Sabrina Ranero*, *Sofia Grille*, *Gonzalo Silvera*. Marcadores endoteliales en síndrome post-trombótico: estudio de casos y controles. XXVIII Congreso del Grupo CLAHT. Octubre 2023. Guadalajara. México
- *Ranero S*, *Silveira G*, *Trias N*, *Brugnini A*, *Lens D*, *Guillermo C*, *Grille S*. Endothelium-biomarkers for postthrombotic syndrome: a case-control study. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2023 Apr 1;34(3):144-151.

Tabla de contenido

CAPÍTULO 1.- INTRODUCCIÓN	11
1.1.1 Enfermedad tromboembólica venosa - Un problema Mundial - Epidemiología	11
1.1.2 Clínica y diagnóstico.....	12
1.1.3 Manejo actual de la TEV.....	16
1.1.4 Complicaciones de la TEV	23
1.1.5 Complicaciones de la TEV: SPT.....	24
1.1.6 Complicaciones de la TEV: RECURRENCIA	32
1.1.7 Patogenia y Factores de riesgo de la TEV.....	32
1.1.8 Factores de Riesgo	33
1.2 Rol del endotelio en TEV.....	35
1.3 Células Progenitoras Endoteliales y células circulantes endoteliales.....	38
1.3.1 Definición y caracterización.....	38
1.3.2 Funciones y propiedades de las CPE y CEC	40
1.3.3 Movilización y Homing de las CPE	42
1.3.4 Estudios clínicos de CPE , CEC	43
1.3.5 Biomarcadores Solubles endoteliales y su papel en la TEV	52
CAPÍTULO 2.- Identificación del problema, hipótesis y objetivos	49
CAPÍTULO 3.- Materiales y métodos	51
CAPÍTULO 4.- Marcadores	56
endoteliales en TEV.....	56
CAPÍTULO 5.- Marcadores endoteliales en Síndrome Post-Trombótico	62
CAPÍTULO 6.- Marcadores endoteliales en recurrencia TEV	69
CAPÍTULO 7.- Conclusiones finales	75
CAPÍTULO 8.- Referencias.....	78

Tablas

Tabla 1. Incidencia de TEV según país (/100.000 personas/año)	12
Tabla 2. Modelo Clínico de Wells	14
Tabla 3. Factores de riesgo establecidos para desarrollar un primer VTE estratificados según la magnitud del aumento del riesgo	21
Tabla 4. Síntomas y signos de SPT.....	26
Tabla 5. Score de Villalta para severidad de SPT.....	26
Tabla 6. Factores de riesgo para enfermedad tromboembólica venosa	34
Tabla 7. Panel de citometría de flujo	54
Tabla 8. Características clínicas y demográficas.....	57
Tabla 9. Marcadores endoteliales en paciente y controles.....	58
Tabla 10. Características demográficas y clínicas de pacientes con y sin SPT.....	63
Tabla 11. Biomarcadores endoteliales en pacientes con y sin SPT	64
Tabla 12. Características clínicas y demográficas según recurrencia.....	70
Tabla 13. Marcadores endoteliales en pacientes con y sin recurrencia	72

Figuras

Figura 1. Fases de tratamiento TEV.....	21
Figura 2. Representación de la patogenia de la Trombosis Venosa	37
Figura 3. Estrategia de Gating de CPE y CEC	53
Figura 4. Curvas de calibración con estándares de citoquinas	54
Figura 5. Poblaciones celulares absolutas en pacientes y controles	59
Figura 6. Niveles de CPE, CEC y Fractalkina en pacientes con y sin SPT y controles. Correlación con Score de Villalta	65
Figura 7. Niveles de Células progenitoras y EPC en controles y pacientes con y sin recurrencia de TEV.....	71

Abreviaturas

ACO: Anticonceptivos Orales

CBA: Cytometric Bead Array

CD: Cluster of Differentiation

CEC: Células Endoteliales Circulantes

CPE: Células Progenitoras Endoteliales

DOAC: Anticoagulantes Orales Directos

D-dímero: Producto de degradación de la fibrina

EDTA: Ácido Etilendiaminotetraacético

EP: Embolia Pulmonar

ESVS: European Society for Vascular Surgery

FIV: Fertilización In Vitro

HR: Hazard Ratio

HBPM: Heparina de Bajo Peso Molecular

HNF: Heparina No Fraccionada

ICAM-1: Molécula de Adhesión Intercelular 1

IVC: Insuficiencia Venosa Crónica

KDR: Kinase Insert Domain Receptor

OR: Odds Ratio

PCDT: Trombólisis Farmacomecánica Dirigida por Catéter

POCUS: Ultrasonido en el Punto de Atención

RIQ: Rango Intercuartil

SAF: Síndrome Antifosfolípido

SP: Sangre Periférica

SPT: Síndrome Postrombótico

TAC: Tomografía Axial Computarizada

TEP: Tromboembolismo Pulmonar

TEV: Enfermedad Tromboembólica Venosa

TIC: Tomografía por Imágenes de Corte

TTR: Tiempo en rango terapéutico

TVP: Trombosis Venosa Profunda

UACDT: Trombólisis Dirigida por Catéter Acelerada por Ultrasonido

VEGF: Factor de Crecimiento Endotelial Vascular

VKA: Antagonistas de la Vitamina K

VS: Villalta Score

WBC: Recuento de Glóbulos Blancos (White Blood Cells)

Resumen

Este estudio explora el papel de biomarcadores endoteliales en la trombosis venosa profunda (TVP), el síndrome postrombótico (SPT) y la recurrencia de tromboembolia venosa (TEV), comparando los niveles de células progenitoras, células progenitoras endoteliales (CPE), células endoteliales circulantes (CEC) y otros biomarcadores solubles en pacientes con antecedentes de TVP y controles sanos.

Se incluyeron 32 pacientes con TVP crónica y 61 controles. Mediante citometría de flujo, se evaluaron los niveles de células progenitoras, CPE y CEC, así como marcadores endoteliales solubles como ICAM-1, VEGF, fractalkina y P-selectina, con el objetivo de determinar su relación con el daño endotelial en la fase crónica de la TVP.

Los resultados mostraron que los pacientes con TVP presentaron niveles significativamente más bajos de CPE y CEC en comparación con los controles sanos. La disminución de estos niveles podría reflejar una capacidad reducida de regeneración endotelial y una reparación vascular inadecuada en el contexto de la TVP crónica. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en los niveles de biomarcadores endoteliales solubles entre pacientes con TVP y los controles, lo cual sugiere que estos marcadores pueden ser más sensibles a la inflamación aguda que al daño endotelial crónico.

En el análisis de pacientes con SPT, se identificó una asociación significativa entre la recurrencia de TVP y el desarrollo de SPT. Se observó que el 87.5% de los pacientes con TVP recurrente presentaban SPT, en comparación con el 40% de aquellos sin recurrencia. Además, se detectaron niveles elevados de CPE y CEC en los pacientes con SPT y recurrencia, lo que podría indicar un estado de activación endotelial persistente en respuesta al daño crónico. La fractalkina también se encontró aumentada en pacientes con SPT moderado y severo, y mostró una correlación positiva con la gravedad del SPT, sugiriendo que este biomarcador podría ser útil en la evaluación del SPT y potencialmente en su tratamiento.

En contraste, otros biomarcadores solubles como ICAM-1, VEGF y P-selectina no mostraron diferencias significativas entre pacientes con y sin SPT, indicando que su relevancia clínica podría estar limitada a la fase aguda de la TVP. Estos hallazgos sugieren que las CPE y CEC podrían desempeñar un papel relevante en la reparación vascular en pacientes con SPT y que la fractalkina podría ser un marcador del estado inflamatorio crónico en esta condición.

Con base en estos hallazgos, este estudio propone que las CPE y CEC, junto con la fractalkina, podrían ser consideradas como posibles biomarcadores clínicos para el manejo y monitoreo de la TVP y el SPT. A futuro, estudios prospectivos más amplios serán necesarios para confirmar estas asociaciones y evaluar la utilidad de estos biomarcadores en la práctica clínica, potencialmente orientando nuevas estrategias terapéuticas enfocadas en la regeneración endotelial y la reducción de complicaciones a largo plazo en pacientes con alto riesgo de TEV recurrente y SPT.

Palabras claves: Trombosis venosa profunda, Síndrome postrombótico, Células progenitoras endoteliales, Células endoteliales circulantes, Fractalkina.

CAPÍTULO 1.- INTRODUCCIÓN

1.1.1 Enfermedad tromboembólica venosa - Un problema mundial - Epidemiología

La trombosis venosa profunda (TVP) y la embolia pulmonar (EP), denominadas en su conjunto como enfermedad tromboembólica venosa (TEV), son un importante problema de salud pública.

La TVP, definida como la obstrucción de un vaso en el sistema venoso profundo, puede manifestarse en cualquier nivel de este sistema. Aunque en aproximadamente el 90-95% de los casos se presenta en los miembros inferiores, también puede afectar los miembros superiores, constituyendo entre el 1 y el 4% del total de casos. (1) Además, existen localizaciones menos comunes, como las venas hepáticas, renales, mesentéricas o las cavidades cardíacas derechas, que representan el porcentaje restante de los casos. (1) La EP constituye la complicación más grave y frecuente de la TEV, ocasionada por la migración del trombo desde los miembros inferiores, generalmente, hacia la circulación pulmonar, condicionando la oclusión parcial o total de arterias pulmonares, con el consiguiente cese de perfusión hacia el parénquima pulmonar distal al área afecta. En 1999, Girard et al.

(1) demostraron que hasta en un 82% de pacientes diagnosticados de EP sintomática existía TVP concomitante. De igual forma, Monreal et al. (2) detectaron en 2001 que hasta un 50% de los pacientes con TVP sintomática, presentaban EP asociada, la mayoría de ellas silente.

En Europa, la mortalidad por TEV se calcula alrededor de 500.000/año. (3) En España, la EP es la tercera causa de muerte vascular después del infarto agudo de miocardio y el ictus. (4)

En los últimos años, se ha observado un incremento significativo en las tasas de incidencia de TEV a nivel mundial. (5) A pesar de este aumento generalizado, la proporción de TEV asociado al cáncer en comparación con otras causas de origen no oncológico parece mantenerse relativamente constante. (6) Este fenómeno señala la creciente relevancia de esta patología, la cual conlleva considerables gastos anuales relacionados con hospitalización, así como costos prevenibles e

indirectos asociados al TEV, estimados en aproximadamente 8.500 millones de euros en la Unión Europea. (7) Estos costos representan una carga significativa para los sistemas de salud y se proyecta que aumentarán en los próximos años.

La hospitalización ha demostrado ser uno de los mayores factores de riesgo para desarrollar TEV, ya que se ha visto que la población internada tiene 100 veces más probabilidades de sufrir el evento comparado con la población ambulatoria. Se ha reportado que un 60% de los casos de TEV ocurre durante la hospitalización, lo que convierte a esta enfermedad en la principal causa evitable de muerte en hospitales. Además, las repercusiones de la hospitalización influyen incluso después del alta, reportándose una proporción significativa de casos que desarrollaron el evento dentro de los primeros 3 meses luego de la internación. Se ha estimado una incidencia de 2.39 eventos de TEV asociada a hospitalización cada 1000 pacientes en Estados Unidos, y una incidencia de 4.5 cada 1000 pacientes en Australia. A su vez, un estudio de cohorte publicado en 2017 en el Reino Unido estimó una incidencia de 1.42 eventos asociados a hospitalización cada 1000 pacientes en un centro hospitalario, resultando en una prevalencia mucho menor de la patología en comparación con los otros dos países mencionados (8-9) En Uruguay, Ces et al.

(10) llevaron a cabo un estudio observacional en el Hospital de Clínicas, en el cual incluyeron a 3036 pacientes hospitalizados entre junio y septiembre de 2018. Los resultados mostraron una incidencia de TEV de 1,9 casos por cada 1000 pacientes hospitalizados.

TABLA 1. INCIDENCIA DE TEV SEGÚN PAÍS (100.000 PERSONAS/AÑO)

País	Incidencia de TEV	Incidencia de TVP	Incidencia de EP
Noruega	1.43	0.93	0.50
Italia	-	-	0.41-0.55
Francia	1.84	1.19	0.64
España	1.54	-	0.33
Alemania	1.4-3.2	1.1-2.9	0.8-1.6
Reino Unido	0.75-1.31	0.4	0.34
Dinamarca	1.15	0.65	0.51
USA	1.17	0.48	0.69
Canadá	1.22-1.38	0.78	0.45
Australia	0.83	0.52	0.31
Taiwan	0.16	-	-
Hong Kong	0.08	0.17	0.04
Korea	0.14	0.05	0.07
Argentina	1.65	1.3	0.69

*Modificado de Pastori et al. (11)

TEV : Trombo embolismo venoso; TVP: trombosis venosa profunda ; EP: Embolia pulmonar

1.1.2 Clínica y diagnóstico

La TEV puede presentarse de diversas formas, siendo las formas más importantes y frecuentes de manifestación clínica la TVP y el EP. Así, dentro de la trombosis venosa se encuentra la trombosis venosa superficial (TVS) y TVP según su localización.

Las TVP se localizan mayoritariamente en las extremidades inferiores y suelen tener su origen a nivel sóleo, la denominada TVP distal. En el caso de afectación de venas femorales, ilíacas o pélvicas se denomina TVP proximal. La mayoría de las TVP proximales tienen su origen en trombos originados en venas distales. Así lo evidenciaron en el estudio de Cogo et al. (12), en el que revisaron una serie de casos con TVP sintomática (n=189) en el cual los casos con TVP proximal (89%) presentaban también un trombo distal en un 99% de los pacientes.

La sintomatología de la TVP depende de varios factores como la extensión de la trombosis, la formación de vasos colaterales, la severidad de la oclusión vascular asociada, la inflamación y la capacidad del paciente en tolerar los cambios hemodinámicos. Las TVP pueden ser agudas o crónicas y pueden o no presentar complicaciones. La TVP distal aislada de forma poco habitual causa sintomatología en las piernas (sólo un 11% dan clínica) y presenta una baja incidencia de EP clínicamente relevante. (12) Hasta un 50% de las TVP distales pueden resolverse de forma espontánea a las 72 horas mientras que un 15-30% de los casos se extiende a las venas proximales. (13) La TVP proximal suele ir asociada a sintomatología en las piernas en un 80% de los casos. La TVP proximal tiene mayor incidencia de EP, aun así, existe una elevada proporción de casos de EP que no presentan sintomatología clínica respiratoria y pueden pasar inadvertidos. (13)

El diagnóstico de TVP requiere de un elevado índice de sospecha debido a que los síntomas y signos que presentan pueden ser muy inespecíficos. Los síntomas y signos de la TVP son: dolor, edema y empastamiento de la extremidad afectada, aumento de temperatura local, cambios en la coloración cutánea como eritema y cianosis, circulación colateral, cordón venoso palpable y signo de Homans. (13)

Los pacientes con EP no presentan sintomatología clínica en una elevada proporción de casos. Se ha evidenciado que entre un 40-50% de los pacientes con TVP a nivel de miembros inferiores presentan perfusión pulmonar deficiente diagnosticada por técnica de Tomografía Axial Computarizada (TAC). (14) En la EP los síntomas generales como la disnea (85%), el dolor torácico (80%) o signos como la taquipnea (85%), la tos (50%), la hemoptisis (30%) o el síncope (10%) son los más frecuentes, pero debido a que son también comunes a numerosas enfermedades tienen una sensibilidad y especificidad muy bajas (menor al 30%). (15-16)

El diagnóstico de la TEV y, dentro de ella, de la EP, es uno de los retos más difíciles para los clínicos que se enfrentan a esta patología, por la falta de sensibilidad (25%) y de especificidad (33%) de los signos y los síntomas. En el 20% de los casos, el primer síntoma es la muerte súbita debido a una EP. El 70% de los pacientes que experimentan una EP masiva fallecen dentro de los primeros 60 minutos. Por ello, las pruebas complementarias urgentes son de gran relevancia para confirmar o descartar la sospecha clínica e iniciar el tratamiento adecuado. El diagnóstico clínico de la TVP (dolor, edema, calor, cianosis, eritema, circulación colateral, cordón venoso palpable, Homans) sólo se confirma en un 25-30% de los casos en que se sospecha. Dado que las manifestaciones clínicas, por su baja sensibilidad y especificidad, son de poca utilidad en el diagnóstico, esta patología no debe ser afirmada ni excluida basándose sólo en la presentación clínica. Sin embargo,

mediante la anamnesis disponemos de otros datos (factores de riesgo, antecedentes, etc.) que añadidos a determinados hallazgos clínicos permitieron desarrollar modelos de predicción que estimen la probabilidad pre-test de padecer TVP. En esta idea se basa el modelo clínico de Wells et al. (17) para determinar la probabilidad de TVP (tabla 2). Este modelo validado permite desarrollar una estrategia diagnóstica y terapéutica segura y fiable sobre todo al combinarlo con pruebas complementarias no invasivas.

TABLA 2. MODELO CLINICO DE WELLS

Características clínicas	Puntos
Cáncer activo	1
Parálisis o inmovilización reciente de miembros inferiores	1
Estancia en cama reciente >3días o cirugía mayor en el último mes	1
Hipersensibilidad localizada a lo largo de la distribución de las venas del sistema venoso profundo	1
Edema en todo el miembro afectado	1
Aumento del volumen de la extremidad afectada >3cm	1
Edema con eritema	1
Venas superficiales colaterales (no varicosas)	1
TVP previa	1
Diagnóstico alternativo tan probable o más que la TVP	-2

* Tomado de Wells et al. (17)

** Probabilidad alta >3 puntos: 75% posibilidad de TVP. Probabilidad intermedia 1-2 puntos: 17% posibilidad de TVP. Probabilidad baja 0 puntos: 3% TVP.

El diagnóstico de EP combina la sospecha clínica, los resultados del dímero D y las pruebas de imagen. Seguir los algoritmos diagnósticos mejora el pronóstico de los pacientes evaluados por EP. Se proponen diferentes algoritmos para pacientes estables e inestables hemodinámicamente. En cualquier caso, el tratamiento anticoagulante debe iniciarse de manera temprana en pacientes con sospecha clínica intermedia o alta, sin demoras debido al proceso diagnóstico. (18)

Para el diagnóstico se utilizan diferentes pruebas complementarias:

1. Dímero-D: El dímero-D es un producto de degradación de la fibrina, obtenida de muestras sanguíneas mediante la técnica ELISA, que se detecta en la fase aguda de la TVP. Entre los marcadores de los fenómenos de coagulación/fibrinólisis, el dímero D es el único que revela fiablemente la presencia de fibrina. Los niveles elevados de dímero-D indican un exceso de fibrinólisis, después de una activación de la coagulación. Una concentración de dímero D inferior a un umbral determinado permite excluir la presencia de una TVO o una EP en pacientes no hospitalizados con sospecha de TVP/EP. Tiene una sensibilidad y un valor predictivo negativo elevados, con lo que un resultado negativo puede ayudar a excluir el diagnóstico de TVP. El dímero-D puede producirse en otras muchas enfermedades, como infecciones, neoplasias, insuficiencia cardíaca y renal, infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, coagulación intravascular diseminada, entre otras; es por ello, que la prueba del dímero-D tiene una baja especificidad para el diagnóstico de la TVP. (19-20)

2. Eco-doppler venoso: Con esta técnica es posible identificar el trombo endoluminal completo, así como defectos intraluminales no oclusivos o debidos a una compresión extrínseca. Tiene la ventaja potencial de poder visualizar las venas más distales. El criterio de anormalidad se establece ante la ausencia de color y al detectarse defectos lineales intraluminales. La sensibilidad en TVP sintomática proximal es del 97%, mientras que la especificidad es del 97%. Si la TVP es distal, la sensibilidad es del 75%. A su vez, la ultrasonografía Doppler color es la técnica de elección en pacientes en los que, por sus antecedentes personales, se sospecha una TVP sin síntomas. (19)
3. Ultrasonido en point of care (POCUS): es una modalidad de imagen que se ha convertido en una parte fundamental del cuidado clínico proporcionado en el departamento de emergencias. En un metanálisis, que incluyó 81 estudios (74 que evaluaron la aplicación diagnóstica de POCUS y siete que evaluaron el uso de POCUS en la guía de procedimientos clínicos) se observó que el POCUS de dos puntos tiene una sensibilidad y especificidad de 89% y 96% respectivamente, mientras que el POCUS de tres puntos tiene sensibilidad de 87% y especificidad de 92% en el diagnóstico de trombosis venosa profunda. (21)
4. Flebografía: Se realiza mediante la inyección de un medio de contraste en el sistema venoso que permite la visualización directa de los defectos de repleción y la extensión del proceso trombótico. Es muy sensible y específica. Sigue siendo el gold-estándar a pesar de que en la actualidad no se utiliza de forma rutinaria. Su poco uso es debido a que se trata de una prueba cruenta no exenta de complicaciones y que precisa de una infraestructura hospitalaria más compleja para su realización
5. Radiografía tórax: La radiografía de tórax es una exploración imprescindible en pacientes con síntomas cardiopulmonares. Alrededor de un 76% de los pacientes con EP tienen alteraciones en la radiografía de tórax, aunque, en la mayoría de casos, estas sean poco específicas. Los hallazgos más habituales son la cardiomegalia, el derrame pleural, la elevación del hemidiafragma, atelectasias y el infiltrado pulmonar.
6. Electrocardiograma: Se encuentra alterado en el 70-80% de los casos de EP.
7. Gammagrafía de ventilación-perfusión: Durante varias décadas, la gammagrafía de ventilación-perfusión (V/Q) pulmonar ha sido la prueba que ha vertebrado la estrategia diagnóstica de los pacientes con sospecha de EP. Hoy en día, ha sido reemplazada por la angio-TC multidetector como prueba diagnóstica de elección. Se suele reservar para pacientes con alergia a contrastes yodados o para algunos casos con insuficiencia renal. Mediante la gammagrafía sólo un 27% de los pacientes que se evalúan por una sospecha clínica de EP tienen una gammagrafía pulmonar concluyente, y la incidencia de EP en pacientes con gammagrafía no concluyente varía entre el 16% y el 66%, según el grado de sospecha clínica. Así, en la mayoría de las ocasiones es necesario realizar exploraciones complementarias adicionales para llegar a un diagnóstico de certeza. (16)
8. Angiografía torácica por tomografía computarizada multidetector: En el momento actual la angio-TC multidetector es la prueba de imagen de elección para el diagnóstico de EP. En una revisión sistemática y metaanálisis que incluyó

a 2.020 pacientes procedentes de 3 estudios, el riesgo tromboembólico de los pacientes no anticoagulados en base a un resultado de angio-TC negativa fue del 1,2% (IC 95%: 0,8-1,8) con un riesgo de TEP fatal del 0,6%. Permite visualizar de forma directa el trombo dentro de un vaso de forma no invasiva y rápida, con una tasa baja de efectos adversos y contraindicaciones. La aparición de TC multicorte de última generación ha permitido la excelente visualización de las arterias pulmonares subsegmentarias. En la revisión sistemática y metaanálisis realizada por Mos et al. (22) la TC multicorte es la técnica que ofrece una mejor relación coste/efectividad en el diagnóstico ante un paciente con sospecha de TEP.

Otras exploraciones: La arteriografía pulmonar, al igual que la flebografía, ha sido hasta hace pocos años la prueba referente para la confirmación diagnóstica del TEP, pero es una prueba invasiva con posibilidad de complicaciones y escasa sensibilidad en la identificación de TEP en ramas subsegmentarias por lo que ha quedado desplazada por el TC. La ecocardiografía transtorácica y la angio-resonancia magnética son otras pruebas que se recomienda no realizar de forma rutinaria, pero que en ciertos casos pueden ayudar en el diagnóstico del TEP.

1.1.3 Manejo actual de la TEV

Actualmente el tratamiento standard de la TEV es con anticoagulación por al menos 3 meses, teniendo que definir en forma individualizada en base a las características clínicas de la TEV y los factores de riesgo de recurrencia la duración de la anticoagulación. El objetivo principal del tratamiento en la fase aguda de la TVP es prevenir el crecimiento del trombo y reducir el riesgo de EP. Con el inicio de la terapia anticoagulante, el riesgo de EP y de trombosis recurrente disminuye francamente. (23) El inicio temprano del tratamiento también reduce la incidencia y severidad del Síndrome post-trombótico (SPT). (24-25)

Con el inicio rápido de acción de los anticoagulantes modernos, muchos pacientes pueden ser tratados de forma ambulatoria, reduciendo la necesidad de admisiones hospitalarias.

Con este abordaje terapéutico (anticoagulación) aproximadamente el 30% de los pacientes con TEV van a presentar un nuevo episodio de TVP/EP (recurrencia) y 30% de los que tuvieron TVP van a desarrollar insuficiencia venosa crónica (IVC) o SPT con el consiguiente impacto en la calidad de vida.

Terapia anticoagulante inicial y de mantenimiento

Después de confirmar el diagnóstico de TVP, se debe iniciar la anticoagulación a dosis terapéuticas sin demora. Es importante distinguir entre la terapia inicial y la de mantenimiento debido a las diferentes aprobaciones de los anticoagulantes individuales. En la fase inicial, que generalmente cubre los primeros 5 a 21 días, se utilizan anticoagulantes parenterales o dosis más altas de anticoagulantes orales para contrarrestar el riesgo excesivo de complicaciones en la fase aguda de la TEV. Posteriormente, se utiliza la dosis terapéutica para la fase de mantenimiento durante al menos 3 a 6 meses, pudiéndose prolongar en casos individuales. Al final de la fase de mantenimiento, se debe decidir si es necesario continuar con la anticoagulación

y, de ser así, en qué dosis, para la prevención eficiente de la recurrencia de la TEV, o si se puede discontinuar la anticoagulación.

Numerosos expertos y algunas guías recomiendan que, para el tratamiento de la TEV, se prefiera un régimen con un anticoagulante oral directo (DOAC) sobre la terapia tradicional con un antagonista de la vitamina K (VKA), siempre que no existan contraindicaciones específicas (por ejemplo, insuficiencia renal grave, síndrome antifosfolípido, embarazo). (18,26-27)

Grandes ensayos controlados aleatorizados (RCT) mostraron la no inferioridad de apixabán, dabigatrán, edoxabán y rivaroxabán en comparación con la terapia tradicional con heparina de bajo peso molecular (HBPM) o fondaparinux seguido de antagonistas de vitamina K (VKA). (28-33) Algunos metaanálisis confirmaron una eficacia comparable en la prevención de recurrencias de TEV para todo el grupo de DOAC y mostraron una reducción significativa del 40% de sangrado mayor en comparación con los VKA. (34-35)

Si se seleccionan apixabán y rivaroxabán para la terapia de mantenimiento, la anticoagulación puede iniciarse directamente por vía oral, administrándose dosis más altas en la fase inicial (Figura 1). Si se pretende la terapia de mantenimiento con dabigatrán, edoxabán o VKA, se requiere un tratamiento inicial con anticoagulantes parenterales, preferiblemente HBPM o fondaparinux. El uso de heparina no fraccionada (HNF) hoy en día se limita casi exclusivamente a pacientes con insuficiencia renal grave, cuando la HBPM, el fondaparinux y la mayoría de los anticoagulantes orales están contraindicados. La HNF también se utiliza cuando se desea un anticoagulante de vida media corta (por ejemplo, paciente hemodinámicamente inestable, mayor riesgo de sangrado). (18,26-27)

Revascularización Endovenosa o Quirúrgica

La *phlegmasia cerulea dolens* es una emergencia vascular extremadamente rara, caracterizada por una trombosis masiva que ocasiona una obstrucción completa del flujo venoso en una pierna, lo cual conlleva un alto riesgo de síndrome compartimental, isquemia aguda del miembro y gangrena venosa. En estos casos, es fundamental realizar una recanalización venosa inmediata con el objetivo de preservar el miembro afectado. La elección del procedimiento, sea endovascular o cirugía abierta, debe llevarse a cabo de manera interdisciplinaria y dependerá de la situación clínica general del paciente y de la experiencia del especialista. Según las guías clínicas de la European Society for Vascular Surgery (ESVS), el procedimiento debe adaptarse a cada caso. (36)

La recanalización endovascular en casos de TVP aguda puede considerarse en pacientes con trombosis proximal, especialmente si afecta las venas ilíacas y se presenta con un alto riesgo de desarrollar SPT. Esto aplica particularmente para casos de TVP iliofemoral descendente con síntomas graves de estasis venosa, siempre que los síntomas no persistan por más de 14 días y el riesgo de sangrado sea bajo. Sin embargo, los datos actuales no muestran una reducción significativa en la mortalidad, el riesgo de EP o recurrencia de TEV, ni mejoras en la calidad de vida con este abordaje. (36)

Una revisión Cochrane (37) reciente, que evaluó 19 ensayos con un total de 1,943 pacientes, analizó la eficacia de la trombólisis dirigida por catéter, sola y en combinación con otros procedimientos endovasculares. Los resultados mostraron que el uso de trombolíticos se asocia a una mayor tasa de recanalización completa (RR: 2.42; IC 95%: 1.42-4.12), pero con un incremento en el riesgo de complicaciones hemorrágicas (6.7 % vs. 2.2 %; RR: 2.45; IC 95%: 1.58-3.78). Tras un periodo de observación de 6 meses a 5 años, la diferencia en el desarrollo de SPT entre los grupos fue mínima (49.6 % con tratamiento endovenoso y 52.8 % con solo anticoagulación; RR: 0.78; IC 95%: 0.66-0.93). Al analizar los ensayos clínicos aleatorizados (RCT) más recientes, como CaVenT, ATTRACT y CAVA, no se observaron ventajas significativas de la trombólisis dirigida por catéter en combinación con procedimientos endovasculares en términos de reducción de SPT o ulceración venosa. Las limitaciones en el diseño de estos estudios impiden extraer conclusiones definitivas.

Profilaxis Secundaria después de un episodio de TEV

En los últimos años, todas las guías relevantes han establecido una duración de la anticoagulación de al menos 3 meses para pacientes con TVP de extremidades inferiores y para aquellos con embolia pulmonar (EP). (18,26-27)

Después de 3 a 6 meses, la TVP y/o la EP suelen estar adecuadamente tratadas, por lo que se considera que la fase de terapia inicial y de mantenimiento está completada. En la práctica clínica, la TEV extensa a menudo se trata durante más tiempo (por ejemplo, hasta 12 meses), especialmente si todavía se detecta una alta carga de trombos residuales. (38-39) La decisión de continuar o discontinuar la terapia anticoagulante más allá de la fase de mantenimiento depende en gran medida del riesgo estimado de recurrencia de la TEV. Si se decide una terapia indefinida, también se debe tener en cuenta el riesgo individual de sangrado bajo anticoagulación continua y las preferencias y preocupaciones del paciente.

En cohortes no seleccionadas de TEV, el riesgo acumulado de recurrencia después de la suspensión de la anticoagulación es del 6.3 % a los 3 meses, 8.0 % a los 6 meses, 13 % al año, 23 % a los 5 años y 30 % a los 10 años. (40) Numerosos factores influyen en el riesgo de recurrencia en diversos grados (Tabla 3). Además de los factores de riesgo propios del paciente (edad, sexo), deben considerarse las características del TEV previo (localización, extensión, desencadenante, curso clínico, consecuencias a largo plazo), las enfermedades concomitantes (por ejemplo, malignidad, infección, enfermedad autoinmune) y las co-medicaciones (por ejemplo, estrógenos). Además, pueden existir circunstancias concomitantes que aumentan el riesgo (por ejemplo, obesidad, varices, viajes frecuentes) que por sí solas no justificarían la profilaxis secundaria con medicamentos, pero que deben incluirse en la evaluación global. Si hay varios factores de riesgo presentes, es difícil estimar el posible efecto aditivo, multiplicativo o exponencial sobre el riesgo de recurrencia. Sin embargo, se puede suponer que el riesgo de recurrencia a largo plazo es menor después de un TEV relacionado con un factor de riesgo transitorio que ya no está presente, y mayor en presencia de factores de riesgo persistentes. (18,26-27)

La enfermedad maligna activa es un factor de riesgo fuerte para el TEV y la recurrencia de la TEV. Dado que la aparición de una TEV aguda puede ser causada por una malignidad oculta previamente, se deben revisar y actualizar los exámenes específicos por edad y género para la detección de cáncer, especialmente si la etiología del evento actual de la TEV sigue sin estar clara. Dependiendo de la extensión de los diagnósticos después de la ocurrencia de una TEV, la probabilidad de detectar una malignidad previamente desconocida está entre el 3 % y el 15 %, y es mayor después de una TEV no provocada en comparación con una TEV asociada a riesgos y mayor en personas mayores en comparación con personas más jóvenes. (41-42)

Como fue mencionado otro factor a tener en cuenta es el riesgo de hemorragia mayor. En un metanálisis, la incidencia de hemorragia mayor para la profilaxis secundaria con un régimen de DOAC fue de 1.12 (IC 95%: 0.72-1.62) en comparación con 1.74 (IC 95%: 1.34-2.20) por cada 100 personas-año con VKA. (43) El riesgo de morir por hemorragia mayor fue comparable para VKA y DOAC (tasa de letalidad: 8.3% [IC 95%: 5.1-12.2%] vs. 9.7% [IC 95%: 3.2-19.2%]). Considerando que la profilaxis secundaria eficiente es posible para muchos pacientes con dosis bajas de apixabán o rivaroxabán, la evaluación actual de riesgo-beneficio se inclina considerablemente hacia la profilaxis secundaria basada en anticoagulantes orales directos.

Se han desarrollado puntuaciones de riesgo de hemorragia para pacientes con TEV en anticoagulación, pero han sido poco validadas y no proporcionan una orientación significativa en la práctica clínica diaria. (44-45) Por lo tanto, debido a la falta de estudios de manejo prospectivo para pacientes con TEV, una puntuación alta de riesgo de hemorragia no debe usarse como justificación para negar la anticoagulación a pacientes con TEV aguda, que claramente indica la necesidad de anticoagulación.

Por lo tanto, para la anticoagulación como profilaxis secundaria el factor decisivo principal es la clasificación de los factores de riesgo que contribuyen al TEV inicial, distinguiéndose entre factores fuertes y débiles, así como persistentes y transitorios. Se recomienda continuar la anticoagulación de forma indefinida en casos de alto riesgo de recurrencia (por ejemplo, malignidad activa, SAF, TEV no provocado recurrente), generalmente a la misma dosis recomendada en la fase de mantenimiento. En contraste, la anticoagulación puede detenerse después de al menos 3 meses de terapia si se considera que el riesgo de recurrencia es bajo. Esto es aplicable si el TEV ocurrió en asociación con un desencadenante transitorio fuerte (por ejemplo, cirugía mayor, trauma con fractura, reposo en cama durante 3 días) que ya no está presente o es relevante al final de la fase de terapia.

La toma de decisiones para pacientes con riesgo moderado de recurrencia es difícil, ya que la interrupción y la continuación de la anticoagulación pueden considerarse opciones equivalentes. Este grupo incluye pacientes con TEV no provocado y aquellos en los que el evento inicial ocurrió en asociación con desencadenantes débiles o cuestionables. En estos casos, la continuación de la anticoagulación suele ser razonable, pero el beneficio clínico es menos pronunciado y debe sopesarse contra el riesgo individual de sangrado, teniendo en

cuenta las preferencias del paciente. La continuación de la anticoagulación también debe considerarse si persisten factores de riesgo débiles (por ejemplo, enfermedad inflamatoria intestinal) y si el riesgo de sangrado es bajo. Por otro lado, si el TEV inicial fue desencadenado por un factor de riesgo transitorio débil (por ejemplo, terapia con estrógenos, embarazo, viajes prolongados, lesión en la pierna sin fractura) y no hay factores de riesgo persistentes adicionales, se debe considerar la interrupción de la anticoagulación. (18,26-27)

Cuando se decide continuar la anticoagulación en pacientes con riesgo moderado de recurrencia de TEV, el uso de apixabán a dosis bajas (2.5 mg dos veces al día) o rivaroxabán (10 mg una vez al día) es una opción basada en la evidencia. (33,46)

Los pacientes que tienen una alta carga de trombos residuales después de una TVP proximal, generalmente definida como más del 40 % de obstrucción de la sección transversal de la vena, tienen una tasa de recurrencia más alta que los pacientes con recanalización completa de sus venas trombosadas originalmente. (47-49) Esto es el caso para el 50 al 60% de los pacientes después de una TVP proximal y, según un metanálisis, se asocia con un riesgo 1.3 veces mayor de recurrencia del TEV (IC 95%: 1.06-1.65), lo que convierte a la obstrucción venosa residual (OVR) en un factor de riesgo débil para la recurrencia del TEV. (39)

Sin embargo, los estudios que incorporan la OVR en la decisión sobre la duración de la terapia anticoagulante encontraron que una duración flexible de la terapia de hasta 12 a 24 meses se asoció con un menor riesgo de recurrencia del TEV que una duración fija de la terapia de 3 a 6 meses (HR ajustado 0.64; IC 95%: 0.39-0.99). (50)

También puede ser útil determinar los D-dímeros antes del final planeado de la terapia, para pausar la anticoagulación si los D-dímeros son normales, y repetir la prueba de D-dímeros después de 4 o 12 semanas. (51-52) Los niveles elevados de D-dímeros bajo anticoagulación, así como un aumento en los D-dímeros después de la interrupción de la anticoagulación, indican un mayor riesgo de recurrencia e identifican a los candidatos que se benefician de la continuación o reanudación de la terapia anticoagulante. (53-55)

Sin embargo, es importante recordar que los D-dímeros no son específicos y pueden elevarse en una variedad de situaciones (por ejemplo, infección, inflamación, malignidad, embarazo). Además, los hombres tienen un mayor riesgo de recurrencia que las mujeres. Con base en la evidencia disponible, podría argumentarse que los niveles normales de D-dímeros después de la interrupción de la anticoagulación no predicen un riesgo de recurrencia suficientemente bajo en los hombres. (56) En este sentido, la prueba de D-dímeros puede tener un beneficio adicional en la toma de decisiones, pero no es un parámetro adecuado para basar la decisión sobre la profilaxis secundaria del TEV únicamente en este biomarcador.

Finalmente, los pacientes en los que el evento inicial se manifestó como una EP también pueden ser candidatos para una anticoagulación prolongada, ya que la evidencia indica que la recurrencia del TEV es más probable que se manifieste nuevamente como EP. (57)

Todo lo anteriormente explicado indica que se necesitan nuevos biomarcadores que permitan predecir el riesgo de recurrencia luego de finalizada la fase de tratamiento de mantenimiento.

FIGURA 1. FASES DEL TRATAMIENTO DE LA TEV



HNF:Heparina no fraccionada; HBPM:Heparina de bajo peso molecular; DOACS:Anticoagulantes directos orales; VKA: Antagonistas de vitamina K; SAF: Síndrome anti fosfolipídico; TEV: Tromboembolismo venoso

TABLA 3. FACTORES DE RIESGO ESTABLECIDOS PARA DESARROLLAR UN PRIMER TVE ESTRATIFICADOS SEGÚN LA MAGNITUD DEL AUMENTO DEL RIESGO

Factores de riesgo fuertes (OR≥10)	Factores de riesgo moderados (OR 2-9)	Factores de riesgo débiles (OR <2)
VTE previa	Tratamiento hormonal que contiene estrógenos (p. ej., ACO, TRH, FIV)	Reposo en cama de 3 días
Trauma con fractura de pierna	Tercer trimestre de embarazo	Diabetes mellitus
Reemplazo de cadera o rodilla	Período posparto	Hipertensión arterial

Trauma mayor	Malignidad activa	Inmovilidad debido a estar sentado (p. ej., viajes de larga distancia)
Lesión de la médula espinal	Catéteres venosos centrales y dispositivos	Edad avanzada
Infarto de miocardio (en los últimos 3 meses)	Quimioterapia	Obesidad
Hospitalización por enfermedad cardíaca o fibrilación auricular/flutter (en los últimos 3 meses)	Trastornos autoinmunes	Embarazo en el primer y segundo trimestre
	Enfermedad inflamatoria intestinal	Venas varicosas
	Infección sistémica (p. ej., neumonía, infección del tracto urinario, VIH)	Cirugía laparoscópica (p. ej., colecistectomía)
	Insuficiencia cardíaca o insuficiencia respiratoria	
	Accidente cerebrovascular con parálisis	
	Cirugía artroscópica de rodilla	
	Trombosis venosa superficial	
	Trombofilia hereditaria o adquirida	
	Agentes estimulantes de la eritropoyesis	

ACO: Anticonceptivos orales; TRH: Terapia de remplazo hormonal, FIV:Fertilizacion in-vitro; HIV:Virus de la inmunodeficiencia

TVP Distal Aislada y Trombosis de Venas Musculares Aisladas

Entre el 30 y el 60% de todas las TVP afectan únicamente las venas tibiales y peroneales. (58-59) La trombosis aislada de la vena muscular de la pantorrilla, que involucra las venas de los músculos gastrocnemio y sóleo, debe distinguirse de esto. En comparación con la TVP proximal, el riesgo de EP en la TVP distal aislada es significativamente menor y varía entre 1 al 2 % y 10 al 15 %, dependiendo de si se considera la EP sintomática o asintomática. El SPT clínicamente relevante después de la TVP distal aislada es raro. Recientemente, un metanálisis de Cochrane demostró que el riesgo de recurrencia de TVP después de una TVP distal aislada se reduce en más del 60 % con el uso de anticoagulantes (3.1 % vs. 9.1 %, respectivamente, para pacientes con y sin anticoagulación; RR: 0.34, IC 95%: 0.15- 0.77), mientras que el riesgo de EP fue básicamente bajo (1.0 % vs. 1.2 %, respectivamente, para pacientes con y sin anticoagulación). (60) Para TVP distal confirmada, generalmente se considera suficiente una terapia de 3 meses. Esto también se aplica para la TVP distal recurrente. Si hay un factor de riesgo fuerte y persistente para la recurrencia del TEV (por ejemplo, trombofilia hereditaria grave, síndrome antifosfolípido, malignidad activa), se debe considerar una anticoagulación prolongada por más de 3 meses. (61-62)

Aunque la situación de los datos en los estudios de cohortes disponibles es muy variable, las tasas de complicaciones para la trombosis aislada de venas musculares parecen ser incluso más bajas que para la TVP distal. Sin embargo, si no se tratan, estas pueden crecer hacia el sistema venoso profundo, con tasas de progresión del 8 al 25 % reportadas en la literatura. (63) El grado en que la anticoagulación es beneficiosa para los pacientes con TVP muscular es controvertido. La mayoría de los expertos y las guías sugiere realizar una anticoagulación a corto plazo de 7 a 10 días hasta que los síntomas hayan desaparecido y, en el caso de factores de riesgo persistentes (por ejemplo, inmovilidad prolongada, enfermedad tumoral activa), extender la duración de la terapia a 4 semanas. Si no se utiliza anticoagulación porque se considera cuestionable la relación riesgo-beneficio, se debe realizar una documentación detallada de la extensión de la TVP y ofrecer un seguimiento clínico y sonográfico cercano. En casos de deterioro clínico o progresión de la trombosis en la fecha de seguimiento, se debe iniciar la anticoagulación.

1.1.4 Complicaciones de la TEV

Las complicaciones de la TEV pueden ser graves y variadas, afectando significativamente la calidad de vida y la supervivencia de los pacientes. La EP una de las complicaciones más serias de la TEV, Alrededor del 10-30% de los pacientes con TVP no diagnosticada o no tratada correctamente desarrollarán EP. La EP es responsable de una significativa morbilidad, con tasas de mortalidad que pueden llegar al 30% si no se trata, pero que se reduce a menos del 8% con tratamiento adecuado.

Otra complicación es la IVC o el SPT, que ocurre en algunos pacientes después de una TVP, especialmente en las piernas. Este síndrome incluye síntomas como dolor, hinchazón, cambios en la piel, y úlceras venosas, que pueden deteriorar significativamente la calidad de vida. Afecta aproximadamente al 20-50% de las personas que han tenido TVP en las extremidades inferiores dentro de los dos años posteriores al evento inicial. Otra complicación vinculada a la resolución incompleta del coágulo en las arterias pulmonares es la enfermedad tromboembólica crónica (CTED) e hipertensión pulmonar tromboembólica crónica (CTEPH)]. (64)

Otra de las complicaciones es la recurrencia del episodio trombótico. El riesgo de recurrencia trombótica depende de: a) la eficacia del tratamiento del episodio agudo; b) una duración mínima de tratamiento a largo plazo; c) la posibilidad de que el paciente tenga un factor de riesgo intrínseco para sufrir un nuevo episodio de TEV.

En un meta análisis que incluyó a 2.925 pacientes que habían sufrido un primer episodio de TEV no secundario a cáncer y que habían recibido distintas duraciones de tratamiento, el riesgo de recurrencia aumentó significativamente en aquellos casos con duración del tratamiento fue menor a los 3 meses de tratamiento anticoagulante (HR 1,52; IC 95%: 1,14-2,02). No se objetivaron diferencias en el riesgo de recurrencia entre los que habían realizado 3 meses o 6 meses o más de tratamiento (HR 1,19; IC 95%: 0,86-1,85). Con estas evidencias se acepta que el

tratamiento a largo plazo de paciente con TEV debe tener una duración mínima de 3 meses. (65)

1.1.5 Complicaciones de la TEV: SPT

El SPT es una forma de IVC con diversas manifestaciones clínicas que van desde molestias mínimas hasta dolor crónico. El SPT se reconoce cada vez más como una consecuencia frecuente de la TVP, típicamente aparece dentro de los 2 años posteriores a la TVP y afecta entre el 30 al 50 % de los pacientes. La incidencia del SPT, que típicamente aparece dentro de los 2 años posteriores a la TVP, varía ampliamente, oscilando entre el 20% y el 80%. (66)

Representa una carga económica y de morbilidad importante. Los costos totales del tratamiento asociado al SPT (que incluyen estudios de imágenes, análisis de laboratorio, entre otros) son mucho mayores entre los pacientes con TVP que desarrollan SPT, en comparación con aquellos que no lo padecen. Las encuestas también han mostrado que la calidad de vida relacionada con la salud informada por los pacientes es similar a la de personas que viven con diabetes crónica grave o insuficiencia cardíaca congestiva. (67) Dada esta carga, el diagnóstico temprano y el tratamiento del SPT son esenciales para preservar la calidad de vida relacionada con la salud de los pacientes.

Se cree que el SPT se desarrolla después de la TVP debido a la aparición de hipertensión venosa ambulatoria, lo que conduce a una perfusión reducida del músculo de la pantorrilla y a un aumento de la permeabilidad tisular, provocando edema crónico, hipoxia tisular, disfunción progresiva de la bomba de la pantorrilla, fibrosis subcutánea y, en última instancia, ulceración de la piel. La TVP provoca hipertensión venosa crónica a través de dos mecanismos principales: reflujo valvular y obstrucción venosa residual. Además, la TVP desencadena daño valvular inducido por inflamación en los segmentos involucrados. (68)

Los signos, síntomas y gravedad del SPT varían de un paciente a otro, desde molestias mínimas hasta dolor crónico severo, edema intratable y ulceración de la pierna (Tabla 4). Tienden a empeorar con la actividad y mejorar con el reposo. La intensidad de los síntomas generalmente aumenta a lo largo del día y puede aumentar y disminuir con el tiempo. (66)

Los síntomas del SPT incluyen pesadez en los miembros inferiores, cansancio, hinchazón, picazón, calambres, parestesia y claudicación venosa. Los signos del SPT incluyen manifestaciones dermatológicas, como enrojecimiento, hiperpigmentación y engrosamiento de la piel. (66)

No hay una prueba diagnóstica objetiva para el SPT, que se diagnostica principalmente por criterios clínicos en un paciente con manifestaciones de IVC y un episodio previo de TVP en los tres meses anteriores. Sin embargo, la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia recomienda realizar dos evaluaciones consecutivas utilizando la **escala Villalta**, una escala clínica desarrollada específicamente para el SPT: la primera es suficiente para hacer un diagnóstico, y la segunda evaluación tres meses después mide el grado y la gravedad (Tabla 5).

(69) Otras escalas también utilizadas son las de Brandjes (70) y la escala de Ginsberg (71) que fueron específicamente creadas para evaluar el SPT. Notablemente, la

escala de Villalta incorpora un criterio compuesto que toma en cuenta signos clínicos, síntomas tempranos y complicaciones cutáneas (lipodermatoesclerosis y úlceras activas) que pueden desarrollarse más tarde. Para facilitar la comparabilidad entre estudios clínicos publicados, varios comités de expertos recomiendan el uso de la escala de Villalta para el diagnóstico de SPT. (72) Esta escala ofrece evaluaciones tanto cuantitativas como cualitativas del SPT, sensibilidad a los cambios en la sintomatología a lo largo del tiempo, correlación con alteraciones en la calidad de vida y exhibe una buena concordancia entre observadores. (72-73)

Tampoco existe un límite de tiempo específico recomendado después de la TVP para diagnosticar el SPT. Debido a que pueden pasar unos meses desde el evento agudo y la resolución de los síntomas vinculados a la TVP, el diagnóstico de SPT debe posponerse al menos hasta después de la fase aguda (aproximadamente de 3 a 6 meses) después de la TVP.

Actualmente, no existe un tratamiento efectivo para el SPT, siendo la compresión venosa una medida que solo proporciona un alivio sintomático marginal. Varias técnicas endovasculares destinadas a prevenir la aparición del SPT mediante la restauración de la permeabilidad de la vena trombosada durante la fase aguda están en desarrollo. El desafío en validar la eficacia de estos procedimientos emergentes radica en identificar la población que debe ser tratada, enfocándose así en los pacientes con TVP en riesgo de desarrollar SPT. (74)

TABLA 4. SÍNTOMAS Y SIGNOS DE SPT

Síntomas	Signos
Pesadez o fatiga en las piernas	Edema
Hinchazón	Ectasia venosa
Picazón	Enrojecimiento
Calambres	Hiperpigmentación
Parestesia	Cianosis dependiente
Dolor intenso	Engrosamiento de la piel
Claudicación venosa	Eczema
Patrón de síntomas: peor con la actividad, estar de pie, caminar; mejor con el descanso, estar acostado; máximo al final del día	Atrofia blanca (tejido cicatricial blanco) Lipodermatoesclerosis (fibrosis del tejido subcutáneo) Úlceras

SPT: Síndrome post trombótico

TABLA 5. SCORE DE VILLALTA PARA SEVERIDAD DE SPT

Síntomas	Signos
Dolor	Edema pretibial
Calambres	Induración de la piel
Pesadez	Hiperpigmentación
Parestesia	Enrojecimiento
Prurito	Ectasia venosa Dolor al comprimir la pantorrilla Úlcera venosa

* Cada síntoma es evaluado por paciente y los signos por el médico. 0-Ausente, 1-Leve, 2-Moderado, 3-Severo, excepto las úlceras que son presentes o ausentes. Score ≤ 4 sin PTS, >4 presencia de PTS; 5-9 PTS leve, 10-14 moderado, >14 o presencia de úlceras severo.

Marcadores predictores de SPT

Los factores de riesgo para el SPT no se comprenden completamente en la actualidad, lo que dificulta predecir qué pacientes desarrollarán SPT. Sin embargo, estudios recientes han mejorado nuestra comprensión de la epidemiología, los factores de riesgo y la prevención del SPT, y se han identificado varios factores clínicos y biológicos que influyen en el riesgo.

Factores de riesgo aparentes en el momento del diagnóstico de TVP: El riesgo de SPT es dos o tres veces mayor en pacientes que desarrollan TVP proximal (especialmente con afectación de la vena ilíaca o femoral común), en comparación con aquellos que desarrollan TVP distal. (73,75-77). Kahn et al. (73)

encontraron una asociación significativa entre la TVP femoral común o ilíaca y un mayor puntaje de Villalta con un aumento de 2.23 puntos en comparación con la TVP distal (intervalo de confianza del 95 %, IC 1.29-3.16; $p < 0.001$) dentro de los 2 años posteriores al diagnóstico. Tick et al. (75) mostraron una incidencia significativamente mayor de SPT en pacientes con TVP iliofemoral en comparación con la TVP poplítea (razón de riesgo, RR, 1.3, IC 95 % 1.1-1.6). Dos estudios proporcionaron evidencias de que la TVP iliofemoral es el predictor más confiable del desarrollo de SPT con una razón de probabilidades (OR) de 2.97 utilizando el puntaje de Siddiqui et al. (78) y 3.4 (IC 95 % 1.4-8.6) utilizando la clasificación CEAP. Es importante señalar que algunos estudios no identifican la naturaleza proximal de la TVP como un factor de riesgo para el SPT. (79-82)

La insuficiencia venosa preexistente también aumenta el riesgo de SPT hasta dos veces. La enfermedad venosa crónica preexistente es un factor de confusión reconocido debido a la superposición de síntomas con el SPT. Por lo tanto, a menudo se excluye en estudios que evalúan los predictores del SPT. (79) Varios estudios han coincidido en que la enfermedad venosa crónica preexistente es un riesgo para desarrollar SPT, incluido el desarrollo posterior de úlceras (OR 3.2, IC 95 % 1.7-6.1). Es notable que incluso una enfermedad venosa crónica leve preexistente aumenta el riesgo de desarrollar SPT (OR 1.9, IC 95 % 1.1-3.4). (83)

Otros factores de riesgo incluyen la edad avanzada y la obesidad. El papel de la obesidad como marcador predictivo para el SPT está respaldado por varios estudios. Los pacientes con SPT tienden a tener un índice de masa corporal (IMC) más alto en comparación con aquellos sin SPT. Rattazzi et al. (84) reportaron un IMC más alto ($p = 0.005$) en pacientes con SPT, pero no hubo diferencia en la prevalencia del síndrome metabólico entre pacientes con y sin SPT (20 % vs. 26 %, respectivamente, $p = 0.64$). Kahn et al. (73) encontraron una clara correlación entre el IMC y el desarrollo de SPT con un aumento en el puntaje de Villalta (0.14 puntos por cada 1 kg/m^2 , $p < 0.001$). La obesidad, definida por un $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$, ha sido identificada como un factor de riesgo importante para desarrollar SPT. En varios estudios (83,85), la obesidad sigue siendo el único predictor independiente de SPT (OR 2.6, IC 95 % 1.3-5.0) entre otras variables. Otro estudio también identificó el sobrepeso, definido por un $\text{IMC} \geq 25 \text{ kg/m}^2$, como un factor de riesgo para el SPT.

(86) Se han establecido umbrales específicos de IMC asociados con un riesgo significativamente mayor de SPT, como $\geq 35 \text{ kg/m}^2$ (OR 3.5, IC 95 % 0.9-4.9) y $> 28 \text{ kg/m}^2$ (OR 2.1, IC 95 % 1.0-12.1). (80,87) El papel de la obesidad en el desarrollo del SPT puede explicarse por su impacto en la enfermedad venosa crónica, ya que el exceso de peso aumenta la hipertensión venosa y promueve el reflujo en las venas donde las válvulas ya están dañadas por la trombosis.

Con respecto a la TEV recurrente como factor predictor de SPT es controversial. Mientras que la mayoría de los estudios sobre criterios predictivos para el SPT se centran en pacientes con un primer episodio de TVP, un estudio incluyó pacientes independientemente de su historial de TVP y reveló que la TVP recurrente era un factor de riesgo significativo para el SPT (OR 3.25, IC 95 % 2.03-5.21). (88) El historial de TVP ipsilateral también se asoció con puntajes de Villalta más altos, con un

aumento de 1.78 puntos (IC 95 % 0.69-2.87, $p < 0.001$) en comparación con pacientes sin TVP ipsilateral previa. (73) Varios otros estudios han reportado que las recurrencias de TVP son un factor de riesgo significativo para desarrollar SPT (80-81), independientemente de si la TVP fue provocada o no. Finalmente, el historial de TVP o embolia pulmonar se asoció con úlceras asociadas con SPT.

Factores de riesgo relacionados con el tratamiento de TVP: Actualmente, todas las TVP se manejan con terapia anticoagulante para prevenir la extensión y recurrencia. En un metanálisis publicado en 2020, que incorporó siete estudios comparativos, abarcando 2364 participantes, el uso de rivaroxabán (un inhibidor oral del factor Xa) para tratar la TVP se asoció con un menor riesgo de SPT en comparación con los VKA convencionales (OR no ajustada agrupada 0.53, IC 95 %, 0.43-0.65, $p < 0.00001$). (89) Además, Coleman et al. (90) investigaron a adultos tratados después de un diagnóstico primario de TEV y compararon los resultados entre rivaroxabán ($n = 10,463$) y warfarina ($n = 26,494$) durante un seguimiento de 16 ± 9 meses. Rivaroxabán se asoció con un menor riesgo de SPT en comparación con warfarina (HR 0.77, IC 95 % 0.70-0.84, $p < 0.00001$). Søgaard et al. (91) involucraron a 19,957 pacientes naïve a la anticoagulación oral con TEV incidente tratados con warfarina o rivaroxabán. Aunque no fue estadísticamente significativo, la tasa ponderada por propensión de SPT después de 3 años de seguimiento fue de 0.53 por cada 100 personas-año con rivaroxabán frente a 0.55 por cada 100 personas-año con warfarina (HR 0.88, IC 95 % 0.66-1.17). Esta asociación se mantuvo constante entre diferentes tipos de TEV: TVP vs. EP, TEV provocada vs. no provocada o al censurar a pacientes con TEV recurrente. Una explicación puede ser dada por este estudio retrospectivo realizado en Brasil sobre TVP tratada con warfarina ($n = 26$) o rivaroxabán ($n = 51$). Las tasas de recanalización venosa a los 30, 90 y 180 días fueron más bajas con warfarina en comparación con rivaroxabán, respectivamente 10 %, 52.5 % y 78.9 % frente a 55.3 %, 83.5 % y 92.4 % ($p = 0.041$). (92) En conclusión, los resultados consistentes apoyan la reducción de la incidencia de SPT con rivaroxabán en comparación con warfarina. Es importante señalar que ningún estudio ha evaluado el impacto de apixabán frente a otros anticoagulantes en el SPT.

Un análisis agrupado de ensayos controlados aleatorios informó una menor ocurrencia de SPT (OR 0.8, IC 95 % 0.7-0.9) y una menor incidencia de úlceras venosas (riesgo relativo (RR) 0.1, IC 95 % 0.02-0.7) con una terapia extendida de HBPM en comparación con una terapia de VKA. (93)

Una posible explicación para las diferencias observadas entre VKA y DOAC o HBPM puede estar relacionada con el desafío de mantener un índice internacional normalizado dentro del rango terapéutico. Se encontró que un TTR bajo estaba significativamente asociado con el SPT (78), y dos estudios enfatizaron el impacto de un TTR bajo durante los primeros 3 meses de terapia con VKA. El primer estudio informó que los pacientes con un TTR <50 % tenían un aumento del doble en el SPT, confirmado por el segundo estudio para pacientes con un TTR <80 % (OR 1.83, IC 95 % 1.13-3.01). (85)

Con respecto al uso de medias de compresión elástica, un metanálisis reciente que analizó siete ensayos controlados aleatorios comparando el uso de medias de compresión elástica (MCE) con placebo para reducir la ocurrencia de SPT mostró que el uso de MCE estaba asociado con una reducción estadísticamente significativa en el SPT (RR 0.73, IC 95 % 0.53-1.00, $p = 0.05$). (94)

La eliminación temprana del trombo puede mejorar rápidamente la circulación venosa en la TVP iliofemoral sintomática. También puede prevenir el desarrollo de SPT en este grupo de alto riesgo al eliminar el trombo en una etapa temprana, cuando las técnicas de trombólisis o trombectomía son más efectivas. Las técnicas endovasculares incluyen la trombólisis dirigida por catéter (CDT), donde se administran trombolíticos a través de un catéter de infusión con múltiples orificios colocado en el segmento venoso trombosado, y la trombólisis farmacomecánica dirigida por catéter (PCDT), en la que un dispositivo endovascular macera o extrae el trombo junto con la trombólisis, reduciendo así la dosis y la duración de la trombólisis. Sin embargo, hasta la fecha, los datos sobre el uso de estos métodos son relativamente mixtos, con preguntas importantes aún por aclarar. El estudio CaVenT

(95) aleatorizó a 209 pacientes con TVP iliofemoral a CDT o terapia estándar con anticoagulación sola dentro de los 21 días posteriores al inicio de los síntomas. En el seguimiento a dos años, se encontró un efecto menor de la intervención (tasas de SPT del 41.1 % vs. 55.6 %, $p = 0.047$). Sin embargo, los resultados finales a cinco años de CaVenT (96) demostraron una diferencia más marcada en el grupo de intervención (tasas de SPT del 43 % vs. 71 %, $p = 0.001$). El sangrado mayor en CaVenT ocurrió en el 2.7 % del grupo de CDT frente a ninguno en el grupo de control. El estudio CAVA (97) aleatorizó a 152 pacientes para recibir trombólisis dirigida por catéter acelerada por ultrasonido (UACDT) o terapia estándar en TVP iliofemoral dentro de los 21 días posteriores al inicio de los síntomas. Al año, las tasas de SPT no fueron diferentes para ambos grupos (OR 0.75, IC 95 % 0.38-1.50, $p = 0.42$), aunque el seguimiento final (mediana de 39 meses) demostró tasas de SPT más bajas en el grupo de intervención (46.8 % vs. 69 %, OR 0.40, IC 95 % 0.19-0.84, $p = 0.01$). (98) El sangrado mayor ocurrió en el 5 % del grupo de CDT frente a ninguno en el grupo de control. El estudio ATTRACT (99) aleatorizó a 692 pacientes, incluyendo tanto TVP iliofemoral como femoropoplítea, a varias técnicas de PCDT (incluyendo trombectomía farmacomecánica AngioJet o Trellis) contra terapia estándar. No se encontraron diferencias en las tasas de SPT a los 24 meses; sin embargo, hubo una reducción significativa pero modesta en el SPT moderado a severo como resultado compuesto secundario en el subgrupo de PCDT con TVP iliofemoral aguda. El sangrado mayor ocurrió en el 1.7 % del grupo de PCDT frente al 0.3 % en el grupo de control (RR 6.18, IC 95 % 0.78-49.2, $p = 0.049$). Los datos a largo plazo de ATTRACT no han sido publicados, pero si estuvieran disponibles, podrían proporcionar información adicional. La evidencia actual para la intervención endovascular sigue siendo más fuerte en pacientes con TVP iliofemoral proximal aguda, donde hay potenciales ganancias en la reducción de la incidencia y la severidad del SPT. Sin embargo, la elección entre CDT o PCDT sigue siendo incierta y ATTRACT no ha proporcionado una respuesta satisfactoria en este sentido, particularmente considerando el alto costo de los consumibles asociados con la trombectomía mecánica y el mayor riesgo de sangrado mayor clínicamente significativo en

comparación con la anticoagulación sola. No obstante, esta es un área de investigación importante y activa y tiene el potencial de mejorar significativamente los resultados en un grupo de alto riesgo. Se necesitan ensayos clínicos aleatorizados más específicos que aborden los hallazgos y deficiencias de estudios previos. Esto incluye definir el mejor grupo objetivo para maximizar el beneficio de la intervención, así como diseñar estudios para abordar el momento óptimo de la intervención y el tipo más efectivo de técnica de eliminación de trombo por catéter, así como análisis de costo-beneficio de los dispositivos de nueva generación frente a la CDT sola.

En lo que refiere al tratamiento con fármacos venoactivos, en cuanto a los rutosides, la evidencia actual es limitada y de baja calidad en términos de reducción de los síntomas del SPT. (100) Sobre otro fármaco venoactivo, en un ensayo clínico realizado por Schastlivtsev et al. (101), conocido como el estudio RIDILOTT, los pacientes con su primera TVP femoropoplítea fueron asignados aleatoriamente a diosmina 600 mg una vez al día durante 12 meses además del régimen estándar (incluyendo rivaroxabán durante 6 meses y MCE durante 12 meses) o solo el régimen estándar. La diosmina mostró una ocurrencia significativamente menor de SPT a los 12 meses (8.9 % vs. 48.9 %, RR 0.14, IC 95 % 0.04-0.43, $p < 0.001$). Lobastov et al. (102)

incluyeron a pacientes con su primer episodio de TVP femoropoplítea confirmada por ecografía dúplex en un estudio abierto con evaluación de resultados cegada. Sesenta participantes fueron asignados aleatoriamente a una fracción de flavonoides micronizados purificados (FFMP) 1000 mg por día además del régimen estándar (incluyendo rivaroxabán) o solo el régimen estándar. La FFMP mostró una ocurrencia de SPT significativamente menor a los 6 meses (20 % vs. 57 %, $p = 0.007$) y un puntaje de Villalta más bajo (2.9 ± 2.7 vs. 5.8 ± 3.0 , $p < 0.0001$). Notablemente, se observó una tasa de recanalización más rápida de la vena femoral ($p < 0.0001$), mientras que se observaron tendencias no significativas para la vena femoral común ($p = 0.130$) y la vena poplítea ($p = 0.204$) en el grupo de FFMP en comparación con el grupo de control.

Otros fármacos estudiados han sido las estatinas, estas son terapias efectivas para reducir lípidos con efectos pleiotrópicos y son evaluadas en la prevención de TEV. (103) En un estudio realizado por María San Norberto et al. (104), se incluyeron 234 pacientes con TVP en un estudio abierto. Fueron asignados aleatoriamente a rosuvastatina más HBPM o solo HBPM. Todos los pacientes se sometieron a ecografía dúplex de las extremidades inferiores y biomarcadores al diagnóstico y después de un seguimiento de 3 meses. El análisis final incluyó a 230 pacientes. La rosuvastatina exhibió una ocurrencia de SPT significativamente menor a los 6 meses (38.3 % vs. 48.5 %, $p = 0.019$) y un puntaje de Villalta más bajo (3.45 ± 6.03 vs. 7.79 ± 5.58 , $p = 0.035$). Además, un estudio de Cucuruz et al. (88) que siguió a 579 pacientes después de la TVP encontró que aquellos que tomaban estatinas por otra razón presentaban menos riesgo de desarrollar SPT (OR 0.27, IC 95 % 0.15-0.50, $p = 0.001$).

Factores de riesgo aparentes durante el seguimiento después de una TVP aguda: El papel de la determinación de D-dímero como predictor del SPT es inconcluso. Roberts et al. (105) incluyeron a 122 pacientes consecutivos con un primer episodio de TVP y evaluaron el SPT 6 meses después de retirar la anticoagulación. En esta

cohorte, el nivel basal medio de D-dímero fue significativamente más alto en aquellos que desarrollaron SPT (3260 ng/mL, rango intercuartílico 820-8000 ng/mL) en comparación con aquellos que no lo desarrollaron (1540 ng/mL, IQR 810-2520 ng/mL; $p < 0.001$). Los niveles de D-dímero se midieron con STA®-Liatest® D-Di (Diagnostica Stago, Asnières, Francia), excluyendo resultados obtenidos con cualquier otra técnica y aquellos obtenidos después de que se hubiera iniciado la anticoagulación. Por otro lado, Gabriel et al. (106) incluyeron a 135 pacientes con antecedentes de TVP con un seguimiento de 12 meses. La positividad del nivel basal de D-dímero (kit DG-Ddimer®, Diagnostic Grifols, S.A., Barcelona, España; positividad si los niveles de D-dímero > 260 ng/mL) no difirió entre los grupos con y sin SPT (84.3 % vs. 76.1 %, $p = 0.061$). Se necesita más investigación para determinar el valor pronóstico de los D-dímeros medidos en el diagnóstico de TVP o durante el seguimiento como predictor de SPT. Sin embargo, es importante señalar que el D-dímero no es un biomarcador específico, ya que también puede aumentar en el embarazo, enfermedades inflamatorias y sepsis. (107) Además, los reactivos utilizados en los laboratorios de salud pueden afectar los resultados de los D-dímeros, como lo destacó la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia durante el brote de COVID-19. (108) Los ensayos de D-dímero pueden arrojar resultados diferentes debido a la afinidad variable por los productos de degradación de la fibrina de alto o bajo peso molecular y los derivados de fibrina entrecruzada y no entrecruzada.

Con respecto a los marcadores inflamatorios, es conocido que la inflamación está implicada en la patogénesis del SPT, lo que lleva a respuestas de remodelación y fibrosis en las venas. No obstante, la proteína C-reactiva (PCR) no mostró correlación con el riesgo de desarrollar SPT en los estudios REVERSE y SOX. En el ensayo SOX, destinado a evaluar la eficacia de las medias de compresión elástica (MCE) para la prevención del SPT, los niveles basales de ICAM-1, una proteína transmembrana que facilita la adhesión de los leucocitos a las células endoteliales y su migración al tejido afectado, fueron más altos en pacientes que desarrollaron SPT. En contraste, no se observó ninguna relación entre el SPT y los niveles basales de otros biomarcadores inflamatorios como la interleucina-6 o la interleucina-10. Algunos reactantes de fase aguda en la etapa inicial de la TVP, como las metaloproteinasas (MMP) 1 y MMP-8, mostraron niveles basales más altos en pacientes que desarrollaron SPT, sugiriendo su participación en la alteración de las válvulas venosas y la predisposición a venas varicosas secundarias y úlceras venosas que no cicatrizan. (109-110)

Con respecto a los marcadores endoteliales, pocos estudios han evaluado los marcadores endoteliales en la fase aguda del TEV y su asociación con el SPT. Dos estudios evaluaron los niveles de selectina E soluble (sE-selectina) durante la fase aguda de la TVP y no encontraron asociación con la TVP. (111-112) Sin embargo, su papel en la predicción del SPT sigue sin explorarse. Bittar et al. (113) informaron niveles elevados de E-selectina en pacientes con SPT severo en la evaluación del SPT.

Con respecto al uso de ultrasonido, si bien ha habido una investigación limitada sobre los parámetros de ultrasonido como predictor del SPT, un estudio notable

demonstró que una mayor proporción de pacientes que desarrollaron SPT exhibieron una obstrucción venosa completa en comparación con aquellos que no desarrollaron SPT (53 % vs. 29 %, $p = 0.016$). (78) Además, una carga inicial de coágulos más alta, evaluada utilizando el puntaje de coágulos de Haenan (114), fue identificada como un factor de riesgo para el SPT (115).

1.1.6 Complicaciones de la TEV: RECURRENCIA

Como ya fue mencionado la recurrencia del episodio trombótico es una complicación frecuente de los pacientes que presentaron una TEV. Ya fueron mencionados los factores de riesgo de recurrencia para guiar la duración de la anticoagulación en apartado de tratamiento.

El riesgo de recurrencia de TEV sin anticoagulación es más alto en los primeros uno a dos años y es acumulativo.

1.1.7 Patogenia y Factores de riesgo de la TEV

La comprensión de la TVP ha evolucionado significativamente desde sus primeras descripciones. A pesar de que se menciona en textos antiguos, como el Sushruta Samhita del siglo VI a.C., el conocimiento profundo de su fisiopatología no surgió hasta el siglo XVII, cuando Richard Wiseman propuso la relación entre la trombosis y alteraciones en la circulación sanguínea. Años más tarde, en el siglo XIX, Rudolf Virchow formuló su famosa "tríada de Virchow", identificando tres factores esenciales para el desarrollo de la TVP: estasis venosa, daño endotelial y estado de hipercoagulabilidad. (116)

El flujo sanguíneo venoso en los miembros inferiores depende de la función de las válvulas venosas y de la contracción muscular de la pantorrilla, que impulsa la sangre hacia el corazón. La inmovilización prolongada, al reducir la velocidad del flujo, facilita la coagulación y favorece el contacto de las plaquetas con el endotelio vascular, aumentando el riesgo de formación de trombos. Además, la lesión endotelial, producida por inflamación vascular, traumatismos o cambios degenerativos en los vasos, desencadena la cascada de coagulación. Estos factores combinados son responsables de la formación y progresión de trombos en el sistema venoso profundo. (117-118)

El concepto de "*estado de hipercoagulabilidad*" engloba diversas alteraciones, tanto congénitas como adquiridas, que aumentan la activación de la cascada de coagulación, predisponiendo a eventos trombóticos, tanto de manera permanente como transitoria.

La patogenia de la TVP es multifactorial e involucra diversos mecanismos, como daño endotelial y la participación de leucocitos, eritrocitos y plaquetas. El primer evento en el desarrollo de la TVP a menudo se asocia con una lesión endotelial

provocada por inflamación local o sistémica y/o hipoxemia. En condiciones normales, el endotelio intacto expresa trombosmodulina, el receptor de proteína C endotelial, el inhibidor de la vía del factor tisular y proteoglicanos similares a la heparina, los cuales ejercen un efecto anticoagulante. (119) Además, la ectonucleotidasa CD39/NTPDase1, el óxido nítrico (NO) y la prostaciclina favorecen la vasodilatación e inhiben la agregación plaquetaria. Sin embargo, una lesión endotelial reduce la regulación de estos mecanismos anticoagulantes y aumenta la expresión de proteínas protrombóticas como el Factor Tisular (TF) y moléculas de adhesión, como P-selectina, E-selectina y el factor de Von Willebrand (vWF). (120- 122)

Las plaquetas y los leucocitos se unen al vWF y a las selectinas P y E, lo que induce a los leucocitos a expresar TF y activar la cascada de coagulación. Los neutrófilos polimorfonucleares liberan trampas extracelulares de neutrófilos (NETs), compuestas por ADN extracelular, histonas y proteínas antimicrobianas, que actúan como andamios en la formación del trombo, fomentando la adhesión y activación de plaquetas y contribuyendo a la estabilidad del trombo, similar al papel del fibrinógeno y el vWF. (120,123-125)

Diversos factores, como las lesiones y la inflamación, modulan la activación plaquetaria. Las plaquetas expresan receptores tipo Toll (TLRs) que reconocen Patrones Moleculares Asociados a Daño (DAMPs) y a Patógenos (PAMPs), activando así las plaquetas. Estos patrones también son detectados por los TLRs en otras células inmunes, desencadenando la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y nitrógeno (NOS), así como citoquinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral alfa, la interleucina 8 y el interferón. La interacción entre las plaquetas, el vWF y los leucocitos conduce a una mayor activación y agregación plaquetaria, así como a la liberación de TF. El incremento en la producción de TF activa la vía extrínseca de la coagulación, lo que culmina en la formación de fibrina y el atrapamiento de eritrocitos y plaquetas, resultando en la formación de un trombo. (117-118) (Figura 2)

1.1.8 Factores de Riesgo de TEV

A pesar de que algunos eventos de TEV ocurren sin una razón aparentemente importante (la llamada TEV “no provocada”), la mayoría de los TEV comparten uno o más factores de riesgo identificables que pueden causar o facilitar la aparición de TEV. Se puede identificar un solo factor de riesgo para trombosis en más del 80% de los pacientes con TEV. Incluso, a menudo, hay más de un factor en juego. Los factores de riesgo pueden estar relacionados con características permanentes de los pacientes, así como con condiciones clínicas agudas, generalmente transitorias. (124) Además, hay evidencia convincente de que el riesgo de TEV aumenta con el número de factores predisponentes. (126) No todos los factores identificados presentan el mismo riesgo para TEV y, según los resultados de grandes estudios observacionales, fueron clasificados ampliamente en débiles (definidos como una razón de probabilidades <2), moderados (definidos como una razón de probabilidades de 2-9) y fuertes (definidos como una razón de probabilidades >9) por las Guías ESC 2019 para el diagnóstico y manejo de la embolia pulmonar aguda

desarrolladas en colaboración con la Sociedad Respiratoria Europea (ERS). (27) (Tabla 6). Mientras que los factores de riesgo fuertes, como cirugías mayores, traumatismos o fracturas de cadera, generalmente son activamente buscados por los clínicos que adoptan estrategias efectivas de profilaxis de TEV, la presencia de un factor de riesgo moderado o débil puede no ser reconocida, requiriendo una evaluación clínica cuidadosa. (27) Además, el riesgo exacto de pacientes que presentan simultáneamente más de un factor de riesgo débil o moderado aún está por establecerse. Se han propuesto varios modelos de estratificación de riesgo para ayudar al juicio clínico, pero aún falta consenso sobre cuál es el mejor para usar. Por ejemplo, en pacientes médicos hospitalizados, los más evaluados fueron los puntajes de Caprini, Padua y IMPROVE. (127) Por otro lado, los puntajes de Khorana, Vienna, PROTECHT y CONKO pueden usarse para predecir el riesgo de TEV en pacientes con cáncer. (128) Sin embargo, no todos estos puntajes recibieron una validación convincente, por lo que se necesita una evaluación individual cuidadosa de los factores de riesgo.

En la tabla 6 se resumen los factores de riesgo más estudiados.

TABLA 6. FACTORES DE RIESGO PARA ENFERMEDAD TROMBOEMBÓLICA VENOSA

Factores de Riesgo Débiles
Reposo en cama >3 días/viajes prolongados
Factores de riesgo cardiovascular (Diabetes mellitus/Hipertensión arterial/Obesidad)
Edad avanzada
Cirugía menor
Embarazo/puerperio
Venas varicosas
Factores de Riesgo Moderados
Cirugía artroscópica de rodilla
Enfermedades autoinmunes (síndrome de Sjögren, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, vasculitis y esclerosis sistémica)
Transfusión de sangre/Agentes estimulantes de la eritropoyesis
Líneas venosas centrales/Catéteres intravenosos y sondas
Insuficiencia cardíaca crónica o insuficiencia respiratoria
Terapia de reemplazo hormonal/Fertilización in vitro/Terapia anticonceptiva oral
Infección (específicamente neumonía, infección del tracto urinario y Virus de la Inmunodeficiencia Humana)
Enfermedad inflamatoria intestinal
Cáncer (mayor riesgo en enfermedad metastásica)/Quimioterapia
Accidente cerebrovascular con paresia
Tromboflebitis superficial
Trombofilia
Factores de Riesgo Fuertes
Fractura de extremidad inferior/Reemplazo de cadera o rodilla/Lesión de médula espinal
Hospitalización por insuficiencia cardíaca o fibrilación/aleteo auricular o infarto de miocardio (dentro de los 3 meses anteriores)
Trauma mayor
TEV previa
Síndrome antifosfolipídico

Trombofilia (homocigoto de Factor V de Leiden o protrombina 20210, deficiencia de antitrombina y trombofilia combinada)

Factores de Riesgo Inciertos

Trombofilia (heterocigoto de Factor V de Leiden o protrombina 20210, mutación PAI-1 y deficiencia de Proteína C y S)

Sexo masculino

Hábitos de fumar

Los factores de riesgo adquiridos están vinculados al estilo de vida, comorbilidades y procedimientos médicos. (129) Estos factores pueden desencadenar directamente la TEV o aumentar el riesgo individual de padecer un evento trombótico, denominándose factores no desencadenantes. Los factores transitorios más comunes, responsables de TEV provocada, incluyen cirugía, inmovilización, uso de catéteres endovasculares, cáncer activo, embarazo o tratamiento hormonal. Por otro lado, los factores persistentes más frecuentes son la edad avanzada, insuficiencia venosa, obesidad, enfermedades reumatológicas, anticuerpos antifosfolípidos, tabaquismo o antecedentes previos de ETV. La combinación de factores desencadenantes y no desencadenantes aumenta significativamente el riesgo de ETV en comparación con la presencia de estos factores por separado, destacando la importancia de reconocer estos elementos y su valor predictivo. (129)

1.2 Rol del endotelio en TEV

Como se mencionó, la TEV es una enfermedad multifactorial y su fisiopatología se resume mediante la tríada de Virchow: lesión endotelial, estasis e hipercoagulabilidad, que, aisladas o en combinación, intervienen en el desarrollo de un trombo. La activación del endotelio por diferentes mecanismos sería el iniciador de la trombosis venosa.

Hasta hace poco, el endotelio se consideraba una membrana inerte cuya función principal era regular la permeabilidad de la pared del vaso sanguíneo. Actualmente, se reconoce como un órgano dinámico, heterogéneo y diseminado, con funciones secretoras, sintéticas, metabólicas e inmunológicas, y participa activamente en la hemostasis. (130-131) Su función principal es regular el flujo sanguíneo sistémico y la perfusión de tejidos. Además, actúa como una barrera selectiva que controla el movimiento de fluidos, moléculas y células entre la sangre circulante y el tejido circundante. Regula el reclutamiento y extravasación de leucocitos proinflamatorios en respuesta a daño tisular e infección mediante la expresión de moléculas de adhesión celular y citoquinas. Asimismo, el endotelio interviene en la recanalización de coágulos de fibrina, expresando diferentes moléculas que regulan la activación de plaquetas y la cascada de coagulación, manteniendo el flujo sanguíneo y previniendo la formación de trombos tras una lesión vascular. (132)

La disfunción endotelial, caracterizada por un desequilibrio entre factores relajantes y contráctiles, sustancias procoagulantes y anticoagulantes, y mediadores

proinflamatorios y antiinflamatorios, desempeña un papel significativo en la patogénesis de la aterosclerosis y, probablemente, en el desarrollo de enfermedades tromboembólicas venosas. (133) Cada vez más existe evidencia de la conexión entre la inflamación y la trombosis en las enfermedades vasculares. La relación intrincada entre estos dos procesos, donde la inflamación genera trombosis y, a su vez, la trombosis amplifica la inflamación, es mediada por el endotelio, los leucocitos y las plaquetas en un proceso denominado inmunotrombosis. (134) En condiciones fisiológicas, la activación de la cascada de coagulación por la inflamación es parte de un mecanismo natural de defensa contra los patógenos. Este proceso puede ocurrir en condiciones estériles y se caracteriza por una cascada de señales que lleva al reclutamiento y activación de neutrófilos, monocitos y plaquetas, en una orquestación parcial del endotelio, demostrando el rol fundamental que juega este último en este proceso. (135)

La inflamación estéril ocurre en condiciones agudas como la lesión por isquemia-reperfusión y el trauma, y depende de una secuencia bien orquestada de migración de leucocitos hacia y desde el sitio de la lesión. (136) La inflamación estéril se refiere a la inflamación desencadenada por daño tisular en ausencia de infección. Esto provoca la producción de ROS, citoquinas, quimioquinas y DAMP tras las interacciones entre el endotelio, las plaquetas y los leucocitos. Como consecuencia, se inician eventos necróticos que llevan a la liberación de auto-DAMP, incluyendo ácidos nucleicos, la proteína de caja de alta movilidad 1 (HMGB1), proteínas de choque térmico y metabolitos de purinas como el ATP. (137) El reclutamiento de neutrófilos y monocitos en las etapas tempranas y probablemente de linfocitos en etapas posteriores, es parcialmente orquestado por el endotelio a través de la secreción de citoquinas y la expresión de moléculas de adhesión.

Trombo inflamación y disfunción endotelial.

La activación sostenida de las células endoteliales por estímulos inflamatorios como PAMP, DAMP, citoquinas, quimioquinas, proteínas del complemento y ROS, altera la función endotelial. (138-139) Esto conduce a un deterioro de las propiedades anticoagulantes, antiinflamatorias y dependientes del sistema inmunitario del endotelio, características de la disfunción endotelial. Modelos experimentales de TEV han mostrado que IFN- γ , TGF- β , TNF- α , IL-6, IL-17, IL-9 e IL-1 β contribuyen a la formación y resolución del trombo a través de la activación endotelial, así como quimiocinas como CXCL8/CXCL1 y CCL2. (140) Las células endoteliales interactúan con el sistema del complemento a través de receptores específicos y proteínas del complemento, contribuyendo aún más a la inflamación. El estrés oxidativo mediado por ROS también induce vías de señalización que llevan a la disfunción endotelial. (141-142)

Durante la fase de iniciación de la formación del trombo, las células endoteliales, las plaquetas y los leucocitos (especialmente neutrófilos y monocitos) se activan mutuamente, creando un entorno procoagulante y reclutando más células sanguíneas. Las interacciones durante la tromboinflamación entre células

endoteliales, neutrófilos, monocitos y plaquetas han sido ampliamente estudiadas. La formación de trampas extracelulares de neutrófilos (NETs) es un proceso clave que vincula la inflamación con la trombosis, desencadenado por citocinas, plaquetas activadas, DAMP y ROS. Las NETs activan la coagulación liberando enzimas como la elastasa de neutrófilos, la catepsina-G y la mieloperoxidasa, inactivando e inhibiendo el TFPI y TM, y favoreciendo el reclutamiento y activación plaquetaria. (143)

El endotelio inflamado libera cuerpos de Weibel-Palade (WPBs) que contienen FVW, P-selectina y otros componentes procoagulantes y proinflamatorios (citoquinas y quimioquinas) en el entorno extracelular. (144) La adhesión y activación plaquetaria están relacionadas con la unión de integrinas en la superficie de las células endoteliales. La interacción de GPIIb/IIIa con FVW es crucial para la acumulación de plaquetas a lo largo del endotelio inflamado, especialmente en la trombosis arterial. El alto estrés de cizallamiento expone el dominio A1 de los multímeros de FVW, lo que es importante para la unión de GPIIb/IIIa. Este mecanismo también es relevante para el inicio de la trombosis venosa en el modelo de estenosis de TEV. Se ha sugerido que GPIIb/IIIa interactúa con multímeros de FVW con el dominio A1 pre-expuesto. (145) La GPIIb/IIIa plaquetaria se une al fibrinógeno, uniendo plaquetas con plaquetas y plaquetas con células endoteliales. Una vez activadas, las plaquetas liberan el contenido de sus gránulos, alimentando aún más la activación plaquetaria y endotelial. Entre estos factores, las selectinas son importantes para las interacciones plaqueta-endotelio y plaqueta-leucocito. Además, las plaquetas secretan varios factores solubles que afectan la función de los leucocitos, como IL-8, PF4, CCL5, CCL7, CCL3, CX3CL1 (Fractalkina), CXCL4 y CXCL5, importantes para el reclutamiento y la adhesión de neutrófilos al trombo naciente en asociación con las selectinas. Las enzimas secretadas por los neutrófilos activados median la formación de fibrina por las plaquetas. La integrina CD11b/CD18, activada tras la adhesión de los neutrófilos a las plaquetas, desarrolla aún más la actividad procoagulante de las plaquetas activadas. (146) Las plaquetas también participan en la activación de neutrófilos y la formación de NETs. Las interacciones recíprocas entre plaquetas y neutrófilos han sido demostradas tanto en modelos experimentales in vitro como in vivo, incluyendo en TEV. En paralelo, los monocitos son reclutados al endotelio inflamado a través de un mecanismo CCL2/CCR2 y se adhieren al endotelio mediante interacciones P- y E-selectina/PSGL-1. Inician la coagulación a través de la expresión de TF, la liberación de microvesículas positivas para TF y las interacciones con las plaquetas. (147) Los monocitos/macrófagos también son importantes para la resolución del trombo mediante la eliminación de células apoptóticas y necróticas y desechos de la matriz, la actividad profibrinolítica y la neovascularización del trombo. Los monocitos/macrófagos son una población heterogénea de leucocitos. Finalmente, la activación de células endoteliales, plaquetas y leucocitos culmina en la formación de fibrina que estabiliza el trombo. (148-149)

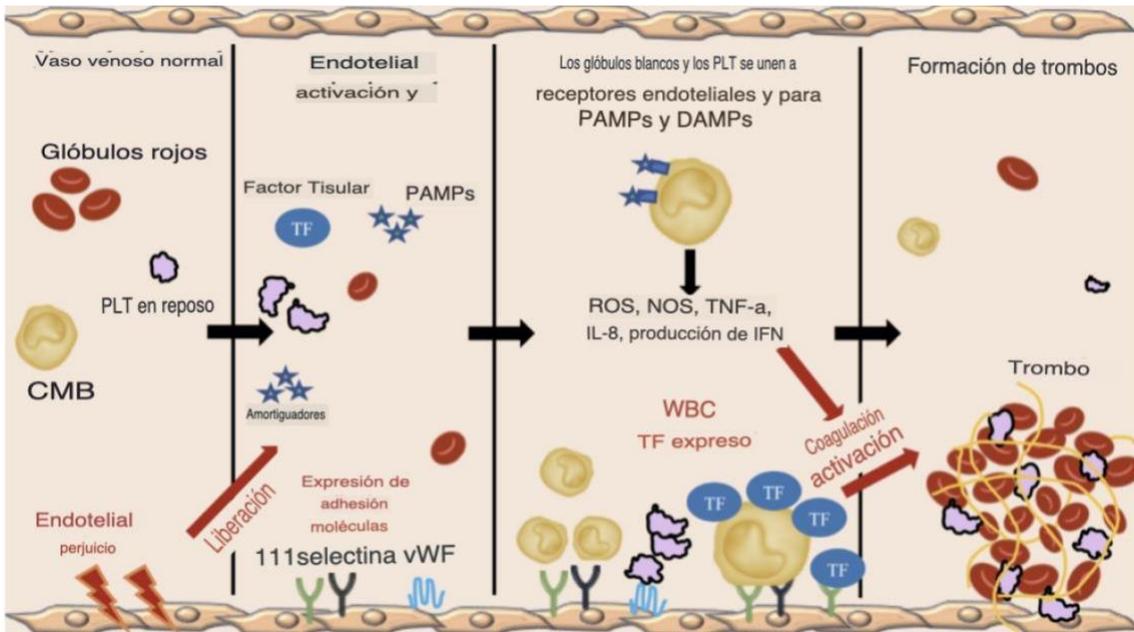


FIGURA 2. REPRESENTACIÓN DE LA PATOGENIA DE LA TROMBOSIS VENOSA

CMB:Globulo Blanco ; PAMPs:Patrones moleculares asociados a patógenos;VWF:Factor de von Willebrand; DAMPs:Patrones moleculares asociados a daño; ROS:Especies reactivas de oxígeno; TF: Factor Tisular; IL-8: Interleucina 8;TNF-A:Factor necrosis tisular alfa;WBC: Globulo Blanco.

1.3 Células Progenitoras Endoteliales y células circulantes endoteliales

1.3.1 Definición y caracterización

Las células progenitoras endoteliales (CPE) representan una población celular heterogénea e inmadura, capaz de migrar, proliferar y diferenciarse en células endoteliales maduras, además de contribuir a la formación de vasos sanguíneos y secretar factores proangiogénicos. Estas células se originan principalmente en la médula ósea y son movilizadas en respuesta a diversos estímulos, como hipoxia, lesión vascular o factores de crecimiento. En 1997, Asahara et al. (150) lograron aislar células CD34+ de sangre periférica humana y, tras cultivarlas en superficies recubiertas con fibronectina, observaron su diferenciación en células endoteliales que expresaban marcadores como CD31, E-selectina y VEGFR-2 (también conocido como KDR o Flk-1). Esta investigación demostró que las células CD34+/Flk-1+ podían, tanto *in vitro* como *in vivo*, diferenciarse en células endoteliales y contribuir a la formación de nuevos vasos sanguíneos. Posteriormente, se propuso el marcador CD133 como adicional para la identificación de CPEs. El CD133 es un marcador de células madre hematopoyéticas temprano, presente en progenitores de la médula ósea y en células de sangre periférica. (151)

Las CPEs también expresan otros marcadores endoteliales característicos, como CD31, CD146, VE-cadherina (CD144), el factor de von Willebrand (FvW) y óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS). La pérdida de CD133, según se ha postulado, indica que las CPEs han madurado y se han convertido en células endoteliales circulantes maduras (CEC). (150,152)

Las CPEs presentan una capacidad notable de diferenciación hacia el linaje endotelial, siendo capaces de responder a estímulos angiogénicos. En estudios *in*

vitro, cuando estas células son cultivadas en condiciones adecuadas, muestran morfología similar a la de las células endoteliales, expresión de marcadores de adhesión específicos y producción de moléculas angiogénicas, como el óxido nítrico. La diferenciación *in vitro* de las CPEs puede lograrse mediante cultivos en presencia de factores de crecimiento endotelial y proteínas de matriz extracelular, como fibronectina o colágeno. Estos cultivos suelen realizarse en condiciones de bajo oxígeno para imitar la hipoxia que estimula la angiogénesis *in vivo*. (153)

La caracterización y cuantificación de las CPEs ha sido objeto de debate, principalmente debido a la heterogeneidad de sus subpoblaciones y a la falta de un conjunto estándar de marcadores de superficie. Las combinaciones de CD34, CD133 y VEGFR-2 se usan comúnmente, pero algunos estudios han señalado que estos marcadores también se encuentran en otras poblaciones celulares hematopoyéticas, lo cual puede complicar su identificación específica. Además, las técnicas para medir las CPEs, como la citometría de flujo, son susceptibles a variaciones metodológicas y falta de uniformidad en los criterios de análisis, lo que contribuye a las discrepancias en los resultados de diferentes estudios. Esta variabilidad ha motivado la búsqueda de marcadores adicionales y métodos de aislamiento que permitan una identificación más precisa de estas células progenitoras con potencial terapéutico. (154-156)

Las **células endoteliales circulantes (CEC)** son células maduras desprendidas de la capa endotelial que recubre el interior de los vasos sanguíneos. Estas células pueden ser detectadas en el torrente sanguíneo bajo condiciones fisiológicas normales en cantidades bajas; sin embargo, su número aumenta significativamente en respuesta a lesiones vasculares, procesos inflamatorios, o patologías que afectan el endotelio, como la TEV aguda, aterosclerosis, y diversas formas de cáncer. Las CEC se consideran un marcador de daño endotelial y de la disfunción vascular, debido a su liberación en situaciones de estrés o daño en el endotelio. (157)

Las CEC expresan una serie de marcadores específicos de las células endoteliales, entre los que se incluyen CD31, CD144 (VE-cadherina), y el factor de von Willebrand (FvW), además de presentar otras moléculas de adhesión como ICAM-1 y E-selectina en situaciones inflamatorias. Las CEC, a diferencia de las células progenitoras endoteliales, carecen de los marcadores de células madre, como CD133, y de marcadores típicos de células inmaduras, lo que refleja su estado diferenciado. Pueden ser evaluadas mediante técnicas como la citometría de flujo, que permite distinguirlas en función de estos marcadores de superficie. (158)

La medición precisa de las CEC presenta desafíos, ya que existen discrepancias en los métodos de identificación y cuantificación utilizados en diferentes estudios. Las CEC son una población heterogénea y su concentración puede variar en función de la técnica empleada, como la citometría de flujo. Además, no existe un consenso total sobre los marcadores de superficie más adecuados para distinguirlas específicamente de otras células en circulación, lo cual ha dificultado su aplicación clínica estandarizada. No obstante, la investigación continúa avanzando en el desarrollo de metodologías más consistentes que puedan mejorar la fiabilidad de las CEC como biomarcador. (155,158)

1.3.2 Funciones y propiedades de las CPE y CEC

Como fue previamente mencionado, el endotelio vascular tiene un rol fundamental en el mantenimiento de la homeostasis vascular y la regulación de la tonicidad vascular, además de contribuir a la salud general de los vasos sanguíneos. (159-161) Las CPE y las CEC tienen funciones críticas en la reparación del endotelio y en la formación de nuevos vasos sanguíneos, apoyando la homeostasis vascular y respondiendo a la disfunción endotelial en diferentes enfermedades.

Las CPE participan en dos procesos fundamentales: la reendotelización y la neovascularización.

Reendotelización

La movilización de las CPE desde la médula ósea hacia la circulación sanguínea y su incorporación en sitios de daño vascular son esenciales para el proceso de reendotelización. En estudios experimentales, se ha demostrado que las CPE contribuyen a la restauración del endotelio. Por ejemplo, en un modelo animal, células CD34+ provenientes de la médula ósea donante colonizaron injertos de Dracon en la aorta torácica de perros, lo que indica que las CPE participan activamente en la reendotelización de superficies dañadas. (162) En humanos, se ha observado que dispositivos implantables como los de asistencia ventricular izquierda son recubiertos rápidamente con CPE caracterizadas por los marcadores CD133 y VEGFR-2, lo que demuestra su contribución a la regeneración del endotelio dañado. (151) Además, las estatinas y otros agentes terapéuticos han mostrado capacidad de movilizar CPEs y acelerar la reendotelización, destacando el potencial terapéutico de estas células para prevenir complicaciones endoteliales en enfermedades cardiovasculares. (163-165)

Neovascularización

Las CPE también desempeñan un papel crucial en la formación de nuevos vasos sanguíneos. Mientras que la angiogénesis se basa en la proliferación de células endoteliales preexistentes, la vasculogénesis —un proceso importante en adultos— depende de la movilización y diferenciación de las CPE para crear nuevos vasos en áreas de isquemia o lesión. Estas células, al llegar al sitio de neovascularización, se diferencian en células endoteliales maduras que integran la estructura del vaso, y también pueden promover la angiogénesis a través de la liberación de factores de crecimiento y citoquinas en una acción paracrina. Este proceso ha sido validado en modelos animales donde la administración de CPE ha facilitado la recuperación de tejido isquémico, como en el caso de la isquemia miocárdica y la neovascularización retiniana. (166-170)

Otras Funciones de las CPE: Las CPE no solo contribuyen a la reendotelización y vasculogénesis, sino que también participan en la regulación de la inflamación y la reparación del tejido dañado. Durante procesos inflamatorios o lesiones, las CPE son atraídas al sitio afectado, donde secretan factores que modulan la respuesta inmunitaria y favorecen la reparación tisular.

Además, se ha demostrado que las CPE poseen propiedades antioxidantes que ayudan a reducir el daño oxidativo en el endotelio, lo cual es relevante en el contexto de enfermedades cardiovasculares donde el estrés oxidativo es un factor

clave. En este sentido, las CPE podrían sintetizar óxido nítrico y prostaglandinas que interaccionan con las plaquetas evitando nuevos episodios trombóticos. (171)

Las CPE promueven la regeneración endotelial luego del evento trombótico. Luego de la formación del trombo ocurre un deterioro de la monocapa endotelial que finaliza en muerte de las células endoteliales, invasión por células inflamatorias y proliferación de las células musculares lisas vasculares. Este endotelio es reparado por células endoteliales maduras adyacentes (con baja tasa proliferativa) y también por CPE. En este sentido, las CPE tienen la capacidad de auto-renovación y de diferenciación a célula endotelial madura. Además, en forma parácrina estimulan a las células endoteliales maduras. Existe un gran número de evidencia tanto en modelos pre-clínicos como en pacientes que documenta que las CPE contribuyen en la angiogénesis en los adultos. (171) Estas células son metabólicamente activas, y secretan un gran número de mediadores con diferentes efectos en la resolución del trombo.

Existen trabajos que intentan demostrar el rol de estas células en el proceso de recanalización luego de la trombosis venosa. La organización y recanalización del trombo es un proceso dinámico y complejo que es influenciado por diferentes factores: citoquinas, fibroblastos, macrófagos, células endoteliales y leucocitos. En los últimos años se ha comenzado a observar que las CPE tienen un rol clave en este proceso. Se ha sugerido que un aumento del número de CPE acelera el proceso de recanalización venosa. (172-173,153)

Hay trabajos que han demostrado que las CPE son reclutadas dentro de los trombos venosos en resolución, por lo que se piensa que dichas células pueden estar implicadas en la recanalización del trombo venoso. (172) En modelos animales se ha demostrado cómo, la administración de CPE reduce el tamaño del trombo y favorecen la neovascularización. (173-174) En este sentido Meng et al. (175) han demostrado que la administración en ratas de CPE transfectadas con VEGF165 promueven y aceleran la organización y recanalización del trombo venoso. Asimismo, Tang et al. (176) reportaron la utilidad de las CPE transfectadas con el gen de VEGF165 luego de trombectomía en una TVP provocada en un modelo animal.

Las CEC son indicadores de daño endotelial y disfunción vascular, y su presencia en circulación se relaciona con varios estados patológicos. Las CEC son células maduras que se desprenden del endotelio vascular en respuesta a daño o estrés, tales como la inflamación y el estrés oxidativo. La cantidad de CEC es, por lo tanto, un biomarcador valioso para diagnosticar y monitorear enfermedades cardiovasculares, como aterosclerosis y TEV. (157)

Al igual que las CPE, las CEC también participan en la reparación endotelial, aunque de manera menos directa. Mientras las CPE se diferencian y ayudan a formar nuevo tejido endotelial, las CEC pueden integrarse en el tejido dañado y promover la restauración de la barrera endotelial, facilitando una respuesta rápida frente a lesiones menores. En contextos patológicos, como la TVP o el síndrome posttrombótico, un aumento en las CEC indica un proceso de reparación continuo,

lo que sugiere que el endotelio está en un estado de regeneración constante para mitigar el daño. (157)

Los niveles elevados de CEC se correlacionan con el pronóstico y la severidad de algunas enfermedades vasculares. Estudios clínicos han demostrado que los pacientes con TEV o aterosclerosis avanzada presentan un mayor número de CEC, lo cual está asociado con un mayor riesgo de eventos adversos. Por esta razón, el monitoreo de las CEC puede proporcionar información útil para evaluar la progresión de la enfermedad y la respuesta al tratamiento, ofreciendo un enfoque de medicina personalizada en la gestión de enfermedades endoteliales. (157,177)

1.3.3 Movilización y Homing de las CPE

La movilización de las CPE desde sus nichos en la médula ósea hacia el torrente sanguíneo ocurre en respuesta a estímulos específicos, tales como hipoxia, daño tisular o la administración de ciertos factores de crecimiento. Entre los agentes movilizadores más utilizados se encuentran el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) y el factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos (GM-CSF), los cuales incrementan la liberación de CPE hacia la circulación periférica. En particular, el uso de Plerixafor (un antagonista del receptor CXCR4) en combinación con G-CSF ha demostrado ser efectivo para movilizar grandes cantidades de CPE al bloquear la interacción entre el receptor CXCR4 y su ligando SDF-1 (CXCL12), que normalmente retiene a las CPE en la médula ósea. (178-180)

Una vez en circulación, las CPE son guiadas hacia sitios de daño a través de un proceso conocido como homing, que implica la migración y adhesión de las células a las áreas lesionadas. El SDF-1 juega un papel clave en este proceso, actuando como un potente quimioatrayente al atraer CPE que expresan el receptor CXCR4. Además de SDF-1, el VEGF y otras citoquinas pro-angiogénicas, como la angiopoyetina-1, participan en el reclutamiento de CPE hacia tejidos en reparación, donde estos factores se encuentran en niveles elevados debido a la hipoxia y al daño endotelial. (181)

Una vez que las CPE llegan al sitio de lesión, se adhieren a la superficie endotelial dañada mediante la interacción con moléculas de adhesión celular como las selectinas y las integrinas. Las selectinas facilitan la captura inicial y el rodamiento de las CPE en el endotelio, mientras que las integrinas median la adhesión firme y la transmigración de estas células hacia el tejido subendotelial. Este proceso permite que las CPE penetren el tejido lesionado y comiencen su diferenciación en células endoteliales maduras, integrándose en el endotelio local y ayudando a reparar la estructura vascular. (182-183)

Después de completar el proceso de homing, las CPE pueden diferenciarse en células endoteliales maduras en respuesta a los factores de crecimiento presentes en el microambiente. Estos factores, como VEGF, FGF y PDGF, actúan no solo promoviendo la diferenciación sino también estimulando la proliferación de las células endoteliales locales. De esta manera, las CPE contribuyen directamente a

la formación de nuevos vasos mediante vasculogénesis y apoyan la angiogénesis a través de mecanismos parácrinos, liberando factores que promueven la proliferación y migración de células endoteliales locales. (183)

Además de su integración directa en el endotelio, las CPE liberan citoquinas y factores de crecimiento que inducen efectos parácrinos en el tejido circundante, estimulando la reparación vascular y modulación de la inflamación. Estos mecanismos incluyen la liberación de factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), óxido nítrico (NO), y angiopoyetinas, que facilitan la remodelación vascular y mejoran la perfusión en las áreas afectadas. (183)

1.3.4 Estudios clínicos de CPE, CEC en trombosis venosa

Estas células son actualmente foco de atención de la medicina regenerativa ya que las CPE presentan un interesante potencial terapéutico en enfermedades vasculares.

A nivel clínico, han sido vastamente estudiadas en diversas patologías, principalmente en cardiopatía isquémica y otros eventos trombóticos arteriales.

Existen escasos reportes que estudien el rol de las CPE en la generación y complicaciones de la TEV en pacientes. En 2013 Alessio et al. (184) publicaron los resultados de un trabajo donde incluyeron 11 controles, 9 episodios de TVP aguda y 11 de TVP crónica o evolucionada. En ellos no se pudieron determinar CPE, probablemente vinculado a que solo adquirieron escasos eventos en el análisis (100.000 eventos mononucleares). Alvarado-Moreno et al. (185) publicaron en enero de 2016 un estudio sobre el rol de las células formadoras de colonias endoteliales en pacientes con TVP y observaron que las mismas son disfuncionantes lo cual puede sugerir que las mismas contribuyen en la patogenia de la trombosis venosa.

Las **Células Endoteliales Circulantes (CEC)** fueron descritas en 1970 y han sido reconocidas desde entonces como un marcador de injuria vascular. Se ha demostrado que están presentes en baja cuantía en la sangre normal y que están aumentadas en condiciones patológicas y de daño endotelial. También se ha sugerido que podrían ser utilizadas como un marcador de severidad. Las CEC se han visto elevadas en un gran número de patologías. (186-189)

Muy pocos estudios han evaluado las CEC en el contexto de la trombosis venosa. En un modelo murino se demostró que las CEC están elevadas a las 24 hs de provocada una trombosis con un pico máximo a las 48 horas. En un trabajo que evaluó 9 pacientes con TVP aguda y 11 con TVP de al menos 1 año de evolución, se observó un incremento significativo de CEC tanto en agudo como en la evolución. Los niveles de CEC fueron mayores en el episodio agudo. Todo esto hace suponer que las CEC juegan un papel importante desde la etapa inicial de la trombosis y quizás participan en el proceso de recanalización. (184)

1.3.5 Biomarcadores solubles Endoteliales y su papel en TEV

Los marcadores solubles endoteliales son moléculas liberadas por células endoteliales activadas y juegan un papel importante en la regulación de procesos como la inflamación, coagulación y reparación vascular. Numerosos marcadores

endoteliales han sido estudiados en enfermedades vasculares, particularmente arteriales. En el contexto de la TEV, estos marcadores reflejan el estado de activación o disfunción endotelial, proporcionando información sobre el grado de inflamación y remodelación endotelial en los vasos afectados. Algunas investigaciones han evaluado los marcadores endoteliales en la fase aguda de la TEV y su asociación con el SPT. Dos estudios analizaron los niveles de E-selectina soluble (sE-selectina) durante la fase aguda de la TVP y no encontraron una asociación con la TVP. Sin embargo, su papel en la predicción del SPT sigue sin explorarse. Bittar et al. (113) informaron niveles elevados de E-selectina en pacientes con SPT grave durante la evaluación del SPT. (190)

Entre los principales marcadores endoteliales evaluados en este estudio se incluyen fractalkina, ICAM-1, P-selectina y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), todos ellos involucrados en diferentes aspectos de la patogénesis de la TEV. (148,191)

Moléculas de adhesión celular solubles

Las moléculas de adhesión celular solubles (sCAMs) como ICAM-1, VCAM-1, E-selectina y P-selectina han sido objeto de estudio debido a su participación en procesos inflamatorios y trombóticos. Estas moléculas se liberan cuando el endotelio, las plaquetas y los leucocitos son activados, y su presencia en plasma se ha considerado un posible indicador de la actividad endotelial. En el contexto de la TEV, se ha estudiado su valor como biomarcadores diagnósticos y pronósticos. Sin embargo, los resultados han sido inconsistentes. Por ejemplo, mientras que algunos estudios han reportado niveles elevados de sP-selectina y sVCAM-1 en pacientes con TVP, otros, como el estudio de Bucek et al. (112), no encontraron diferencias significativas entre los pacientes con TVP y los controles.

Estos hallazgos sugieren que, aunque las sCAMs juegan un papel reconocido en la adhesión de células y la migración transendotelial durante la inflamación, su utilidad diagnóstica es cuestionable. Las discrepancias en los resultados podrían atribuirse a diferencias en las características de los pacientes, como la presencia de comorbilidades (por ejemplo, enfermedades malignas, hiperlipidemia o diabetes) que pueden influir en los niveles de sCAMs. Además, la fase en la que se evalúa la TVP (aguda o crónica) y la metodología utilizada para medir estas moléculas también pueden impactar los resultados.

La E-selectina, por ejemplo, se ha asociado típicamente con la activación de células endoteliales en respuesta a citocinas inflamatorias como la IL-1 y el TNF- α , pero su papel específico en la TEV aún no se ha clarificado completamente.

ICAM-1 es una molécula de adhesión que se expresa en la superficie de las células endoteliales y que se incrementa en respuesta a estímulos inflamatorios. Esta molécula facilita la adhesión y transmigración de leucocitos a través del endotelio, contribuyendo al proceso inflamatorio en los vasos sanguíneos. En el contexto de la TEV, ICAM-1 desempeña un papel fundamental en la atracción de células inmunitarias hacia las áreas de lesión endotelial, promoviendo la trombosis y

contribuyendo a la formación del trombo. En la fase aguda de TEV, se ha observado que los niveles de ICAM-1 son elevados y reflejan activación endotelial, aunque su utilidad en la fase crónica y en la predicción del desarrollo de complicaciones posttrombóticas es menos clara. (192)

La P-selectina es una molécula de adhesión celular que se encuentra en las células endoteliales y en las plaquetas. Se almacena en los gránulos alfa de las plaquetas y en los cuerpos de Weibel-Palade de las células endoteliales, y se transloca rápidamente a la superficie celular en respuesta a estímulos inflamatorios o de activación. Una vez en la superficie, la P-selectina facilita la adhesión de leucocitos y plaquetas al endotelio, un paso crucial en la formación del trombo. En el contexto de TEV, P-selectina facilita la interacción entre células endoteliales, plaquetas y leucocitos, contribuyendo al proceso trombogénico y al desarrollo de inflamación local. Dado su papel en la fase inicial de la formación del trombo, P-selectina se utiliza frecuentemente como biomarcador de activación plaquetaria y endotelial. Se ha demostrado que los niveles de P-selectina soluble pueden estar elevados en pacientes con trombosis venosa profunda (TVP), lo que indica su participación en la activación endotelial y plaquetaria durante la formación del trombo. Este aumento de P-selectina podría reflejar la extensión y la actividad del proceso trombótico.

A nivel diagnóstico, aunque los niveles elevados de sP-selectina se han asociado con la presencia de TVP, la evidencia sobre su utilidad como marcador independiente es variable. Un estudio mostró que, aunque los pacientes con TVP pueden tener niveles más altos de sP-selectina, existe una gran variabilidad en los valores observados, lo que dificulta su uso como una herramienta diagnóstica aislada. No obstante, algunos expertos consideran que la medición de sP-selectina, en combinación con otros marcadores de trombosis e inflamación, podría mejorar la capacidad de detectar o evaluar la gravedad de la TVP.

En estudios preclínicos y modelos animales, la inhibición de la P-selectina ha demostrado efectos prometedores en la reducción de la formación de trombos, sugiriendo su potencial como un objetivo terapéutico. Los agentes bloqueadores de P-selectina están siendo investigados para evaluar si pueden prevenir la trombosis en pacientes con riesgo elevado, lo que podría abrir nuevas vías en el manejo y la prevención de la trombosis venosa. (193-194)

Fractalkina.

La fractalkina (CX3CL1) es una quimiocina de la familia CX3C que se encuentra tanto en forma soluble como anclada a la membrana en las células endoteliales. A diferencia de otras quimiocinas, se sintetiza como una proteína transmembrana y también existe en una forma soluble, derivada del clivaje proteolítico de su versión de membrana. Esta dualidad le confiere funciones biológicas diversas: la forma transmembrana facilita la adhesión celular, mientras que la forma soluble actúa como agente quimiotáctico. El gen que codifica CX3CL1 se localiza en el cromosoma 16q13 y está compuesto por tres exones. Fractalkine se expresa principalmente en células endoteliales, pero también en neuronas, células gliales,

células musculares lisas y epiteliales, y su expresión es inducida por citocinas proinflamatorias como TNF- α , IL-1 β e IFN- γ (195-197)

En su forma de membrana, actúa como molécula de adhesión, mientras que, en su forma soluble, promueve la quimiotaxis de monocitos y linfocitos T hacia el endotelio dañado. Este doble papel convierte a la fractalkina en un mediador posible en el proceso inflamatorio asociado con la TEV. (197-198)

El receptor específico de fractalkine, CX3CR1, se encuentra en diversas células inmunitarias, incluidas células NK, linfocitos T citotóxicos, monocitos y células dendríticas. La interacción entre CX3CL1 y CX3CR1 es clave en la movilización y adhesión de estas células a sitios de inflamación, promoviendo la migración y contribuyendo al reclutamiento y activación celular en los tejidos afectados. (195-196)

La fractalkine también participa en la regulación de la activación de integrinas, las cuales son cruciales para la adhesión celular y la migración a través de las paredes endoteliales. Esta capacidad de actuar tanto como molécula de adhesión como quimiocina la convierte en un mediador importante en la inflamación y en procesos de reparación tisular. Las formas solubles y de membrana pueden inducir diferentes respuestas celulares, destacando el papel multifuncional de CX3CL1 en procesos inflamatorios crónicos. (195-198)

Fractalkine tiene un papel central en la inflamación al facilitar la adhesión de leucocitos al endotelio activado y al atraer células inmunitarias hacia áreas de lesión. Esto contribuye a la perpetuación de un entorno proinflamatorio, donde la activación de las células endoteliales y la liberación de mediadores proinflamatorios favorecen un estado protrombótico. Este fenómeno es de particular relevancia en enfermedades inflamatorias crónicas y en situaciones que implican daño vascular, como la aterosclerosis, donde CX3CL1 se ha vinculado a la progresión de la enfermedad y la disfunción endotelial. (195)

En la TVP estudios han documentado que los niveles elevados de fractalkine están asociados con un incremento en la adhesión y activación de leucocitos y plaquetas, elementos cruciales en la formación de trombos. La activación del eje CX3CL1/CX3CR1 en el endotelio y las células inmunes contribuye al desarrollo de un microambiente que favorece la trombosis y la inflamación. La evidencia sugiere que esta vía puede desempeñar un papel en la disfunción endotelial observada en pacientes con TVP y podría ser un objetivo para intervenciones terapéuticas dirigidas a mitigar la respuesta inflamatoria y la formación de trombos. (195)

Dado su papel en la regulación de la adhesión celular y la inflamación, el eje CX3CL1/CX3CR1 ha atraído atención como posible blanco terapéutico. La inhibición de este eje podría potencialmente reducir la activación de células endoteliales y la migración de leucocitos, disminuyendo así la inflamación y el riesgo de formación de trombos. Algunos estudios preclínicos han mostrado que bloquear la interacción entre CX3CL1 y CX3CR1 puede mejorar la función vascular y reducir el daño tisular en modelos de enfermedades inflamatorias y fibrosis. (197-198)

VEGF (Factor de Crecimiento Endotelial Vascular).

El VEGF es una glicoproteína fundamental que regula la angiogénesis, proceso que permite la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de la vasculatura preexistente. Este proceso es crucial para el desarrollo embrionario, la cicatrización de heridas y la respuesta a condiciones de hipoxia. VEGF es producido por diversos tipos celulares, incluyendo células endoteliales, plaquetas, linfocitos y células tumorales, y puede ser liberado en una forma soluble desde los gránulos alfa de las plaquetas durante la activación plaquetaria. (199-200)

El VEGF tiene un papel central en la regulación de la vasculatura, promoviendo la proliferación y la migración de las células endoteliales y aumentando la permeabilidad vascular. Este último efecto es particularmente relevante en condiciones inflamatorias, ya que facilita la extravasación de proteínas plasmáticas y células inmunes hacia los tejidos afectados. La capacidad de VEGF para inducir la formación de vasos sanguíneos permeables y anormales es de gran relevancia en el contexto de enfermedades inflamatorias crónicas y en la progresión de tumores, donde contribuye a la formación de una red vascular que no solo soporta el crecimiento tumoral, sino que también facilita la metástasis. (199)

El VEGF también juega un papel importante en la interacción entre la inflamación y la coagulación. Estudios han demostrado que VEGF puede inducir la expresión del FT, el principal iniciador de la cascada de coagulación, en células endoteliales. Esta actividad es potenciada en presencia de citoquinas proinflamatorias como el TNF- α , lo que incrementa la actividad procoagulante de manera significativa. (199-200)

Este mecanismo subraya la contribución de VEGF a un entorno procoagulante que favorece la formación de trombos. Además, VEGF estimula la liberación de otras citoquinas y factores de crecimiento que potencian la respuesta inflamatoria, creando un ciclo de retroalimentación positiva que amplifica tanto la inflamación como la trombosis.

La participación de VEGF en la TVP puede explicarse por su capacidad para aumentar la permeabilidad vascular y fomentar la adhesión de leucocitos al endotelio. Este proceso facilita la migración de células inflamatorias y la deposición de fibrina, contribuyendo al desarrollo y la estabilización del trombo. Además, VEGF se correlaciona con otros marcadores inflamatorios y procoagulantes, como la interleucina-6 (IL-6) y el TNF- α , reforzando su papel central en el proceso inflamatorio que precede y acompaña a la formación de trombos. (199-200)

Además, VEGF contribuye a la reparación endotelial tras el daño vascular, lo cual es fundamental en la reendotelización y la recanalización del trombo. Los niveles de VEGF suelen estar elevados en la fase aguda de TEV, y en estudios se ha observado que este marcador es particularmente relevante en enfermedades vasculares crónicas, donde la angiogénesis juega un papel en la recuperación de la función venosa. (194) Un estudio indicó que pacientes con cáncer y TVP presentaban niveles más altos de VEGF en comparación con aquellos sin trombosis, lo que apunta a que el VEGF no solo contribuye al entorno procoagulante, sino que también podría ser un biomarcador de riesgo para eventos trombóticos. (194,200)

Dado el papel multifacético de VEGF en la inflamación, la angiogénesis y la trombosis, se ha considerado un objetivo potencial para terapias dirigidas. Los inhibidores de VEGF, que ya se utilizan en el tratamiento de ciertos tipos de cáncer y enfermedades oculares como la degeneración macular, podrían tener un papel en la modulación del riesgo de trombosis en pacientes con condiciones proinflamatorias crónicas y cáncer. Sin embargo, se necesita más investigación para determinar cómo la inhibición de VEGF podría integrarse en estrategias para prevenir y manejar la TVP y otros eventos trombóticos, equilibrando los beneficios de la reducción de la coagulación con los posibles efectos secundarios relacionados con la angiogénesis. (199-200)

CAPÍTULO 2.- Identificación del problema, hipótesis y objetivos

Numerosas investigaciones han resaltado el papel crucial del endotelio en la patogenia de la TEV. Al recubrir las paredes internas de los vasos sanguíneos, el endotelio vascular no solo actúa como una barrera física, sino que también desempeña un papel fundamental en la regulación de la hemostasia y la coagulación. La disfunción endotelial puede desencadenar la formación de trombos venosos, predisponiendo a eventos tromboembólicos y contribuyendo al desarrollo de complicaciones graves, como la recurrencia y el SPT.

Comprender los mecanismos por los cuales el endotelio contribuye al desarrollo de la TEV y sus complicaciones es esencial para el desarrollo de estrategias terapéuticas más efectivas. Los estudios en esta área buscan identificar biomarcadores específicos que reflejen la disfunción endotelial y explorar intervenciones que mantengan la integridad del endotelio, lo cual podría prevenir la formación de trombos venosos y mejorar el pronóstico de los pacientes. Esta línea de investigación abre la puerta a avances significativos en el manejo y prevención de la TEV.

Dado el creciente reconocimiento del papel de las CPE, las CEC, y otros biomarcadores endoteliales en la preservación de la homeostasis vascular, esta tesis plantea la hipótesis de que los pacientes con TEV presentan alteraciones en estos biomarcadores endoteliales, los cuales podrían servir como indicadores de recurrencia y desarrollo de SPT.

Objetivo General:

Contribuir al conocimiento del rol de los marcadores endoteliales en la enfermedad tromboembólica venosa, con un enfoque en su potencial para predecir recurrencias y complicaciones como el SPT.

Objetivos Específicos:

- 1- Estandarizar una técnica de citometría de flujo para la cuantificación de CPE y CEC en circulación, estableciendo un protocolo reproducible y fiable para estudios clínicos.
- 2- Comparar los niveles de CPE, CEC y otros biomarcadores endoteliales en pacientes con TEV crónica frente a sujetos sanos, identificando diferencias significativas que puedan estar asociadas con el estado tromboembólico.
- 3- Analizar la relación entre los niveles de CPE, CEC y biomarcadores endoteliales con el SPT.
- 4- Analizar la relación entre los niveles de CPE, CEC y biomarcadores endoteliales con la recurrencia de la TEV.

CAPÍTULO 3.- Materiales y métodos

3.1. Características de la población

Este estudio se diseñó como un estudio analítico observacional de tipo casos y controles, con selección consecutiva de los pacientes. Los criterios de inclusión para el grupo de los casos incluyeron a personas mayores de 18 años con diagnóstico confirmado de TVP sintomática, tratadas con anticoagulantes por un mínimo de tres meses. Todos los episodios de TVP se confirmaron mediante ecografía doppler venosa, evidenciando la presencia de un segmento venoso incompresible en dicho estudio.

Las variables demográficas y clínicas se obtuvieron a través de entrevistas clínicas, mientras que los estudios de laboratorio e imagen fueron extraídos de la historia clínica electrónica. Los episodios de TVP se clasificaron como desencadenados o provocados cuando se presentaron junto a factores de riesgo adquiridos, tales como cirugía, inmovilización prolongada, embarazo/puerperio, uso de anticonceptivos orales, o en asociación con cáncer, siguiendo la definición de la International Society of Thrombosis and Hemostasis (ISTH). (201)

La recurrencia de eventos trombóticos se definió según los criterios de ISTH, que establece que un evento trombótico recurrente es aquel que ocurre después de un primer episodio de TVP o EP, confirmada mediante estudios de imagen (como ecografía doppler o tomografía computarizada), en un intervalo de tiempo en el que el paciente ya ha recibido tratamiento anticoagulante completo por el episodio inicial. La ISTH define que una nueva aparición de síntomas compatibles con trombosis, junto con evidencia radiológica de un trombo en un sitio distinto o una extensión clara del trombo previo, califica como una recurrencia

Para evaluar y clasificar la gravedad del SPT, se utilizó el Score de Villalta (VS) al momento de la inclusión en el estudio. Esta escala evalúa cinco síntomas relacionados con el paciente (dolor, calambres, pesadez, parestesia y prurito) y seis signos físicos observados por el médico (edema pretibial, induración cutánea, hiperpigmentación, ectasia venosa, enrojecimiento y dolor a la compresión de la pantorrilla). Cada ítem se puntúa de 0 (ausente) a 3 (grave), resultando en una puntuación total de 0 a 33 puntos. Se diagnostica SPT cuando el puntaje era ≥ 5 o cuando se identificaba una úlcera venosa. La gravedad del SPT se clasificó como leve (5-9 puntos), moderada (10-14 puntos), o grave (≥ 15 puntos o presencia de úlcera venosa). La evaluación del SPT fue realizada por el mismo investigador el día de la recolección de muestras de sangre, garantizando consistencia en la evaluación clínica. (69)

El grupo control incluyó 61 individuos sanos (41 mujeres y 20 hombres mayores de 18 años) sin antecedentes de tromboembolismo venoso (TEV) ni de enfermedades inflamatorias o infecciosas agudas o crónicas.

3.2. Recolección de la muestra

Las muestras de sangre periférica (SP) de los controles y los pacientes fueron recolectadas en tubos anticoagulados con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA, 3 ml) durante las visitas de seguimiento, tras tres meses de tratamiento anticoagulante. Los recuentos automatizados de leucocitos en SP se realizaron mediante el sistema ABX Micros 60 (Horiba, Montpellier, Francia). Las muestras se procesaron y analizaron mediante citometría de flujo de 8 colores dentro de las 24 horas posteriores al muestreo, y se criopreservaron muestras de plasma para análisis posterior.

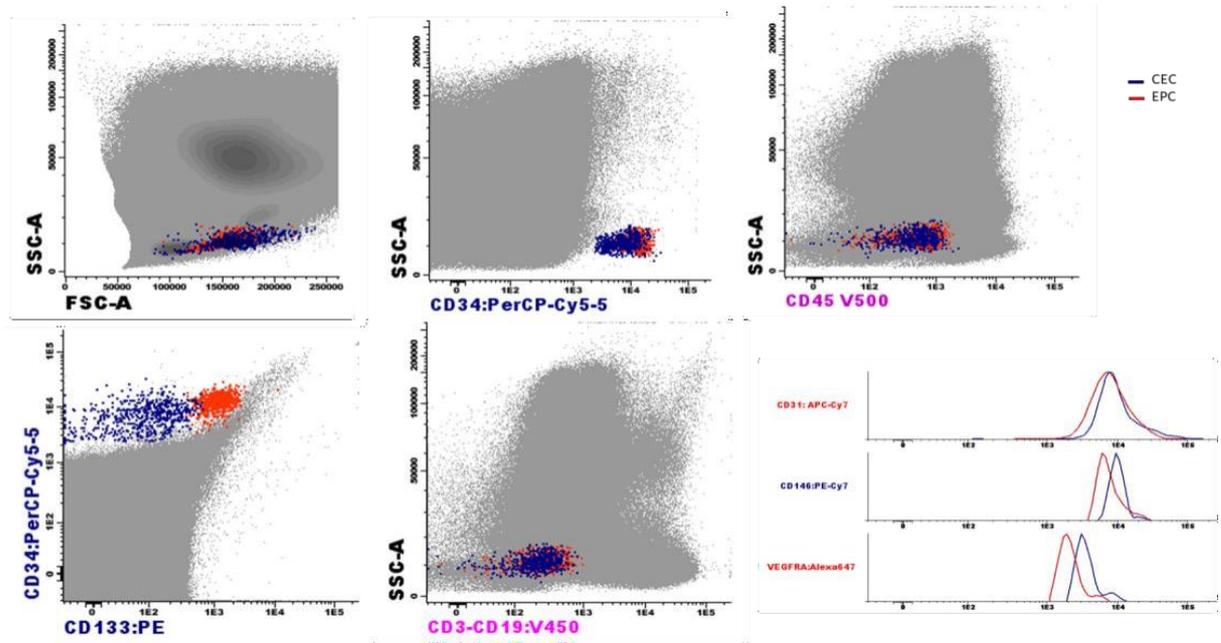
3.3. Análisis de citometría de flujo de CPE y CEC

Actualmente, no existe consenso sobre la estrategia de determinación de CPE y CEC mediante citometría de flujo en sangre periférica. En este estudio, se estandarizó la técnica de enumeración de CPE y CEC utilizando una plataforma de citometría de flujo doble. Estas células expresan en su superficie marcadores específicos. Se seleccionó un panel que incluye CD133 para identificar la inmadurez celular y otros marcadores endoteliales como CD34, KDR, CD31 y CD146, comúnmente aceptados en la literatura. Las CPE se definieron como CD45bajo/-, CD34+, CD133+, CD31+, CD146+, KDR+, CD3-, CD19-, y las CEC como CD45bajo/-, CD34+, CD133-, CD31+, CD146+, KDR+, CD3-, CD19-.

Estas poblaciones celulares son raras, representando aproximadamente el 0.001% a 0.0001% de la fracción mononuclear en la sangre periférica, lo cual requiere la adquisición de 2-3 millones de eventos para su detección adecuada. Durante la estandarización, se evaluaron diferentes volúmenes de SP y métodos de lisis de eritrocitos (lyse-wash, lyse-no wash) para maximizar la sensibilidad de la técnica. Se titularon las concentraciones de los anticuerpos y se generó una matriz de compensación para asegurar la consistencia en los niveles de fluorescencia.

El protocolo final incluyó la incubación de 1 ml de SP con 45 ml de solución de cloruro de amonio durante 15 minutos a temperatura ambiente, seguido de centrifugación y lavado con PBS-1% de albúmina. Las muestras fueron luego incubadas con el panel de anticuerpos indicado en la tabla 7 y analizadas en un FACS Canto II con tres láseres. Se adquirieron 3,000,000 de eventos viables por muestra, utilizando los softwares FACS Diva y Infinicyt para la adquisición y el análisis de datos, respectivamente (figura 3).

FIGURA 3. ESTRATEGIA DE GATING DE CPE Y CEC.



Los diagramas de citometría de flujo muestran la estrategia de gating empleada para identificar poblaciones celulares. En el panel superior izquierdo (FSC-A vs. SSC-A), se realizó el gating inicial para excluir residuos y definir la población celular principal. En el panel superior central (SSC-A vs. CD34: PerCP-Cy5.5), se identificaron las células CD34+, y en el panel superior derecho (SSC-A vs. CD45: V500), se diferenciaron las subpoblaciones basadas en la expresión de CD45. El panel inferior izquierdo (CD34: PerCP-Cy5.5 vs. CD133: PE) muestra la detección de células CD34+CD133+, mientras que el panel inferior central (CD34: PerCP-Cy5.5 vs. CD3-CD19: V450) excluye linfocitos T y B. Los histogramas a la derecha representan la expresión de CD31, CD146 y VEGFR2 en las CEC (azul) en comparación con CPE (rojo).

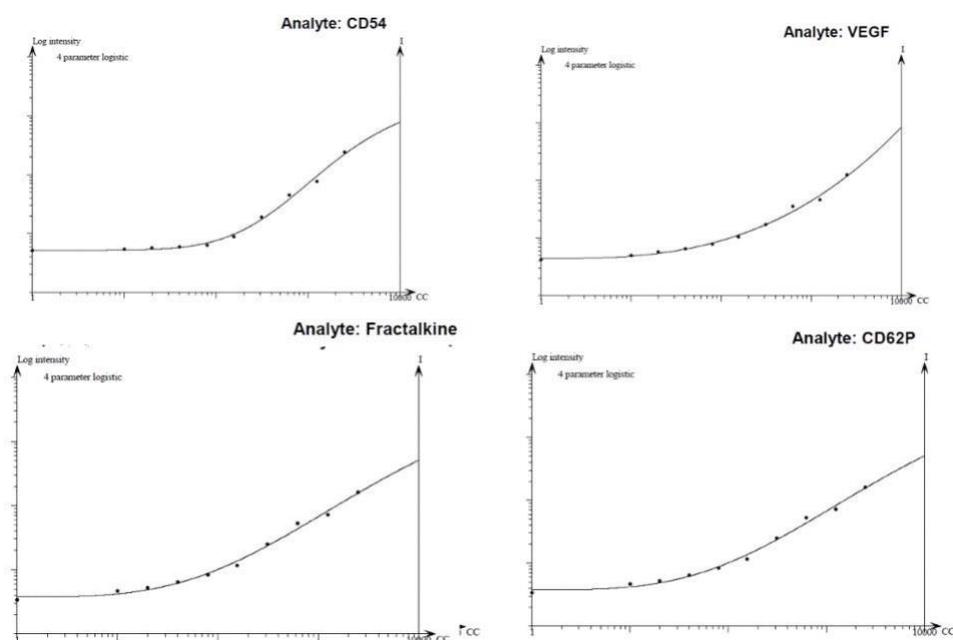
TABLA 7. PANEL DE CITOMETRÍA DE FLUJO EN 8 COLORES

Tubo	BV450	V500	PE	PERCPCY5.5	PECY7	Alexa 647	APC-Cy7
Células Progenitoras Endoteliales	CD3 y CD19 BV421	CD45	CD133	CD34	CD146	KDR	CD31

3.4. Niveles en plasma de molécula de adhesión intercelular 1, P-selectina, fractalkina y factor de crecimiento endotelial vascular

Las concentraciones plasmáticas de ICAM-1/CD54, VEGF, fractalkina/CX3CL1 y P-selectina/CD62p fueron determinadas utilizando el kit BDTM cytometric bead array (CBA, BD Biosciences, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante. La adquisición de datos se realizó utilizando el software FACS Diva (Becton-Dickinson) y el análisis utilizando el software FCAP Array v3.0 (BD Biosciences). El límite de detección del BD CBA está entre 5 pg/ml y 5000 pg/ml. Se realizaron estas determinaciones en el plasma de 33 controles y 18 pacientes con (TVP. En la Figura 4 se muestran las curvas de calibración para estas proteínas.

FIGURA 4. CURVAS DE CALIBRACIÓN CON ESTÁNDARES DE CITOQUINAS



Se muestra ejemplo de las curvas de calibración para biomarcadores solubles: CD54, VEGF, Fractalkine y CD62P

3.5. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el software SPSS 21 (Chicago, IL, EE. UU.). Se utilizaron métodos de estadística descriptiva e inferencial. Las estadísticas descriptivas de las variables cualitativas se expresaron en términos de porcentajes y las variables cuantitativas como mediana y rango intercuartílico (RIQ). La significancia estadística de las posibles diferencias encontradas entre las diferentes variables se determinó utilizando pruebas no paramétricas (Mann-Whitney para muestras independientes). Se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman para evaluar la relación entre variables continuas. Se consideró un valor de $P < 0.05$ como estadísticamente significativo.

3.6. Consideraciones Éticas

El protocolo de investigación fue aprobado por el Comité de Ética Institucional del Hospital de Clínicas de Montevideo, Uruguay. Cada paciente incluido en el estudio fue debidamente informado y se obtuvo el consentimiento informado de los pacientes y controles incluidos en este estudio.

Se respetaron los principios fundamentales establecidos en la Declaración de Helsinki. La propiedad y custodia de la base de datos es del equipo investigador.

CAPÍTULO 4.- Marcadores endoteliales en TEV

4.1. Objetivo

Comparar los niveles de CPE, CEC y otros biomarcadores endoteliales en pacientes con TEV crónica frente a sujetos sanos, identificando diferencias significativas que puedan estar asociadas con el estado tromboembólico

4.2. Resultados

Datos demográficos y clínicos de pacientes con trombosis venosa profunda y controles.

Se incluyeron 32 pacientes con TVP previa provocado o no provocado. Las TVP provocados se debieron a cáncer (n=4), síndrome antifosfolípido (n=4), ingreso hospitalario (n=3), uso de anticonceptivos hormonales (n=2), cirugía (n=2), terapia con estrógenos, embarazo/puerperio (n=2). Tabla 8.

Todos los pacientes al momento de ser incluidos en el estudio estaban bajo anticoagulación. El 77% con warfarina, el 16% con anticoagulantes orales directos (DOAC) y el 8% con enoxaparina. Tabla 8.

TABLA 8. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y DEMOGRÁFICAS

	Pacientes TEV (n=32)	Controles (n=61)	Valor p
Edad: mediana (RIQ)	69 (57-77)	43 (30-49)	0.32
Sexo (femenino:masculino)	1.2:1	2:1	0.2
Tiempo desde la última TVP (mediana días (RIQ))	62 (24-118)	NA	
TVP Provocada/ No provocada	17/15	NA	
TVP Proximal/Distal	19/8	NA	
TVP Recurrente	15 (47%)	NA	
Asociación de EP	5 (15.6%)	NA	
SPT	21 (65.6%)	NA	

* RIQ: rango intercuartil; TVP: trombosis venosa profunda; EP: embolia pulmonar; SPT: síndrome post-trombótico; NA: no aplica.

Las CPE y CEC están disminuidas en pacientes con trombosis venosa profunda

Los resultados de la citometría de flujo muestran que las células progenitoras CD34+CD45low/-, los pacientes con TVP presentaron un menor número absoluto (mediana: 1.51 células/ μ L) que los controles (mediana: 2.41 células/ μ L), con una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.031$). Esto representa una reducción aproximada de 1.6 veces menos células en los pacientes con TVP en comparación con los controles. De manera similar, las células progenitoras CD34+CD45low/- CD133+, que representan una subpoblación de células progenitoras inmaduras, también mostraron un número absoluto inferior en los pacientes con TVP (mediana: 0.75 células/ μ L) frente a los controles (mediana: 0.81 células/ μ L), con significancia estadística ($p=0.027$). En términos relativos, el porcentaje de estas células fue de 0.0066% en pacientes con TVP, comparado con 0.011% en controles ($p=0.045$), lo que sugiere que los pacientes con TVP tienen aproximadamente 1.1 veces menos células en esta subpoblación en comparación con los controles sanos. Las CPE también mostraron una reducción significativa en los pacientes con TVP. El número absoluto de CPE en estos pacientes fue de 0.57 células/ μ L en comparación con 0.85 células/ μ L en los controles ($p=0.031$), lo que equivale a aproximadamente 1.5 veces menos CPE en los pacientes con TVP. En términos relativos, el porcentaje de CPE fue de 0.0063% en pacientes con TVP frente a 0.010% en los controles ($p=0.049$). Para las CEC, los pacientes con TVP también presentaron números absolutos notablemente más bajos (mediana: 0.38 células/ μ L) en comparación con los controles (mediana: 1.02 células/ μ L), con una reducción significativa de 2.7 veces menos células en el grupo de TVP ($p=0.001$). Estos resultados sugieren una disminución marcada en la disponibilidad de CPE y CEC en pacientes con TVP, lo que podría reflejar una capacidad reducida de regeneración endotelial y reparación vascular en este grupo. (Tabla 9, Figura 5).

Los biomarcadores endoteliales solubles son similares en pacientes con trombosis venosa profunda y controles.

En contraste con las CPE y CEC, los niveles de biomarcadores endoteliales solubles no mostraron diferencias significativas entre los pacientes con TVP y los controles sanos. Las concentraciones plasmáticas de ICAM-1/CD54, VEGF, fractalkina/CX3CL1 y P-selectina/CD62p fueron comparables entre ambos grupos. Por ejemplo, ICAM-1/CD54 tuvo una mediana de 256.73 ng/mL en pacientes con TVP frente a 189.51 ng/mL en los controles, sin alcanzar significancia estadística (p=0.71). De igual forma, los niveles de VEGF y fractalkina/CX3CL1 no presentaron diferencias estadísticamente significativas.

Estos resultados sugieren que, a diferencia de los niveles de CPE y CEC, los biomarcadores endoteliales solubles no están marcadamente alterados en pacientes con TVP crónica. (Tabla 9)

TABLA 9. MARCADORES ENDOTELIALES EN PACIENTE Y CONTROLES

	Pacientes TEV (n=32)	Controles (n=61)	Valor p	
WBC (/mm³) (mediana (RIQ))	6500 (5200-7750)	6650.00 (5400-7300)	0.42	
Células progenitoras CD34⁺CD45^{low/-} (mediana (RIQ))	Porcentaje células totales nucleadas	0.05 (0.009-0.054)	0.032 (0.020-0.053)	0.10
	Número absoluto(/μL)	1.51 (0.52-2.65)	2.41 (1.39-4.05)	0.031
Células progenitoras CD34⁺CD45^{low/-}CD133⁺ (mediana (RIQ))	Porcentaje células totales nucleadas	0.0066 (0.0024-0.069)	0.011 (0.0059-0.080)	0.045
	Número absoluto(/μL)	0.75 (0.12-6.35)	0.81 (0.41-4.40)	0.027
	Porcentaje células totales nucleadas	0.0063 (0.0014-0.019)	0.010 (0.0055-0.020)	0.049
CPE (mediana (RIQ))	Número absoluto(/μL)	0.57 (0.07-1.21)	0.85 (0.35-1.27)	0.031
	Porcentaje células totales nucleadas	0.0076 (0.024-0.18)	0.013 (0.0080-0.026)	0.013
CEC (mediana (RIQ))	Número absoluto(/μL)	0.38 (0.15-1.01)	1.02 (0.63-1.74)	0.001
ICAM-1/CD54 (ng/mL)	256.73 (210.78-290.13)	189.51 (165.55-285.60)	0.71	
VEGF (pg/mL)	183.40 (91.70-359.42)	154.53 (71.25-194.81)	0.45	
Fractalkina/CX3CL1 (pg/mL)	242.21 (88.51-428.73)	188.5 (113.05-312.62)	0.72	
P-selectin/CD62p (ng/mL)	18.36 (10.65-25.09)	15.32 (13.44-18.77)	0.17	

* WBC: white blood cells; RIQ: rango intercuartil

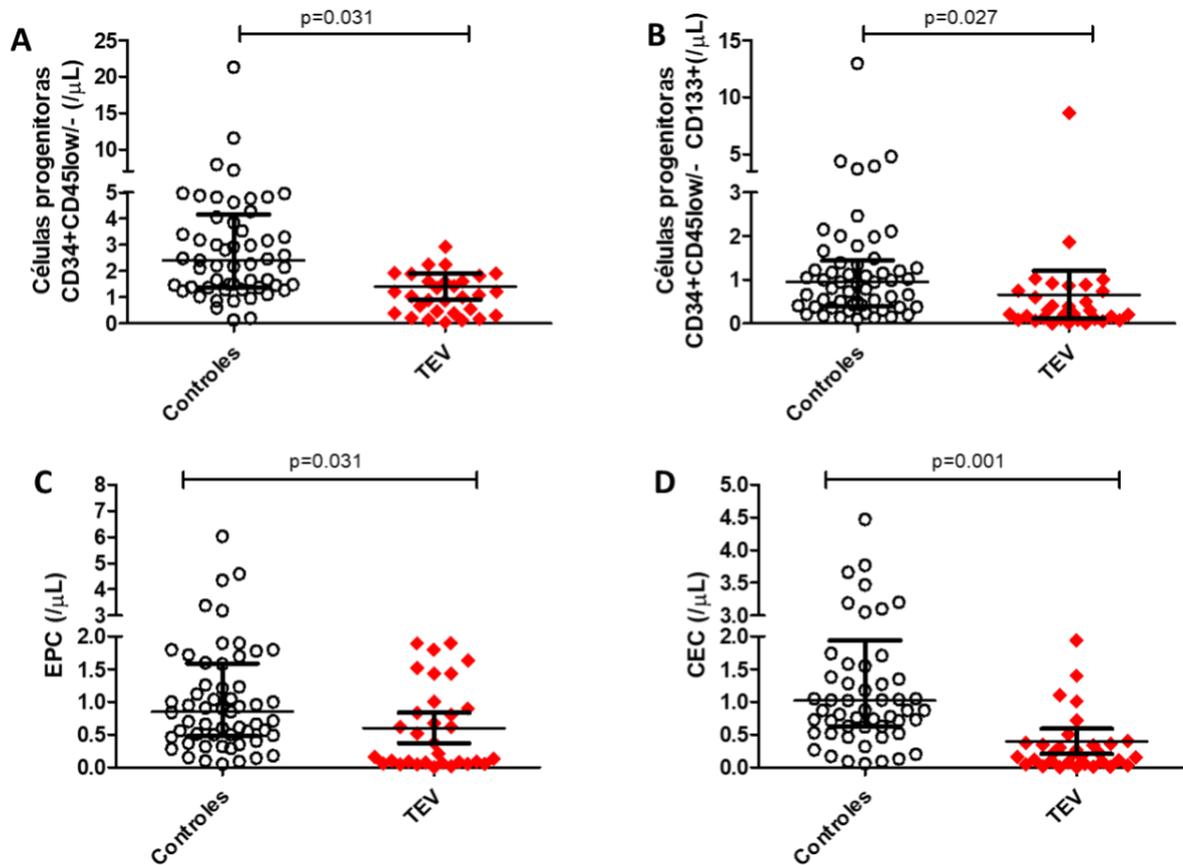


FIGURA 5. POBLACIONES CELULARES ABSOLUTAS EN PACIENTES Y CONTROLES

Se muestran las poblaciones celulares (Células progenitoras CD34+, CD34+, CD45low/-CD133+, CPE y CEC) en valores absolutos en población de pacientes (negro) y controles (rojo). Se representan con diagrama de dispersión donde los puntos representan la distribución individual de los valores en ambos grupos (pacientes y controles), mientras que las líneas en cada conjunto de datos muestran la mediana y los intervalos intercuartílicos. Se muestra el valor de p para cada grupo.

4.3. Discusion

Las células endoteliales son reguladores esenciales de la resolución del trombo, la extravasación y activación de leucocitos, la fibrinólisis, la reendotelización de la vena dañada, forman canales neovasculares y modulan la fibrosis. Aunque estas

células aceleran la resolución del trombo, su reducción y disfunción pueden tener efectos perjudiciales en la resolución de la TVP (170,202)

Este estudio evidenció que los pacientes con TEV crónica presentan niveles más bajos de células progenitoras CD34+, CD34+CD45low/-CD133+, CPE y CEC en comparación con los controles sanos, lo que sugiere una disfunción endotelial persistente y una menor capacidad de reparación vascular, contribuyendo a un entorno pro-trombótico en la fase crónica de la enfermedad.

Aunque existe creciente evidencia que demuestra el papel de las CPE y las CEC en enfermedades arteriales, los datos sobre la TVP están limitados a estudios en animales y estudios clínicos de pequeña escala. (172,184)

Alessio AM et al. (184) reportaron que los pacientes con TVP en la fase aguda y crónica presentaron niveles más altos de CEC en comparación con los controles sanos, siendo los niveles en la fase aguda más altos que en la fase crónica. Los resultados diferentes a los nuestros podrían deberse a que las CEC se midieron en un momento distinto del proceso de la enfermedad y también porque las muestras de nuestros pacientes con TVP eran diferentes (tiempo prolongado desde el último episodio de TVP, alta incidencia de SPT y recurrencias). Proponemos que, durante la fase aguda de la TVP, los niveles de CEC son más altos debido al daño endotelial y la inflamación, y posteriormente, en la fase crónica, disminuyen hasta niveles más bajos que en los controles sanos.

Los niveles de CPE en la TVP han sido poco estudiados. Nuestros resultados concuerdan con los datos reportados en patologías cardiovasculares, que muestran niveles disminuidos de CPE en la fase crónica de la TVP (203). El ensayo clínico aleatorizado ExACT es el estudio más grande que evalúa los niveles de CPE en pacientes con TVP (n=281) y encontró que niveles bajos de CPE se asociaban con recurrencia de trombosis venosa. Sin embargo, no incluyeron un grupo control para comparar los niveles de CPE entre pacientes con TVP e individuos sanos. Tras la fase aguda de la TVP, podría existir una movilización alterada o agotamiento de CPE que contribuye a la disfunción endotelial e impide la recanalización del trombo. Además, Alvarado-Moreno et al. (185) encontraron un estado disfuncional en las CPE de pacientes con TVP que reflejaba algunas características de las células endoteliales disfuncionales.

Desde una perspectiva práctica, la medición de células CD34+ y CD34+CD45low/-CD133+ podría integrarse más fácilmente en la práctica clínica que las CPE y CEC. Al ser más accesibles y ofrecer un análisis reproducible, su uso reduce la variabilidad entre laboratorios y permite un monitoreo confiable del estado endotelial en pacientes con TEV. Esta consistencia es esencial para su adopción en la rutina clínica, ya que un biomarcador que mantiene uniformidad en diferentes laboratorios es ideal para aplicaciones amplias y fiables.

Las células CD34+ han sido objeto de numerosos estudios en el ámbito de las enfermedades cardiovasculares, demostrando su utilidad en la evaluación de la función endotelial y la predicción de eventos adversos. (204) La experiencia en otros

campos médicos refuerza la idea de que medir CD34+ o CD34+CD45low/-CD133+ podría ser más efectivo y práctico que centrarse en CPE y CEC, aportando una evaluación más precisa del riesgo y de la capacidad regenerativa endotelial en la TEV.

La implementación de estas mediciones podría mejorar el manejo de la TEV, identificando pacientes con una capacidad de reparación endotelial comprometida y orientando decisiones terapéuticas más personalizadas, como intensificar las terapias o ajustar el monitoreo. La inclusión de estos biomarcadores complementaría las evaluaciones tradicionales, proporcionando una visión más detallada del estado endotelial en la TEV crónica.

En este estudio, la ausencia de diferencias significativas en los niveles de biomarcadores solubles, como ICAM-1, VEGF y P-selectina, en pacientes con TEV frente a controles, sugiere que estos marcadores podrían estar más relacionados con la respuesta inflamatoria aguda que con el daño endotelial crónico.

Pese a la relevancia de estos hallazgos, el estudio presenta limitaciones, como el tamaño de la muestra y su diseño transversal, que restringen la extrapolación y la determinación de causalidad. Es fundamental que futuras investigaciones prospectivas de mayor escala confirmen estas observaciones y definan cómo integrar mejor estos biomarcadores en la práctica clínica para optimizar la identificación y el manejo de pacientes con riesgo de recurrencia y complicaciones crónicas.

CAPÍTULO 5.- Marcadores endoteliales en Síndrome Post-Trombótico

5.1 Objetivos

- 1- Analizar la relación entre los niveles de células progenitoras, CPE, CEC y biomarcadores endoteliales con el SPT.
- 2- Correlacionar los niveles de células progenitoras CPE, CEC y biomarcadores endoteliales con la severidad del SPT

5.2 Resultados

La Tabla 10 muestra las características demográficas y clínicas de los pacientes con y sin SPT. No se observaron diferencias significativas en la mediana de edad ni en la proporción de sexo entre ambos grupos. Sin embargo, el análisis indicó que los pacientes con SPT tenían una mayor prevalencia de TVP recurrente en comparación con aquellos sin SPT (66.6% vs. 9.1%, $p=0.015$), sugiriendo que la recurrencia de TVP es un factor importante en el desarrollo del SPT. Otros factores clínicos, como la presencia de EP asociada, no mostraron diferencias significativas entre los grupos. Dada la asociación observada entre el SPT y la recurrencia de TVP, se realizó un análisis multivariado. Sin embargo, los resultados no fueron concluyentes debido al bajo número de pacientes incluidos en el estudio. Es probable que la presencia de SPT y la recurrencia estén introduciendo un sesgo en los resultados obtenidos.

TABLA 10. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS Y CLÍNICAS DE PACIENTES CON Y SIN SPT

	Pacientes SPT (n=21)	Pacientes sin SPT (n=11)	Valor p
Edad: mediana (RIQ)	69(64-77)	64(51-76)	0.2
Sexo (femenino:masculino)	1.1:1	1.7:1	0.5
TPV provocada/no provocada	10/11	5/6	0.6
TVP Proximal/Distal	13/4	6/4	0.49
TVP Recurrente	14 (66.6%)	1 (9.1%)	0.015
EP asociada	4 (19%)	1 (9.1%)	0.51
VS mediana (RIQ)	8 (7-13)	2 (0-4)	
SPT leve	11 (50.0%)	NA	
SPT Moderado	7 (33.0%)	NA	
SPT severo	3 (14.2%)	NA	

* RIQ: rango intercuartil; TVP: trombosis venosa profunda; EP: embolia pulmonar; SPT: síndrome post-trombótico. VS: Villalta score. NA: no applicable. SPT leve: VS 5-9; SPT Moderado: VS 10-14; SPT Severo: VS \geq 15 o ulcera venosa presente

Los niveles de células progenitoras CD34+ CD45low/-, CPE y CEC fueron significativamente más altos en pacientes con SPT en comparación con pacientes sin SPT (Tabla 11 y Figura 6). Los niveles de células CD34+CD45low/- progenitoras fueron significativamente más altos en pacientes con SPT. Los pacientes con SPT mostraron una mediana de 1.90 células/ μ L, en comparación con 0.52 células/ μ L en pacientes sin SPT ($p=0.008$), indicando un aumento de aproximadamente 3.6 veces. En términos absolutos, el número de CPE y CEC en pacientes con SPT fue aproximadamente 8 veces y 2.5 veces mayor, respectivamente, que en los pacientes sin SPT. Además, los niveles de CPE y CEC en pacientes con SPT no difirieron significativamente de los controles sanos, lo que sugiere que la presencia del SPT estimula la movilización de CPE hacia la sangre periférica hasta alcanzar niveles similares a los de individuos sanos (Figura 6).

Además, los niveles de CPE y CEC mostraron una correlación lineal moderada con la puntuación del Villalta Score (VS), una medida de la severidad del SPT, con coeficientes de correlación de $r=0.64$ y $r=0.52$, respectivamente (Figura 6). Este hallazgo sugiere que a mayor severidad del SPT, mayor es la movilización de estas células hacia la circulación periférica.

TABLA 11. BIOMARCADORES ENDOTELIALES EN PACIENTES CON Y SIN SPT

		Pacientes SPT (n=21)	Pacientes sin SPT (n=11)	Valor p
WBC (/mm³) (mediana (RIQ))		6800 (5500-8300)	6250.00 (4950-7100)	0.32
CD34⁺CD45^{low/-} progenitor cells (mediana (RIQ))	Porcentaje células totales nucleadas	0.041 (0.013-0.075)	0.0092 (0.0035-0.034)	0.006
	Número absoluto(/μL)	1.90 (1.37- 5.03)	0.52 (0.20-2.08)	0.008
	Porcentaje células totales nucleadas	0.0089 (0.0045-0.029)	0.0013 (0.0008-0.013)	0.019
CPE (mediana (RIQ))	Número absoluto(/μL)	0.75 (0.38-1.52)	0.09 (0.05-0.82)	0.021
	Porcentaje células totales nucleadas	0.013 (0.0047-0.28)	0.0034 (0.0015-0.014)	0.054
CEC (mediana (RIQ))	Número absoluto(/μL)	0.56 (0.34-1.57)	0.20 (0.11-0.77)	0.049
ICAM-1/CD54 (ng/mL)		260.5 (188.56-290.90)	256.74 (210.79-391.62)	1.0
VEGF (pg/mL)		338.9 (99.10-669.9)	91.70 (70.70-184.1)	0.12
Fractalkina/CX3CL1 (pg/mL)		387.60 (222.30-597.90)	98.00 (82.30-193.02)	0.044
P-selectin/CD62p (ng/mL)		18.54 (16.12-25.09)	13.41 (10.28-28.72)	0.65

* WBC: white blood cells; RIQ: rango intercuartil

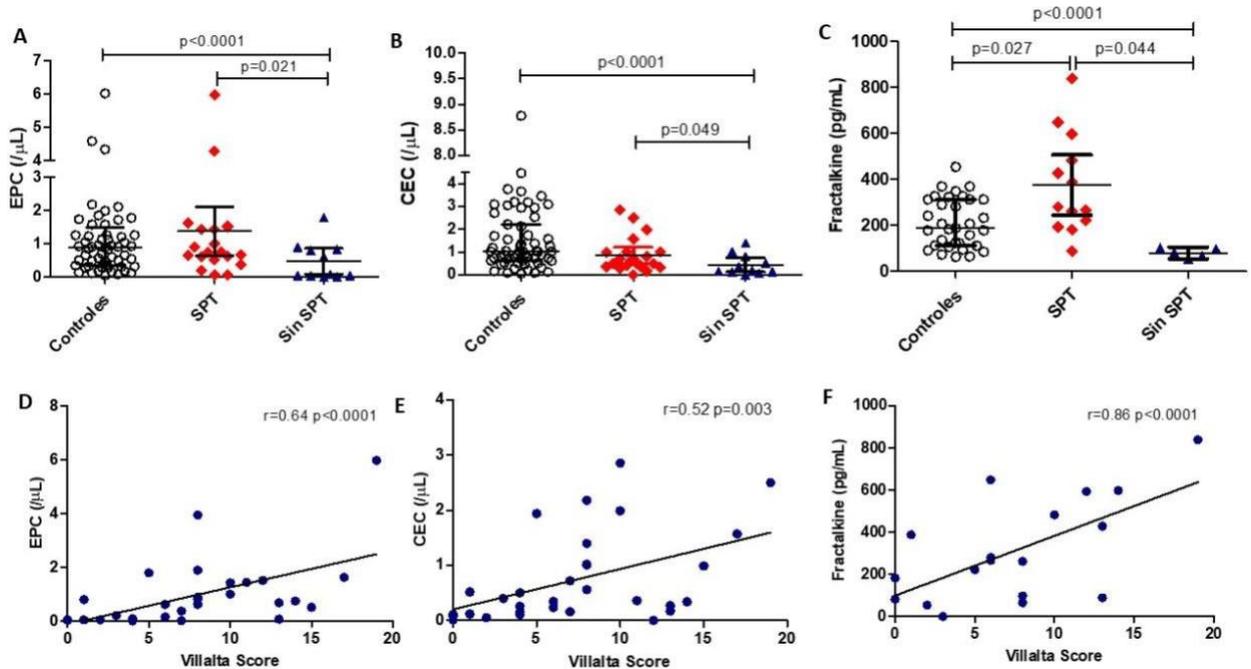


FIGURA 6. NIVELES DE CPE, CEC Y FRACTALKINA EN PACIENTES CON Y SIN SPT Y CONTROLES. CORRELACIÓN CON SCORE DE VILLALTA.

A, B y C: Niveles de EPC, CEC y fractalkina en controles y pacientes con y sin SPT. Los datos mostrados son la mediana y el rango intercuartil. Las barras indican el valor de p y las diferencias significativas. D, E y F. Correlaciones lineales entre el VS y EPC, CEC y fractalkina. Se muestran el coeficiente de correlación de Pearson (R Pearson) y el valor de p.

La fractalkina se incrementó en pacientes con síndrome posttrombótico y tuvo una fuerte correlación con el score de Villalta.

En cuanto a los biomarcadores endoteliales solubles, los resultados indican que no hubo diferencias significativas en los niveles de ICAM-1, VEGF y P-selectina entre los pacientes con y sin SPT. Sin embargo, los niveles de fractalkina se incrementaron notablemente en pacientes con SPT, alcanzando concentraciones 4 veces mayores que en pacientes sin SPT (387.60 pg/mL vs. 98.00 pg/mL, $p = 0.044$) (Tabla 11 y Figura 6 c). Este aumento en la fractalkina fue más pronunciado en pacientes con SPT moderado o severo ($VS \geq 10$), que mostraron niveles de fractalkina significativamente mayores en comparación con aquellos con SPT leve (455.5 pg/mL vs. 60.3 pg/mL, $p = 0.024$). Además, los niveles de fractalkina en pacientes con SPT fueron superiores a los observados en controles, lo que sugiere que el SPT induce la producción de fractalkina, un marcador que podría estar implicado en la progresión del SPT y en el mantenimiento de un estado inflamatorio crónico en estos pacientes.

La fractalkina también mostró una correlación lineal fuerte con la puntuación del VS ($r = 0.86$), lo cual indica que este biomarcador podría ser útil no solo para evaluar la presencia del SPT, sino también para determinar su severidad (Figura 6f). Estos

resultados sugieren que, a diferencia de otros biomarcadores endoteliales, la fractalkina podría desempeñar un papel central en la patogenia del SPT al contribuir a la inflamación y al reclutamiento de células inmunitarias en el sitio de daño vascular.

En contraste, aunque los niveles de P-selectina no mostraron diferencias significativas entre los grupos de pacientes con y sin SPT, se observó que los pacientes con SPT moderado o severo ($VS \geq 10$) presentaron niveles de P-selectina más elevados que aquellos con SPT leve (18.54 ng/mL vs. 13.41 ng/mL, $p=0.012$). Este incremento podría estar relacionado con la gravedad de la disfunción endotelial y sugiere que, al igual que la fractalkina, la P-selectina podría ser un marcador de la severidad del SPT, particularmente en su forma más avanzada.

5.3 Discusión

El papel esencial de las CPE y las CEC en la organización y recanalización de los trombos venosos nos llevó a explorar su asociación con el desarrollo del SPT. Este estudio es el primero en mostrar una relación directa entre los niveles de CPE y CEC y el SPT, sugiriendo que estas células podrían ser biomarcadores potenciales para la severidad del SPT, además de posibles objetivos terapéuticos para la prevención y manejo de esta complicación a largo plazo.

La terapia anticoagulante ha demostrado ser eficaz en la prevención de la propagación y recurrencia de la TVP; sin embargo, no está diseñada para evitar el desarrollo del SPT, que es una de las complicaciones más prevalentes y debilitantes a largo plazo de la TVP. Aún no se comprende completamente por qué algunos pacientes desarrollan SPT y otros no, lo que resalta la necesidad de identificar nuevos biomarcadores para predecir la susceptibilidad al SPT y de explorar estrategias terapéuticas adicionales para mejorar la reparación vascular y prevenir esta complicación. (205)

Nuestros resultados indican que los pacientes con SPT presentan un aumento significativo en los niveles de CPE y CEC en comparación con aquellos sin SPT. En el contexto de TVP, este aumento podría reflejar una respuesta del cuerpo para intentar reparar el daño endotelial inducido por la inflamación y la recanalización del trombo. La literatura apoya el papel de las CPE en la neovascularización y la recanalización de los trombos. Se ha demostrado que estas células pueden secretar factores angiogénicos y promover la restauración del endotelio dañado, favoreciendo la recanalización de las venas afectadas. Sin embargo, aunque el aumento de CPE y CEC en nuestros pacientes con SPT sugiere una movilización endotelial en respuesta al daño crónico, el hecho de que solo alcancen niveles comparables a los de los controles sanos y no los superen sugiere que esta movilización puede no ser suficiente para una reparación endotelial completa.

Estos hallazgos son consistentes con estudios previos en modelos animales y en humanos, que han demostrado que las CPE pueden facilitar la recanalización

venosa. Sin embargo, también respaldan la idea de que el daño persistente al endotelio y la inflamación crónica asociada al SPT podrían interferir con la capacidad regenerativa de estas células, limitando su eficacia en el proceso de reparación endotelial.

Además de las CPE y CEC, evaluamos la relevancia de biomarcadores solubles como ICAM-1, VEGF, fractalkina y P-selectina en el SPT. De estos, la fractalkina mostró una elevación significativa en los pacientes con SPT, además de una fuerte correlación con la gravedad del síndrome medida mediante el Villalta Score. Este resultado sugiere que la fractalkina podría no solo ser un indicador útil de la presencia de SPT, sino también de su progresión y severidad.

La fractalkina es una quimioquina única que actúa tanto como molécula soluble como de membrana, promoviendo la adhesión y quimiotaxis de células inmunitarias al endotelio activado. Este proceso de adhesión y migración de leucocitos es fundamental en la respuesta inflamatoria, lo que hace plausible que la fractalkina contribuya a la perpetuación de la inflamación crónica en el SPT. (206) La activación endotelial crónica y la inflamación resultantes podrían contribuir a un ciclo de daño y reparación endotelial ineficaz, en el cual la fractalkina desempeña un papel importante. Este proceso es similar al observado en condiciones como la aterosclerosis, donde se ha demostrado que la fractalkina está relacionada con la inflamación vascular crónica y el daño endotelial progresivo. Además, la fractalkina y su receptor CX3CR1 están implicados en la movilización y activación de células inmunitarias, como monocitos y linfocitos T, que se infiltran en el tejido venoso, exacerbando el proceso inflamatorio en el SPT.

La P-selectina, aunque no mostró una diferencia significativa entre los pacientes con y sin SPT, presentó niveles elevados en pacientes con SPT de mayor gravedad. Esto sugiere que la P-selectina podría ser relevante en etapas más avanzadas o severas del SPT, y su elevación puede estar más relacionada con la activación plaquetaria y la adhesión leucocitaria en el contexto de inflamación aguda. Dado que la P-selectina facilita la agregación y activación de plaquetas, así como la adhesión de leucocitos al endotelio, este biomarcador podría ser relevante en las fases tempranas de la formación de trombos, pero menos crítico en la etapa crónica y estable del SPT.

Nuestros resultados subrayan la importancia potencial de las CPE y CEC como biomarcadores de la respuesta reparadora en el SPT. Su movilización y aumento en el contexto de daño endotelial sugieren que podrían ser utilizados no solo para predecir la evolución del SPT, sino también para guiar el desarrollo de terapias que mejoren la regeneración endotelial. Estas terapias podrían incluir estrategias que aumenten la eficacia de la movilización de CPE, como la administración de factores de crecimiento específicos o intervenciones celulares que restauren la funcionalidad de estas células.

La fractalkina, en particular, representa un objetivo terapéutico prometedor. La intervención sobre la vía de la fractalkina podría reducir la inflamación crónica y

mejorar la función endotelial en pacientes con SPT. Además, su correlación con la severidad del SPT sugiere que podría ser útil como marcador para estratificar el riesgo y guiar las decisiones clínicas en pacientes con alto riesgo de progresión del SPT.

A diferencia de la fractalkina, ICAM-1 y VEGF no mostraron diferencias significativas entre los grupos, lo que está en línea con estudios previos que han demostrado que estos biomarcadores pueden ser más relevantes en la fase aguda de la TVP y menos en la fase crónica. Por ejemplo, estudios como el de Rabinovich et al. (110) han encontrado que los niveles de ICAM-1 son más altos durante las fases agudas y subagudas, pero no difieren en la fase crónica de la TEV. Estos datos sugieren que la activación endotelial en el SPT puede estar mediada más por vías inflamatorias como la fractalkina que por la adhesión celular generalizada, reflejada en ICAM-1.

En conclusión, este estudio proporciona evidencia de que el SPT se asocia con niveles elevados de CPE, CEC y fractalkina, lo cual indica que estos elementos podrían jugar un papel fundamental en la patogenia del SPT y ser útiles como biomarcadores para la evaluación de su severidad. La fractalkina, en particular, se perfila como un biomarcador relevante y un objetivo terapéutico prometedor en el SPT. Estos hallazgos abren la puerta a futuras investigaciones que exploren la intervención sobre las vías endoteliales y antiinflamatorias en el tratamiento del SPT. Además, las CPE podrían representar un biomarcador clínico útil y un nuevo objetivo terapéutico en el manejo y prevención del SPT, dado su papel en la reparación endotelial. Se requiere de más investigación para confirmar el valor pronóstico de estos biomarcadores y para desarrollar estrategias terapéuticas efectivas que mejoren la función endotelial y reduzcan las complicaciones a largo plazo en pacientes con TVP y SPT.

CAPÍTULO 6.- Marcadores endoteliales en recurrencia TEV

6.1-Objetivo

Analizar la relación entre los niveles de células progenitoras, CPE, CEC y biomarcadores endoteliales con la recurrencia de la TEV.

6.2 Resultados

Datos demográficos y clínicos de pacientes con trombosis venosa profunda y controles.

Se incluyeron 31 pacientes con TVP, de los cuales 16 presentaron episodios recurrentes de TEV y 15 no experimentaron recurrencias. Las características demográficas y clínicas se muestran en la Tabla 12, donde no se observaron diferencias significativas en la distribución de edad y sexo entre los pacientes con TEV recurrente y aquellos sin recurrencia. La mediana de edad en el grupo con recurrencia fue de 61 años (RIQ: 61-89), mientras que en el grupo sin recurrencia fue de 68 años (RIQ: 53-87), sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0.80$). La proporción de mujeres respecto a hombres fue mayor en el grupo con recurrencia (3:1) en comparación con el grupo sin recurrencia (1.1:1), aunque esta diferencia tampoco alcanzó significancia estadística ($p=0.20$).

Entre las condiciones predisponentes a TVP provocada, se identificaron factores de riesgo como cáncer ($n=4$), síndrome antifosfolípido ($n=4$), hospitalización reciente ($n=3$), uso de anticonceptivos hormonales ($n=2$), cirugía ($n=2$), terapia con estrógenos, y embarazo o puerperio ($n=2$). Todos los pacientes incluidos en el estudio se encontraban bajo terapia anticoagulante: el 77% recibía warfarina, el 16% anticoagulantes orales directos (DOAC), y el 8% enoxaparina.

Al analizar las diferencias clínicas entre ambos grupos, encontramos que los pacientes con TEV recurrente presentaban una mayor incidencia de síndrome

postrombótico (SPT), con un 87.5% frente al 40% en el grupo sin recurrencia, lo cual fue estadísticamente significativo ($p=0.001$). No se observaron diferencias significativas en la proporción de TEV provocada versus no provocada ni en la distribución de TVP proximal o distal entre los grupos ($p=0.61$ y $p=0.52$, respectivamente). Dada la asociación observada entre el SPT y la recurrencia de TVP, se realizó un análisis multivariado. Sin embargo, los resultados no fueron concluyentes debido al bajo número de pacientes incluidos en el estudio. Es probable que la presencia de SPT y la recurrencia estén introduciendo un sesgo en los resultados obtenidos.

TABLA 12. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y DEMOGRÁFICAS SEGÚN RECURRENCIA

	TEV recurrente (n=16)	TEV sin recurrencia (n=15)	Valor p
Edad: mediana (RIQ)	61 (61-89)	68 (53-87)	0.80
Sexo (femenino:masculino)	3:1	1.1:1	0.20
Tabaquismo ,n (%)	1 (6.25)	4 (26.6)	0.10
Diabetes ,n (%)	2 (12.5)	5 (33.3)	0.23
Hipertensión arterial, n (%)	5 (31.3)	8 (53.3)	0.06
TVP Provocada/ No provocada	6/10	7/8	0.61
TVP Proximal/Distal	13/3	10/5	0.52
Asociación de EP, n (%)	2 (12.5)	3 (20)	0.12
SPT, n (%)	14 (87.5)	6 (40)	0.001
Anticoagulación			0.096
Warfarina, n (%)	11 (68.8)	12 (80)	
HBPM, n(%)	0 (0)	2 (13.3)	
Anticoagulantes directos ,n(%)	5 (31.3)	1 (6.6)	

*RIQ: rango intercuartil; TVP: trombosis venosa profunda; EP: embolia pulmonar; SPT: síndrome post-trombótico; HBPM: Heparina Bajo Peso Molecular; NA: no aplica.

Las células progenitoras CD34+CD45low/-, CPE y CEC están incrementadas en pacientes con TVP recurrente

Como se muestra en la Figura 7, los pacientes con TEV recurrente tenían niveles más altos de células progenitoras CD34+CD45low/- y de CPE en comparación con aquellos sin recurrencia. Los pacientes con recurrencia presentaron una mediana del número absoluto de células progenitoras CD34+CD45low/- de 1.75 células/ μ L, frente a 1.24 células/ μ L en el grupo sin recurrencia ($p=0.058$). Aunque la diferencia en CPE no fue significativa en términos relativos (porcentaje de células totales nucleadas), el número absoluto fue notablemente mayor en el grupo recurrente

(mediana: 0.71 células/ μL) en comparación con el grupo sin recurrencia (mediana: 0.080 células/ μL), alcanzando significancia estadística ($p=0.031$).

También se observó una tendencia hacia mayores niveles de CEC en el grupo con TEV recurrente, con un número absoluto mediano de 0.64 células/ μL frente a 0.26 células/ μL en el grupo sin recurrencia ($p=0.064$). Estos resultados sugieren que tanto las CPE como las CEC están incrementadas en pacientes con episodios recurrentes de TVP, lo que podría estar relacionado con una activación endotelial persistente en respuesta a la inflamación y el daño crónico de la pared vascular.

Similar a lo observado en análisis de SPT, los pacientes con recurrencia tienen valores similares a los controles.

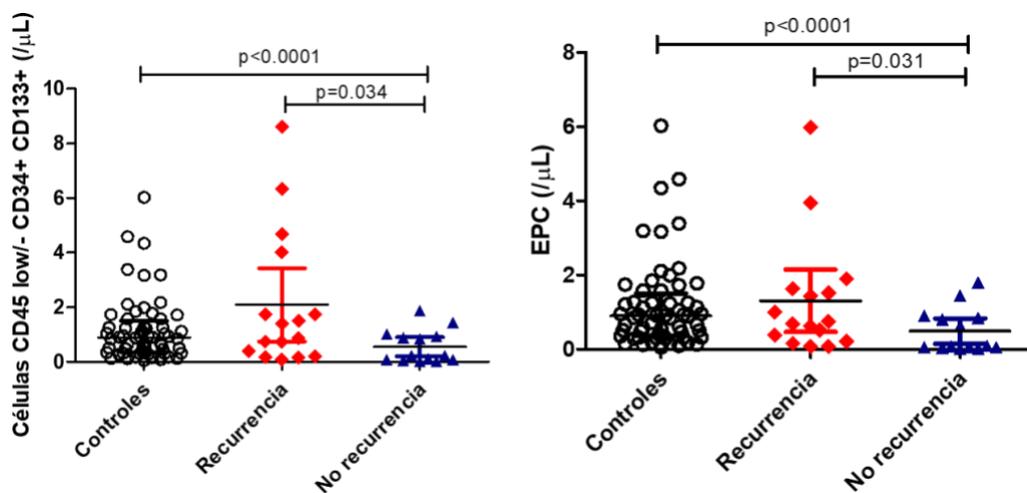


FIGURA 7. NIVELES DE CÉLULAS PROGENITORAS Y EPC EN CONTROLES Y PACIENTES CON Y SIN RECURRENCIA DE TEV

Los datos mostrados son la mediana y el rango intercuartil. Las barras indican el valor de p y las diferencias significativas.

Los biomarcadores endoteliales solubles son similares en pacientes con trombosis venosa profunda y controles.

Respecto a los biomarcadores endoteliales solubles, como ICAM-1, VEGF, fractalkina y P-selectina, no se observaron diferencias significativas entre los pacientes con TEV recurrente y aquellos sin recurrencia. Los niveles medianos de ICAM-1 fueron similares entre ambos grupos ($p=0.48$), y aunque los niveles de fractalkina mostraron una tendencia a ser más altos en el grupo con recurrencia (mediana: 387.60 pg/mL) en comparación con el grupo sin recurrencia (mediana: 135.40 pg/mL), esta diferencia no alcanzó significancia estadística ($p=0.059$). De manera similar, los niveles de VEGF y P-selectina no mostraron diferencias significativas entre los grupos ($p=0.32$ y $p=0.74$, respectivamente). Tabla 13

TABLA 13. MARCADORES ENDOTELIALES EN PACIENTES CON Y SIN RECURRENCIA

		TEV recurrente (n=16)	TEV sin recurrencia (n=15)	Valor p
WBC (/mm³) (mediana (RIQ))		6800 (5700-13700)	5650.00 (4700-10700)	0.15
Células progenitoras CD34⁺CD45^{low/-} (mediana (RIQ))	Porcentaje células totales nucleadas	0.03 (0.012-0.15)	0.020 (0.0040-0.082)	0.038
	Número absoluto(/μL)	1.75 (1.16-12.45)	1.24 (0.21-5.05)	0.058
Células progenitoras CD34⁺CD45^{low/-}CD133⁺ (mediana (RIQ))	Porcentaje células totales nucleadas	0.012 (0.0054-0.087)	0.036 (0.0011-0.030)	0.064
	Número absoluto(/μL)	1.14 (0.31-8.61)	0.23 (0.08-1.87)	0.034
CPE (mediana (RIQ))	Porcentaje células totales nucleadas	0.0083 (0.0048-0.082)	0.0015 (0.00085-0.030)	0.058
	Número absoluto(/μL)	0.71 (0.30-5.98)	0.080 (0.05-1.80)	0.031
CEC (mediana (RIQ))	Porcentaje células totales nucleadas	0.014 (0.0045-0.042)	0.0046 (0.0016-0.027)	0.047
	Número absoluto(/μL)	0.64 (0.26-2.86)	0.26 (0.11-1.94)	0.064
ICAM-1/CD54 (ng/mL)		248.09 (188.56-635.86)	258.60 (237.14-600.70)	0.48
VEGF (pg/mL)		338.90 (99.10-757.80)	142.15 (80.85-649.90)	0.32
Fractalkina/CX3CL1 (pg/mL)		387.60 (262.00-837.90)	135.40 (73.65-647.90)	0.059
P-selectin/CD62p (ng/mL)		18.54 (16.65-38.31)	18.87 (9.92-29.80)	0.74

* WBC: white blood cells; RIQ: rango intercuartil

6.3 Discusión

Este estudio analiza las diferencias clínicas y biomarcadores endoteliales en pacientes con TVP recurrente y no recurrente. Comparando estos hallazgos con la

literatura existente, se explora cómo estos factores pueden contribuir a una mejor comprensión de los procesos subyacentes en la evolución de la TVP hacia complicaciones crónicas.

Los pacientes estudiados presentaron una mediana de edad superior a la reportada en estudios más amplios de pacientes con TVP. No se observaron diferencias significativas en edad o sexo entre los grupos de recurrencia y no recurrencia, lo cual es consistente con estudios que señalan que la recurrencia de TEV no está necesariamente asociada a estos factores demográficos básicos. Sin embargo, otros estudios, como el de Baglin et al. (207) sugieren que ciertos subgrupos demográficos, especialmente los hombres y personas mayores, pueden tener un mayor riesgo de recurrencia, algo que no se observó en nuestra muestra, probablemente debido al tamaño limitado de la misma.

Entre los factores predisponentes de TVP provocada se incluyen el cáncer, el síndrome antifosfolípido y factores relacionados con inmovilización o tratamientos hormonales. En la literatura, el cáncer y el síndrome antifosfolípido están bien establecidos como factores de riesgo significativos para la recurrencia de TVP y el desarrollo de complicaciones a largo plazo. (201) Un metaanálisis de Prandoni et al. (47) demostró que la recurrencia de TVP en pacientes con cáncer es aproximadamente 3-4 veces mayor que en pacientes sin cáncer, lo que subraya la importancia de estos factores predisponentes.

Un hallazgo notable de este estudio es la mayor prevalencia de SPT en pacientes con TEV recurrente (87.5%) en comparación con el grupo sin recurrencia (40%), alcanzando significancia estadística ($p=0.001$). La literatura apoya la relación entre recurrencia de TVP y la aparición de SPT. Estudios como el de Villalta et al. (69) y Kahn et al. (72) han descrito cómo los episodios recurrentes de TEV incrementan el riesgo de daño venoso permanente y la progresión hacia el SPT. En pacientes con TEV recurrente, el endotelio sufre un daño continuo, lo que lleva a una remodelación vascular anómala, disfunción de las válvulas venosas y a un mayor riesgo de edema crónico y fibrosis tisular, factores que son determinantes en el desarrollo del SPT.

En este estudio, los niveles de CPE y CEC fueron significativamente mayores en el grupo con TEV recurrente en comparación con aquellos sin recurrencia. La mediana del número absoluto de células progenitoras CD34+CD45low/- fue de 1.75 células/ μ L en el grupo recurrente frente a 1.24 células/ μ L en el grupo sin recurrencia ($p=0.058$). Este incremento en niveles de CPE y CEC podría ser un reflejo de una activación endotelial persistente y una respuesta regenerativa que se ha observado también en estudios previos. Asahara et al. (168), quienes describieron por primera vez las CPE, demostraron que estas células se movilizan desde la médula ósea en respuesta a daño vascular e inflamación, facilitando la reendotelización. Por otro lado, estudios de Hill et al. (208) y Werner et al. (163) han reportado niveles elevados de CPE y CEC en enfermedades cardiovasculares como la aterosclerosis y el infarto de miocardio, sugiriendo un intento del organismo por reparar el endotelio dañado.

En el contexto de la TVP, el incremento en CPE y CEC en pacientes con recurrencia sugiere un intento de reparación vascular constante, pero insuficiente, lo que podría

contribuir a una inadecuada regeneración endotelial y perpetuar la disfunción vascular. La literatura sobre TVP y CPE es limitada, aunque los estudios en modelos animales, apoyan la idea de que la movilización de CPE podría estar asociada con un estado inflamatorio crónico en la TVP recurrente.

En cuanto a los biomarcadores endoteliales solubles, no se encontraron diferencias significativas entre los pacientes con TEV recurrente y aquellos sin recurrencia. Esto se alinea parcialmente con estudios que sugieren que los marcadores solubles, como ICAM-1 y P-selectina, son más útiles en fases agudas de TVP y no en su fase crónica.

La fractalkina mostró una tendencia a niveles elevados en el grupo recurrente, aunque sin alcanzar significancia estadística. Este resultado está alineado con estudios sobre enfermedades cardiovasculares crónicas, como los de Umehara et al. (191,197), quienes encontraron que la fractalkina está implicada en procesos inflamatorios y remodelación endotelial. La fractalkina, como quimiocina, podría estar asociada a un reclutamiento constante de células inmunes y endoteliales, facilitando así la formación de un entorno proinflamatorio y procoagulante en el endotelio dañado, especialmente en el contexto de TVP recurrente.

En conclusión, este estudio apoya la idea de que la recurrencia de TEV está significativamente asociada con el desarrollo de SPT y que los niveles elevados de CPE y CEC reflejan una activación endotelial continua en pacientes con recurrencia de TVP. Aunque los biomarcadores solubles no mostraron diferencias significativas en la fase crónica de la TVP, estos resultados sugieren que la recurrencia podría inducir un estado de inflamación persistente que activa el endotelio y moviliza células progenitoras. Estudios futuros con muestras más grandes y un diseño prospectivo ayudarían a clarificar el papel de estos biomarcadores en la prevención y tratamiento del SPT y podrían establecer un perfil de riesgo más robusto para pacientes con TEV recurrente.

Limitaciones del Estudio y Futuras Direcciones

Es importante señalar que, aunque los resultados muestran tendencias interesantes, el tamaño de muestra limitado limita la potencia estadística de los hallazgos y la capacidad de generalizar estos resultados a una población más amplia. La relación observada entre la recurrencia y el SPT sugiere un sesgo potencial, y se necesitarían estudios adicionales con un mayor número de pacientes para confirmar estas asociaciones. Además, el análisis multivariado no proporcionó resultados concluyentes, lo que refuerza la necesidad de ampliar la muestra para evaluar el impacto de factores adicionales.

CAPÍTULO 7.- Conclusiones finales

Este estudio aporta evidencia relevante sobre el papel de los biomarcadores endoteliales, particularmente las poblaciones de células progenitoras, CPE, CEC y ciertos biomarcadores solubles, en la fisiopatología de la TVP, la recurrencia y su progresión hacia el SPT.

Los resultados muestran una clara asociación entre la recurrencia de TEV y la incidencia de SPT, con un porcentaje significativamente mayor de pacientes con TEV recurrente que desarrolla SPT en comparación con aquellos sin recurrencia. Estos hallazgos son consistentes con la literatura, que ha señalado que los episodios recurrentes de TEV pueden llevar a un daño endotelial acumulativo, inflamación crónica y, en última instancia, a una remodelación venosa anormal que favorece la aparición de SPT. Esta observación subraya la necesidad de un manejo más enfocado en la prevención de recurrencias como medida para reducir la carga de SPT en pacientes con TEV.

La población celular más adecuada para medir como biomarcador debe ser evaluada en estudios prospectivos, pero podría ser más clínicamente aplicable utilizar las células progenitoras CD34+CD45low/- en su conjunto debido a su mayor cantidad circulante, lo que podría ofrecer una mayor precisión. Además, al medir este grupo celular, se simplificaría el análisis y se reducirían los costos asociados a la caracterización de subpoblaciones específicas. A futuro, esta estrategia podría facilitar su implementación en la práctica clínica, permitiendo un monitoreo más eficiente y accesible de la actividad endotelial en pacientes con alto riesgo de desarrollar complicaciones tromboembólicas.

Este hallazgo plantea la posibilidad de que las células progenitoras, CPE y CEC no solo se consideren biomarcadores del daño endotelial, sino también posibles objetivos terapéuticos. Modificar la respuesta de estas células o mejorar su eficacia regenerativa podría abrir nuevas vías para prevenir el desarrollo de SPT en pacientes con TEV.

Los niveles elevados de células progenitoras, CPE y CEC en pacientes con TEV recurrente indican una movilización de estas células progenitoras en respuesta al daño endotelial persistente. La función de las CPE y CEC en la reparación endotelial y la promoción de la reendotelización sugiere que estos pacientes experimentan una activación crónica de procesos regenerativos, aunque insuficientes para restaurar completamente la función venosa y prevenir complicaciones como el SPT. La literatura apoya esta hipótesis, mostrando que las células progenitoras, CPE y CEC están involucradas en enfermedades cardiovasculares, como la aterosclerosis, donde su movilización se asocia con un intento de regeneración endotelial frente al daño sostenido.

En contraste, los biomarcadores endoteliales solubles, como ICAM-1, VEGF y P-selectina, no mostraron diferencias significativas entre pacientes con y sin SPT o recurrencia de TEV en la fase crónica de la enfermedad. Este resultado sugiere que estos biomarcadores pueden ser más útiles en la fase aguda de la TVP, cuando

reflejan daño y activación endotelial inmediata, pero podrían estabilizarse en la fase crónica. La fractalkina, sin embargo, mostró una tendencia a niveles más altos en pacientes con SPT, lo cual fue además consistente con estudios que demuestran su papel en la inflamación crónica y remodelación endotelial.

La fractalkina, debido a su papel en la quimiotaxis y la adhesión célula-célula, podría ser un biomarcador útil para el seguimiento del SPT y potencialmente una diana terapéutica. Este hallazgo abre la puerta a investigaciones futuras sobre la capacidad de la fractalkina para predecir y monitorear la progresión del SPT y su impacto en la inflamación vascular crónica.

Los resultados de este estudio subrayan la importancia de las células progenitoras, CPE, CEC y fractalkina como marcadores potenciales en la evolución de la TVP hacia el SPT y proporcionan una base para estudios adicionales.

Las futuras investigaciones deberían enfocarse en confirmar estos hallazgos en estudios con mayor tamaño de muestra y diseño prospectivo, lo cual permitiría analizar el papel de estos biomarcadores a lo largo de la evolución de la TVP y el SPT. Además, evaluar la intervención en la respuesta de las CPE y CEC, bien sea mediante terapias farmacológicas o enfoques biológicos, para potenciar su papel en la reparación endotelial. La modulación de estos mecanismos podría ayudar a reducir la progresión del SPT en pacientes con alto riesgo de recurrencia. Sería interesante explorar el papel de la fractalkina como un biomarcador de monitoreo y diana terapéutica. Investigar cómo la regulación de fractalkina podría mitigar el proceso inflamatorio crónico en el SPT, abriría la posibilidad de mejorar la calidad de vida de estos pacientes mediante el control de la inflamación vascular persistente.

CAPÍTULO 8.- Referencias

1. Girard P, Musset D, Parent F, Maitre S, Phlippoteau C, Simonneau G. High prevalence of detectable deep venous thrombosis in patients with acute pulmonary embolism. *Chest*. 1999;116(4):903-8.
2. Monreal M, Ruiz J, Fraile M, Bonet M, Davant E, Muchart J, et al. Prospective study on the usefulness of lung scan in patients with deep vein thrombosis of the lower limbs. *Thromb Haemost*. 2001;85(5):771-4.
3. Cohen AT, Agnelli G, Anderson FA, Arcelus JI, Bergqvist D, Brecht JG, et al. Venous thromboembolism (VTE) in Europe. The number of VTE events and associated morbidity and mortality. *Thromb Haemost*. 2007;98(4):756-64.
4. Guijarro R, Montes J, Sanromán C, Monreal M; RIETE Investigators. Venous thromboembolism in Spain. Comparison between an administrative database and the RIETE registry. *Eur J Intern Med*. 2008 Oct;19(6):443-6. doi: 10.1016/j.ejim.2007.06.026. Epub 2008 Mar 4. PMID: 18848178.
5. Keller K, Hobohm L, Ebner M, Kresoja KP, Münzel T, Konstantinides SV, et al. Trends in thrombolytic treatment and outcomes of acute pulmonary embolism in Germany. *Eur Heart J*. 2020;41(4):522-9.
6. Wendelboe AM, Raskob GE. Global Burden of Thrombosis: Epidemiologic Aspects. *Circ Res*. 2016;118(9):1340-7.
7. Lehnert P, Lange T, Møller CH, Olsen PS, Carlsen J. Acute Pulmonary Embolism in a National Danish Cohort: Increasing Incidence and Decreasing Mortality. *Thromb Haemost*. 2018;118(3):539-46.
8. Khalafallah A, Kirkby BE, Wong S, Foong YC, Ranjan N, Luttrell J, et al. Venous thromboembolism in medical patients during hospitalisation and 3 months after hospitalisation: A prospective observational study. *BMJ Open*. 2016; 6(8):e012346.
9. Rowswell HR, Nokes TJC. Significant reduction in hospital-acquired thrombosis: impact of national risk assessment and real-time feedback. *Open Heart*. 2017;4:e000653.
10. Cés C, Coito C, Collazo S, de los Santos L, de León MB, Delgado, C. Incidencia de la enfermedad tromboembólica venosa en pacientes hospitalizados. Montevideo: Universidad de la República; 2018:26. Disponible en <https://hdl.handle.net/20.500.12008/33561>.

11. Pastori D, Cormaci VC, Marucci S, Franchino G, Del Sole F, Capozza A, et al. A Comprehensive Review of Risk Factors for Venous Thromboembolism: From Epidemiology to Pathophysiology. *Int J Mol Sci.* 2023;24(4):3169.
12. Cogo A, Lensing AW, Prandoni P, Hirsh J. Distribution of thrombosis in patients with symptomatic deep vein thrombosis. Implications for simplifying the diagnostic process with compression ultrasound. *Arch Intern Med.* 1993;153(24):2777-80.
13. Kearon C. Natural history of venous thromboembolism. *Circulation.* 2003;107(23 Suppl 1):I22-30.
14. Moser KM, Fedullo PF, LitteJohn JK, Crawford R. Frequent asymptomatic pulmonary embolism in patients with deep venous thrombosis. *JAMA.* 1994;271(3):223-5.
15. Dalen JE. Pulmonary embolism: what have we learned since Virchow? Natural history, pathophysiology, and diagnosis. *Chest.* 2002;122(4):1440-56.
16. PIOPED Investigators. Value of the ventilation/perfusion scan in acute pulmonary embolism. Results of the prospective investigation of pulmonary embolism diagnosis (PIOPED). *JAMA.* 1990;263(20):2753-9.
17. Wells PS, Anderson DR, Bormanis J, Guy F, Mitchell M, Gray L, et al. Value of assessment of pretest probability of deep-vein thrombosis in clinical management. *Lancet.* 1997;350(9094):1795-8.
18. Stevens SM, Woller SC, Baumann Kreuziger L, Bounameaux H, Doerschug K, Geersing GJ, et al. Antithrombotic Therapy for VTE Disease Second Update of the CHEST Guideline and Expert Panel Report. *Chest.* 2021;160(6):e545-e608.
19. Perrier A, Desmarais S, Miron MJ, de Moerloose P, Lepage R, Slosman D, et al. Non-invasive diagnosis of venous thromboembolism in outpatients. *Lancet.* 1999;353(9148):190-5.
20. Bounameaux H, de Moerloose P, Perrier A, Reber G. Plasma measurement of D-dimer as diagnostic aid in suspected venous thromboembolism: an overview. *Thromb Haemost.* 1994;71(1):1-6.
21. Popat A, Harikrishnan S, Seby N, Sen U, Patel SK, Mittal L, et al. Utilization of Point-of-Care Ultrasound as an Imaging Modality in the Emergency Department: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cureus.* 2024;16(1):e52371.
22. Mos ICM, Klok FA, Kroft LJM, De Roos A, Dekkers OM, Huisman MV. Safety of ruling out acute pulmonary embolism by normal computed tomography pulmonary angiography in patients with an indication for computed tomography: systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost.* 2009;7(9):1491-8.
23. Limone BL, Hernandez AV, Michalak D, Bookhart BK, Coleman CI. Timing of recurrent venous thromboembolism early after the index event: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Thromb Res.* 2013;132(4):420-6.

24. Amin EE, Bistervels IM, Meijer K, Tick LW, Middeldorp S, Mostard G, et al. Reduced incidence of vein occlusion and postthrombotic syndrome after immediate compression for deep vein thrombosis. *Blood*. 2018;132(21):2298-2304.
25. Kahn SR, Comerota AJ, Cushman M, Evans NS, Ginsberg JS, Goldenberg NA, et al. The postthrombotic syndrome: evidence-based prevention, diagnosis, and treatment strategies: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2014;130(18):1636-61.
26. Linnemann B, Blank W, Doenst T, Erbel C, Isfort P, Janssens U, et al. Diagnostics and Therapy of Venous Thrombosis and Pulmonary Embolism. The revised AWMF S2k Guideline. *Vasa*. 2023;52(S111):1-146.
27. Konstantinides SV, Meyer G, Becattini C, Bueno H, Geersing GJ, Harjola VP, et al. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS). *Eur Heart J*. 2020;41(4):543-603.
28. Schulman S, Kearon C, Kakkar AK, Mismetti P, Schellong S, Eriksson H, et al. Dabigatran versus warfarin in the treatment of acute venous thromboembolism. *N Engl J Med*. 2009;361(24):2342-52.
29. Schulman S, Kakkar AK, Goldhaber SZ, Schellong S, Eriksson H, Mismetti P, et al. Treatment of acute venous thromboembolism with dabigatran or warfarin and pooled analysis. *Circulation*. 2014;129(7):764-72.
30. EINSTEIN Investigators, Bauersachs R, Berkowitz SD, Brenner B, Buller HR, Decousus H, et al. Oral rivaroxaban for symptomatic venous thromboembolism. *N Engl J Med*. 2010;363(26):2499-510.
31. Hokusai-VTE Investigators, Büller HR, Décousus H, Grosso MA, Mercuri M, Middeldorp S, et al. Edoxaban versus warfarin for the treatment of symptomatic venous thromboembolism. *N Engl J Med*. 2013;369(15):1406-15.
32. EINSTEIN-PE Investigators, Büller HR, Prins MH, Lensin AWA, Decousus H, Jacobson BF, et al. Oral rivaroxaban for the treatment of symptomatic pulmonary embolism. *N Engl J Med*. 2012;366(14):1287-97.
33. Agnelli G, Buller HR, Cohen A, Curto M, Gallus AS, Johnson M, et al. Apixaban for extended treatment of venous thromboembolism. *N Engl J Med*. 2013;368(8):699-708.
34. Van der Hulle T, den Exter PL, Kooiman J, van der Hoeven JJM, Huisman MV, Klok FA. Meta-analysis of the efficacy and safety of new oral anticoagulants in patients with cancer-associated acute venous thromboembolism. *J Thromb Haemost*. 2014;12(7):1116-20.
35. Van Es N, Coppens M, Schulman S, Middeldorp S, Büller HR. Direct oral anticoagulants compared with vitamin K antagonists for acute venous thromboembolism: evidence from phase 3 trials. *Blood*. 2014;124(12):1968-75.
36. Kakkos SK, Gohel M, Baekgaard N, Bauersachs R, Bellmunt-Montoya S, Black SA, et al. Editor's Choice - European Society for Vascular Surgery (ESVS) 2021

- Clinical Practice Guidelines on the Management of Venous Thrombosis. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2021;61(1):9-82.
37. Broderick C, Watson L, Armon MP. Thrombolytic strategies versus standard anticoagulation for acute deep vein thrombosis of the lower limb. *Cochrane Database Syst Rev.* 2021;1(1):CD002783.
 38. Carrier M, Rodger MA, Wells PS, Righini M, Le Gal G. Residual vein obstruction to predict the risk of recurrent venous thromboembolism in patients with deep vein thrombosis: a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost.* 2011;9(6):1119-25.
 39. Donadini MP, Ageno W, Antonucci E, Cosmi B, Kovacs MJ, Le Gal G, et al. Prognostic significance of residual venous obstruction in patients with treated unprovoked deep vein thrombosis: a patient-level meta-analysis. *Thromb Haemost.* 2014;111(1):172-9.
 40. White RH. Identifying risk factors for venous thromboembolism. *Circulation.* 2012;125(17):2051-3.
 41. Van Es N, Le Gal G, Otten HM, et al. Screening for occult cancer in patients with unprovoked venous thromboembolism: a systematic review and meta-analysis of individual patient data. *Ann Intern Med.* 2017;167(6):410-7.
 42. Rosell A, Lundström S, Mackman N, Wallén H, Thålin C. A clinical practice-based evaluation of the RIETE score in predicting occult cancer in patients with venous thromboembolism. *J Thromb Thrombolysis.* 2019;48(1):111-8.
 43. Khan F, Tritschler T, Kimpton M, Wells PS, Kearon C, Weitz JI, et al. Long-term risk for major bleeding during extended oral anticoagulant therapy for first unprovoked venous thromboembolism: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med.* 2021;174(10):1420-29.
 44. Klok FA, Huisman MV. How I assess and manage the risk of bleeding in patients treated for venous thromboembolism. *Blood.* 2020;135(10):724-34.
 45. Badescu MC, Ciocoiu M, Badulescu OV, Vladeanu MC, Bojan IB, Vlad CE, et al. Prediction of bleeding events using the VTE-BLEED risk score in patients with venous thromboembolism receiving anticoagulant therapy (Review). *Exp Ther Med.* 2021;22(5):1344.
 46. Weitz JI, Lensing AWA, Prins MH, Bauersachs R, Beyer-Westendorf J, Bounameaux H, et al. Rivaroxaban or aspirin for extended treatment of venous thromboembolism. *N Engl J Med.* 2017;376(13):1211-22.
 47. Prandoni P, Lensing AWA, Prins MH, Bernardi E, Marchiori A, Bagatella P, et al. Residual venous thrombosis as a predictive factor of recurrent venous thromboembolism. *Ann Intern Med.* 2002;137(12):955-60.
 48. Siragusa S, Malato A, Anastasio R, Cigna V, Milio G, Amato C, et al. Residual vein thrombosis to establish duration of anticoagulation after a first episode of deep vein thrombosis: the Duration of Anticoagulation based on Compression UltraSonography (DACUS) study. *Blood.* 2008;112(3):511-5.
 49. Tan M, Mos ICM, Klok FA, Huisman MV. Residual venous thrombosis as predictive factor for recurrent venous thromboembolism in patients with

- proximal deep vein thrombosis: a systematic review. *Br J Haematol*. 2011;153(2):168-78.
50. Prandoni P, Prins MH, Lensing AWA, Ghirarduzzi A, Ageno W, Imberti D, et al. Residual thrombosis on ultrasonography to guide the duration of anticoagulation in patients with deep venous thrombosis: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2009;150(9):577-85.
 51. Palareti G, Legnani C, Cosmi B, Valdré L, Lunghi B, Bernardi F, et al. Predictive value of D-dimertest for recurrent venous thromboembolism after anticoagulation withdrawal in subjects with a previous idiopathic event and in carriers of congenital thrombophilia. *Circulation*. 2003;108(3):313-8.
 52. Cosmi B, Legnani C, Tosetto A, Pengo V, Ghirarduzzi A, Testa S, 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(3):481-8.
 53. Palareti G, Cosmi B, Legnani C, Tosetto A, Brusi C, Iorio A, et al; D-dimer testing to determine the duration of anticoagulation therapy. *N Engl J Med*. 2006;355(17):1780-9.
 54. Palareti G, Cosmi B, Legnani C, Antonucci E, De Micheli V, Ghirarduzzi A, et al. D-dimer to guide the duration of anticoagulation in patients with venous thromboembolism: a management study. *Blood*. 2014;124(2):196-203.
 55. Palareti G, Poli D, Ageno W, Legnani C, Antonucci E, Bucherini E, et al. D-dimer and reduced-dose apixaban for extended treatment after unprovoked venous thromboembolism: the Apidulcis study. *Blood Adv*. 2022;6(23):6005-15.
 56. Kearon C, Kahn SR. Long-term treatment of venous thromboembolism. *Blood*. 2020;135(5):317-25.
 57. Mearns ES, Coleman CI, Patel D, Saulsberry WJ, Corman A, Li D, et al. Index clinical manifestation of venous thromboembolism predicts early recurrence type and frequency: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Thromb Haemost*. 2015;13(6):1043-52.
 58. Palareti G, Legnani C, Antonucci E, Testa S, Mastroiacovo D, Cosmi B, et al. Management and outcomes of isolated distal deep vein thromboses: a questionable trend toward long-lasting anticoagulation treatment. Results from the START-Register. *TH Open*. 2021;5(3):e239-e250.
 59. Schellong S, Ageno W, Casella IB, Chee KH, Schulman S, Singer DE, et al. Profile of patients with isolated distal deep vein thrombosis versus proximal deep vein thrombosis or pulmonary embolism: RE-COVERY DVT/PE Study. *Semin Thromb Hemost*. 2022;48(4):446-58.
 60. Kirkilesis G, Kakkos SK, Bicknell C, Salim S, Kakavia K. Treatment of distal deep vein thrombosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020;4(4):CD013422.
 61. Dentali F, Barco S, Pegoraro S, Di Minno MND, Mastroiacovo D, Pomero F, et al. Residual vein obstruction in patients diagnosed with acute isolated distal deep vein thrombosis associated with active cancer. *J Thromb Thrombolysis*. 2018;46(3):404-8.

62. Galanaud JP, Sevestre MA, Pernod G, Genty C, Richelet S, Kahn SR, et al. Long-term outcomes of cancer-related isolated distal deep vein thrombosis: the OPTIMEV study. *J Thromb Haemost.* 2017;15(5):907-16.
63. Henry JC, Satiani B. Calf muscle venous thrombosis: a review of the clinical implications and therapy. *Vasc Endovascular Surg.* 2014;48(5-6):396-401.
64. Botella FG. [Thromboembolic venous disease]. Reflexiones sobre la enfermedad tromboembólica venosa. *An Med Interna.* 2003;20(9):447-50. Español.
65. Boutitie F, Pinede L, Schulman S, Agnelli G, Raskob G, Julian J, et al. Influence of preceding length of anticoagulant treatment and initial presentation of venous thromboembolism on risk of recurrence after stopping treatment: analysis of individual participants' data from seven trials. *BMJ.* 2011;342:d3036.
66. Baldwin MJ, Moore HM, Rudarakanchana N, Gohel M, Davies AH. Post-thrombotic syndrome: a clinical review. *J Thromb Haemost.* 2013;11(5):795-805.
67. MacDougall DA, Feliu AL, Boccuzzi SJ, Lin J. Economic burden of deep-vein thrombosis, pulmonary embolism, and post-thrombotic syndrome. *Am J Health-Syst Pharm.* 2006;63(20 Suppl 6):S5-15.
68. Bergan JJ, Schmid-Schönbein GW, Coleridge Smith PD, Nicolaidis AN, Boisseau MR, Eklof B. Chronic venous disease. *N Engl J Med.* 2006;355(5):488-98.
69. Villalta S, Piccioli A, Lensing A, Prins M, Prandoni P. Assessment of validity and reproducibility of a clinical scale for the post-thrombotic syndrome. *Haemostasis.* 1994;24(suppl 1).
70. Brandjes DP, Büller HR, Heijboer H, Huisman MV, de Rijk M, Jagt H, et al. Randomised trial of effect of compression stockings in patients with symptomatic proximal-vein thrombosis. *Lancet.* 1997;349(9054):759-62.
71. Ginsberg JS, Hirsh J, Julian J, Vander LaandeVries M, Magier D, MacKinnon B, et al. Prevention and treatment of postphlebotic syndrome: results of a 3- part study. *Arch Intern Med.* 2001;161(17):2105-9.
72. Kahn SR. Measurement properties of the Villalta scale to define and classify the severity of the post-thrombotic syndrome. *J Thromb Haemost.* 2009;7(5):884-8.
73. Kahn SR, Shrier I, Julian JA, Ducruet T, Arsenault L, Miron MJ, et al. Determinants and time course of the postthrombotic syndrome after acute deep venous thrombosis. *Ann Intern Med.* 2008;149(10):698-707.
74. Rabinovich A, Kahn SR. How I treat the postthrombotic syndrome. *Blood.* 2018;131(20):2215-22.
75. Tick LW, Kramer MHH, Rosendaal FR, Faber WR, Doggen CJM. Risk factors for post-thrombotic syndrome in patients with a first deep venous thrombosis. *J Thromb Haemost.* 2008;6(12):2075-81.

76. Stain M, Schönauer V, Minar E, Bialonczyk C, Hirschl M, Weltermann A, et al. The post-thrombotic syndrome: risk factors and impact on the course of thrombotic disease. *J Thromb Haemos.* 2005;3(12):2671-6.
77. Yamaki T, Hamahata A, Soejima K, Kono T, Nozaki M, Sakurai H. Factors predicting development of post-thrombotic syndrome in patients with a first episode of deep vein thrombosis: preliminary report. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2011;41(1):126-33.
78. Siddiqui NA, Sophie Z, Zafar F, Soares D, Naz I. Predictors for the development of post-thrombotic syndrome in patients with primary lower limb deep venous thrombosis: a case-control study. *Vascular.* 2017;25(1):10-8.
79. Delluc A, Guedard C, De Saint Martin L, Garcia C, Roguedas AM, Bressollette L, et al. [Incidence, risk factors and skin manifestations of post-thrombotic syndrome: a four-year follow-up of patients included in the EDITH study]. Incidence, facteurs de risque et signes cutanés de la maladie post-thrombotique: suivi à quatre ans des patients inclus dans l'étude EDITH. *Rev Med Interne.* 2010;31(11):729-34. Français.
80. Prandoni P, Lensing AW, Cogo A, Cuppini S, Villalta S, Carta M, et al. The long-term clinical course of acute deep venous thrombosis. *Ann Intern Med.* 1996;125(1):1-7.
81. Prandoni P, Villalta S, Bagatella P, Rossi L, Marchiori A, Piccioli A, et al. The clinical course of deep-vein thrombosis. Prospective long-term follow-up of 528 symptomatic patients. *Haematologica.* 1997;82(4):423-8.
82. Ende-Verhaar YM, Tick LW, Klok FA, Huisman MV, Rosendaal FR, le Cessie S, et al. Post-thrombotic syndrome: short and long-term incidence and risk factors. *Thromb Res.* 2019;177:102-9.
83. Galanaud JP, Holcroft CA, Rodger MA, Kovacs MJ, Betancourt MT, Wells PS, et al. Predictors of post-thrombotic syndrome in a population with a first deep vein thrombosis and no primary venous insufficiency. *J Thromb Haemost.* 2013;11(3):474-80.
84. Rattazzi M, Callegari E, Sponchiado A, Galliazzo S, Pagliara V, Villalta S, et al. Visceral obesity, but not metabolic syndrome, is associated with the presence of post-thrombotic syndrome. *Thromb Res.* 2015;136(2):225-8.
85. Chitsike RS, Rodger MA, Kovacs MJ, Betancourt MT, Wells PS, Anderson DR, et al. Risk of post-thrombotic syndrome after subtherapeutic warfarin anticoagulation for a first unprovoked deep vein thrombosis: results from the REVERSE study. *J Thromb Haemost.* 2012;10(10):2039-44.
86. Van Dongen CJJ, Prandoni P, Frulla M, Marchiori A, Prins MH, Hutten BA. Relation between quality of anticoagulant treatment and the development of the postthrombotic syndrome. *J Thromb Haemost.* 2005;3(5):939-42.
87. Ageno W, Piantanida E, Dentali F, Steidl L, Mera V, Squizzato A, et al. Body mass index is associated with the development of the post-thrombotic syndrome. *Thromb Haemost.* 2003;89(2):305-9.

88. Cucuruz B, Kopp R, Pfister K, Noppeney J, Tripal K, Korff T, et al. Risk and protective factors for post-thrombotic syndrome after deep venous thrombosis. *J Vasc Surg Venous Lymphat Disord.* 2020;8(3):390-95.
89. Li R, Yuan M, Cheng J, Yu S, Wei W, Fu W, et al. Risk of post- thrombotic syndrome after deep vein thrombosis treated with rivaroxaban versus vitamin-K antagonists: A systematic review and meta-analysis. *Thromb Res.* 2020;196:340-8.
90. Coleman CI, Beyer-Westendorf J, Bunz TJ, Mahan CE, Spyropoulos AC. Postthrombotic syndrome in patients treated with rivaroxaban or warfarin for venous thromboembolism. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2018;24(4):575-82.
91. Søgaard M, Nielsen PB, Skjøth F, Kjældgaard JN, Coleman CI, Larsen TB. Rivaroxaban versus warfarin and risk of post-thrombotic syndrome among patients with venous thromboembolism. *Am J Med.* 2018;131(7):787-94.e4.
92. Klomfass Piatì P, Krampe Peres A, Oliveira de Andrade D, Jorge MA, Freitas Toregeani J. Analysis of recanalization of deep venous thrombosis: a comparative study of patients treated with warfarin vs. rivaroxaban. *J Vasc Bras.* 2019;18:e20180111.
93. Hull RD, Liang J, Townshend G. Long-term low-molecular-weight heparin and the post-thrombotic syndrome: a systematic review. *Am J Med.* 2011;124(8):756-65.
94. Meng J, Liu W, Wu Y, Xiao Y, Tang H, Gao S. Is it necessary to wear compression stockings and how long should they be worn for preventing post thrombotic syndrome? A meta-analysis of randomized controlled trials. *Thromb Res.* 2023;225:79-86.
95. Enden T, Haig Y, Kløw NE, Slagsvold CE, Sandvik L, Ghanima W, et al. Long-term outcome after additional catheter-directed thrombolysis versus standard treatment for acute iliofemoral deep vein thrombosis (the CaVenT study): a randomised controlled trial. *Lancet.* 2012;379(9810):31-8.
96. Haig Y, Enden T, Grøtta O, Kløw NE, Slagsvold CE, Ghanima W, et al. Post-thrombotic syndrome after catheter-directed thrombolysis for deep vein thrombosis (CaVenT): 5-year follow-up results of an open-label, randomised controlled trial. *Lancet Haematol.* 2016;3(2):e64-71.
97. Notten P, ten Cate-Hoek AJ, Arnoldussen CWKP, Strijkers RHW, de Smet AAEA, Tick LW, et al. Ultrasound-accelerated catheterdirected thrombolysis versus anticoagulation for the prevention of post-thrombotic syndrome (CAVA): a single-blind, multicentre, randomised trial. *Lancet Haematol.* 2020;7(1):e40-9.
98. Notten P, de Smet AAEA, Tick LW, van de Poel MHW, Wikkeling ORM, Vleming LJ, et al. CAVA (Ultrasound-Accelerated Catheter-Directed Thrombolysis on Preventing Post-Thrombotic Syndrome) Trial: Long-Term Follow-Up Results. *J Am Heart Assoc.* 2021;10(11):e018973.
99. Vedantham S, Goldhaber SZ, Julian JA, Kahn SR, Jaff MR, Cohen DJ, et al. Pharmacomechanical catheter-directed thrombolysis for deep-vein thrombosis. *New Engl J Med.* 2017;377(23):2240-52.

100. Morling JR, Broderick C, Yeoh SE, Kolbach DN. Rutosides for treatment of post-thrombotic syndrome. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018;11(11):CD005625.
101. Schastlivtsev I, Lobastov K, Barinov V, Kanzafarova I. Diosmin 600 in adjunction to rivaroxaban reduces the risk of the post-thrombotic syndrome after femoropopliteal deep vein thrombosis: the results of RIDILOTT DVT study. *Int Angiol.* 2020;39(5):361-71.
102. Lobastov K, Schastlivtsev I, Barinov V. Use of micronized purified flavonoid fraction together with rivaroxaban improves clinical and ultrasound outcomes in Femoropopliteal venous thrombosis: results of a pilot clinical trial. *Adv Ther.* 2019;36(1):72-85.
103. Orsi FA, Cannegieter SC, Lijfering WM. Statin therapy to revert hypercoagulability and prevent venous thromboembolism: a narrative review. *Semin Thromb Hemost.* 2019;45(8):825-33.
104. San Norberto EM, Gastambide MV, Taylor JH, García-Saiz I, Vaquero C. Effects of rosuvastatin as an adjuvant treatment for deep vein thrombosis. *Vasa.* 2016;45(2):133-40.
105. Roberts LN, Patel RK, Chitongo PB, Bonner L, Arya R. Presenting D-dimer and early symptom severity are independent predictors for post-thrombotic syndrome following a first deep vein thrombosis. *Br J Haematol.* 2013;160(6):817-24.
106. Gabriel F, Labiós M, Portolés O, Guillén M, Corella D, Francés F, et al. Incidence of post-thrombotic syndrome and its association with various risk factors in a cohort of Spanish patients after one year of follow-up following acute deep venous thrombosis. *Thromb Haemost.* 2004;92(2):328-36.
107. Auditeau C, Khider L, Planquette B, Sanchez O, Smadja DM, Gendron N. D-dimer testing in clinical practice in the era of COVID-19. *Res Pract Thromb Haemost.* 2022;6(4):e12730.
108. Thachil J, Longstaff C, Favaloro EJ, Lippi G, Urano T, Kim PY. The need for accurate D-dimer reporting in COVID-19: communication from the ISTH SSC on fibrinolysis. *J Thromb Haemost.* 2020;18(9):2408-11.
109. Galanaud JP, Monreal M, Kahn SR. Predictors of the post-thrombotic syndrome and their effect on the therapeutic management of deep vein thrombosis. *J Vasc Surg Venous Lymphat Disord.* 2016;4(4):531-4.
110. Rabinovich A, Cohen JM, Cushman M, Wells PS, Rodger MA, Kovacs MJ, et al. Inflammation markers and their trajectories after deep vein thrombosis in relation to risk of post-thrombotic syndrome. *J Thromb Haemost.* 2015;13(3):398-408.
111. Mosevoll KA, Lindås R, Wendelbo O, Bruserud O, Reikvam H. Systemic levels of the endothelium-derived soluble adhesion molecules endocan and E-selectin in patients with suspected deep vein thrombosis. *Springerplus.* 2014;3:571.

112. Bucek RA, Reiter M, Quehenberger P, Minar E, Baghestanian M. The role of soluble cell adhesion molecules in patients with suspected deep vein thrombosis. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2003;14(7):653-7.
113. Bittar LF, Queiroz da Silva L, Loureiro de Andrade Orsi F, Senger Zapponi CK, de Moraes Mazetto B, de Paula EV, et al. Increased inflammation and endothelial markers in patients with late severe post-thrombotic syndrome. *PLoS One*. 2020;15(1):e0227150.
114. Haenen JH, Wollersheim H, Janssen MC, Van't Hof MA, Steijlen PM, van Langen H, et al. Evolution of deep venous thrombosis: a 2-year follow-up using duplex ultrasound scan and strain-gauge plethysmography. *J Vasc Surg*. 2001;34(4):649-55.
115. Van Rij AM, Hill G, Krysa J, Dutton S, Dickson R, Christie R, et al. Prospective study of natural history of deep vein thrombosis: early predictors of poor late outcomes. *Ann Vasc Surg*. 2013;27(7):924-31.
116. Anning ST. The historical aspects of venous thrombosis. *Medical History*. 1957;1(1):28-37. doi:10.1017/S0025727300020743
117. Merli GJ. Pathophysiology of venous thrombosis, thrombophilia, and the diagnosis of deep vein thrombosis-pulmonary embolism in the elderly. *Clin Geriatr Med*. 2006;22(1):75-92,viii-ix.
118. Jerjes-Sanchez C. Venous and arterial thrombosis: a continuous spectrum of the same disease? *Eur Heart J*. 2005;26(1):3-4.
119. Esmon CT, Esmon NL. The link between vascular features and thrombosis. *Annu Rev Physiol*. 2011;73:503-14.
120. Mackman N. New insights into the mechanisms of venous thrombosis. *J Clin Invest*. 2012;122(7):2331-6.
121. Atkinson B, Dwyer K, Enjyoji K, Robson SC. Ecto-nucleotidases of the CD39/NTPDase family modulate platelet activation and thrombus formation: Potential as therapeutic targets. *Blood Cells Mol Dis*. 2006;36(2):217-22.
122. Ley K, Laudanna C, Cybulsky MI, Nourshargh S. Getting to the site of inflammation: The leukocyte adhesion cascade updated. *Nat Rev Immunol*. 2007;7(9):678-89.
123. Koupenova M, Kehrel BE, Corkrey HA, Freedman JE. Thrombosis and platelets: An update. *Eur Heart J*. 2017;38(11):785-91.
124. Savchenko AS, Martinod K, Seidman MA, Wong SL, Borissoff JI, Piazza G, et al. Neutrophil extracellular traps form predominantly during the organizing stage of human venous thromboembolism development. *J Thromb Haemost*. 2014;12(6):860-70.
125. Xu X, Wu Y, Xu S, Yin Y, Ageno W, De Stefano V, et al. Clinical significance of neutrophil extracellular traps biomarkers in thrombosis. *Thromb J*. 2022;20(1):63.
126. Anderson Jr FA, Spencer FA. Risk factors for venous thromboembolism. *Circulation*. 2003;107(23 Suppl 1):I9-16.

127. Pandor A, Tonkins M, Goodacre S, Sworn K, Clowes M, Griffin XL, et al. Risk assessment models for venous thromboembolism in hospitalised adult patients: A systematic review. *BMJ Open*. 2021;11(7):e045672.
128. Van Es N, Di Nisio M, Cesarman G, Kleinjan A, Otten HM, Mahe I, et al. Comparison of risk prediction scores for venous thromboembolism in cancer patients: A prospective cohort study. *Haematologica*. 2017;102(9):1494-501.
129. Trégouët DA, Delluc A, Roche A, Derbois C, Olaso R, Germain M, et al. Is there still room for additional common susceptibility alleles for venous thromboembolism? *J Thromb Haemost*. 2016;14(9):1798-802.
130. Cines DB, Pollak ES, Buck CA, Loscalzo J, Zimmerman GA, McEver RP, et al. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood*. 1998;91(10):3527-61.
131. Aird WC. Spatial and temporal dynamics of the endothelium. *J Thromb Haemost*. 2005;3(7):1392-406.
132. Van Hinsbergh VWM. Endothelium—role in regulation of coagulation and inflammation. *Semin Immunopathol*. 2012;34(1):93-106.
133. Poredos P. Endothelial dysfunction and cardiovascular disease. *Pathophysiol Haemost Thromb*. 2002;32(5-6):274-7.
134. Stark K, Massberg S. Interplay between inflammation and thrombosis in cardiovascular pathology. *Nat Rev Cardiol*. 2021;18(9):666-82.
135. Von Brühl ML, Stark K, Steinhart A, Chandraratne S, Konrad I, Lorenz M, et al. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo. *J Exp Med*. 2012;209(4):819-35.
136. Ghasemzadeh M, Hosseini E. Intravascular leukocyte migration through platelet thrombi: directing leukocytes to sites of vascular injury. *Thromb Haemost*. 2015;113(6):1224-35.
137. Chen GY, Nuñez G. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. *Nat Rev Immunol*. 2010;10(12):826-37.
138. Zindel J, Kubes P. DAMPs, PAMPs, and LAMPs in Immunity and Sterile Inflammation. *Annu Rev Pathol*. 2020;15:493-518.
139. Gong T, Liu L, Jiang W, Zhou R. DAMP-sensing receptors in sterile inflammation and inflammatory diseases. *Nat Rev Immunol*. 2020;20(2):95-112.
140. Najem MY, Couturaud F, Lemarié CA. Cytokine and chemokine regulation of venous thromboembolism. *J Thromb Haemost*. 2020;18(5):1009-19.
141. Fischetti F, Tedesco F. Cross-talk between the complement system and endothelial cells in physiologic conditions and in vascular diseases. *Autoimmunity*. 2006;39(5):417-28.
142. Incalza MA, D’Oria R, Natalicchio A, Perrini S, Laviola L, Giorgino F. Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated

- with cardiovascular and metabolic diseases. *Vascul Pharmacol.* 2018;100:1-19.
143. Mezger M, Nording H, Sauter R, Graf T, Heim C, von Bubnoff N, et al. Platelets and Immune Responses During Thromboinflammation. *Front Immunol.* 2019;10:1731.
 144. McCormack JJ, Lopes da Silva M, Ferraro F, Patella F, Cutler DF. Weibel-Palade bodies at a glance. *J Cell Sci.* 2017;130(21):3611-7.
 145. Brill A, Fuchs TA, Chauhan AK, Yang JJ, De Meyer SF, Köllnberger M, et al. von Willebrand factor-mediated platelet adhesion is critical for deep vein thrombosis in mouse models. *Blood.* 2011;117(4):1400-7.
 146. Ghasemzadeh M, Hosseini E. Platelet-leukocyte crosstalk: linking proinflammatory responses to procoagulant state. *Thromb Res.* 2013;131(3):191-7.
 147. Owens 3rd AP, Mackman N. Microparticles in hemostasis and thrombosis. *Circ Res.* 2011;108(10):1284-97.
 148. Colling ME, Tourdot BE, Kanthi Y. Inflammation, Infection and Venous Thromboembolism. *Circ Res.* 2021;128(12):2017-36.
 149. Pieters M, Wolberg AS. Fibrinogen and fibrin: an illustrated review. *Res Pract Thromb Haemost.* 2019;3(2):161-72.
 150. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science.* 1997;275(5302):964-7.
 151. Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D, Zhu Z, Lane WJ, Williams M, et al. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood.* 2000;95(3):952-8.
 152. Quirici N, Soligo D, Caneva L, Servida F, Bossolasco P, Delilieri GL. Differentiation and expansion of endothelial cells from human bone marrow CD133(+) cells. *Br J Haematol.* 2001;115(1):186-94.
 153. Urbich C, Dimmeler S. Endothelial progenitor cells: characterization and role in vascular biology. *Circ Res.* 2004;95(4):343-53.
 154. Fadini GP, Losordo D, Dimmeler S. Critical reevaluation of endothelial progenitor cell phenotypes for therapeutic and diagnostic use. *Circ Res.* 2012;110(4):624-37.
 155. Rose JA, Erzurum S, Asosingh K. Biology and flow cytometry of proangiogenic hematopoietic progenitors cells. *Cytometry A.* 2015;87(1):5-19.
 156. Grant D, Wanner N, Frimel M, Erzurum S, Asosingh K. Comprehensive phenotyping of endothelial cells using flow cytometry 2: Human. *Cytometry A.* 2021;99(3):257-64.

157. Farinacci M, Krahn T, Dinh W, Volk HD, Düngen HD, Wagner J, et al. Circulating endothelial cells as biomarker for cardiovascular diseases. *Res Pract Thromb Haemost*. 2018;3(1):49-58.
158. Garmy-Susini B, Varner JA. Circulating endothelial progenitor cells. *Br J Cancer*. 2005;93(8):855-8.
159. Anderson TJ, Gerhard MD, Meredith IT, Charbonneau F, Delagrangé D, Creager MA, et al. Systemic nature of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Am J Cardiol*. 1995;75(6):71B-74B.
160. Schächinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation*. 2000;101(16):1899-906.
161. Shi Q, Rafii S, Wu MH, Wijelath ES, Yu C, Ishida A, et al. Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells. *Blood*. 1998;92(2):362-7.
162. Walter DH, Rittig K, Bahlmann FH, Kirchmair R, Silver M, Murayama T, et al. Statin therapy accelerates reendothelialization: a novel effect involving mobilization and incorporation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Circulation*. 2002;105(25):3017-24.
163. Werner N, Priller J, Laufs U, Endres M, Böhm M, Dirnagl U, et al. Bone marrow-derived progenitor cells modulate vascular reendothelialization and neointimal formation: effect of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22(10):1567-72.
164. Lin CP, Lin FY, Huang PH, Chen YL, Chen WC, Chen HY, et al. Endothelial progenitor cell dysfunction in cardiovascular diseases: role of reactive oxygen species and inflammation. *Biomed Res Int*. 2013;2013:845037.
165. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med*. 1995;1(1):27-31.
166. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat Med*. 2000;6(4):389-95.
167. Bhattacharya V, McSweeney PA, Shi Q, Bruno B, Ishida A, Nash R, et al. Enhanced endothelialization and microvessel formation in polyester grafts seeded with CD34(+) bone marrow cells. *Blood*. 2000;95(2):581-5.
168. Asahara T, Masuda H, Takahashi T, Kalka C, Pastore C, Silver M, et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. *Circ Res*. 1999;85(3):221-8.
169. Grant MB, May WS, Caballero S, Brown GA, Guthrie SM, Mames RN, et al. Adult hematopoietic stem cells provide functional hemangioblast activity during retinal neovascularization. *Nat Med*. 2002; 8(6):607-12.
170. Li WD, Li XQ. Endothelial progenitor cells accelerate the resolution of deep vein thrombosis. *Vascul Pharmacol*. 2016;83:10-6.

171. Moldovan NI, Asahara T. Role of blood mononuclear cells in recanalization and vascularization of thrombi: past, present, and future. *Trends Cardiovasc Med.* 2003;13(7):265-9.
172. Modarai B, Burnand KG, Sawyer B, Smith A. Endothelial progenitor cells are recruited into resolving venous thrombi. *Circulation.* 2005;111(20):2645-53.
173. Meng Q, Li X, Yu X, Lei F, Jiang K, Li C. Transplantation of ex vivo expanded bone marrow-derived endothelial progenitor cells enhances chronic venous thrombus resolution and recanalization. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2011;17(6):E196-201.
174. Di Santo S, Tepper OM, von Ballmoos MW, Diehm N, Völzmann J, Baumgartner I. Cell-based therapy facilitates venous thrombus resolution. *Thromb Haemost.* 2009;101(3):460-4.
175. Meng QY, Li XQ, Yu XB, Lei FR, Jiang K, Li CY. Transplantation of VEGF165-gene-transfected endothelial progenitor cells in the treatment of chronic venous thrombosis in rats. *Chin Med J (Engl).* 2010;123(4):471-7.
176. Tang JJ, Meng QY, Cai ZX, Li XQ. Transplantation of VEGF165-overexpressing vascular endothelial progenitor cells relieves endothelial injury after deep vein thrombectomy. *Thromb Res.* 2016;137:41-5.
177. Zhang J. Biomarkers of endothelial activation and dysfunction in cardiovascular diseases. *Rev Cardiovasc Med.* 2022;23(2):73.
178. Perdomo S, Brugnini A, Trias N, Menyout A, Silveira G, Ranero S, et al. Mobilized and apheresis-collected endothelial progenitor cells with plerixafor. *J Clin Apher.* 2022;37(3):245-52.
179. Jiang C, Li R, Ma X, Hu H, Guo J, Zhao J. AMD3100 and SDF-1 regulate cellular functions of endothelial progenitor cells and accelerate endothelial regeneration in a rat carotid artery injury model. *Mol Med Rep.* 2020;22(4):3201-12.
180. Fu WL, Xiang Z, Huang FG, Cen SQ, Zhong G, Duan X, et al. Combination of granulocyte colony-stimulating factor and CXCR4 antagonist AMD3100 for effective harvest of endothelial progenitor cells from peripheral blood and in vitro formation of primitive endothelial networks. *Cell Tissue Bank.* 2016;17(1):161-69.
181. Hassanpour M, Salybekov AA, Kobayashi S, Asahara T. CD34 positive cells as endothelial progenitor cells in biology and medicine. *Front Cell Dev Biol.* 2023;11:1128134.
182. Zhang M, Malik AB, Rehman J. Endothelial progenitor cells and vascular repair. *Curr Opin Hematol.* 2014;21(3):224-8.
183. Chopra H, Hung MK, Kwong DL, Zhang CF, Pow EHN. Insights into Endothelial Progenitor Cells: Origin, Classification, Potentials, and Prospects. *Stem Cells Int.* 2018;2018:9847015.
184. Alessio AM, Beltrame MP, Flores Nascimento MC, Vicente CP, de Godoy JAP, Santos Silva JCR, et al. Circulating progenitor and mature endothelial cells in deep vein thrombosis. *Int J Med Sci.* 2013;10(12):1746-54.

185. Alvarado-Moreno JA, Hernandez-Lopez R, Chavez-Gonzalez A, Yoder MC, Rangel-Corona R, Isordia-Salas I, et al. Endothelial colony-forming cells: Biological and functional abnormalities in patients with recurrent, unprovoked venous thromboembolic disease. *Thromb Res.* 2016;137:157-68.
186. Boos CJ, Lip GYH, Blann AD. Circulating endothelial cells in cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol.* 2006;48(8):1538-47.
187. Goon PKY, Boos CJ, Stonelake PS, Lip GYH. Circulating endothelial cells in malignant disease. *Future Oncol.* 2005;1(6):813-20.
188. Boos CJ, Balakrishnan B, Blann AD, Lip GYH. The relationship of circulating endothelial cells to plasma indices of endothelial damage/dysfunction and apoptosis in acute coronary syndromes: implications for prognosis. *J Thromb Haemost.* 2008;6(11):1841-50.
189. Makin AJ, Blann AD, Chung NAY, Silverman SH, Lip GYH. Assessment of endothelial damage in atherosclerotic vascular disease by quantification of circulating endothelial cells. Relationship with von Willebrand factor and tissue factor. *Eur Heart J.* 2004;25(5):371-6.
190. Khidera L, Planquette B, Smadja DM, Sanchez O, Riala C, Goudotd G, et al. Acute phase determinant of post-thrombotic syndrome: A review of the literature. *Thromb Res.* 2024;238(1):11-18.
191. Umehara H, Bloom E, Okazaki T, Domae N, Imai T. Fractalkine and vascular injury. *Trends Immunol.* 2001;22(11):602-7.
192. Wakefield TW, Myers DD, Henke PK. Mechanisms of venous thrombosis and resolution. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008;28(3):387-91.
193. Purdy M, Obi A, Myers D, Wakefield T. P- and E- selectin in venous thrombosis and non-venous pathologies. *J Thromb Haemost.* 2022;20(5):1056-66.
194. Galeano Valle F, Ordieres Ortega L, Oblitas CM, del Toro Cervera J, Alvarez-Sala Walther L, Demelo Rodríguez P. Inflammatory Biomarkers in the Short-Term Prognosis of Venous Thromboembolism: A Narrative Review. *Int J Mol Sci.* 2021;22(5):2627.
195. Furio E, García-Fuster MJ, Redon J, Marques P, Ortega R, Sanz MJ, et al. CX3CR1/CX3CL1 Axis Mediates Platelet-Leukocyte Adhesion to Arterial Endothelium in Younger Patients with a History of Idiopathic Deep Vein Thrombosis. *Thromb Haemost.* 2018;118(03):562-571.
196. Rodriguez C, Chocarro L, Echaide M, Ausin K, Escors D, Kochan G. Fractalkine in Health and Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2024;25(15):8007.
197. Umehara H, Bloom ET, Okazaki T, Nagano Y, Yoshie O, Imai T. Fractalkine in vascular biology: from basic research to clinical disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24(1):34-40
198. Imaizumi T, Yoshida H, Satoh K. Regulation of CX3CL1/fractalkine expression in endothelial cells. *J Atheroscler Thromb.* 2004;11(1):15-21.
199. Posch F, Thaler J, Zlabinger GJ, Königsbrügge O, Koder S, Zielinski C, Pabinger I, et al. Soluble Vascular Endothelial Growth Factor (sVEGF) and

- the Risk of Venous Thromboembolism in Patients with Cancer: Results from the Vienna Cancer and Thrombosis Study (CATS). *Clin Cancer Res.* 2016;22(1):200-206.
200. Malaponte G, Signorelli S, Bevalacqua V, Polesel J, Tadorelli M, Guarneri C, et al. Increased Levels of NF- κ B-Dependent Markers in Cancer-Associated Deep Venous Thrombosis. *Plos One.* 2015;10(7):e0132496.
 201. Kearon C, Ageno W, Cannegieter SC, Cosmi B, Geersing GJ, Kyrle PA. Categorization of patients as having provoked or unprovoked venous thromboembolism: guidance from the SSC of ISTH. *J Thromb Haemost* 2016; 14(7):1480-3.
 202. Pilard M, Ollivier EL, Gourdou-Latyszenok V, Couturaud F, Lemarié CA. Endothelial Cell Phenotype, a Major Determinant of Venous Thrombo Inflammation. *Front. Cardiovasc. Med.* 2022;9(1).
 203. Heinisch PP, Bello C, Emmert MY, Carrel T, Dreßen M, Hörer J, et al. Endothelial Progenitor Cells as Biomarkers of Cardiovascular Pathologies: A Narrative Review. *Cells.* 2022;11(10):1678.
 204. Saucourt C, Vogt S, Merlin A, Valat C, Criquet A, Harmand L, et al. Design and validation of an automated process for the expansion of peripheral blood-derived CD34+ cells for clinical use after myocardial infarction. *Stem Cells Transl. Med.* 2019;8(8):822-832.
 205. Mukhopadhyay S, Johnson TA, Duru N, Buzza MS, Pawar NR, Sarkar R, et al. Fibrinolysis and Inflammation in Venous Thrombus Resolution. *Front Immunol.* 2019;10:1348.
 206. Szukiewicz D. CX3CL1 (Fractalkine)-CX3CR1 Axis in Inflammation-Induced Angiogenesis and Tumorigenesis. *Int J Mol Sci.* 2024;25(9):4679.
 207. Baglin T, Luddington R, Brown K, Baglin C. High risk of recurrent venous thromboembolism in men. *J Thromb Haemost.* 2004;2(12):2152-5.
 208. Hill SL, Holtzman GI, Martin D, Evans P, Toler W, Goad K. The origin of lower extremity deep vein thrombi in acute venous thrombosis. *Am J Surg.* 1997;173(6):485-90.

Endothelium-biomarkers for postthrombotic syndrome: a case–control study

Sabrina Ranero^{a,b}, Gonzalo Silveira^{b,c}, Natalia Trias^b, Andreina Brugnini^b, Daniela Lens^b, Cecilia Guillermo^{a,M} and Sofía Grille^{a,b,M}

Background The postthrombotic syndrome (PTS) is a long-term complication of deep venous thrombosis (DVT). Increase knowledge on the PTS pathophysiology and novel biomarkers are needed in order to predict PTS development and to improve treatment results. The aim of this study was to analyze novel endothelium-biomarkers for PTS in patients with DVT out of the acute phase.

Methods A case–control study was conducted. Inclusion criteria were symptomatic and confirmed DVT patients treated with anticoagulants for at least 3 months. Villalta score was performed at the time of inclusion and used to diagnose and classify the severity of PTS. Plasma inter-cellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), P-selectin, fractalkine and vascular endothelial growth factor (VEGF) were quantified using cytometric bead array. Endothelial progenitor cells (EPCs) and circulating endothelial cells (CEC) level were quantified by flow cytometry.

Results Thirty two patients and 61 controls were included. PTS patients showed higher levels of CEC (0.56/ml (0.34–1.5) vs. 0.20/ml (0.11–0.77); P 0.04) and EPC (0.75/ml (0.38–1.52) vs. 0.09/ml (0.05–0.82); P 0.0021) compared to no PTS patients. Patients with PTS had significantly higher levels of fractalkine (387.60 pg/ml (222.30–597.90) vs. 98.00 pg/ml (82.30–193.02); P 0.044) than patients without PTS. Fractalkine levels showed a strong linear correlation with Villalta score, r 0.86,

$P < 0.0001$. No differences were observed in P-selectin, ICAM-1 and VEGF between studied groups.

Conclusions The formation and early resolution of DVT are characterized by inflammation and endothelial/platelet activation. We have identified possible novel biomarkers such as CEC, EPC and fractalkine for the development of PTS. These results suggest a possible role of these mediators in the maintenance and worsening of PTS turning them into potential therapeutic targets. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 34:144–151 Copyright © 2023 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

Blood Coagulation and Fibrinolysis 2023, 34:144–151

Keywords: circulating endothelial cells, fractalkine, postthrombotic syndrome, progenitor endothelial cells

^aCatedra de Hematología. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina, ^bLaboratorio de Citometría y Biología Molecular. Departamento Básico de Medicina. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina and ^cClínica Médica 1. Hospital Maciel, Facultad de Medicina, Universidad de la República. Montevideo, Uruguay

Correspondence to Sofía Grille, Avda. Italia s.n, Montevideo, Uruguay. CP 11300, Uruguay. Tel: +598 24871515 x2639; fax: +598 24875842; e-mail: sofia grille@gmail.com

Received 27 September 2022 Revised 29 December 2022 Accepted 5 January 2023

Introduction

Postthrombotic syndrome (PTS) is a common long-term complication after deep vein thrombosis (DVT), and occurs in 20% to 50% of the patients after a proximal DVT despite treatment with anticoagulants [1–3]. PTS comprises various grades and combinations of chronic persistent manifestations including swelling, pain, skin changes and venous ulcers [4].

The etiopathogenesis of PTS is not fully understood, but it is thought to be the result of a combination of long-standing venous hypertension and venous blood reflux in the setting of chronic inflammation, decreased fibrinolysis, vein obstruction, tissue remodeling, fibrosis and endothelial activation [5–7]. It is known that endothelial activation plays a key role in the pathogenesis of venous thrombosis and their complications [8,9].

Endothelial progenitor cells (EPCs) are immature cells able to proliferate and differentiate into mature endothelial cells (ECs). EPCs represent an heterogeneous group of cells mobilized either from bone marrow or vascular stem cell niches, which contributes to endothelial repair, vascular homeostasis, neovascularization and angiogenesis [10–12]. Although there is growing evidence highlighting the importance of EPCs in arterial vascular disease, their role in venous thrombosis and their chronic complications are less studied. However, preliminary data in mice and in small clinical studies support the hypothesis that EPC have a protected role in venous thrombotic disease [13–15].

After DVT developed, endothelial cells are activated in response to endothelial injury, and this activation results in increased surface expression of cell adhesion molecules (CAMs), such as P-selectin, inter-cellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) and vascular endothelial growth factor (VEGF), promoting adhesion and activation of leukocytes to the endothelium and amplifying

^MThese authors have contributed equally to this work.

thrombosis and inflammation [16]. In addition, fractalkine/C-X3-C motif chemokine ligand 1 (CX3CL1) is an angiogenic chemokine produced by endothelial cells and other immune cells that is probably induced by endothelial activation after DVT [17]. These CAMs and chemokines have been poorly studied in the context of PTS.

Increase knowledge on the PTS pathophysiology and novel biomarkers are needed in order to predict PTS development and improve treatment results. We hypothesized that endothelial dysfunction is present in patients after DVT and that it could predict PTS development and severity.

The aim of this study was to analyze novel endothelium-biomarkers for PTS (ICAM-1, P-selectin, fractalkine, VEGF and circulating endothelial cells [CEC] and circulating endothelial progenitors' cells [EPC]) in patients with DVT out of the acute phase.

Methods

Patients and controls

A case–control study conducted from June 2016 to June 2019 at the Haemostasis and Thrombosis Unit, Hospital de Clinicas, Uruguay. We enrolled 32 patients and 61 controls. The inclusion criteria were patients older than 18 years who were diagnosed of confirmed symptomatic DVT treated with anticoagulants for at least 3 months. All episodes of DVT were confirmed by duplex ultrasonography with the presence of an incompressible venous segment on compression ultrasonography. Demographic and clinical data were registered. DVT episodes were classified as unprovoked or provoked when the episode occurred in the presence of acquired risk factors such as surgery, immobilization, pregnancy/puerperium, use of oral contraceptives or associated with cancer as defined by International Society of Thrombosis and Hemostasis (ISTH) [18].

Villalta score (VS) was performed at the time of inclusion and used to diagnose and classify the severity of PTS [1]. The VS evaluate five patient-related venous symptoms (pain, cramps, heaviness, paresthesia, and pruritus) and six clinician-assessed physical signs (pretibial edema, skin induration, hyperpigmentation, venous ectasia, redness, and pain during calf compression), which are rated on a four-point scale: 0, none; 1, mild; 2, moderate; and 3, severe. Points are added to produce a total score (range, 0–33). We defined PTS when the VS is ≥ 5 or a venous ulcer is present. PTS were classified as mild if the VS was 5–9, moderate if the VS was 10–14, and severe if the VS was ≥ 15 or if a venous ulcer is present [1]. All patients were examined by the same investigator, and the clinical evaluation of PTS was performed on the same day of blood collection.

Sixty-one healthy controls (41 women and 20 men) without a history of venous thromboembolism (VTE)

or acute or chronic inflammatory/infection disease were included.

Sample collection

Peripheral blood (PB) samples were collected in Ethylenediaminetetraacetic acid anticoagulated tubes (3 ml) during follow-up visits after 3 months anticoagulated treatment. Automated PB leukocyte counts were obtained on ABX micros 60 (Horiba, Montpellier, France). Samples were examined by 8-colour flow cytometry within 24 h from sampling.

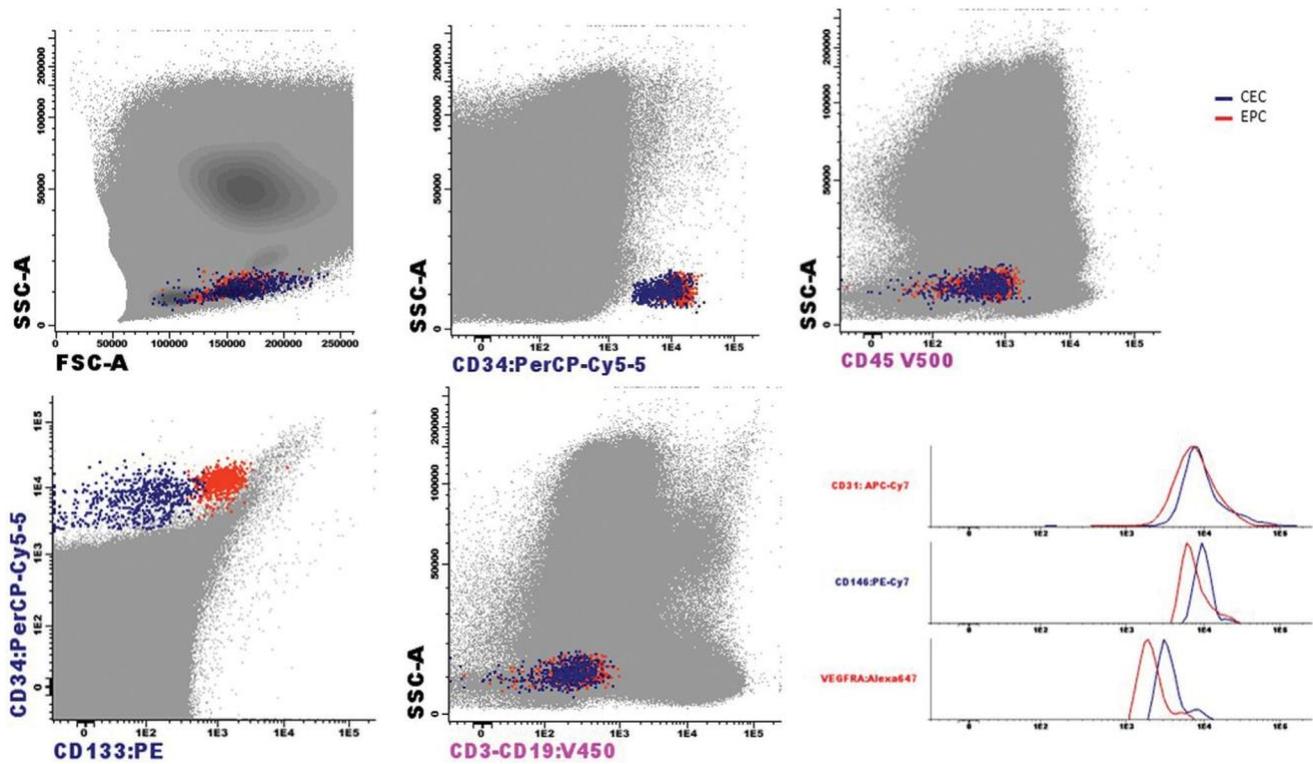
Flow cytometry analysis of EPC and endothelial cell

1 ml of PB was incubated with 45 ml of ammonium chloride solution for 15 min at room temperature for red blood cells lysis. Then samples were centrifuged (400g, 5 min, room temperature) and washed by adding 2 ml of PBS containing 1% of bovine serum albumin. Cells were immune-stained for 15 min at room temperature in the dark with the following antibodies panel: BV450-conjugated anti-CD3, BV450-conjugated anti-CD19, V500-conjugated anti-CD45, PerCP-Cy5.5-conjugated anti-CD34, PE-conjugated anti-CD133, PECy7-conjugated anti-CD146, Alexa 647-conjugated anti-KDR, APC-H7-conjugated anti-CD31 (CD133 antibody was from Miltenyi, Bergisch Gladbach, Germany and all other antibodies were from BD Pharmingen, San Diego, USA). Optimal antibody concentrations were previously defined by titration. Samples were washed by adding 2 ml of PBS containing bovine serum albumin. Flow cytometry data was collected on a FACSCanto II equipped with three lasers (Becton–Dickinson, Oxford, UK). In each sample, 3 000 000 viable events were acquired. For data acquisition and analysis, FACS Diva software (Becton–Dickinson) and Infinicyt (Cytognos, Spain) were used respectively.

EPCs were defined as CD45low/—, CD34+, CD133+, CD31+, CD146+, KDR+, CD3—, CD19— CEC as CD45low/—, CD34+, CD133-, CD31+, CD146+, KDR+, CD3—, CD19—. Gating strategy is shown in Fig. 1. EPCs and CEC levels were quantified by dual platform counting and the absolute number of cells was calculated with the formula: percentage of cells (EPCs or CEC) \times WBC count/100.

Inter-cellular adhesion molecule 1, P-selectin, fractalkine and vascular endothelial growth factor levels ICAM-1/CD54, VEGF, fractalkine/CX3CL1 and P-selectin/CD62p were measured in 33 controls and 18 DVT patients. Concentrations were determined by using BD cytometric bead array (CBA) human protein flex set (BD Biosciences, USA) following manufacturer's instructions. Data acquisition were carried out using FACS Diva software (Becton–Dickinson) and analysis using FCAP Array Software v3.0 (BD Biosciences software). The limit of detection of the BD CBA is between 5 pg/ml to 5000 pg/ml.

Fig. 1



EPC and CEC gating strategy. CEC, circulating endothelial cells; EPC, Endothelial progenitor cells.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using SPSS 21 (Chicago, IL, USA). Descriptive statistics of qualitative variables were expressed as percentages and quantitative variables as median and interquartile range (IQR). The statistical significance of the possible differences found between the different variables was determined by using nonparametric tests (Mann-Whitney for independent samples). A value of $P < 0.05$ was considered as statistically significant.

Ethical consideration

Informed consent was obtained from patients and controls enrolled in this study. The protocol was approved by the Institutional Review Board of the Hospital de Clinicas, Montevideo, Uruguay, in accordance with the Declaration of Helsinki.

Results

Demographics and clinical data of deep venous thrombosis patients and controls

The main clinical and demographic features of controls and DVT patients are shown in Table 1. No significant differences were observed in age and sex distribution. Thirty-two patients with provoked or unprovoked previous DVT were included. Provoked DVT were due to

cancer ($n = 4$), antiphospholipid antibody syndrome ($n = 4$), admission to hospital ($n = 3$), use of hormonal contraceptive ($n = 2$), surgery ($n = 2$), estrogen therapy, pregnancy/puerperium ($n = 2$). All included patients were under anticoagulation, 77% with warfarin, 16% with direct oral anticoagulants (DOAC) and 8% with enoxaparin.

EPC and circulating endothelial cells are decreased in deep venous thrombosis patients

As shown in Table 2, DVT patients had lower percentage and levels of $CD34^+CD45^{low/-}$ progenitor cells, EPC and

Table 1 Demographic and clinical features

	DVT patients ($n = 32$)	Controls ($n = 61$)	<i>P</i> value
Age: median (IQR)	69 (57–77)	43 (30–49)	0.32
Sex (female:male)	1.2:1	2:1	0.2
Time between last DVT (median days (IQR))	62 (24–118)	NA	
Provoked/unprovoked DTV	17/15	NA	
Proximal/distal DTV	19/8	NA	
Recurrent DVT	15 (47%)	NA	
PE associated	5 (15.6%)	NA	
PTS	21 (65.6%)	NA	

DVT, deep venous thrombosis; IQR, interquartile range; NA, not applicable; PE, pulmonary embolism; PTS, postthrombotic syndrome.

Table 2 Endothelium biomarkers in controls and patients

		DVT patients (n = 32)	Controls (n = 61)	P value
WBC (/mm ³) (median (IQR))		6500 (5200–7750)	6650.00 (5400–7300)	0.42
CD34 ⁺ CD45 ^{low/-} progenitor cells (median (IQR))	Percentage of TNC	0.05 (0.009–0.054)	0.032 (0.020–0.053)	0.10
	Absolute number (/ml)	1.51 (0.52–2.65)	2.41 (1.39–4.05)	0.031
EPC (median (IQR))	Percentage of TNC	0.0063 (0.0014–0.019)	0.010 (0.0055–0.020)	0.049
	Absolute number (/ml)	0.57 (0.07–1.21)	0.85 (0.35–1.27)	0.031
CEC (median (IQR))	Percentage of TNC	0.0076 (0.024–0.18)	0.013 (0.0080–0.026)	0.013
	Absolute number (/ml)	0.38 (0.15–1.01)	1.02 (0.63–1.74)	0.001
ICAM-1/CD54 (ng/ml)		256.73 (210.78–290.13)	189.51 (165.55–285.60)	0.71
VEGF (pg/ml)		183.40 (91.70–359.42)	154.53 (71.25–194.81)	0.45
Fractalkine/CX3CL1 (pg/ml)		242.21 (88.51–428.73)	188.5 (113.05–312.62)	0.72
P-selectin/CD62p (ng/ml)		18.36 (10.65–25.09)	15.32 (13.44–18.77)	0.17

CEC, circulating endothelial cells; DVT, deep venous thrombosis; EPC, endothelial progenitor cells; ICAM-1, inter-cellular adhesion molecule 1; IQR, interquartile range; TNC, total nucleated cells; VEGF, vascular endothelial growth factor; WBC, white blood cells.

CEC compared to controls. EPC and CEC levels decreased significantly by 1.5-fold and 2.5-fold respectively in DVT patients.

Soluble endothelial biomarkers are similar in deep venous thrombosis patients and controls ICAM-1, VEGF, fractalkine, and P-selectin levels were similar in DVT patients and controls (Table 2).

Demographics and clinical data of patients with and without postthrombotic syndrome

Table 3 showed the clinical features of patients with and without PTS. PTS were diagnosed in 21 (65.6%) DVT patients. No significant differences were observed in age and sex distribution between patient with or without PTS. The median duration of follow-up after the most recent DVT was 62 days. PTS was associated with recurrent DVT 66.6% vs. 9.1% in PTS and no PTS patients respectively ($P = 0.015$).

Endothelial progenitor cells and circulating endothelial cells absolute numbers were increased in postthrombotic syndrome patients

CD34⁺CD45^{low/-} progenitor cells, EPC and CEC levels were significantly higher in patients with PTS compared to no PTS patients (Table 4 and Fig. 2). EPC and CEC absolute numbers increased significantly by

approximately 8-fold and 2.5-fold, respectively in PTS patients. Moreover, EPC and CEC levels in PTS patients were not statistically different from controls suggesting that PTS stimulate EPC mobilization to peripheral blood reaching normal levels (Fig. 2a and b).

In addition, EPC and CEC levels showed a moderate linear correlation with VS, $r = 0.64$ and $r = 0.52$, respectively (Fig. 2d and e).

Fractalkine was increased in postthrombotic syndrome patients and had a strong correlation with Villalta score Plasma biomarkers (ICAM-1, VEGF, fractalkine, and P-selectin) were measured in 18 DVT-patients by CBA. Patients with PTS had a 4-fold increase in fractalkine concentrations than patients without PTS ($P = 0.044$), (Table 4 and Fig. 2). Additionally, patients with moderate or severe PTS ($VS \geq 10$) showed increased levels of fractalkine compared to PTS patients with $VS < 10$, 455.5 (333.9–622.3) vs. 60.3 (25.3–262.9) respectively, $P = 0.024$. Furthermore, fractalkine in PTS patients was higher than controls suggesting that PTS induce fractalkine production (Fig. 2c). Besides, fractalkine levels shows a strong linear correlation with VS, $r = 0.86$ (Fig. 2f).

There were no statistical differences regarding VEGF, ICAM-1, and P-selectin between studied groups. However, patients with moderate or severe PTS ($VS \geq 10$) showed increased levels of P-selectin compared to $VS < 10$ PTS patients (18.54 ng/ml (16.12–25.09) vs. 13.41 ng/mL (10.28–28.72), $P = 0.012$).

Discussion

PTS usually occurs months to years after DVT. Little is known about factors that contribute to PTS development. Some risk factors have been described, such as: obesity, varicose veins, smoking, proximal thrombosis, residual vein obstruction and recurrent DVT [19,20]. Anticoagulation therapy has already demonstrated to prevent propagation of venous thrombi and DVT recurrence, but current therapies are not designed to prevent development of PTS [20]. It is not known why some patients develop PTS whereas others overcome DVT

Table 3 Demographic and clinical features of PTS

	PTS patients (n = 21)	No PTS patients (n = 11)	p value
Age: median (IQR)	69 (64–77)	64 (51–76)	0.2
Sex (female:male)	1:1	1.7:1	0.5
Provoked/unprovoked DTV	10/11	5/6	0.6
Proximal/distal DTV	13/4	6/4	0.49
Recurrent DVT	14 (66.6%)	1 (9.1%)	0.015
PE associated	4 (19%)	1 (9.1%)	0.51
VS median (IQR)	8 (7–13)	2 (0–4)	
Mild PTS	11 (50.0%)	NA	
Moderate PTS	7 (33.0%)	NA	
Severe PTS	3 (14.2%)	NA	

DVT, deep venous thrombosis; IQR, interquartile range; NA, not applicable; PE, pulmonary embolism; PTS, postthrombotic syndrome; VS, Villalta score. Mild PTS: VS 5–9; moderate PTS: VS 10–14; severe PTS: VS ≥ 15 or venous ulcer present.

Table 4 Endothelium biomarkers in patients with and without PTS

		PTS patients	No PTS patients	P value
WBC (/mm ³) (median (IQR))		6800 (5500–8300)	6250.00 (4950–7100)	0.32
CD34+CD45 ^{low/-} progenitor cells (median (IQR))	Percentage of TNC	0.041 (0.013–0.075)	0.0092 (0.0035–0.034)	0.006
	Absolute number (/ml)	1.90 (1.37– 5.03)	0.52 (0.20–2.08)	0.008
EPC (median (IQR))	Percentage of TNC	0.0089 (0.0045–0.029)	0.0013 (0.0008–0.013)	0.019
	Absolute number (/ml)	0.75 (0.38–1.52)	0.09 (0.05–0.82)	0.021
CEC (median (IQR))	Percentage of TNC	0.013 (0.0047–0.28)	0.0034 (0.0015–0.014)	0.054
	Absolute number (/ml)	0.56 (0.34–1.57)	0.20 (0.11–0.77)	0.049
ICAM-1/CD54 (ng/mL)		260.5 (188.56–290.90)	256.74 (210.79–391.62)	1.0
VEGF (pg/ml)		338.9 (99.10–669.9)	91.70 (70.70–184.1)	0.12
Fractalkine/CX3CL1 (pg/ml)		387.60 (222.30–597.90)	98.00 (82.30–193.02)	0.044
P-selectin/CD62p (ng/ml)		18.54 (16.12–25.09)	13.41 (10.28–28.72)	0.65

CEC, circulating endothelial cells; DVT, deep venous thrombosis; EPC, endothelial progenitor cells; ICAM-1, inter-cellular adhesion molecule 1; IQR, interquartile range; PTS, postthrombotic syndrome; TNC, total nucleated cells; WBC, white blood cells.

without sequelae. Therefore, novels biomarkers and treatment strategies are needed in this clinical scenario.

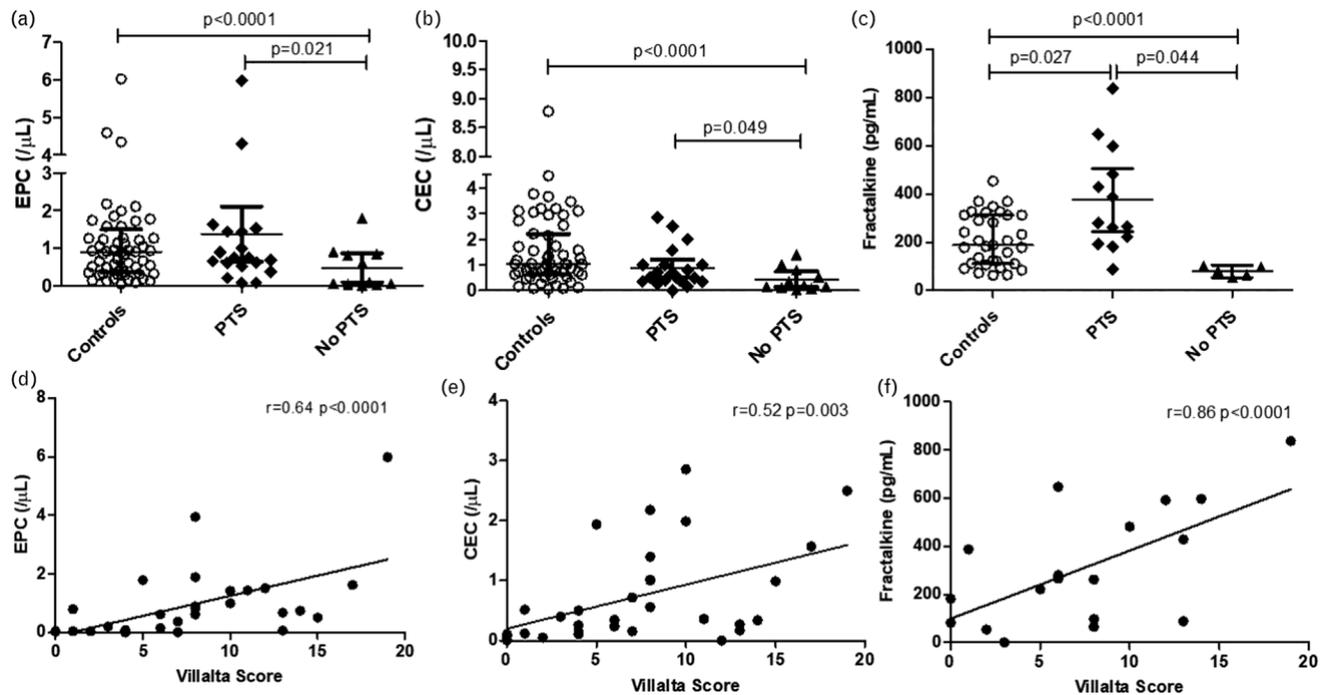
ECs are essential regulators of thrombus resolution [21]. They regulate extravasation and activation of leukocytes, regulate fibrinolysis, reendothelialization of the damaged vein, form neovascular channels and modulate fibrosis. While these cells accelerate thrombus resolution, their reduction and dysfunction may have detrimental effects on resolution of DVT [13,21].

In this case—control study, we aimed to evaluate the association between PTS and endothelium biomarkers selected according to potential pathways involved in the pathophysiology of PTS.

We investigated levels of CD34+CD45^{low/-} progenitor cells, EPC, CEC and soluble endothelial biomarkers such as ICAM-1, VEGF, fractalkine, and P-selectin in DVT patients and controls. We have found that all CD34+CD45^{low/-} progenitor cells populations were decreased and both EPC and CEC subpopulations were significantly decreased in VTE patients out of the acute phase compare to controls.

CECs are involved in inflammatory, procoagulant and immune processes of the vascular compartment, in equilibrium with vessel endothelial cells. They can be released from the vascular wall (mature CEC) or differentiated from EPC [22]. EPC are mobilized from the

Fig. 2



(a–c) EPC, CEC, and fractalkine levels in controls and patients with and without PTS. Data shown are median and IQR. Bars indicates P value and significant differences. (d–f) Linear correlations between the VS and EPC, CEC, and fractalkine. Pearson *r* and *P* value are shown. CEC, circulating endothelial cells; EPC, endothelial progenitor cells; IQR, interquartile range; PTS, postthrombotic syndrome; VS, Villalta score.

bone marrow in response to stimuli such as ischemia and/or inflammation. They have proliferative and angiogenic potential and have been implicated in endothelial repair [23]. There are several evidence showing that CEC levels are increased in cardiovascular diseases and correlate with endothelial dysfunction and inflammatory markers such as C-reactive protein [25,26]. On the other hand, literature shows an inverse correlation between the number of EPC and the presence of atherosclerosis and cardiovascular dysfunction in human subjects [25–28]. Although there is growing evidence demonstrating the role of EPC and CEC in arterial disease, data in DVT is limited to animal studies and small clinical studies [14,24]. Alessio MA *et al.* [24] have reported that DVT patients in the acute and chronic phase presented higher CEC levels than healthy controls. Levels in the acute phase were higher than in the chronic phase. The differences in our results may be due to CEC was measured in a different moment of the disease process and also because our DVT patients' samples were different (long time since last DVT, high incidence of PTS and recurrence). We propose that during the acute phase of DVT CEC is higher due to endothelial damage and inflammation and later, in the chronic phase, it decreases reaching lower levels than in healthy controls. EPC levels in DVT have been scarcely studied. Our results are in agreement with data reported in cardiovascular pathologies, with decreased levels of EPC in chronic phase of DVT [26]. The EXACT randomized controlled trial is the larger studied evaluating EPC levels in DVT patients ($n = 281$ DVT patients) and found that lower EPC levels were associated with venous thrombosis recurrence. They did not study a control group to compare EPC levels in DVT and healthy individuals. After acute phase of DVT, an impaired mobilization or depletion of EPC could exist contributing to endothelial dysfunction and impairing thrombus recanalization. In addition, Alvarado-Moreno *et al.* [29] found a dysfunctional state in EPC from DVT patients resembling some characteristics of dysfunctional endothelial cells.

Due to the known role of endothelial cells and EPC in organization and thrombi recanalization, we focused our investigation in the association between endothelial biomarkers and PTS. To the best of our knowledge, this is the first report showing an association between CEC and EPC levels with PTS. PTS patients had higher levels of CEC and EPC than those without PTS but, just reached similar levels than controls. We also found, a moderate correlation between EPC, CEC, and VS levels showing that the greater the severity of the PTS was, the higher levels of CEC and EPC founded.

The increased CEC and EPC count in PTS may reveal endothelial damage triggered by PTS inflammation-induction. Several studies showed the role of EPC in the venous postthrombotic process [13,14,29–31]. EPCs can drive thrombus recanalization by secretion of vasoactive

and angiogenic factors, restoring damaged endothelium, enhancing neovascularization, and promoting vein recanalization [14,31,32]. There is growing literature highlighting the role and value of EPCs in arterial disease [26,33]. However, data in VTE is limited to animal and small observational human studies. We hypothesized that thrombotic events with impaired venous repair leading to PTS formation and chronic vein inflammation stimulate late bone marrow EPC mobilization. In this study, we showed that an increase in EPC may not be enough for endothelium restoration since it only reached normal levels and there was not an increase as would be expected. If confirmed, this could be a valuable prognostic factor and could also have the potential of being a VTE treatment and PTS prevention strategy target in the near future. Since the discovery of EPC by Asahara *et al.* [34] an increasing number of preclinical and clinical studies in vascular regenerative applications have been conducted. Many diseases have been investigated including: stroke, ischemic heart disease, myocardial infarction, peripheral vascular disease, pulmonary arterial hypertension, leg ulcer, erectile dysfunction, metabolic disease, liver cirrhosis, and others [35]. In animal models of DVT, transplantation of bone marrow-derived EPCs resulted in reduced thrombus size and increased neovascularization in the specimens [36]. Meng *et al.* [37] have demonstrated that VEGF transfected EPCs caused accelerated organization and recanalization of vein thrombus after transplantation in a rat model. Jun-Jian Tang *et al.* [38] have published that VEGF transfected EPCs led to faster repair of the postthrombotic tunica intima than wild-type EPCs. Santo *et al.* [39] injected EPC intravenously to reach venous thrombus and showed that this could enhance thrombus neovascularization and substantially increase intra-thrombus blood flow. EPCs were used in clinical trials as direct injections in ischemic tissue in different approaches: cultured EPC, enriched population of EPC cells such as sorted CD133+ or CD34+ cells, PB, or bone marrow mononuclear isolated cells and others. In myocardial infarction EPCs-capture stents have also been used [35,40]. We have recently published that plerixafor in combination with G-CSF determine the mobilization and collection of large amounts of EPCs along with CD34+ cells allowing to store these cells without the need of *in vitro* expansion [41]. In addition, treatment with plerixafor could be a safe strategy to increased EPC mobilization in PTS patients.

Moreover, we evaluated an association in soluble endothelial biomarkers such as ICAM-1, VEGF, fractalkine, and P-selectin and PTS. We found that fractalkine levels were increased in PTS patients and had a strong linear correlation with VS showing that the greater the severity of the PTS, the higher levels of fractalkine.

Inflammation and endothelial dysfunction are key processes involved in PTS, and they are closely related. The involvement of inflammation in the development of PTS

is supported by the observation that VTE patients with PTS have higher circulating levels of the inflammatory markers such as interleukin 6 (IL-6) and C-reactive protein compared to patients without PTS [42]. Vein wall and valves are damaged in the thrombotic episode, as a consequence of the inflammatory process in response to thrombus organization and vein recanalization [7]. Therefore, pro-inflammatory cytokines induces endothelial cell expression of cell adhesion molecules (CAMs) and their soluble forms in order to promote the adhesion of leukocytes to the endothelium and their transmigration [7]. The migration of leukocytes from circulation to sites of extravascular injury is mediated through a sequential cascade of leukocyte–endothelial cell adhesive interactions that involve many CAMs present on leukocytes and endothelial cells [43]. Fractalkine is a unique member of the CX3C family that is present both as a soluble form and as a membrane-bound form on the surface of inflamed endothelium, promoting chemotaxis and cell–cell adhesion. Although, fractalkine levels have been recently associated with atherosclerosis and various clinical diseases, its role in PTS is yet unknown [44,45]. Fractalkine is expressed on activated endothelial cells, and its receptor, CX3CR1, is expressed on CD8+ T cells, natural killer cells and monocytes. There are accumulating evidence that fractalkine is expressed on endothelial cells during glomerulonephritis and cardiac allograft rejection, as well as on cardiac endothelial cells activated by pro-inflammatory cytokines, providing insight into the pathogenesis of vascular injury [17]. We hypothesized that inflammation and endothelial dysfunction involved in PTS stimulate fractalkine secretion which perpetuates the inflammatory process in PTS. Furio E *et al.* [46] have recently studied the impact of CX3CR1/CX3CL1 axis in DVT-associated endothelial dysfunction. They performed a case-control study with 22 patients and found that patients with DVT had increased plasma levels of fractalkine. We did not find increased fractalkine levels in DVT compared to controls, probably because patients' features included in our study were different. As far as we know, our study is the first report showing an association between fractalkine levels and PTS in humans. Consequently, we consider that it is not only a useful PTS biomarker but also a potential target for therapeutic intervention.

We did not find association between ICAM-1, VEGF, and P-selectin with PTS in our study. Rabinovich *et al.* [47] have published a systematic review studying the role of inflammatory biomarkers in PTS. ICAM-1 was associated with PTS in studies that measured it during the acute and subacute phases of DVT. However, similar with our findings, when ICAM-1 was measured months after DVT, median levels were similar in patients with and without PTS. Rabinovich *et al.* [47] also evaluated P-selectin in PTS and no significant association were found. To date, there are no data linking VEGF with PTS in the literature.

Finally, some limitations of our study should be noted. We were only able to enroll a modest sample size with patients under anticoagulation and with high percentage of recurrent DVT. Prospectively studies are mandatory to verify our results.

In conclusion, our findings showed that PTS patients exhibit increased levels of CEC, EPC and fractalkine suggesting it could play a role in the pathogenesis of PTS. We postulate that fractalkine may be a novel predictor PTS biomarker that deserves to be confirmed in a prospective study. In addition, EPC may be a potential clinical biomarker and a novel target for research on DVT and PTS prophylaxis and treatment.

Acknowledgements

We are thankful to the medical doctors of the Thrombosis and Haemostasis unit from Hospital de Clinicas, Montevideo, Uruguay.

Funding sources: This work was supported by a grant from the Comision Sectorial de Investigacion Cientifica (CSIC). Universidad de la Republica. Uruguay. S. Ranero was funded by a scholarship of Comision Academica de Postgrados. Universidad de la Republica. Uruguay.

Conflicts of interest

There are no conflicts of interest.

References

- 1 Kahn SR, Partsch H, Vedantham S, Prandoni P, Kearon C. Definition of postthrombotic syndrome of the leg for use in clinical investigations: a recommendation for standardization. *J Thromb Haemost* 2009; 7:879–883.
- 2 Galanaud JP, Bertolotti L, Amitrano M, Fernandez-Capitan C, Pedrajas JM, Rosa V, *et al.* Predictors of post-thrombotic ulcer after acute DVT: the RIETE Registry. *Thromb Haemost* 2018; 118:320–328.
- 3 Galanaud JP, Righini M, Le Collen L, Douillard A, Robert-Ebadi H, Pontal D, *et al.* Long-term risk of postthrombotic syndrome after symptomatic distal deep vein thrombosis: the CACTUS-PTS study. *J Thromb Haemost* 2020; 18:857–864.
- 4 Kahn SR. The postthrombotic syndrome. *Hematol Am Soc Hematol Educ Progr* 2016; 2016:413–418.
- 5 Prandoni P, Kahn SR. Postthrombotic syndrome: prevalence, prognostication and need for progress. *Br J Haematol* 2009; 145:286–295.
- 6 DeRoo S, Deatrick KB, Henke PK. The vessel wall: a forgotten player in post thrombotic syndrome. *Thromb Haemost* 2010; 104:681–692.
- 7 Rabinovich A, Kahn SR. The postthrombotic syndrome: current evidence and future challenges. *J Thromb Haemost* 2017; 15:230–241.
- 8 Cines DB, Pollak ES, Buck CA, Loscalzo J, Zimmerman GA, McEver RP, *et al.* Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood* 1998; 91:3527–3561.
- 9 Aird WC. Spatial and temporal dynamics of the endothelium. *J Thromb Haemost* 2005; 3:1392–1406.
- 10 Medina RJ, Barber CL, Sabatier F, Dignat-George F, Melero-Martin JM, Khosrotehrani K, *et al.* Endothelial progenitors: a consensus statement on nomenclature. *Stem Cells Transl Med* 2017; 6:1316–1320.
- 11 Banno K, Yoder MC. Tissue regeneration using endothelial colony-forming cells: promising cells for vascular repair. *Pediatr Res* 2018; 83:283–290.
- 12 Asahara T, Kawamoto A, Masuda H. Concise review: circulating endothelial progenitor cells for vascular medicine. *Stem Cells* 2011; 29:1650–1655.
- 13 Li W-D, Li X-Q. Endothelial progenitor cells accelerate the resolution of deep vein thrombosis. *Vascul Pharmacol* 2016; 83:10–16.
- 14 Modarai B, Bumand KG, Sawyer B, Smith A. Endothelial progenitor cells are recruited into resolving venous thrombi. *Circulation* 2005; 111:2645–2653.
- 15 Alessio AM, Beltrame MP, Nascimento MCF, Vicente CP, de Godoy JAP, Silva JCRS, *et al.* Circulating progenitor and mature endothelial cells in deep vein thrombosis. *Int J Med Sci* 2013; 10:1746–1754.
- 16 Wakefield TW, Myers DD, Henke PK. Mechanisms of venous thrombosis and resolution. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28:387–391.

- 17 Umehara H, Bloom ET, Okazaki T, Domae N, Imai T. Fractalkine and vascular injury. *Trends Immunol* 2001; 22:602–607.
- 18 Kearon C, Ageno W, Cannegieter SC, Cosmi B, Geersing GJ, Kyrle PA. Categorization of patients as having provoked or unprovoked venous thromboembolism: guidance from the SSC of ISTH. *J Thromb Haemost* 2016; 14:1480–1483.
- 19 Ende-Verhaar YM, Tick LW, Klok FA, Huisman MV, Rosendaal FR, le Cessie S, *et al.* Postthrombotic syndrome: short- and long-term incidence and risk factors. *Thromb Res* 2019; 177:102–109.
- 20 Mukhopadhyay S, *et al.* Fibrinolysis and inflammation in venous thrombus resolution. *Front Immunol* 2019; 10:1348.
- 21 Pilard M, Ollivier EL, Gourdou-Latyszenok V, Couturaud F, Lemarie CA. Endothelial cell phenotype, a major determinant of venous thromboinflammation. *Front Cardiovasc Med* 2022; 9:864735.
- 22 Blann AD, Woywodt A, Bertolini F, Bull TM, Buyon JP, Clancy RM, *et al.* Circulating endothelial cells. Biomarker of vascular disease. *Thromb Haemost* 2005; 93:228–235.
- 23 Simard T, Jung RG, Motazedian P, Santo P Di, Daniel Ramirez F, Russo JJ, *et al.* Review article progenitor cells for arterial repair: incremental advancements towards therapeutic reality. *Stem Cells Int* 2017; 2017:8270498.
- 24 Alessio AM, *et al.* Circulating progenitor and mature endothelial cells in deep vein thrombosis. *Int J Med Sci* 2013; 10:1746–1754.
- 25 Kachamakova-Trojanowska N, Bukowska-Strakova K, Zukowska M, Dulak J, Jozkowicz A. The real face of endothelial progenitor cells — circulating angiogenic cells as endothelial prognostic marker? *Pharmacol Rep* 2015; 67:793–802.
- 26 Heinisch PP, Bello C, Emmert MY, Carrel T, Dreßen M, Hörer J, *et al.* Endothelial progenitor cells as biomarkers of cardiovascular pathologies: a narrative review. *Cells* 2022; 11:1678.
- 27 Morrone D, Picoi MEL, Felice F, De Martino A, Scatena C, Spontoni P, *et al.* Endothelial progenitor cells: an appraisal of relevant data from bench to bedside. *Int J Mol Sci* 2021; 22:12874.
- 28 Nuzzolo ER, Iachininoto MG, Teofili L. Endothelial progenitor cells and thrombosis. *Thromb Res* 2012; 129:309–313.
- 29 Alvarado-Moreno JA, *et al.* Endothelial colony-forming cells: Biological and functional abnormalities in patients with recurrent, unprovoked venous thromboembolic disease. *Thromb Res* 2016; 137:157–168.
- 30 Sevt S. The vascularisation of deep-vein thrombi and their fibrous residue: a post mortem angio-graphic study. *J Pathol* 1973; 111:1–11.
- 31 Modarai B, Burnand KG, Humphries J, Waltham M, Smith A. The role of neovascularisation in the resolution of venous thrombus. *Thromb Haemost* 2005; 93:801–809.
- 32 Urbich C, Dimmeler S. Endothelial progenitor cells: characterization and role in vascular biology. *Circ Res* 2004; 95:343–353.
- 33 Pelliccia F, Zimarino M, De Luca G, Viceconte N, Tanzilli G, De Caterina R. Endothelial progenitor cells in coronary artery disease: from bench to bedside. *Stem Cells Transl Med* 2022; 11:451–460.
- 34 Asahara T, *et al.* Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997; 275:964–967.
- 35 Chong MSK, Ng WK, Chan JKY. Concise review: endothelial progenitor cells in regenerative medicine: applications and challenges. *Stem Cells Transl Med* 2016; 5:530–538.
- 36 Meng Q, Li X, Yu X, Lei F, Jiang K, Li C. Transplantation of ex vivo expanded bone marrow-derived endothelial progenitor cells enhances chronic venous thrombus resolution and recanalization. doi:10.1177/1076029610397180.
- 37 Meng Q-Y, *et al.* Transplantation of VEGF165-gene-transfected endothelial progenitor cells in the treatment of chronic venous thrombosis in rats. *Chin Med J (Engl)* 2010; 123:471–477.
- 38 Tang JJ, Meng QY, Cai ZX, Li XQ. Transplantation of VEGF165-overexpressing vascular endothelial progenitor cells relieves endothelial injury after deep vein thrombectomy. *Thromb Res* 2016; doi:10.1016/j.thromres.2015.11.025.
- 39 Santo SDI, *et al.* Cell-based therapy facilitates venous thrombus resolution. *Thromb Haemost* 2009; 101:460–464.
- 40 Keighron C, Lyons CJ, Creane M, O'Brien T, Liew A. Recent advances in endothelial progenitor cells toward their use in clinical translation. *Front Med* 2018; 0:354.
- 41 Perdomo S, Brugini A, Trias N, Menyous A, Silveira G, Ranero S, *et al.* Mobilized and apheresis-collected endothelial progenitor cells with plerixafor. *J Clin Apher* 2022; 37:245–252.
- 42 Roumen-Klappe EM, *et al.* Inflammation in deep vein thrombosis and the development of postthrombotic syndrome: a prospective study. *J Thromb Haemost* 2009; 7:582–587.
- 43 Muller WA. Getting leukocytes to the site of inflammation. *Vet Pathol* 2013; 50:7–22.
- 44 Zhang X, Feng X, Cai W, Liu T, Liang Z, Sun Y, *et al.* Chemokine CX3CL1 and its receptor CX3CR1 are associated with human atherosclerotic lesion vulnerability. *Thromb Res* 2015; 135:1147–1153.
- 45 Edsfeldt A, Grufman H, Ascituo G, Nitulescu M, Persson A, Nilsson M, *et al.* Circulating cytokines reflect the expression of pro-inflammatory cytokines in atherosclerotic plaques. *Atherosclerosis* 2015; 241:443–449.
- 46 Furio E, *et al.* CX 3 CR1/CX 3 CL1 axis mediates platelet-leukocyte adhesion to arterial endothelium in younger patients with a history of idiopathic deep vein thrombosis. *Thromb Haemost* 2018; 118:562–571.
- 47 Rabinovich A, Cohen JM, Kahn SR. Predictive value of markers of inflammation in the postthrombotic syndrome: a systematic review: inflammatory biomarkers and PTS. *Thromb Res* 2015; 136:289–297.