



VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

Departament de Medicina
Facultat de Medicina i Odontologia
Universitat de València
Programa de Doctorat 3139 Medicina

**ESTUDIO DE NUEVAS VARIANTES GENÉTICAS DE
TROMBOFILIA. IMPACTO EN EL RIESGO DE
ENFERMEDAD TROMBOEMBÓLICA VENOSA Y SUS
RECIDIVAS.**

TESIS DOCTORAL

Autora: M^a José Fabiá Valls

Directores: M^a José G^a-Fuster González-Alegre
Felipe Javier Chaves Martínez

Tutor: Fernando Martínez García

Valencia, Septiembre 2022

VNIVERSITAT Đ VALÈNCIA

D. Fernando Martínez García, Doctor en Medicina y Profesor Asociado del Departamento de Medicina de la Universidad de Valencia,

Dña. María José G^a-Fuster González-Alegre, Doctora en Medicina y Jefa Clínica jubilada del Servicio de Medicina Interna del Hospital Clínico de Valencia,

D. Felipe Javier Cháves Martínez, Doctor en Biología y Director de la Unidad de Genómica y Diabetes del Área Cardiovascular del Instituto de Investigación Sanitaria INCLIVA,

CERTIFICAN

Que **María José Fabiá Valls**, Licenciada en Medicina por la Universitat de València, ha realizado bajo nuestra dirección el presente trabajo de investigación titulado “**Estudio de nuevas variantes genéticas de trombofilia. Impacto en el riesgo de enfermedad tromboembólica venosa y sus recidivas**”, el cual posee la suficiente calidad científica para ser presentado para la obtención del Grado de Doctora en Medicina.

Valencia, 30 de Septiembre de 2022

Fernando Martínez

María José G^a-Fuster

Felipe Javier Cháves

No importa lo lento que vayas mientras no te detengas.

Confucio

AGRADECIMIENTOS

Pese a que este proyecto comenzó con mucha ilusión hace ya algún tiempo, ha habido muchas paradas por el camino y muchos sois los que habéis estado cerca de mí de una manera o de otra. A todos vosotros, gracias. No me quiero dejar a nadie porque todos habéis contribuido en este proyecto pero hay personas que no puedo dejar de nombrar.

Mis directores, el Dr. Cháves y la Dra. García-Fuster, siempre atentos, amables y accesibles, sin un solo reproche pese a la larga espera. Aunque el contacto no ha sido tan estrecho, ha sido un placer compartir este viaje contigo Javier. De ti, María José, podría escribir un libro entero y no tendría suficiente. Has sido mi jefa, compañera, amiga, familia y ejemplo de profesional y persona. Todo lo que sé de Medicina me lo enseñaste tú y mucho de lo que sé de la vida también. Tu cariño y generosidad son insuperables y me siento muy afortunada de haber podido pasar todos estos años contigo.

Al Dr. Redón, tutor de esta tesis, gracias por su optimismo, cercanía y confianza incluso en los momentos en que ni yo misma confiaba en mí. Sin tu insistencia y perseverancia esto nunca hubiera sido posible Pepe. Gracias por ayudarme siempre y esperarme. Pasen los años que pasen, para mí siempre serás “mi jefe”.

Como Nelson Mandela dijo, todo parece imposible hasta que se logra. En mi caso, todo parecía imposible hasta que Fernando apareció en mi tesis. En mi vida apareciste hace ya algunos años y pese a las tiroideas del principio no sé qué hubiera hecho yo sin ti. Siempre has estado ahí guiando mis pasos y escuchándome, haciéndome el trabajo y la vida más divertida. Cuántos “malalts” hemos compartido, cuántos congresos, cuántas cenas y que orgullosa estoy de ti. Ya sabes que tienes una cabeza privilegiada pero los que te conocemos sabemos que lo mejor es tu corazón. Gracias por tu paciencia y dedicación.

Y luego estáis vosotros, los que siempre habéis estado ahí y habéis hecho que estos años hayan sido más fáciles y sobre todo más entretenidos. Me habéis acompañado en los buenos momentos y apoyado en los malos. Nines, Elena, María, Elvira y Vicente. Y Noe, amiga, gran parte de esto es tuyo porque sin tu cariño, apoyo y consejos, nada de nada sería posible. Desde el principio has

estado ahí, hemos reído y llorado y hemos seguido para delante, pero siempre juntas y espero que por mucho tiempo más.

Y no me quiero olvidar de Forner, ayudando en lo que puede e incluso en lo que no puede también, siempre con una sonrisa y un “me viene fenomenal”. Adrián, Andreu y Colomar, mis tres mosqueteros. Mar, Natalia y Eli, ayudando y, mucho, en el último tramo. Rogelio, atento y cariñoso siempre en el momento que más lo he necesitado.

Y me he dejado para lo último lo más importante de mi vida, mi mayor regalo, mi familia. Mi madre, mi padre, mi hermano, Susana, Jorge, Pablo, Martín y casi casi Inés, todo esto es para vosotros, por quererme tanto y haberme ayudado y soportado en los últimos meses y toda mi vida. Os quiero mucho y estoy deseando recuperar las paellas perdidas este verano con vosotros.

Xavi, gracias por hacerlo siempre todo fácil y bueno.

A ti en especial, mamá, te dedico todo mi trabajo y mi esfuerzo porque no solo me has dado la vida sino que haces que la vida sea posible cada día gracias a tu esfuerzo, dedicación y amor.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AAFL	Anticuerpos antifosfolípido
ABO	Gen del grupo sanguíneo ABO (transferase A, alpha 1-3-N-acetylgalactosaminyltransferase; transferase B, alpha 1-3-galactosyltransferase)
Aβ₂GP	Anti-beta ₂ glicoproteína
ACCP	“American College of Chest Physicians”
ACL	Anticardiolipina
ACOD	Anticoagulantes orales de acción directa
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AINES	Antiinflamatorios no esteroideos
AL	Anticoagulante lúpico
ANAs	Anticuerpos antinucleares
Anti-dsDNA	Anticuerpos anti-ADN de doble cadena
AR	Artritis reumatoide
AT	Antitrombina III
AUC	Área bajo la curva
AVK	Antivitamina K
COX₂	Ciclooxigenasa 2
CYP₄V₂	Gen que codifica el citocromo P450 4V ₂
DD	Dímero D
DL	Dislipemia
DM	Diabetes mellitus
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EII	Enfermedad inflamatoria intestinal
EPCR	Receptor endotelial de la proteína C
EDEV	Enfermedad tromboembólica venosa

FAM	Frecuencia del alelo menor
FGA	Gen que codifica el fibrinógeno alfa
FGB	Gen que codifica el fibrinógeno beta
FGG	Gen que codifica el fibrinógeno gamma
FT	Factor tisular
FWW	Factor de von Willebrand
FII	Factor II de la coagulación
FV	Factor V de la coagulación
FVa	Factor V de la coagulación activado
FVL	<i>Factor V de Leiden</i>
FVII	Factor VII de la coagulación
FVIIa	Factor VII de la coagulación activado
FVIII	Factor VIII de la coagulación
FVIIIa	Factor VIII de la coagulación activado
FIX	Factor IX de la coagulación
FIXa	Factor IX de la coagulación activado
FX	Factor X de la coagulación
FXa	Factor X de la coagulación activado
FXI	Factor XI de la coagulación
FXIa	Factor XI de la coagulación activado
FXII	Factor XII de la coagulación
FXIIa	Factor XII de la coagulación activado
FXIII	Factor XIII de la coagulación
F₂	Gen que codifica el factor II de la coagulación
F₅	Gen que codifica el factor V de la coagulación
F₁₁	Gen que codifica el factor XI de la coagulación
GP	Glicoproteína
GP6	Gen que codifica la glicoproteína VI plaquetar
GWAS	“Genome-Wide Association Studies” (Estudios de asociación del genoma completo)

HBPM	Heparina de bajo peso molecular
HIVEP1	Gen que codifica la proteína ZAS1
HK	Quiminógeno de alto peso molecular
HPTC	Hipertensión pulmonar tromboembólica crónica
HR	“Hazard ratio” (Cociente de riesgo)
HRM	“High Resolution Melting” (Análisis de alta resolución de fusión)
HTA	Hipertensión arterial
IC	Intervalo de confianza
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IMC	Índice de masa corporal
ISTH	“International Society on Thrombosis and Haemostasis” (Sociedad Internacional de Hemostasia y Trombosis)
KNG1	Gen que codifica el quininógeno 1
LD	“Linkage disequilibrium” (Desequilibrio de ligamiento)
LES	Lupus eritematoso sistémico
MMII	Miembros inferiores
MMSS	Miembros superiores
MTHFR	Metilentetrahidrofolato reductasa
NGS	“Next-generation sequencing” (Secuenciación de nueva generación)
NET	Trampa extracelular de neutrófilos
OMS	Organización Mundial de la Salud
OR	“Odds ratio” (Razón de probabilidades)

PAI-1	Inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1
PC	Proteína C
PCa	Proteína C activada
PCR	Proteína C reactiva
PROC	Gen que codifica la proteína C
PROCR	Gen que codifica el receptor endotelial de la proteína C
PROS1	Gen que codifica la proteína S
PS	Proteína S
ROC	“Receiver Operating Characteristic” (Característica Operativa del Receptor)
SAF	Síndrome antifosfolípido
SERPINC1	Gen que codifica la antitrombina III
SERPINE1	Gen serpina familia E miembro 1
SGR	“Score” genético de riesgo
SLC44A2	Proteína 2 similar al transportador de colina
SLC44A2	Gen que codifica la proteína 2 similar al transportador de colina
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido
SPT	Síndrome postrombótico
STXBP5	Sintaxina 5
STXBP5	Gen que codifica la sintaxina 5
TAC	Tomografía axial computerizada
TEP	Tromboembolismo pulmonar
TH	Trombofilia hereditaria
TNF	“Tumor necrosis factor” (Factor de Necrosis Tumoral)
tPA	Activador tisular del plasminógeno
TRALI	Lesión pulmonar aguda relacionada con transfusiones
TSPAN15	Tetraspanina 15

<i>TSPAN15</i>	Gen que codifica la tetraspanina 15
TTPa	Tiempo de tromboplastina parcial activado
TVP	Trombosis venosa profunda
TVS	Trombosis venosa superficial
uPA	Activador del plasminógeno de tipo uroquinasa
VSG	Velocidad de sedimentación globular
VW	Gen que codifica el FVW de la coagulación

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. ENFERMEDAD TROMBOEMBÓLICA VENOSA	3
1.1.1. EPIDEMIOLOGÍA	4
1.1.2. ETIOPATOGENIA	6
1.1.3. TROMBOFILIA	11
1.1.3.1. CLASIFICACIÓN	12
1.1.3.2. TROMBOFILIA PRIMARIA	13
1.1.3.2.1. TROMBOFILIA PRIMARIA HEREDITARIA	13
1.1.3.2.2. TROMBOFILIA PRIMARIA ADQUIRIDA	36
1.1.3.2.3. TROMBOFILIA PRIMARIA MIXTA	40
1.1.3.3. TROMBOFILIA SECUNDARIA	41
1.1.3.3.1. FACTORES DE RIESGO TROMBÓTICO	43
1.1.3.3.2. MODELOS DE RIESGO	55
1.2. RECURRENCIA DE LA ETEV	60
1.2.1. RECURRENCIA PRECOZ FRENTE A RECURRENCIA TARDÍA	61
1.2.2. PREDICTORES DE RECURRENCIA	62
1.2.2.1. PREDICTORES DE RECURRENCIA CLÍNICOS	62
1.2.2.2. PREDICTORES DE RECURRENCIA DE LABORATORIO: DÍMERO D	68
1.2.2.3. PREDICTORES DE RECURRENCIA ECOGRÁFICOS: RESIDUO TROMBÓTICO	70
1.2.2.4. PREDICTORES DE RECURRENCIA GENÉTICOS: TROMBOFILIA	72
1.2.3. MODELOS DE RIESGO	76
1.3. “SCORE” DE RIESGO GENÉTICO EN LA RECURRENCIA	78
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	81
2.1. HIPÓTESIS	83
2.2. OBJETIVOS	84
2.2.1. OBJETIVO PRIMARIO	84
2.2.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS	84

3. MATERIAL Y MÉTODOS	85
3.1. DISEÑO DEL ESTUDIO	87
3.2. SELECCIÓN DE PACIENTES	87
3.2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN	87
3.2.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	87
3.2.3. RETIRADA DEL ESTUDIO	87
3.3. RECOPIACIÓN DE DATOS DE LOS PACIENTES	88
3.4. FENOTIPADO DE LOS PACIENTES	90
3.5. VARIABLES DE INTERÉS	91
3.5.1. VARIABLES DEMOGRÁFICAS	91
3.5.2. VARIABLES ANTROPOMÉTRICAS	91
3.5.3. VARIABLES INSTRUMENTADAS	92
3.5.4. VARIABLES CLÍNICAS	92
3.5.5. VARIABLES ANALÍTICAS	93
3.5.6. VARIABLES EVOLUTIVAS	100
3.6. GENOTIPADO Y SELECCIÓN DE POLIMORFISMOS	102
3.7. TAMAÑO MUESTRAL	103
3.8. PODER ESTADÍSTICO	104
3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	105
3.9.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO GENERAL	105
3.9.2. ANÁLISIS FUNCIONAL DE LOS POLIMORFISMOS	106
3.9.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO GENÉTICO	107
3.9.3.1. ASOCIACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS CON EL FENOTIPO	108
3.9.3.2. ASOCIACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS CON RECIDIVA	108
3.9.3.3. ASOCIACIÓN DE LOS HAPLOTIPOS CON RECIDIVA	108
3.9.3.4. “SCORE” DE RIESGO GENÉTICO	109
3.9.3.4.1. CAPACIDAD PREDICTIVA DEL “SCORE”	110
3.9.3.4.2. RIESGO DE RECIDIVA EN FUNCIÓN DEL “SCORE”	110
3.10. ASPECTOS ÉTICOS	111
3.11. FINANCIACIÓN	111

4. RESULTADOS	113
4.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN	115
4.1.1. CARACTERÍSTICAS EN FUNCIÓN DE LA RECIDIVA	115
4.1.2. CARACTERÍSTICAS SEGÚN FENOTIPO CLÍNICO	119
4.2. CARACTERÍSTICAS DE LOS POLIMORFISMOS	124
4.2.1. ASOCIACIÓN FENOTÍPICA PREVIA DE LOS POLIMORFISMOS	126
4.2.2. VÍAS METABÓLICAS Y REACTOMA	128
4.3. ASOCIACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS CON FENOTIPOS CLÍNICOS	131
4.4. ASOCIACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS CON RECIDIVA	133
4.4.1. REGRESIÓN LOGÍSTICA	133
4.4.2. REGRESIÓN DE COX	136
4.5. ASOCIACIÓN DE HAPLOTIPOS CON RECIDIVA	138
4.6. RIESGO DE RECIDIVA EN FUNCIÓN DE DISTINTOS “SCORES” DE RIESGO GENÉTICO	139
4.6.1. RIESGO DE RECIDIVA EN FUNCIÓN DEL “SCORE” GLOBAL	139
4.6.2. RIESGO DE RECIDIVA EN FUNCIÓN DEL “SCORE” DE RIESGO	141
4.6.3. RIESGO DE RECIDIVA SEGÚN EL “SCORE” DE PROTECCIÓN	143
4.7. CAPACIDAD PREDICTIVA DE LOS DISTINTOS “SCORES” DE RIESGO GENÉTICO	145
4.7.1. CAPACIDAD PREDICTIVA DE LOS MODELOS DE REGRESIÓN LOGÍSTICA	145
4.7.2. CAPACIDAD PREDICTIVA DE LOS MODELOS DE REGRESIÓN DE COX	148
5. DISCUSIÓN	151
6. CONCLUSIONES	167
7. PERSPECTIVAS FUTURAS	171
8. BIBLIOGRAFÍA	175

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Genes y variantes genéticas asociadas con ETEV.	35
Tabla 2. Factores de riesgo de la ETEV.	43
Tabla 3. Resultados posibles en el análisis del factor V.	99
Tabla 4. Características de la población en función de la recurrencia.	116
Tabla 5. Parámetros analíticos basales de la población según la recurrencia.	117
Tabla 6. Factores de riesgo adquiridos en función de la recurrencia.	118
Tabla 7. Características de la población según el fenotipo clínico.	120
Tabla 8. Parámetros analíticos en los distintos grupos fenotípicos.	121
Tabla 9. Factores de riesgo adquiridos según fenotipo.	122
Tabla 10. Principales características de los polimorfismos ya descritos previamente.	125
Tabla 11. Principales características de los polimorfismos no descritos previamente.	125
Tabla 12. Rasgos clínicos relacionados con los polimorfismos de estudio.	126
Tabla 13. Estudios GWAS en los que se han testado los polimorfismos seleccionados.	127
Tabla 14. Principales vías metabólicas en las que participan los polimorfismos analizados.	129
Tabla 15. Frecuencias alélicas del fenotipo trombofilia hereditaria en relación a fenotipo AAFL y fenotipo no trombofilia hereditaria no AAFL.	131
Tabla 16. Frecuencias alélicas del fenotipo AAFL en relación a fenotipo trombofilia hereditaria y fenotipo no trombofilia hereditaria no AAFL.	132

Tabla 17. Frecuencias alélicas del fenotipo no trombofilia hereditaria no AAFL en relación a fenotipo trombofilia hereditaria y fenotipo AAFL.	133
Tabla 18. Regresión logística simple.	135
Tabla 19. Regresión logística múltiple.	135
Tabla 20. Regresión de Cox.	137
Tabla 21. Asociación de los haplotipos del cromosoma 4 con recidiva.	138
Tabla 22. Polimorfismos según el riesgo estimado de asociación con el alelo menor.	139

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Posibles complicaciones de la ETEV.	3
Figura 2. Incidencia anual de ETEV por edad y sexo (a). Incidencia anual de ETEV, TVP aislada y TEP con o sin TVP asociada por edad.	4
Figura 3. Incidencia acumulada de la recurrencia de ETEV y el riesgo de recurrencia por 1000 personas/día.	5
Figura 4. Triada de Virchow.	7
Figura 5. Etiopatogenia de la ETEV.	9
Figura 6. Modelo dinámico de riesgo.	11
Figura 7. Estrategia GWAS (Genome-Wide Association Studies).	16
Figura 8. Perspectiva histórica de los factores de riesgo genéticos de la ETEV.	19
Figura 9. Genes con alelos de susceptibilidad en la ETEV.	22
Figura 10. Criterios revisados de clasificación del síndrome antifosfolípido.	37
Figura 11. Patogénesis propuesta del síndrome antifosfolípido.	39
Figura 12. Etiopatogenia de la ETEV.	42
Figura 13. Mecanismo biológico de la asociación entre obesidad y ETEV.	46
Figura 14. La gravedad de la ETEV en pacientes médicos es superior a pacientes quirúrgicos.	47
Figura 15. Incidencia de ETEV en pacientes hospitalizados con y sin cáncer.	49
Figura 16. Causas de defunción en pacientes con cáncer.	50
Figura 17. Mecanismo protrombótico del cáncer.	51
Figura 18. Incidencia de ETEV durante el embarazo y posparto.	52

Figura 19. Modelo de predicción de riesgo de ETEV de Caprini.	56
Figura 20. Escala de predicción de riesgo de ETEV de Padua.	57
Figura 21. Cálculo del riesgo de ETEV en procesos médicos e indicación de profilaxis (guía PRETEMED).	58
Figuras 22. Escala IMPROVE de riesgo de sangrado.	59
Figura 23. Factores que aumentan el riesgo de hemorragia en pacientes quirúrgicos.	59
Figura 24. Factores de riesgo para sangrado tras cirugía ortopédica.	60
Figura 25. Curvas de supervivencia del riesgo estimado de recidiva tromboembólica según el IMC.	63
Figura 26. Definición de la ISTH de ETEV provocada y no provocada.	64
Figura 27. Incidencia acumulada de recurrencia trombótica en pacientes con ETEV provocada y no provocada.	65
Figura 28. Riesgo de recurrencia de ETEV provocada y no provocada.	65
Figura 29. Incidencia acumulada de recurrencia trombótica en pacientes anticoagulados, con cáncer y sin cáncer.	67
Figura 30. Incidencia acumulada de recurrencia trombótica según valores de DD y anticoagulación.	68
Figura 31. Incidencia acumulada de recurrencia trombótica en pacientes con ETEV no provocada manejados según DD.	70
Figura 32. Evaluación de la asociación entre residuo trombótico y recurrencia trombótica en paciente con ETEV provocada y no provocada (panel A) y pacientes con ETEV provocada (panel B), tras 3 meses de anticoagulación.	71

Figura 33. Incidencia acumulada de recurrencias en pacientes con trombofilia hereditaria y sin ella.	72
Figura 34. Algoritmo para seleccionar pacientes, con primer episodio de ETEV, candidatos para las pruebas de trombofilia hereditaria.	74
Figura 35. Escala VTE-BLEED.	77
Figura 36. Cronograma del seguimiento de los pacientes.	90
Figura 37. Chemagic magnetic separation module i.	102
Figura 38. Poder estadístico en función de la prevalencia.	104
Figura 39. Poder estadístico en función de la frecuencia en el alelo menor en los casos.	104
Figura 40. Poder estadístico en función del riesgo relativo asociado a los genotipos.	105
Figura 41. Porcentaje de factores de riesgo adquiridos en la población.	117
Figura 42. Número de factores de riesgo asociados en cada paciente.	118
Figura 43. Distribución de trombofilia hereditaria clásica en la población.	119
Figura 44. Mediana de seguimiento en los distintos grupos fenotípicos.	121
Figura 45. Porcentaje de factores de riesgo trombótico según fenotipo.	122
Figura 46. Consecuencias funcionales de los polimorfismos analizados.	126
Figura 47. Reactoma de los polimorfismos seleccionados.	130
Figura 48. Desequilibrio de ligamiento <i>rs60251</i> .	132
Figura 49. Porcentaje de cada fenotipo en recidiva y no recidiva del <i>rs1799768</i> .	136
Figura 50. Curva de supervivencia para los genotipos del SNP <i>rs1799768</i> .	137

Figura 51. Bloques de haplotipos del cromosoma 4.	138
Figura 52. Porcentaje de recidivas según el valor del “score” ponderado global.	140
Figura 53. Porcentaje de recidivas según el valor del “score” ponderado global en el grupo sin trombofilia hereditaria ni AAFL (fenotipo 3).	141
Figura 54. Porcentaje de recidivas según valor del “score” ponderado de riesgo.	141
Figura 55. Porcentaje de recidivas según el valor del “score” calculado como la suma de los alelos de riesgo.	142
Figura 56. Riesgo de recidiva según el valor del “score” ponderado de riesgo en el grupo sin trombofilia hereditaria ni AAFL (fenotipo 3).	142
Figura 57. Riesgo de recidiva según valor del “score” calculado como la suma de alelos de riesgo en el grupo sin trombofilia hereditaria ni AAFL (fenotipo 3).	143
Figura 58. Porcentaje de recidivas según “score” ponderado protector.	144
Figura 59. Porcentaje de recurrencias según el valor del “score” ponderado protector en el grupo sin trombofilia hereditaria ni AAFL (fenotipo 3).	144
Figura 60. Porcentaje de recidivas según el valor del “score” ponderado protector en el grupo con trombofilia hereditaria (fenotipo 1).	145
Figura 61. Curvas ROC para el modelo de regresión logística basado sólo en covariables clínicas: edad, sexo, imc, fenotipo clínico, meses de anticoagulación y localización de la TVP (negro) y posteriormente añadiendo el “score” ponderado cuantitativo global (azul).	146
Figura 62. Curvas ROC para el modelo de regresión logística basado sólo en covariables clínicas: edad, sexo, imc, fenotipo clínico, meses de anticoagulación y localización de la TVP (negro) y posteriormente añadiendo el “score” basado en número de alelos de riesgo cuantitativo (azul).	147

Figura 63. Curvas ROC para el modelo de regresión logística basado sólo en covariables clínicas: edad, sexo, imc, fenotipo clínico, meses de anticoagulación y localización de la TVP (negro) y posteriormente añadiendo el “score” ponderado de protección cuantitativo (azul). 147

Figura 64. Curvas de supervivencia del “score” basado en conteo de alelos de riesgo basado en modelos de regresión de Cox ajustado por edad, sexo, IMC, fenotipo clínico, meses de anticoagulación y localización de la TVP. 148

Figura 65. Curvas de supervivencia del “score” ponderado protector basado en modelos de regresión de Cox, ajustado por edad, sexo, IMC, fenotipo clínico, meses de anticoagulación y localización de la TVP. 149

1. INTRODUCCIÓN

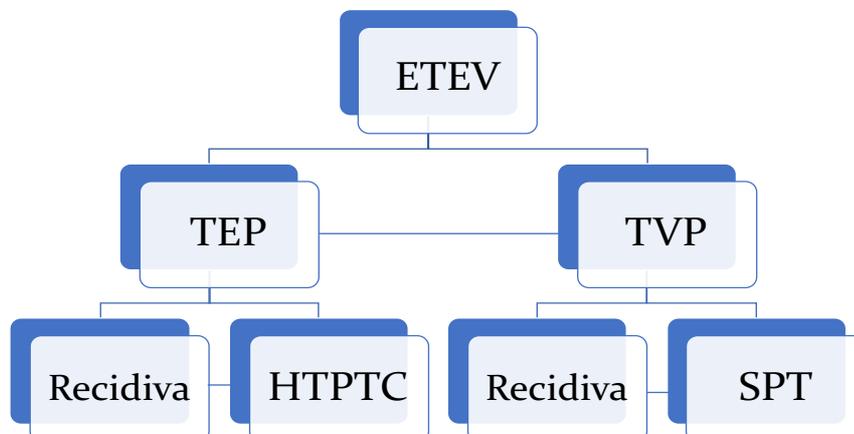
1.1. ENFERMEDAD TROMBOEMBÓLICA VENOSA

La enfermedad tromboembólica venosa (ETE), que comprende la trombosis venosa profunda (TVP) y el tromboembolismo pulmonar (TEP), es un proceso caracterizado por la formación de un coágulo en el sistema venoso profundo el cual interrumpe la circulación normal de la sangre dando lugar a una serie de repercusiones clínico-patológicas importantes(1).

Supone un importante problema de salud pública por su elevada frecuencia, morbimortalidad en fase aguda y complicaciones a largo plazo y es la patología vascular más frecuente entre los 15 y los 50 años de edad(2). Anualmente causa más muertes en Europa que la suma de las producidas por el cáncer de próstata, el cáncer de mama, los accidentes de tráfico, y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida(3). Además, se considera la principal causa de muerte evitable en pacientes hospitalizados(4) y una de las principales causas de muerte(5,6) y morbilidad(7) materna durante el embarazo y el puerperio.

La recurrencia, el sangrado en relación a la anticoagulación, el síndrome posttrombótico (SPT) y la hipertensión pulmonar tromboembólica crónica (HTPEC) son las principales complicaciones que pueden ocurrir tras el episodio agudo (**Figura 1**). Estas patologías suponen además de riesgo vital y deterioro de la calidad de vida de los pacientes, importantes repercusiones socioeconómicas añadidas(8,9).

Figura 1. Posibles complicaciones de la ETE.

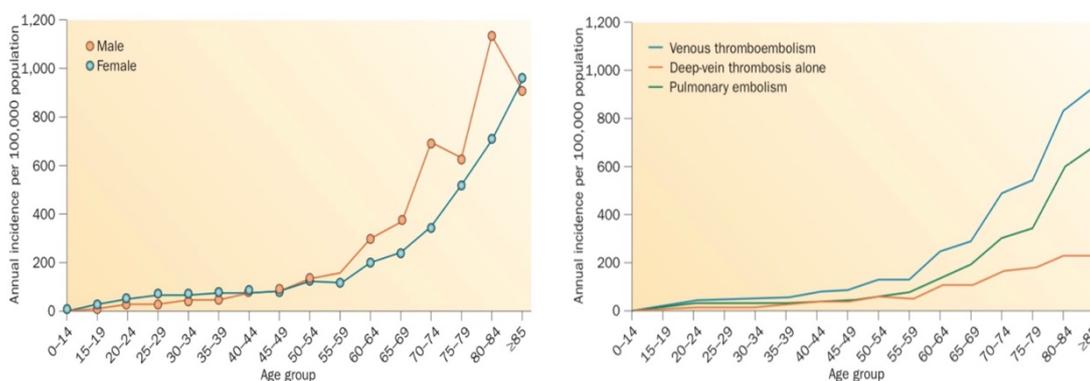


ETE: enfermedad tromboembólica venosa. TEP: tromboembolismo pulmonar. TVP: trombosis venosa profunda. HTPEC: hipertensión pulmonar tromboembólica crónica. SPT: síndrome posttrombótico.

1.1.1. EPIDEMIOLOGÍA

La incidencia de la ETEV se estima en 1-2 casos por 1000 habitantes/año(10-12), tasa comparable a la incidencia de los accidentes cerebrovasculares. Un 60% aproximadamente, debuta en forma de TVP aislada y un 40% como TEP con o sin TVP(13). Esta cifra aumenta exponencialmente, para ambos sexos, con la edad(10)(Figura 2) y es hasta 4 veces más frecuente en países desarrollados(14).

Figura 2. Incidencia anual de ETEV por edad y sexo (A). Incidencia anual de ETEV, TVP aislada y TEP con o sin TVP asociada por edad.



Adaptado de Silverstein y colaboradores(15).

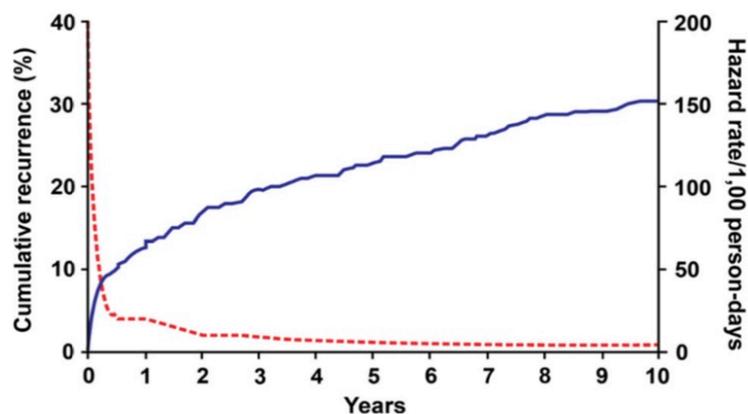
Así, el incremento exponencial de la ETEV con la edad, es un hecho sobradamente demostrado en muchos estudios. En cuanto al sexo, parece ser que la incidencia es algo mayor en mujeres durante la edad fértil, lo que se ha atribuido a la mayor exposición hormonal durante el embarazo y el puerperio y al uso de anticonceptivos(16). A partir de los 45 años la incidencia es mayor en hombres(17), al igual que el riesgo de recurrencia que también es mayor en hombres(18). Aunque se desconoce el motivo, se ha propuesto que esto podría ser debido a diferencias en factores de riesgo debidos al estilo de vida entre hombres y mujeres.

En pacientes con enfermedades cardiovasculares o cáncer activo aún se conocen porcentajes más elevados, así, según el tipo de cáncer se estiman cifras como 3% para el cáncer de mama y vejiga, 4-7% para el cáncer de colon y de próstata, entre 10-12% para pulmón, estómago, ovario y tumores cerebrales y hasta un 15% para el cáncer de páncreas(19).

Por lo que se refiere a España, los datos más actualizados que disponemos(20), provienen de un análisis de las bases de datos de altas hospitalarias producidas en el Sistema Nacional de Salud en 2005. En este estudio se obtuvo una incidencia media de 154/100000 habitantes-año, repartido por igual entre ambos sexos y con una edad media de presentación de 67 años. Estos datos, no obstante, podrían estar infravalorados ya que únicamente se reflejaban los casos hospitalizados.

Por otra parte, es una enfermedad con una elevada tasa de recurrencia (**Figura 3**), entre un 20-30% recurre a los 10 años tras el diagnóstico(21-24). El riesgo de recurrencia varía en el tiempo y aunque es más elevado en los primeros 6-12 meses tras el evento, nunca llega a ser nulo. Además, mientras que el tratamiento anticoagulante o profilaxis secundaria esté activa se previene la recidiva, pero tras completar tres meses de adecuada anticoagulación, si ésta se suspende, reaparece el riesgo de recidiva independientemente del tiempo que el tratamiento se haya mantenido(25-29). Es decir, prolongar el tratamiento anticoagulante no reduce el riesgo de recurrencia una vez éste se suspende. Todo esto hace pensar que la ETEV es una enfermedad crónica con episodios de recurrencia(23,25,26).

Figura 3. Incidencia acumulada de la recurrencia de ETEV (línea continua) y el riesgo de recurrencia por 1000 personas/día (línea de puntos).



Adaptado de Heit y colaboradores(25).

Pero además de la elevada incidencia de recidiva tromboembólica y la hemorragia asociada a la anticoagulación, asocia importantes secuelas a largo plazo como son el SPT y la HTPTC que reducen substancialmente la calidad de vida de los pacientes. Prandoni y colaboradores(27) pusieron de manifiesto que hasta el 30% de los pacientes que sufren una TVP proximal sintomática desarrollan un SPT en los primeros 8 años de seguimiento, aumentando más de 6 veces el riesgo si había recidiva ipsilateral. Por otra parte, hasta un 3% de los pacientes que sufren un TEP desarrollan HTPTC(28) con limitación funcional importante y disnea de difícil tratamiento(29).

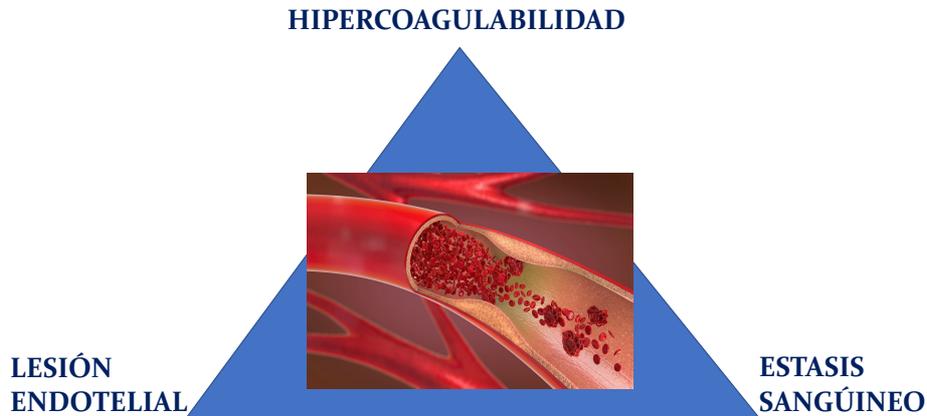
Por otro lado, la supervivencia después de un episodio de ETEV, es peor que la esperada y es mucho peor después de un TEP que una TVP aislada(30-32). De hecho, el riesgo de muerte precoz tras un TEP es 18 veces mayor que en pacientes con TVP únicamente(33), así, pese a que las cifras de muerte asociadas con TEP están disminuyendo(34,35) con los avances en diagnóstico y tratamiento de los últimos años, hasta un 20% de los pacientes fallecen en el primer año de diagnóstico(12,35). Se estima que en Europa el TEP supone 8-13 muertes por 1000 mujeres y 2-7 muertes por 1000 hombres entre los 15 y los 55 años de edad(36).

Por tanto, podemos considerar la ETEV como una enfermedad crónica por la elevada incidencia de recurrencia así como las secuelas a largo plazo, lo que supone unos costes sanitarios muy elevados que se estiman entre 1.5-3.3 billones de euros en Europa y unos 7-10 billones de dólares en Estados Unidos(37,38).

1.1.2. ETIOPATOGENIA

A mediados de siglo XIX, Rudolph Virchow señaló los tres principales factores implicados en la trombosis: estasis sanguínea, lesión en la pared vascular y estado de hipercoagulabilidad (**Figura 4**). Esta tríada etiopatogénica clásica, conocida como “Triada de Virchow”, sigue todavía vigente en nuestros días aunque el avance en los conocimientos científicos y técnicos ha hecho que cada vez se conozcan más procesos y vías biológicas implicados en el riesgo de padecer la enfermedad.

Figura 4. Triada de Virchow.



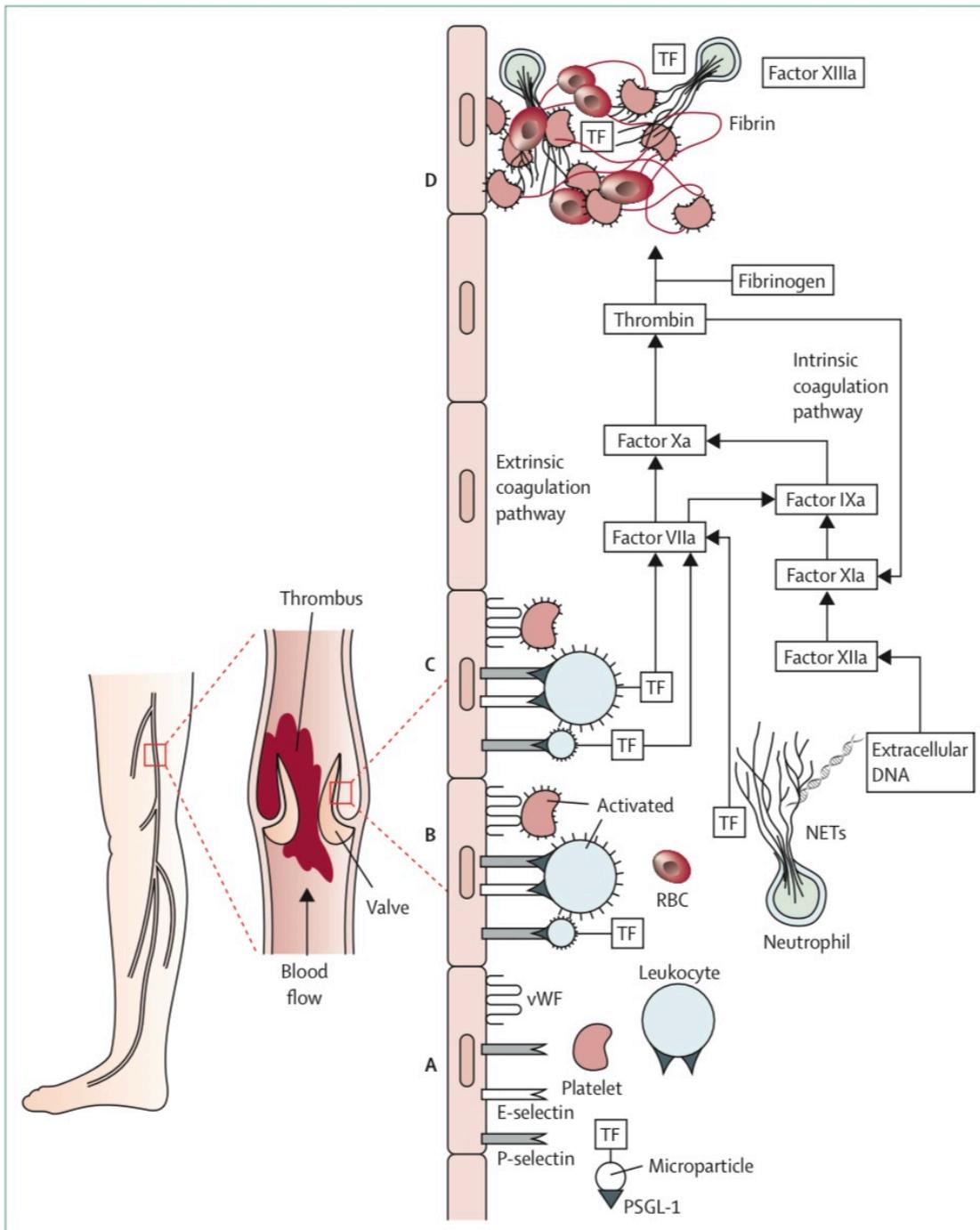
Cuando se produce la disminución del flujo o estasis venoso, se acumulan factores de la coagulación activados que no son diluidos por la sangre circulante ni inhibidos por los inhibidores fisiológicos dado que al ser el tránsito muy lento no llegan en condiciones adecuadas. En estas circunstancias, hay más predisposición a la aparición de trombos venosos que se cree que comienzan en las bolsas valvulares de las venas ya que son más susceptibles a esta disminución del flujo, sobre todo, durante la inmovilización prolongada (39).

Además, en situaciones de estasis, debido a la hipoxia local y la inflamación, se puede producir lesión endotelial con daño y disfunción de la pared vascular lo que puede conducir a un estado de hipercoagulabilidad dadas las propiedades anticoagulantes naturales del endotelio(39). Así, cuando se produce la activación de las células endoteliales hay una mayor expresión de moléculas de adhesión, en particular la P-selectina (presente en las células endoteliales, plaquetas y leucocitos) y el factor de von Willebrand (FVW). Este fenómeno facilita la adhesión de los leucocitos, plaquetas y micropartículas que se activan liberando mediadores procoagulantes y proinflamatorios entre los que destacan la trombina y algunas citocinas como el factor de necrosis tumoral (TNF) y las interleucinas 6 (IL-6) y 8 (IL-8). Por otra parte, los leucocitos activados, expresan el factor tisular (FT) o factor III que es un receptor de membrana con alta afinidad por el factor VII (FVII).

Tesis doctoral

Su unión, activa la vía extrínseca de la cascada de la coagulación, lo que conduce a la activación del factor X (II), la producción de trombina y finalmente trombos compuestos por fibrina, hematíes y plaquetas. Aunque esta vía extrínseca parece ser la más importante, la coagulación también se puede activar por la vía intrínseca o de contacto al contactar el factor XII (FXII) circulante con el colágeno y otras moléculas de la matriz subendotelial cuando se lesiona el endotelio (**Figura 5**).

Figura 5. Etiopatogenia de la ETEV.



Adaptado de Khan F y colaboradores(40).

(A) Expresión de moléculas de adhesión superficial como la P-selectina y el factor de von Willebrand.

(B) Unión de leucocitos, micropartículas y plaquetas.

(C) Formación de trombina a través de la vía extrínseca de la coagulación.

(D) Trombo compuesto por fibrina, hematíes y plaquetas.

NETs: trampas extracelulares de neutrófilos. PSGL-1: ligando 1 de glicoproteína P-selectina. RBC: hematíe. TF: factor tisular. vWF: factor von Willebrand. Factor VIIa: factor VII activado. Factor IXa: factor IX activado. Factor Xa: factor X activado. Factor XIa: factor XI activado. Factor XIIa: factor XII activado. Factor XIIIa: Factor XIII activado.

Así, existe una evidencia cada vez mayor de que la formación de trombos podría deberse a una compleja interacción entre el sistema de la coagulación y la inflamación. Es lo que se ha llamado inmunotrombosis(41). Sabemos que los leucocitos activados son la principal fuente de micropartículas del FT procoagulante, que estimula la formación y crecimiento de trombos(42). Por otra parte, las trampas extracelulares de neutrófilos o NETs que son una malla de ácido desoxirribonucleico (ADN) que encierra histonas y proteínas antimicrobianas(43) y son liberadas por los neutrófilos al espacio extracelular, sirven de anclaje a los hematíes, las plaquetas y las moléculas procoagulantes para formar trombos(43,44). Las plaquetas ayudarían a inducir la formación de NETs y aumentarían la actividad procoagulante de las células inmunitarias(41,45) y éste, podría ser el motivo por el cual la aspirina disminuye el riesgo de ETEV(46). Los hematíes estarían involucrados en la producción de trombina, activación plaquetaria y crecimiento de los trombos(47). De hecho, tanto la transfusión de plaquetas como de hematíes aumenta el riesgo de trombosis venosa y su recidiva(48). Otro hecho importante que apoya esta teoría es que, pese a que todavía no se han utilizado como biomarcadores, las micropartículas del FT y marcadores de los NETs aumentan en pacientes con ETEV(49,50).

Por lo tanto, estrecha relación entre la inflamación y la trombosis venosa que ha abierto una importante línea de investigación en los últimos años, como lo demuestran todos aquellos trabajos en los que se ha visto que fármacos con propiedades antiinflamatorias, como las estatinas, podrían disminuir el riesgo de ETEV y su recurrencia(51,52).

Por último, cabe destacar, que hay determinadas situaciones, denominadas estados hipercoagulables o trombofilias, en los que se produce un desequilibrio entre los factores procoagulantes y anticoagulantes de la hemostasia sanguínea que conduce a una mayor susceptibilidad a la formación de trombos. Por la importancia de este tema en la presente tesis, se tratará de manera independiente en el siguiente punto.

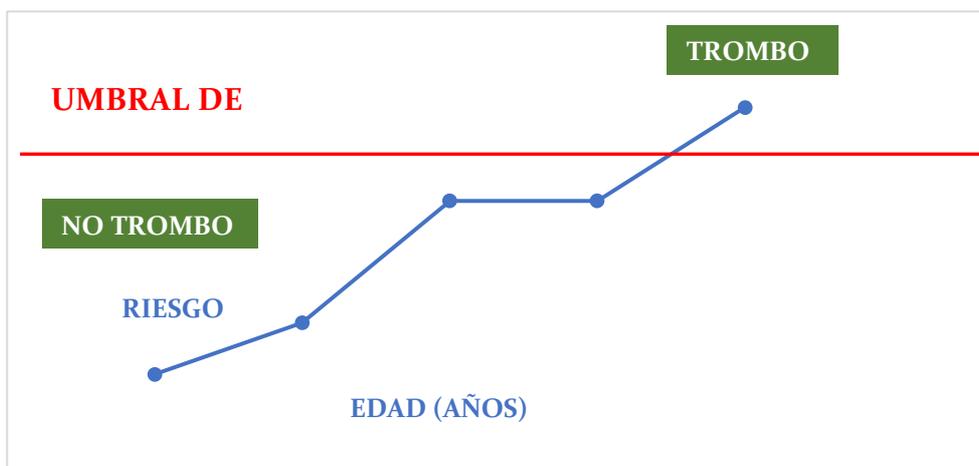
1.1.3. TROMBOFILIA

En 1995, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Sociedad Internacional de Hemostasia y Trombosis (ISTH) definieron la trombofilia o estado de hipercoagulabilidad, como una predisposición anormal del individuo a la trombosis debido a la presencia de alteraciones adquiridas o hereditarias de la hemostasia(53).

Inicialmente, este término se reservaba para aquellos pacientes que presentaban trombosis a edades tempranas, manifestaciones clínicas atípicas, localización inusual, recurrencia frecuente o eventos migratorios(54), sin embargo la tendencia actual es considerar que se trata de un conjunto de alteraciones heterogéneas que pueden ser genéticas, adquiridas o mixtas según su etiología(55) y, que frecuentemente se presentan asociadas en un mismo paciente(56), independientemente de la presentación clínica o localización de la trombosis.

Así, la ETEV es una enfermedad compleja y multifactorial desencadenada por interacciones entre múltiples factores bien de manera aditiva o sinérgica. Es un concepto dinámico de riesgo en el que se cree, que la presencia de una predisposición genética junto con la participación de otros factores ambientales, conducen a una enfermedad clínicamente manifiesta cuando se alcanza el llamado umbral de trombosis(57)(Figura 6).

Figura 6. Modelo dinámico de riesgo.



Este modelo multicausal de la ETEV, hace que sea muy difícil identificar todas las causas y por tanto predecir su riesgo.

1.1.3.1. CLASIFICACIÓN

De manera práctica, la trombofilia se puede clasificar en:

- **Trombofilia primaria:** producida por anomalías en el propio sistema hemostático. Dentro de este grupo, a su vez, podemos considerar:
 - Hereditaria: actualmente se desconoce su incidencia real en la ETEV puesto que posiblemente queden muchas variantes por descubrir. La trombofilia hereditaria tradicional (deficiencias de proteína C (PC), proteína S (PS), antitrombina III (AT) y la mutación del gen de la protrombina (*G20210A*) y el *factor V de Leiden (FVL)* está asociada con genes del sistema de la coagulación. Sin embargo, tal y como hemos visto previamente, se han encontrado mutaciones en otras vías metabólicas como la inflamación así como en células sanguíneas como las plaquetas y los hematíes que también están relacionadas con el riesgo de sufrir un evento trombótico(58).
 - Adquirida: anticuerpos antifosfolípido (AAFL).
 - Origen mixto
 - Hiperhomocisteinemia.
 - Niveles plasmáticos elevados de factores VIII (FVIII), IX (FIX) y XI (FXI).
 - Resistencia a la proteína C activada no asociada al *FVL*.
- **Trombofilia secundaria:** por diversas condiciones fisiológicas como el embarazo/puerperio o procesos patológicos como el cáncer, existe un riesgo aumentado de trombosis.

1.1.3.2. TROMBOFILIA PRIMARIA

1.1.3.2.1. TROMBOFILIA PRIMARIA HEREDITARIA

La ETEV es una enfermedad compleja, resultado de la interacción de diferentes factores ambientales y hereditarios. La contribución de los factores hereditarios es importante, de hecho, estudios en familias con TVP en varios de sus miembros así como estudios en gemelos, sugieren que hasta en un 60% de los casos deben existir factores hereditarios que condicionan la aparición de enfermedad(59,60). Se trata de una enfermedad poligénica con un modelo de herencia multifactorial, es decir, de gran complejidad genética. Conocer la base genética de esta enfermedad es de vital importancia para llegar a comprender su etiología y mecanismos de recidiva y cronicidad.

I. HISTORIA

Desde que Jordan y Nandorff acuñaran el término de trombofilia hereditaria en 1956(61), se han hecho grandes esfuerzos por identificar y caracterizar mejor las variantes genéticas y su impacto funcional en la ETEV. Así, tan solo una década después, Egeberg(62) identificó el primer defecto genético asociado con el riesgo clínico de trombosis venosa al descubrir una familia noruega en la que varios de sus miembros presentaban niveles bajos de AT y eventos tromboticos. Pocos años después, en 1969, el locus *ABO* del grupo sanguíneo se mencionó por primera vez como un gen de susceptibilidad para el desarrollo de TVP(63), aunque su impacto en el riesgo de trombosis no se conoció hasta 40 años después. Ya en los años 80, las deficiencias de PC(64) y PS(65), dos anticoagulantes naturales, también fueron identificadas como responsables de ETEV sin embargo, las variaciones que causan estas deficiencias son poco frecuentes y se relacionan únicamente con un pequeño porcentaje de todas las trombosis venosas. La pérdida de función de estos anticoagulantes naturales es consecuencia de mutaciones en sus genes estructurales *SERPINC1*, *PROC* y *PROS1* para AT, deficiencias de PC y PS, respectivamente. Los defectos plasmáticos de estas proteínas alteran las dos vías principales que regulan la cascada de la coagulación: la inhibición de serina proteasas por la AT y los cofactores no enzimáticos, VIII activado (VIIIa) y V

activado (Va), por la PC activada (PCa) y su cofactor la PS. Se estima que los portadores heterocigotos de estas mutaciones presentan un incremento del riesgo de TVP de hasta 10 veces(66). Sin embargo, este dato podría estar sobreestimado dado que la mayoría de estudios se realizaron en familias donde la expresión fenotípica podría ser mayor que la observada en casos aislados, probablemente por otras mutaciones génicas no conocidas.

En la década de los 90, el enfoque pasó de los estudios familiares a los estudios de asociación basados en la población, es decir, estudios de tipo caso-control en los cuales se establece el peso relativo de un determinado factor genético con respecto a otros en el riesgo de desarrollar una enfermedad. Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), debido a su frecuencia, simplicidad, estabilidad y distribución en el genoma, fueron elegidos como marcadores genéticos y su búsqueda se centró en genes candidatos, es decir, genes biológicamente relacionados con la enfermedad, en nuestro caso el sistema hemostático. Se consideraba que existía asociación entre un SNP y la trombosis venosa cuando la distribución de las frecuencias alélicas era significativamente diferente entre casos y controles.

Los estudios de asociación en la ETEV, sin embargo, solo encontraron un número relativamente bajo de polimorfismos claramente relacionados, en comparación con el número de genes candidatos estudiados. La primera variante en describirse, en 1994, fue el *FVL* (*rs6025*)(67) y a los dos años, la mutación de la protrombina *G20210A* (*rs1799963*)(68), que aunque comportaban un riesgo algo menor que las mutaciones anteriormente descritas, eran mucho más prevalentes en la población general. El *FVL* aumenta 3 veces el riesgo de desarrollar un evento trombotico venoso en portadores heterocigóticos, determinando resistencia a la PCa(69). La *disprotrombinemia* o mutación de la protrombina *G20210A*, confiere un riesgo de 2,5 a través de un aumento de la concentración plasmática de protrombina(68).

Tuvo que pasar casi una década hasta que se describió un nuevo factor de riesgo genético para ETEV utilizando como gen candidato el gen *PROCR*, que codifica el receptor endotelial de la proteína C (EPCR), uno de los reguladores más importantes de la activación de la PC(70). Así, en 2004 se describe la asociación del

SNP *rs867186* del gen *PROCR* con el riesgo de trombosis venosa y la variabilidad plasmática de la EPCR en plasma(71). Posteriormente, se estimó que produce un aumento de riesgo de 1,22(72). Finalmente, en 2005, se describió el último polimorfismo con una asociación robusta con el riesgo de padecer ETEV, el *rs2066865* del gen candidato *fibrinógeno gamma (FGG)*(73) que actúa en la cascada fibrinolítica y genera un aumento de 1,3 veces de riesgo de ETEV.

Posteriormente se llevaron a cabo numerosos estudios de asociación incluyendo genes del factor XIII (FXIII), factor IX, factor XI, fibrinógeno e incluso genes que codifican proteínas menos conocidas pero que también forman parte de la cascada de la coagulación pero los resultados no fueron tan consistentes como los descritos para los genes de susceptibilidad mencionados anteriormente: *SERPINC1*, *PROC*, *PROS1*, *F5*, *F2*, *ABO* y *FGG*.

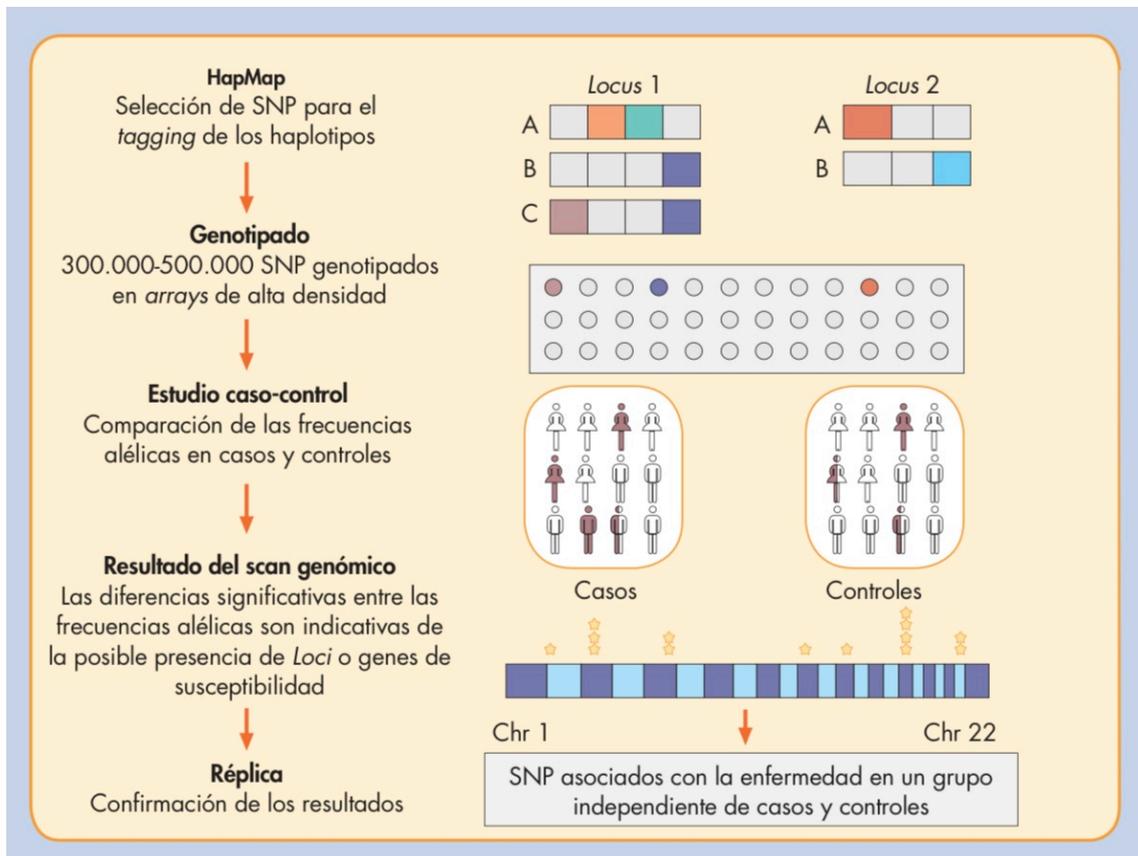
Sin embargo, la presencia de estos factores de riesgo genético, no parecía predecir el riesgo de ETEV ni de recurrencia(74), además, se sabía que los antecedentes familiares seguían siendo un factor de riesgo significativo, a pesar de la ausencia de estas variantes genéticas, lo que sugería la presencia de factores de riesgo genético adicionales no identificados(75,76). Estos factores podrían contribuir a la heterogeneidad de la enfermedad y a la diferente penetrancia de las variantes genéticas conocidas. Además, los estudios caso control de SNPs en genes candidatos tenían sus limitaciones, como por ejemplo la necesidad de identificar previamente los genes a estudiar, el hecho de que solo permitían identificar mutaciones ligadas a un gen concreto y que frecuentemente ofrecían resultados difíciles de replicar posteriormente.

A principios de la década de los 2000 la investigación en genética humana se revolucionó por completo. Inicialmente apareció el proyecto Genoma Humano(77) que catalogó los SNPs comunes [frecuencia del alelo menor (FAM) > 0,05] del genoma y posteriormente el proyecto HapMap(78) que completó esta información y aportó datos acerca del desequilibrio de ligamiento o “linkage disequilibrium” (LD) de estos SNPs, desarrollando un mapa de haplotipos del genoma humano.

Concomitantemente, se desarrollaron tecnologías de genotipado basadas en arrays, que permitían la caracterización simultánea de un gran número de SNPs

de manera coste-efectiva, las plataformas de alto rendimiento o “high-throughput”(79,80). Gracias a estos avances, la investigación genética entró en la era de los estudios de asociación a nivel de todo el genoma o estudios GWAS (“Genome-Wide Association Studies”)(Figura 7) que representaron una herramienta muy valiosa para la identificación de alelos de bajo-moderado riesgo de enfermedades comunes como la ETEV. Estos estudios, a diferencia de los estudios de gen candidato, presentan la ventaja de que no requieren una hipótesis previa de asociación entre un gen y una enfermedad ya que las hipótesis se generan a partir de los resultados, evitando así sesgos de selección(81,82).

Figura 7. Estrategia GWAS (Genome-Wide Association Studies).



Adaptado de Ruíz Ponte y colaboradores(83).

Se estudia la distribución de los genotipos comparándolos en una población de individuos sanos y otra de afectados por la enfermedad.

SNP: polimorfismo de un solo nucleótido. Chr: cromosoma.

En la ETEV, el primer GWAS realizado fue el trabajo de Bezemer y colaboradores en 2008(84). Se analizó la asociación de 19682 polimorfismos (FAM

> 5%) con el riesgo de trombosis venosa, en aproximadamente 3000 casos y 5000 controles mediante una estrategia de varias etapas realizada en los estudios LETS (“Leiden Thrombophilia Study”(85)) y MEGA (“Multiple Environmental and Genetic Assessment of risk factors for venous thrombosis”(86)). Se identificaron dos nuevos locus de susceptibilidad en los genes *GP6* y *CYP4V2*. El gen *GP6* codifica la glicoproteína (GP) VI, que favorece la agregación plaquetaria, y su polimorfismo *rs1613662* (*Pro219Ser*) se asoció con un incremento de riesgo de ETEV de 1,15. El gen *CYP4V2* se localiza en una región que contiene genes que codifican proteínas implicadas en la coagulación, *KLKB2* y *FXI*. Posteriormente a su identificación se observó que parece existir un LD entre el gen *CYP4V2* y el gen que codifica el *FXI* de coagulación por lo que el aumento de riesgo de trombosis venosa que conlleva podría ser a través de la modulación de los niveles plasmáticos de este factor(87) bajo la interacción con el *FII*. De hecho, recientemente se ha visto, que la asociación en el locus *FII* con la ETEV es aún más compleja de lo que inicialmente se pensaba(88).

Se realizó un segundo estudio de asociación a gran escala(89) en el que pese a que, inicialmente no se detectaron nuevos locus relacionados con ETEV, si se identificó el locus *HIVEP1* al replicar el estudio con los genes que habían obtenido los resultados más prometedores en el GWAS inicial, en otras 3 cohortes diferentes. Este gen, codifica una proteína que participa en la regulación transcripcional de los genes diana inflamatorios. El alelo *rs169713* se asoció con un riesgo de trombosis venosa de 1,20(90) pero en estudios posteriores no se han corroborado estos resultados. Se sugiere que el hallazgo inicial se debía a un desequilibrio de ligamiento con otros SNPs del mismo gen lo que induce a pensar que los SNPs funcionales aún no han sido identificados(91).

Tras estos primeros estudios, surgieron varios GWAS más, derivados del conjunto de datos de HapMap2 que contenía 2.5557.252 SNPs autosómicos(92). En esta etapa no se encontró ningún locus nuevo asociado, de manera significativa, con el riesgo trombotico venoso, sin embargo, sí se corroboraron los resultados obtenidos para los alelos de los genes *F5*, *F2*, *FII*, *FGG*, *GP6* y *PROCR* comentados anteriormente(91,93) y, además, se revisó y resaltó el papel del locus *ABO*

Tesis doctoral

describiéndose un aumento de 1,5 veces de riesgo para los grupos sanguíneos A₁ y B(94).

Un nuevo avance, fue la aplicación de la estrategia GWAS a los fenotipos intermedios cuantitativos que son fenotipos de biomarcadores relacionados con la ETEV que se manifiestan antes que el propio evento. Así, la idea fue aplicar los principios de los estudios GWAS para identificar locus que se asociaran con los niveles plasmáticos de proteínas procoagulantes, bajo la hipótesis de que los polimorfismos asociados con niveles aumentados/disminuidos del factor de riesgo cuantitativo deberían estar asociados con el riesgo de enfermedad.

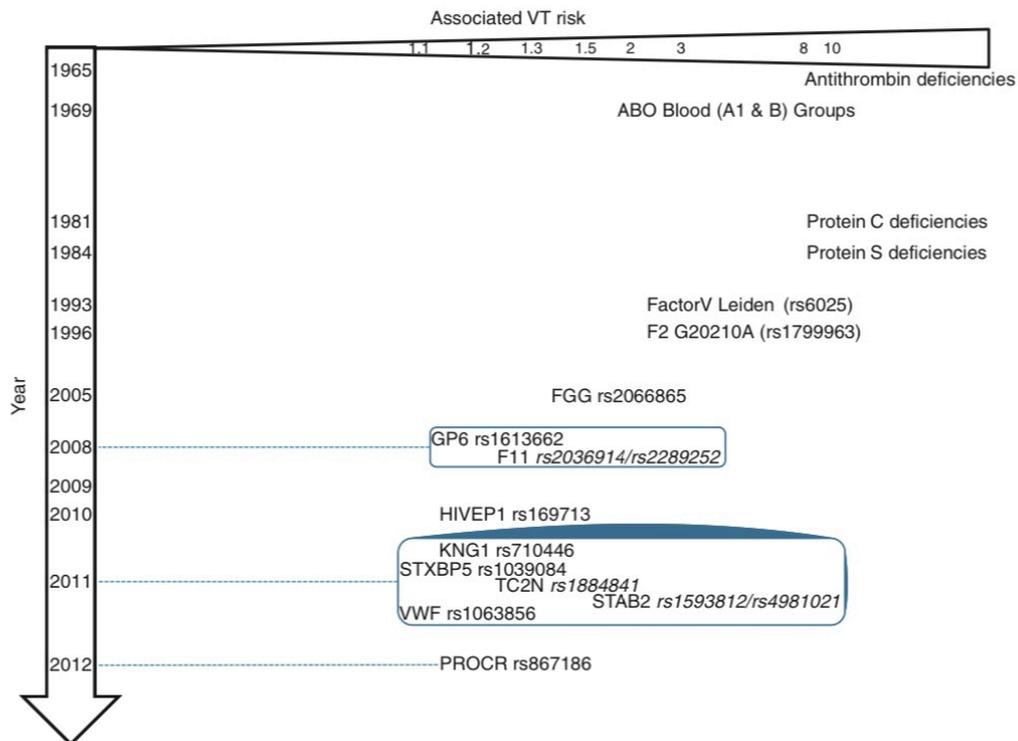
Los resultados más importantes se obtuvieron al estudiar los niveles plasmáticos del FVW en un proyecto de GWAS llevado a cabo en unos 23000 participantes en nombre del consorcio CHARGE(95). Se identificaron 2 locus que regulan los niveles plasmáticos del FVW, conocido factor de riesgo para la trombosis tanto venosa como arterial, *VWF* y *STXBP5*. *VWF* es el gen estructural del FVW y el polimorfismo *rs1063586* (*Thr 789Ala*) se asoció tanto con niveles elevados del factor como con el riesgo de enfermedad con una “odds ratio” (OR) de 1,20(96). Dado que el FVW tiene un papel clave en la cascada de la coagulación, su asociación con la ETEV no fue sorprendente, sin embargo, sí lo fue la que se observó con *STXBP5* que codifica la proteína de unión syntaxina 5. El polimorfismo *rs1039084* (*Asn436Ser*) de este gen, disminuía los niveles plasmáticos del FVW asociándose con una OR para ETEV de 0,90(96). También se obtuvieron resultados prometedores para los SNPs *rs1884841* del gen *TC2N* y *rs1593812* del gen *STAB2* pero solo alcanzaron significación estadística en algunas de las poblaciones en las que se testaron y en estudios posteriores no se ha objetivado esta asociación.

Otro hallazgo importante de la aplicación de los estudios GWAS en los fenotipos intermedios, fue la identificación del gen *KNG1* como nuevo locus de susceptibilidad de enfermedad. Este gen, codifica el quiminógeno de alto peso molecular (HK) que es un importante elemento en la fisiopatología de la ETEV al posicionar la precalicreína y el FXI cerca del FXII(97). El polimorfismo *rs710446* (*Ile581Thr*) del gen *KNG1* se asoció con un aumento de riesgo de enfermedad (OR 1,15) a través de una disminución del tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa)(98).

Otros fenotipos intermedios como el fibrinógeno(99), dímero D (DD)(100), PS(101), PC(102), AT(101) y el inhibidor del activador del plasminógeno 1 (PAI-1)(103) también han sido estudiados con GWAS, sin embargo, para ninguno de los SNP identificados se confirmó posteriormente la asociación con el riesgo de ETV.

En la **figura 8** se muestra la perspectiva histórica de las variantes genéticas de la ETEV descritas previamente.

Figura 8. Perspectiva histórica de los factores de riesgo genéticos de la ETEV.



Adaptado de Morange y colaboradores(104).

Pese a que el enfoque GWAS ha abordado con éxito la base genética de muchas enfermedades complejas identificando nuevos locus de susceptibilidad, en la ETEV, la mayor parte de los alelos de riesgo identificados explican solo un porcentaje pequeño de la heredabilidad de la enfermedad. La ETEV probablemente tenga un modelo de herencia poligénico, es decir, la susceptibilidad se debe a un gran número de efectos acumulativos, la mayoría débiles, derivados de variantes genéticas que abarcan todo el espectro de frecuencias de los alelos. Sin embargo, las variantes halladas con los estudios GWAS presentaban en general unos riesgo

asociados moderados ($OR = 1-1.35$), eran muy comunes ($FAM > 5\%$) y algunas eran únicamente marcadores con LD con otras variables funcionales no identificadas.

Por todo esto, se hizo evidente la necesidad de realizar una secuenciación masiva de los locus encontrados por GWAS para tratar de identificar las variantes causales así como realizar estudios en los que se analizaran más muestras con mayor densidad de polimorfismos y explorar otras formas de variabilidad genética diferentes a los SNPs.

En la primera década de los años 2000, empezaron a aparecer nuevas metodologías de secuenciación de ADN, las técnicas de secuenciación de nueva generación o “next-generation sequencing” (NGS) que permitieron la caracterización de regiones mucho más amplia del genoma en menos tiempo y con menos coste. De esta manera, estas técnicas, permitieron la caracterización de locus de susceptibilidad identificados en el GWAS y la resecuenciación de genomas completos.

Gracias a la aparición de las estrategias NGS se pudo completar el etiquetado de SNPs comunes que no se había podido lograr con el HapMap2 así como investigar aquellas variantes génicas con FAM menor pero mayor efecto genético. En este sentido destacan proyectos internacionales como el Proyecto de los 1000 genomas (<http://1000genomes.org>) que ha secuenciado el genoma de más de 2000 individuos de 26 poblaciones humanas diferentes de todo el mundo. Se han descrito aproximadamente 85 millones de variantes, ampliando en un 40% el número de variantes conocidas del genoma humano, lo que ha permitido investigar SNPs con frecuencia del alelo menor entre 1 y 5%(105).

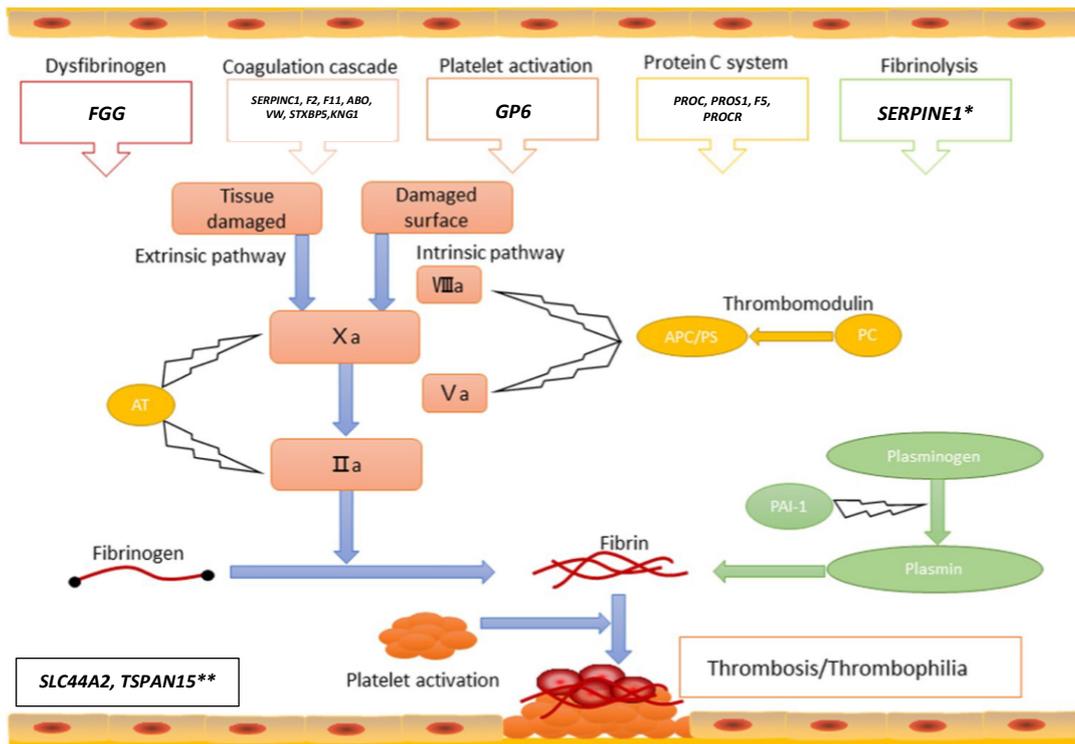
La ETEV fue una de las primeras enfermedades que se beneficiaron de la utilización de la base de datos de los 1000 genomas a través del Consorcio de la Red Internacional de Trombosis VENosa (INVENT) que en 2015 realizó un metaanálisis(106) de los 12 GWAS existentes hasta entonces, con un total de 7505 casos de trombosis venosa y 52632 controles. Se estudiaron más de 6 millones de polimorfismos y si bien no se descubrió ningún alelo asociado de baja frecuencia sí se obtuvieron hallazgos nuevos, en genes conocidos y también desconocidos, de alelos más comunes. Se describieron locus en 6 genes previamente asociados con el riesgo de ETEV: *rs529565* en *ABO*, *rs1799963* en *F2*, *rs6025* y *rs4524* en *F5*,

rs4253417 en *F11*, *rs2066865* en *FGG*, *rs6087685* en *PROC*; y dos nuevos locus en los genes *TSPAN15* (*rs78707713*) y *SCL44A2* (*rs2288904*). Los dos últimos polimorfismos abren nuevas perspectivas en la fisiopatología de la ETEV puesto que no pertenecen a las vías convencionales de la trombosis ni se habían asociado a otras enfermedades cardiovasculares previamente(106,107).

De la misma manera que se estudiaron los fenotipos intermedios cuantitativos basándose en el HapMap2, se hizo con los 1000 genomas, sin embargo sólo se publicó un estudio(108) en el que se relacionaba el polimorfismo *rs150611042* del gen *ORM1* con la generación de trombina, sin embargo, no se demostró ninguna asociación de esta variante genética per se con la enfermedad.

En conclusión, hasta el momento, se ha demostrado que 12 genes proporcionan alelos de susceptibilidad comunes y de baja frecuencia para ETEV: *ABO*, *F11*, *F2*, *F5*, *FGG*, *GP6*, *KNG1*, *PROCR*, *SLC44A2*, *STXBP5*, *TSPAN15* y *FVW*. Si añadimos aquellos que son portadores de mutaciones extremadamente raras (*PROC*, *PROS1* y *SERPINC1*) el número total de genes que se asocian de manera sólida a la ETEV aumenta a 15 (**Figura 9**).

Figura 9. Genes con alelos de susceptibilidad en la ETEV.



Adaptado de Yu Zhang y colaboradores(109).

*Descrito en estudios familiares pero no confirmado en estudios posteriores.

**Genes con alelos de susceptibilidad en ETEV que no pertenecen a la vía metabólica de la coagulación.

FGG: gen de la cadena gamma del fibrinógeno. *SERPINC1*: gen serpin familia C miembro 1. *F2*: gen del factor II de la coagulación. *F11*: gen del factor XI de la coagulación. *ABO*: gen del grupo sanguíneo ABO (transferase A, alpha 1-3-N-acetylgalactosaminyltransferase; transferase B, alpha 1-3-galactosyltransferase). *VW*: gen del factor de von Willebrand de la coagulación. *STXBP5*: gen de la sintaxina 5. *KNG1*: gen del quininógeno 1. *GP6*: gen de la glicoproteína VI plaquetar. *PROC*: gen de la proteína C. *PROS1*: gen de la proteína S. *F5*: gen del factor V de la coagulación. *PROCR*: gen del receptor endotelial de la proteína C. *SERPINE1*: gen serpin familia E miembro 1. *SLC44A2*: gen de la proteína 2 similar al transportador de colina. *TSPAN15*: gen de la tetraspanina 15. *IIa*: factor II activado. *Va*: factor V activado. *VIIIa*: factor VIII activado. *Xa*: factor X activado. *PC*: proteína C. *APC*: proteína C activada. *PS*: proteína S.

Cabe destacar que hasta la fecha, pese a que se han iniciado algunas iniciativas internacionales basadas en las estrategias GWAS para identificar nuevos polimorfismos asociados específicamente a la recurrencia, no disponemos de resultados, por lo que los estudios en recurrencia se realizan utilizando las variantes genéticas descritas para primer episodio.

II. VARIANTES GENÉTICAS

A continuación se describen con más detalle las variantes genéticas con resultados de asociación a la ETEV más consistentes.

- **GEN *SERPINC1*** (1965)

La AT, junto con la PC y la PS, es uno de los 3 inhibidores naturales de la coagulación y se conocen muchas variantes de pérdida de función de los genes que las codifican (*SERPINC1*, *PROC* y *PROS1*).

El déficit de antitrombina III fue el primer factor de riesgo genético para la ETEV descrito al identificar Egeberg(62), en la década de los 60, una familia con varios familiares afectados de trombosis venosa y concentraciones plasmáticas bajas de AT.

AT pertenece a la familia de las serpinas y regula la coagulación al inhibir las serina proteasas procoagulantes como la trombina, el factor X activado (Xa) y el XI activado (XIa)(110). Su deficiencia se debe a mutaciones privadas(110) (presentes en < 0,001 de la población) y puntuales (afectan a un solo nucleótido o unos pocos) en el gen *SERPINC1* localizado en el brazo largo del cromosoma 1 (1q25.1). Hay más de 250 alteraciones genéticas diferentes notificadas siendo muy raras las deleciones o inserciones.

Su herencia sigue un patrón autosómico dominante(111) y la mayoría de los casos son heterocigotos ya que la homocigosis es rara y casi siempre letal en el útero. La deficiencia de AT es rara en la población general encontrándose en el 4% de familias con trombofilia hereditaria, en el 1% de los pacientes consecutivos con un primer evento y en el 0.02% de los individuos sanos(54). Se asocia con un riesgo relativo de ETEV de alrededor de 10(69) y de recurrencia de en torno a 1.8(112).

Su deficiencia se divide en(113):

- Tipo I o cuantitativa: bajas concentraciones plasmáticas. Es la más frecuente y se asocia con un elevado riesgo trombótico.
- Tipo II o cualitativa: proteína disfuncional en plasma. Dependiendo de la ubicación de la mutación, se subdivide a su vez en:
 - a. Defectos del sitio reactivo (IIa): mutaciones que interfieren o anulan

la capacidad anticoagulante de la molécula. Estas mutaciones presentan una gran heterogeneidad clínica.

- b. Defectos del sitio de unión a la heparina (IIb): generalmente son las que menor riesgo trombótico confieren.
- c. Defectos pleiotrópicos (IIc): se afecta tanto la afinidad por la heparina como el mecanismo inhibitorio. Son las más graves desde el punto de vista clínico.

Pero además de estas mutaciones puntuales y privadas, recientemente se ha descubierto un polimorfismo en el gen *SERPINC1* que también modula la susceptibilidad a la ETEV. En el metaanálisis de consorcio INVENT⁽¹⁰⁶⁾ se vio que el *rs2227624*, una variación no sinónima de *Val30Glu* (también llamada mutación antitrombina de Dublín⁽¹¹⁴⁾) se asociaba con un riesgo de ETEV próximo a 2. Previamente también se había propuesto el *rs2227589*⁽⁸⁴⁾ pero su asociación no se confirmó en estudios posteriores.

▪ *GEN PROC* (1981)

El segundo sistema anticoagulante más importante del organismo es el de la proteína C y su déficit fue descrito por primera vez por Griffin⁽⁶⁴⁾ en la década de los 80, al identificar una familia con niveles plasmáticos bajos y episodios trombóticos recurrentes.

La PC es una glicoproteína plasmática dependiente de la vitamina K que circula en plasma como ciminógeno inactivo. Es activada en la superficie endotelial por trombina en presencia de trombomodulina y es entonces, cuando unida al cofactor PS, inactiva al factor Va y VIIIa limitando la cascada de la coagulación y por lo tanto la formación del trombo⁽¹¹⁵⁾.

Se han descrito más de 270 mutaciones diferentes⁽¹¹⁶⁾ en el gen que codifica la PC, *PROC*, localizado en el brazo largo del cromosoma 2 (2q14.3). Su herencia es autosómica dominante y la deficiencia homocigótica, que es extremadamente infrecuente, causa púrpura fulminante en el neonato. La heterocigosidad se encuentra en el 6% de las familias con trombofilia hereditaria, en el 3% de los pacientes con un primer evento y en el 0.3% de los individuos sanos⁽⁵⁴⁾.

Los niveles bajos de PC circulante se asocian con un mayor riesgo de ETEV(117) que se estima de alrededor de 8 veces superior(69) y el de presentar recidiva trombótica de 1.3-1.8 veces(112).

Al igual que la AT, la deficiencia de PC se clasifica tipo I (defecto funcional y antigénico) que es el más frecuente y tipo II (actividad antigénica normal y funcional reducida).

- **GEN *PROS1*** (1984)

Los primeros pacientes con trombosis venosa y deficiencia de PS fueron descritos por Comp y colaboradores también en la década de los 80(118).

La PS es un cofactor no enzimático de la PCa, dependiente de la vitamina K, que participa en la inactivación de los factores Va y VIIIa. Aproximadamente, el 60% de la PS forma en plasma un complejo inactivo con una proteína del complemento (C₄b-BP), mientras que el restante 40% circula libre y es solo esta fracción la que tiene actividad de cofactor PCa. Para su diagnóstico se suele determinar la fracción libre por lo que hay que tener en cuenta que esta fracción puede sufrir deficiencias adquiridas en situaciones tales como el embarazo, los anticonceptivos orales, AAFL, enfermedad hepática, coagulación intravascular diseminada o dicumarínicos.

Se han descrito más de 230 mutaciones en el gen *PROS1*, localizado en el brazo largo del cromosoma 3 (3q11.2). Su patrón hereditario suele ser autosómico dominante y la deficiencia es normalmente heterocigota siendo extremadamente infrecuente la homocigosis, que al igual que la PC causa púrpura fulminante en neonatos. Su prevalencia en la población general se estima entre el 0.03-0.13% y en los pacientes con ETEV del 1-3%(119).

El riesgo relativo asociado con la deficiencia heterocigótica de la PS es de aproximadamente 8(120) y el de recurrencia de 1.3-1.8(112).

Su deficiencia se clasifica en tipo I (disminución de la PS total y libre con descenso de la actividad funcional), tipo II (PS total y libre en rango normal con función disminuida) y tipo III (PS total en rango normal con concentración y función baja de la PS libre).

Curiosamente, al igual que con la AT, recientemente se ha descubierto que el gen *PROS1* posee polimorfismos poco comunes que también influyen en el riesgo de ETEV. Concretamente el *rs121918472* (*Ser501Pro*), también conocido como la mutación de PS Heerlen, fue descubierto en un metaanálisis francés con una frecuencia de <1% en la población general y asociado con un riesgo de aproximadamente 6 veces mayor de ETEV(121). El polimorfismo *rs121918474* (*Lis196Glu*), específica de la población japonesa, también ha sido asociada con un mayor riesgo de trombosis venosa (OR≈5)(122).

- **GEN F5** (1993)

Las variantes genéticas descritas hasta ahora, corresponden a pérdida de función de los genes anticoagulantes que codifican los tres inhibidores naturales de la coagulación. Sin embargo, la ganancia de función en los genes procoagulantes también influye en el riesgo de ETEV aunque con un impacto menor como veremos a continuación.

La variante de ganancia de función asociada a la ETEV más conocida es la mutación del *factor V de Leiden* (*rs6025*) descrita por Bertina y colaboradores en la década de los 90(67). Esta mutación, localizada en el gen *F5* en el brazo largo del cromosoma 1 (1q24.2), conduce a una resistencia a la PCa o lo que es lo mismo, a un FVa más resistente a la inactivación por la PC(67). El FVa favorece la trombosis promoviendo la conversión de la protrombina en trombina así como la degradación del FVIIIa(123).

El polimorfismo *rs6025* consiste en una sustitución de arginina por glutamina en el aminoácido 506 (*Arg506Gln*) de la proteína factor V (FV) de la coagulación. El alelo *ARG506*, con una frecuencia de aproximadamente el 5 % en población general caucásica y hasta un 20% en pacientes con trombosis venosa, se asocia con un mayor riesgo de aproximadamente 3 en portadores heterocigotos(69) y de 15-20 veces para portadores homocigotos(124). El riesgo de recurrencia es más controvertido aunque se estima en 1.4(23).

Posteriormente al hallazgo del *FVL*, Smith y colaboradores(125) realizaron un análisis en profundidad del gen *F5* e identificaron la variante *rs4524*, una sustitución de lisina por arginina en el aminoácido 858 (*Lys858Arg*), como una

nueva mutación asociada a la ETEV. El alelo de riesgo de esta variante, que no está en LD con la mutación del *FVL*, tiene una frecuencia de aproximadamente 75% y se asocia con un aumento de la OR para ETEV de 1.20(106,126).

- **GEN *F2*** (1996)

En 1996, Poort y colaboradores(68) descubrieron otra mutación de ganancia de función, el polimorfismo *G20210A (rs1799963)* del gen *F2* localizado en el brazo corto del cromosoma 11 (11p11.2). Este gen, el gen de la protrombina, era otro candidato claro para el estudio de asociación con ETEV al ser un elemento clave en la cascada de la coagulación. La protrombina tiene actividades procoagulantes y antifibrinolíticas tras su activación por el complejo protrombinasa en trombina. Esta última, activa los factores XIII, XI y VIII, V, PC y el inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina, además de escindir el fibrinógeno para formar fibrina.

La mutación consiste en una substitución del nucleótido guanina por adenosina en la posición 20210 en la región 3'-no codificante del gen *F2*. El alelo de riesgo *rs1799963A* aumenta las concentraciones plasmáticas de protrombina(68) asociándose con un riesgo de ETEV de aproximadamente 2.5 veces más(69), sin embargo el riesgo de recurrencia es bajo (1.2 veces)(127).

Esta variante genética se encuentra en 1-3% de la población general, aproximadamente en el 6% de los pacientes no seleccionados con ETEV y hasta en un 10% de trombosis familiar(128).

Otro SNP del *F2* que se ha asociado con niveles elevados de protrombina y ETEV es el *rs3136516*(129). El alelo de riesgo *rs3136516A* mostró una frecuencia de 40% y una OR de 1.12 en el estudio INVENT(106), después de ajustar por el efecto del polimorfismo *rs1799963* con el cual no se encuentra en desequilibrio de ligamiento(108).

Pero además de estos polimorfismos, varios estudios han expuesto que el gen *F2* también podría tener mutaciones privadas causantes de resistencia a la antitrombina y por tanto mayor riesgo de ETEV. En concreto se conocen la mutación de Yukuashi *R596L* detectada en una familia japonesa(130), la mutación de Belgrado *R596Q* identificada en familias serbias(131) y la mutación Padua 2 *R596W* detectada en familias italianas(132).

- ***ABO LOCUS*** (1969)

Jick y colaboradores(63) fueron los primeros en comunicar que el grupo sanguíneo no O se asociaba con mayor riesgo de ETEV, aunque no fue hasta tiempo después cuando se comprendió esta asociación(89,94,107).

El gen del grupo sanguíneo ABO está localizado en el brazo largo del cromosoma 9 (9q34.2) y es uno de los principales determinantes de los niveles plasmáticos del FVIII y el FVW. El aumento de los niveles de estos factores está asociado con un mayor riesgo de ETEV(133,134). Así, las personas con grupo sanguíneo tipo O y A₂ tienen aproximadamente un 25% menos de niveles plasmáticos de FVIII y FVW(135) y por tanto menor riesgo de ETEV. Estos dos últimos grupos pueden ser representados genéticamente por los *rs8176719* y *rs8176704* y sus alelos menores se han encontrado, de manera constante, con menor frecuencia en pacientes con trombosis venosa en varios GWAS realizados(89,91,107). En estos estudios, se calculó que los grupos sanguíneos B (*rs8176749*) y A₁ (*rs579459*), con una frecuencia de alrededor del 30% en población general, tenían un riesgo relativo de alrededor de 1,5 para ETEV frente a los grupos sanguíneos O y A₂.

Sin embargo, posteriormente, se vio que el vínculo entre el locus *ABO* y el riesgo de ETEV, era más complejo de los que se pensó inicialmente. Pese a que el grupo sanguíneo modifica los niveles de FVIII y FVW en plasma afectando a su glicosilación, proteólisis y aclaramiento(136,137), diversos estudios han demostrado que el gen del grupo sanguíneo ABO sigue estando asociado, de manera significativa, con la trombosis venosa tras ajustar por los niveles de estos factores de la coagulación(135,138). Se han postulado diversas teorías para explicar este fenómeno, así aunque los antígenos ABO tradicionalmente siempre se han asociado con los glóbulos rojos, hoy en día sabemos que también se expresan en otros tejidos como el endotelio vascular y en otras células como los plaquetas(136). Además también se ha relacionado el locus *ABO* con los niveles plasmáticos de otras moléculas de adhesión como la P-Selectina y la E-selectina(139) que son fenotipos intermedios de riesgo cardiovascular. Por último, cabe destacar que el locus *ABO* también se ha asociado en varios GWAS en enfermedades relacionados con la ETEV tales como la cardiopatía isquémica(140) y el cáncer(141).

- **GEN PROCR** (2004/2012)

El receptor endotelial de la PC es un importante regulador de la activación de la PC(70) por lo que el gen que lo codifica fue un buen candidato para analizar desde el punto de vista genético. En 2004, Saposnik y colaboradores(71) fueron los primeros que informaron de la asociación del SNP *rs867186* (*Ser219Gly*) con el aumento de los niveles plasmáticos del receptor, lo cual se sabía que estaba asociado con un mayor riesgo de ETEV(71,142). Sin embargo, la asociación directa de esta variante con el riesgo de trombosis venosa no se estableció hasta unos años después donde se vio que el aumento de riesgo de ETEV asociado con el alelo *rs867186G* (*Gly219*) fue de 1.22 y su frecuencia en raza caucásica de alrededor del 8%(72).

PROCR, localizado en el brazo largo del cromosoma 20 (20q11.22), codifica el receptor endotelial de la proteína C que es una proteína transmembrana de tipo I expresada en el endotelio de los grandes vasos y que se une con alta afinidad a la PC. El EPCR mejora la tasa de activación de la PC al aumentar su afinidad, que se multiplica aproximadamente por 20(70), por el complejo trombina-trombomodulina.

Rs867186 produce una substitución de serina a glicina en el aminoácido 219 en el dominio de membrana de EPCR. Se sabe que esta variante explica el 75% de la variabilidad de los niveles solubles de EPCR en plasma(143-145). Pero además de su efecto sobre la activación de la PC, el EPCR también limita la formación de trombos mediante su unión a FVII/FVIIa impidiendo la activación posterior del factor X (146,147) por lo que el *rs867186* también se asoció con los niveles plasmáticos del FVII y tiempo de protrombina que refleja la activación de las vías extrínseca y común de la coagulación(148).

- **GEN FGG** (2005)

El fibrinógeno es un elemento clave del sistema hemostático. Participa tanto en la respuesta primaria como en la secundaria dando lugar a la formación del coágulo de fibrina bajo la acción catalítica de la trombina(149).

Tesis doctoral

Su molécula consta de 3 cadenas o polipéptidos (α , β y γ) codificados cada uno por genes separados, fibrinógeno alfa (*FGA*), fibrinógeno beta (*FGB*) y *FGG* que se agrupan en una región del brazo largo del cromosoma 4 (4q32.1)(150).

En 2005 se descubrió que el alelo *T* del polimorfismo *rs2066865*, ubicado en la región 3'-no traducida del gen *FGG*, aumentaba 1.3 veces el riesgo de ETEV a través de la disminución de los niveles plasmáticos del fibrinógeno gamma(73). Este alelo presenta una frecuencia aproximada en población general del 25%.

Cabe destacar, que existe una fuerte interacción entre el *rs2066865* y el polimorfismo *rs6050* del *FGA* en la asociación con trombosis venosa. Parece ser, que la asociación del primero con ETEV desaparece por completo cuando se ajusta por el efecto del segundo(151,152).

Posteriormente, en el estudio INVENT(106) se observó otro polimorfismo, el *rs2227421*, también situado en la región 3'-no traducida del gen *FGG*, con una asociación sólida con ETEV que además era independiente del efecto del *rs2066865*. Se desconoce si el mecanismo por el cual este SNP afecta al riesgo de ETEV es también a través de la variación de los niveles plasmáticos del fibrinógeno gamma o por otra vía diferente.

- **GEN *F11*** (2008)

Este gen codifica al factor XI de la coagulación que, tras la activación por FXII activado (FXIIa), activa al FIX. Ya desde principios de los 2000 se conocía que los niveles elevados de este factor, el FXI, se asociaban con ETEV(153) y más tarde, en un estudio de genes candidatos, se informó que varios SNP en este locus podrían estar asociados con el riesgo de ETV(125) lo que se confirmó en un GWAS posterior(84).

Sin embargo, pese a ser un gen con función bien caracterizada, sus variaciones causales aún no están identificadas claramente.

En un GWAS reciente(88) se pone de manifiesto la complejidad de asociación de este locus con la ETEV. Se notificó la existencia de dos polimorfismos, *rs4253417* y *rs425321*, que contribuyen a influir de manera aditiva en los niveles de FXI y además están en fuerte LD con otros polimorfismos del gen *F11*, como los *rs2289252* y *rs2036914*. Estos dos últimos ya habían aparecido en otros

estudios asociados con un riesgo aproximado de 1.35 y una frecuencia del alelo menor de 40%(91,106,154).

Todo lo expuesto, pone de manifiesto que a pesar de que aún no se han identificado las verdaderas variantes funcionales en el locus *FII*, existe bastante evidencia de que este locus influye en el riesgo de ETEV y por tanto son necesarios más estudios para identificar y caracterizar mejor las variantes genéticas responsables.

- **GEN GP6** (2008)

En el primer GWAS realizado en la ETEV, Bezemer y colaboradores(84), notificaron la asociación del locus *GP6* con la ETEV, siendo el primer locus asociado con esta enfermedad que se encontraba fuera de la cascada de la coagulación.

GP6, que se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 19 (19q13.42), codifica la glicoproteína receptora VI que interviene en la señalización inducida por colágeno. El polimorfismo *rs1613662*, que consiste en una sustitución de serina a prolina en el aminoácido 219, se asoció con un 15% más de riesgo de ETEV, en concreto los portadores del alelo A. La frecuencia estimada del alelo menor fue de alrededor del 80%(92).

Se piensa que el mecanismo responsable de esta asociación es una disminución de la activación plaquetaria inducida por el colágeno(155), en línea con la idea de que las plaquetas desempeñan un importante papel en la ETEV siendo catalizadoras de la generación de trombina y por tanto de fibrina(156).

- **GEN FVW** (2011)

El FVW, secretado por las células endoteliales, tiene un papel importante en la coagulación, participando tanto en la agregación plaquetaria como en la regulación de los niveles del FVIII(157).

Puesto que se conocía que sus niveles plasmáticos elevados se asociaban con mayor riesgo de ETEV(158) se enfatizó en el estudio de las posibles variantes genéticas que regularan estos niveles. En este sentido, la aplicación de GWAS al estudio de este fenotipo intermedio cuantitativo a través del consorcio

Tesis doctoral

CHARGE(95), reveló 8 locus asociados con los niveles de FVW. 3 de ellos son también actualmente locus de susceptibilidad bien establecidos para la ETEV además de contribuir a la variabilidad plasmática de los niveles de FVIII, FVW, ABO y STXBP5.

En el gen *FVW*, localizado en el brazo corto del cromosoma 12 (12p13.31), se encuentra el polimorfismo *rs1063856* que resulta en una sustitución de treonina a alanina en el aminoácido 789 de exón 18 y se asocia tanto con los niveles de FVW como con el riesgo de trombosis venosa. El alelo menor *rs1063856C*, con una frecuencia en torno al 40% en la población, se asocia con niveles plasmáticos más elevados del factor y una OR de ETEV de 1.20(96).

- **GEN STXBP5** (2011)

El gen *STXBP5* es otro de los locus asociados con los niveles del FVW que se identificó en el GWAS del consorcio CHARGE(95). Este gen, localizado en el brazo largo del cromosoma 6 (6q24.3), codifica la proteína sintaxina 5 (*STXBP5*). Las sintaxinas son una familia de proteínas involucradas en el proceso de la exocitosis celular, facilitando la fusión de las vesículas. La *STXBP5* en concreto, si bien facilita la liberación de gránulos de las plaquetas, inhibe la secreción de los cuerpos de Weibel-Palade en las células endoteliales(159,160).

El *rs1039084* del gen *STXBP5* consiste en una sustitución de asparagina a serina en el aminoácido 436 (*Asn436Ser*) y se asoció con una disminución de los niveles de FVW y un efecto protector frente a la ETEV. La frecuencia del alelo menor fue del 45% y la OR de frente a la ETEV de aproximadamente 0.9(96).

Cabe destacar, que este mismo alelo, protector frente a la trombosis venosa, también se ha visto asociado con un fenotipo de sangrado aumentado en mujeres con enfermedad de von Willebrand tipo I(161).

- **GEN KNG1** (2011)

Otro hallazgo importante de la aplicación de los estudios GWAS en los fenotipos intermedios, fue la identificación del gen *KNG1* como nuevo locus de susceptibilidad de ETEV(162). *KNG1*, localizado en el brazo corto del cromosoma 3 (3q27.3), codifica el quinínogeno HK que como se ha comentado previamente,

posiciona la precalicreína y el FXI cerca del FXII(96). El polimorfismo *rs710446* es una sustitución de isoleucina a treonina en el aminoácido 581 (*Ile581Thr*) y su alelo menor, con una frecuencia de aproximadamente 40%, se asocia con un mayor riesgo de ETEV (OR 1.15)(98). El mecanismo biológico de esta asociación es una disminución del TTPa producido por esta mutación(163).

- **GEN *SLC44A2*** (2015)

Recientemente, en el metaanálisis del consorcio INVENT(106), se descubrió el *SLC44A2*, localizado en el brazo corto del cromosoma 19 (19p13.2), como locus de susceptibilidad para ETEV.

Este gen codifica la proteína 2 similar al transportador de colina (*SLC44A2* o también llamada CTL-2) y posee el polimorfismo *rs2288904* que consiste en una sustitución de arginina a glutamina en el aminoácido 154 (*Arg154Gln*). El alelo menor de esta variante génica, *rs2288904G*, se vio que era protector en la ETEV con una OR de 0.78 y una frecuencia de 24%.

Pese a que la variante de codificación causal está identificada, la función del gen aún no está caracterizada. Se ha propuesto que *SLC44A2* podría ser un punto de unión para el FVW para promover la activación de neutrófilos(164).

SLC44A2 también se ha asociado con otras enfermedades humanas, entre ellas con la lesión pulmonar aguda relacionada con transfusiones (TRALI) que es una complicación grave de las transfusiones de sangre y la principal causa de mortalidad asociada a la transfusión en los países desarrollados(165). El TRALI se debe a anticuerpos dirigidos contra el antígeno 3a de los neutrófilos humanos y parece que está determinado por la isoforma Arg154.

- **GEN *TSPAN15*** (2015)

TSPAN15 fue la segunda gran aportación del proyecto INVENT(106) con la variante intrónica *rs78707713*. *TSPAN15*, localizado en el brazo largo del cromosoma 10 (10q22.1), codifica la tetraspanina 15. Esta proteína es un miembro de la familia de las tetraspaninas que actúan como proteínas de andamio anclando múltiples proteínas a la membrana celular(166). Pese a que las tetraspaninas tienen alguna función en las células que regulan la hemostasia, el mecanismo

Tesis doctoral

fisiopatológico de la asociación del *rs78707713* con la trombosis venosa no se conoce todavía y no hay evidencia sólida que sugiera que este polimorfismo pudiera ser funcional. Recientemente se ha especulado con su asociación con procesos biológicos que controlan el desarrollo vascular(167) y la angiogénesis(168) así como con la escisión de la proteína precursora amiloide plaquetaria cuya regulación podría tener un papel importante en la ETEV(169,170).

Pese a que como hemos visto, se trata de un gen con función y variación causal todavía por dilucidar, se vio que el alelo menor *rs78707713C* de esta variante estaba asociado con una OR protectora para la ETEV de 0.76 y una frecuencia del 10%.

En la **tabla 1** se muestra un resumen de los principales rasgos de las variantes genéticas descritas.

Tabla 1. Genes y variantes genéticas asociadas con ETEV.

LOCUS	SNP	LOCALIZACIÓN GENÓMICA	ALELOS ^a	FRECUENCIA ^b	OR/RR ^c	FENOTIPO ASOCIADO ^d	NIVEL DE CERTEZA	REF.
<i>SERPINC1</i>	Múltiples mutaciones			<0.01	10	Deficiencia de AT	***	
<i>PROC</i>	Múltiples mutaciones			0.3	5-10	Deficiencia de PC	***	(64)
<i>PROS1</i>	Múltiples mutaciones			0.1	5-10	Deficiencia de PS	***	(118)
<i>F5</i>	<i>rs6025</i> <i>rs4524</i>	Arg506Gln Lys858Arg	G/Δ Δ/G	0.05 0.75	3.25 1.2	Resistencia a la PC activada	*** ***	(67) (125)
<i>F2</i>	<i>rs1799963</i> <i>rs3136516</i>	3'UTR Intrónico	G/Δ G/Δ	0.01 0.4	2.5 1.12	↑ FII	*** **	(68) (129)
<i>ABO</i>	<i>rs579459</i> [#] <i>rs8176749</i> [#]	Intrónico Leu310Leu	T/Δ G/Δ	0.22 0.10	1.5 1.5	↑ FVW, ↑ FVIII	*** ***	(63)
<i>PROCR</i>	<i>rs867186</i>	Ser219Gly	A/Δ	0.08	1.22	↑ EPCR, ↑ PC	***	(71)
<i>FGG</i>	<i>rs2066865</i> <i>rs227421</i>	3'UTR 3'UTR	C/T A/Δ	0.25 0.34	1.3 1.3	↓ Fibr Y Desconocido	*** *	(73) (106)
<i>F11</i>	<i>rs2036914</i> <i>rs2289252</i>	Intrónico Intrónico	Δ/T C/T	0.40 0.40	1.35 1.35	↑ FXI ↑ FXI	* *	(84)
<i>GP6</i>	<i>rs1613662</i>	Ser219Pro	Δ/G	0.82	1.15	↑ Activación y agregación plaquetaria	**	(84)
<i>VWF</i>	<i>rs1063856</i>	Thr789Ala	A/Δ	0.40	1.20	↑ FVW	***	(95)
<i>STXBP5</i>	<i>rs1039084</i>	Asn436Ser	Δ/G	0.45	0.90	↑ FVW	**	(95)
<i>KNG1</i>	<i>rs710446</i>	Ile581Thr	T/Δ	0.40	1.15	↓ aPTT	***	(98)
<i>SLC44A2</i>	<i>rs2288904</i>	Arg154Gln	Δ/A	0.24	0.78	Desconocida	**	(106)
<i>TSPAN15</i>	<i>rs78707713</i>	Intrónico	T/Δ	0.10	0.76	Desconocida	*	(106)

Adaptado de Trégouët y colaboradores(171).

SNP: polimorfismo de nucleótido simple. REF: referencia. AT: antitrombina III. PC: proteína S. PS: proteína S. FII: factor II de la coagulación. FVW: factor von Willerbrand. FVIII: factor VIII de la coagulación. EPCR: receptor endotelial de la proteína C. Fibr: fibrinógeno. FXI: factor XI de la coagulación. aPTT: tiempo de tromboplastina parcial activada. *SERPINC1*: gen serpin familia C miembro 1. *PROC*: gen de la proteína C. *PROS1*: gen de la proteína S. *F5*: gen del factor V de la coagulación. *F2*: gen del factor II de la coagulación. *ABO*: gen del grupo sanguíneo ABO (transferase A, alpha 1-3-N-acetylgalactosaminyltransferase; transferase B, alpha 1-3-galactosyltransferase). *PROCR*: gen del receptor endotelial de la proteína C. *FGG*: gen de la cadena gamma del fibrinógeno. *F11*: gen del factor XI de la coagulación. *GP6*: gen de la glicoproteína VI plaquetar. *VW*: gen del factor de von Willerbrand de la coagulación. *STXBP5*: gen de la sintaxina 5. *KNG1*: gen del quinínogeno 1. *SLC44A2*: gen de la proteína 2 similar al transportador de colina. *TSPAN15*: gen de la tetraspanina 15.

No se enumeran mutaciones privadas en genes conocidos de trombosis venosa (por ejemplo, *F2*, *PROC*, *PROS1* y *SERPINC1*).

^aAlelos comunes/menores. Los alelos asociados con un mayor riesgo de trombosis venosa se muestran subrayados.

^bFrecuencia estimada del alelo de riesgo.

^cOdds ratio/Riesgo relativo estimado del alelo de riesgo.

^dFenotipo asociado al alelo de riesgo.

Nivel de certeza: ★★★ variantes que alcanzan los tres criterios siguientes: evidencia estadística definitiva - funcionalidad establecida - fisiopatología asociada bien caracterizada; ★★ variantes que logran dos de los tres criterios anteriores; ★ variantes que logran solo uno de los tres criterios anteriores.

^eRs579459 y rs8176749 etiquetan los grupos sanguíneos ABO A1 y B, respectivamente.

1.1.3.2.2. TROMBOFILIA PRIMARIA ADQUIRIDA: ANTICUERPOS

ANTIFOSFOLÍPIDOS

Los anticuerpos antifosfolípido de mayor interés clínico son los anticuerpos anti cardiolipina (ACL), anti beta2glicoproteína (Aβ2GP) y el anticoagulante lúpico (AL). Son anticuerpos dirigidos contra el complejo formado por fosfolípidos aniónicos y determinadas proteínas y son quizá, la causa principal de trombofilia primaria adquirida.

Se desconoce la prevalencia real de los AAFL en la población general aunque se estima que el 10% de los donantes de sangre sanos son positivos para AAFL y, el 1% para el AL(172). En pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES) la prevalencia llega hasta un 20-30%(173) y en pacientes sin enfermedad autoinmune, la positividad de los AAFL ronda un 6% en mujeres con complicaciones obstétricas, un 10% en pacientes con trombosis venosa y un 17% en pacientes menores de 50 años con accidente cerebrovascular(174). Sin embargo, hay que ser cautelosos con estos datos ya que muchas de estas cifras de prevalencia se derivan de estudios sin definiciones o criterios estrictos para la positividad de estos anticuerpos.

Del 2 al 5% de los pacientes que son positivos para anticuerpos antifosfolípido no tienen secuelas clínicas(172,175), además los niveles de AAFL también pueden estar elevados en pacientes con infecciones agudas, enfermedad crónica o autoinmune, lo que dificulta saber el significado clínico real de una prueba positiva. Los criterios de Sapporo(176) (**Figura 10**), que se desarrollaron inicialmente con fines de investigación, son los criterios utilizados en la práctica clínica para ayudar a diferenciar entre pacientes con AAFL de aquellos con síndrome antifosfolípido (SAF).

Figura 10. Criterios revisados de clasificación del síndrome antifosfolípido.

Criterios clínicos
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Trombosis vascular</i>: uno o más episodios de trombosis arterial, venosa o de pequeño vaso en cualquier órgano o tejido del organismo, confirmado por pruebas de imagen apropiadas y/o análisis histopatológico (debiendo estar presente la trombosis sin evidencia de inflamación de pequeño vaso). • <i>Morbilidad durante el embarazo</i>: <ul style="list-style-type: none"> - Una o más muertes de un feto morfológicamente normal de al menos 10 semanas de gestación, con morfología normal del feto documentada mediante ecografía o examen directo del feto. - Uno o más partos prematuros de un neonato morfológicamente normal antes de la semana 34 de gestación debido a: 1) eclampsia o preeclampsia grave, o 2) características reconocibles de insuficiencia placentaria. - Tres o más abortos espontáneos consecutivos antes de la semana 10 de gestación, habiendo descartado anomalías anatómicas y hormonales de la madre y anomalías tanto maternas como paternas.
Criterios de laboratorio
<p>Se deben obtener resultados positivos en suero o plasma en dos o más ocasiones separadas al menos 12 semanas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anticoagulante lúpico (AL) determinado de acuerdo con las recomendaciones de la International Society of Thrombosis and Hemostasis. • Anticuerpos anticardiolipina (aCL) tipo IgG y/o IgM medidos por ELISA a títulos medios o elevados (>40 GPL o MPL o > percentil 99). • Anticuerpos anti-β2 glicoproteína I (αβ2GPI) tipo IgG y/o IgM medidos por ELISA a títulos medios o elevados (> percentil 99).

Adaptado de Sociedad Española de Reumatología(177)

SAF definitivo: presencia de al menos 1 criterio clínico y uno de laboratorio. La prueba de laboratorio debe ser positiva en dos o más ocasiones separadas 12 semanas.

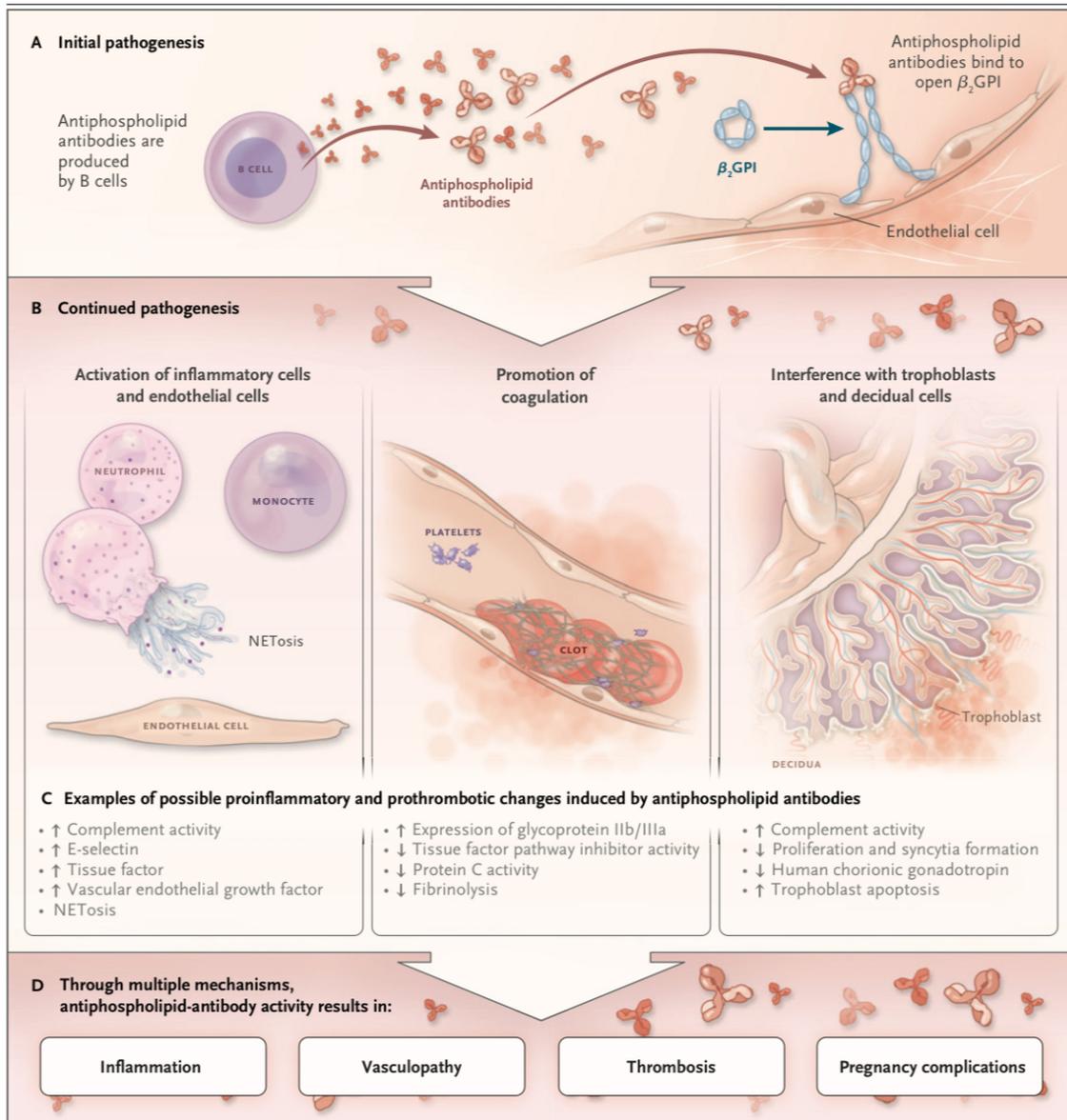
IgG: inmunoglobulina G. IgM: inmunoglobulina M. GPL: 1 µg de AAFL IgG purificado por afinidad/ml. MPL: 1 µg de AAFL IgM purificado por afinidad/ml.

El SAF, se asocia tanto con la trombosis venosa como con la arterial. El accidente cerebrovascular y el ataque isquémico transitorio son los eventos arteriales más comunes en pacientes con síndrome antifosfolípido. Los pacientes con tromboembolismo venoso presentan con mayor frecuencia trombosis venosa profunda de las extremidades inferiores, embolia pulmonar o ambas cosas y tienen un elevado riesgo de recurrencia. Una revisión sistemática reciente(178) mostró que aquellos pacientes con ETEV no provocada y anticoagulante lúpico tenían un

aumento del 40% del riesgo de recurrencia frente a los pacientes con anticoagulante lúpico negativo. Del mismo modo, hay estudios que sugieren que los pacientes triple positivos (ACL, A β 2GP y AL positivos) tienen un riesgo hasta 9 veces mayor de recurrencia.

En el SAF se favorece la trombosis debido a que el objetivo principal de los AAFL es la beta2glicoproteína que es una proteína plasmática que se une con avidéz a las superficies fosfolipídicas celulares. La unión de los AAFL a la beta2glicoproteína de la superficie celular regula la expresión de moléculas protrombóticas como la E-selectina y el FT, pero además, suprime la actividad del inhibidor de la vía del FT(179), reduce la actividad de la proteína C activada(180) y activa el complemento(181,182). Otros elementos importantes en la interacción entre los AAFL y la superficie endotelial son las plaquetas(183), los neutrófilos que al activarse inducen la expresión del FT y la liberación de NETs, así como la IL-8(184-186) y las micropartículas de los monocitos que en los pacientes con SAF expresan niveles altos de FT(187) (**Figura 11**).

Figura 11. Patogénesis propuesta del síndrome antifosfolípido.



Adaptado de García y colaboradores(188)

A: unión de β_2 -glicoproteína (β_2 GPI) a superficies aniónicas transformándose en inmunogénico. B: los AAFL se unen al β_2 GPI activándose células endoteliales, complemento, plaquetas, neutrófilos y monocitos. Los AAFL promueven la formación de coágulos e interfieren con los trofoblastos y células caducas.

C y D: a través de múltiples mecanismos, los AAFL provocan inflamación, vasculopatía, trombosis y complicaciones del embarazo.

Desde el punto de vista terapéutico, para la mayoría de los pacientes con AAFL persistentes y un evento clínico no provocado, se recomienda tratamiento anticoagulante indefinido puesto que su interrupción se asocia con un riesgo inaceptablemente alto de recurrencia(178). Sin embargo, en aquellos pacientes con

episodios provocados o con presencia de AAFL que se negativizan con el tiempo, la anticoagulación indefinida es controvertida.

Lo mismo ocurre con la tromboprofilaxis primaria en el caso de ausencia de trombosis pero positividad de AAFL a títulos moderados-altos. En estos casos, se estima que, al igual que en la población general, el riesgo absoluto de un primer evento en pacientes que no tienen otros factores de riesgo es probablemente inferior al 1% anual(189,190) por lo que, ante la falta de estudios prospectivos de calidad que evalúen el uso de aspirina a dosis bajas con este fin, la recomendación es individualizar en cada caso.

1.1.3.2.3. TROMBOFIIA PRIMARIA MIXTA

- **Hiperhomocisteinemia:** La homocisteína es un producto intermedio del metabolismo de la metionina e incrementos leves-moderados de sus niveles plasmáticos se han considerado clásicamente como un factor de riesgo trombótico tanto arterial como venoso(191-194). Es posible encontrar niveles plasmáticos elevados de manera moderada en un 5% de la población y dichos niveles están influenciados tanto por anomalías genéticas como por factores ambientales(195). El defecto genético más común es el polimorfismo *C677T* de la enzima metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR), que participa en el metabolismo de la metionina. Entre los factores ambientales el más importante es la deficiencia de folatos y vitaminas B6 o B12 (cofactores en el metabolismo de la homocisteína) aunque también ocurre en situaciones como la edad avanzada, enfermedad renal crónica o tabaquismo. Se han notificado resultados contradictorios con respecto al papel protrombótico de esta alteración, así, mientras que estudios más antiguos informan de un aumento de riesgo de ETEV(196), estudios más recientes no mostraron ninguna asociación con la enfermedad(86) e incluso sugieren que la asociación inicial podría deberse a la presencia de factores de confusión como el índice de masa corporal (IMC) o el tabaquismo(197). Por otra parte, no se ha demostrado que las intervenciones para reducir la homocisteína prevengan las enfermedades

cardiovasculares o el tromboembolismo venoso ni su recurrencia(198–203). Por lo tanto, las principales guías en la actualidad recomiendan no medir los niveles de homocisteína ni realizar pruebas para detectar mutaciones de MTHR en pacientes con ETEV.

- **Niveles plasmáticos elevados de factores VIII, IX y XI de la coagulación:** los niveles plasmáticos elevados del FVIII de la coagulación constituyen un factor de riesgo de ETEV y de recurrencia trombótica(204–206). Este riesgo, se mantiene incluso después de ajustar por el grupo sanguíneo que es su principal determinante(204), por lo que deben existir otros factores genéticos aún no identificados(207,208). Pero además, el FVIII es un reactante de fase aguda y circula en la sangre libre o unido al FVW por lo que puede estar aumentado en múltiples situaciones clínicas en las que haya un patrón inflamatorio o bien en circunstancias que disminuyan la concentración del FVW.

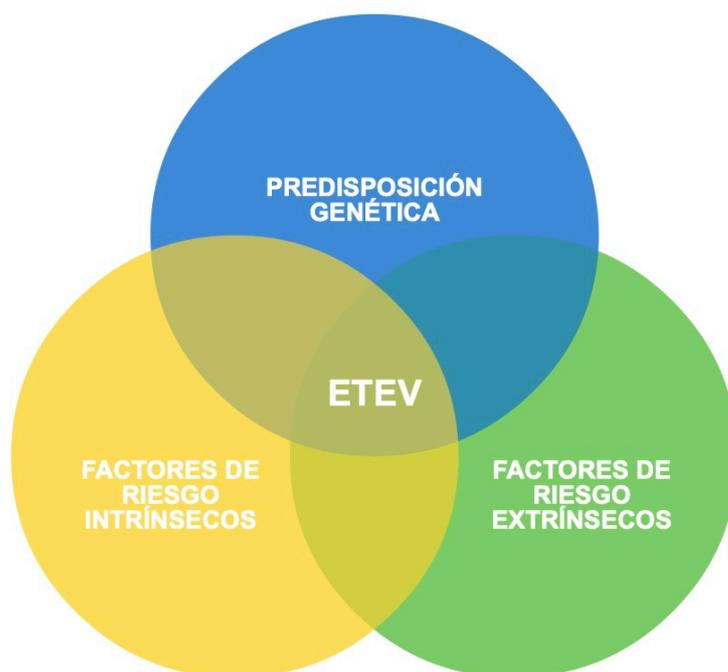
Menos establecida está la contribución de la elevación de los niveles plasmáticos de los factores IX y XI aunque también se ha descrito un aumento del riesgo trombótico y todavía no se ha podido demostrar que la base sea exclusivamente genética(153,209–211).

- **Resistencia a la proteína C activada no asociada a factores genéticos:** se sabe que situaciones como el embarazo, los anticonceptivos orales o ciertas neoplasias como el mieloma múltiple conducen a una situación adquirida de resistencia a la proteína C activada.

1.1.3.3. TROMBOFILIA SECUNDARIA

Como se ha comentado previamente, la evidencia científica demuestra que la ETEV es el resultado de la combinación de factores ambientales junto con la predisposición genética y adquirida del individuo (**Figura 12**).

Figura 12. Etiopatogenia de la ETEV.



Dentro de los factores de riesgo trombótico, algunos son predisponentes o intrínsecos al paciente (edad, sexo, raza, obesidad, sedentarismo, ETEV previa, venas varicosas, enfermedad inflamatoria intestinal (EII), síndrome nefrótico, hemoglobinuria paroxística nocturna, cáncer, trastornos mieloproliferativos) y otros desencadenantes o extrínsecos (cirugía, traumatismo, inmovilidad prolongada, embarazo y puerperio, tratamiento hormonal, antineoplásico o con corticoides, hospitalización, viajes de larga distancia, cateterismo e infección aguda). Estos factores de riesgo, aumentan el riesgo de ETEV interviniendo en uno o más de los mecanismos de “la triada de Virchow”, así la edad avanzada por ejemplo, produce una disminución del flujo sanguíneo o estasis mientras que los traumatismos o la cirugía ortopédica suponen lesión endotelial y el cáncer y las infecciones un aumento de la coagulabilidad.

Algunos de estos factores de riesgo son fuertes y pueden provocar ETEV sin la presencia de ningún otro factor de riesgo. A su vez estos factores de riesgo fuerte pueden ser transitorios (cirugía mayor o inmovilización prolongada) o permanentes (parálisis) (**Tabla 2**). Sin embargo, pese a que la ETEV por factores fuertes transitorios representa aproximadamente el 20% de todos los episodios(10),

la mayoría de los eventos son no provocados, es decir sin factores de riesgo aparentes(10,212).

Tabla 2. Factores de riesgo de la ETEV.

FACTORES DE RIESGO FUERTE	FACTORES DE RIESGO DÉBILES
<p><u>PERSISTENTES</u></p> <p>Cáncer activo</p> <p>SAF</p>	<p><u>PERSISTENTES</u></p> <p>Inflamación crónica</p> <p>Encamamiento</p> <p>Obesidad</p> <p>AF de ETEV</p> <p>AP de ETEV</p> <p>Colocación de MCP</p>
<p><u>TRANSITORIOS</u></p> <p>SAF</p> <p>Cesárea</p> <p>TIH</p> <p>Hospitalización</p> <p>Trauma o fractura</p> <p>Inmovilización</p> <p>Cirugía Mayor</p>	<p><u>TRANSITORIOS</u></p> <p>Encamamiento</p> <p>Obesidad</p> <p>Viajes > 4 horas</p> <p>Tto hormonal</p> <p>Infección</p> <p>Colocación de MCP</p> <p>Embarazo o puerperio</p> <p>Cirugía menor</p> <p>Catéter</p>

Adaptado de Khan y colaboradores(40).

SAF: síndrome antifosfolípido. TIH: trombocitopenia inducida por heparina. AF: antecedentes familiares. AP: antecedentes personales. MCP: marcapasos. Tto: tratamiento.

1.1.3.3.1. FACTORES DE RIESGO TROMBÓTICO

A continuación se describen algunos de los factores de riesgo trombótico más importantes. Se repasan factores de riesgo no modificables, otros potencialmente modificables y transitorios, el uso de fármacos relacionados con el riesgo de ETEV, la patología venosa previa y algunos factores de riesgo comunes a la trombosis venosa y arterial.

▪ **Edad**

Como ya se ha comentado previamente, la incidencia de la ETEV aumenta con la edad, especialmente en adultos mayores de 80 años(213). En adultos jóvenes, se describe una tasa de 0,5-1 por cada 1000 personas/año(15), sin embargo en personas de 80 años o más, estas cifras aumentan hasta tasas de aproximadamente 5-7 por cada 1000 personas/año(15,214). Se piensa que esta relación entre la edad avanzada y la ETEV podría estar mediada por el aumento de la coagulabilidad y disminución del flujo sanguíneo que ocurre con los años(215), aunque también es probable que los efectos de la edad estén mediados por una mayor prevalencia de otros factores predisponentes o desencadenantes asociados como el cáncer, disminución de movilidad, hospitalización y cirugía entre otros.

▪ **Sexo**

La incidencia de la ETEV también varía según el sexo con una tasa de incidencia ajustada por edad más alta para los hombres que las mujeres (130 frente a 110 por cada 100.000 personas/años)(15). Sin embargo este dato ha sido bastante discutido, con cifras dispares en diferentes estudios(216) y dudas acerca de si los hombres tienen más riesgo intrínseco para ETEV que las mujeres. Lo que sí parece claro, es que en la etapa fértil las mujeres tienen más riesgo debido a situaciones como el embarazo, el puerperio o toma de anticonceptivos(16), sin embargo, en edades avanzadas este riesgo parece ser mayor en hombres(15).

▪ **Raza**

La asociación de la raza con la ETEV es un tema controvertido dado que existen pocos estudios y con escaso control de posibles factores de confusión como la calidad y accesibilidad a la atención médica por ejemplo(217). Entre los datos que disponemos, parece ser que el riesgo es entre un 30 y un 60% mayor en los individuos de raza negra frente a los de raza blanca y que los individuos con riesgo más bajo serían los asiáticos(218-220). Se han investigado variantes genéticas que aumentan el riesgo de

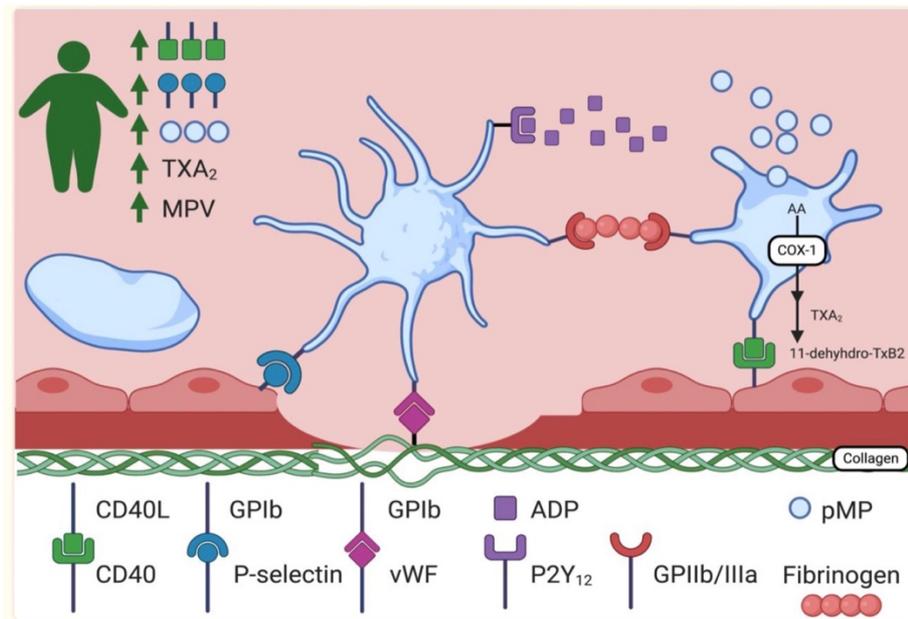
ETEV para determinar si producían más riesgo en los negros pero no se ha obtenido ningún resultado(220). Los negros tienen los niveles de FVIII y FVW(221) y los marcadores de activación del sistema de coagulación, como el dímero D plasmático, más elevados que el resto de grupo étnicos estudiados(222), Sin embargo, y complicando aún más la relación entre raza y ETEV, la presencia del *FVL* y la mutación del gen de la *protrombina* son menos prevalentes entre las personas de raza negra que las de raza blanca(219,220).

▪ **Obesidad**

La obesidad, como condición proinflamatoria, favorece un estado protrombótico aumentando significativamente tanto el riesgo de ETEV como de trombosis arterial(223). Existe abundante literatura científica que respalda esta hipótesis, así en un metaanálisis reciente(224) sobre la relación entre obesidad y riesgo de primer episodio de ETEV, Ageno y colaboradores estimaron una OR de 2,33 [Intervalo de confianza(IC) 95%, 1,68-3,24]. Hay muchos estudios similares, no incluidos en el metaanálisis, pero con resultados comparables(225-228) y además relacionando también la obesidad con el riesgo de recidiva(229). Este riesgo asociado de la ETEV con la obesidad podría ser incluso mayor en mujeres que en hombres(230,231).

El mecanismo biológico responsable de esta relación es multifactorial (**Figura 13**), probablemente relacionado con el daño endotelial, aumento de la reactividad plaquetaria, hipercoagulabilidad y deterioro de la fibrinólisis promovido por la obesidad(232,233). Además, la limitación del retorno venoso por aumento crónico de la presión intraabdominal(226) y la inactividad o trastorno de la marcha propio de los obesos podrían contribuir a esta asociación(234).

Figura 13. Mecanismo biológico de la asociación entre obesidad y ETEV.



Adaptado de Purdy y colaboradores(223)

En pacientes obesos se ha observado hiperactividad plaquetaria, aumento de los niveles de CD40-L, P-selectina y micropartículas derivadas de plaquetas, marcadores de activación plaquetaria, así como aumento del volumen medio de las plaquetas, factor de riesgo emergente de ETEV. GPIb: glicoproteína Ib. vWF: factor von Willebrand. ADP: difosfato de adenosina. GPIIb/IIIa: glicoproteína IIb/IIIa. pMP: micropartículas derivadas de plaquetas. MPV: volumen medio de plaquetas. TXA₂: tromboxano A₂. AA: ácido araquidónico. COX-1: ciclooxigenasa-1. 11-dehidro-TXB₂: 11-dehidrotromboxano B₂. P₂Y₁₂: quimiorreceptor para ADP.

▪ Hospitalización y paciente médico

El paciente médico, en contraposición al paciente quirúrgico, es aquel que presenta una complicación aguda sin necesidad de cirugía en su tratamiento. En su mayor parte estos pacientes se encuentran hospitalizados pero también pueden estar en su domicilio o institucionalizados.

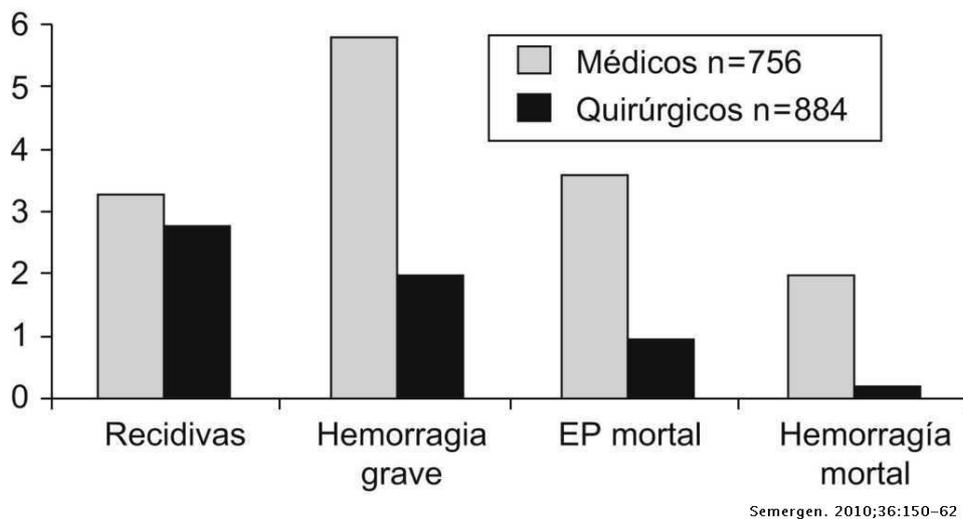
Es conocido que la hospitalización, por sí misma, constituye un factor de riesgo para sufrir una ETEV, así en comparación con los pacientes no hospitalizados, los hospitalizados tienen 100 veces más de aumento de la incidencia de ETEV(235). Entre los pacientes hospitalizados por enfermedad médica aguda, se consideran de más riesgo aquellos con edad avanzada, obesidad, ETEV previa, trombofilia hereditaria, cáncer, trauma o cirugía reciente, infarto agudo de miocardio o accidente cerebrovascular, paresia en miembros inferiores (MMII), insuficiencia cardíaca congestiva,

inmovilización prolongada (reposo en cama), infección aguda, trastorno neurológico, terapia hormonal, catéter venoso central o ingreso un unidad de cuidados intensivos o coronarios(236–242).

Pero como se ha comentado previamente, no es un requisito indispensable del paciente médico que esté hospitalizado, también debemos considerar aquellos pacientes con patologías médicas que se encuentren en su domicilio o institucionalizados, así las residencias de hogares de ancianos representan de forma independiente más de una décima parte de todos los episodios de ETEV de la comunidad(243).

De ahí que, aunque la ETEV se ha asociado clásicamente con el paciente quirúrgico por su mayor riesgo, dado el mayor número de pacientes médicos que quirúrgicos, en la actualidad el 70-75% de los tromboembolismos sintomáticos se presentan en pacientes no quirúrgicos. Son pacientes, por tanto, con una elevada prevalencia pero también con un peor pronóstico ya que presentan tanto una mayor mortalidad como un mayor riesgo hemorrágico(244) probablemente por su edad más avanzada y comorbilidades asociadas (**Figura 14**).

Figura 14. La gravedad de la ETEV en pacientes médicos es superior a pacientes quirúrgicos.



Adaptado de Carrasco y colaboradores(245)
EP: embolismo pulmonar.

▪ **Inmovilización**

El reposo prolongado, el encamamiento, la paresia de MMII uni o bilateral y el sedentarismo son situaciones que comparten una menor velocidad del flujo del retorno venoso(246) ya que se pierde la capacidad de bombeo de la musculatura de los miembros inferiores y se asocian con un aumento del riesgo de TVP(247).

Dentro de esta categoría, por compartir mecanismo común, incluimos los viajes de larga distancia (4-6 horas) que también se asocian con un riesgo ligeramente mayor de ETEV(248,249). Se ha denominado “síndrome de la clase turista”(250) a la aparición de TVP y/o TEP en los pacientes que realizan vuelos de larga duración con poca movilidad en MMII.

▪ **Traumatismos**

El riesgo de ETEV aumenta en traumatismos mayores, especialmente en traumatismos múltiples y en el traumatismo de médula espinal que constituye probablemente una de las patologías que asocia un mayor riesgo tromboembólico, sobre todo cuando se asocia a parálisis de los MMII(4). Se cree que el mecanismo puede ser tanto local por lesión endotelial como por un estado de hipercoagulabilidad asociado(251).

▪ **Dispositivo intravascular**

Tanto los catéteres venosos centrales como los marcapasos tienen un elevado poder trombogénico representando el 9% de todos los episodios de ETEV(252). Cabe destacar que el acceso venoso central por venas femorales asocia mayor riesgo de ETEV que el de las venas subclavias(253).

▪ **Cirugía**

El riesgo de ETEV en un paciente quirúrgico es muy variable y depende tanto del tipo de cirugía como del riesgo inherente al propio paciente(4,254).

La cirugía oncológica en general y la abdominal y pélvica en particular así como la cirugía torácica, el trasplante renal y la cirugía cardiovascular son

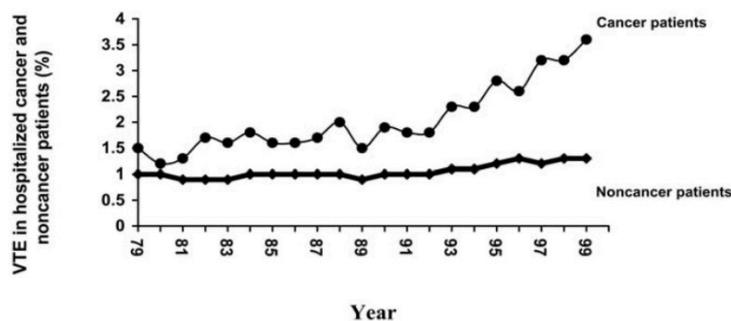
cirugías de elevado riesgo trombotico siendo la cirugía ortopédica mayor, especialmente la de cadera y rodilla, y la neurocirugía, sobre todo en pacientes con tumores cerebrales, las más trombogénicas(255–257). La cirugía laparoscópica y artroscópica parecen presentar un riesgo bajo-moderado(258).

Por otra parte, el tener antecedentes de ETEV, la edad avanzada, el tabaquismo, la obesidad y la presencia de cáncer activo(4,259–261), como es de esperar, aumenta el riesgo de ETEV en los pacientes quirúrgicos.

▪ **Cáncer**

Está bien establecida la relación bidireccional que existe entre la ETEV y el cáncer, así, con frecuencia los pacientes neoplásicos presentan eventos tromboembólicos y ocasionalmente una trombosis venosa, generalmente no provocada, es la primera manifestación de una neoplasia hasta ese momento asintomática. Aproximadamente el 20% de las ETEV aparecidas en la comunidad ocurren en pacientes con cáncer activo(243,252) los cuales tienen un riesgo entre 4-7 veces superior de padecer trombosis venosa que los pacientes sin neoplasia (**Figura 15**)(262,263). El riesgo parece ser mayor para los pacientes con neoplasia de sistema nervioso central, páncreas, ovario, colon, estómago, pulmón, riñón y hueso(264,265) y en pacientes con metástasis a distancia(265). Además, los pacientes en tratamiento con quimioterapia inmunosupresora o citotóxica tienen un riesgo incluso mayor de ETEV(265,266).

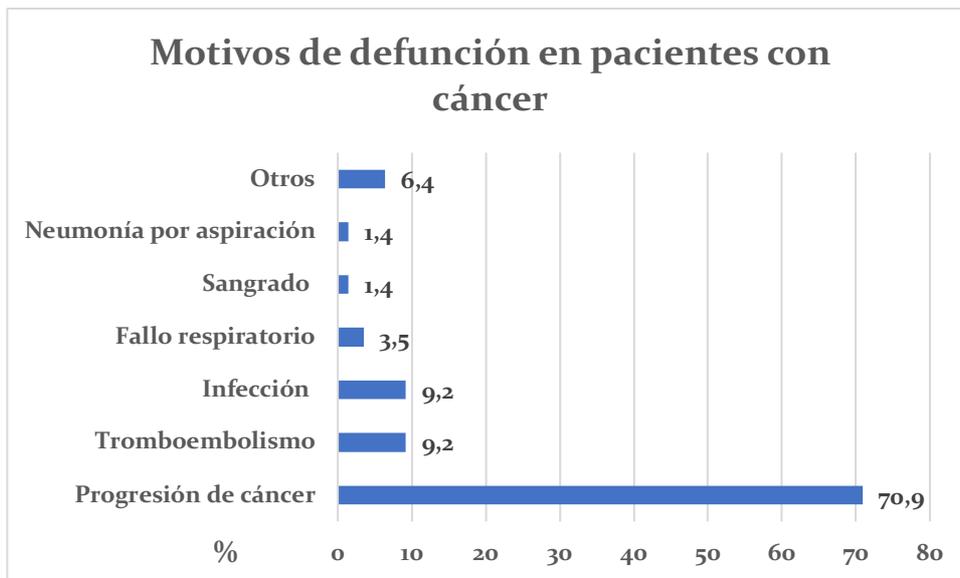
Figura 15. Incidencia de ETEV en pacientes hospitalizados con cáncer y sin cáncer.



Adaptado de Stein y colaboradores(267).

Otro punto a tener en cuenta es que en los pacientes oncológicos, tanto la recidiva, como el TEP fatal y las complicaciones hemorrágicas son más frecuentes(268), encontrándose la ETEV entre las primeras causas de muerte en los pacientes con neoplasia activa (**Figura 16**).

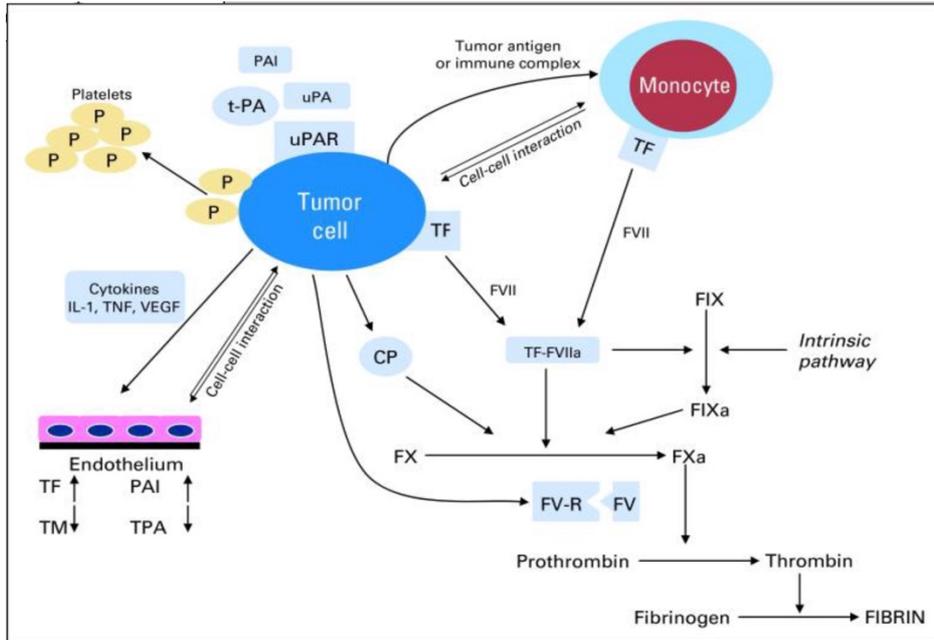
Figura 16. Causas de defunción en pacientes con cáncer.



Adaptado de Khorana y colaboradores(269).

En su patogenia influyen muchos factores: el estasis sanguíneo por la menor movilidad de estos pacientes así como la eventual compresión venosa por parte del tumor, el daño endotelial producido por invasión vascular de células tumorales, catéteres y fármacos utilizados así como la hipercoagulabilidad debida a la liberación de sustancias procoagulantes por el propio tumor(270) (**Figura 17**).

Figura 17. Mecanismo protrombótico del cáncer.



Adaptado de Falanga(271).

La célula tumoral induce un estado de hipercoagulabilidad utilizando proteínas de la superficie celular como el factor tisular (TF), el factor procoagulante del cáncer (CP), el activador del plasminógeno tisular (t-PA), el activador del plasminógeno tipo uroquinasa (uPA), el activador del plasminógeno 1 (PAI-1) y 2 (PAI-2). Además, interactúa con células sanguíneas bien directamente (A) o indirectamente a través de liberación de citoquinas (B).

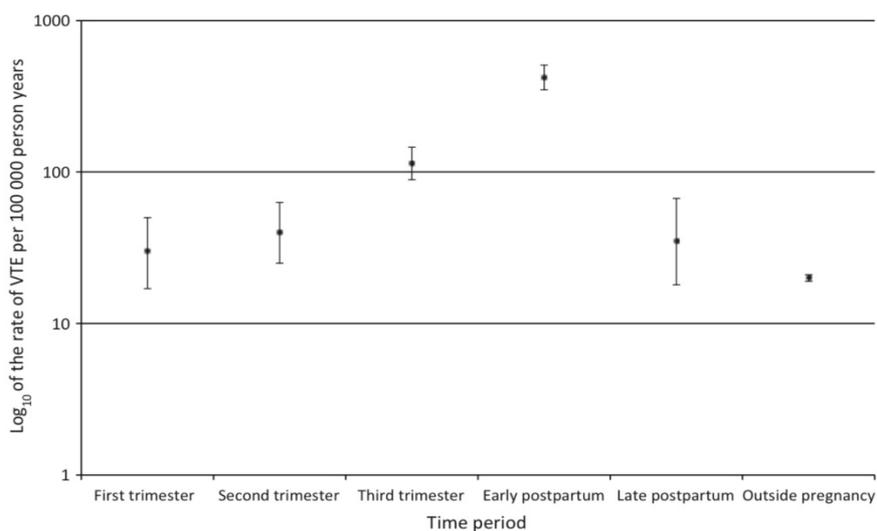
IL: interleucina. P: proteína. F: factor. TM: trombomodulina. TNF: factor de necrosis tumoral. VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular. R: receptor. FV-R: receptor del factor V. FV: factor V de la coagulación. FVII: factor VII de la coagulación. FVIIa: FVII activado. FIX: factor IX de la coagulación. FIXa: FIX activado. FX: factor X de la coagulación. FXa: FX activado.

Por todo lo comentado anteriormente, en los últimos años ha habido mucha controversia acerca de si las pruebas de detección del cáncer oculto en los pacientes con ETEV se deberían hacer de manera rutinaria. Actualmente se piensa que probablemente no estén justificadas, sin embargo, si las características clínicas sugieren una posible neoplasia asociada (ETEV no provocada especialmente en pacientes con trombosis venosa abdominal o bilateral de MMII(272) o recidiva sin claro factor desencadenante(273) entre otros), es de elección la realización de una tomografía axial computerizada (TAC) como prueba de imagen.

▪ **Embarazo y puerperio**

La incidencia de la ETEV se estima entre 0,76 y 1,72 por cada 1000 embarazos, lo que supone que el riesgo se cuadruplica en comparación con las mujeres no gestantes en edad fértil(274,275) y aumenta a 20 veces durante el puerperio(274). Además, causa 1,34 muertes maternas por cada 100.000 gestaciones, siendo el TEP el responsable de un 9% de la mortalidad materna en países desarrollados(276). La TVP es la forma de presentación más frecuente durante el embarazo mientras que el TEP lo es en el puerperio(277). La proporción de ETEV durante el embarazo es mayor en el tercer trimestre y aumenta ligeramente en el posparto, después disminuye rápidamente retornando a los niveles de riesgo de mujeres no gestantes a las 6 semanas(278) (**Figura 18**).

Figura 18. Incidencia de ETEV durante el embarazo y posparto.



Adaptado de Sultan y colaboradores(278).

Incidenca de ETEV, tasa realtiva e IC95% durante los diferentes trimestres de la gestación y el posparto comparados con la incidenca de trombosis en mujeres no embarazadas. Posparto temprano se refiere a las 3 primeras semanas desde el momento del parto.

La historia previa de trombosis es el principal factor de riesgo adquirido de la ETEV en el embarazo(279,280). Otros factores de riesgo son la historia familiar(281), la edad > 35 años, la multiparidad, la obesidad(279) y la trombosis venosa superficial (TVS) previa(282,283).

Se sabe que durante el embarazo se producen cambios fisiológicos de la hemostasia con aumento de los factores procoagulantes (V, VII, VIII, IX, X, XII, VW y del fibrinógeno), de las plaquetas y disminución de los anticoagulantes naturales (sobretudo la PS y AT), aumento de la resistencia a la proteína C activada y disminución de la fibrinólisis(284,285). A estos cambios, encaminados a evitar la hemorragia en el parto, se añade un aumento del estasis venosos debido a la compresión de las venas pélvicas por el útero, lo que hacen que clásicamente se considere al embarazo y puerperio un estado de hipercoagulabilidad y elevado riesgo trombótico.

- **Anticonceptivos y terapia hormonal sustitutiva**

Los anticonceptivos orales se han asociado a un aumento del riesgo de ETEV de 2 a 4 veces(286,287), pero el riesgo varía según el tipo y la dosis de estrógenos utilizada. De diversos estudios se deduce que los anticonceptivos orales de primera y tercera generación conllevan un mayor riesgo que los de segunda generación(288) y es posible que no haya riesgo con terapia transdérmica de estrógenos o los dispositivos intrauterinos de levonorgestrel(289). Este aumento de riesgo con algunos anticonceptivos se multiplica en mujeres con trombofilia hereditaria lo que ha hecho que se plantee en numerosas ocasiones si sería útil su investigación sistemática previa a la administración de anticonceptivos. Dada la baja prevalencia de estos defectos en la población general, no se considera una estrategia coste-eficaz, pero sí se debe investigar al menos la existencia de antecedentes familiares.

Cuando la terapia estrogénica es substitutiva, a pesar de tener menor porcentaje de estrógenos que cuando es anticonceptiva, el riesgo de ETEV es 2 veces mayor con respecto a las mujeres que no la reciben, teniendo aquellas con un antecedente de ETEV previa un riesgo de 4 veces superior de recidiva(290).

- **Corticosteroides**

Estudios recientes sugieren que el uso de corticosteroides también podría estar asociado con el riesgo de ETEV, de hecho se estima un aumento de 2-3 veces de riesgo tras ajustar por posibles factores de confusión derivados de la enfermedad subyacente(291,292). Se postula que el mecanismo por el cual los corticosteroides pueden aumentar el riesgo de ETEV es a través de aumento de los niveles de algunos factores de la coagulación como el FVW y el PAI₁, con el consiguiente aumento en la generación de trombina(293).

- **Patología venosa previa**

La TVS previa es un factor de riesgo independiente para ETEV(266,294), sin embargo el riesgo derivado de las venas varicosas es incierto y varía según la edad del paciente(266,295,296).

- **Factores de riesgo arterial**

La trombosis arterial y venosa comparten características comunes ya que no solo la hipercoagulabilidad y la inflamación contribuyen a su desarrollo, sino que además algunos factores de riesgo son similares para ambas(224,297). En 2008, Ageno y colaboradores realizaron un metaanálisis evaluando la asociación entre los factores de riesgo arterial y el riesgo de ETEV y observaron que la obesidad, la hipertensión arterial (HTA) y la diabetes mellitus (DM) se asociaron significativamente con el riesgo de ETEV, sin embargo no hubo asociación estadísticamente significativa con el tabaquismo o la hipercolesterolemia. En otros estudios(298) se ha visto que la hipertrigliceridemia duplica el riesgo de ETEV en mujeres posmenopáusicas sin embargo, la DM, el infarto de miocardio, el tabaco y la insuficiencia renal no son factores de riesgo independientes para ETEV(266,299-301).

Todos estos hallazgos sugieren que algunos factores de riesgo trombótico arterial probablemente también lo sean para ETEV, sin embargo probablemente la magnitud de asociación no es tan alta como en la

enfermedad arterial y por eso en algunos estudios no se alcanza la significación estadística.

▪ Otros

Otras patologías que se han asociado con ETEV son enfermedades autoinmunes(302), enfermedad de Behcet, enfermedad celiaca(303), trombocitopenia inducida por heparina(304), hipertiroidismo(305), trombocitopenia autoinmune(306), EII(307), coagulación intravascular diseminada, trastornos mieloproliferativos (especialmente la policitemia vera y la trombocitosis esencial)(308,309) y el síndrome nefrótico(310) entre otras.

1.1.3.3.2. MODELOS DE RIESGO

La importancia de identificar y conocer estos factores de riesgo, tanto al inicio del proceso como durante la evolución, radica en establecer una profilaxis primaria que ha demostrado ser eficaz y segura en la reducción de la carga de la ETEV(311) así como, guiar en la decisión acerca de la duración del tratamiento anticoagulante para evitar recidivas. En este punto nos centraremos en la prevención primaria de la enfermedad ya que la recurrencia se tratará más detenidamente en el punto 2.

Con el fin de ayudar en la toma de decisiones por parte del clínico, en la prevención primaria de la enfermedad, se han consensuado diversos modelos de estimación de riesgo de ETEV. Estos modelos, son sistemas de puntuación que permiten estratificar a los pacientes en grupos de riesgo según sus factores de riesgo, para poder así aplicar la mejor profilaxis a cada uno de ellos.

La 9ª Conferencia Consenso del “American College of Chest Physicians” (ACCP) recomienda evaluar el riesgo tromboembólico de los pacientes quirúrgicos mediante el modelo de Caprini(312) y para los pacientes médicos la escala de Padua(238). En los pacientes sometidos a cirugía ortopédica mayor (artroplastia total de rodilla o cadera y cirugía por fractura de cadera) la profilaxis está establecida de manera sistemática, independientemente de los factores de riesgo del paciente, dada la elevada incidencia de ETEV en estos pacientes.

En el modelo de Caprini para el paciente quirúrgico, además de los factores de riesgo del paciente, también se tiene en cuenta el tipo de intervención, clasificando a los pacientes como riesgo muy bajo (0-1 punto), bajo (2 puntos), moderado (3-4 puntos) o alto (≥ 5 puntos). Para cada categoría de riesgo da una recomendación de tromboprofilaxis (**Figura 19**).

Figura 19. Modelo de predicción de riesgo de ETEV de Caprini.

1 Punto	2 puntos	3 puntos	5 puntos
41-60 años	61-74 años	> 75 años	Ictus (< 1 mes)
Cirugía menor	Cirugía artroscópica	Historia de enfermedad tromboembólica venosa	Artroplastia programada de cadera o rodilla
IMC > 25 kg/m ²	Cirugía abierta mayor (> 45 minutos)	Factor V de Leiden	Fractura de piernas, caderas o pelvis
Tumefacción en los MMII	Cirugía laparoscópica (> 45 minutos)	Gen de la protrombina 20210A	Daño espinal agudo (< 1 mes)
Varices	Cáncer	Anticoagulante lúpico	
Embarazo o puerperio	Encamamiento (> 72 horas)	Anticuerpo anticardiolipina	
Historia de abortos espontáneos inexplicados o recurrentes	Escayola	Aumento de los niveles de homocisteína	
Anticonceptivos o terapia hormonal sustitutiva	Acceso venoso central	Trombopenia inducida por heparina	
Sepsis < 1 mes		Otras trombofilias hereditarias o adquiridas	
Enfermedad pulmonar grave incluida neumonía (< 1 mes)			
Función pulmonar disminuida			
Infarto agudo de miocardio			
Insuficiencia cardíaca congestiva (< 1 mes)			
Enfermedad inflamatoria intestinal			
Inmovilización por enfermedad médica			

Adaptado de Rodríguez Matute(313).
 IMC: índice de masa corporal.

La escala de Padua, propuesta en el 2010, establece 11 variables, 4 de las cuales conllevan un riesgo elevado: cáncer activo (definido como aquel con afectación local o metastásica y/o quimioterapia o radioterapia en los 6 meses previos), ETEV previa, movilidad reducida (encamamiento durante al menos 72 horas) y trombofilia primaria (déficit de AT, PC o PS, *FVL*, *G20210A* y *SAF*). Considera al paciente de alto riesgo si tiene ≥ 4 puntos y bajo, y por lo tanto sin indicación de tromboprofilaxis, si tiene menos de 4 puntos (**Figura 20**).

Figura 20. Escala de predicción de riesgo de ETEV de Padua.

Factor de riesgo	Puntuación
Cáncer activo	3
ETV previa (no superficiales)	3
Movilidad reducida (3 días)	3
Trombofilia conocida	3
Cirugía o traumatismo reciente (< 1 mes)	2
Edad \geq 70 años	1
Insuficiencia cardíaca y/o respiratoria	1
Infarto agudo de miocardio o ictus isquémico	1
Infección aguda y/o enfermedad reumatológica	1
Obesidad (IMC \geq 30 kg/m ²)	1
Tratamiento hormonal	1

Adaptado de Rodríguez Matute⁽³¹³⁾.
 IMC: índice de masa corporal.

Ambas son escalas aceptadas internacionalmente por ser de fácil manejo y estar ampliamente validadas.

Cabe mencionar en este punto, la guía PRETEMED, o guía de Prevención de la ETEV en el paciente Médico, puesto que es una guía de amplio uso en nuestro país. Elaborada por la Sociedad Andaluza de Medicina Interna (SADEMI) y la Sociedad Andaluza de Medicina Familiar y Comunitaria (SAMFyC) y avalada por múltiples sociedades científicas españolas, se presentó en 2003 y posteriormente fue actualizada en 2007. El objetivo de esta guía es ayudar en la valoración del riesgo de ETEV en pacientes médicos hospitalizados y ambulatorios y para ello pondera los distintos factores de riesgo con el fin de calcular el riesgo ajustado de cada enfermo. Según el riesgo ajustado establece una recomendación de profilaxis (**Figura 21**).

Figura 21. Cálculo del riesgo de ETEV en procesos médicos e indicación de profilaxis (guía PRETEMED).

Pesos ajustados			
	1	2	3
Procesos precipitantes	<ul style="list-style-type: none"> Embarazo/puerperio* Viajes en avión > 6 h 	<ul style="list-style-type: none"> Neoplasia IC grado III Infección aguda grave EII activa 	<ul style="list-style-type: none"> EPOC descompensada AVC con plejía de MMII IAM IC grado IV Mieloma + QT**** Traumatismo de MMII sin cirugía
Procesos asociados	<ul style="list-style-type: none"> DM Hiperhomocistinemia Infección por VIH Parálisis de MMII TVS previa 	<ul style="list-style-type: none"> Síndrome nefrótico Trombofilia** TVP previa*** Vasculitis (Behçet, Wegener) 	
Fármacos	<ul style="list-style-type: none"> Anticonceptivos hormonales Antidepresivos Antipsicóticos Inhibidores de la aromataasa Tamoxifeno-raloxifeno Terapia hormonal sustitutiva 	<ul style="list-style-type: none"> Quimioterapia 	
Otros	<ul style="list-style-type: none"> Edad > 60 Obesidad (IMC > 28) Tabaquismo (> 35 cig/día) Catéter venoso central 	<ul style="list-style-type: none"> Encamamiento > 4 días 	
Cálculo del riesgo ajustado (RA)			
RA = suma de pesos según los procesos precipitantes + suma de los pesos de otras circunstancias de riesgo			
Esta fórmula sólo puede aplicarse si su paciente presenta al menos un proceso precipitante o un proceso asociado con peso ajustado ≥ 2			
Recomendaciones de profilaxis de la ETV			
Riesgo ajustado	Recomendaciones		
1-3	Considerar el uso de medidas físicas		
4	Se sugiere profilaxis con HBPM		
> 4	Se recomienda profilaxis con HBPM		

Adaptado de GPC PRETEMED(314)

EII: enfermedad inflamatoria intestinal. IC: insuficiencia cardiaca. EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica. AVC: accidente vascular cerebral. MMII: miembros inferiores. IAM: infarto agudo de miocardio. QT: quimioterapia. TVS: trombosis venosa superficial. TVP: trombosis venosa profunda. IMC: índice de masa corporal. HBPM: heparina de bajo peso molecular.

*Peso 3 si: embarazo y trombofilia; peso 4: si embarazo y TVP previa.

**Peso 2 si: FVL en > 60 años, déficit de PC o PS, déficit combinado, déficit de ATIII, AAFL; peso 1 si FVIII > 150% o FVL en < 60 años.

***Peso 3 si: TVP previa no provocada; peso 5 si: TVP previa y trombofilia.

****Peso 4 si: mieloma en tratamiento con quimioterapia y talidomida.

Es de vital importancia reseñar, que siempre que se trata de tratamiento antitrombótico, profiláctico en este caso, es importante hacer una correcta valoración no solo del riesgo de trombosis, sino también del riesgo de hemorragia.

En el caso del paciente médico, se recomienda aplicar la escala del registro Improve⁽³¹²⁾ (**Figura 22**) y considerar al paciente de alto riesgo de sangrado con puntuación ≥ 7 . En el caso del paciente quirúrgico no hay una escala única validada por lo que las recomendaciones se basan en los factores de riesgo de sangrado identificados en diversos estudios⁽³¹⁵⁾ (**Figura 23**). Algo similar ocurre cuando el paciente se somete a cirugía ortopédica mayor, al no existir consenso, cada guía hace sus recomendaciones⁽³¹⁶⁾ (**Figura 24**).

Figuras 22 y 23. Escala IMPROVE de riesgo de sangrado (izquierda) y factores que aumentan el riesgo de hemorragia en pacientes quirúrgicos (derecha).

Factor de riesgo	Puntuación	Factores de riesgo general
Úlcera gastroduodenal activa	4,5	Sangrado activo
Hemorragia en los 3 meses previos	4	Antecedentes de sangrado grave
Recuento plaquetario $\leq 50.000 \text{ mm}^3$	4	Trastornos de la coagulación conocidos, no tratados
Edad ≥ 85 años	3,5	Insuficiencia hepática o renal graves
Fallo hepático (INR $> 1,5$)	2,5	Trombopenia
Fallo renal severo (Acr $< 30 \text{ ml/min}$)	2,5	Ictus agudo
Ingreso en UCI	2,5	Hipertensión arterial no controlada
Catéter venoso central	2	Punción lumbar, anestesia espinal o epidural en las primeras 12 h tras la administración de HBPM o si se administra la HBPM en las primeras 6 h tras la técnica
Enfermedad reumática	2	Uso concomitante de anticoagulantes, antiplaquetarios o trombolíticos
Cáncer activo	2	
Edad 40-84 años	1,5	
Varón	1	
Fallo renal moderado (Acr 30-50 ml/min)	1	

Adaptado de Rodríguez Matute⁽³¹³⁾

INR: ratio internacional normalizado. Acr: aclaramiento de creatinina. UCI: unidad de cuidados intensivos. IMC: índice de masa corporal. AAS: ácido acetilsalicílico.

Figura 24. Factores de riesgo para sangrado tras cirugía ortopédica.

Guía AAOS	Guía NICE	Guía ACCP
Trastornos congénitos que causan sangrado	Trastornos congénitos que causan sangrado	Cirugía de revisión
Enfermedad hepática activa	Trastornos adquiridos que causan sangrado	Fallo renal grave
Uso de antiagregantes plaquetarios	Uso de anticoagulación que aumenta el riesgo de sangrado	Uso de antiagregantes plaquetarios
	Procedimiento intervencionista espinal realizado en las últimas 4 h o esperando para las próximas 12 h	Historia de sangrado intraquirúrgico difícil de controlar
	Trombocitopenia (< 75.000/ml)	Sangrado previo mayor
	Accidente cerebrovascular agudo	Dissección quirúrgica extrema
	Hipertensión sistólica descontrolada (> 230/120 mmHg)	Sangrado intraquirúrgico en el propio procedimiento difícil de controlar
	Sangrado activo	

Adaptado de Rodríguez Matute(313)

AAOS: “American Academy of Orthopaedic Surgeons”. NICE: “National Institute for Health and Clinical Excellence”. ACCP: “American College of Chest Physicians”.

1.2. RECURRENCIA DE LA ETEV

La ETEV es una enfermedad crónica con tendencia a la recurrencia. La anticoagulación previene la recidiva pero conlleva un importante riesgo de sangrado por lo que determinar correctamente el riesgo de recurrencia de la ETEV tras suspender la anticoagulación, es fundamental para decidir la duración óptima de este tratamiento.

Tras finalizar el tratamiento anticoagulante después de un episodio de ETV, el riesgo de recidiva aumenta de manera constante a lo largo del tiempo, llegando a alcanzar hasta el 30% de pacientes a los 10 años(21–24). Además, así como el episodio agudo, la recurrencia también determina una morbi-mortalidad significativa. Se asocia a una mayor probabilidad de síndrome postrombótico y mayor predisposición a la hipertensión pulmonar tromboembólica crónica que el episodio agudo y además, cabe destacar, que la recurrencia del TEP puede ser fatal en un 5-10%(24) de los casos.

Sin embargo, a pesar del aumento total de riesgo de recurrencia, la mayoría de pacientes con un primer episodio no experimentan un segundo evento. Si extrapolamos los datos totales de incidencia acumulada de recurrencia, parece que hasta 7 de cada 10 pacientes están libres de recurrencia a los 10 años del evento

inicial.

Por otra parte, el riesgo de sangrado mayor en pacientes que reciben tratamiento anticoagulante es alrededor del 3% anual en ensayos clínicos, siendo mayor en la práctica clínica habitual(317–319) con una tasa de mortalidad de aproximadamente un 11%(320).

Por lo tanto, en la ETEV, identificar a los pacientes con alto riesgo trombótico que más se beneficiarán de la anticoagulación a largo plazo frente a los de bajo riesgo que estarán expuestos innecesariamente a un riesgo de sangrado, es de vital importancia.

1.2.1. RECURRENCIA PRECOZ FRENTE A RECURRENCIA TARDÍA

Según la ISTH(321), podemos definir y clasificar la recurrencia en:

- Recurrencia: TVP y/o TEP que se producen después de un tratamiento agudo efectivo; “efectivo” significa una clara mejoría clínica de los síntomas y signos del paciente; “agudo” significa las 2 primeras semanas de tratamiento.
- Recurrencia precoz: ETEV que se produce en los 3 primeros meses.
- Recurrencia tardía: ETEV que se produce tras los 3 primeros meses iniciales.
- Progresión: empeora o se produce un nuevo episodio durante el tratamiento agudo.

La recurrencia precoz y la progresión de la ETEV son generalmente debidas a mala adherencia o resistencia al tratamiento anticoagulante aunque también pueden aparecer en situaciones que comportan un intenso estado protrombótico como el cáncer activo, sobretudo el metastásico o en tratamiento quimioterápico, y el SAF.

Las recurrencias tardías, por ser las más habituales en la práctica clínica y algunas de ellas evitables con anticoagulación prolongada, serán el objetivo central de este punto.

1.2.2. PREDICTORES DE RECURRENCIA

Los predictores de recurrencia en la ETEV son aquellas situaciones clínicas, marcadores biológicos, de imagen o genéticos que favorecen la aparición de un nuevo episodio trombótico. Hasta la fecha, se han establecido muchos factores de riesgo para la recurrencia, sin embargo, la predicción de la recurrencia en un paciente individual sigue siendo todo un desafío.

1.2.2.1. PREDICTORES DE RECURRENCIA CLÍNICOS

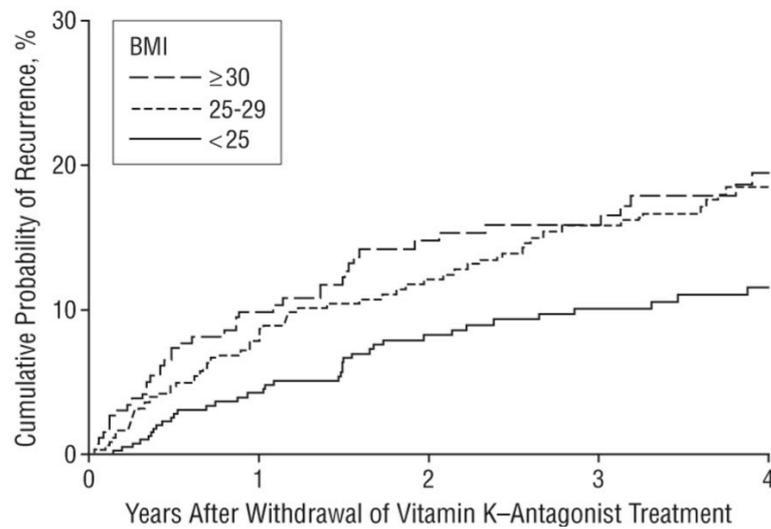
- **Sexo**

El riesgo de recurrencia tras la suspensión del tratamiento anticoagulante parece ser más alto en hombres que en mujeres(18). Al inicio de realizar esta observación, se creía que esta diferencia se podía explicar por el factor de confusión del tratamiento hormonal en el primer episodio en las mujeres, que comportaba un riesgo menor de recidiva. Sin embargo, un metaanálisis(322) realizado con el fin de aportar luz en este tema, corroboró que la incidencia acumulativa global de recurrencia fue mayor en hombres que en mujeres. En concreto, en pacientes con el primer episodio no provocado el riesgo de recurrencia fue el doble en hombres que en mujeres y tras ajustar por tratamiento hormonal asociado al primer episodio, el riesgo de recurrencia siguió siendo significativamente más elevado en hombres.

- **Obesidad**

En pacientes obesos o con sobrepeso el riesgo de recurrencia es significativamente más elevado que en pacientes con peso normal(229) (Figura 25).

Figura 25. Curvas de supervivencia del riesgo estimado de recidiva tromboembólica según el IMC.



Adaptado de Einchinger y colaboradores(229).
 BMI: Índice de masa corporal.

- **Características de presentación del episodio agudo**
 - ETEV provocada frente a no provocada: podemos definir la ETEV provocada frente a la no provocada siguiendo las directrices de la ISTH(212) (**Figura 26**).

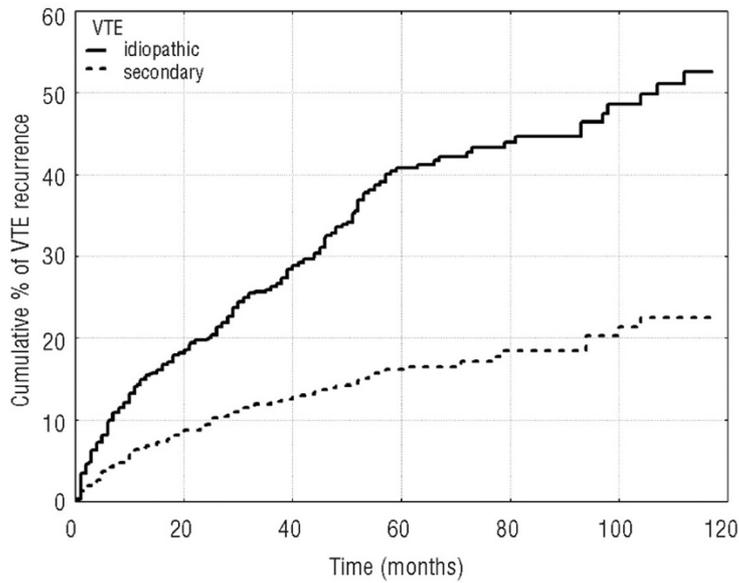
Figura 26. Definición de la ISTH de ETEV provocada y no provocada.

ETV provocada
<p>a. Factor de riesgo transitorio (FRT)*</p> <p>i. FRT importante durante los 3 meses antes del diagnóstico. Un factor de riesgo se considera importante si se ha demostrado que está asociado con lo siguiente:</p> <ul style="list-style-type: none"> • La mitad del riesgo de ETV recurrente después de suspender el tratamiento anticoagulante (en comparación con el factor de riesgo transitorio), cuando el factor de riesgo ocurrió hasta 3 meses antes de la ETV**; o • Un aumento de más de 10 veces del riesgo de tener un primer episodio de ETV. <p>Ejemplos: intervención quirúrgica con anestesia general durante más de 30 min; confinamiento en la cama del hospital (salvo «privilegios de baño») durante al menos 3 días, por una enfermedad aguda; cesárea.</p> <p>ii. FRT menor (aunque importante) durante los 2 meses previos al diagnóstico de ETV. Un factor de riesgo se considera menor si se ha demostrado que está asociado con lo siguiente:</p> <ul style="list-style-type: none"> • La mitad del riesgo de ETV recurrente después de suspender el tratamiento anticoagulante (en comparación con el hecho de que no haya un factor de riesgo transitorio), cuando el factor de riesgo ocurrió hasta 2 meses antes de la ETV**; o • Un aumento de 3 a 10 veces del riesgo de tener un primer episodio de ETV. <p>Ejemplos: intervención quirúrgica con anestesia general durante menos de 30 min; ingreso en el hospital por una enfermedad aguda durante menos de 3 días; terapia con estrógenos; embarazo o puerperio; confinamiento en la cama fuera del hospital durante al menos 3 días, por una enfermedad aguda; lesión en la pierna asociada con una movilidad reducida durante al menos 3 días.</p> <p>b. Factor de riesgo persistente</p> <p>i. Cáncer activo. El cáncer se considera activo si se da cualquiera de las siguientes circunstancias:</p> <ul style="list-style-type: none"> • No ha recibido tratamiento potencialmente curativo; • Hay evidencia de que el tratamiento no ha sido curativo (por ejemplo, recurrencia) o de que la enfermedad es progresiva***; o • El tratamiento está en curso. <p>ii. Estado no maligno continuo asociado con un riesgo de ETV recurrente de al menos 2 veces, después de suspender el tratamiento anticoagulante. Ejemplo: enfermedad inflamatoria intestinal.</p>
ETV no provocada
Ningún factor de riesgo provocador (transitorio o persistente)†.
<p>* El tiempo que demora un factor de riesgo en resolverse puede ser impredecible; por lo tanto, la resolución del factor de riesgo debe confirmarse antes de suspender la terapia anticoagulante sobre esta base.</p> <p>** De los dos criterios, se considera el más directamente relevante e importante. Se espera que la tromboembolia venosa (ETV) ocurrida hasta 3 meses después de un factor de riesgo importante tenga un riesgo bajo de recurrencia, mientras que la ETV debe haber ocurrido dentro de los 2 meses de aparecer un factor de riesgo menor para que el riesgo de recurrencia sea bajo.</p> <p>*** La decisión sobre si un cáncer tratado se cura debe ser tomada por un médico experimentado, y a menudo requiere que haya habido un intervalo de seguimiento libre de enfermedad. Un paciente que se clasifica como <i>cáncer que puede estar activo</i> cuando se produjo la ETV puede volver a recategorizarse como si hubiera tenido una ETV no provocada, porque tuvo un seguimiento adicional libre de cáncer.</p> <p>† La presencia de factores de riesgo no ambientales (o intrínsecos), como las trombofilias hereditarias, el sexo masculino o la edad avanzada, no influye en si un episodio de ETV se considera no provocado o provocado. Además, el riesgo de recurrencia en pacientes individuales con ETV no provocada se puede estratificar aún más utilizando otras evaluaciones.</p>

Adaptado de Kearon y colaboradores(212).

El riesgo de recurrencia es especialmente elevado en la ETEV no provocada, de hecho, en estudios iniciales, se estimó que era 2.3-2.5 veces superior al de los pacientes con ETEV provocada(24)(Figura 27).

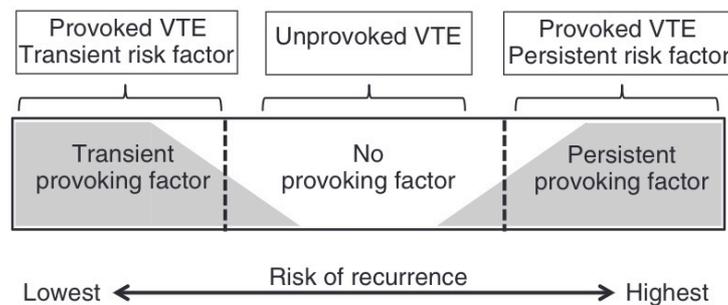
Figura 27. Incidencia acumulada de recurrencia trombotica en pacientes con ETEV provocada y no provocada.



Adaptado de Prandoni y colaboradores(24).

Posteriormente, en una revisión sistemática(323), se vio que la frecuencia de recurrencia tras suspender la anticoagulación fue del 0.7% anual en los pacientes con ETEV asociada a cirugía, del 4.2% anual en los pacientes con un factor de riesgo no quirúrgico como inmovilización o embarazo y del 7.4% anual en los pacientes con ETEV no provocada. Sin embargo, tal y como veremos más adelante, situaciones que suponen un factor de riesgo permanente como el cáncer son las que más riesgo comportan(212) (**Figura 28**).

Figura 28. Riesgo de recurrencia de ETEV provocada y no provocada.



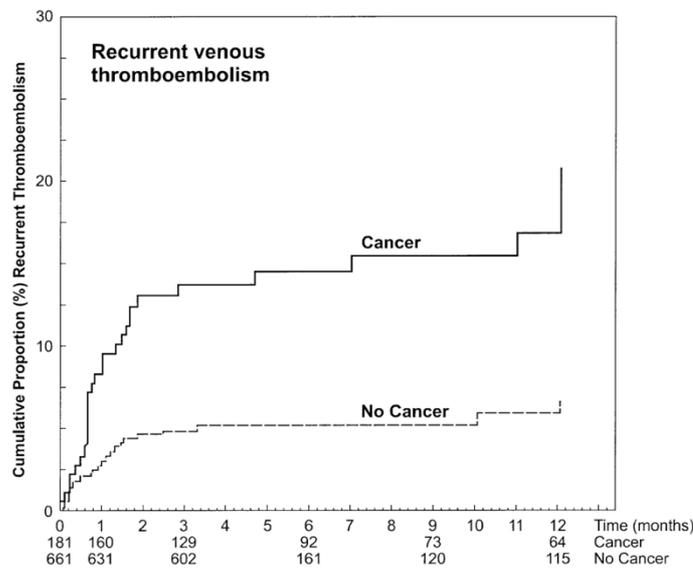
Adaptado de Kearon y colaboradores(212).

- TVP proximal frente a TVP distal: los pacientes con una TVP distal tienen un riesgo unas 5 veces menor que los pacientes con una TVP proximal(324).
- TVP proximal frente a TEP: dado que la mortalidad por TEP es de 2-4 veces mayor que por TVP(30-32) es importante discriminar entre el riesgo de recurrencia como TEP y el de hacerlo como TVP. En este sentido, Baglin y colaboradores(324) realizaron un metaanálisis de 7 estudios disponibles hasta 2008 con más de 2500 pacientes con ETEV no provocada en su mayoría, objetivando un porcentaje acumulativo de recurrencias a los 5 años de un 22%. No observaron diferencias en el porcentaje de recurrencia si la presentación era como TEP o como TVP pero sí vieron que el riesgo de recurrir como TEP fue 3 veces superior en los pacientes en los que habían debutado como TEP frente a los que lo habían hecho como TVP. Es decir, la recurrencia sigue el patrón del evento inicial, con TEP si la presentación fue como TEP y con TVP si debutó de esta manera. Esto fue corroborado, con datos similares, en estudios posteriores(325-329).

▪ **Cáncer**

Los pacientes con cáncer activo tienen un elevado riesgo de recurrencia(23,330,331)(Figura 29), mayor si el cáncer es metastásico o en tratamiento con ciertos quimioterápicos(332).

Figura 29. Incidencia acumulada de recurrencia trombotica en pacientes anticoagulados, con cáncer y sin cáncer.



Adaptado de Prandoni y colaboradores(331).

- **Embarazo**

En el embarazo y, sobretodo en el puerperio, aumenta el riesgo de recurrencia en aquellas mujeres que han tenido una ETEV previa(333). Si la ETEV previa fue en el embarazo el riesgo aún es mayor aunque fuera del embarazo el riesgo de recurrencia de estas mujeres es menor que las mujeres con ETEV no provocada(334).

- **ETEV previa**

El riesgo de recurrencia es mayor en pacientes con un evento trombotico previo, fundamentalmente si éste fue no provocado(335). Además, la TVP recurrente ipsilateral aumenta las posibilidades de desarrollo de un SPT, que a su vez se asocia con un mayor riesgo de recurrencia(230,336).

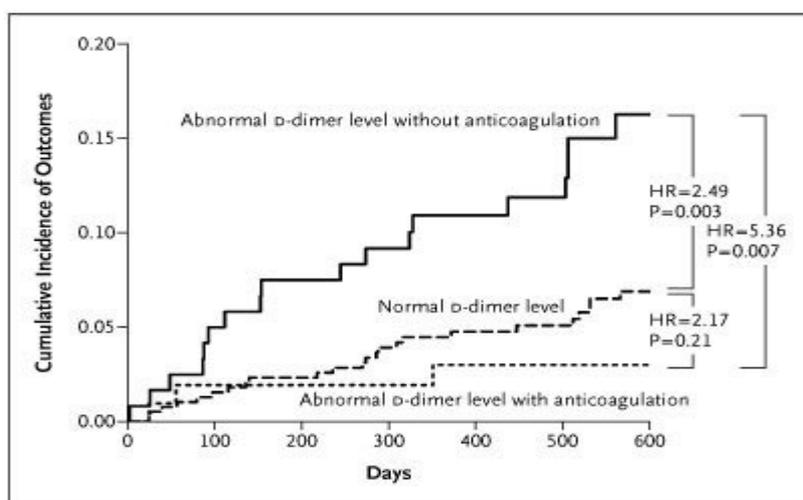
1.2.2.2. PREDICTORES DE RECURRENCIA DE LABORATORIO:

DÍMERO D

Debido al elevado valor predictivo negativo del dímero D, su uso se ha consolidado en la práctica clínica en combinación con las escalas de probabilidad clínica pretest para excluir el diagnóstico de ETEV.

A principios de los años 2000 se empezó a cuestionar su posible valor predictivo, positivo y negativo, para la recurrencia y se observó que los pacientes con DD elevado al mes de finalizar el tratamiento anticoagulante tenían un mayor riesgo de recurrencia(337-341). En un metaanálisis que incluyó más de 1500 pacientes con ETEV no provocada seguidos una media de 1.2-3.2 años, el 16.6% de los pacientes con un DD elevado tras suspender la anticoagulación recidivó frente al 7.2% de los que tuvieron DD normal(339). Datos similares, también en ETEV no provocada, se obtuvieron en el estudio PROLONG(340) en el que un 15% de los pacientes con DD elevado, al mes de retirar el tratamiento anticoagulante, presentaron una recurrencia tras un seguimiento medio de 1.4 años, frente al 2.9% de los pacientes con DD elevado que reiniciaron tratamiento anticoagulante (Figura 30).

Figura 30. Incidencia acumulada de recurrencia trombótica según valores de DD y anticoagulación.

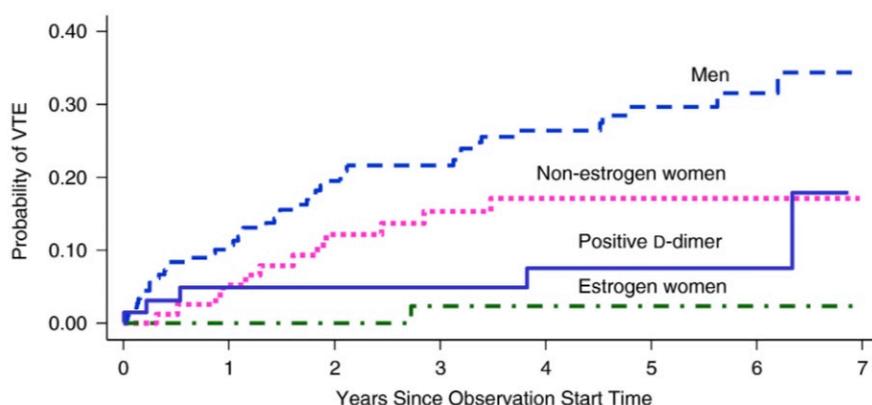


Adaptado de Palareti y colaboradores(340).

La ampliación de un año más de seguimiento de este estudio obtuvo resultados similares(341). Posteriormente, en el estudio PROLONGII(342), en pacientes con ETEV sin un factor de riesgo identificable y ampliando las determinaciones de DD en el tiempo, se vio que un DD persistentemente elevado a los 3 y a los 12 meses, frente a tener un DD normal, confería un elevado riesgo de recurrencia [27 frente al 3 por ciento por año; [“hazard ratio” (HR) 7,9; IC del 95% 2,1-30]. Los pacientes con DD normal al tercer mes pero posteriormente anormal de manera mantenida, tuvieron un riesgo de ETEV recurrente del 11% anual. Los autores concluyeron que las determinaciones repetidas del DD, tras la retirada del tratamiento anticoagulante en ETEV no provocada, podrían ayudar a establecer la duración óptima del tratamiento. En la misma línea estuvieron los resultados del estudio DULCIS(343,344), donde un grupo de investigadores italianos combinó el estudio de los valores del DD en el tiempo junto con el residuo trombótico en pacientes con ETEV no provocada.

Sin embargo, en estudios posteriores, se empezaron a cuestionar estos resultados. Así en un estudio del 2015(345), se aventuró que los resultados de un DD negativo podría no ser suficiente para justificar la interrupción del tratamiento anticoagulante en hombres. Estos datos se confirmaron en un estudio prospectivo posterior(346) donde se interrumpieron los anticoagulantes en pacientes con ETEV no provocado si el DD era negativo durante el tratamiento y al mes de finalizarlo y en los pacientes restantes se continuó el tratamiento. A los 5 años, la tasa anual de recurrencia entre los que habían interrumpido el tratamiento, fue de 5.1% en hombres, 3.8 en mujeres con ETEV no asociada a estrógenos y 0.4% en las mujeres con ETEV asociada a hormonas (**Figura 31**).

Figura 31. Incidencia acumulada de recurrencia trombótica en pacientes con ETEV no provocada manejados según DD.



Adaptado de Kearon y colaboradores(346).

Actualmente, pese a no existir consenso, no se miden rutinariamente los niveles de DD en todos los centros ya que el valor predictivo podría variar dependiendo del punto de corte y el ensayo utilizado y además, podría no tener valor en los hombres como hemos comentado. Quizá, podría ser de utilidad en algunas mujeres con ETEV no provocada y dudas acerca del tratamiento anticoagulante indefinido, pero este dato tendrá que ser validado en estudios posteriores.

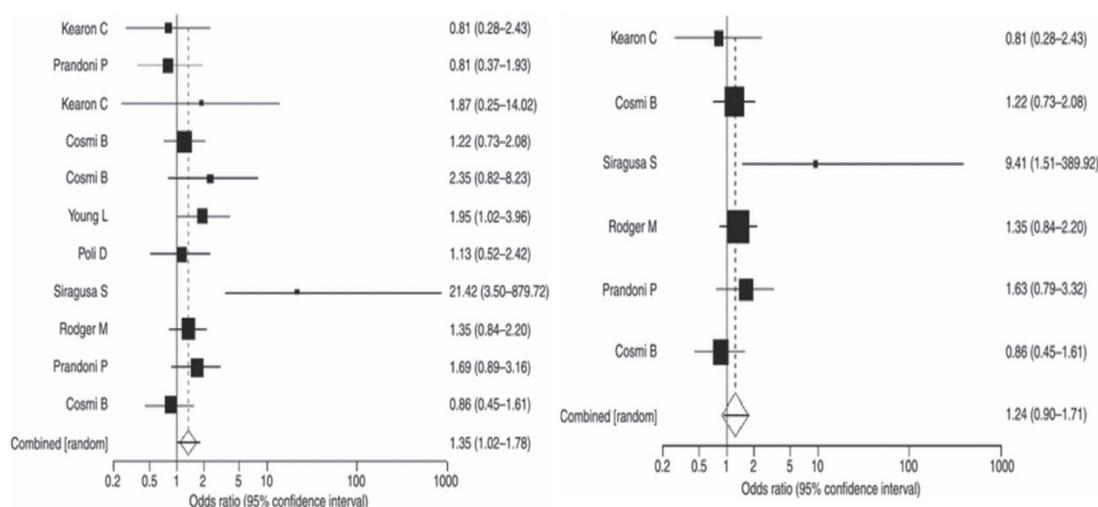
1.2.2.3. PREDICTORES DE RECURRENCIA ECOGRÁFICOS: RESIDUO TROMBÓTICO

El residuo trombótico o persistencia del trombo organizado y adherido a la pared venosa de los MMII a lo largo del tiempo, favorece el estasis y este ha sido el motivo por el cual se ha investigado su participación en la recidiva en numerosos estudios. Debido a la falta de estandarización de los criterios ecográficos para el diagnóstico, la variabilidad interobservador, la heterogeneidad de la población de estudio y el momento de la realización del mismo, los resultados han sido contradictorios(26,338,347-352).

Entre los estudios más relevantes destaca el estudio REVERSE(350), en el cual no se encontró un riesgo aumentado de recurrencia en los pacientes con residuo trombótico tras completar tratamiento anticoagulante por un episodio de

ETEV no provocada. En esta misma línea, en una revisión sistemática posterior, la TVP residual o residuo trombótico, se asoció con un discreto aumento del riesgo de recurrencia al suspender la anticoagulación en pacientes con TVP, sin embargo esta asociación se perdió al analizar el subgrupo de pacientes con TVP no provocada(352) (Figura 32).

Figura 32. Evaluación de la asociación entre residuo trombótico y recurrencia trombótica en paciente con ETEV provocada y no provocada (panel A) y pacientes con ETEV provocada (panel B), tras 3 meses de anticoagulación.



Adaptado de Carrier y colaboradores(352).

Sin embargo, en otra revisión sistemática(351) de 11 estudios y más de 3000 pacientes sí se encontró un aumento del riesgo en pacientes que presentaban residuo tras finalizar el tratamiento de una TVP proximal, aunque éste variaba mucho según los criterios ecográficos utilizados y no diferenciaban entre provocada y no provocada. De igual forma, en el estudio DACUS(348) el riesgo de recurrencia fue sustancialmente mayor en los pacientes con TVP residual que en los pacientes con recanalización completa, sin diferenciar entre provocada y no provocada. En la extensión posterior de seguimiento de este estudio(353) se obtuvieron datos similares.

En conclusión, si bien la detección ecográfica del residuo trombótico tras finalizar tratamiento anticoagulante, podría ser útil en la evaluación del riesgo pronóstico en determinados casos, su determinación precisa de una mayor

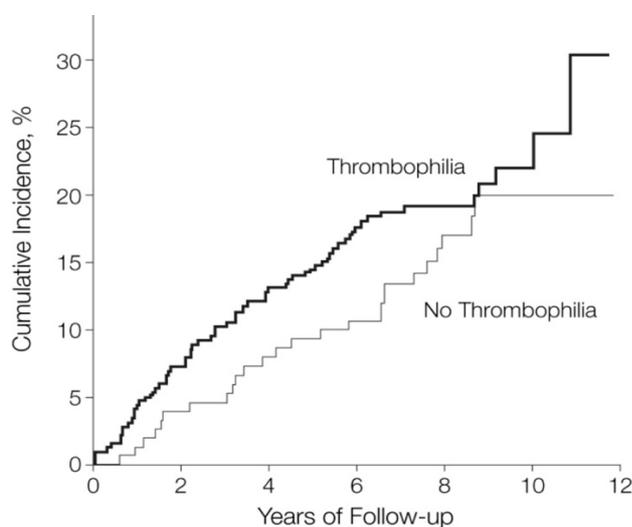
estandarización y actualmente no se puede recomendar su realización de manera rutinaria.

1.2.2.4. PREDICTORES DE RECURRENCIA GENÉTICOS: TROMBOFILIA

El papel de la trombofilia como factor de riesgo en la recurrencia de la ETEV es controvertido ya que no existen datos sólidos que respalden su utilidad clínica para predecir el riesgo de recidiva, decidir la duración del tratamiento inicial o, determinar la necesidad de anticoagulación a largo plazo(112,354,355). De hecho, no existen directrices claras definidas por las principales sociedades científicas. En la 9ª edición de las guías ACCP(311) así como en su actualización posterior(356) no se da ninguna orientación práctica de cuándo solicitar estas pruebas. La Sociedad Americana de Hematología recomienda no realizar estas pruebas si existe algún factor de riesgo transitorio importante(357) mientras que el “*British Committee for Standards in Hematology*” dice que no puede dar una recomendación uniforme para todos los pacientes recomendando limitar estas pruebas para situaciones y pacientes muy específicos(358).

Esta controversia en torno a los estudios de trombofilia hereditaria clásica deriva de que los datos disponibles no muestran diferencias significativas de recurrencia entre los pacientes con trombofilia y los que no la tienen (Figura 33)(74,112).

Figura 33. Incidencia acumulada de recurrencias en pacientes con trombofilia hereditaria y sin ella.



Adaptado de Christiansen y colaboradores(112)

Los pacientes con ETEV provocada por factores fuertes transitorios como cirugía mayor, hospitalización o enfermedad médica aguda, tienen un riesgo bajo de recurrencia independientemente del resultado del estudio genético(323), incluso los pacientes con *FVL* homocigoto, mutación de la *protrombina*, mutaciones heterocigotas compuestas o deficiencias de la proteína S, C o antitrombina(112,127,354). Los pacientes con ETEV no provocada, tienen un riesgo significativamente mayor de recurrencia, pero en un estudio este riesgo no se modificó por la presencia de la mutación heterocigota del *FVL* o del gen de la protrombina y aunque el riesgo era algo mayor para los pacientes con deficiencias de los anticoagulantes naturales con respecto a los pacientes sin trombofilia positiva, las diferencias no fueron significativas(112). Por lo tanto, la mayoría de los pacientes con ETEV provocada y trombofilia positiva no van a necesitar tratamiento indefinido y para los pacientes con ETEV no provocada, la trombofilia positiva será un dato más y no el único dato a tener en cuenta.

Además, muchas veces los resultados de las pruebas son malinterpretados en la práctica clínica ya que a los pacientes positivos se les mantiene el tratamiento anticoagulante indefinido en más ocasiones de las que se debería debido a que se piensa que tienen un riesgo mayor de recurrencia del que realmente tienen. Por otra parte, pacientes con antecedentes familiares de ETEV a edades tempranas y resultados negativos en las pruebas, pese a que se ha demostrado que tienen un riesgo aumentado de padecer una trombosis venosa(359), falsamente se asume que tienen un riesgo bajo de ETEV con las implicaciones terapéuticas correspondientes.

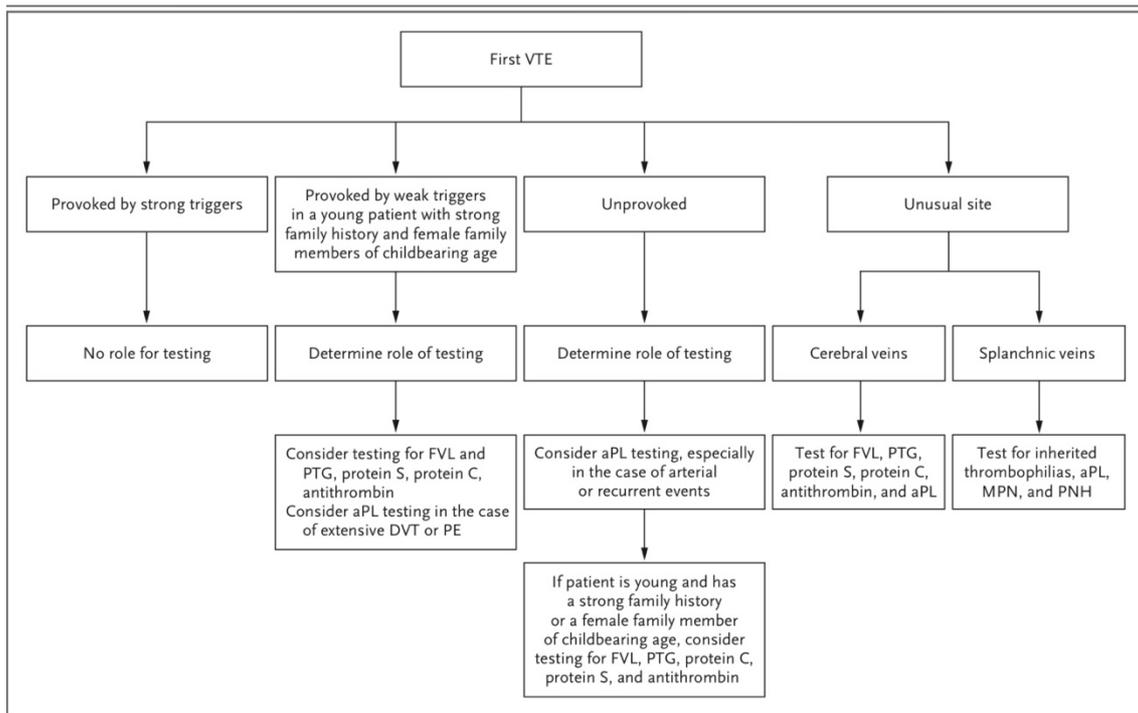
Por lo tanto, un resultado negativo de estas pruebas no excluye la existencia de una predisposición genética, sobretodo en aquellos pacientes con importante historia familiar ya que ésta casi siempre es más importante que los hallazgos del estudio de trombofilia. De hecho, los pacientes con trombofilia hereditaria a menudo pueden ser identificados en base a los antecedentes personales y familiares de ETEV sin necesidad de conocer o realizar las pruebas. Sospecharemos la presencia de trombofilia hereditaria en las siguientes situaciones(360):

- ETEV a edad temprana (< 50 años), especialmente si se asocia con un factor de riesgo débil o es no provocada.

- Fuerte carga familiar (varios miembros de primer grado afectados a edades tempranas).
- ETEV recurrente sobretodo a edad temprana.
- ETEV de localización inusual.

En la **figura 34** se muestra un algoritmo que puede ayudar a seleccionar aquellos pacientes en los que las pruebas de trombofilia hereditaria podrían ser útiles en base a los conocimientos disponibles actualmente.

Figura 34. Algoritmo para seleccionar pacientes, con primer episodio de ETEV, candidatos para las pruebas de trombofilia hereditaria.



Adaptado de Connors y colaboradores(360).

FVL: factor V de Leiden. *PTG*: disprotrombinemia. *aPL*: antifosfolípidos. *MPN*: síndromes mieloproliferativos. *PNH*: hemoglobinuria paroxística nocturna.

Por tanto, y dado que la ETEV se considera una enfermedad multifactorial determinada por la interacción de factores genéticos y ambientales, la evaluación global del estado protrombótico del paciente está indicado en todos los casos, mientras que la detección de laboratorio específica de la trombofilia hereditaria solo en casos muy seleccionados. Así, todos los pacientes con un primer evento de ETEV deben ser evaluados mediante una minuciosa historia personal y familiar de trombosis venosa, enfermedades y antecedentes clínicos previos, los factores de

riesgo trombótico asociados y los posibles efectos adversos de la terapia anticoagulante. Según la edad, localización y extensión de la trombosis y los factores de riesgo adquiridos predisponentes, decidiremos si realizar estudios genéticos adicionales.

Es importante no solo conocer a quién se le debe pedir las pruebas sino también qué pruebas hay que pedir y cuándo es el momento más indicado para su realización. En el contexto de la ETEV, el cribado genético o de trombofilia incluye la búsqueda de AT, deficiencia de PC y PS, presencia de *FVL* y mutación *20210A* de la *protrombina*. Este estudio no ha cambiado desde 1996, fecha en la que se descubrió la *disprotrombinemia*, salvo porque en algunos centros se hace también la determinación de la concentración del FVIII de la coagulación que se sabe que pueden influir en el riesgo de recidiva(205,361). Las pruebas iniciales para las proteínas C y S y la AT son pruebas funcionales que evalúan su actividad en el plasma, mientras que para el *FVL* y la mutación del gen de la protrombina se hacen pruebas de reacción en cadena de la polimerasa.

Las pruebas se deben realizar tras haber completado el tratamiento de la ETEV dado que en fase aguda no va a modificar la intensidad ni duración del tratamiento y además la función de la proteína C, S y la antitrombina podrían estar alteradas por la trombosis aguda, al igual que también se alteran en otras situaciones como la inflamación, infección o el embarazo. La detección del *FVL* y la *disprotrombinemia*, se puede hacer en cualquier momento pero dado que no va a cambiar el manejo inicial, se puede demorar hasta la realización de las demás pruebas.

Los anticoagulantes alteran los resultados de estas pruebas, en concreto, los antagonistas de la vitamina K (AVK) disminuyen los niveles de proteína S y proteína C, la heparina puede afectar a los niveles de antitrombina mientras que los anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) afectan tanto a la función de las proteínas C y S como a la antitrombina, por lo tanto, se recomienda suspender los AVK un mínimo de 2 semanas, los ACOD un mínimo de 2-3 días y la heparina al menos 24 horas antes de realizar los estudios.

1.2.3. MODELOS DE RIESGO

Se ha propuesto la utilización conjunta de factores clínicos y biológicos, para estimar el riesgo de recurrencia de la ETEV tras la interrupción del tratamiento anticoagulante, en forma de escalas o modelos predictivos.

La regla HERDOO₂(230) es una escala predictora de bajo riesgo de recurrencia desarrollada a partir de un estudio de 600 pacientes con un primer episodio de ETEV no provocada y seguidos durante 18 meses. En hombres no se identificó ninguna combinación de variables que predijera bajo riesgo de recurrencia. En mujeres que tenían ninguno o 1 de los factores de riesgo estudiados (edad >65 años, obesidad con IMC >30, DD elevado o signos de síndrome postrombótico) se observó una incidencia más baja de recurrencia en comparación con las que tenían dos o más factores de riesgo (3% frente a 8%).

El modelo predictivo de Viena(362), desarrollado a partir del seguimiento de 929 pacientes con un primer episodio de ETEV no provocada y seguidos durante 43 meses tras la retirada del tratamiento, es un normograma para predecir el riesgo de recurrencia. Se incluyen 3 variables clínicas predictoras del riesgo de recurrencia: sexo masculino, TVP proximal y TEP y valores elevados de DD tras la retirada de la anticoagulación.

En la escala de predicción de recurrencia DASH(363) se agruparon los datos de 1818 pacientes procedentes de 7 estudios prospectivos en ETEV no provocada. Un DD elevado de manera persistente tras interrumpir la anticoagulación, la edad avanzada, el sexo masculino y la ETEV no relacionada con tratamiento hormonal en mujeres predijeron un mayor riesgo de recurrencia. Se notificó un riesgo anual de recurrencia de 3.1% para una puntuación ≤ 1 , 6.4% con una puntuación de 2 y 12.3% con ≥ 3 .

Los 3 modelos son escalas de variables clínicas sencillas y fáciles de aplicar, sin embargo, presentan una serie de desventajas como la falta de inclusión de pacientes con trombofilia de alto riesgo así como los diferentes puntos de corte y métodos utilizados para la determinación del DD. Esto, sumado a la falta de validación externa de estas escalas, ha hecho que ninguna de ellas se haya integrado de manera rutinaria en la práctica clínica.

En pacientes con alto riesgo de recurrencia se debe considerar la anticoagulación indefinida y como ya se ha comentado previamente en esta tesis, en la valoración del tratamiento antitrombótico de un paciente, además de evaluar el riesgo de recurrencia, se debe estimar el riesgo de sangrado así como la preferencia del paciente.

Existen varias escalas que predicen el riesgo de sangrado de un paciente determinado pero la recomendada actualmente en ETEV, es la escala VTE-BLEED (Figura 35)(364) dado que es el sistema binario de alto y bajo riesgo que mejor se ha estudiado en pacientes anticoagulados por ETEV.

Figura 35. Escala VTE-BLEED.

Factor	Score
Active cancer ^a	2
Male with uncontrolled arterial hypertension ^b	1
Anaemia ^c	1-5
History of bleeding ^d	1-5
Age ≥ 60 years old	1-5
Renal dysfunction ^e	1-5
Classification of patients with the VTE-BLEED score	
Low bleeding risk	Total score < 2
High bleeding risk	Total score ≥ 2

Adaptado de Klok y colaboradores(365).

- a. Cáncer diagnosticado en los 6 meses anteriores al diagnóstico de ETEV, cáncer recientemente recurrente o progresivo o cualquier cáncer que requiera tratamiento dentro de los 6 meses anteriores al diagnóstico de ETEV.
- b. Los hombres con hipertensión arterial no controlada se definieron por valores de presión arterial sistólica ≥ 140 mmHg al inicio.
- c. Hemoglobina < 130 g/l en hombres o < 120 g/l en mujeres.
- d. Evento hemorrágico anterior mayor o no mayor clínicamente relevante, sangrado rectal, sangrado nasal frecuente o hematuria.
- e. Disfunción renal: Una tasa de filtración glomerular estimada (eGRF) < 60 ml/min. Se calculó con la fórmula de Cockcroft-Gault al inicio del estudio.

1.3. “SCORE” DE RIESGO GENÉTICO EN LA RECURRENCIA

La duración óptima del tratamiento anticoagulante para un paciente tras una trombosis venosa sigue siendo todo un desafío. El riesgo de sangrado que conlleva el tratamiento y el riesgo de recurrencia después de interrumpir el tratamiento no se predicen, a nivel individual, fácilmente.

Se sabe que la ETEV es una enfermedad compleja y multifactorial con una heredabilidad estimada de alrededor del 50-60%(60,302). Sin embargo, desgraciadamente ningún marcador genético puede predecir con precisión el riesgo de recurrencia de esta enfermedad, probablemente, porque la mayoría de pacientes tienen una predisposición genética determinada por múltiples variantes genéticas, incluidos polimorfismos desconocidos. Por tanto, el riesgo trombótico de un paciente concreto, puede calcularse mejor por la suma de sus factores de riesgo genético, o lo que es lo mismo, por la estimación de su predisposición genética general.

En esta línea, surgió el concepto de “score” genético de riesgo (SGR) en la ETEV, es decir, puntuaciones de riesgo genético de varios polimorfismos con el fin de establecer un perfil de riesgo genético individual para predecir la recurrencia.

Entre los trabajos que han utilizado la metodología del SGR para la predicción de la ETEV recurrente destaca el de van Hylckama Vileg y colaboradores(366) donde se estudió el valor predictivo de 31 SNPs. El uso de una puntuación de riesgo genético basada en los 5 polimorfismos más fuertemente asociados de manera individual y localizados en los locus *ABO*, *F11*, *F2*, *F5* y *FGG*, consiguió estratificar a los pacientes en función de su riesgo de recurrencia. Tras un seguimiento de 6 años de 4100 pacientes con un primer episodio de ETEV, la incidencia acumulada de recurrencia fue elevada para los individuos con ≥ 5 alelos de riesgo (20,3%) y baja para los individuos con ≤ 1 alelos de riesgo (9,4%). La capacidad predictiva de este SGR fue similar tanto en ETEV provocada como no provocada.

Este SGR fue validado en un estudio posterior(367) en el que además se propuso un nuevo “score” con 8 polimorfismos (añadiendo a los 5 polimorfismos mencionados en el “score” anterior, 3 polimorfismos situados en los locus *PAI-1*,

TFAM y *ApoM*) que mejoraba modestamente el rendimiento discriminatorio del SGR anterior.

Se han realizado trabajos similares tanto en primer episodio(368,369) como en recurrencia(370) con resultados prometedores pero todavía no se ha generalizado su uso en la práctica clínica.

Gracias al desarrollo actual de las técnicas de secuenciación genética que permiten el análisis simultáneo de un gran número de polimorfismos en menor tiempo y con menos costes, quizá uno de los retos de la ETEV en la era de la medicina personalizada que vivimos actualmente sea incorporar esta novedosa herramienta a la toma de decisiones clínicas tal y como se ha hecho con éxito en otras enfermedades. De esta manera se podrá identificar a aquellas personas con elevado riesgo de recurrencia y que por tanto se beneficiarán de un tratamiento prolongado.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. HIPÓTESIS

La ETEV, que comprende la TVP y el TEP, es un importante problema de salud pública siendo la patología vascular más frecuente entre los 15 y los 50 años de edad. Se trata de una enfermedad crónica con una alta tasa de recurrencia, lo que determina una morbi-mortalidad significativa y una mayor predisposición al desarrollo de SPT e HPTC que el episodio agudo. Pese a que la anticoagulación indefinida previene la recidiva, no está exenta de riesgo de sangrado, por lo que identificar aquellos pacientes con mayor riesgo trombótico es fundamental para establecer la duración óptima del tratamiento y evitar efectos adversos, es decir, recurrencias y hemorragias.

Para llegar a comprender los mecanismos de recidiva y cronicidad de esta enfermedad es de vital importancia conocer su base genética. Se sabe que es una enfermedad con un modelo de herencia genética multifactorial de gran complejidad, sin embargo, la predicción de la trombosis venosa recurrente con variantes de riesgo genético individuales ha demostrado ser difícil y con asociaciones débiles para variantes que están estrechamente asociadas con el riesgo de primer evento que por otra parte son las únicas que se han analizado hasta la fecha.

La **hipótesis principal** de esta tesis doctoral es que *existen variantes genéticas conocidas o no identificadas todavía que, de forma aislada o combinada, pueden determinar un elevado riesgo de recurrencia en pacientes jóvenes con un episodio previo de ETEV.*

2.2. OBJETIVOS

Los objetivos del presente estudio son:

2.2.1. OBJETIVO PRIMARIO

- Identificar y caracterizar, en población española joven con un primer episodio de ETEV, mutaciones específicas en genes que codifican proteínas implicadas en el sistema hemostático que influyan en el riesgo de recurrencia.

2.2.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Diseñar un “score” de riesgo genético de recidiva en base a los polimorfismos identificados inicialmente.
- Analizar el impacto de las variantes genéticas en el riesgo de recidiva según fenotipo clínico.
- Establecer haplotipos de riesgo para la recidiva de ETEV.
- Conocer y analizar los distintos factores de riesgo para la recurrencia en nuestra población y su prevalencia.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio de cohortes retrospectivo y observacional, con análisis caso-control anidado para valorar el riesgo de retrombosis asociado a genes candidatos, es decir, genes previamente asociados con el riesgo de ETEV.

3.2. SELECCIÓN DE PACIENTES

Pacientes con diagnóstico de trombosis venosa profunda (de miembro inferior o miembro superior) o embolismo pulmonar, derivados a Consultas Externas o ingresados en el servicio de Medicina Interna del Hospital Clínico en el periodo comprendido entre 1989 y 2017 y que cumplían los siguientes criterios:

3.2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

1. Raza caucásica.
2. Edad inferior a 50 años.
3. Diagnóstico de enfermedad tromboembólica mediante ecografía doppler o flebografía en el caso de TVP y TAC vascular de arterias pulmonares o gammagrafía pulmonar en el caso de TEP.
4. Seguimiento en Consultas Externas tras el episodio trombótico inicial.
5. Consentimiento informado para participar en el estudio.

3.2.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

1. Presencia de enfermedad crónica o neoplásica.
2. Afectación exclusiva de territorio venoso superficial.
3. Trombosis en territorios inusuales (cerebral, mesentérica, portal u obstrucción venosa retiniana).
4. Negativa para participar en el estudio.

3.2.3. RETIRADA DEL ESTUDIO

La participación en el estudio fue totalmente voluntaria y los pacientes podían retirarse del estudio en cualquier momento sin que ello modificara el trato y seguimiento que de su enfermedad realizaron el médico ni el resto de personal

sanitario.

3.3. RECOPIACIÓN DE DATOS DE LOS PACIENTES

La obtención de variables demográficas, antropométricas y clínicas, así como la obtención de muestras biológicas, se realizó en la Sala de Hospitalización de Medicina Interna del Hospital Clínico o en Consultas Externas del mismo Servicio.

Al inicio del episodio, a los pacientes se les pautaba tratamiento anticoagulante, inicialmente mediante fibrinólisis y/o heparina sódica o de bajo peso molecular y AVK, heparina de bajo peso molecular (HBPM) o ACOD posteriormente. La elección de un tipo u otro de tratamiento y la duración del mismo se basaba en las características del paciente y del evento trombótico. Adicionalmente si habían presentado TVP se les instruía en las medidas higiénico-dietéticas apropiadas para evitar la aparición de síndrome posttrombótico así como en el uso de medias de compresión (CLC1 o CLC2 según tolerancia) durante al menos dos años tras el episodio agudo.

A los sujetos incluidos en el estudio se les realizó en la **primera visita**, programada en los primeros 15 días tras el evento inicial, determinación de medidas antropométricas, exploración física e historia clínica completa incluyendo factores de riesgo cardiovascular, antecedentes familiares de patología venosa y presencia de factores de riesgo trombóticos.

Además, una analítica basal a primera hora de la mañana y tras al menos 8 horas de ayuno. Las muestras se analizaron mediante un auto-analizador según los protocolos del laboratorio del Hospital Clínico Universitario de Valencia. Los análisis incluían hemograma completo y bioquímica con perfil hepático, perfil renal, perfil lipídico, glucemia basal, homocisteína, vitamina B12, ácido fólico, anticuerpos antinucleares (ANAs), anticuerpos anti-ADN de doble cadena (anti-dsDNA) y parámetros clásicos de la coagulación. La estimación del filtrado glomerular se calculó mediante la fórmula CKD-EPI.

A los pacientes se les hizo un **seguimiento** en C. Externas aproximadamente al mes, a los 3 meses y a los 6 meses del evento inicial y posteriormente visitas anuales salvo aparición de complicaciones o necesidad de

seguimiento más estrecho. En cada visita se recogían signos y síntomas de SPT, aparición de clínica de TEP o retrombosis en miembros inferiores o superiores, calidad de control de anticoagulación (tiempo en rango terapéutico) así como analítica sanguínea con hemograma y perfil bioquímico. En el caso de TVP se realizaba ecografía doppler de miembros previa a la retirada de anticoagulación y ecocardiografía transtorácica en el caso de debut como TEP e hipertensión pulmonar a los 6 meses de tratamiento anticoagulante. En aquellos pacientes de alto riesgo de recurrencia y presencia de TEP, también se repitió la prueba de imagen previa a la retirada de tratamiento.

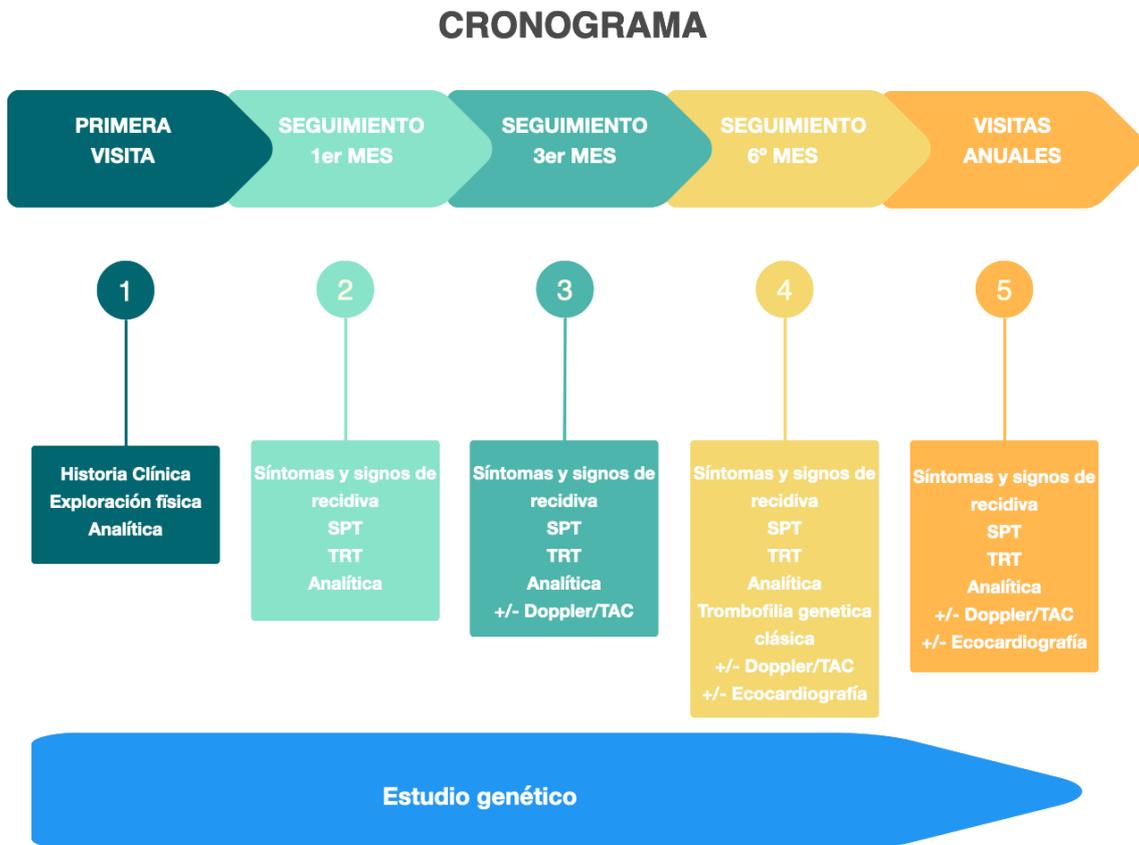
A los 6 meses del evento agudo, en aquellos pacientes en los que se había retirado el tratamiento anticoagulante, se realizaba una determinación de los niveles de PC, PS y AT, presencia de anticuerpos antifosfolípido y anticoagulante lúpico así como estudio de la presencia de mutación *FVL* y *disprotrombinemia*. En el caso de que todavía se mantuviera el tratamiento anticoagulante a los 6 meses del evento agudo se les realizaba el estudio si el paciente se encontraba con HBPM y si el tratamiento era AVK, se pasaba temporalmente al paciente a HBPM para la realización del mismo retirándose la heparina 24 horas previas a la extracción. Los ACOD se retiraban con antelación ajustada a la vida media del fármaco. A las gestantes se les realizaba el estudio tras pasar el puerperio, es decir, al menos 6 semanas después de la gestación.

Desde el inicio del estudio, los pacientes eran instruidos acerca de la sospecha de recurrencia y se les explicaba la importancia de consultar con los responsables del estudio en tal caso.

Los pacientes fueron seguidos hasta la finalización del estudio salvo pérdidas de seguimiento o muerte.

En cualquier momento del seguimiento y, tras la firma del consentimiento informado del Biobanco INCLIVA para la donación voluntaria de muestras biológicas para investigación, por parte del paciente y del médico, se le realizaba la extracción sanguínea para la realización de estudio genético. La sangre extraída se recogía en tubos con 15% de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y se almacenaba en el Biobanco INCLIVA a 4°C para su análisis posterior.

Figura 36. Cronograma del seguimiento de los pacientes.



SPT: Síndrome postrombótico. TRT: Tiempo en rango terapéutico. TAC: tomografía axial computerizada.

3.4. FENOTIPADO DE LOS PACIENTES

Los pacientes se fenotiparon en función de la etiología y de la evolución clínica.

▪ **Fenotipado etiológico:**

- Trombofilia hereditaria (TH) clásica (*FVL*, *disprotrombinemia*, déficit de AT, PS y/o PC).
- Anticuerpos antifosfolípido.
- Sin TH conocida ni presencia de AAFL.

En el caso de que en un mismo paciente coexistiera la presencia de trombofilia hereditaria clásica y AAFL se clasificó como AAFL dado el mayor riesgo de ETEV que comporta su presencia.

- **Fenotipado clínico:**
 - Control: paciente sin recidiva.
 - Caso: paciente con 1 ó más recidivas.

Al seleccionar pacientes con ETEV de la misma raza y características similares (edad, tipo de tratamiento, factores de riesgo implicados y evolución) se consiguió una certera definición del fenotipo, imprescindible para la consistencia del estudio.

3.5. VARIABLES DE INTERÉS

3.5.1. VARIABLES DEMOGRÁFICAS

En cada paciente se recogieron los siguientes datos

- **Fecha de nacimiento.**
- **Fecha del primer episodio** de ETEV.
- **Sexo.**
- **Edad** en el momento del primer evento trombótico.

3.5.2. VARIABLES ANTROPOMÉTRICAS

- **Medición de la talla:** se realizó con un tallímetro estándar de brazo móvil con el sujeto descalzo. El paciente se coloca de espaldas al tallímetro, apoyando los talones, nalgas y brazos y con los pies/tobillos juntos. El brazo móvil del tallímetro se desplaza hasta que se apoye sobre la cabeza, formando un ángulo recto con el brazo móvil del tallímetro y la horizontal de la cabeza. El resultado se expresa en centímetros (cm).
- **Medición del peso:** Se utilizó una balanza de precisión colocada en una superficie firme y lisa. El sujeto se coloca en el centro de la misma, descalzo y con la mínima ropa posible. El resultado se expresa en kilogramos (Kg) con un decimal, redondeando al valor de 100 gramos.
- **Índice de masa corporal:** Se calcula mediante la fórmula

$$\text{IMC (Kg/m}^2\text{)} = \text{peso (Kg)} / (\text{talla (m)})^2$$

Se considera un individuo con sobrepeso con $IMC \geq 25 \text{ Kg/m}^2$ y obeso con $IMC \geq 30 \text{ Kg/m}^2$ (371).

3.5.3. VARIABLES INSTRUMENTADAS

- **Hipertensión arterial:** la presión arterial clínica se midió por medio de un dispositivo semiautomático (OMRON M3 (HEM-7131-E), OMRON HEALTHCARE Co., Ltd. Kyoto, Japan) utilizando un manguito apropiado según la circunferencia del brazo. La medida se realizó siguiendo las recomendaciones de la Sociedad Europea de Hipertensión(372). Brevemente, se tomará en un ambiente tranquilo tras permanecer el paciente sentado durante varios minutos. El paciente no debe haber fumado ni tomado ninguna sustancia estimulante durante las dos horas previas a la toma de la presión arterial. Se tomaron al menos dos medidas separadas uno o dos minutos considerándose la media como valor de presión arterial clínica. Solo en el caso de discrepancia significativa (10 mmHg) entre las tomas, se hicieron medidas adicionales. Los sujetos se clasificaron como hipertensos de acuerdo a las guías de la Sociedad Europea de Hipertensión Arterial(372) (PA en consulta $\geq 140/90 \text{ mmHg}$).

3.5.4. VARIABLES CLÍNICAS

- **Tipo de evento tromboembólico**
 - TVP: definida por la presencia de clínica compatible y confirmación por ecografía doppler o flebografía. Se recogieron tanto las TVP de miembros inferiores como miembros superiores. No se consideraron aquellas que afectaban únicamente a sistema venoso superficial o eran de localización inusual.
 - TVP MMII proximal: afecta a venas poplítea, venas femorales, ilíacas y vena cava inferior.
 - TVP MMII distal: afecta a venas tibiales anteriores y posteriores, peroneas, sóleas y gastrocnemias.
 - TEP: definido por la presencia de clínica compatible y confirmación por

TAC vascular de arterias pulmonares o gammagrafía pulmonar.

- TVP y TEP: pacientes que presentan los dos eventos definidos anteriormente de manera simultánea.
- **Factores de riesgo trombótico:** se tuvieron en cuenta los siguientes factores predisponentes de ETEV
 - Inmovilización (incluyendo la derivada de hospitalización): >4 días(314).
 - Embarazo y puerperio (6 semanas tras el parto).
 - Cirugía mayor.
 - Tratamiento hormonal.
 - Viajes prolongados: duración superior a 6 horas(314).
 - Parálisis de miembros inferiores.
 - Insuficiencia venosa definida por clínica y exploración física compatible.
 - Enfermedad inflamatoria intestinal en fase de actividad.
 - Infección aguda grave.
 - Ejercicio de alta intensidad.
 - Uso de antiinflamatorios no esteroideos (AINES) en los 90 días previos a la fecha del evento trombótico.
- **Antecedentes familiares:** historia de ETEV en parientes de primer grado (hijo/hija, hermano, padre o madre).

3.5.5. VARIABLES ANALÍTICAS

- **Preparación de las muestras:** las extracciones de los pacientes se realizaron mediante punción venosa de la vena cubital previa asepsia de la misma, mediante el sistema “BD Vacutainer®”. Este sistema garantiza la esterilidad e integridad de la muestra ya que la sangre del paciente pasa directamente al interior de los tubos sin entrar en ningún momento en contacto con el medio ambiente.

Se utilizaron los siguientes tubos:

- Azul citrato-plasma citratado.
- Malva EDTA-sangre EDTA.
- Química (Tapón gel separador)-suero.

- Rojo 8,5 ml (Gel separador)-suero.

▪ **Determinaciones con sangre total:**

- Recuento de plaquetas: Se utilizaron muestras de sangre venosa recogidas en tubos con EDTA como anticoagulante. Todas las determinaciones fueron realizadas antes de transcurridas cuatro horas desde la extracción, siendo conservadas a temperatura ambiente (18-20°C) hasta el momento de su estudio.

Su determinación fue realizada por el analizador "Sysmex XN-9100". Los analizadores de la serie XN utilizan impedancia para la mayoría de los conteos de plaquetas. Cuando la exactitud en el conteo de plaquetas no puede garantizarse por medio de la impedancia, el resultado es marcado con una alarma. El XN realiza automáticamente un análisis en un nuevo canal usando un reactivo fluorescente y aumenta el tiempo de conteo seis veces. En el nuevo canal de plaquetas fluorescentes, las plaquetas son identificadas y contadas utilizando un colorante fluorescente de oxazina, específico para plaquetas, el cual tiñe la superficie del retículo endoplásmico y la mitocondria plaquetaria. Esta identificación celular tiene una correlación excelente con los anticuerpos monoclonales CD41/CD61 y minimiza la interferencia por fragmentos de eritrocitos, microcitos o fragmentos de leucocitos.

El rango de normalidad de la cifra de plaquetas en nuestro laboratorio es de 150-400 mil/mm³.

- **Determinaciones con suero:** las muestras se conservaron herméticamente a temperatura ambiente durante un máximo de 8 horas hasta que fueron procesadas o refrigeradas entre 2-8°C en los análisis que se demoraron 24 horas. Las determinaciones realizadas fueron:

- Perfil lipídico: cifras de colesterol total mediante un test enzimático colorimétrico. Los resultados se comunicaron en mg/dl estableciéndose el rango de normalidad entre 80-200 mg/dl.

Se consideró dislipemia cifras de colesterol total > 200 mg/dl(314).

- Glucemia: se realizó mediante un test por radiación ultravioleta. Los valores de referencia de los resultados se expresan en mg/dl siendo las

cifras basales normales de 70-105 mg/dl. En aquellos pacientes que se objetivaba una concentración de glucosa en ayunas ≥ 126 mg/dl se solicitaba una segunda extracción con determinación de hemoglobina glicosilada. Se consideraba diabético al paciente si la cifra de ésta era $\geq 6,5\%$ (373)

- **Determinaciones con plasma:** Las muestras se obtuvieron en tubos Vacutainer con Citrato Trisódico 0,129 M al 3,2% como anticoagulante, en una proporción de 1:9 (Volumen de Citrato: Volumen de Sangre) y fueron centrifugadas para obtener un plasma pobre en plaquetas a velocidad de 1500 g, durante 15 minutos y a temperatura ambiente (18-24°C) para procesarse dentro de las primeras cuatro horas de su extracción.

Las determinaciones fueron procesadas en el autoanalizador ACL-TOP® 700 CTS de Werfen.

- Estudio de Coagulación básico: La metodología de estas pruebas coagulométricas, es la espectrofotometría, la cual está basada en el cambio de luz dispersada asociada a la formación del coágulo de fibrina. Se tuvieron en cuenta las siguientes pruebas incluidas en el estudio de hemostasia básico:
 - Tiempo de protrombina: para su determinación se utilizó el reactivo Recombiplastin 2G. Los rangos de normalidad son entre 9.4-12.5 segundos.
 - Tiempo de tromboplastina parcial activado: para su procesamiento se precisan dos reactivos el Synthasil aptt reac y el Calcium Chloride 0.20M. Los rangos de normalidad son entre 0,8- 1,2 ratio.
 - Fibrinógeno derivado: se utilizó el mismo reactivo que para el TP. El rango de normalidad en este parámetro está establecido entre 276-471 mg/dL.
- Estudio de hipercoagulabilidad: DD: Para su determinación se utiliza el “HemosIL D-Dimer HS 500” que es un inmunoensayo de partículas de látex automatizado por el ACL TOP® 700 de Werfen. El rango de normalidad está establecido como <250 ng/mL.

- Estudio de trombofilia plasmática: Dicho estudio se determina en plasma citratado en los analizadores ACL TOP® 700 de Werfen. En este estudio se incluyen los siguientes parámetros:
 - AT funcional: El “Kit Antitrombina líquida” es una técnica basada en un sustrato cromogénico sintético y una activación del FXa. El nivel de AT en el plasma de pacientes es medido automáticamente en los sistemas de coagulación IL en 2 etapas:
 1. Incubación del plasma con el reactivo FXa (FXa reagent) en presencia de un exceso de heparina.
 2. Cuantificación de la actividad del FXa residual con un sustrato cromogénico sintético (Chromogenic substrate). La paranitroanilina liberada es medida cinéticamente a 405 nm siendo su nivel inversamente proporcional a la actividad de AT de la muestra.

El rango de normalidad oscila entre 70-120%.
 - PC funcional amidolítica: su determinación se basa en un test cromogénico sintético que sigue los mismos principios del método anterior pero en el que se utiliza el “Kit Proteína C” (Diluent, Protein C activator y Chromogenic substrate). Los valores normales están comprendidos entre 50-100%
 - PS antigénica total: se determina por aplicación de una técnica de inmunoensayo de partículas de látex automatizado para el que se utiliza el “Kit Hemosil Free Protein S (C4BP Buffer, C4BP Latex y Anti PS Mab Latex)”. Los valores de normalidad para la PS libre son entre 50-100%
- Estudio de trombofilia adquirida: Se llevó a cabo en el laboratorio de la Unidad de Hemostasia y Coagulación en los analizadores ACL TOP® 700 de Werfen. Dicho estudio incluyó las siguientes determinaciones:
 - Anticoagulante Lúpico: Los ensayos con el “Kit HemosIL dRVVT Screen y HemosIL dRVVT Confirm” son productos de diagnóstico in vitro cualitativos utilizados para la detección de AL en plasma humano citratado mediante el método de veneno de víbora de

Russell (TVVR/SCT) diluido en el sistema de coagulación IL. Se usa para la detección de AL (AAF que van dirigidos contra los fosfolípidos) de carga negativa o contra complejos formados entre fosfolípidos y proteínas (β_2 GPIo factores de la coagulación como el TP) que se detectan por su capacidad de prolongar el tiempo de coagulación en tests fosfolípido dependientes. El reactivo dRVVT Screen es pobre en fosfolípidos, lo que le hace sensible al AL. La cantidad adicional de fosfolípido bicapa presentes en dRVVT Confirm neutraliza al AL dando tiempos de coagulación más cortos. El veneno de víbora de Russell en presencia de Ca^{+2} activa directamente el FX de la muestra. El resultado final se expresa como la ratio normalizada de dRVVT, considerando el rango de normalidad entre 0.8-1.2. Si los tiempos de coagulación de dRVVT Screen y Confirm están prolongados, se recomienda realizar estudios de mezcla para investigar déficits o inhibidores de factores. Si el estudio de mezcla alarga, deberían realizarse estudios adicionales para determinar la interferencia o el inhibidor específicos a los factores de coagulación, o la posible interferencia en combinación con AL. Los ensayos dRVVT Screen y Confirm cuando se usan juntos, cumplen con los requisitos de test integrado definidos en las recomendaciones para la detección de AL.

▪ **Estudio de trombofilia hereditaria:**

• Análisis *FVL*:

1. Técnica de estudio: El estudio se realizó en sangre periférica total (en tubo con EDTA como anticoagulante) mediante la técnica “High Resolution Melting”(HRM) con la plataforma de reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real, Light Cycler[®]480 II de ROCHE. Se trata de un ensayo cualitativo in vitro que caracteriza la posición 1691 del gen del factor V. Las muestras se almacenaron entre 2 y 8°C para su procesamiento a corto plazo (hasta 10 días) o a -70°C si se iban a procesar largo plazo.

2. Extracción de DNA a partir de sangre periférica: Se utilizó el kit de sangre en extractor automático de ácidos nucleicos: Maxwell® 16 (Promega). Previamente se realizó un Ficoll de donde se cogieron las células polinucleadas para su extracción.

3. Descripción del método y amplificación: Todos los reactivos necesarios para la amplificación estaban incluidos en el Kit Light Cycler® 480 HRM Master. Los reactivos ya estaban optimizados para el ensayo y listos para usar. En cuanto a los primers utilizados para amplificar el fragmento que abarca la posible variación, habían sido previamente diseñados mediante el software Primer3.

Siempre se utilizó un control negativo para la detección de una posible contaminación en cada tanda de ensayo, así como controles negativos (WT) y positivos (HOMO/ HET) para confirmar los resultados obtenidos. Se prepararon diluciones a (25ng/μL) tanto de los controles como de las muestras a analizar.

La técnica “High Resolution Melting” es un método utilizado para la identificación de variaciones en las secuencias de ácidos nucleicos. Se basa en la caracterización de los productos de reacción en cadena de la polimerasa conforme al modo de disociación de las hebras, es decir, las variaciones en las secuencias son detectadas tanto por un cambio en la $T_{melting}$ como por un cambio en la forma de la curva de disociación.

Se basa en dos etapas fundamentales, primeramente se realiza una amplificación de los fragmentos diana, en presencia de un pigmento de fluorescencia, en este caso el LightCycler® 480 HRM Master. Seguidamente tiene lugar la etapa de Melting, donde los fragmentos amplificados se disocian y separan de sus cadenas originales. A continuación, se produce un choque de temperaturas, disminuyendo hasta unos 40°C para que las cadenas que se habían separado con anterioridad, se vuelvan a unir pero esta vez de forma aleatoria, formándose los homoduplex (híbridos perfectamente emparejado) o heterodúplex (híbridos no coincidentes). Posteriormente, se vuelve a elevar gradualmente la temperatura hasta la T_m del fragmento de

interés, de modo que la mitad del fragmento presenta sus hebras separadas, exponiendo así el pigmento fluorescente y en consecuencia, al incidir el láser, se produce un cambio de fluorescencia capturado por el instrumento. De este modo, se obtiene un perfil de curva de fusión característico del amplicón a estudiar, así como su temperatura de Melting. En la **tabla 3** se muestran los resultados que se pueden obtener para el análisis de FV.

Tabla 3. Resultados posibles en el análisis del Factor V.

RESULTADO	ALELO 1	ALELO 2
HOMOCIGOTO: Homoduplex para la mutación.	5' - CAA - 3' 3' - GTT - 5'	5' - CAA - 3' 3' - GTT - 5'
WILDTYPE: Homoduplex sin la mutación.	5' - CGA - 3' 3' - GCT - 5'	5' - CGA - 3' 3' - GCT - 5'
HETEROCIGOTO: Homoduplex y Heteroduplex con la variante.	5' - CGA - 3' 3' - GCT - 5'	5' - CAA - 3' 3' - GTT - 5'

- **Análisis mutación de la protrombina:**

1. Técnica de estudio: El estudio se realizó en sangre periférica total mediante la técnica HRM con la plataforma de reacción en cadena de la polimerasa a tiempo Real, Light Cycler®480 II de ROCHE. Se trata de un ensayo cualitativo in vitro que caracteriza la posición 20210 del gen de la protrombina humana.

2. Extracción de DNA a partir de sangre periférica: se utilizó el kit de sangre en extractor automático de ácidos nucleicos: Maxwell® 16 (Promega). Previamente se realizó un Ficoll de donde se cogieron las células polinucleadas para su extracción.

3. Descripción del método y amplificación:

Todos los reactivos necesarios para la amplificación estaban incluidos en el Kit Light Cycler®480 HRM Master. Los reactivos ya estaban optimizados para el ensayo y listos para usar.

En cuanto a los primers utilizados para amplificar el fragmento que abarca la posible variación, fueron previamente diseñados mediante el software Primer.3.

Siempre se utilizó un control negativo para la detección de una posible contaminación en cada tanda de ensayo, así como controles negativos (WT) y positivos (HOMO/ HET) para confirmar los resultados obtenidos. Se preparan diluciones a (25ng/μL) tanto de los controles como de las muestras a analizar.

Por tanto, los resultados que se pueden obtener para el análisis del factor II (FII) son los siguientes:

- WT: NO MUTADO; en ambos alelos, el nucleótido WT(G) está presente en la posición 20210 del gen del factor II.
- MUT: MUTADO HOMOCITOGO; en ambos alelos, el nucleótido mutado (A) está presente en la posición 20210 del gen del factor II.
- HET: MUTADO HETEROCIGOTO; un alelo lleva el nucleótido WT (G) y un alelo lleva el nucleótido mutado (A) en la posición 20210 del gen del factor II.

3.5.6. VARIABLES EVOLUTIVAS

Durante la evolución se recogieron las siguientes variables:

- **Recidiva:** se define recidiva (tanto de TVP como de TEP) como aquellos eventos que ocurren después de un ciclo inicial de tratamiento antitrombótico adecuado para un primer evento tromboembólico(374).

Siguiendo las recomendaciones de la ISTH(321), en pacientes con sospecha de recurrencia trombótica usamos un esquema diagnóstico basado en una escala de predicción clínica validada, dímero D y prueba de imagen:

- TVP: de elección la ecografía doppler considerando la presencia de un nuevo segmento venoso no compresible como principal criterio diagnóstico. En el caso de una TVP recurrente ipsilateral en un segmento previamente anormal consideramos recidiva si el diámetro de la vena era > 4mm, entre 2-4 mm se repetía la ecografía a los 7 días y se consideraba recidiva si entonces era > 4 mm, si era < 2 mm solo se

repetía la ecografía a los 7 días en aquellos pacientes con alta probabilidad clínica de recurrencia.

- TEP: la prueba de imagen preferible en pacientes con sospecha de TEP recurrente fue el angio-TAC pulmonar y utilizamos los mismos criterios que en pacientes sin antecedentes de TEP previo, es decir, se consideró como diagnóstico un defecto de llenado central u oclusión completa de ramas segmentarias o más proximales de las arterias pulmonares, un defecto de llenado de $> 2,5$ mm o un defecto de perfusión de $\geq 75\%$ de un segmento con ventilación normal.
- **Hemorragia:** en caso de sangrado consideramos
 - Hemorragia mayor(375):
 - Sangrado fatal y/o
 - Sangrado sintomático en un área u órgano crítico como intracraneal, intraespinal, intraocular, retroperitoneal, intraarticular, pericárdico o intramuscular asociado a síndrome compartimental y/o
 - Sangrado que produzca una caída de la hemoglobina > 2 g/dl (1,24 mmol/l) o que precise de la transfusión de > 2 concentrados de hematíes o sangre total.
 - Hemorragia clínicamente relevante no mayor(376), cualquier signo o síntoma de hemorragia que no se ajuste a los criterios de hemorragia mayor pero que cumpla al menos uno de los siguientes:
 - Requiera la intervención o valoración médica de un profesional sanitario.
 - Conduce a la hospitalización o un mayor nivel de atención.
 - Hemorragia menor cuando no se cumplen los supuestos de hemorragia mayor o hemorragia clínicamente relevante no mayor.
- **Síndrome postrombótico:** la existencia y severidad del síndrome postrombótico se evaluó mediante la escala de Villalta(377,378).
- **Muerte**

3.6. GENOTIPADO Y SELECCIÓN DE POLIMORFISMOS

El DNA se extrajo de leucocitos de sangre periférica (5-10 ml) y posteriormente se purificó según el procedimiento estándar (Chemagic Magnetic Separation Module I, Chemagen Biopolymer-Technologie AG, Arnold-Sommerfeld-Ring 2-D52499 Baesweiler Germany)(Figura 37)(379).

Figura 37. Chemagic magnetic separation module I.



Cortesía de PerkinElmer chemagen Technologie GmbH.

Durante todo el procedimiento se realizaron los controles de calidad oportunos para no comprometer los resultados. El ADN extraído cumplía los siguientes requisitos:

- Libre de inhibidores de la reacción en cadena de la polimerasa.
- No contaminado con otros ADN (humanos o de otros organismos).
- No degradado.

Los genes que se secuenciaron fueron: *F2*, *CYP4V2*, *F5*, *F11*, *FGA*, *FGG*, *FGB*, *GP6*, *SERPINC1* y *PAI1*. Se estudió el promotor (unas 1000 bp) y todos los exones y regiones intrónicas contiguas de estos genes. En total se amplificaron todos los exones y 2 fragmentos adicionales de los genes y se secuenciaron en ambos sentidos. Para el diseño de los fragmentos se tuvo en cuenta los polimorfismos descritos hasta el momento en la bibliografía seleccionando aquéllos que fueran o pudieran ser funcionales y hubieran sido descritos mediante el HapMap2 y, fragmentos no descritos previamente identificados al hacer el análisis de los genes.

El diseño se hizo para el estudio con el sistema GS Junior 454 (Roche, Suiza) de NGS mediante secuenciación de amplicones de hasta 500 bp.

Los datos se analizaron con el software SNP calling (GS Junior Bioinformatics Software v2.5, Roche, Suiza) mediante el cual obtuvimos información sobre las variantes de cada SNP así como el genotipo. En un 10% de pacientes se repitió el genotipado para asegurar los resultados. El alineamiento se realizó frente al genoma GRCh38 (www.ensembl.org). Se realizó una base de datos con las variantes identificadas y el genotipo de cada una de las muestras analizadas.

3.7. TAMAÑO MUESTRAL

En este tipo de estudios, es decir, estudios de asociación genética donde se pueden identificar varios polimorfismos con efectos y frecuencias diferentes, es difícil calcular el tamaño muestral mínimo para detectar verdaderas asociaciones. Así, el tamaño muestral necesario para detectar asociación entre una variante genética y una afectación o enfermedad depende de la frecuencia con la que esa variante se expresa y del incremento en la susceptibilidad para la enfermedad que confiere. Este concepto teórico nos aclara por qué es tan difícil calcular el tamaño muestral antes de realizar el estudio, porque a priori no conocemos los principales factores para determinarlo y nos tenemos que basar en suposiciones. En general se asume, que cuanto mayor sea el tamaño muestral, mayor será la posibilidad de encontrar asociaciones significativas verdaderas.

Nuestro trabajo es un estudio retrospectivo unicéntrico derivado de la práctica clínica habitual por lo que cuenta con una muestra de 330 sujetos, 181 hombres y 149 mujeres. De éstos, 263 cuentan con muestra biológica para estudio genético.

Según el fenotipo evolutivo, en nuestra muestra de 330 sujetos contamos con 72 (21,8%) casos y 258 (78,2%) controles.

3.8. PODER ESTADÍSTICO

Para el cálculo del poder estadístico se utilizó el software gratuito “Genetic Association Study (GAS) power calculator” teniendo en cuenta un cociente caso/control de 0.28 (72 casos/258 controles), un nivel de significación alfa 0.05 y considerando un modelo aditivo. Las estimaciones del poder estadístico en función de la prevalencia estimada de recidiva, de la frecuencia del alelo menor en los casos y del riesgo relativo asociado a los genotipos se muestran en las siguientes figuras.

Figura 38. Poder estadístico en función de la prevalencia.

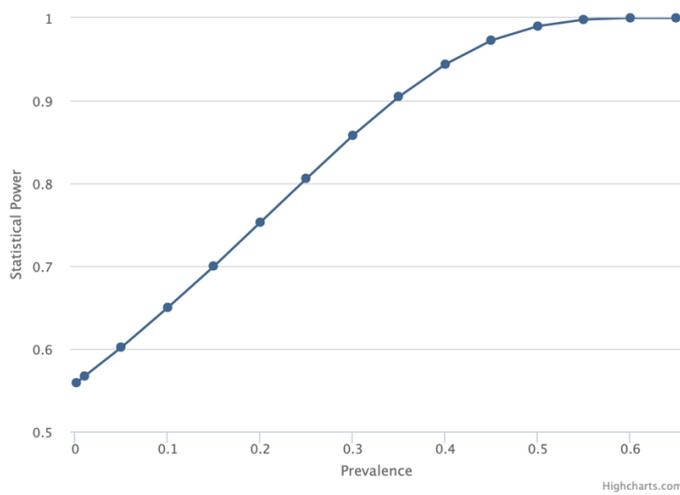


Figura 39. Poder estadístico en función de la frecuencia en el alelo menor en los casos.

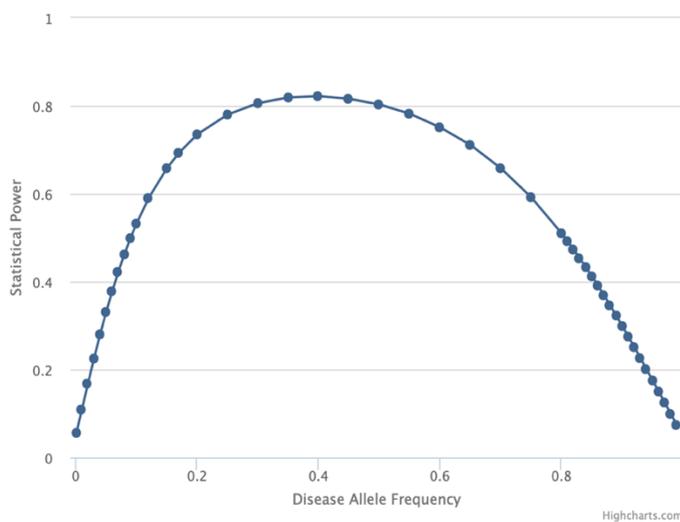
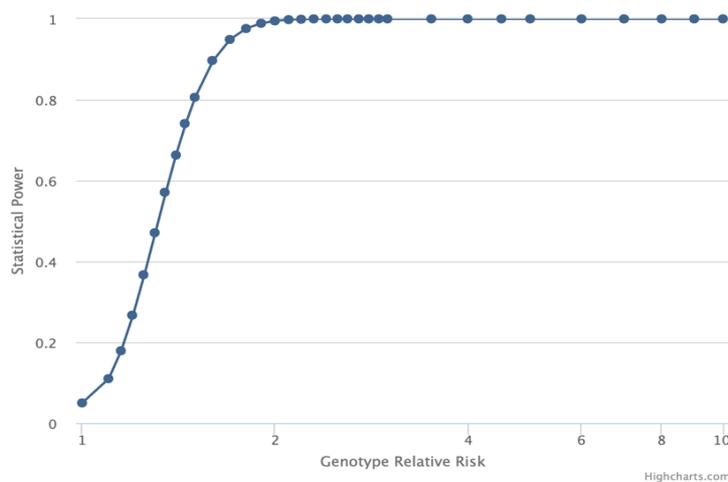


Figura 40. Poder estadístico en función del riesgo relativo asociado a los genotipos.



Si consideramos una prevalencia estimada de recidiva de ETEV a los 5 años del 25% (referencia), un riesgo relativo de 1.5 o superior y una frecuencia estimada del alelo menor en los casos de 0.17 o superior según nuestros datos, el poder estadístico es ligeramente inferior a 0.7, si bien es superior a 0.8 en aquellas variantes con una frecuencia de alelo menor superior a 0.3.

3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Previo al análisis estadístico, se informatizaron los datos y se depuraron, con el fin de eliminar errores y detectar valores extremos.

Dentro del análisis estadístico diferenciamos entre el análisis general y el análisis genético. Se incluye también un apartado con el análisis funcional de los SNPs.

3.9.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO GENERAL

Para las variables cuantitativas, se calculó la media y la desviación típica comprobándose la normalidad de las variables mediante el histograma y la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las variables cualitativas se expresaron en número entero y porcentaje.

El estudio de las diferencias entre variables cuantitativas se realizó mediante la prueba t-Student para comparar medias de dos grupos independientes (previa

la determinación de la homogeneidad de las varianzas mediante el test de Levene), y el test de ANOVA para la comparación de medias de más de dos grupos. Para la comparación de las variables cualitativas se utilizó el Chi-cuadrado.

Aunque se tuvo en cuenta la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples, dado que se trata de un estudio en genes candidatos, se consideró que las diferencias halladas eran estadísticamente significativas cuando el p-valor era menor de 0.05.

3.9.2. ANÁLISIS FUNCIONAL DE LOS POLIMORFISMOS

De los SNPs conocidos, describimos el cromosoma, el gen, la posición y la región donde se encuentran así como el alelo menor y la frecuencia del mismo. En cuanto a los nuevos SNPs no descritos y hallados al realizar el análisis de los genes, indicamos el cromosoma, el gen, la posición y el cambio que condicionan, bien cambio de aminoácido en la proteína o bien splicing [escisión de los intrones o región no codificadora del transcripto de ácido ribonucleico (ARN) mensajero primario y los exones]. La versión del genoma usado fue la Gch38.

Se consultó la página web SNPnexus (<https://www.snp-nexus.org>)(380) para analizar e interpretar las consecuencias funcionales de las variantes descritas.

Los posibles efectos fueron:

- Intron (intrón): región no codificante y que no forma parte del ARNm maduro.
- Upstream (aguas arriba): marca la dirección de la síntesis y la traducción de ARNm desde el extremo 3' hasta el extremo 5'.
- Missense (mutación con cambio de sentido, de sentido erróneo o contrasentido): mutación puntual no sinónima en la cual se produce un cambio de un único nucleótido provocando la aparición de un codón que codifica para un aminoácido diferente.
- Downstream (aguas abajo): marca la dirección de la síntesis y la traducción de ARNm desde el extremo 5' hasta el extremo 3'.
- Tf binding site (sitios de unión a factores de transcripción): regiones que modulan la expresión génica al unirse a regiones promotoras de genes o a regiones distales denominadas potenciadores.

- Regulatory región variant (Región reguladora): segmento de ADN donde las proteínas de unión al ADN, tales como los factores de transcripción, se ligan preferentemente.
- Non coding transcript variant (variante no codificante): ARN que no se traduce en una proteína. Incluyen ARN de transferencia, ARN ribosomal y microRNAs.
- Non coding transcript variant exon (variante de exón de transcripción no codificante): variante de secuencia que cambia la secuencia del exón no codificante en una transcripción no codificante.
- Synonymous (sinónima): sustitución evolutiva de una base por otra en un exón de un gen que codifica una proteína, de modo que la secuencia de aminoácidos producida no se modifica.
- 3 prime UTR (tres regiones principales no traducidas): sección del ARNm que sigue inmediatamente al codón de terminación de la traducción. El 3'-UTR a menudo contiene regiones reguladoras que influyen en la expresión génica postranscripcional.

La asociación de las variantes con fenotipos clínicos así como los estudios de asociación de genoma completo en los que han sido testados, se analizó también por SNPnexus (<https://www.snp-nexus.org>)(380).

Para finalizar la caracterización de nuestros SNPs, estudiamos las vías metabólicas en las que participaban y consultamos la base de datos reactoma (<https://reactome.org>)(381), base de datos online de vías y procesos biológicos.

3.9.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO GENÉTICO

Para el análisis estadístico genético, aunque se utilizó el modelo aditivo como el de referencia, también se consideraron otros modelos como el recesivo y el dominante.

Se excluyeron aquellos individuos que tenían una tasa de genotipado menor del 90% y aquellos polimorfismos con una tasa baja de genotipado (menor del 90%).

Se calculó si los diferentes polimorfismos estudiados se encontraban en

equilibrio de Hardy-Weinberg para evitar errores en la interpretación de los resultados.

En el caso de polimorfismos situados en regiones cromosómicas próximas, se calculó el LD. En nuestro estudio, se excluyeron aquellos polimorfismos con alto LD y por tanto colinealidad.

3.9.3.1. ASOCIACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS CON EL FENOTIPO

Calculamos las frecuencias del alelo menor de cada SNP para los diferentes grupos fenotípicos es decir, grupo 1 ó trombofilia hereditaria, grupo 2 ó antifosfolípido y grupo 3 ó sin trombofilia hereditaria ni antifosfolípidos. Posteriormente analizamos si habían diferencias, para cada SNP, entre cada grupo con respecto a los otros 2 utilizando la prueba estadística Chi cuadrado.

La magnitud de asociación entre el alelo menor y cada uno de los fenotipos se valoró mediante la OR estimada y los IC.

3.9.3.2. ASOCIACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS CON RECIDIVA

Se utilizó la regresión logística para evaluar el efecto de cada SNP en la probabilidad de recidiva ajustándose por aquellas variables que se consideraron clínicamente significativas (edad, sexo, fenotipo, IMC cuantitativo, tiempo de anticoagulación cuantitativo y localización de trombosis).

Para detectar si existía alguna relación entre el riesgo de que se produjera la recidiva en un momento dado y la presencia de un determinado SNP, se utilizó la regresión de Cox. Se ajustó también por las variables explicativas e independientes, previamente descritas y consideradas como clínicamente significativas (edad, sexo, fenotipo, IMC cuantitativo, tiempo de anticoagulación cuantitativo y localización de trombosis).

3.9.3.3. ASOCIACIÓN DE LOS HAPLOTIPOS CON RECIDIVA

Tras los análisis realizados con los SNPs de manera individual, se estudiaron los haplotipos teniendo en cuenta los principales SNPs asociados en el análisis individual.

Se utilizó un enfoque de asociación proxy que implica:

- Hallar marcadores de flanqueo y haplotipos que estén en fuerte desequilibrio de vinculación con el SNP de referencia y,
- Probar la asociación con recidiva de estos haplotipos o proxies.

De esta manera conseguimos validar técnicamente los resultados del estudio de los SNP de manera individual al obtener haplotipos que mostraran resultados similares.

El estadístico D' (definidos como la medida del desequilibrio del enlace, D , dividido por el máximo teórico para las frecuencias alélicas observadas) se utilizó para medir el LD. Las frecuencias de los haplotipos se estimaron mediante el algoritmo de maximización de expectativas.

3.9.3.4. “SCORE” DE RIESGO GENÉTICO

Se analizaron los 2 tipos de “score” que se detallan a continuación:

- **“Score” ponderado:** se calcula el logaritmo de la OR de la regresión logística ajustada obteniéndose un valor de “score” para cada polimorfismo. Para obtener el “score” asignado a cada individuo, se multiplica el número de alelos de riesgo (0, 1 ó 2) que posee este individuo del polimorfismo estudiado por el “score” de ese polimorfismo y se divide por el número total de polimorfismos estudiados en dicho individuo. De esta manera se obtiene un valor ponderado de “score” para cada individuo. El “score” se desarrolló utilizando la mitad aleatoria de la población (“training sample”) y posteriormente se testó en la otra mitad (“test sample”). Debido al pequeño tamaño muestral y tratarse de un estudio en genes candidatos, se decidió utilizar finalmente, este test en toda la población.
- **“Score” por número de alelos:** se basa en un conteo simple del número de alelos de riesgo de cada individuo. Cada alelo recibe un valor de 1.

Según los valores de “score” ponderado o por número de alelos respectivamente, dividimos a la población en tertiles y analizamos las diferencias en cuanto al porcentaje de recidivas mediante el Chi-Cuadrado. También investigamos las tendencias entre grupos con la prueba Chi-cuadrado tendencia (test no paramétrico).

Tesis doctoral

Estos estudios se realizaron tanto en el total de la población de estudio dividida en tertiles, como en cada uno de los grupos fenotípicos definidos previamente.

Se consideró que las diferencias halladas eran estadísticamente significativas cuando el p-valor era menor o igual a 0.05.

3.9.3.4.1. CAPACIDAD PREDICTIVA DEL “SCORE”

Con el fin de averiguar si los “scores” propuestos en este trabajo son útiles para predecir la recidiva y ayudar a la toma de decisiones clínicas, calculamos las curvas ROC (“Receiver Operating Characteristic”) y el área bajo la curva (AUC).

3.9.3.4.2. RIESGO DE RECIDIVA EN FUNCIÓN DEL “SCORE”

Se calcularon las curvas de supervivencia basadas en el modelo de Cox ajustado por las variables comentadas previamente. Se obtuvieron las curvas de cada “score” propuesto, estudiando las diferencias que existían entre los tertiles de población obtenidos según el valor del “score”.

Se analizó la capacidad predictiva del “score” al tener en cuenta la variable tiempo, con el estadístico C de Harrell o índice de concordancia C.

El análisis descrito, se realizó con el paquete estadístico SPSS, versión 28 para Mac (Statistical Package for the Social Sciences, International Business Machines, Inc., Armonk, New York, USA) y el programa STATA/MP 14.2 (Stata Corp, 4905 Lakeway Drive, College Station, Texas, 77845, EEUU).

Las pruebas de asociación de los SNPs de manera individual, se realizaron con el programa de uso libre PLINK (Purcell S et al, 2007)(<http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/>) en su versión v1.07. El programa se complementó con la aplicación R (<https://www.r-project.org/>), paquete survival (plinkCoxSurv), para la realización de la regresión de Cox.

Los haplotipos se calcularon utilizando Haploview versión 4.1(382).

3.10. ASPECTOS ÉTICOS

Este trabajo ha sido aprobado por el Comité Científico Interno de la Fundación de Investigación del Hospital Clínico Universitario de Valencia – Instituto de Investigación Sanitaria INCLIVA (31/07/2017) así como por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínico Universitario de Valencia (07/09/2017).

Todos los participantes en el estudio firmaron, previa a la inclusión en el mismo, el Consentimiento informado para la donación voluntaria de muestras biológicas para investigación obtenidas en el curso de procedimientos quirúrgicos, terapéuticos o diagnósticos Biobanco INCLIVA.

Con el fin de desvincular los datos de interés con los datos personales, previo al análisis estadístico, se procedió a la seudonimización de los pacientes asignándoles un código a cada uno de ellos.

3.11. FINANCIACIÓN

Este proyecto de investigación no ha requerido de financiación externa. Los datos obtenidos en la exploración física, la determinación de las medidas antropométricas así como la analítica sanguínea básica con función renal y perfil lipídico se obtuvieron dentro de la práctica clínica habitual realizada en la Consulta Monográfica de Enfermedad Tromboembólica del S. De Medicina Interna del Hospital Clínico de Valencia. Todo el instrumental utilizado es propiedad del Hospital Clínico Universitario de Valencia.

El análisis genético fue financiado por los propios fondos de investigación del grupo de investigación de la Consulta Monográfica de Enfermedad Tromboembólica del S. de Medicina Interna del Hospital Clínico de Valencia.

4. RESULTADOS

4.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN

4.1.1. CARACTERÍSTICAS EN FUNCIÓN DE LA RECIDIVA

Se incluyeron en el estudio 330 pacientes con diagnóstico de trombosis venosa profunda [edad media de 35.8 ± 8.9 años, 149 (45.2%) mujeres]. Setenta y dos pacientes tuvieron al menos una recidiva durante el periodo de seguimiento, lo que supone una incidencia de recurrencia de 41.2 por 1000 personas-año. Las principales características de la población de estudio, según la presencia o no de recidiva, se muestran en la **tabla 4**.

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes que recidivaron frente a los que no en cuanto a edad y sexo.

En cuanto a la presencia de factores de riesgo cardiovascular, un 5.2% eran hipertensos, 3.3% diabéticos y 7.9% dislipémicos, sin diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con o sin recidiva. Tampoco hubieron diferencias significativas en cuanto al IMC ni al porcentaje de obesos.

La forma más frecuente de presentación fue como TVP de miembros inferiores (294, 89.1%), fundamentalmente proximal (268, 81.2%). En 100 (30.3%) pacientes coexistía TEP en el momento del diagnóstico. Estos datos fueron similares en ambos grupos de estudio.

En 82 pacientes (24.8%) se constató la presencia de TH, en 34 (10.3%) AAFL y en más de la mitad de los pacientes (179, 54.2%) no se hallaron datos de TH ni presencia de AAFL. No se hallaron diferencias, estadísticamente significativas de los distintos fenotipos entre el grupo de recidiva frente al que no.

Al analizar el tipo de tratamiento, observamos que 146 (44.2%) pacientes recibieron tratamiento 6 ± 3 meses mientras que 168 (50.9%) lo hicieron de manera indefinida, siendo más frecuente el tratamiento indefinido en el grupo de pacientes con recidiva frente al que no (61.1% frente a 48.1 respectivamente, p -valor < 0.05). También encontramos diferencias, estadísticamente significativas, en cuanto al tiempo de seguimiento que fue superior en los pacientes que presentaron recidiva, tanto la media (106.3 ± 73.8 frente a 52.5 ± 52.7 , p -valor < 0.001) como la mediana (37.5 ± 52.7 frente a 104 ± 73.8 , p -valor < 0.001).

Tabla 4. Características de la población en función de la recurrencia.

	Todos (n=330)	Recidiva SI (n=72)	Recidiva NO (n=258)	p-valor
Edad	35.8 ± 8.9	35.6 ± 9.7	35.9 ± 8.8	0.79
Sexo masculino	181 (54.8)	41 (56.9)	140 (54.3)	0.69
IMC	26.6 ± 5.1	26.9 ± 5.1	26.5 ± 5.2	0.54
HTA	17 (5.2)	4 (5.6)	13 (5)	0.86
DM	11 (3.3)	1 (1.4)	10 (3.9)	0.50
DL	26 (7.9)	6 (8.3)	20 (7.8)	0.86
Características per episodio				
TVP MMII	294 (89.1)	67 (93.1)	227 (88)	0.22
TVP MMII proximal	268 (81.2)	64 (88.9)	204 (79.1)	0.14
TVP MMSS	21 (6.4)	3 (4.2)	18 (7)	0.39
TEP + TVP	100 (30.3)	27 (37.5)	73 (28.3)	0.13
TEP	12 (3.6)	2 (2.8)	10 (3.9)	0.66
TH	82 (24.8)	23 (31.9)	59 (22.9)	0.20
AAFL	34 (10.3)	10 (13.9)	24 (9.3)	0.15
No TC no AAFL	179 (54.2)	36 (50)	143 (55.4)	0.10
Tratamiento				
6±3 meses	146 (44.2)	24 (33.3)	122 (47.3)	<0.05
Indefinido	168 (50.9)	44 (61.1)	124 (48.1)	<0.05
Media meses seguimiento	64.2 ± 61.9	106.3 ± 73.8	52.5 ± 52.7	<0.001
Mediana meses seguimiento	43.5 ± 61.9	104 ± 73.8	37.5 ± 52.7	<0.001

Resultados expresados en media ± desviación estándar o número absoluto y porcentaje.

IMC: índice de masa corporal. Obesidad: $IMC \geq 30$ Kg/m². HTA: hipertensión arterial. DM: diabetes mellitus. DL: dislipemia. TVP MMII: trombosis venosa profunda de miembros inferiores. TVP MMSS: trombosis venosa profunda miembros superiores. TEP: tromboembolismo pulmonar. TH: trombofilia hereditaria. AAFL: anticuerpos antifosfolípidos.

En relación a los parámetros de la analítica basal analizados en la población de estudio, se aprecian diferencias estadísticamente significativas en los valores de leucocitos, plaquetas y proteínas totales que fueron más elevados en el grupo de recidiva mientras que la glucemia basal fue significativamente inferior en este grupo respecto al otro (Tabla 5).

Tabla 5. Parámetros analíticos basales de la población según la recurrencia.

	Todos (n=330)	Recidiva SI (n=72)	Recidiva NO (n=258)	p-valor
Hematies [x10 ¹² /L]	4.4 ± 7.1	4.4 ± 6.2	4.4 ± 7.32	0.43
Leucocitos [x10 ⁹ /L]	11.1 ± 10.4	13.3 ± 15.9	10.5 ± 8.21	<0.01
Plaquetas [x10 ⁹ /L]	247.10 ± 99.1	252.7 ± 179.7	245.5 ± 96.1	<0.05
Fibrinógeno [g/L]	8 ± 48	5.1 ± 1.8	8.8 ± 54.7	0.39
Dímero D [ng/ml]	1469.3 ± 3266.9	1300.9 ± 1985.1	1512.4 ± 3524.6	0.59
Glucosa [mg/dl]	102.42 ± 37	97.19 ± 23.7	103.8 ± 39.8	0.05
Urea [mg/dl]	30.36 ± 10.8	31.72 ± 11.8	29.9 ± 10.5	0.37
Creatinina [mg/dl]	0.8 ± 0.3	0.9 ± 0.3	0.9 ± 0.3	0.53
Colestero total [mg/dl]	194.1 ± 44.6	190.3 ± 46.2	195.2 ± 44.2	0.49
HDL colestero [mg/dl]	49.33 ± 24.7	47.96 ± 24.5	49.7 ± 24.8	0.85
LDL colestero [mg/dl]	123.3 ± 36.5	126.9 ± 37.6	122.3 ± 36.2	0.72
Triglicéridos [mg/dl]	139.9 ± 78.4	138.9 ± 72.5	140.2 ± 80.1	0.76
Proteínas totales [g/dl]	7.3 ± 4.2	8.5 ± 9.5	7 ± 0.6	<0.001
VSG [mm/hora]	31.7 ± 27.1	35 ± 30.3	30.7 ± 26	0.22
PCR [mg/L]	44.6 ± 66	42.4 ± 55.1	45.2 ± 68.9	0.34
Homocisteína [mmol/L]	13.3 ± 9.2	12.9 ± 6.8	13.4 ± 9.8	0.57

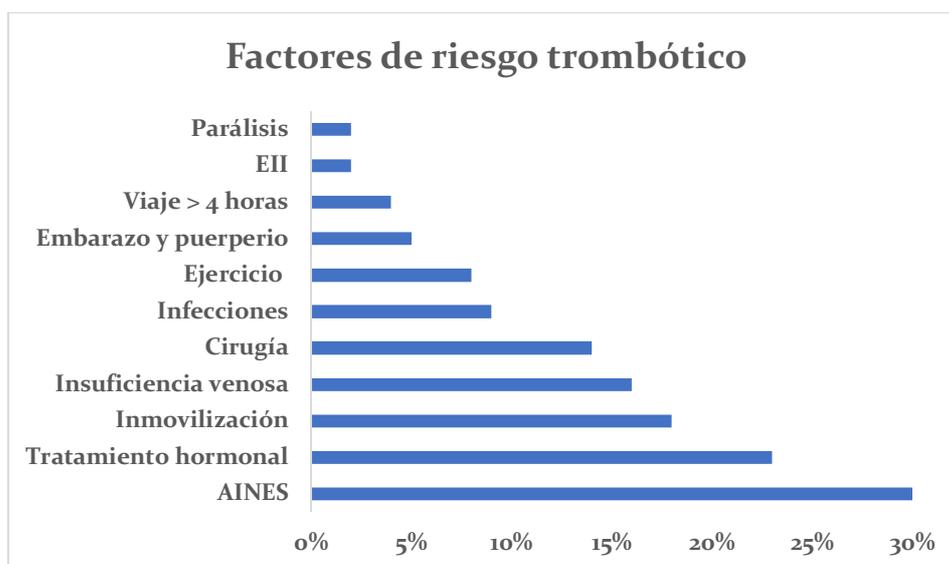
Resultados expresados en media ± desviación estándar.

VSG: velocidad de sedimentación globular. PCR: Proteína C reactiva.

En el siguiente gráfico (Figura 41) presentamos una relación de los factores de riesgo trombótico que presentaron nuestros pacientes en orden de frecuencia creciente.

Los más frecuentes en nuestra población fueron los AINES, el tratamiento hormonal y la inmovilización.

Figura 41. Porcentaje de factores de riesgo adquiridos en la población.



EII: enfermedad inflamatoria intestinal. AINES: antiinflamatorios no esteroideos.

No se objetivaron diferencias estadísticamente significativas, en la distribución de los factores de riesgo entre el grupo de pacientes que recidivaron frente al que no lo hizo (**Tabla 6**).

Tabla 6. Factores de riesgo adquiridos en función de la recurrencia.

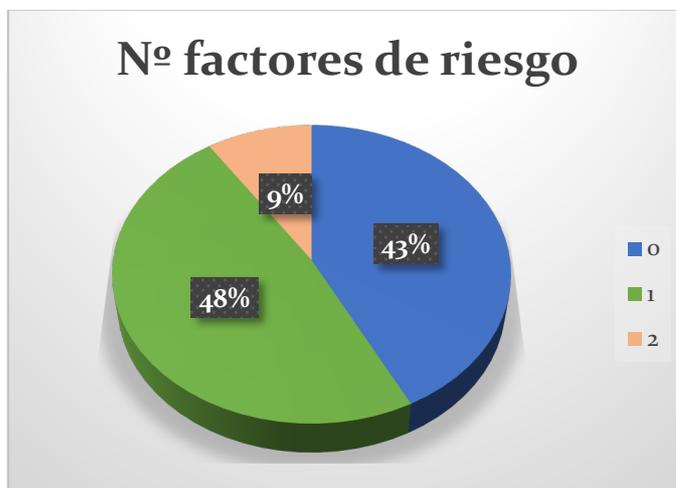
	Todos (n=330)	Recidiva SI (n=72)	Recidiva NO (n=258)	p-valor
Parálisis	5 (1.5)	2 (2.8)	3 (1.2)	0.32
EII	7 (2.1)	1 (1.4)	6 (2.3)	0.63
Viaje > 4 horas	14 (4.2)	1 (1.4)	13 (5)	0.17
Embarazo y puerperio	17 (5.2)	4 (5.6)	13 (5)	0.86
Ejercicio	27 (8.2)	6 (8.3)	21 (8.1)	0.96
Infecciones	28 (8.5)	7 (9.7)	21 (8.1)	0.67
Cirugía	45 (13.6)	10 (13.9)	35 (13.6)	0.94
Insuficiencia venosa	52 (15.8)	12 (16.7)	40 (15.5)	0.81
Inmovilización	58 (17.6)	10 (13.9)	48 (18.6)	0.35
Tratamiento hormonal	77 (23.3)	16 (22.8)	61 (23.6)	0.80
AINES	98 (29.7)	21 (29.2)	77 (29.8)	0.91

Resultados expresados en media ± desviación estándar o número absoluto y porcentaje.
EII: enfermedad inflamatoria intestinal. AINES: antiinflamatorios no esteroideos.

A continuación, se presenta el número de factores de riesgo que presentó cada paciente de manera simultánea (**Figura 42**).

Al contrario de lo que cabría esperar, la mayor parte de ellos presentaba únicamente 1 factor de riesgo o eran trombosis no provocadas. En menos del 10% de la muestra se presentaban 2 factores de riesgo asociados. No hubo diferencias entre pacientes con recidiva o sin ella.

Figura 42. Número de factores de riesgo asociados en cada paciente.

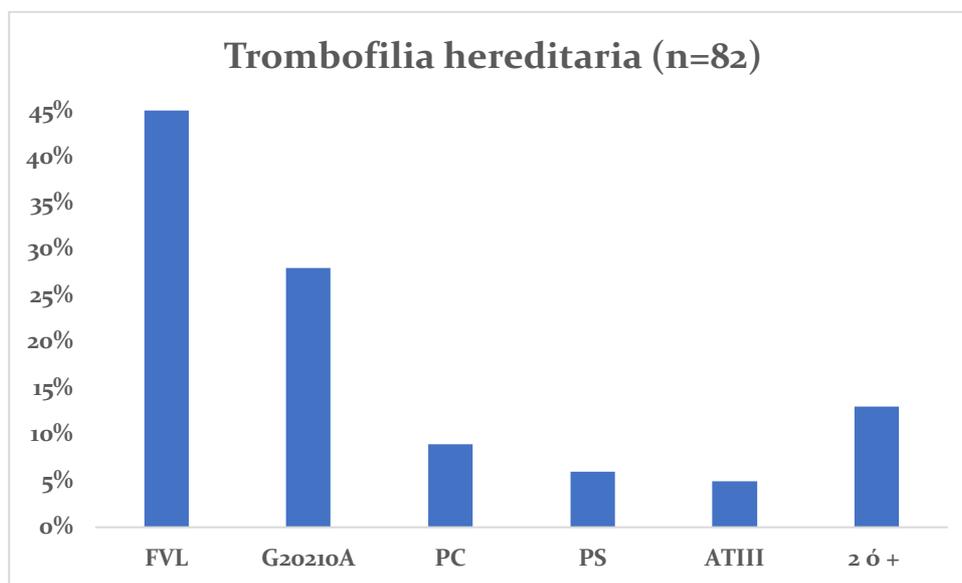


4.1.2. CARACTERÍSTICAS SEGÚN FENOTIPO CLÍNICO

Al agrupar a los pacientes en función de su fenotipo, observamos una incidencia de recurrencia de 4.31, 1.74 y 4.77 por 1000 personas-año para los pacientes con TH (fenotipo 1), AAFL (fenotipo 2) y sin TH ni AAFL (fenotipo 3), respectivamente.

En el grupo de pacientes con fenotipo 1, la distribución de las distintas variantes de trombofilia hereditaria clásica se observa en la **figura 43**.

Figura 43. Distribución de trombofilia hereditaria clásica en la población.



FVL: factor V Leiden. G20210A: mutación del factor II. PC: déficit de proteína C. PS: déficit de proteína S. ATIII: antitrombina.

Analizamos las características basales de los pacientes según el fenotipo y observamos diferencias significativas en la edad que fue significativamente mayor en el fenotipo 3 (33.6 ± 9.4 , 33.8 ± 9.7 y 36.6 ± 8.5 , para los fenotipos 1, 2 y 3, respectivamente).

No observamos diferencias significativas en cuanto al sexo.

Las principales características de la población, según el fenotipo, se muestran en la **tabla 7**.

No hubo diferencias significativas en cuanto al IMC, la presencia de obesidad, HTA, DM o DL entre los 3 grupos analizados.

Nuevamente la forma más frecuente de presentación fue como TVP MMII proximal, sin diferencias significativas entre los grupos. Alrededor de un 30% de pacientes en cada grupo debutó como TVP y TEP.

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos en cuanto al porcentaje de recidiva pero sí en cuanto al tipo de tratamiento y la media de seguimiento, siendo más frecuente el tratamiento indefinido y mayor la media de seguimiento en los pacientes con AAFL.

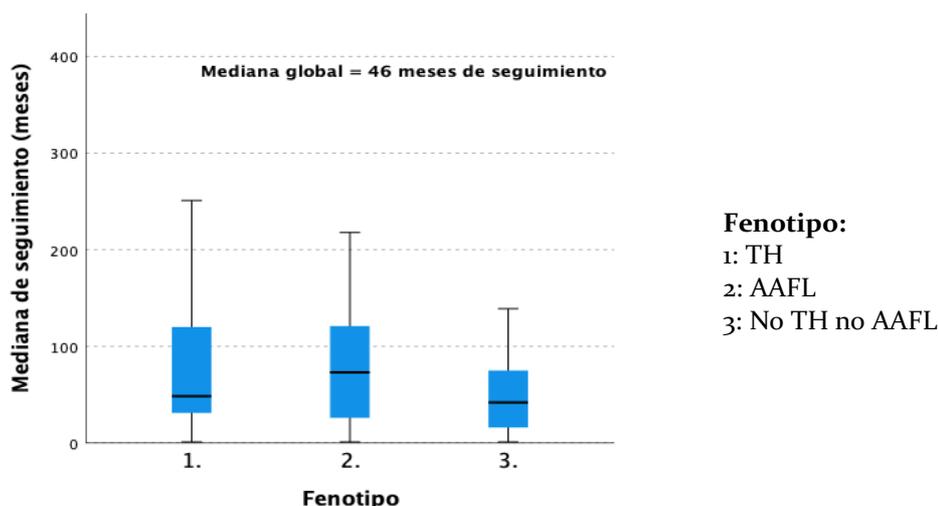
Al analizar las medianas no observamos diferencias significativas entre los 3 grupos en cuanto al tiempo de seguimiento, aunque sí para la mediana de seguimiento del grupo fenotípico 3 (no trombofilia hereditaria no AAFL) y el grupo fenotípico 2 (AAFL) (p-valor = 0.05) (**Figura 44**).

Tabla 7. Características de la población según el fenotipo clínico.

	TH (n=82)	AAFL (n=34)	No TH No AAFL (n=179)	p-valor
Edad	33.6 ± 9.4	33.8 ± 9.7	36.6 ± 8.5	<0.01
Sexo masculino	45 (54.9)	13 (38.2)	99 (53.3)	0.18
IMC	26.3 ± 4.9	27.9 ± 5.9	26.1 ± 4.8	0.17
Obesidad	9 (20)	8 (38.1)	20 (18.52)	0.13
HTA	3 (3.7)	4 (11.8)	8 (4.5)	0.17
DM	3 (3.7)	2 (5.9)	3 (1.7)	0.32
DL	6 (7.3)	2 (5.9)	13 (7.3)	0.96
Características 1er episodio				
TVP MMII	75 (91.5)	31 (91.2)	157 (87.7)	0.61
TVP MMII proximal	67 (90.5)	29 (93.5)	145 (92.9)	0.79
TVP MMSS	4 (4.9)	0 (0)	15 (8.4)	0.14
TEP + TVP	24 (29.3)	10 (29.4)	55 (30.7)	0.97
TEP	1 (1.2)	3 (8.8)	7 (3.9)	0.14
Recidiva	23 (28)	10 (29.4)	36 (20.1)	0.25
Tratamiento				
6±3 meses	33 (43.4)	8 (24.2)	87 (50.6)	<0.01
Indefinido	43 (56.6)	25 (75.8)	85 (49.4)	<0.01
Media meses seguimiento	78.4 ± 65.7	87.1 ± 67.1	57.2 ± 58.3	0.05
Mediana meses de seguimiento	48.5 ± 65.7	73 ± 67.1	42 ± 58.3	0.082

Resultados expresados en media ± desviación estándar o número absoluto y porcentaje.
 TH: trombofilia hereditaria. AAFL: anticuerpos antifosfolípidos. IMC: índice de masa corporal.
 Obesidad: IMC ≥ 30 Kg/m². HTA: hipertensión arterial. DM: diabetes Mellitus. DL: dislipemia. TVP MMII: trombosis venosa profunda miembros inferiores. TVP MMSS: trombosis venosa profunda miembros superiores. TEP: tromboembolismo pulmonar.

Figura 44. Mediana de seguimiento en los distintos grupos fenotípicos.



Cuando se analizaron los parámetros analíticos en los distintos grupos fenotípicos, se observaron diferencias estadísticamente significativas en los valores de fibrinógeno y otros parámetros inflamatorios, incluyendo la PCR y la VSG. Estos parámetros estaban significativamente más elevados en el grupo de AAFL (Tabla 8).

Tabla 8. Parámetros analíticos en los distintos grupos fenotípicos.

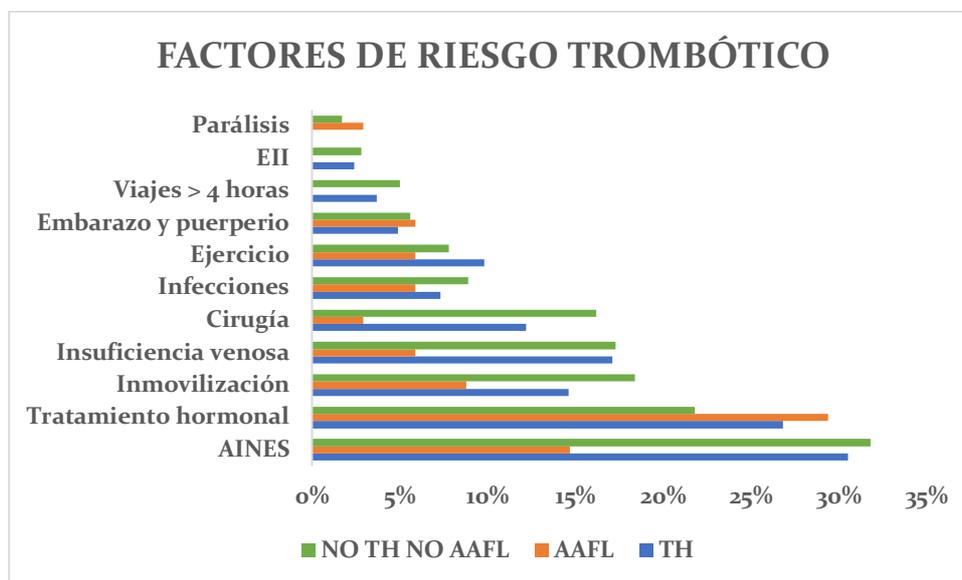
	TH (n=82)	AAFL (n=34)	No TH No AAFL (n=179)	p-valor
Hematías [x10 ^{e12} /L]	4.4 ± 7.4	4.4 ± 6	4.4 ± 6.7	0.9
Leucocitos [x10 ^{e9} /L]	9.8 ± 5.4	14.1 ± 18.8	11.2 ± 10.2	0.15
Plaquetas [x10 ^{e9} /L]	257.8 ± 130.9	210.4 ± 84.1	248.7 ± 85.2	0.06
Fibrinógeno [g/L]	4.3 ± 1.8	5.8 ± 2.2	4.8 ± 1.6	<0.01
Dímero D [ng/ml]	1499.8 ± 4646.9	1020.1 ± 1395.7	1534.2 ± 3032.6	0.83
Glucosa [mg/dl]	101.2 ± 34.7	104.9 ± 40.8	99.5 ± 27.4	0.64
Urea [mg/dl]	29.7 ± 9.4	30.3 ± 8.3	29.6 ± 9.1	0.92
Creatinina [mg/dl]	0.8 ± 0.2	0.9 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.8
Colestero total [mg/dl]	186.9 ± 39.7	190.6 ± 47.3	196.4 ± 45.5	0.28
HDL colesterol [mg/dl]	50.9 ± 29.2	48.1 ± 13.1	50 ± 25.9	0.89
LDL colesterol [mg/dl]	119.3 ± 31.6	120.2 ± 39.2	125.2 ± 37.1	0.5
Triglicéridos [mg/dl]	124 ± 64.7	150.4 ± 66.6	136.9 ± 70.5	0.15
Proteínas totales [g/dl]	7 ± 0.6	7.1 ± 0.6	7.5 ± 5.7	0.78
VSG [mm/hora]	26.2 ± 24.9	47.5 ± 33.2	30.1 ± 25.5	<0.001
PCR [mg/L]	30.8 ± 45.3	77.1 ± 102.8	42.1 ± 54.8	<0.05
Homocisteína [mmol/L]	12.6 ± 8	12.4 ± 5.6	13.4 ± 10.1	0.76

Resultados expresados en media ± desviación estándar.

TH: trombofilia hereditaria. AAFL: anticuerpos antifosfolípidos. VSG: velocidad de sedimentación globular. PCR: Proteína C reactiva.

La distribución de los factores de riesgo trombótico en los tres grupos fenotípicos fue bastante similar, sin diferencias estadísticamente significativas (Figura 45 y Tabla 9).

Figura 45. Porcentaje de factores de riesgo trombótico según fenotipo.



TH: trombofilia hereditaria. AAFL: anticuerpos antifosfolípidos. EII: enfermedad inflamatoria intestinal. AINES: antiinflamatorios no esteroideos.

Tabla 9. Factores de riesgo adquiridos según fenotipo.

	TH (n=82)	AAFL (n=34)	No TH No AAFL (n=179)	p-valor
Parálisis	0 (0)	1 (2.9)	3 (1.7)	0.39
EII	2 (2.4)	0 (0)	5 (2.8)	0.62
Viaje >4 horas	3 (3.7)	0 (0)	9 (5)	0.39
Embarazo y puerperio	4 (4.9)	2 (5.9)	10 (5.6)	0.97
Ejercicio	8 (9.8)	2 (5.9)	14 (7.8)	0.76
Infecciones	6 (7.3)	2 (5.9)	16 (8.9)	0.79
Cirugía	10 (12.2)	1 (2.9)	29 (16.2)	0.11
Insuficiencia venosa	14 (17.1)	2 (5.9)	31 (17.3)	0.24
Inmovilización	12 (14.6)	3 (8.8)	33 (18.4)	0.34
Tratamiento hormonal	22 (26.8)	10 (29.4)	39 (21.8)	0.50
AINES	25 (30.5)	5 (14.7)	57 (31.8)	0.13

Resultados expresados en media ± desviación estándar o número absoluto y porcentaje. TH: trombofilia hereditaria. AAFL: anticuerpos antifosfolípidos. EII: enfermedad inflamatoria intestinal. AINES: antiinflamatorios no esteroideos.

Decidimos profundizar en las diferencias entre los grupos fenotípicos. En particular, en las diferencias existentes entre el grupo fenotípico 2 (AAFL) y los otros 2 grupos, al tratarse de pacientes con más tiempo de seguimiento y de tratamiento.

Resultados

Observamos que en 18 (52.9%) pacientes se trataba de un síndrome antifosfolípido primario mientras que, en el resto, la presencia de AAFL se asociaba a otra conectivopatía, fundamentalmente LES, 70%, seguido de artritis reumatoide (AR), 30%.

En este grupo fenotípico existían más mujeres (21, 61.8%) que en resto de los grupos (37, 45.1% en el grupo 1 y 80, 46.7% en el grupo 3) aunque sin diferencias estadísticamente significativas.

Cuando investigamos acerca de los factores de riesgo cardiovascular tales como obesidad, HTA, DM y DL, a pesar de que en el grupo fenotípico 2 existían más casos en porcentaje, estas diferencias no alcanzaron la significación estadística.

En cuanto a los factores de riesgo trombótico, la presencia de toma de AINES o cirugía fue significativamente menor en el grupo de AAFL que en el fenotipo 3.

La manera de presentación clínica de este grupo también fue bastante similar a los otros dos. Sólo encontramos diferencias estadísticamente significativas con el grupo de TH cuando el debut fue como TEP, siendo más frecuente esta presentación en el grupo de AAFL (8.8% frente a 1.2%, p-valor < 0.05).

Como era de esperar, el tratamiento indefinido fue, de manera estadísticamente significativa, más frecuente que en los otros grupos fenotípicos.

Al analizar el tiempo de seguimiento, la media y la mediana de seguimiento, fue significativamente mayor en el grupo de AAFL respecto al fenotipo 3.

Para finalizar, al igual que ocurría cuando comparamos los 3 grupos de manera conjunta, tampoco encontramos diferencias significativas en el porcentaje de recidiva cuando comparamos a los grupos de manera independiente.

Al comparar el fenotipo 1 con el 3, sólo hallamos diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la media de seguimiento que fue mayor en los pacientes con TH.

4.2. CARACTERÍSTICAS DE LOS POLIMORFISMOS

Al analizar los exones, regiones intrónicas contiguas y regiones promotoras de los 10 genes secuenciados (*F2*, *CYP4V2*, *F5*, *F11*, *FGA*, *FGG*, *FGB GP6*, *SERPINC1* y *PAI1*) obtuvimos 29 polimorfismos, 25 ya descritos en estudios previos y 4 nuevas variantes no descritas previamente en la población. De éstas, se asumió una frecuencia inferior al 0.05% dado que en muchos casos se incluyen datos del proyecto 1000 genomas y estudios de más de 2000 muestras. En base al tamaño muestral del proyecto y la incidencia de enfermedad tromboembólica, consideramos un incremento de 5 veces en la frecuencia y un efecto funcional relevante in silico, suficiente como para considerar la variante como potencialmente causante.

En la **tabla 10** se presentan las principales características de los polimorfismos ya conocidos y en la **tabla 11** de los polimorfismos no descritos previamente.

Tabla 10. Principales características de los polimorfismos ya descritos previamente.

SNP	Cromosoma	Gen	Posición	Región	AM	FAM
<i>rs4525</i>	1	<i>F5</i>	169542496	q24.2	C	0.263
<i>rs4524</i>	1	<i>F5</i>	169542517	q24.2	C	0.267
<i>rs6025</i>	1	<i>F5</i>	169549811	q24.2	T	0.006
<i>rs6020</i>	1	<i>F5</i>	169549874	q24.2	T	0.264
<i>rs2227589</i>	1	<i>SERPINC1</i>	173917078	q25.1	T	0.129
<i>rs3136520</i>	11	<i>F2</i>	46721682	p11.2	T	0.052
<i>rs3136441</i>	11	<i>F2</i>	46721697	p11.2	C	0.219
<i>rs183293976</i>	11	<i>F2</i>	46721720	p11.2	C	0.002
<i>rs3136532</i>	11	<i>F2</i>	46739363	p11.2	T	0.001
<i>rs1799963</i>	11	<i>F2</i>	46739505	p11.2	A	0.004
<i>rs1613662</i>	19	<i>GP6</i>	55025227	q13.42	G	0.157
<i>rs79287667</i>	19	<i>GP6</i>	55025316	q13.42	T	0.006
<i>rs1800788</i>	4	<i>FGB</i>	154562762	q31.3	T	0.229
<i>rs1800787</i>	4	<i>FGB</i>	154562863	q31.3	T	0.161
<i>rs6050</i>	4	<i>FGA</i>	154586438	q31.3	C	0.327
<i>rs2070006</i>	4	<i>FGA</i>	154592714	q31.3	T	0.449
<i>rs2070023</i>	4	<i>FGA</i>	154592747	q31.3	A	0.022
<i>rs2066854</i>	4	<i>FGG</i>	154614029	q31.3	A	0.289
<i>rs201376968</i>	4	<i>F11</i>	186266980-186266987	q35.2		
<i>rs35709976</i>	4	<i>F11</i>	186266987	q35.2		0.116
<i>rs3822057</i>	4	<i>F11</i>	186266998	q35.2	A	0.462
<i>rs2036914</i>	4	<i>F11</i>	186271327	q35.2	T	0.394
<i>rs2289251</i>	4	<i>F11</i>	186286200	q35.2	T	0.089
<i>rs2289252</i>	4	<i>F11</i>	186286227	q35.2	T	0.319
<i>rs1799768</i>	7	<i>SERPINE1</i>	101126425	q22.1		0.432

SNP: polimorfismo de un solo nucleótido. AM: alelo menor. FAM: frecuencia alelo menor. *F5*: gen del factor V de la coagulación. *SERPINC1*: gen serpin familia C miembro 1. *F2*: gen del factor II de la coagulación. *GP6*: gen de la glicoproteína VI plaquetar. *FGB*: gen de la cadena beta del fibrinógeno. *FGA*: gen de la cadena alfa del fibrinógeno. *FGG*: gen de la cadena gamma del fibrinógeno. *F11*: gen del factor XI de la coagulación. *SERPINE1*: gen serpin familia E miembro 1.

Tabla 11. Principales características de los polimorfismos no descritos previamente.

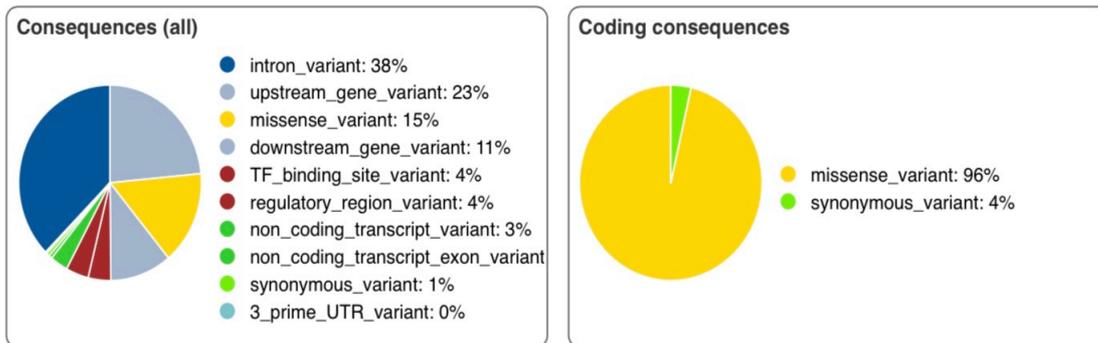
SNP	Cromosoma	Gen	Posición	Cambio
<i>rs1799768_1</i>	7	<i>SERPINE1</i>	101126381	C/T
<i>rs1799768_2</i>	7	<i>SERPINE1</i>	101126389	I/D
<i>rs1799768_3</i>	7	<i>SERPINE1</i>	101126429	C/T
<i>rs3136520_1</i>	11	<i>F2</i>	46721762	T/C

SNP: polimorfismo de un solo nucleótido. *F5*: gen del factor V de la coagulación. *SERPINE1*: gen serpin familia E miembro 1. *F2*: gen del factor II de la coagulación. Versión del genoma Gch38.

A continuación, investigamos acerca de las consecuencias funcionales de los polimorfismos analizados (**Figura 46**).

Como era de esperar, ya que se seleccionaron con ese propósito, la mayor parte de las variantes tenían un efecto funcional.

Figura 46. Consecuencias funcionales de los polimorfismos analizados.



4.2.1. ASOCIACIÓN FENOTÍPICA PREVIA DE LOS POLIMORFISMOS

La asociación de los polimorfismos seleccionados con fenotipos clínicos en estudios de asociación genómica no GWAS (**Tabla 12**), está disponibles online mientras que la asociación en estudios GWAS se muestra en la **tabla 13**.

Tabla 12. Rasgos clínicos relacionados con los polimorfismos de estudio (disponible online).



Tabla 13. Estudios GWAS en los que se han testado los polimorfismos seleccionados.

SNP	Rasgo o enfermedad asociada	AR	FAR	Población	Plataforma [SNPs]*	PubMed
rs4525	Nivel de proteínas en sangre	C	0.263	3,301 individuos europeos	Affymetrix [10572788]	29875488
rs4525	Nivel de proteínas en sangre	C	0.275	997 individuos europeos	Affymetrix [509946]	28240269
rs4524	Trombosis venosa	T		29,435 casos europeos, 799 casos afro-americanos, 157,769 controles europeos, 14,353 controles afro-americanos	Affymetrix, Illumina [12923718]	31420334
rs4524	Trombosis venosa	T	0.736	7,507 casos europeos, 52,632 controles europeos	Affymetrix, Illumina [6751884]	25772935
rs6025	Trombosis venosa	T	0.025	23,151 casos europeos, 553,439 controles europeos, 2,261 casos afroamericanos, 49,400 controles afroamericanos, 654 casos y 21,214 controles hispánicos	Affymetrix [up to 3400000]	31676865
rs6025	Trombosis venosa	T		29,435 casos europeos, 799 casos afro-americanos, 157,769 controles europeos, 14,353 controles afro-americanos	Affymetrix, Illumina [12923718]	31420334
rs6025	Trombosis venosa	T		29,435 casos europeos, 157,769 controles europeos	Affymetrix, Illumina [12923718]	31420334
rs6025	Enfermedad arterial periférica	T	0.027	24,009 casos europeos, 150,983 controles europeos, 5,373 casos africanos, 42,485 controles africanos, 1,925 casos hispánicos, 18,285 controles hispánicos	Affymetrix [at least 20323458]	31285632
rs6025	Uso de medicación (antitrombóticos)	T	0.023	67,653 casos europeos, 85,986 controles europeos	Affymetrix [7288503]	31015401
rs6025	Trombosis venosa	T	0.02	3,290 casos europeos, 116,868 controles europeos	Affymetrix [9155762]	28373160
rs6025	Trombosis	T	0.025	6,135 casos europeos, 252,827 controles europeos	Illumina [at least 560000]	26908601
rs6025	Enfermedad inflamatoria intestinal	G	0.97	12,882 casos europeos, 21,770 controles europeos	Affymetrix, Illumina [- 9000000]	26192919
rs6025	Trombosis venosa	T	0.033	7,507 casos europeos, 52,632 controles europeos	Affymetrix, Illumina [6751884]	25772935
rs6025	Trombosis venosa	T	0.063	1,503 casos europeos, 1,459 controles europeos	Illumina [- 2500000]	22672568
rs3136441	Nivel HDL colesterol	T	0.765	23,761 individuos africanos, 13,171 individuos asiáticos, 90,272 individuos europeos, 6,620 individuos hispánicos	Affymetrix, Illumina, Perlegen [NR]	30926973
rs3136441	Nivel HDL colesterol	T		76,627 individuos europeos, 7,795 individuos hispánicos, 6,855 individuos asiáticos (Este), 2,958 individuos afro-americanos, 439 individuos asiáticos (Sur)	Affymetrix [at least 7091467]	29507422
rs3136441	Nivel HDL colesterol	T	0.878	76,627 individuos europeos, 7,795 individuos hispánicos, 6,855 individuos asiáticos (Este), 2,958 individuos afro-americanos, 439 individuos asiáticos (Sur)	Affymetrix [at least 7091467]	29507422
rs3136441	Nivel HDL colesterol	C	0.18	94,595 individuos europeos	NR [NR]	24097068
rs3136441	Nivel HDL colesterol	C	0.15	99,900 individuos europeos	Affymetrix, Illumina, Perlegen [- 260000]	20686565
rs1799963	Trombosis venosa	A	0.011	23,151 casos europeos, 553,439 controles europeos, 2,261 casos afroamericanos, 49,400 controles afroamericanos, 654 casos y 21,214 controles hispánicos	Affymetrix [up to 3400000]	31676865
rs1799963	Trombosis venosa	A		29,435 European ancestry cases, 157,769 European ancestry controls	Affymetrix, Illumina [12923718]	31420334
rs1799963	Trombosis venosa	A	0.01	3,290 casos europeos, 116,868 controles europeos	Affymetrix [9155762]	28373160
rs1799963	Trombosis	A	0.014	6,135 casos europeos, 252,827 controles europeos	Illumina [at least 560000]	26908601
rs1799963	Trombosis venosa	A	0.010	7,507 casos europeos, 52,632 controles europeos	Affymetrix, Illumina [6751884]	25772935
rs1613662	Volumen plaquetar medio	G	0.168	484,042 individuos afro-americanos, africanos, europeos, asiáticos, hispánicos o latino-americanos	Affymetrix, Illumina [17210439]	32888493
rs1613662	Ancho de distribución plaquetar	A	0.833	164,433 individuos europeos	Affymetrix [- 2500000]	27863252
rs1613662	Volumen plaquetar medio	A	0.833	164,454 individuos europeos	Affymetrix [- 2500000]	27863252
rs1800788	Fibrinógeno	T	0.20	3,042 individuos	Affymetrix [- 2500000]	21757653
rs6050	Fibrinógeno	C	0.24	3,042 individuos	Affymetrix [- 2500000]	21757653
rs2070006	Altura			458,000 individuos europeos	NR [- 8900000]	30595370
rs2036914	Trombosis venosa	C		29,435 casos europeos, 799 casos afro-americanos, 157,769 controles europeos, 14,353 controles afro-americanos	Affymetrix, Illumina [12923718]	31420334
rs2289252	Trombosis venosa	T		29,435 casos europeos, 799 casos afro-americanos, 157,769 controles europeos, 14,353 controles afro-americanos	Affymetrix, Illumina [12923718]	31420334
rs2289252	Trombosis venosa	T		29,435 casos europeos, 157,769 controles europeos	Affymetrix, Illumina [12923718]	31420334
rs2289252	Nivel de proteínas en sangre	T	0.412	997 individuos europeos	Affymetrix [509946]	28240269
rs2289252	mpo de tromboplastina parcial activa	C		9,240 individuos europeos	Affymetrix, Illumina [- 2500000]	22703881

p- valor < 0,001 de todos los polimorfismos analizados.

SNP: polimorfismo de un solo nucleótido. AR: alelo de riesgo. FAR: frecuencia de alelo de riesgo.

*Polimorfismos que han pasado control de calidad.

4.2.2. VÍAS METABÓLICAS Y REACTOMA

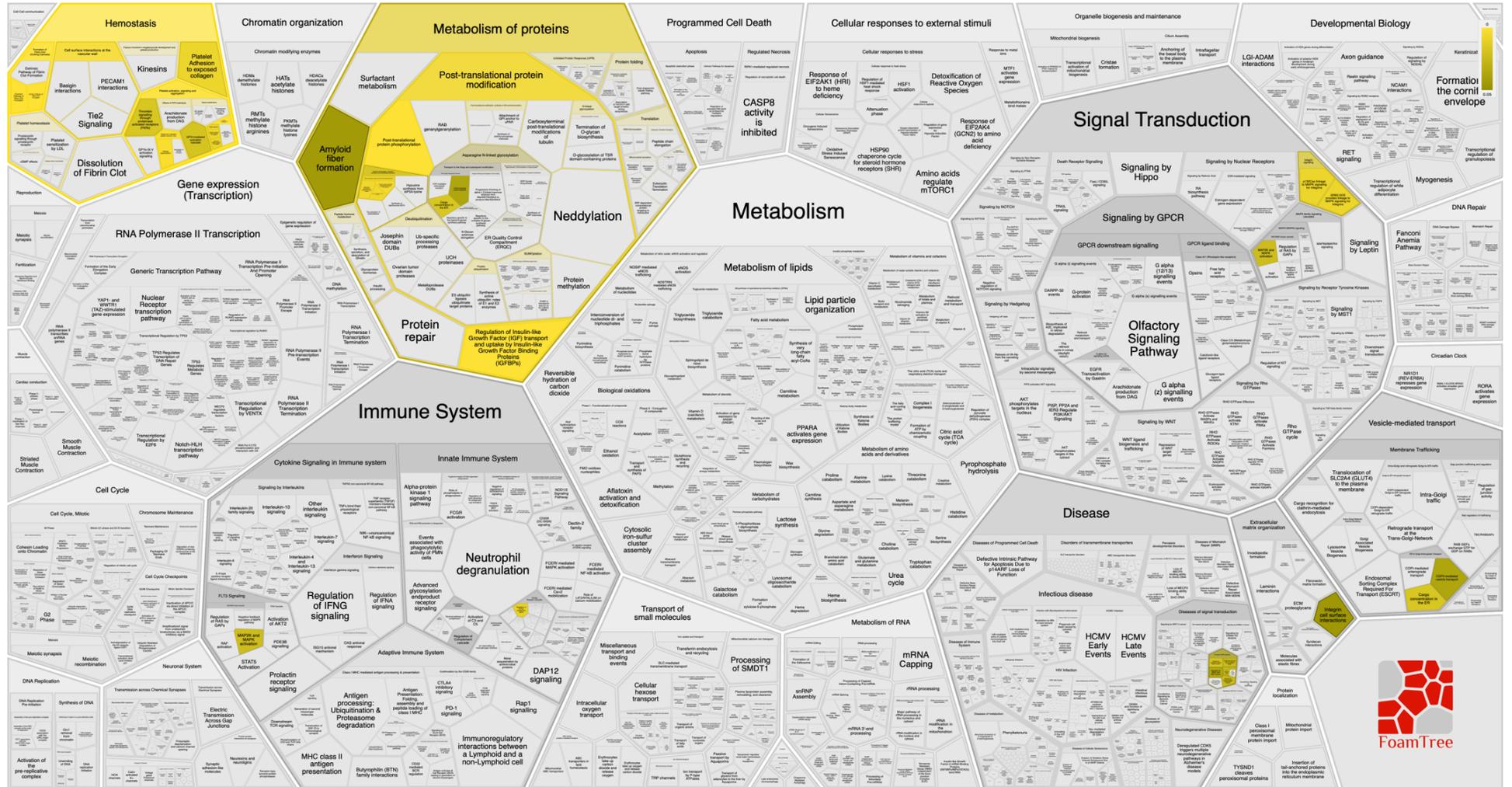
Lógicamente, los polimorfismos estudiados están involucrados principalmente en la vía de la hemostasia, pero además algunos participan en el sistema inmune, y en vías generales como el metabolismo de proteínas y la traducción de señales (**Tabla 14** y **Figura 47**).

Tabla 14. Principales vías metabólicas en las que participan los polimorfismos analizados.

Vía metabólica	Descripción	Proceso biológico	p-Valor	Genes relacionados	SNPs asociados
R-HSA-109582	Hemostasia	Hemostasia	0.000000	<i>F11, F2, F5, FGA, GP6, SERPINC1</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs201376968, rs2036914, rs2227589, rs2289251, rs2289252, rs3136532, rs335709976, rs3822057, rs4524, rs4525, rs6020, rs6025, rs6050, rs79287667</i>
R-HSA-140837	Vía intrínseca de la cascada de la coagulación	Hemostasia	0.000000	<i>F11, F2, SERPINC1</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs201376968, rs2036914, rs2227589, rs2289251, rs2289252, rs3136532, rs335709976, rs3822057</i>
R-HSA-140875	Vía común de la cascada de la coagulación	Hemostasia	0.000000	<i>F2, F5, FGA, SERPINC1</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs201376968, rs2036914, rs2227589, rs2289251, rs2289252, rs3136532, rs335709976, rs3822057</i>
R-HSA-140877	Cascada de la coagulación	Hemostasia	0.000000	<i>F11, F2, F5, FGA, SERPINC1</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs201376968, rs2036914, rs2227589, rs2289251, rs2289252, rs3136532, rs335709976, rs3822057, rs4524, rs4525, rs6020, rs6025, rs6050</i>
R-HSA-381426	Regulación del transporte de IGF y su unión a IGF1BP3	Metabolismo de proteínas	0.000000	<i>F2, F5, FGA, SERPINC1</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs201376968, rs2036914, rs2227589, rs2289251, rs2289252, rs3136532, rs335709976, rs3822057, rs4524, rs4525, rs6020, rs6025, rs6050</i>
R-HSA-76002	Activación plaquetar, señalización y agregación	Hemostasia	0.000095	<i>F2, F5, FGA, GP6</i>	<i>rs1613662, rs1799963, rs183293976, rs3136441, rs3136520, rs3136532, rs4524, rs4525, rs6020, rs6025, rs6050, rs79287667</i>
R-HSA-8957275	Fosforilación post-translacional de proteínas	Metabolismo de proteínas	0.000020	<i>F5, FGA, SERPINC1</i>	<i>rs2227589, rs4524, rs4525, rs6020, rs6025, rs6050</i>
R-HSA-76009	Agregación plaquetar	Hemostasia	0.000186	<i>F2, FGA</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs3136441, rs3136520, rs3136532, rs6050</i>
R-HSA-114608	Degradación plaquetar	Hemostasia	0.002034	<i>F5, FGA</i>	<i>rs4524, rs4525, rs6020, rs6025, rs6050</i>
R-HSA-76005	Respuesta al Ca ²⁺ elevado en el citosol plaquetar	Hemostasia	0.002196	<i>F5, FGA</i>	<i>rs4524, rs4525, rs6020, rs6025, rs6050</i>
R-HSA-597592	Modificación post-translacional de proteína	Metabolismo de proteínas	0.003521	<i>F2, F5, FGA, SERPINC1</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs2227589, rs3136441, rs3136520, rs3136532, rs4524, rs4525, rs6020, rs6025, rs6050</i>
R-HSA-202733	Interacciones en la superficie celular de la pared vascular	Hemostasia	0.004516	<i>F2, GP6</i>	<i>rs1613662, rs1799963, rs183293976, rs3136441, rs3136520, rs3136532, rs79287667</i>
R-HSA-159763	Transporte de los precursores de la proteína gamma-carboxilada	Metabolismo de proteínas	0.005079	<i>F2</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs3136441, rs3136520, rs3136532</i>
R-HSA-159740	Gamma-carboxilación de precursores proteicos	Metabolismo de proteínas	0.005643	<i>F2</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs3136441, rs3136520, rs3136532</i>
R-HSA-159782	Eliminación del péptido aminoterminal de la proteína gamma-carboxilada	Metabolismo de proteínas	0.005643	<i>F2</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs3136441, rs3136520, rs3136532</i>
R-HSA-159854	Gamma-carboxilación, transporte y escisión amino-terminal de proteínas	Metabolismo de proteínas	0.006205	<i>F2</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs3136441, rs3136520, rs3136532</i>
R-HSA-75892	Adhesión plaquetar al colágeno expuesto	Hemostasia	0.008454	<i>GP6</i>	<i>rs1613662, rs79287667</i>
R-HSA-5686938	Regulación de RTL por endógeno ligando	Sistema Inmune	0.010698	<i>FGA</i>	<i>rs6050</i>
R-HSA-392499	Metabolismo de proteínas	Metabolismo de proteínas	0.013177	<i>F2, F5, FGA, SERPINC1</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs2227589, rs3136441, rs3136520, rs3136532, rs4524, rs4525, rs6020, rs6025, rs6050</i>
R-HSA-354192	Señalización de integrinas	Transducción de señal; Hemostasia	0.015174	<i>FGA</i>	<i>rs6050</i>
R-HSA-456926	Señalización de trombina a través de receptores de proteinaasa activada	Hemostasia	0.017963	<i>F2</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs3136441, rs3136520, rs3136532</i>
R-HSA-5694530	Cambios en la concentración de proteínas RE	Metabolismo de proteínas	0.017963	<i>F5</i>	<i>rs4524, rs4525, rs6020, rs6025</i>
R-HSA-114604	Activación de la cascada mediada por GPVI	Hemostasia	0.019076	<i>GP6</i>	<i>rs1613662, rs79287667</i>
R-HSA-6802948	Señalización por quinasa BRAF mutante	Enfermedad	0.020189	<i>FGA</i>	<i>rs6050</i>
R-HSA-163841	Gamma carboxilación y activación de arylsulfatasa	Metabolismo de proteínas	0.021856	<i>F2</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs3136441, rs3136520, rs3136532</i>
R-HSA-6802946	Señalización por quinasa BRAF mutante	Enfermedad	0.025183	<i>FGA</i>	<i>rs6050</i>
R-HSA-6802946	Señalización por mutaciones RAS	Enfermedad	0.025183	<i>FGA</i>	<i>rs6050</i>
R-HSA-6802955	Activación paradójica de la señal RAF por la quinasa inactiva BRAF	Enfermedad	0.025183	<i>FGA</i>	<i>rs6050</i>
R-HSA-9649945	Señalización de mutaciones RAS	Enfermedad	0.025183	<i>FGA</i>	<i>rs6050</i>
R-HSA-6802952	Señalización por BRAF y fusión RAF	Enfermedad	0.026204	<i>FGA</i>	<i>rs6050</i>
R-HSA-977225	Formación de la fibra amiloide	Metabolismo de proteínas	0.043913	<i>FGA</i>	<i>rs6050</i>
R-HSA-216083	Interacciones de la superficie celular de las integrinas	Organización matriz extracelular	0.046978	<i>FGA</i>	<i>rs6050</i>
R-HSA-977606	Regulación de la cascada del complemento	Sistema Inmune	0.054703	<i>F2</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs3136441, rs3136520, rs3136532</i>
R-HSA-166658	Cascada del complemento	Sistema Inmune	0.060624	<i>F2</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs3136441, rs3136520, rs3136532</i>
R-HSA-168898	Cascada del RTL	Sistema Inmune	0.082421	<i>FGA</i>	<i>rs6050</i>
R-HSA-199977	RE al transporte anterógrado del Golgi	Metabolismo de proteínas	0.083474	<i>F5</i>	<i>rs4524, rs4525, rs6020, rs6025</i>
R-HSA-948021	Transporte al Golgi y modificación	Metabolismo de proteínas	0.090658	<i>F5</i>	<i>rs4524, rs4525, rs6020, rs6025</i>
R-HSA-375276	Unión del péptido ligando al receptor	Transducción de señal	0.102763	<i>F2</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs3136441, rs3136520, rs3136532</i>
R-HSA-416476	Señalización G alpha	Transducción de señal	0.115093	<i>F2</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs3136441, rs3136520, rs3136532</i>
R-HSA-168249	Sistema inmune innato	Sistema Inmune	0.120563	<i>F2, FGA</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs3136441, rs3136520, rs3136532, rs6050</i>
R-HSA-5673001	Cascada RAF/MAP quinasa	Sistema Inmune	0.130810	<i>FGA</i>	<i>rs6050</i>
R-HSA-5684996	Señalización MAPK1/MAPK3	Transducción de señal	0.133825	<i>FGA</i>	<i>rs6050</i>
R-HSA-5683957	Cascada de señalización de la familia MAPK	Transducción de señal	0.155178	<i>FGA</i>	<i>rs6050</i>
R-HSA-1474244	Organización matriz extracelular	Organización matriz extracelular	0.157142	<i>FGA</i>	<i>rs6050</i>
R-HSA-446203	Glicosilación Asparagina N	Metabolismo de proteínas	0.159591	<i>F5</i>	<i>rs4524, rs4525, rs6020, rs6025</i>
R-HSA-373076	Clase A/1 (Receptor Rhodopsin-like)	Transducción de señal	0.167875	<i>F2</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs3136441, rs3136520, rs3136532</i>
R-HSA-5663202	Enfermedades de transducción de señal del receptor del factor de crecimiento	Enfermedad	0.193266	<i>FGA</i>	<i>rs6050</i>
R-HSA-500792	Unión del ligando GPCR	Transducción de señal	0.229912	<i>F2</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs3136441, rs3136520, rs3136532</i>
R-HSA-109991	Tráfico de membranas	Transporte mediado por vesículas	0.304021	<i>F5</i>	<i>rs4524, rs4525, rs6020, rs6025</i>
R-HSA-5653566	Transporte mediado por vesículas	Transporte mediado por vesículas	0.342076	<i>F5</i>	<i>rs4524, rs4525, rs6020, rs6025</i>
R-HSA-168256	Sistema inmune	Sistema Inmune	0.351080	<i>F2, FGA</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs3136441, rs3136520, rs3136532, rs6050</i>
R-HSA-128215	Señalización de citocinas en el sistema inmune	Sistema Inmune	0.390028	<i>FGA</i>	<i>rs6050</i>
R-HSA-388396	Señalización GPCR	Transducción de señal	0.470601	<i>F2</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs3136441, rs3136520, rs3136532</i>
R-HSA-372790	Señalización por GPCR	Transducción de señal	0.492847	<i>F2</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs3136441, rs3136520, rs3136532</i>
R-HSA-1643685	Enfermedad	Enfermedad	0.576995	<i>FGA</i>	<i>rs6050</i>
R-HSA-162582	Transducción de señal	Transducción de señal	0.648024	<i>F2, FGA</i>	<i>rs1799963, rs183293976, rs3136441, rs3136520, rs3136532, rs6050</i>

IGF: factor de crecimiento tipo insulina. IGF1BP3: proteínas de unión al factor de crecimiento tipo insulina. Ca²⁺: calcio. RTL: receptor tipo toll. RE: retículo endotelial. GPCR: receptores acoplados a proteína G. F5: gen del factor V de la coagulación. SERPINC1: gen serpin familia C miembro 1. F2: gen del factor II de la coagulación. GP6: gen de la glicoproteína VI plaquetar. FGA: gen de la cadena alfa del fibrinógeno. F11: gen del factor XI de la coagulación.

Figura 47. Reactoma de los polimorfismos seleccionados.



4.3. ASOCIACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS CON FENOTIPOS CLÍNICOS

En las **tablas 15, 16 y 17** se comparan las frecuencias alélicas de cada fenotipo con respecto a los otros 2.

Los polimorfismos con $FAM < 0.01$ no se muestran en las tablas debido a que su escasa variabilidad no permite realizar el análisis estadístico.

Tabla 15. Frecuencias alélicas del fenotipo trombofilia hereditaria en relación a fenotipo AAFL y fenotipo no trombofilia hereditaria no AAFL.

SNP	AM	FA	FNA	P-valor	OR	DS	IC
<i>rs60251</i>	A	0.33	0.02	<0.001	25.83	0.46	10.49-63.63
<i>rs1799963</i>	A	0.15	0.02	<0.001	9.33	0.49	3546-24.56
<i>rs4525</i>	G	0.15	0.22	0.08	0.59	0.30	0.33-1068
<i>rs2289252</i>	T	0.02	0.04	0.22	0.40	0.76	0.09-1.81
<i>rs3136441</i>	C	0.02	0.01	0.29	2.23	0.77	0.49-10.12
<i>rs1613662</i>	C	0.01	0.12	0.31	0.69	0.37	0.33-1.42
<i>rs2289251</i>	T	0.45	0.51	0.32	0.80	0.22	0.52-1.24
<i>rs2227589</i>	A	0.07	0.11	0.32	0.67	0.41	0.29-1.49
<i>rs17997682</i>	T	0.01	0.01	0.42	2.95	1.41	0.18-47.48
<i>rs1799768</i>	D	0.49	0.45	0.46	1.18	0.22	0.76-1.82
<i>rs2066854</i>	A	0.25	0.29	0.49	0.84	0.25	0.51-1.38
<i>rs6020</i>	C	0.36	0.33	0.58	1.14	0.23	0.72-1.80
<i>rs183293976</i>	C	0.11	0.09	0.69	1.15	0.36	0.57-2.32
<i>rs79287667</i>	A	0.02	0.03	0.84	0.87	0.67	0.24-3.24
<i>rs2036914</i>	T	0.38	0.39	0.86	0.96	0.23	0.62-1.49
<i>rs3136520</i>	T	0.02	0.02	0.98	0.98	0.82	0.19-4.90

SNP: polimorfismo de un solo nucleótido. AM: alelo menor. FA: frecuencia afectos. FNA: frecuencia no afectos. OR: odds ratio estimada del alelo menor. DS: desviación estándar. IC: intervalo de confianza.

Como puede verse en la tabla, se observaron diferencias significativas en la FAM de dos polimorfismos. Uno es un polimorfismo no descrito previamente, pero que presenta un alto desequilibrio de ligamiento con el *FVL* ($D': 1$) (**Figura 48**). Al analizar este SNP en profundidad, vemos que su posición cromosómica coincide con el *FVL* y por tanto asumimos que se trata del mismo polimorfismo.

El otro es el polimorfismo de la *disprotrombinemia*.

Como era esperable ambos fueron significativamente más frecuentes en el fenotipo 1.

Figura 48. Desequilibrio de ligamiento *rs60251*.

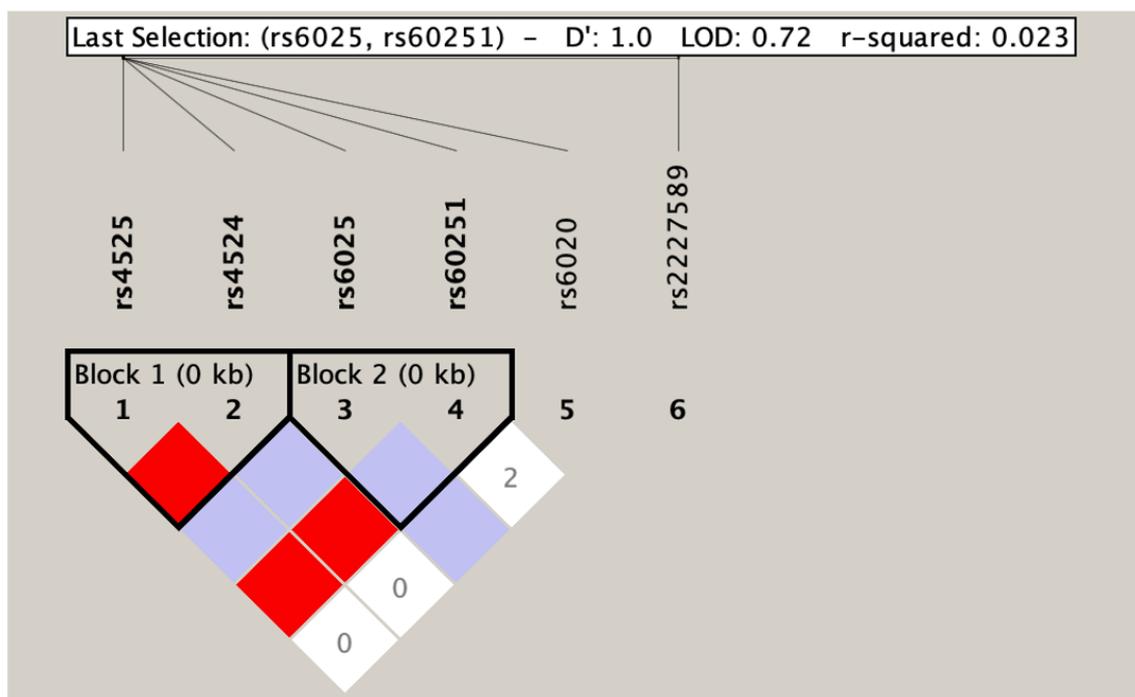


Tabla 16. Frecuencias alélicas del fenotipo AAFL en relación a fenotipo trombofilia hereditaria y fenotipo no trombofilia hereditaria no AAFL.

SNP	AM	FA	FNA	P-valor	OR	DS	IC
<i>rs2066854</i>	A	0.12	0.29	<0.01	0.32	0.49	0.12-0.83
<i>rs2289251</i>	T	0.67	0.48	<0.05	2.19	0.34	1.12-4.29
<i>rs17997682</i>	T	0.02	0.002	0.05	9.49	1.42	0.58-154.5
<i>rs6020</i>	C	0.24	0.35	0.16	0.59	0.37	0.28-1.23
<i>rs1799963</i>	A	0.08	0.05	0.51	1.53	0.64	0.43-5.42
<i>rs2227589</i>	A	0.07	0.10	0.53	0.68	0.62	0.20-2.31
<i>rs2289252</i>	T	0.02	0.04	0.63	0.61	1.05	0.08-4.71
<i>rs1613662</i>	C	0.09	0.12	0.63	0.77	0.55	0.26-2.25
<i>rs60251</i>	A	0.12	0.09	0.65	1.26	0.51	0.47-3.40
<i>rs2036914</i>	T	0.36	0.39	0.66	0.86	0.34	0.44-1.67
<i>rs1799768</i>	D	0.43	0.46	0.66	0.87	0.33	0.46-1.65
<i>rs79287667</i>	A	0.02	0.03	0.80	0.77	1.05	0.09-6.06
<i>rs4525</i>	G	0.21	0.20	0.86	1.07	0.39	0.49-2.33
<i>rs183293976</i>	C	0.09	0.1	0.92	0.95	0.55	0.32-2.79

SNP: polimorfismo de un solo nucleótido. AM: alelo menor. FA: frecuencia afectos. FNA: frecuencia no afectos. OR: odds ratio estimada del alelo menor. DS: desviación estándar. IC: intervalo de confianza.

Se observaron diferencias en variantes genéticas de trombofilia hereditaria tales como el *FGG* que fue menor en el fenotipo AAFL, respecto a los dos otros fenotipos. Por el contrario, la *FAM* en polimorfismos del *F11* y de un SNP próximo

al del *PAI-1* en el gen *SERPINE1* fue superior en el fenotipo 2 que en los otros dos fenotipos.

Tabla 17. Frecuencias alélicas del fenotipo no trombofilia hereditaria no AAFL en relación a fenotipo trombofilia hereditaria y fenotipo AAFL.

SNP	AM	FA	FNA	P-valor	OR	DS	IC
<i>rs60251</i>	A	0.01	0.21	<0.001	0.02	1.02	0.01-0.12
<i>rs1799963</i>	A	0.01	0.11	<0.001	0.07	0.75	0.02-0.32
<i>rs4525</i>	G	0.25	0.15	<0.05	1.80	0.25	1.11-2.94
<i>rs2066854</i>	A	0.33	0.22	<0.05	1.67	0.22	1.09-2.58
<i>rs1613662</i>	C	0.15	0.08	0.03	1.96	0.32	1.05-3.66
<i>rs79287667</i>	A	0.04	0.02	0.28	1.90	0.61	0.58-6.28
<i>rs6020</i>	C	0.35	0.31	0.46	1.17	0.21	0.78-1.75
<i>rs2227589</i>	A	0.11	0.09	0.49	1.26	0.33	0.66-2.40
<i>rs2289252</i>	T	0.04	0.03	0.51	1.41	0.53	0.50-3.96
<i>rs3136520</i>	T	0.02	0.02	0.65	1.39	0.74	0.33-5.90
<i>rs2289251</i>	T	0.49	0.50	0.71	0.93	0.19	0.64-1.36
<i>rs1799768</i>	D	0.45	0.47	0.74	0.94	0.19	0.64-1.37
<i>rs183293976</i>	C	0.10	0.09	0.87	1.06	0.32	0.56-1.99
<i>rs3136441</i>	C	0.02	0.02	0.89	1.11	0.77	0.25-5.02
<i>rs2036914</i>	T	0.39	0.39	0.97	1.01	0.19	0.68-1.49

SNP: polimorfismo de un solo nucleótido. AM: alelo menor. FA: frecuencia afectos. FNA: frecuencia no afectos. OR: odds ratio estimada del alelo menor. DS: desviación estándar. IC: intervalo de confianza.

En cuanto al fenotipo 3, las diferencias significativas se observaron en 4 polimorfismos. Los 2 primeros eran el FVL y la disprotrombinemia que, como era de esperar, la frecuencia en afectos fue menor que en los otros fenotipos. Los otros 2, un polimorfismo del *F5* de la coagulación y otro del *FGG*, presentaron una FAM significativamente superior en este fenotipo.

4.4. ASOCIACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS CON RECIDIVA

4.4.1. REGRESIÓN LOGÍSTICA

Tanto en la regresión logística sin ajustar como en la ajustada por edad, sexo, fenotipo, IMC, tiempo de anticoagulación (indefinido frente a 6 ± 3 meses) y localización de trombosis (distal frente a proximal), no encontramos asociación

significativa con ningún polimorfismo utilizando la corrección por comparaciones múltiples.

Considerando, como significativo un p-valor ≤ 0.05 , en modelo aditivo, el alelo *D* del polimorfismo *rs1799768* incrementó de forma significativa el riesgo de retrombosis (OR 1.64 y OR 1.82, para el análisis de regresión logística simple y múltiple, respectivamente).

Los resultados de la regresión logística simple y múltiple se muestran en las **tablas 18 y 19**. Aquellos alelos en los que no se puede realizar los cálculos por presentar una escasa variación no se encuentran reflejados (*rs6025*, *rs17997683*, *rs17997684*, *rs3136532*).

El *rs1799768*, también llamado polimorfismo *PAI-1 4G/5G*, se encuentra en el gen *SERPINE1*, en el cromosoma 7 (7q22.1), y regula los niveles del inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1.

El PAI-1 es el principal inhibidor fisiológico de la actividad del sistema fibrinolítico mediante la inhibición del activador del plasminógeno tisular (tPA) y del activador tipo uroquinasa (uPA). El polimorfismo consiste en una sola inserción/delección de una base de guanina en la región promotora (posición 675) del gen. El alelo *4G* es responsable de niveles plasmáticos más elevados de PAI-1 condicionando un estado hipofibrinolítico.

Tabla 18. Regresión logística simple.

CR	SNP	AM	OR	DS	IC	p-valor
7	<i>rs1799768</i>	D	1.64	0.23	1.04-2.59	<0.05
4	<i>rs2289251</i>	T	1.42	0.22	0.92-2.19	0.11
4	<i>rs2036914</i>	T	0.70	0.25	0.43-1.14	0.16
1	<i>rs60251</i>	A	1.58	0.36	0.78-3.18	0.20
11	<i>rs183293976</i>	C	1.52	0.36	0.75-3.05	0.24
19	<i>rs79287667</i>	A	0.30	1.06	0.04-2.38	0.26
7	<i>rs17997682</i>	T	3.86	1.42	0.24-63	0.34
1	<i>rs4525</i>	G	0.81	0.31	0.44-1.48	0.49
1	<i>rs6020</i>	C	1.17	0.24	0.73-1.88	0.51
19	<i>rs1613662</i>	C	0.79	0.39	0.36-1.71	0.54
11	<i>rs3136520</i>	T	0.53	1.08	0.06-4.44	0.56
1	<i>rs2227589</i>	A	1.26	0.41	0.56-2.81	0.57
4	<i>rs2066854</i>	A	1.11	0.25	0.68-1.81	0.65
11	<i>rs3136441</i>	C	0.62	1.09	0.07-5.32	0.67
11	<i>rs1799963</i>	A	0.83	0.56	0.28-2.48	0.74
4	<i>rs2289252</i>	T	0.86	0.66	0.23-3.17	0.82

CR: cromosoma. SNP: polimorfismo de un solo nucleótido. AM: alelo menor. OR: odds ratio estimada del alelo menor. DS: desviación estándar. IC: intervalo de confianza.

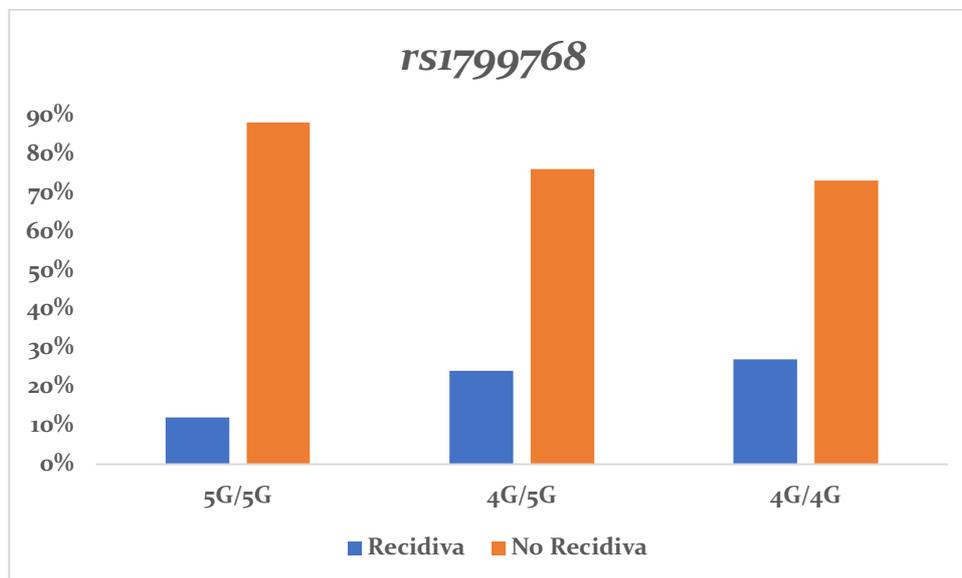
Tabla 19. Regresión logística múltiple.

CR	SNP	AM	OR	DS	IC	P-valor
7	<i>rs1799768</i>	D	1.82	0.28	1.03-3.12	<0.05
4	<i>rs2289251</i>	T	1.57	0.27	0.93-2.64	0.09
4	<i>rs2036914</i>	T	0.72	0.28	0.41-1.25	0.24
19	<i>rs79287667</i>	A	0.33	1.07	0.04-2.71	0.30
11	<i>rs1799963</i>	A	0.49	0.70	0.12-1.98	0.32
1	<i>rs2227589</i>	A	1.53	0.46	0.62-3.79	0.36
1	<i>rs6020</i>	C	1.26	0.29	0.72-2.21	0.47
7	<i>rs17997682</i>	T	2.72	1.47	0.15-48.13	0.49
11	<i>rs3136520</i>	T	0.58	1.11	0.07-5.13	0.62
11	<i>rs183293976</i>	C	1.25	0.46	0.50-3.10	0.63
11	<i>rs3136441</i>	C	0.66	1.14	0.07-6.17	0.71
19	<i>rs1613662</i>	C	0.89	0.46	0.37-2.18	0.80
4	<i>rs2066854</i>	A	1.07	0.29	0.61-1.89	0.82
4	<i>rs2289252</i>	T	1.16	0.85	0.22-6.13	0.86
1	<i>rs4525</i>	G	0.95	0.34	0.49-1.84	0.87
1	<i>rs60251</i>	A	0.95	0.54	0.33-2.73	0.93

CR: cromosoma. SNP: polimorfismo de un solo nucleótido. AM: alelo menor. OR: odds ratio estimada del alelo menor. DS: desviación estándar. IC: intervalo de confianza.

El porcentaje de recidiva según genotipos del *rs1799769* se muestra en la **figura 49**. Como puede verse, el alelo *4G* incrementa el riesgo de recidiva.

Figura 49. Porcentaje de cada fenotipo en recidiva y no recidiva del *rs1799768*.



Chi² p-valor: 0.07

Chi² tendencia p-valor: <0.05

4.4.2. REGRESIÓN DE COX

La asociación de los polimorfismos seleccionados con el riesgo de recidiva se evaluó también mediante modelos de riesgos proporcionales de Cox sin ajustar y ajustados por edad, sexo, fenotipo clínico, IMC, tiempo de anticoagulación (indefinido frente a 6 ± 3 meses) y localización de trombosis (distal frente a proximal). El tiempo de seguimiento total fue de 1452.15 personas/año con una media de seguimiento de 5.5 años (0.08-30.8) y una mediana de seguimiento de 3.8 años.

En la **tabla 20** se muestran los resultados del análisis ajustado. No se muestran los resultados del análisis sin ajustar al ser muy similares.

Al igual que ocurrió en la regresión logística, el polimorfismo más asociado fue el *rs1799768*.

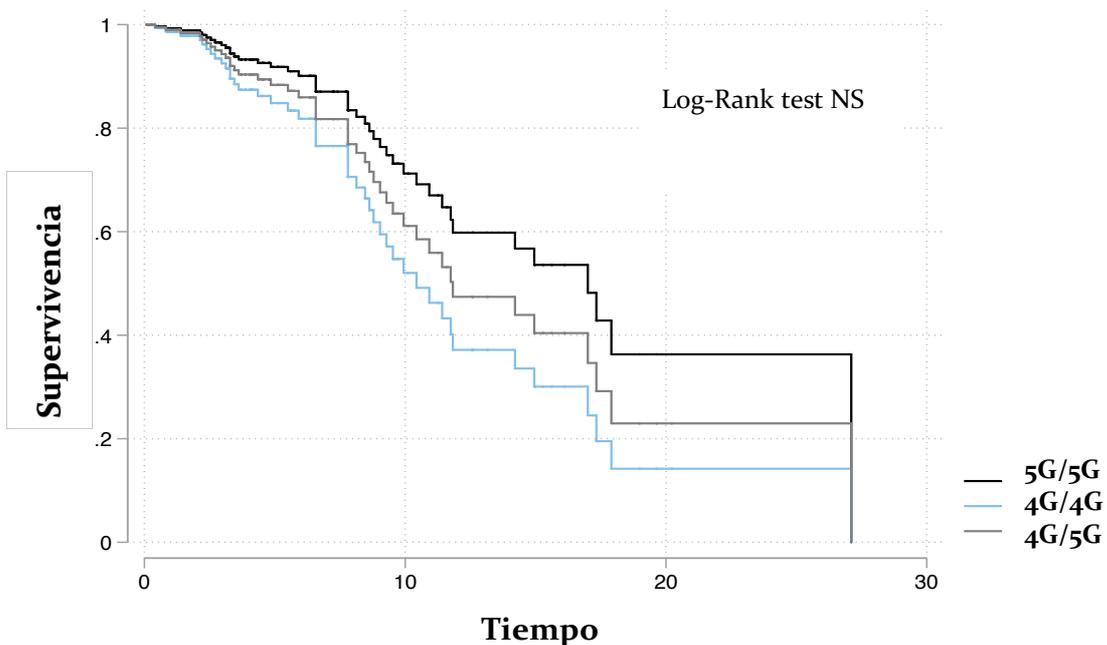
Tabla 20. Regresión de Cox.

CR	SNP	AM	HR	IC	p-valor
7	<i>rs1799768</i>	D	1,66	1.06-2.58	<0.05
4	<i>rs2289251</i>	T	1,35	0.85-2.15	0.21
11	<i>rs1799963</i>	A	0,50	0.15-1.69	0.26
4	<i>rs2036914</i>	T	0,75	0.45-1.25	0.27
7	<i>rs17997682</i>	T	3,06	0.38-24.41	0.29
11	<i>rs183293976</i>	C	1,48	0.68-3.25	0.33
19	<i>rs79287667</i>	A	0,41	0.06-3.01	0.38
1	<i>rs2227589</i>	A	1,29	0.60-2.76	0.51
1	<i>rs6020</i>	C	1,15	0.69-1.91	0.59
11	<i>rs3136520</i>	T	0,70	0.09-5.20	0.73
19	<i>rs1613662</i>	C	0,90	0.40-1.99	0.79
1	<i>rs4525</i>	G	0,93	0.53-1.63	0.79
1	<i>rs60251</i>	A	1,07	0.44-2.60	0.88
4	<i>rs2289252</i>	T	1,09	0.25-4.69	0.91
11	<i>rs3136441</i>	C	0,93	0.12-1.19	0.94
4	<i>rs2066854</i>	A	1,00	0.59-1.68	0.99

CR: cromosoma. SNP: polimorfismo de un solo nucleótido. AM: alelo menor. HR: hazard ratio estimada del alelo menor. IC: intervalo de confianza.

Como se observa en la **figura 50**, los pacientes homocigóticos para el alelo 4G tienen mayor incidencia acumulada de recurrencia.

Figura 50. Curva de supervivencia para los genotipos del polimorfismo *rs1799768*.



4.5. ASOCIACIÓN DE HAPLOTIPOS CON RECIDIVA

Teniendo en cuenta los principales polimorfismos asociados en el análisis individual, se estudiaron los haplotipos presentes en nuestra muestra. Tal y como se muestra en la **figura 51**, detectamos un único haplotipo, en el cromosoma 4, significativamente asociado con el riesgo de recidiva (**Figura 51** y **Tabla 21**). Como puede verse este haplotipo es altamente prevalente en nuestra población de estudio.

Figura 51. Bloques de haplotipos del cromosoma 4.

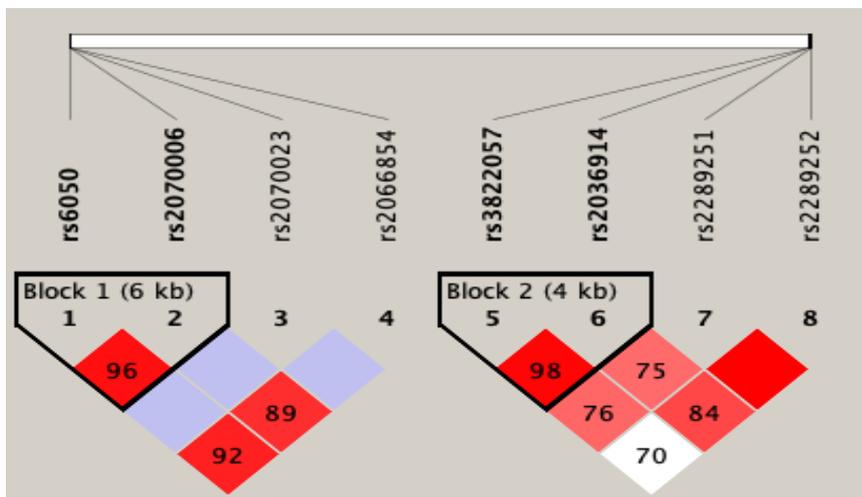


Tabla 21. Asociación de los haplotipos del cromosoma 4 con recidiva.

Haplotipo	Frecuencia	p-valor
Bloque 1		
AG	0.61	0.39
GA	0.29	0.74
AA	0.09	0.72
Bloque 2		
CC	0.56	0.02
AT	0.39	0.11
AC	0.05	0.09

4.6. RIESGO DE RECIDIVA EN FUNCIÓN DE DISTINTOS “SCORES” DE RIESGO GENÉTICO

En función de los resultados de la regresión logística, encontramos 8 polimorfismos de riesgo y 8 protectores (Tabla 22). En base a la fuerza de asociación en un primer paso, y al número de alelos de riesgo en un segundo paso, elaboramos tres distintos “scores” genéticos:

1. Un “score” global teniendo en cuenta tanto los alelos de riesgo como los protectores.
2. Un “score” de riesgo teniendo en cuenta solo los alelos de riesgo.
3. Un “score” de protección teniendo en cuenta solo los alelos protectores.

Tabla 22. Polimorfismos según el riesgo estimado de asociación con el alelo menor.

RIESGO				PROTECTOR			
CR	SNP	OR	p-valor	CR	SNP	OR	p-valor
4	<i>rs2066854</i>	1.07	0.82	19	<i>rs79287667</i>	0.33	0.30
4	<i>rs2289252</i>	1.16	0.86	11	<i>rs1799963</i>	0.49	0.32
11	<i>rs183293976</i>	1.25	0.63	11	<i>rs3136520</i>	0.58	0.62
1	<i>rs6020</i>	1.26	0.43	11	<i>rs3136441</i>	0.66	0.71
1	<i>rs2227589</i>	1.53	0.36	4	<i>rs2036914</i>	0.72	0.24
4	<i>rs2289251</i>	1.57	0.09	19	<i>rs1613662</i>	0.89	0.80
7	<i>rs1799768</i>	1.82	<0.05	1	<i>rs4525</i>	0.9532	0.87
7	<i>rs17997682</i>	2.73	0.49	1	<i>rs60251</i>	0.95	0.93

CR: cromosoma. SNP: polimorfismo de un solo nucleótido. OR: odds ratio estimada del alelo menor.

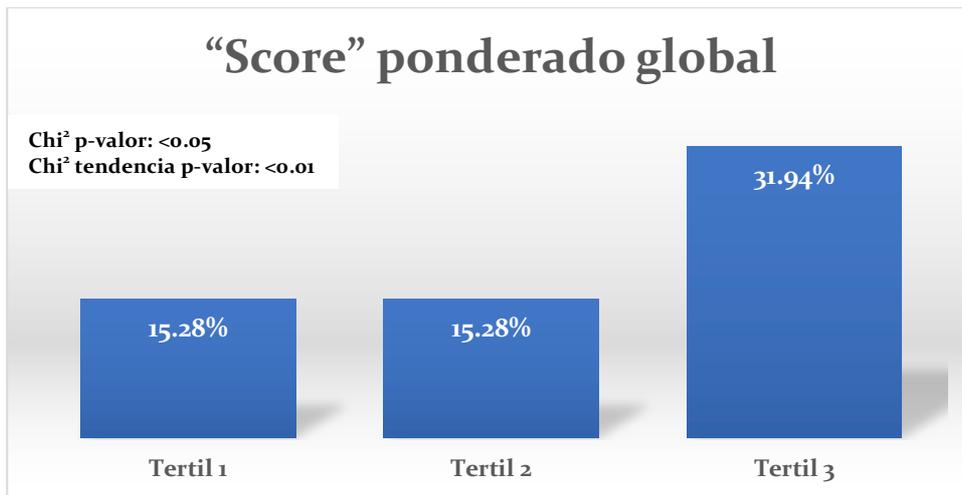
4.6.1. RIESGO DE RECIDIVA EN FUNCIÓN DEL “SCORE” GLOBAL

La muestra se dividió de forma aleatoria en dos submuestras, una de entrenamiento para la elaboración del “score” en base al logaritmo de la OR de los polimorfismos y otra de prueba para testar este “score”.

En la base de prueba no encontramos asociación significativa, ni en la regresión logística ni en la de Cox, entre el “score” cuantitativo o las categorías del “score” con el riesgo de recidiva.

Cuando calculamos el “score” ponderado global en toda la población, sí que observamos diferencias estadísticamente significativas entre el número de recidivas y el “score” dividido en tertiles, de forma que a mayor puntuación del “score” mayor porcentaje de recidivas (Figura 52).

Figura 52. Porcentaje de recidivas según valor del “score” ponderado global.

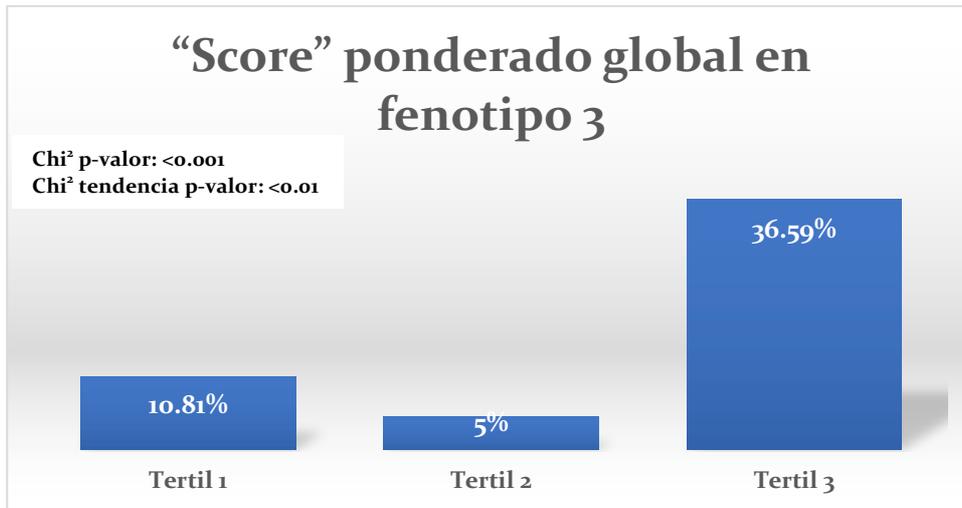


Cuando se dividió a la población en tertiles según el número absoluto de alelos de riesgo no encontramos diferencias estadísticamente significativas en cuanto al número de recidivas.

Al analizar el porcentaje de recidiva según tertiles del “score” ponderado global, en cada uno de los grupos fenotípicos, es decir, trombofilia hereditaria clásica (fenotipo 1), anticuerpos antifosfolípido (fenotipo 2) y sin trombofilia hereditaria conocida ni presencia de antifosfolípido (fenotipo 3), vemos que las diferencias encontradas en el total de la muestra, dependen fundamentalmente del fenotipo 3 (**Figura 53**). Es en este grupo es donde el aumento de porcentaje de recidiva a mayor puntuación del “score” es más evidente.

Por otra parte, no hubo diferencias en la puntuación del “score” entre grupos fenotípicos tras ajustar por edad y sexo.

Figura 53. Porcentaje de recidivas según el valor del “score” ponderado global en el grupo sin trombofilia hereditaria ni AAFL (fenotipo 3).

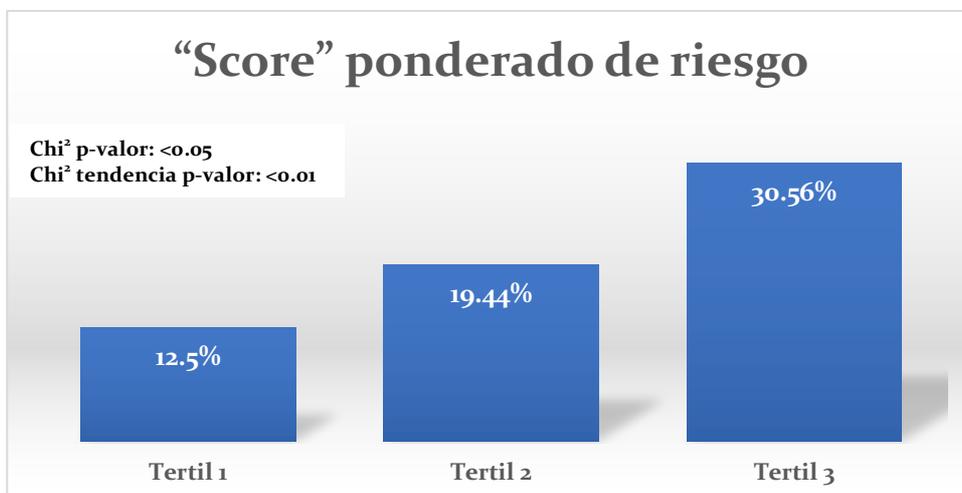


Para el caso del “score” basado simplemente en la suma de alelos de riesgo, no encontramos diferencias significativas entre los tertiles del “score” y el número de recidivas en ninguno de los grupos fenotípicos.

4.6.2. RIESGO DE RECIDIVA EN FUNCIÓN DEL “SCORE” DE RIESGO

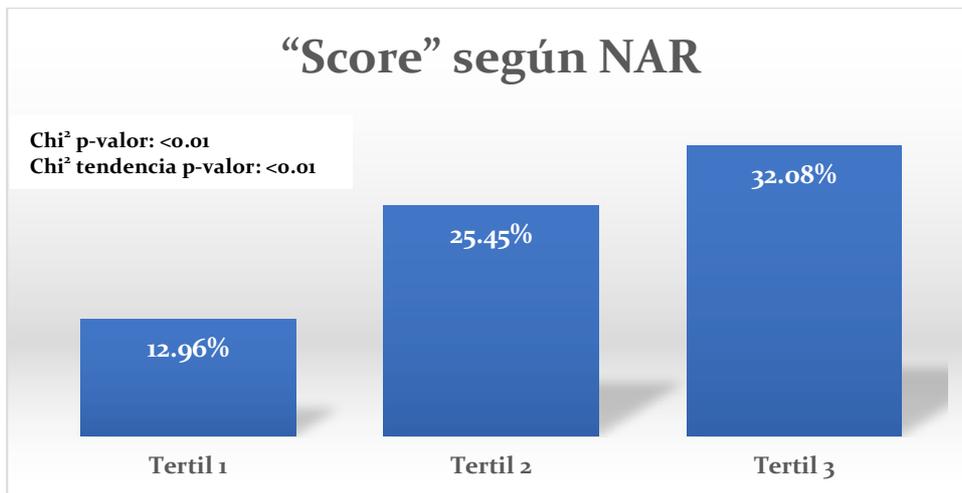
Al analizar el “score” ponderado de riesgo en nuestra población, hallamos diferencias significativas entre el número de recidivas y el “score” dividido en tertiles. Nuevamente a mayor puntuación del “score” mayor porcentaje de recidivas (Figura 54).

Figura 54. Porcentaje de recidivas según el valor del “score” ponderado de riesgo.



Posteriormente dividimos en tertiles a la población en función del número absoluto de alelos de riesgo y también constatamos que a mayor número de alelos de riesgo, mayor porcentaje de recidivas de manera significativa (**Figura 55**).

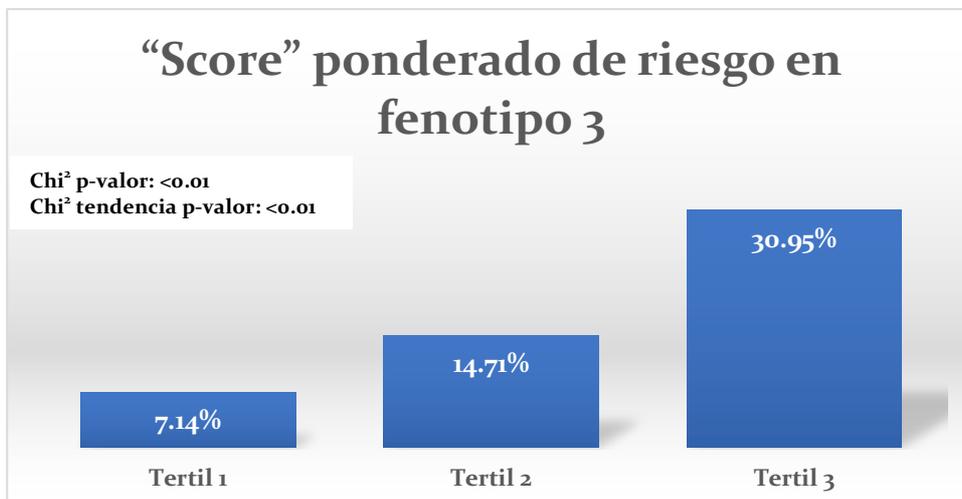
Figura 55. Porcentaje de recidivas según el valor del “score” calculado como la suma de los alelos de riesgo.



NAR: número de alelos de riesgo

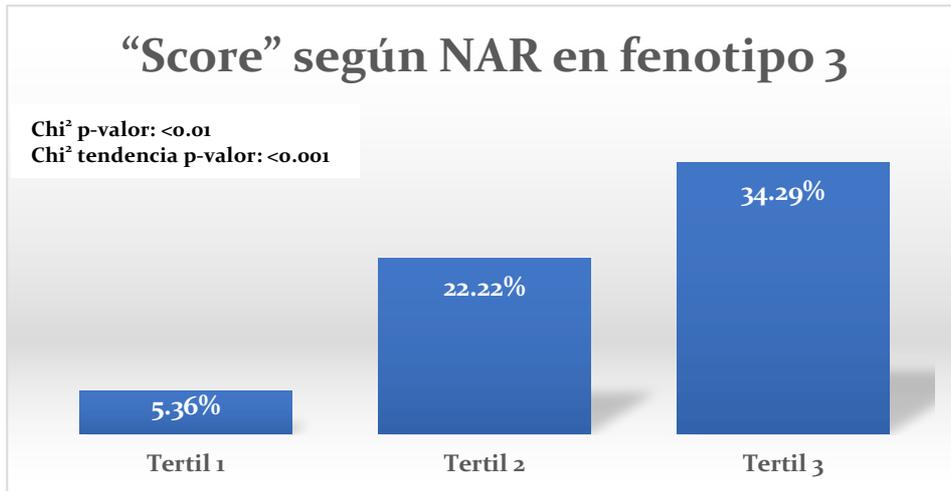
La asociación del número de recidivas con el mayor valor del “score” ponderado de riesgo fue significativa a expensas del grupo fenotípico 3 como se puede ver en la **figura 56**. En los demás fenotipos no observamos diferencias significativas.

Figura 56. Riesgo de recidiva según el valor del “score” ponderado de riesgo en el grupo sin trombofilia hereditaria ni AAFL (fenotipo 3).



Investigamos, en los distintos fenotipos, el “score” por número de alelos de riesgo y se confirma que la significación estadística del mayor número de recidivas a mayor valor de “score” de nuestra población, proviene fundamentalmente del grupo fenotípico 3 (Figura 57).

Figura 57. Riesgo de recidivas según el valor del “score” calculado como la suma de los alelos de riesgo en el grupo sin trombofilia hereditaria ni AAFL (fenotipo 3).



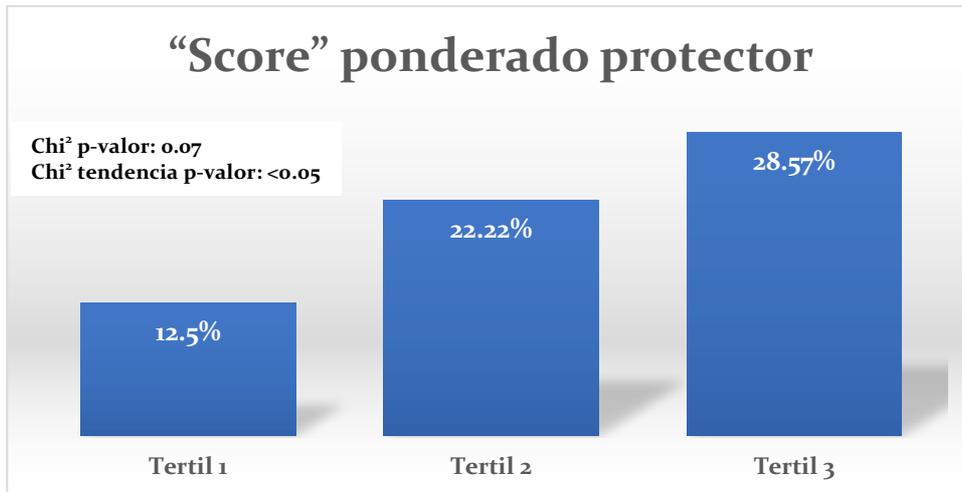
NAR: número de alelos de riesgo

No se encontraron diferencias en el valor de “score” entre los distintos fenotipos tras ajustar por edad y sexo.

4.6.3. RIESGO DE RECIDIVA SEGÚN EL “SCORE” DE PROTECCIÓN

Al analizar el “score” ponderado protector en toda la población, encontramos una tendencia significativa entre el porcentaje de recidivas y el “score” dividido en tertiles (Figura 58). Como puede verse en la figura, el tertil 1 que indica más protección debido a los valores negativos, es el que presenta menos porcentaje de recidivas.

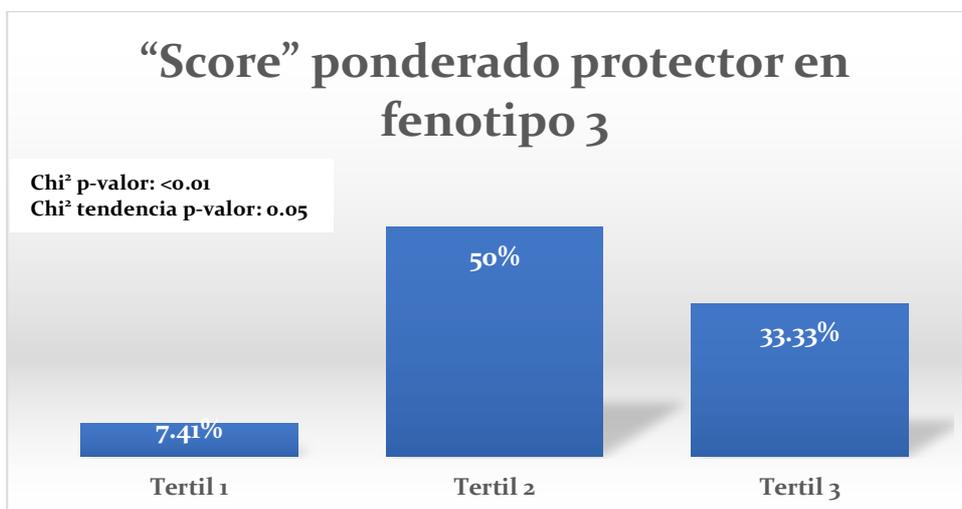
Figura 58. Porcentaje de recidivas según el valor del “score” ponderado protector.



Al dividir a la población en tertiles en función de la suma de alelos protectores, no hallamos diferencias estadísticamente significativas ni una clara tendencia en cuanto al número/porcentaje de recidivas.

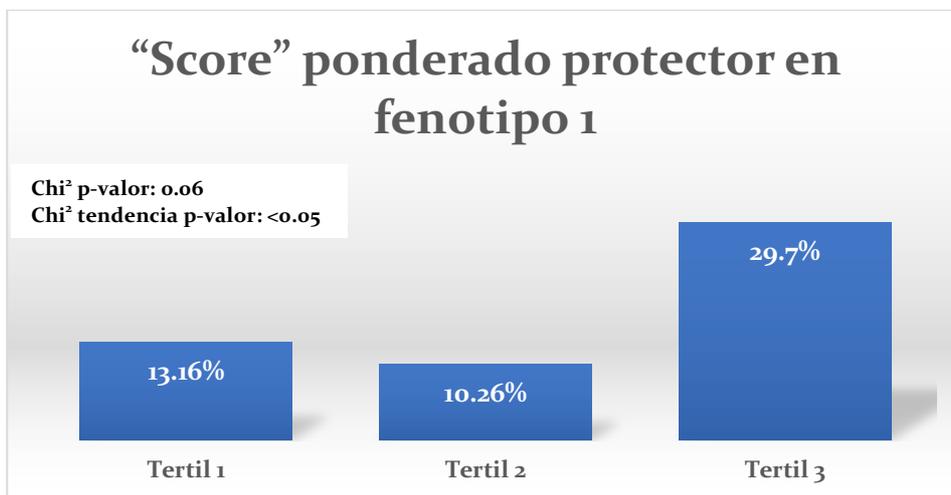
Como ocurrió con los otros “scores”, al analizar el riesgo de recidiva en los distintos grupos fenotípicos con el “score” ponderado de protección, encontramos diferencias estadísticamente significativas en el grupo fenotípico 3 con una tendencia en el límite de la significación (**Figura 59**). De nuevo, el tertile 1, que indica mayor protección, presentaba mucho menor porcentaje de recidivas.

Figura 59. Porcentaje de recidivas según el valor del “score” ponderado protector en el grupo sin trombofilia hereditaria ni AAFL (fenotipo 3).



Además, para este “score” de protección, también se observó una tendencia significativa en el fenotipo 1 (presencia de trombofilia hereditaria clásica) (Figura 60).

Figura 60. Porcentaje de recidivas según el valor del “score” ponderado protector en el grupo con trombofilia hereditaria (fenotipo 1).



No encontramos diferencias ni tendencias estadísticamente significativas cuando analizamos, en cada grupo fenotípico, el número de recidivas según la suma de alelos protectores.

Para este “score” de protección tampoco se encontraron diferencias significativas en el valor de “score” cuantitativo entre los distintos grupos fenotípicos tras ajustar por edad y sexo.

4.7. CAPACIDAD PREDICTIVA DE LOS DISTINTOS “SCORES” DE RIESGO GENÉTICO

4.7.1. CAPACIDAD PREDICTIVA DE LOS MODELOS DE REGRESIÓN LOGÍSTICA

Calculamos las curvas ROC para el “score” ponderado global, de riesgo y protector, así como para el “score” según número de alelos de riesgo.

Para cada uno de ellos analizamos el AUC para el “score” cuantitativo y dividido en tertiles. Analizamos también el cambio en el AUC de las curvas ROC

basadas en el modelo de regresión logística múltiple ajustado por edad, sexo, IMC, fenotipo clínico, meses de anticoagulación (indefinido frente a 6 ± 3 meses) y localización de la TVP (distal frente a proximal) considerando o sin considerar los “scores” genéticos.

Por ser las que mejor capacidad predictiva ofrecen, se muestran las curvas ROC basadas en el modelo de regresión logística del “score” ponderado global cuantitativo, el “score” según número de alelos de riesgo cuantitativo y el “score” ponderado de protección cuantitativo (Figuras 61, 62 y 63).

El AUC considerando solo las variables clínicas fue de 0.62 y en todos los casos se cumplió que al incluir el correspondiente “score” dicho valor aumentó considerablemente tal y como se refleja en las gráficas.

Figura 61. Curvas ROC para el modelo de regresión logística basado sólo en covariables clínicas: edad, sexo, IMC, fenotipo clínico, meses de anticoagulación y localización de la TVP (negro) y posteriormente añadiendo el “score” ponderado cuantitativo global (azul).

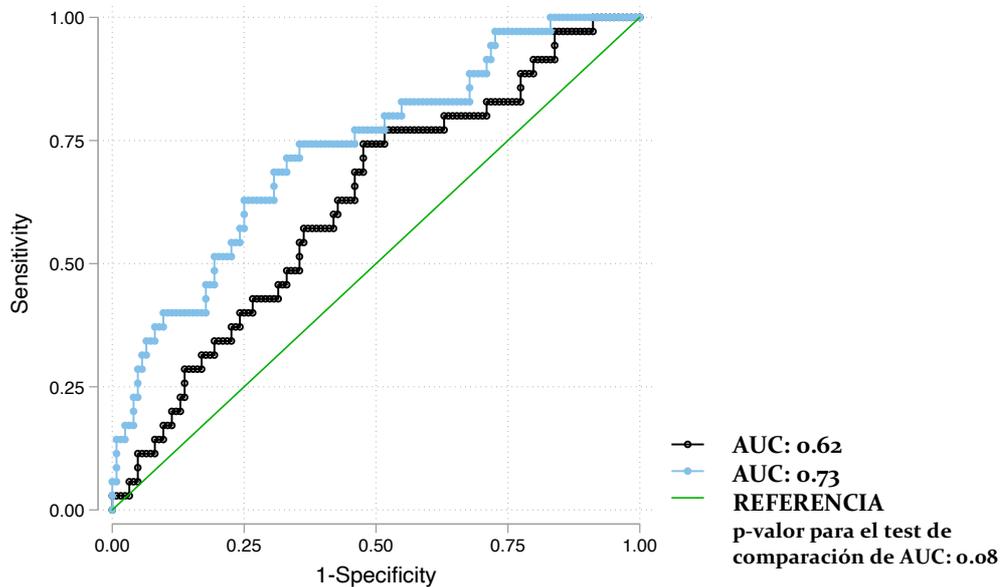


Figura 62. Curvas ROC para el modelo de regresión logística basado sólo en covariables clínicas: edad, sexo, IMC, fenotipo clínico, meses de anticoagulación y localización de la TVP (negro) y posteriormente añadiendo el “score” basado en número de alelos de riesgo cuantitativo (azul).

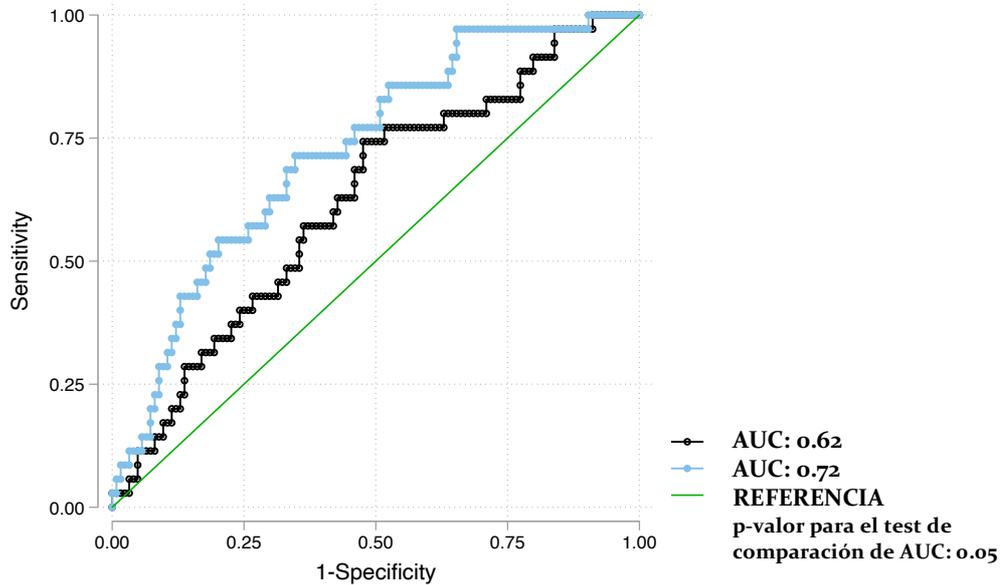
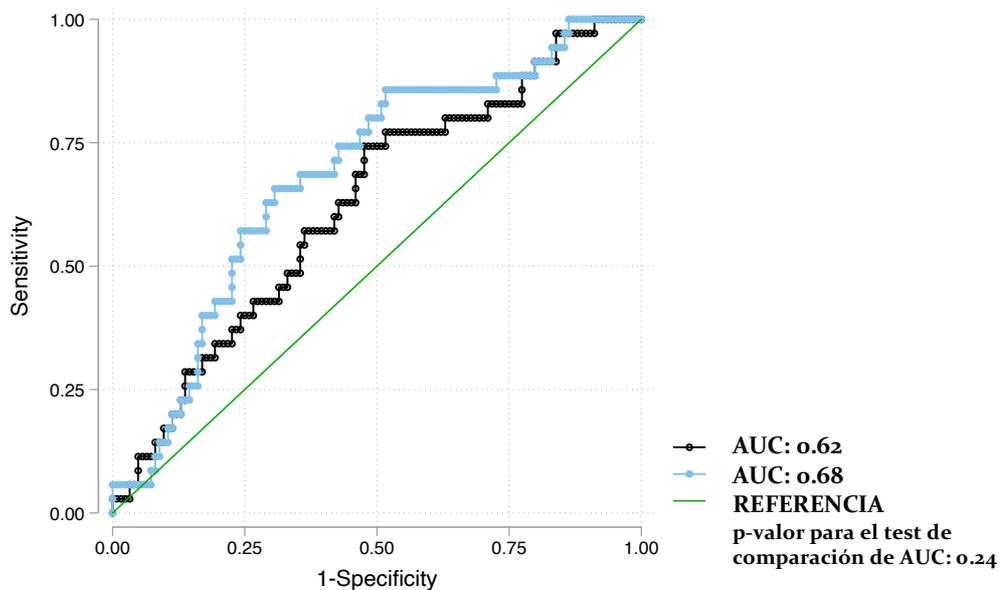


Figura 63. Curvas ROC para el modelo de regresión logística basado sólo en covariables clínicas: edad, sexo, IMC, fenotipo clínico, meses de anticoagulación y localización de la TVP (negro) y posteriormente añadiendo el “score” ponderado de protección cuantitativo (azul).



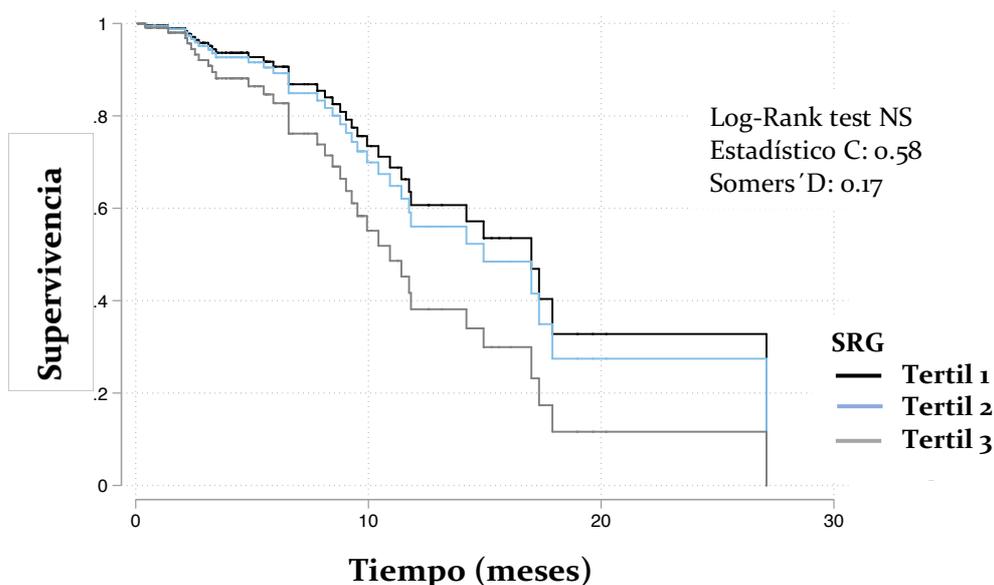
Al añadir variables analíticas como número de leucocitos, plaquetas, proteínas totales o parámetros de inflamación, aumentó considerablemente la capacidad predictiva pero nuestro pequeño tamaño muestral no permite la inclusión de tal número de variables independientes.

4.7.2. CAPACIDAD PREDICTIVA DE LOS MODELOS DE REGRESIÓN DE COX

De la misma manera calculamos y comparamos el estadístico C, equivalente al AUC para los modelos de regresión de Cox incluyendo solo el “score”, solo las variables clínicas asociadas al riesgo de recidiva [edad, sexo, IMC, fenotipo clínico, meses de anticoagulación (indefinido frente a 6 ± 3 meses) y localización de la TVP (distal frente a proximal)] o ambos.

En las **figuras 64 y 65**, se representan las curvas de supervivencia del “score” basado en el conteo de alelos de riesgo y del “score” ponderado de alelos protectores, ambos en modelo de regresión de Cox ajustado por las variables clínicas anteriormente descritas.

Figura 64. Curvas de supervivencia del “score” basado en conteo de alelos de riesgo basado en modelos de regresión de Cox ajustado por edad, sexo, IMC, fenotipo clínico, meses de anticoagulación y localización de la TVP.

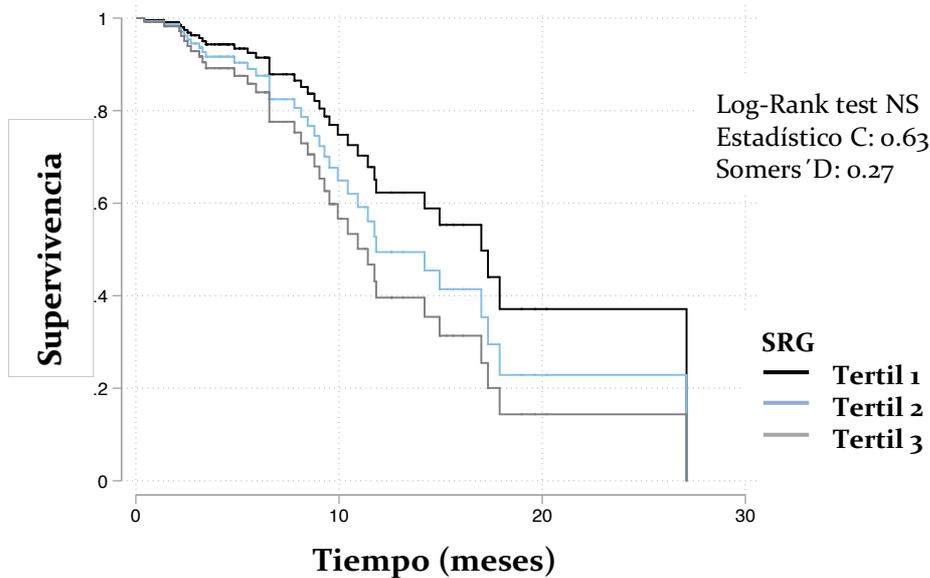


SRG: “Score” de riesgo genético.

Resultados

El estadístico C considerando únicamente las variables clínicas fue 0.57, mientras que considerando únicamente el “score” de contaje de alelos fue de 0.54 lo que supone que la mejor predicción se obtuvo al considerar, de manera conjunta el “score” junto con las variables clínicas, aunque sin variación significativa.

Figura 65. Curvas de supervivencia del “score” ponderado protector basado en modelos de regresión de Cox ajustado por edad, sexo, IMC, fenotipo clínico, meses de anticoagulación y localización de la TVP.



SRG: “Score” de riesgo genético.

El estadístico C considerando solo el “score” genético fue de 0.56 y aumentó de 0.57 a 0.63, al añadir el “score” ponderado de alelos protectores al modelo basado solo en variables clínicas. De nuevo, el añadir variables analíticas parece aumentar de forma significativa la capacidad predictiva pero nuestro pequeño tamaño muestral no permite incluir tantas variables independientes.

5. DISCUSIÓN

Predecir con precisión el riesgo de una persona de desarrollar una enfermedad compleja es un reto difícil debido a que estas enfermedades son multifactoriales y con múltiples interacciones entre sus diversos factores de riesgo. La ETEV, resultado de la relación entre diferentes factores ambientales y hereditarios, es un claro ejemplo de ello. Sin embargo, es fundamental conocer su etiología y mecanismos de cronicidad para hacer una correcta discriminación entre las personas con alto y bajo riesgo de recurrencia y determinar la duración óptima del tratamiento.

Se han identificado algunos factores de riesgo tanto clínicos, analíticos como de imagen que pueden ayudar a conocer el riesgo de recurrencia tras interrumpir el tratamiento. Sin embargo, pese a la contribución sustancial del componente genético en la ETEV y los nuevos conocimientos generados por los GWAS muchos de sus factores e interacciones se desconocen actualmente.

En comparación con la información disponible sobre el riesgo de un primer episodio, disponemos de escasa evidencia con respecto a la variabilidad genética y su influencia en el riesgo de recidiva. Además, la importancia clínica de las mutaciones genéticas con mayor riesgo en primer evento, es controvertida en la recurrencia.

Sobre esta base se desarrolla el presente trabajo de investigación. A continuación, se discutirán los aspectos más relevantes.

En cuanto a la población de estudio podemos decir que, se trata de una cohorte homogénea y bien caracterizada de 330 pacientes jóvenes y sin enfermedad previa al primer evento trombótico.

Aunque el tamaño muestral es pequeño en comparación con estudios similares(366,367), se trata de un estudio unicéntrico en el que todos los pacientes son de origen caucásico y pertenecen a la misma zona geográfica lo cual evita sesgos genéticos.

Nuestros pacientes son más jóvenes (35.8 ± 8.9 años) (**Tabla 4**) que los de los 2 estudios disponibles que evalúan un SRG en la recurrencia de ETEV(366,367), 48 ± 13 años para el estudio de Hylckama Vileg y colaboradores(366) y 61 ± 18 años para el estudio de Ahmad y colaboradores(367). Así, se minimiza el impacto de la

edad, y otros factores de riesgo asociados a la misma, en el riesgo de retrombosis. De este modo, se pretende conocer mejor la influencia de los factores genéticos en la evolución de la enfermedad.

Del total de pacientes, 72 tuvieron al menos una recidiva durante el periodo de seguimiento, lo que supone una incidencia de recurrencia de 41.2 por 1000 personas-año, superior a los estudios citados previamente donde la incidencia se estima alrededor del 30%(366,367). Esto podría deberse a que en nuestro estudio habían menos mujeres (45%) que en los otros 2 estudios (54 y 51% respectivamente) y está descrito que la recurrencia es mayor en hombres(18). Otra posible explicación sería debida a el mayor tiempo de seguimiento, en nuestro caso, respecto al estudio de Ahmad(367). Sin embargo, en el estudio de Hylckama Vileg y colaboradores(366) sigue habiendo un menor porcentaje de recurrencia pese a similar tiempo de seguimiento. Otra opción podría ser que, al ser un grupo joven respecto a los otros estudios, hayamos seleccionado un grupo con un mayor componente genético que favorezca la recurrencia. No disponemos de los datos sobre el tiempo de anticoagulación de los otros estudios así que no podemos especular acerca de este punto.

En nuestro caso no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes que recidivaron frente a los que no en cuanto a edad y sexo (**Tabla 4**). Esto contrasta con los otros dos estudios similares donde la recurrencia fue mayor en hombres que en mujeres (366,367). La diferencia podría explicarse quizá por el menor número de pacientes incluidos en nuestro estudio.

Dado que la presencia de enfermedades crónicas era un criterio de exclusión en nuestro estudio, encontramos un porcentaje bajo de hipertensos (5.2%), diabéticos (3.3%) y dislipémicos (7.9%), la mayoría de los cuales fueron diagnosticados a lo largo del seguimiento (**Tabla 4**). No encontramos diferencias significativas entre el IMC y la obesidad entre los pacientes que recidivaron frente a los que no, pese a que la obesidad es un factor de riesgo conocido de recurrencia(229). Esto probablemente es debido a la menor prevalencia de obesidad en población joven (383).

En nuestro estudio, en 82 pacientes (24.8%) se constató la presencia de trombofilia hereditaria, en 34 (10.3%) AAFL y en más de la mitad de los pacientes

(179, 54.2%) no se hallaron datos de trombofilia hereditaria ni presencia de AAFL (Tabla 4).

Cabe destacar que en el estudio de Hylckama Vileg y colaboradores(366) el porcentaje de pacientes con la mutación del *FVL* y la *disprotrombinemia* fue muy similar al porcentaje de nuestros pacientes con trombofilia hereditaria (alrededor del 25%) y dada la baja frecuencia de las mutaciones *AT* (1.5%), *PC* (2.1%) o *PS* (1.8%) que hubo en nuestra población, podemos asumir cifras comparables de *FVL* y *disprotrombinemia* con el estudio mencionado. No ocurrió lo mismo con el estudio de Ahmad y colaboradores(367) en el que reportan cifras de trombofilia hereditaria en los pacientes que recurrieron de casi un 50%, mientras que en nuestra población sólo el 32% de los pacientes que recidivaron tenían alguna de las mutaciones consideradas como trombofilia hereditaria, sin diferencias significativas frente al grupo que no recidivó.

Al comparar la prevalencia descrita en la literatura de las variantes de trombofilia hereditaria clásica en pacientes no seleccionados con ETEV con la obtenida en nuestra población, vemos que el *FVL* fue el más frecuente (15.2%) aunque algo inferior a lo descrito en estudios previos de alrededor del 20%(69). La siguiente en frecuencia fue la *disprotrombinemia* con una frecuencia de 9.4%, en este caso superior al 6% descrito en otros trabajos(128). Los déficits de los inhibidores naturales de la coagulación, *AT*, *PC* y *PS* presentaron una prevalencia acorde, en nuestra población, a la descrita en la literatura (1.5, 2.1 y 1.8 respectivamente)(54,119).

No encontramos datos sobre el porcentaje de pacientes con AAFL en los estudios de Hylckama Vileg y Ahmad(366,367) pero sí observamos, revisando series históricas, porcentajes dispares entre un 5%(384) y un 30%(385), encontrándose nuestra serie en un valor intermedio del 10%. Esta diferencia de porcentajes podría atribuirse a que estos estudios son anteriores a la aplicación de los criterios de Sapporo(176) y por tanto la variabilidad de AAFL analizados puede ser elevada.

No observamos diferencias, estadísticamente significativas de los distintos fenotipos entre el grupo de recidiva frente al que no (Tabla 4), probablemente

porque en el fenotipo de mayor riesgo de recidiva, el fenotipo 2, el tratamiento indefinido fue más frecuente que en los otros 2 grupos.

En cuanto a los factores de riesgo adquiridos, la toma de AINES fue el más frecuente en nuestra población (29.7%), sin diferencias significativas entre los pacientes que recidivaron frente a los que no lo hicieron (**Tabla 6**). Entre los distintos fenotipos, sí encontramos diferencias en la toma de AINES que fue significativamente menor en el grupo de AAFL que en el fenotipo 3. Esto probablemente sea debido a que los pacientes con AAFL y manifestaciones clínicas reciben tratamientos inmunosupresores e inmunomoduladores con potente acción antiinflamatoria lo que disminuye el uso de AINES.

Está descrito en la literatura que los pacientes que toman AINES, en particular los inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa 2 (COX₂), tienen prácticamente el doble de riesgo de tener una trombosis venosa con respecto a las personas que no los toman. En un metaanálisis reciente, con más de 21000 casos de ETEV y 100.000 controles, la OR entre los usuarios de AINES fue de 1.8 (IC 95%: 1.28-2.53) y de 1.99 (IC 95%: 1.44-2.75) para los pacientes que tomaron inhibidores de la COX₂(386). El mecanismo del aumento de riesgo, pese a que no se conoce con precisión, se especula que podría ser el hecho de que estos antiinflamatorios inhiben la síntesis de prostaciclina y facilitan la liberación de tromboxano, un potente activador de la agregación plaquetaria lo que podría a su vez, inducir la formación del trombo.

El tratamiento hormonal también tuvo especial relevancia en nuestra población (23.3%), de manera similar a lo descrito en otros trabajos(54-56). Esto probablemente es debido a la edad de nuestra muestra, donde el tratamiento anticonceptivo y la gestación es frecuente.

Cuando analizamos el número de factores de riesgo que presentó cada paciente de manera simultánea (**Figura 42**), al contrario de lo que cabría esperar dada la naturaleza multifactorial de la ETEV y la literatura previa(387), la mayor parte de ellos presentaba únicamente 1 factor de riesgo o eran trombosis no provocadas. En menos del 10% de la muestra se presentaban 2 factores de riesgo asociados. Si bien, este dato hace que la carga genética sea aún más importante si

cabe en nuestra población, nos planteamos que pudiera ser un sesgo en la recogida de datos pese a la meticulosidad con la que se llevó a cabo.

Por lo que respecta a las variantes genéticas que seleccionamos para analizar, observamos que todas se encuentran en genes implicados en la fisiopatología de la ETEV. *F2*, *F5* y *F11* codifican factores de la coagulación. *SERPINC1* codifica la AT que es el principal anticoagulante endógeno. *FGA*, *FGB* y *FGG* codifican fibrinógeno que es el precursor de la fibrina, un componente esencial del sistema hemostático. *CYP4V2* modula los niveles plasmáticos del FXI de la coagulación. *GP6* codifica la glicoproteína VI que favorece la agregación plaquetaria. *PAI-1* codifica el inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 con un papel destacado en el sistema fibrinolítico(84,388,389).

En modelo aditivo, el alelo *D* del polimorfismo *rs1799768* fue el único que incrementó de forma significativa el riesgo de retrombosis, teniendo los pacientes homocigotos para este alelo una mayor incidencia de recurrencia durante el seguimiento.

El *rs1799768* es el polimorfismo más estudiado del gen *PAI-1*, también llamado *SERPINE1*, que codifica el inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 y se localiza en el cromosoma 7 (7q22.1). Esta variante genética, consiste en una sola variación de inserción/delección de nucleótidos de guanosina (4G/5G) situada en la posición -675 de la región promotora de este gen. El alelo 4G es más activo transcripcionalmente que el alelo 5G ya que éste contiene un sitio adicional de unión a una proteína represora(390) de modo que la transcripción de *PAI-1* aumenta en presencia del alelo 4G(391,392) y por tanto se especula que su presencia podría contribuir a un mayor riesgo de eventos trombóticos.

El PAI 1 es una glicoproteína de la superfamilia del inhibidor de las proteasas de serina (SERPIN) que desempeña un papel clave en el sistema fibrinolítico. Es el principal inhibidor de los activadores del plasminógeno tisular y del tipo uroquinasa. Estos activadores promueven la conversión del plasminógeno en plasmina(393) la cual, disuelve los coágulos de fibrina. Por tanto, la sobreexpresión de *PAI-1*, puede provocar el deterioro del sistema fibrinolítico aumentando el riesgo de trombosis.

Además, el PAI-1 también está implicado en procesos como la recuperación celular, la angiogénesis y sobretodo la inflamación(394-396). Es considerado un reactante de fase aguda estrechamente asociado con otras citoquinas inflamatorias como la interleucina 6 y el factor de necrosis tumoral alfa que se consideran los principales contribuyentes a los aumentos de los niveles de PAI-1(397,398). Esto es importante ya que la IL-6, producida tras la estimulación por TNF- α , induce la síntesis de PCR(399,400), haptoglobina y fibrinógeno(401) e inhibe la síntesis de AT y albúmina(402). De hecho, la IL-6 tiene importantes efectos protrombóticos y además promueve la agregación plaquetaria(401,403,404).

Como se comentó previamente en la introducción, existe una evidencia cada vez más sólida de la compleja interacción entre el sistema de la coagulación y la inflamación en la formación de trombos, lo que se ha denominado inmunotrombosis(41). En el presente trabajo, cuando analizamos los parámetros analíticos en los distintos grupos fenotípicos observamos diferencias en los valores de fibrinógeno y otros parámetros inflamatorios, incluyendo la PCR y la VSG que estaban significativamente más elevados en el grupo de AAFL (**Tabla 8**). Como sabemos, este grupo es quizá el que posee más riesgo de recidiva pese a que en nuestra población no hubo diferencias estadísticamente significativas probablemente por una mayor proporción de enfermos con tratamiento anticoagulante indefinido (**Tabla 7**).

Otro hecho importante es la asociación de los niveles de PAI-1 con la obesidad(405), uno de los principales factores de riesgo de recurrencia en la ETEV(228). De hecho, se ha sugerido que el genotipo homocigoto 4G/4G, que presenta niveles más elevados de PAI-1, está asociado con la obesidad, modulando los cambios en la distribución del tejido adiposo en la menopausia(406). Por otra parte, el exceso de depósitos de grasa aumenta la inducción de PAI-1 mediada por el estrés, causando de forma significativa eventos trombóticos en obesos(407). Además, la obesidad está considerada como un estado inflamatorio(408) y se conoce su capacidad para sintetizar y secretar una serie de citoquinas inflamatorias, en particular IL-6 y TNF- α (409) que son capaces de inducir la sobreexpresión de PAI-1.

En la literatura, y en contra de lo que cabría esperar según los datos expuestos hasta ahora, la asociación entre la presencia del alelo 4G y el riesgo de un primer episodio de ETEV es muy controvertida(389,410–415). De hecho, en el metaanálisis más potente de GWAS realizado y utilizando la base de datos de los 1000 genomas(106), no se encontró asociación significativa entre esta mutación y el primer episodio de trombosis venosa.

Hasta el momento, sólo hay un estudio donde se ha investigado la relación entre el riesgo de recurrencia de la ETEV y el polimorfismo 4G/5G(416). En este trabajo, se observó que el papel del alelo 4G del *PAI-1* en la retrombosis dependía de la presencia de la mutación del *FVL*, es decir, se asociaba con mayor riesgo de recurrencia solo en presencia del *FVL*.

Este hallazgo, que ya se había observado en pacientes con primer episodio(415,417,418), apoya la idea que el polimorfismo 4G/5G es una mutación que transmite poco riesgo per se siendo sus manifestaciones clínicas más evidentes cuando se combina con otras variantes genéticas(419).

El presente trabajo se ha realizado en pacientes jóvenes sin comorbilidades o enfermedades crónicas asociadas y que ya habían presentado un primer episodio de ETEV. Esto quiere decir que probablemente se trata de una población con una carga alta de mutaciones genéticas, conocidas o no. El polimorfismo 4G/5G, por tanto, presenta epistasis con otras variantes genéticas y este podría ser el motivo del mayor riesgo de recurrencia trombótica asociado en nuestro estudio.

Por otro lado, en un segundo paso y con las variables genéticas seleccionadas, evaluamos en nuestra población la validez predictiva de 3 SRG: un “score” global (con alelos de riesgo y alelos protectores), un “score” de riesgo y un “score” protector.

En los 3 “scores” analizamos, por una parte, una puntuación básica de riesgo genético en función del número total de alelos de riesgo/protectores y por otra parte, para tener en cuenta la asociación más fuerte de algunas mutaciones con la ETEV, asignamos pesos basados en el logaritmo de la OR de retrombosis de cada SNP obteniendo un “score” ponderado.

Observamos que a mayor puntuación del “score”, mayor porcentaje de recidivas de forma significativa en el “score” ponderado global (**Figura 52**) y en el “score” ponderado de riesgo y por número de alelos de riesgo (**Figuras 54 y 55**).

Pese a que las puntuaciones del “score” fueron similar, tras ajustar por edad y sexo, en los distintos grupos fenotípicos, las diferencias significativas en porcentaje de recidivas y tertiles del “score” observadas en el total de la población, dependían fundamentalmente del fenotipo 3 (**Figuras 53, 56 y 57**). Es decir, la mayor utilidad clínica del “score” en la predicción de recidiva fue en el grupo de pacientes sin trombofilia hereditaria clásica ni presencia de AAFL. Este dato es importante ya que, en la práctica clínica habitual, es en estos pacientes y quizá en los del fenotipo tipo 1, donde es más difícil predecir el riesgo de recurrencia, sobretodo si son pacientes sin otros factores de riesgo identificables o con ETEV no provocada.

Los pacientes de fenotipo tipo 2 (AAFL) generalmente son catalogados como de riesgo alto y por tanto con indicación de prolongar la anticoagulación. Por contra, es frecuente que los pacientes con fenotipo tipo 1 o tipo 3 se cataloguen, con los datos clínicos y de laboratorio disponibles actualmente, como de riesgo intermedio lo cual ofrece muchas dudas en cuanto a la decisión de prolongar o no la anticoagulación. Por tanto, el disponer de una herramienta adicional que pueda aportar información sobre el riesgo de retrombosis en estos pacientes es extremadamente necesario.

Para analizar la capacidad predictiva de los distintos SRG obtuvimos las curvas ROC para los modelos de regresión logística y el estadístico C basado en los modelos de regresión de Cox ajustados.

En las curvas ROC descubrimos que la adición de la puntuación de riesgo genético al modelo considerando únicamente variables clínicas asociadas al riesgo de recidiva, mejoró considerablemente el AUC (**Figuras 61, 62 y 63**), aunque la capacidad discriminativa seguía siendo pobre.

Previamente, De Haan y colaboradores(368) habían analizado el uso de un modelo combinado de factores genéticos y no genéticos para predecir el riesgo de primer episodio de ETEV. Su puntuación no genética tuvo un AUC superior a la obtenida por la puntuación genética pero no a la obtenida por la puntuación

coordinada genética y no genética. Pese a que nuestro estudio no es comparable puesto que tanto los factores clínicos como los SNPs analizados son diferentes y además la variable dependiente analizada no es la misma (primer evento o recurrencia), nosotros observamos algo similar. Es decir, las variables clínicas parecen tener mayor capacidad predictiva que la puntuación genética, sin embargo, ésta aporta capacidad de predicción.

En este sentido, calculamos y comparamos el estadístico C, equivalente al AUC, para los modelos de regresión de Cox, incluyendo solo el SRG, solo las variables clínicas asociadas al riesgo de recidiva o ambos y observamos que la mejor predicción se obtuvo al considerar, de manera conjunta el “score” junto con las variables clínicas (**Figuras 64 y 65**).

Al añadir variables analíticas como número de leucocitos, plaquetas, proteínas totales o parámetros de inflamación, aumentó considerablemente la capacidad predictiva de los modelos, pero nuestro pequeño tamaño muestral no permite la inclusión de tal número de variables independientes.

Es probable que la adición al modelo de nuevas mutaciones descubiertas recientemente pueda mejorar la capacidad predictiva del SRG. De hecho, un estudio de simulación, demuestra que el AUC depende del número de SNP incluidos, de su OR y de la frecuencia de los alelos de riesgo(420). Si se tiene en cuenta que la heredabilidad de la ETEV es de aproximadamente 50-60%(59,60) el AUC máxima que se podría obtener si todos los contribuyentes genéticos estuvieran en el modelo de predicción sería de 0.90.

En cualquier caso, nuestros SRG han demostrado mejorar la evaluación habitual del riesgo de ETEV basada una serie de variables clínicas. Por tanto, la evaluación conjunta del riesgo clínico y genético, mediante SRG, permite discriminar mejor a las personas con alto riesgo de recurrencia y que deben recibir tratamiento anticoagulante a largo plazo de las de bajo riesgo en las que se puede suspender de forma segura la anticoagulación. Esto es fundamental para minimizar la aparición de eventos adversos, es decir, recurrencias y hemorragias.

Nuestros resultados son coherentes con los datos obtenidos por los escasos estudios disponibles que evalúan un SRG en la recurrencia de ETEV.

En 2008, Van Hylckama y colaboradores(421) sembraron la semilla de los SRG al examinar, de manera sistemática, el efecto de la herencia de múltiples SNPs potencialmente causales en el riesgo de recurrencia. Para ello, en 817 pacientes con un primer episodio de ETEV, midieron 15 SNPs localizados en los locus *FVL*, *MTHFR*, *FGB*, *HR2*, *FXIII*, *CYP2C9*, *PT20210*, *IL1B*, *ACE*, *CBS* y *TFPI*. Fueron añadiendo de manera secuencial los SNPS, en orden de rango de riesgo y vieron que conforme aumentaban el número de SNPS, aumentaba el riesgo de recurrencia, pero también disminuía el número de pacientes que portaban las mutaciones. Por tanto, concluyeron que pese a demostrar su utilidad, el análisis de múltiples SNPs en la recurrencia de ETEV se limitaría a una pequeña proporción de pacientes.

En 2014, este mismo grupo(366), elaboró una puntuación o SRG basado en 31 SNPS de 22 genes asociados de manera consistente con el riesgo de un primer evento y evaluó su valor predictivo en la recurrencia. Los SNP se localizaban en los locus *F5*, *F2*, *F11*, *ABO*, *F13A1*, *FVW*, *SERPINC1*, *FGG*, *RGS7*, *PROCR*, *F9*, *NAT8B*, *PROC*, *F3*, *F13B*, *F8*, *TFPI*, *HIVEP1*, *NR1I2*, *STXBP5*, *CPB2* y *GP6* y en un modelo aditivo todos los SNPs individuales se asociaron ligeramente con el riesgo de recurrencia, con la asociación más estrecha para la mutación *FVL*. Tras 4 años de seguimiento hubo una tendencia hacia más alelos de riesgo en los pacientes que recidivaron en comparación con los pacientes que no lo hicieron.

Sorprendentemente, estos autores observaron que un SRG que incluía los 5 SNPS (*F5*, *F2*, *ABO*, *F11*, *FGG*) que más sólidamente se asociaban con la ETEV mostraba una capacidad predictiva similar que el SRG basado en los 31 SNPs. Este hecho indica el valor limitado de las variantes frecuentes con OR bajas cuando se comparan con variantes de baja frecuencia pero OR altas, lo que pone de manifiesto la necesidad de identificar nuevas mutaciones raras pero con alto riesgo asociado de retrombosis para optimizar los modelos de predicción.

En 2019 Ahmad y colaboradores(367) testaron un SRG de 12 SNPs en un estudio de seguimiento prospectivo de 1465 pacientes con un episodio de ETEV previo. Los SNPs se localizaban en los locus *A2M*, *ABO*, *FGG*, *FV*, *PAI-1*, *F11*, *TTO*, *ApoM*, *MRPL37*, *THBD* y *P Selectina*. En un modelo aditivo, los SNPs que de manera individual se asociaron más estrechamente con el riesgo de recurrencia fueron los

situados en los locus *A2M*, *ABO*, *FGG* y *FVL*. Todos los demás SNPs mostraron una asociación leve, nula o incluso negativa cuando se analizaron individualmente. Al aumentar el número de alelos de riesgo observaron una tendencia al aumento del número de pacientes que recidivaban.

Además, al igual que en el estudio anterior, el poder discriminatorio de un modelo simplificado de 8 SNPs (*FVL*, *F2*, *ABO*, *FGG*, *F11*, *PAI-1*, *TFAM* y *ApoM*) fue similar al de 12 SNPs particularmente en ETEV provocado y en pacientes varones.

Cabe destacar que los “scores” analizados en estos estudios se basaron únicamente en el conteo simple de alelos de riesgo, mientras que en nuestro estudio añadimos el “score” ponderado en el que a cada alelo de riesgo se le daba un peso determinado en función del logaritmo de la OR lo que puede ayudar a una predicción más precisa.

Como objetivos secundarios, analizamos el impacto de las variantes genéticas en el riesgo de recidiva según el fenotipo clínico y establecimos haplotipos de riesgo para la recidiva.

En cuanto a la asociación de los polimorfismos con los fenotipos clínicos, el hallazgo en el fenotipo 1 (trombofilia hereditaria) de una proporción mayor, estadísticamente significativa, del *FVL* y de la mutación *F2 G20210A* (**Tabla 15**) era algo esperable dado que son las mutaciones más prevalentes en la raza caucásica.

En el grupo de pacientes con AAFL, se encontró una proporción mayor de un polimorfismo próximo al *PAI-1* y probablemente con un alto desequilibrio de ligamiento con él (**Tabla 16**). Esto, tal y como se ha comentado previamente, refuerza nuestros hallazgos de mayor patrón inflamatorio en estos pacientes y alto riesgo de recurrencia.

Más difícil de interpretar son los hallazgos del *FGG*, menos frecuente en el fenotipo 2 y más en el fenotipo 3, así como la mayor proporción del polimorfismo del *F11* en el fenotipo 2 y del polimorfismo del *F5* en el fenotipo 3 (**Tabla 17**). En este sentido, no hemos encontrado ningún trabajo en la literatura en el que se compartan estos resultados por lo que sigue siendo necesario la replicación de los resultados en otras poblaciones.

Posteriormente, teniendo en cuenta los principales polimorfismos asociados en el análisis individual, realizamos el análisis de asociación utilizando haplotipos. Este análisis, en contraposición al análisis con marcadores individuales, hace que los resultados sean más consistentes.

No obstante, detectamos un único haplotipo asociado con el riesgo de recidiva trombótica (**Figura 51 y Tabla 21**). Este haplotipo, se localiza en el cromosoma 4 y está formado por polimorfismos de los locus *FGA* (*rs6050* y *rs2070006*) y *F11* (*rs3822057* y *rs2036914*). Hasta la fecha no ha sido descrito previamente y sería interesante su análisis en otras poblaciones con mayor tamaño muestral con el fin de profundizar en el conocimiento de la interrelación entre los genes que afectan el desencadenamiento de la recurrencia en la ETEV.

Tras la discusión de estos aspectos, es interesante mencionar que nuestro estudio presenta una serie de puntos fuertes como son el gran número de recurrencias observados en una cohorte homogénea y bien caracterizada de pacientes, con un seguimiento prolongado y estricto. Esto nos permitió realizar una rigurosa definición del fenotipo evitando sesgos de clasificación, reforzando la validez interna de nuestros hallazgos y maximizando la calidad de los datos notificados.

Al mismo tiempo, hemos demostrado que la combinación de factores clínicos y genéticos en una sola puntuación combinada produce un modelo predictivo con mejor precisión diagnóstica. Nuestros resultados sugieren que la utilización de puntuaciones de riesgo poligénico, o SRG, en la práctica clínica podrían mejorar la predicción y tratamiento de las recurrencias de la ETEV.

Como hemos comentado previamente, en nuestro trabajo, hemos analizado un “score” ponderado en el que hemos considerado que cada variante genética pudiera tener distinto peso en función del riesgo asociado, en oposición a estudios previos que se basaban únicamente en el conteo simple de alelos de riesgo considerando el mismo peso para todos los polimorfismos.

Pese a los inconvenientes del estudio genético, incluyendo el precio y la demora en los resultados, dado que la población a la que se plantea aplicarla son los pacientes de alto riesgo con un primer episodio previo de ETEV, los recursos

utilizados serían menores que si se utilizaran en población general. Además, si se determina de antemano un grupo de marcadores concretos con fines diagnósticos y no de investigación, se podría disminuir drásticamente tanto el coste como el tiempo de espera facilitando su inclusión en la práctica clínica diaria.

Tras todo lo discutido previamente, pese a que nuestros resultados muestran una buena relación entre el SRG y el riesgo de ETEV, deben interpretarse con precaución debido a las limitaciones de nuestro estudio.

En primer lugar, se trata de un estudio unicéntrico con una cohorte de pequeño tamaño en el que los datos se extrajeron retrospectivamente. Aunque, si bien es cierto que el tamaño muestral fue bajo, lo que a priori apunta a que el estudio se realizara con poca potencia, la precisión del fenotipo en nuestro caso pudo minimizar el problema. Por otra parte, el hecho de ser todos los pacientes jóvenes, de ascendencia europea y pertenecer a la misma zona geográfica, aunque evita determinados sesgos genéticos como la mezcla de etnias, puede hacer que se incluyan otros como la presencia de perfiles genéticos propios que hace que sea difícil extrapolar nuestros resultados a pacientes de otras edades y razas.

El limitado número de pacientes incluidos en el estudio, hizo que no pudiéramos realizar análisis estratificados por subtipo de enfermedad (TVP o TEP), por etiología según factores de riesgo asociados (provocado o no provocado) o por sexo, entre otros.

Cabe destacar que la estrategia de genes candidatos y GWAS en la que se basó la identificación de los SNPs analizados en el presente trabajo, identifica principalmente las variaciones genéticas comunes, pero con efectos marginales. Es probable, que las variantes raras, es decir, de baja frecuencia, pero con riesgo asociado alto, puedan influir en la heredabilidad perdida. En este sentido, es importante mencionar que en el presente estudio no se han incluido antecedentes familiares de los pacientes debido a que su recogida fue errática y limitada a un pequeño número de participantes.

Así mismo, dado que las muestras se recogieron y analizaron en el periodo de tiempo comprendido entre 1989 y 2017, es posible que en el “score” propuesto no se hayan tenido en cuenta variantes genéticas descubiertas posteriormente y que pudieran haber influido en el resultado. No obstante, pensamos que el

presente trabajo demuestra la utilidad de la aplicación de una puntuación genética múltiple independientemente de los SNPs utilizados que obviamente podrían optimizarse con el paso del tiempo.

Por otro lado, nuestro “score” de riesgo genético está limitado por la suposición de que todos los SNP actúan de manera aditiva en el riesgo de ETEV, mientras que no se puede excluir un efecto multiplicativo. Sabemos que el desarrollo de esta enfermedad es producto de la sinergia de varios factores, tanto genéticos como adquiridos, de modo que el riesgo es producto de la interacción entre genes y entre estos con el ambiente y no por la simple suma de factores de riesgo individuales.

En cuanto al análisis estadístico genético, uno de los principales problemas es la posibilidad de resultados falsos positivos debido a las múltiples comparaciones. Para abordar este problema hay varios métodos estadísticos, siendo el de Bonferroni el más utilizado, pero también el más estricto. En nuestro caso, en la regresión logística, no encontramos asociación con ningún polimorfismo usando la corrección por comparaciones múltiples por lo que, teniendo en cuenta que todos los locus analizados eran genes candidatos, decidimos obviar esta corrección. No podemos descartar, no obstante, que alguno de nuestros resultados pudiera tratarse de un falso positivo.

Por último, nuestros resultados no se han replicado en otras poblaciones ni se ha evaluado su utilidad clínica, en términos de reducción de eventos, así como su rentabilidad, lo que queda pendiente para futuros estudios.

6. CONCLUSIONES

1. En una población de sujetos jóvenes con un primer episodio de ETEV y sin comorbilidades asociadas, aquellos con la presencia de AAFL presentaron valores de parámetros inflamatorios más elevados lo que refuerza la hipótesis de la inmunotrombosis en la ETEV.
2. El alelo *D* del polimorfismo *rs1799768* del gen del PAI-1 (*SERPINE1*), en un modelo aditivo, aumentó de forma significativa el riesgo de recidiva en nuestra población. Sería de gran importancia replicar este resultado en otras poblaciones para delinear el papel causal de esta variante, ya sea sola o asociada con otros polimorfismos, en la recidiva de la ETEV.
3. La ETEV es una enfermedad poligénica donde la susceptibilidad de presentar la enfermedad se debe a un gran número de efectos acumulativos de diversas variantes genéticas. Dada la baja prevalencia de estas variantes en la población general su consideración individual tiene poca relevancia clínica pero la utilización de múltiples marcadores genéticos optimiza la predicción del riesgo de recurrencia.
4. En nuestra población, la aplicación de una puntuación de riesgo genético o SRG mejoró sustancialmente el algoritmo clínico de evaluación del riesgo de retrombosis y puede ser especialmente relevante en pacientes sin AAFL y sin trombofilia hereditaria.
5. Las puntuaciones de riesgo, como el SRG propuesto en esta tesis, se deberían considerar para su integración en el diseño de estrategias terapéuticas individualizadas en pacientes con alto riesgo de recidiva de ETEV.

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

Ante la necesidad de identificar nuevas mutaciones de baja frecuencia, pero con alto riesgo de presentar la enfermedad, se está implantando el uso de la secuenciación como método de elección para identificar mutaciones desconocidas o extremadamente raras causantes de enfermedades comunes. En este sentido, las técnicas de secuenciación de nueva generación se pueden aplicar a un conjunto de genes candidatos, a toda la parte codificante del genoma (exoma) o a todo el genoma. Su uso en la ETEV permitirá descubrir nuevos locus y vías biológicas relacionadas con la ETEV y su recidiva.

También sería interesante considerar aquellos elementos genéticos que no cambian la secuencia del ADN pero que influyen en la expresión y regulación, lo que se conoce como epigenética y que es un campo escasamente explorado en la ETEV.

Así mismo, es necesario profundizar en la interacción gen-gen y considerar otros factores de riesgo clínico para mejorar aún más la predicción del riesgo de recurrencia.

Por último, se deben planificar más estudios específicamente en recidiva para evitar extrapolar los datos obtenidos en primer episodio con los potenciales sesgos derivados.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Spronk HMH, Govers-Riemslog JWP, ten Cate H. The blood coagulation system as a molecular machine. *BioEssays News Rev Mol Cell Dev Biol.* diciembre de 2003;25(12):1220-8.
2. García-Fuster MJ, Fernández C, Forner MJ, Vayá A. [Risk factors and clinical characteristics of thromboembolic venous disease in young patients: a prospective study]. *Med Clin (Barc).* 10 de julio de 2004;123(6):217-9.
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.* octubre de 2007;98(4):756-64.
4. Geerts WH, Bergqvist D, Pineo GF, Heit JA, Samama CM, Lassen MR, et al. Prevention of venous thromboembolism: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest.* junio de 2008;133(6 Suppl):381S-453S.
5. Hasegawa J, Sekizawa A, Tanaka H, Katsuragi S, Osato K, Murakoshi T, et al. Current status of pregnancy-related maternal mortality in Japan: a report from the Maternal Death Exploratory Committee in Japan. *BMJ Open.* 1 de marzo de 2016;6(3):e010304.
6. Cantwell R, Clutton-Brock T, Cooper G, Dawson A, Drife J, Garrod D, et al. Saving Mothers' Lives: Reviewing maternal deaths to make motherhood safer: 2006-2008. The Eighth Report of the Confidential Enquiries into Maternal Deaths in the United Kingdom. *BJOG Int J Obstet Gynaecol.* marzo de 2011;118 Suppl 1:1-203.
7. Wik HS, Jacobsen AF, Sandvik L, Sandset PM. Prevalence and predictors for post-thrombotic syndrome 3 to 16 years after pregnancy-related venous thrombosis: a population-based, cross-sectional, case-control study. *J Thromb Haemost JTH.* mayo de 2012;10(5):840-7.
8. Rabinovich A, Kahn SR. How I treat the postthrombotic syndrome. *Blood.* 17 de mayo de 2018;131(20):2215-22.
9. Sista AK, Klok FA. Late outcomes of pulmonary embolism: The post-PE syndrome. *Thromb Res.* abril de 2018;164:157-62.
10. Heit JA. Epidemiology of venous thromboembolism. *Nat Rev Cardiol.* agosto de 2015;12(8):464-74.
11. Raskob GE, Angchaisuksiri P, Blanco AN, Buller H, Gallus A, Hunt BJ, et al. Thrombosis: a major contributor to global disease burden. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* noviembre de 2014;34(11):2363-71.
12. Tagalakis V, Patenaude V, Kahn SR, Suissa S. Incidence of and mortality from venous thromboembolism in a real-world population: the Q-VTE Study Cohort. *Am J Med.* septiembre de 2013;126(9):832.e13-21.
13. Heit JA, Spencer FA, White RH. The epidemiology of venous thromboembolism. *J Thromb Thrombolysis.* enero de 2016;41(1):3-14.
14. Siegal DM, Eikelboom JW, Lee SF, Rangarajan S, Bosch J, Zhu J, et al. Variations in incidence of venous thromboembolism in low-, middle-, and high-income countries. *Cardiovasc Res.* 21 de enero de 2021;117(2):576-84.
15. Silverstein MD, Heit JA, Mohr DN, Petterson TM, O'Fallon WM, Melton LJ. Trends in the incidence of deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a 25-year population-based study. *Arch Intern Med.* 23 de marzo de 1998;158(6):585-93.

16. Roach REJ, Lijfering WM, Rosendaal FR, Cannegieter SC, le Cessie S. Sex difference in risk of second but not of first venous thrombosis: paradox explained. *Circulation*. 7 de enero de 2014;129(1):51-6.
17. Naess IA, Christiansen SC, Romundstad P, Cannegieter SC, Rosendaal FR, Hammerstrøm J. Incidence and mortality of venous thrombosis: a population-based study. *J Thromb Haemost JTH*. abril de 2007;5(4):692-9.
18. Kyrle PA, Minar E, Bialonczyk C, Hirschl M, Weltermann A, Eichinger S. The risk of recurrent venous thromboembolism in men and women. *N Engl J Med*. 17 de junio de 2004;350(25):2558-63.
19. Cohen AT, Katholing A, Rietbrock S, Bamber L, Martinez C. Epidemiology of first and recurrent venous thromboembolism in patients with active cancer. A population-based cohort study. *Thromb Haemost*. 5 de enero de 2017;117(1):57-65.
20. Guijarro Merino R, Montes Santiago J, San Román Terán CM. [Epidemiology of venous thromboembolism disease in Spain]. *Med Clin (Barc)*. noviembre de 2008;131 Suppl 2:2-9.
21. Verso M, Agnelli G, Ageno W, Imberti D, Moia M, Palareti G, et al. Long-term death and recurrence in patients with acute venous thromboembolism: the MASTER registry. *Thromb Res*. septiembre de 2012;130(3):369-73.
22. Spencer FA, Emery C, Joffe SW, Pacifico L, Lessard D, Reed G, et al. Incidence rates, clinical profile, and outcomes of patients with venous thromboembolism. The Worcester VTE study. *J Thromb Thrombolysis*. noviembre de 2009;28(4):401-9.
23. Kyrle PA, Rosendaal FR, Eichinger S. Risk assessment for recurrent venous thrombosis. *Lancet Lond Engl*. 11 de diciembre de 2010;376(9757):2032-9.
24. Prandoni P, Noventa F, Ghirarduzzi A, Pengo V, Bernardi E, Pesavento R, et al. The risk of recurrent venous thromboembolism after discontinuing anticoagulation in patients with acute proximal deep vein thrombosis or pulmonary embolism. A prospective cohort study in 1,626 patients. *Haematologica*. febrero de 2007;92(2):199-205.
25. Heit JA, Mohr DN, Silverstein MD, Petterson TM, O'Fallon WM, Melton LJ. Predictors of recurrence after deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a population-based cohort study. *Arch Intern Med*. 27 de marzo de 2000;160(6):761-8.
26. 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*. 17 de diciembre de 2002;137(12):955-60.
27. 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*. 1 de julio de 1996;125(1):1-7.
28. Ende-Verhaar YM, Cannegieter SC, Vonk Noordegraaf A, Delcroix M, Pruszczyk P, Mairuhu ATA, et al. Incidence of chronic thromboembolic pulmonary hypertension after acute pulmonary embolism: a contemporary view of the published literature. *Eur Respir J*. febrero de 2017;49(2):1601792.
29. Kahn SR, Hirsch AM, Akaberi A, Hernandez P, Anderson DR, Wells PS, et al. Functional and Exercise Limitations After a First Episode of Pulmonary Embolism: Results of the ELOPE Prospective Cohort Study. *Chest*. mayo de 2017;151(5):1058-68.

30. Spencer FA, Gore JM, Lessard D, Douketis JD, Emery C, Goldberg RJ. Patient outcomes after deep vein thrombosis and pulmonary embolism: the Worcester Venous Thromboembolism Study. *Arch Intern Med.* 25 de febrero de 2008;168(4):425-30.
31. Goldhaber SZ, Visani L, De Rosa M. Acute pulmonary embolism: clinical outcomes in the International Cooperative Pulmonary Embolism Registry (ICOPER). *Lancet Lond Engl.* 24 de abril de 1999;353(9162):1386-9.
32. Andresen MS, Sandven I, Brunborg C, Njaastad AM, Strekerud F, Abdelnoor M, et al. Mortality and recurrence after treatment of VTE: long term follow-up of patients with good life-expectancy. *Thromb Res.* junio de 2011;127(6):540-6.
33. Heit JA, Silverstein MD, Mohr DN, Petterson TM, O'Fallon WM, Melton LJ. Predictors of survival after deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a population-based, cohort study. *Arch Intern Med.* 8 de marzo de 1999;159(5):445-53.
34. 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.* 21 de enero de 2020;41(4):522-9.
35. Bikdeli B, Wang Y, Jimenez D, Parikh SA, Monreal M, Goldhaber SZ, et al. Pulmonary Embolism Hospitalization, Readmission, and Mortality Rates in US Older Adults, 1999-2015. *JAMA.* 13 de agosto de 2019;322(6):574-6.
36. Barco S, Mahmoudpour SH, Valerio L, Klok FA, Münzel T, Middeldorp S, et al. Trends in mortality related to pulmonary embolism in the European Region, 2000-15: analysis of vital registration data from the WHO Mortality Database. *Lancet Respir Med.* marzo de 2020;8(3):277-87.
37. Barco S, Woersching AL, Spyropoulos AC, Piovela F, Mahan CE. European Union-28: An annualised cost-of-illness model for venous thromboembolism. *Thromb Haemost.* abril de 2016;115(4):800-8.
38. Grosse SD, Nelson RE, Nyarko KA, Richardson LC, Raskob GE. The economic burden of incident venous thromboembolism in the United States: A review of estimated attributable healthcare costs. *Thromb Res.* enero de 2016;137:3-10.
39. Mackman N. New insights into the mechanisms of venous thrombosis. *J Clin Invest.* julio de 2012;122(7):2331-6.
40. Khan F, Tritschler T, Kahn SR, Rodger MA. Venous thromboembolism. *Lancet Lond Engl.* 3 de julio de 2021;398(10294):64-77.
41. Engelmann B, Massberg S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nat Rev Immunol.* enero de 2013;13(1):34-45.
42. Owens AP, Mackman N. Microparticles in hemostasis and thrombosis. *Circ Res.* 13 de mayo de 2011;108(10):1284-97.
43. Thålin C, Hisada Y, Lundström S, Mackman N, Wallén H. Neutrophil Extracellular Traps: Villains and Targets in Arterial, Venous, and Cancer-Associated Thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* septiembre de 2019;39(9):1724-38.
44. Martinod K, Wagner DD. Thrombosis: tangled up in NETs. *Blood.* 1 de mayo de 2014;123(18):2768-76.
45. Koupenova M, Clancy L, Corkrey HA, Freedman JE. Circulating Platelets as Mediators of Immunity, Inflammation, and Thrombosis. *Circ Res.* 19 de enero de

2018;122(2):337-51.

46. Wang KL, van Es N, Cameron C, Castellucci LA, Büller HR, Carrier M. Extended treatment of venous thromboembolism: a systematic review and network meta-analysis. *Heart Br Card Soc.* abril de 2019;105(7):545-52.

47. Byrnes JR, Wolberg AS. Red blood cells in thrombosis. *Blood.* 19 de octubre de 2017;130(16):1795-9.

48. Goel R, Patel EU, Cushing MM, Frank SM, Ness PM, Takemoto CM, et al. Association of Perioperative Red Blood Cell Transfusions With Venous Thromboembolism in a North American Registry. *JAMA Surg.* 1 de septiembre de 2018;153(9):826-33.

49. van Montfoort ML, Stephan F, Lauw MN, Hutten BA, Van Mierlo GJ, Solati S, et al. Circulating nucleosomes and neutrophil activation as risk factors for deep vein thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* enero de 2013;33(1):147-51.

50. Diaz JA, Fuchs TA, Jackson TO, Kremer Hovinga JA, Lämmle B, Henke PK, et al. Plasma DNA is Elevated in Patients with Deep Vein Thrombosis. *J Vasc Surg Venous Lymphat Disord.* 1 de octubre de 2013;1(4).

51. Kunutsor SK, Seidu S, Khunti K. Statins and primary prevention of venous thromboembolism: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Haematol.* febrero de 2017;4(2):e83-93.

52. Kunutsor SK, Seidu S, Khunti K. Statins and secondary prevention of venous thromboembolism: pooled analysis of published observational cohort studies. *Eur Heart J.* 21 de mayo de 2017;38(20):1608-12.

53. Inherited thrombophilia: memorandum from a joint WHO/International Society on Thrombosis and Haemostasis meeting. *Bull World Health Organ.* 1997;75(3):177-89.

54. Lane DA, Mannucci PM, Bauer KA, Bertina RM, Bochkov NP, Boulyjenkov V, et al. Inherited thrombophilia: Part 1. *Thromb Haemost.* noviembre de 1996;76(5):651-62.

55. Martinelli I. Risk factors in venous thromboembolism. *Thromb Haemost.* julio de 2001;86(1):395-403.

56. Rosendaal FR. Venous thrombosis: a multicausal disease. *Lancet Lond Engl.* 3 de abril de 1999;353(9159):1167-73.

57. Franchini M. The utility of thrombophilia testing. *Clin Chem Lab Med.* 1 de abril de 2014;52(4):495-7.

58. Lindström S, Wang L, Smith EN, Gordon W, van Hylckama Vlieg A, de Andrade M, et al. Genomic and transcriptomic association studies identify 16 novel susceptibility loci for venous thromboembolism. *Blood.* 7 de noviembre de 2019;134(19):1645-57.

59. Larsen TB, Sørensen HT, Skytthe A, Johnsen SP, Vaupel JW, Christensen K. Major genetic susceptibility for venous thromboembolism in men: a study of Danish twins. *Epidemiol Camb Mass.* mayo de 2003;14(3):328-32.

60. Souto JC, Almasy L, Borrell M, Blanco-Vaca F, Mateo J, Soria JM, et al. Genetic susceptibility to thrombosis and its relationship to physiological risk factors: the GAIT study. *Genetic Analysis of Idiopathic Thrombophilia. Am J Hum Genet.* diciembre de 2000;67(6):1452-9.

61. Jordan FL, Nandorff A. The familial tendency in thrombo-embolic disease. *Acta Med Scand.* 31 de diciembre de 1956;156(4):267-75.

62. Egeberg O. INHERITED ANTITHROMBIN DEFICIENCY CAUSING THROMBOPHILIA. *Thromb Diath Haemorrh.* 15 de junio de 1965;13:516-30.
63. Jick H, Slone D, Westerholm B, Inman WH, Vessey MP, Shapiro S, et al. Venous thromboembolic disease and ABO blood type. A cooperative study. *Lancet Lond Engl.* 15 de marzo de 1969;1(7594):539-42.
64. Griffin JH, Evatt B, Zimmerman TS, Kleiss AJ, Wideman C. Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease. *J Clin Invest.* noviembre de 1981;68(5):1370-3.
65. Schwarz HP, Fischer M, Hopmeier P, Batard MA, Griffin JH. Plasma protein S deficiency in familial thrombotic disease. *Blood.* diciembre de 1984;64(6):1297-300.
66. Rosendaal FR, Reitsma PH. Genetics of venous thrombosis. *J Thromb Haemost JTH.* julio de 2009;7 Suppl 1:301-4.
67. Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature.* 5 de mayo de 1994;369(6475):64-7.
68. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood.* 15 de noviembre de 1996;88(10):3698-703.
69. Seligsohn U, Lubetsky A. Genetic susceptibility to venous thrombosis. *N Engl J Med.* 19 de abril de 2001;344(16):1222-31.
70. Stearns-Kurosawa DJ, Kurosawa S, Mollica JS, Ferrell GL, Esmon CT. The endothelial cell protein C receptor augments protein C activation by the thrombin-thrombomodulin complex. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 17 de septiembre de 1996;93(19):10212-6.
71. Saposnik B, Reny JL, Gaussem P, Emmerich J, Aiach M, Gandrille S. A haplotype of the EPCR gene is associated with increased plasma levels of sEPCR and is a candidate risk factor for thrombosis. *Blood.* 15 de febrero de 2004;103(4):1311-8.
72. Dennis J, Johnson CY, Adediran AS, de Andrade M, Heit JA, Morange PE, et al. The endothelial protein C receptor (PROCR) Ser219Gly variant and risk of common thrombotic disorders: a HuGE review and meta-analysis of evidence from observational studies. *Blood.* 8 de marzo de 2012;119(10):2392-400.
73. Uitte de Willige S, de Visser MCH, Houwing-Duistermaat JJ, Rosendaal FR, Vos HL, Bertina RM. Genetic variation in the fibrinogen gamma gene increases the risk for deep venous thrombosis by reducing plasma fibrinogen gamma' levels. *Blood.* 15 de diciembre de 2005;106(13):4176-83.
74. Coppens M, Reijnders JH, Middeldorp S, Doggen CJM, Rosendaal FR. Testing for inherited thrombophilia does not reduce the recurrence of venous thrombosis. *J Thromb Haemost.* 2008;6(9):1474-7.
75. Sundquist K, Sundquist J, Svensson PJ, Zöller B, Memon AA. Role of family history of venous thromboembolism and thrombophilia as predictors of recurrence: a prospective follow-up study. *J Thromb Haemost.* 2015;13(12):2180-6.
76. Bezemer ID, van der Meer FJM, Eikenboom JCJ, Rosendaal FR, Doggen CJM. The Value of Family History as a Risk Indicator for Venous Thrombosis. *Arch Intern Med.* 23 de marzo de 2009;169(6):610-5.

77. Human Genome Project Information Site Has Been Updated [Internet]. [citado 14 de julio de 2022]. Disponible en: https://web.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/redirect.shtml
78. NCBI [Internet]. [citado 14 de julio de 2022]. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/news/NCBI_retiring_HapMap/
79. Dearlove AM. High throughput genotyping technologies. *Brief Funct Genomic Proteomic*. julio de 2002;1(2):139-50.
80. Ragoussis J. Genotyping technologies for genetic research. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2009;10:117-33.
81. Gibbs JR, Singleton A. Application of genome-wide single nucleotide polymorphism typing: simple association and beyond. *PLoS Genet*. 6 de octubre de 2006;2(10):e150.
82. Jorgenson E, Witte JS. A gene-centric approach to genome-wide association studies. *Nat Rev Genet*. noviembre de 2006;7(11):885-91.
83. Genómica [Internet]. [citado 14 de julio de 2022]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-S1578155010700346>
84. Bezemer ID, Bare LA, Doggen CJM, Arellano AR, Tong C, Rowland CM, et al. Gene variants associated with deep vein thrombosis. *JAMA*. 19 de marzo de 2008;299(11):1306-14.
85. van der Meer FJ, Koster T, Vandenbroucke JP, Briët E, Rosendaal FR. The Leiden Thrombophilia Study (LETS). *Thromb Haemost*. julio de 1997;78(1):631-5.
86. Bezemer ID, Doggen CJM, Vos HL, Rosendaal FR. No association between the common MTHFR 677C->T polymorphism and venous thrombosis: results from the MEGA study. *Arch Intern Med*. 12 de marzo de 2007;167(5):497-501.
87. Li Y, Bezemer ID, Rowland CM, Tong CH, Arellano AR, Catanese JJ, et al. Genetic variants associated with deep vein thrombosis: the F11 locus. *J Thromb Haemost JTH*. noviembre de 2009;7(11):1802-8.
88. Sennblad B, Basu S, Mazur J, Suchon P, Martinez-Perez A, van Hylckama Vlieg A, et al. Genome-wide association study with additional genetic and post-transcriptional analyses reveals novel regulators of plasma factor XI levels. *Hum Mol Genet*. 4 de enero de 2017;ddw401.
89. Trégouët DA, Heath S, Saut N, Biron-Andreani C, Schved JF, Pernod G, et al. Common susceptibility alleles are unlikely to contribute as strongly as the FV and ABO loci to VTE risk: results from a GWAS approach. *Blood*. 21 de mayo de 2009;113(21):5298-303.
90. Morange PE, Bezemer I, Saut N, Bare L, Burgos G, Brocheton J, et al. A follow-up study of a genome-wide association scan identifies a susceptibility locus for venous thrombosis on chromosome 6p24.1. *Am J Hum Genet*. 9 de abril de 2010;86(4):592-5.
91. Germain M, Saut N, Greliche N, Dina C, Lambert JC, Perret C, et al. Genetics of venous thrombosis: insights from a new genome wide association study. *PloS One*. 2011;6(9):e25581.
92. Morange PE, Suchon P, Trégouët DA. Genetics of Venous Thrombosis: update in 2015. *Thromb Haemost*. noviembre de 2015;114(5):910-9.
93. Tang W, Teichert M, Chasman DI, Heit JA, Morange PE, Li G, et al. A genome-wide association study for venous thromboembolism: the extended cohorts for heart and aging research in genomic epidemiology (CHARGE)

- consortium. *Genet Epidemiol.* julio de 2013;37(5):512-21.
94. Wu O, Bayoumi N, Vickers MA, Clark P. ABO(H) blood groups and vascular disease: a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost JTH.* enero de 2008;6(1):62-9.
95. Smith NL, Chen MH, Dehghan A, Strachan DP, Basu S, Soranzo N, et al. Novel associations of multiple genetic loci with plasma levels of factor VII, factor VIII, and von Willebrand factor: The CHARGE (Cohorts for Heart and Aging Research in Genome Epidemiology) Consortium. *Circulation.* 30 de marzo de 2010;121(12):1382-92.
96. Smith NL, Rice KM, Bovill EG, Cushman M, Bis JC, McKnight B, et al. Genetic variation associated with plasma von Willebrand factor levels and the risk of incident venous thrombosis. *Blood.* 2 de junio de 2011;117(22):6007-11.
97. Gailani D, Renné T. The intrinsic pathway of coagulation: a target for treating thromboembolic disease? *J Thromb Haemost JTH.* junio de 2007;5(6):1106-12.
98. Morange PE, Oudot-Mellakh T, Cohen W, Germain M, Saut N, Antoni G, et al. KNG1 Ile581Thr and susceptibility to venous thrombosis. *Blood.* 31 de marzo de 2011;117(13):3692-4.
99. Sabater-Lleal M, Huang J, Chasman D, Naitza S, Dehghan A, Johnson AD, et al. Multiethnic meta-analysis of genome-wide association studies in >100 000 subjects identifies 23 fibrinogen-associated Loci but no strong evidence of a causal association between circulating fibrinogen and cardiovascular disease. *Circulation.* 17 de septiembre de 2013;128(12):1310-24.
100. Smith NL, Huffman JE, Strachan DP, Huang J, Dehghan A, Trompet S, et al. Genetic predictors of fibrin D-dimer levels in healthy adults. *Circulation.* 3 de mayo de 2011;123(17):1864-72.
101. Oudot-Mellakh T, Cohen W, Germain M, Saut N, Kallel C, Zelenika D, et al. Genome wide association study for plasma levels of natural anticoagulant inhibitors and protein C anticoagulant pathway: the MARTHA project. *Br J Haematol.* abril de 2012;157(2):230-9.
102. Tang W, Basu S, Kong X, Pankow JS, Aleksic N, Tan A, et al. Genome-wide association study identifies novel loci for plasma levels of protein C: the ARIC study. *Blood.* 2 de diciembre de 2010;116(23):5032-6.
103. Huang J, Sabater-Lleal M, Asselbergs FW, Tregouet D, Shin SY, Ding J, et al. Genome-wide association study for circulating levels of PAI-1 provides novel insights into its regulation. *Blood.* 6 de diciembre de 2012;120(24):4873-81.
104. Morange PE, Trégouët DA. Current knowledge on the genetics of incident venous thrombosis. *J Thromb Haemost JTH.* junio de 2013;11 Suppl 1:111-21.
105. The 1000 Genomes Project Consortium, Corresponding authors, Auton A, Abecasis GR, Steering committee, Altshuler DM, et al. A global reference for human genetic variation. *Nature.* 1 de octubre de 2015;526(7571):68-74.
106. Germain M, Chasman DI, de Haan H, Tang W, Lindström S, Weng LC, et al. Meta-analysis of 65,734 individuals identifies TSPAN15 and SLC44A2 as two susceptibility loci for venous thromboembolism. *Am J Hum Genet.* 2 de abril de 2015;96(4):532-42.
107. Heit JA, Armasu SM, Asmann YW, Cunningham JM, Matsumoto ME, Petterson TM, et al. A genome-wide association study of venous

thromboembolism identifies risk variants in chromosomes 1q24.2 and 9q. *J Thromb Haemost JTH*. agosto de 2012;10(8):1521-31.

108. Rocanin-Arjo A, Cohen W, Carcaillon L, Frère C, Saut N, Letenneur L, et al. A meta-analysis of genome-wide association studies identifies ORM1 as a novel gene controlling thrombin generation potential. *Blood*. 30 de enero de 2014;123(5):777-85.

109. Zhang Y, Zhang Z, Shu S, Niu W, Xie W, Wan J, et al. The genetics of venous thromboembolism: a systematic review of thrombophilia families. *J Thromb Thrombolysis*. febrero de 2021;51(2):359-69.

110. Rau JC, Beaulieu LM, Huntington JA, Church FC. Serpins in thrombosis, hemostasis and fibrinolysis. *J Thromb Haemost JTH*. julio de 2007;5 Suppl 1:102-15.

111. Mateo J, Oliver A, Borrell M, Sala N, Fontcuberta J. Laboratory evaluation and clinical characteristics of 2,132 consecutive unselected patients with venous thromboembolism--results of the Spanish Multicentric Study on Thrombophilia (EMET-Study). *Thromb Haemost*. marzo de 1997;77(3):444-51.

112. Christiansen SC, Cannegieter SC, Koster T, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR. Thrombophilia, clinical factors, and recurrent venous thrombotic events. *JAMA*. 18 de mayo de 2005;293(19):2352-61.

113. Lane DA, Bayston T, Olds RJ, Fitches AC, Cooper DN, Millar DS, et al. Antithrombin mutation database: 2nd (1997) update. For the Plasma Coagulation Inhibitors Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *Thromb Haemost*. enero de 1997;77(1):197-211.

114. Navarro-Fernández J, de la Morena-Barrio ME, Padilla J, Miñano A, Bohdan N, Águila S, et al. Antithrombin Dublin (p.Val30Glu): a relatively common variant with moderate thrombosis risk of causing transient antithrombin deficiency. *Thromb Haemost*. 4 de julio de 2016;116(1):146-54.

115. Dahlbäck B. Advances in understanding pathogenic mechanisms of thrombophilic disorders. *Blood*. 1 de julio de 2008;112(1):19-27.

116. Reitsma PH, Bernardi F, Doig RG, Gandrille S, Greengard JS, Ireland H, et al. Protein C deficiency: a database of mutations, 1995 update. On behalf of the Subcommittee on Plasma Coagulation Inhibitors of the Scientific and Standardization Committee of the ISTH. *Thromb Haemost*. mayo de 1995;73(5):876-89.

117. Folsom AR, Aleksic N, Wang L, Cushman M, Wu KK, White RH. Protein C, antithrombin, and venous thromboembolism incidence: a prospective population-based study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1 de junio de 2002;22(6):1018-22.

118. Comp PC, Esmon CT. Recurrent venous thromboembolism in patients with a partial deficiency of protein S. *N Engl J Med*. 13 de diciembre de 1984;311(24):1525-8.

119. D'Angelo A, Viganò D'Angelo S. Protein S deficiency. *Haematologica*. abril de 2008;93(4):498-501.

120. Beauchamp NJ, Dykes AC, Parikh N, Campbell Tait R, Daly ME. The prevalence of, and molecular defects underlying, inherited protein S deficiency in the general population. *Br J Haematol*. junio de 2004;125(5):647-54.

121. Suchon P, Germain M, Delluc A, Smadja D, Jouven X, Gyorgy B, et al. Protein S Heerlen mutation heterozygosity is associated with venous thrombosis

- risk. *Sci Rep.* 4 de abril de 2017;7:45507.
122. Liu W, Yin T, Okuda H, Harada KH, Li Y, Xu B, et al. Protein S K196E mutation, a genetic risk factor for venous thromboembolism, is limited to Japanese. *Thromb Res.* agosto de 2013;132(2):314-5.
123. Segers O, Castoldi E. Factor V Leiden and activated protein C resistance. *Adv Clin Chem.* 2009;49:121-57.
124. Heit JA, Sobell JL, Li H, Sommer SS. The incidence of venous thromboembolism among Factor V Leiden carriers: a community-based cohort study. *J Thromb Haemost JTH.* febrero de 2005;3(2):305-11.
125. Smith NL, Hindorff LA, Heckbert SR, Lemaitre RN, Marcianti KD, Rice K, et al. Association of genetic variations with nonfatal venous thrombosis in postmenopausal women. *JAMA.* 7 de febrero de 2007;297(5):489-98.
126. Bezemer ID, Bare LA, Arellano AR, Reitsma PH, Rosendaal FR. Updated analysis of gene variants associated with deep vein thrombosis. *JAMA.* 3 de febrero de 2010;303(5):421-2.
127. Lijfering WM, Middeldorp S, Veeger NJGM, Hamulyák K, Prins MH, Büller HR, et al. Risk of recurrent venous thrombosis in homozygous carriers and double heterozygous carriers of factor V Leiden and prothrombin G20210A. *Circulation.* 20 de abril de 2010;121(15):1706-12.
128. Rosendaal FR, Doggen CJ, Zivelin A, Arruda VR, Aiach M, Siscovick DS, et al. Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant. *Thromb Haemost.* abril de 1998;79(4):706-8.
129. Martinelli I, Battaglioli T, Tosetto A, Legnani C, Sottile L, Ghiotto R, et al. Prothrombin A1991G polymorphism and the risk of venous thromboembolism. *J Thromb Haemost JTH.* diciembre de 2006;4(12):2582-6.
130. Miyawaki Y, Suzuki A, Fujita J, Maki A, Okuyama E, Murata M, et al. Thrombosis from a prothrombin mutation conveying antithrombin resistance. *N Engl J Med.* 21 de junio de 2012;366(25):2390-6.
131. Djordjevic V, Kovac M, Miljic P, Murata M, Takagi A, Pruner I, et al. A novel prothrombin mutation in two families with prominent thrombophilia--the first cases of antithrombin resistance in a Caucasian population. *J Thromb Haemost JTH.* octubre de 2013;11(10):1936-9.
132. Bulato C, Radu CM, Campello E, Gavasso S, Spiezia L, Tormene D, et al. New Prothrombin Mutation (Arg596Trp, Prothrombin Padua 2) Associated With Venous Thromboembolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* mayo de 2016;36(5):1022-9.
133. Kamphuisen PW, Eikenboom JC, Rosendaal FR, Koster T, Blann AD, Vos HL, et al. High factor VIII antigen levels increase the risk of venous thrombosis but are not associated with polymorphisms in the von Willebrand factor and factor VIII gene. *Br J Haematol.* octubre de 2001;115(1):156-8.
134. Tsai AW, Cushman M, Rosamond WD, Heckbert SR, Tracy RP, Aleksic N, et al. Coagulation factors, inflammation markers, and venous thromboembolism: the longitudinal investigation of thromboembolism etiology (LITE). *Am J Med.* 1 de diciembre de 2002;113(8):636-42.
135. Ohira T, Cushman M, Tsai MY, Zhang Y, Heckbert SR, Zakai NA, et al. ABO blood group, other risk factors and incidence of venous thromboembolism: the Longitudinal Investigation of Thromboembolism Etiology (LITE). *J Thromb*

Haemost JTH. julio de 2007;5(7):1455-61.

136. Jenkins PV, O'Donnell JS. ABO blood group determines plasma von Willebrand factor levels: a biologic function after all? *Transfusion (Paris)*. octubre de 2006;46(10):1836-44.

137. McGrath RT, McKinnon TAJ, Byrne B, O'Kennedy R, Terraube V, McRae E, et al. Expression of terminal alpha2-6-linked sialic acid on von Willebrand factor specifically enhances proteolysis by ADAMTS₁₃. *Blood*. 1 de abril de 2010;115(13):2666-73.

138. Cohen W, Castelli C, Alessi MC, Aillaud MF, Bouvet S, Saut N, et al. ABO blood group and von Willebrand factor levels partially explained the incomplete penetrance of congenital thrombophilia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. agosto de 2012;32(8):2021-8.

139. Kiechl S, Paré G, Barbalić M, Qi L, Dupuis J, Dehghan A, et al. Association of variation at the ABO locus with circulating levels of soluble intercellular adhesion molecule-1, soluble P-selectin, and soluble E-selectin: a meta-analysis. *Circ Cardiovasc Genet*. diciembre de 2011;4(6):681-6.

140. Schunkert H, König IR, Kathiresan S, Reilly MP, Assimes TL, Holm H, et al. Large-scale association analysis identifies 13 new susceptibility loci for coronary artery disease. *Nat Genet*. 6 de marzo de 2011;43(4):333-8.

141. Amundadottir L, Kraft P, Stolzenberg-Solomon RZ, Fuchs CS, Petersen GM, Arslan AA, et al. Genome-wide association study identifies variants in the ABO locus associated with susceptibility to pancreatic cancer. *Nat Genet*. septiembre de 2009;41(9):986-90.

142. Simioni P, Morboeuf O, Tognin G, Gavasso S, Tormene D, Woodhams B, et al. Soluble endothelial protein C receptor (sEPCR) levels and venous thromboembolism in carriers of two dysfunctional protein C variants. *Thromb Res*. 2006;117(5):523-8.

143. Reiner AP, Carty CL, Jenny NS, Nievergelt C, Cushman M, Stearns-Kurosawa DJ, et al. PROC, PROC_R and PROS₁ polymorphisms, plasma anticoagulant phenotypes, and risk of cardiovascular disease and mortality in older adults: the Cardiovascular Health Study. *J Thromb Haemost JTH*. octubre de 2008;6(10):1625-32.

144. Uitte de Willige S, Van Marion V, Rosendaal FR, Vos HL, de Visser MCH, Bertina RM. Haplotypes of the EPCR gene, plasma sEPCR levels and the risk of deep venous thrombosis. *J Thromb Haemost JTH*. agosto de 2004;2(8):1305-10.

145. Medina P, Navarro S, Estellés A, Vayá A, Woodhams B, Mira Y, et al. Contribution of polymorphisms in the endothelial protein C receptor gene to soluble endothelial protein C receptor and circulating activated protein C levels, and thrombotic risk. *Thromb Haemost*. mayo de 2004;91(5):905-11.

146. Ireland HA, Cooper JA, Drenos F, Acharya J, Mitchell JP, Bauer KA, et al. FVII, FVIIa, and downstream markers of extrinsic pathway activation differ by EPCR Ser219Gly variant in healthy men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. noviembre de 2009;29(11):1968-74.

147. Ghosh S, Pendurthi UR, Steinoe A, Esmon CT, Rao LVM. Endothelial cell protein C receptor acts as a cellular receptor for factor VIIa on endothelium. *J Biol Chem*. 20 de abril de 2007;282(16):11849-57.

148. Tang W, Schwienbacher C, Lopez LM, Ben-Shlomo Y, Oudot-Mellakh T,

- Johnson AD, et al. Genetic associations for activated partial thromboplastin time and prothrombin time, their gene expression profiles, and risk of coronary artery disease. *Am J Hum Genet.* 13 de julio de 2012;91(1):152-62.
149. Weisel JW. Fibrinogen and fibrin. *Adv Protein Chem.* 2005;70:247-99.
150. Kant JA, Fornace AJ, Saxe D, Simon MI, McBride OW, Crabtree GR. Evolution and organization of the fibrinogen locus on chromosome 4: gene duplication accompanied by transposition and inversion. *Proc Natl Acad Sci U S A.* abril de 1985;82(8):2344-8.
151. Carter AM, Catto AJ, Kohler HP, Ariëns RA, Stickland MH, Grant PJ. alpha-fibrinogen Thr312Ala polymorphism and venous thromboembolism. *Blood.* 1 de agosto de 2000;96(3):1177-9.
152. Ko YL, Hsu LA, Hsu TS, Tsai CT, Teng MS, Wu S, et al. Functional polymorphisms of FGA, encoding alpha fibrinogen, are associated with susceptibility to venous thromboembolism in a Taiwanese population. *Hum Genet.* marzo de 2006;119(1-2):84-91.
153. Meijers JC, Tekelenburg WL, Bouma BN, Bertina RM, Rosendaal FR. High levels of coagulation factor XI as a risk factor for venous thrombosis. *N Engl J Med.* 9 de marzo de 2000;342(10):696-701.
154. Li Y, Bezemer ID, Rowland CM, Tong CH, Arellano AR, Catanese JJ, et al. Genetic variants associated with deep vein thrombosis: the F11 locus. *J Thromb Haemost JTH.* noviembre de 2009;7(11):1802-8.
155. Snoep JD, Gaussem P, Eikenboom JCJ, Emmerich J, Zwaginga JJ, Holmes CE, et al. The minor allele of GP6 T13254C is associated with decreased platelet activation and a reduced risk of recurrent cardiovascular events and mortality: results from the SMILE-Platelets project. *J Thromb Haemost JTH.* noviembre de 2010;8(11):2377-84.
156. Vanschoonbeek K, Feijge M a. H, Van Kampen RJW, Kenis H, Hemker HC, Giesen PLA, et al. Initiating and potentiating role of platelets in tissue factor-induced thrombin generation in the presence of plasma: subject-dependent variation in thrombogram characteristics. *J Thromb Haemost JTH.* marzo de 2004;2(3):476-84.
157. Vischer UM. von Willebrand factor, endothelial dysfunction, and cardiovascular disease. *J Thromb Haemost JTH.* junio de 2006;4(6):1186-93.
158. Lazzari MA, Sanchez-Luceros A, Woods AI, Alberto MF, Meschengieser SS. Von Willebrand factor (VWF) as a risk factor for bleeding and thrombosis. *Hematol Amst Neth.* abril de 2012;17 Suppl 1:S150-152.
159. Ye S, Huang Y, Joshi S, Zhang J, Yang F, Zhang G, et al. Platelet secretion and hemostasis require syntaxin-binding protein STXBP5. *J Clin Invest.* octubre de 2014;124(10):4517-28.
160. Zhu Q, Yamakuchi M, Ture S, de la Luz Garcia-Hernandez M, Ko KA, Modjeski KL, et al. Syntaxin-binding protein STXBP5 inhibits endothelial exocytosis and promotes platelet secretion. *J Clin Invest.* octubre de 2014;124(10):4503-16.
161. van Loon JE, Leebeek FWG, Deckers JW, Dippel DWJ, Poldermans D, Strachan DP, et al. Effect of genetic variations in syntaxin-binding protein-5 and syntaxin-2 on von Willebrand factor concentration and cardiovascular risk. *Circ Cardiovasc Genet.* diciembre de 2010;3(6):507-12.

162. Morange PE, Oudot-Mellakh T, Cohen W, Germain M, Saut N, Antoni G, et al. KNG1 Ile581Thr and susceptibility to venous thrombosis. *Blood*. 31 de marzo de 2011;117(13):3692-4.
163. Houlihan LM, Davies G, Tenesa A, Harris SE, Luciano M, Gow AJ, et al. Common variants of large effect in F12, KNG1, and HRG are associated with activated partial thromboplastin time. *Am J Hum Genet*. 9 de abril de 2010;86(4):626-31.
164. Bayat B, Tjahjono Y, Berghöfer H, Werth S, Deckmyn H, De Meyer SF, et al. Choline Transporter-Like Protein-2: New von Willebrand Factor-Binding Partner Involved in Antibody-Mediated Neutrophil Activation and Transfusion-Related Acute Lung Injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. julio de 2015;35(7):1616-22.
165. Mair DC, Eastlund T. The pathophysiology and prevention of transfusion-related acute lung injury (TRALI): a review. *Immunohematology*. 2010;26(4):161-73.
166. Berditchevski F. Complexes of tetraspanins with integrins: more than meets the eye. *J Cell Sci*. diciembre de 2001;114(Pt 23):4143-51.
167. Alabi RO, Glomski K, Haxaire C, Weskamp G, Monette S, Blobel CP. ADAM10-Dependent Signaling Through Notch1 and Notch4 Controls Development of Organ-Specific Vascular Beds. *Circ Res*. 5 de agosto de 2016;119(4):519-31.
168. Benedito R, Hellström M. Notch as a hub for signaling in angiogenesis. *Exp Cell Res*. 15 de mayo de 2013;319(9):1281-8.
169. Canobbio I, Visconte C, Momi S, Guidetti GF, Zarà M, Canino J, et al. Platelet amyloid precursor protein is a modulator of venous thromboembolism in mice. *Blood*. 27 de julio de 2017;130(4):527-36.
170. Matthews AL, Noy PJ, Reyat JS, Tomlinson MG. Regulation of A disintegrin and metalloproteinase (ADAM) family sheddases ADAM10 and ADAM17: The emerging role of tetraspanins and rhomboids. *Platelets*. junio de 2017;28(4):333-41.
171. Trégouët DA, Morange PE. What is currently known about the genetics of venous thromboembolism at the dawn of next generation sequencing technologies. *Br J Haematol*. febrero de 2018;180(3):335-45.
172. Vila P, Hernández MC, López-Fernández MF, Batlle J. Prevalence, follow-up and clinical significance of the anticardiolipin antibodies in normal subjects. *Thromb Haemost*. agosto de 1994;72(2):209-13.
173. Ünlü O, Züly S, Erkan D. The clinical significance of antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus. *Eur J Rheumatol*. junio de 2016;3(2):75-84.
174. Andreoli L, Chighizola CB, Banzato A, Pons-Estel GJ, Ramire de Jesus G, Erkan D. Estimated frequency of antiphospholipid antibodies in patients with pregnancy morbidity, stroke, myocardial infarction, and deep vein thrombosis: a critical review of the literature. *Arthritis Care Res*. noviembre de 2013;65(11):1869-73.
175. Petri M. Epidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome. *J Autoimmun*. septiembre de 2000;15(2):145-51.
176. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost JTH*. febrero de 2006;4(2):295-306.

177. Recomendaciones-SER-sobre-síndrome-Antifosfolípido-primario_DEF.pdf [Internet]. [citado 28 de julio de 2022]. Disponible en: https://www.ser.es/wp-content/uploads/2018/06/Recomendaciones-SER-sobre-s%C3%ADndrome-Antifosfol%C3%ADpido-primario_DEF.pdf
178. Garcia D, Akl EA, Carr R, Kearon C. Antiphospholipid antibodies and the risk of recurrence after a first episode of venous thromboembolism: a systematic review. *Blood*. 1 de agosto de 2013;122(5):817-24.
179. Liestøl S, Sandset PM, Jacobsen EM, Mowinckel MC, Wisløff F. Decreased anticoagulant response to tissue factor pathway inhibitor type 1 in plasmas from patients with lupus anticoagulants. *Br J Haematol*. enero de 2007;136(1):131-7.
180. Arachchillage DRJ, Efthymiou M, Mackie IJ, Lawrie AS, Machin SJ, Cohen H. Anti-protein C antibodies are associated with resistance to endogenous protein C activation and a severe thrombotic phenotype in antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost JTH*. noviembre de 2014;12(11):1801-9.
181. Breen KA, Seed P, Parmar K, Moore GW, Stuart-Smith SE, Hunt BJ. Complement activation in patients with isolated antiphospholipid antibodies or primary antiphospholipid syndrome. *Thromb Haemost*. marzo de 2012;107(3):423-9.
182. Oku K, Amengual O, Hisada R, Ohmura K, Nakagawa I, Watanabe T, et al. Autoantibodies against a complement component 1 q subcomponent contribute to complement activation and recurrent thrombosis/pregnancy morbidity in antiphospholipid syndrome. *Rheumatol Oxf Engl*. agosto de 2016;55(8):1403-11.
183. Proulle V, Furie RA, Merrill-Skoloff G, Furie BC, Furie B. Platelets are required for enhanced activation of the endothelium and fibrinogen in a mouse thrombosis model of APS. *Blood*. 24 de julio de 2014;124(4):611-22.
184. Meng H, Yalavarthi S, Kanthi Y, Mazza LF, Elflin MA, Luke CE, et al. In Vivo Role of Neutrophil Extracellular Traps in Antiphospholipid Antibody-Mediated Venous Thrombosis. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ*. marzo de 2017;69(3):655-67.
185. Yalavarthi S, Gould TJ, Rao AN, Mazza LF, Morris AE, Núñez-Álvarez C, et al. Release of neutrophil extracellular traps by neutrophils stimulated with antiphospholipid antibodies: a newly identified mechanism of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ*. noviembre de 2015;67(11):2990-3003.
186. Gladigau G, Haselmayer P, Scharrer I, Munder M, Prinz N, Lackner K, et al. A role for Toll-like receptor mediated signals in neutrophils in the pathogenesis of the anti-phospholipid syndrome. *PloS One*. 2012;7(7):e42176.
187. López-Pedreira C, Buendía P, Cuadrado MJ, Siendones E, Aguirre MA, Barbarroja N, et al. Antiphospholipid antibodies from patients with the antiphospholipid syndrome induce monocyte tissue factor expression through the simultaneous activation of NF-kappaB/Rel proteins via the p38 mitogen-activated protein kinase pathway, and of the MEK-1/ERK pathway. *Arthritis Rheum*. enero de 2006;54(1):301-11.
188. Garcia D, Erkan D. Diagnosis and Management of the Antiphospholipid Syndrome. *N Engl J Med*. 24 de mayo de 2018;378(21):2010-21.
189. Girón-González JA, García del Río E, Rodríguez C, Rodríguez-Martorell J, Serrano A. Antiphospholipid syndrome and asymptomatic carriers of

- antiphospholipid antibody: prospective analysis of 404 individuals. *J Rheumatol.* agosto de 2004;31(8):1560-7.
190. Pengo V, Testa S, Martinelli I, Ghirarduzzi A, Legnani C, Gresele P, et al. Incidence of a first thromboembolic event in carriers of isolated lupus anticoagulant. *Thromb Res.* enero de 2015;135(1):46-9.
191. Simioni P, Prandoni P, Burlina A, Tormene D, Sardella C, Ferrari V, et al. Hyperhomocysteinemia and deep-vein thrombosis. A case-control study. *Thromb Haemost.* diciembre de 1996;76(6):883-6.
192. Ray JG. Meta-analysis of hyperhomocysteinemia as a risk factor for venous thromboembolic disease. *Arch Intern Med.* 26 de octubre de 1998;158(19):2101-6.
193. den Heijer M, Rosendaal FR, Blom HJ, Gerrits WB, Bos GM. Hyperhomocysteinemia and venous thrombosis: a meta-analysis. *Thromb Haemost.* diciembre de 1998;80(6):874-7.
194. Eichinger S, Stümpflen A, Hirschl M, Bialonczyk C, Herkner K, Stain M, et al. Hyperhomocysteinemia is a risk factor of recurrent venous thromboembolism. *Thromb Haemost.* octubre de 1998;80(4):566-9.
195. Cattaneo M. Hyperhomocysteinemia, atherosclerosis and thrombosis. *Thromb Haemost.* febrero de 1999;81(2):165-76.
196. Tsai AW, Cushman M, Tsai MY, Heckbert SR, Rosamond WD, Aleksic N, et al. Serum homocysteine, thermolabile variant of methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR), and venous thromboembolism: Longitudinal Investigation of Thromboembolism Etiology (LITE). *Am J Hematol.* marzo de 2003;72(3):192-200.
197. Ospina-Romero M, Cannegieter SC, den Heijer M, Doggen CJM, Rosendaal FR, Lijfering WM. Hyperhomocysteinemia and Risk of First Venous Thrombosis: The Influence of (Unmeasured) Confounding Factors. *Am J Epidemiol.* 1 de julio de 2018;187(7):1392-400.
198. Ray JG, Kearon C, Yi Q, Sheridan P, Lonn E, Heart Outcomes Prevention Evaluation 2 (HOPE-2) Investigators. Homocysteine-lowering therapy and risk for venous thromboembolism: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 5 de junio de 2007;146(11):761-7.
199. den Heijer M, Willems HPJ, Blom HJ, Gerrits WBJ, Cattaneo M, Eichinger S, et al. Homocysteine lowering by B vitamins and the secondary prevention of deep vein thrombosis and pulmonary embolism: A randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Blood.* 1 de enero de 2007;109(1):139-44.
200. Lee M, Hong KS, Chang SC, Saver JL. Efficacy of homocysteine-lowering therapy with folic Acid in stroke prevention: a meta-analysis. *Stroke.* junio de 2010;41(6):1205-12.
201. Miller ER, Juraschek S, Pastor-Barriuso R, Bazzano LA, Appel LJ, Guallar E. Meta-analysis of folic acid supplementation trials on risk of cardiovascular disease and risk interaction with baseline homocysteine levels. *Am J Cardiol.* 15 de agosto de 2010;106(4):517-27.
202. Wang X, Qin X, Demirtas H, Li J, Mao G, Huo Y, et al. Efficacy of folic acid supplementation in stroke prevention: a meta-analysis. *Lancet Lond Engl.* 2 de junio de 2007;369(9576):1876-82.
203. Bazzano LA, Reynolds K, Holder KN, He J. Effect of folic acid supplementation on risk of cardiovascular diseases: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA.* 13 de diciembre de 2006;296(22):2720-6.

204. Koster T, Blann AD, Briët E, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR. Role of clotting factor VIII in effect of von Willebrand factor on occurrence of deep-vein thrombosis. *Lancet Lond Engl.* 21 de enero de 1995;345(8943):152-5.
205. Kraaijenhagen RA, in't Anker PS, Koopman MM, Reitsma PH, Prins MH, van den Ende A, et al. High plasma concentration of factor VIIIc is a major risk factor for venous thromboembolism. *Thromb Haemost.* enero de 2000;83(1):5-9.
206. Jenkins PV, Rawley O, Smith OP, O'Donnell JS. Elevated factor VIII levels and risk of venous thrombosis. *Br J Haematol.* junio de 2012;157(6):653-63.
207. Berger M, Mattheisen M, Kulle B, Schmidt H, Oldenburg J, Bickeböller H, et al. High factor VIII levels in venous thromboembolism show linkage to imprinted loci on chromosomes 5 and 11. *Blood.* 15 de enero de 2005;105(2):638-44.
208. Viel KR, Machiah DK, Warren DM, Khachidze M, Buil A, Fernstrom K, et al. A sequence variation scan of the coagulation factor VIII (FVIII) structural gene and associations with plasma FVIII activity levels. *Blood.* 1 de mayo de 2007;109(9):3713-24.
209. van Hylckama Vlieg A, van der Linden IK, Bertina RM, Rosendaal FR. High levels of factor IX increase the risk of venous thrombosis. *Blood.* 15 de junio de 2000;95(12):3678-82.
210. Lowe GD. Factor IX and thrombosis. *Br J Haematol.* diciembre de 2001;115(3):507-13.
211. Cushman M, O'Meara ES, Folsom AR, Heckbert SR. Coagulation factors IX through XIII and the risk of future venous thrombosis: the Longitudinal Investigation of Thromboembolism Etiology. *Blood.* 1 de octubre de 2009;114(14):2878-83.
212. Kearon C, Ageno W, Cannegieter SC, Cosmi B, Geersing GJ, Kyrle PA, et al. Categorization of patients as having provoked or unprovoked venous thromboembolism: guidance from the SSC of ISTH. *J Thromb Haemost JTH.* julio de 2016;14(7):1480-3.
213. Oger E. Incidence of venous thromboembolism: a community-based study in Western France. EPI-GETBP Study Group. Groupe d'Etude de la Thrombose de Bretagne Occidentale. *Thromb Haemost.* mayo de 2000;83(5):657-60.
214. Bell EJ, Lutsey PL, Basu S, Cushman M, Heckbert SR, Lloyd-Jones DM, et al. Lifetime Risk of Venous Thromboembolism in Two Cohort Studies. *Am J Med.* marzo de 2016;129(3):339.e19-26.
215. Luxembourg B, Schmitt J, Humpich M, Glowatzki M, Seifried E, Lindhoff-Last E. Intrinsic clotting factors in dependency of age, sex, body mass index, and oral contraceptives: definition and risk of elevated clotting factor levels. *Blood Coagul Fibrinolysis Int J Haemost Thromb.* octubre de 2009;20(7):524-34.
216. Pierre-Paul D, Mureebe L, Gahtan V, Kerstein MD. Role of race and sex in diagnosis and one-year follow up of deep venous thrombosis. *Surg Technol Int.* 2004;13:215-8.
217. Goldhaber SZ. Race and venous thromboembolism: nature or nurture? *Circulation.* 8 de abril de 2014;129(14):1463-5.
218. White RH, Keenan CR. Effects of race and ethnicity on the incidence of venous thromboembolism. *Thromb Res.* 2009;123 Suppl 4:S11-17.
219. Zakai NA, McClure LA. Racial differences in venous thromboembolism. *J Thromb Haemost JTH.* octubre de 2011;9(10):1877-82.

220. Buckner TW, Key NS. Venous thrombosis in blacks. *Circulation*. 14 de febrero de 2012;125(6):837-9.
221. Lutsey PL, Cushman M, Steffen LM, Green D, Barr RG, Herrington D, et al. Plasma hemostatic factors and endothelial markers in four racial/ethnic groups: the MESA study. *J Thromb Haemost JTH*. diciembre de 2006;4(12):2629-35.
222. Khaleghi M, Saleem U, McBane RD, Mosley TH, Kullo IJ. African-American ethnicity is associated with higher plasma levels of D-dimer in adults with hypertension. *J Thromb Haemost JTH*. enero de 2009;7(1):34-40.
223. Purdy JC, Shatzel JJ. The Hematologic Consequences of Obesity. *Eur J Haematol*. marzo de 2021;106(3):306-19.
224. Ageno W, Becattini C, Brighton T, Selby R, Kamphuisen PW. Cardiovascular risk factors and venous thromboembolism: a meta-analysis. *Circulation*. 1 de enero de 2008;117(1):93-102.
225. Samama MM. An epidemiologic study of risk factors for deep vein thrombosis in medical outpatients: the Sirius study. *Arch Intern Med*. 11 de diciembre de 2000;160(22):3415-20.
226. Stein PD, Beemath A, Olson RE. Obesity as a risk factor in venous thromboembolism. *Am J Med*. septiembre de 2005;118(9):978-80.
227. Abdollahi M, Cushman M, Rosendaal FR. Obesity: risk of venous thrombosis and the interaction with coagulation factor levels and oral contraceptive use. *Thromb Haemost*. marzo de 2003;89(3):493-8.
228. Holst AG, Jensen G, Prescott E. Risk factors for venous thromboembolism: results from the Copenhagen City Heart Study. *Circulation*. 4 de mayo de 2010;121(17):1896-903.
229. Eichinger S, Hron G, Bialonczyk C, Hirschl M, Minar E, Wagner O, et al. Overweight, obesity, and the risk of recurrent venous thromboembolism. *Arch Intern Med*. 11 de agosto de 2008;168(15):1678-83.
230. Rodger MA, Kahn SR, Wells PS, Anderson DA, Chagnon I, Le Gal G, et al. Identifying unprovoked thromboembolism patients at low risk for recurrence who can discontinue anticoagulant therapy. *CMAJ Can Med Assoc J J Assoc Medicale Can*. 26 de agosto de 2008;179(5):417-26.
231. Di Minno G, Mannucci PM, Tufano A, Palareti G, Moia M, Baccaglioni U, et al. The first ambulatory screening on thromboembolism: a multicentre, cross-sectional, observational study on risk factors for venous thromboembolism. *J Thromb Haemost JTH*. julio de 2005;3(7):1459-66.
232. Vilahur G, Ben-Aicha S, Badimon L. New insights into the role of adipose tissue in thrombosis. *Cardiovasc Res*. 1 de julio de 2017;113(9):1046-54.
233. Schäfer K, Konstantinides S. Adipokines and thrombosis. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. diciembre de 2011;38(12):864-71.
234. Allman-Farinelli MA. Obesity and venous thrombosis: a review. *Semin Thromb Hemost*. noviembre de 2011;37(8):903-7.
235. Heit JA, Melton LJ, Lohse CM, Petterson TM, Silverstein MD, Mohr DN, et al. Incidence of venous thromboembolism in hospitalized patients vs community residents. *Mayo Clin Proc*. noviembre de 2001;76(11):1102-10.
236. Zakai NA, Wright J, Cushman M. Risk factors for venous thrombosis in medical inpatients: validation of a thrombosis risk score. *J Thromb Haemost JTH*. diciembre de 2004;2(12):2156-61.

237. Chopard P, Spirk D, Bounameaux H. Identifying acutely ill medical patients requiring thromboprophylaxis. *J Thromb Haemost JTH*. abril de 2006;4(4):915-6.
238. Barbar S, Noventa F, Rossetto V, Ferrari A, Brandolin B, Perlati M, et al. A risk assessment model for the identification of hospitalized medical patients at risk for venous thromboembolism: the Padua Prediction Score. *J Thromb Haemost JTH*. noviembre de 2010;8(11):2450-7.
239. Rothberg MB, Lindenauer PK, Lahti M, Pekow PS, Selker HP. Risk factor model to predict venous thromboembolism in hospitalized medical patients. *J Hosp Med*. abril de 2011;6(4):202-9.
240. Spyropoulos AC, Anderson FA, FitzGerald G, Decousus H, Pini M, Chong BH, et al. Predictive and associative models to identify hospitalized medical patients at risk for VTE. *Chest*. septiembre de 2011;140(3):706-14.
241. Woller SC, Stevens SM, Jones JP, Lloyd JF, Evans RS, Aston VT, et al. Derivation and validation of a simple model to identify venous thromboembolism risk in medical patients. *Am J Med*. octubre de 2011;124(10):947-954.e2.
242. Zakai NA, Callas PW, Repp AB, Cushman M. Venous thrombosis risk assessment in medical inpatients: the medical inpatients and thrombosis (MITH) study. *J Thromb Haemost JTH*. abril de 2013;11(4):634-41.
243. Noboa S, Mottier D, Oger E, EPI-GETBO Study Group. Estimation of a potentially preventable fraction of venous thromboembolism: a community-based prospective study. *J Thromb Haemost JTH*. diciembre de 2006;4(12):2720-2.
244. Monreal M, Kakkar AK, Caprini JA, Barba R, Uresandi F, Valle R, et al. The outcome after treatment of venous thromboembolism is different in surgical and acutely ill medical patients. Findings from the RIETE registry. *J Thromb Haemost JTH*. noviembre de 2004;2(11):1892-8.
245. Carrasco Carrasco JE, Polo García J, Díaz Sánchez S. Prevención de la enfermedad tromboembólica venosa en pacientes ambulatorios con patología médica. *Med Fam SEMERGEN*. 1 de marzo de 2010;36(3):150-62.
246. Nokes TJC, Keenan J. Thromboprophylaxis in patients with lower limb immobilisation - review of current status. *Br J Haematol*. agosto de 2009;146(4):361-8.
247. Ettema HB, Kollen BJ, Verheyen CCPM, Büller HR. Prevention of venous thromboembolism in patients with immobilization of the lower extremities: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Thromb Haemost JTH*. julio de 2008;6(7):1093-8.
248. Kuipers S, Cannegieter SC, Middeldorp S, Robyn L, Büller HR, Rosendaal FR. The absolute risk of venous thrombosis after air travel: a cohort study of 8,755 employees of international organisations. *PLoS Med*. septiembre de 2007;4(9):e290.
249. Chandra D, Parisini E, Mozaffarian D. Meta-analysis: travel and risk for venous thromboembolism. *Ann Intern Med*. 4 de agosto de 2009;151(3):180-90.
250. Dalen JE. Economy class syndrome: too much flying or too much sitting? *Arch Intern Med*. 8 de diciembre de 2003;163(22):2674-6.
251. Knudson MM, Ikossi DG. Venous thromboembolism after trauma. *Curr Opin Crit Care*. diciembre de 2004;10(6):539-48.
252. Heit JA, O'Fallon WM, Petterson TM, Lohse CM, Silverstein MD, Mohr DN, et al. Relative impact of risk factors for deep vein thrombosis and pulmonary

embolism: a population-based study. *Arch Intern Med.* 10 de junio de 2002;162(11):1245-8.

253. Merrer J, De Jonghe B, Golliot F, Lefrant JY, Raffy B, Barre E, et al. Complications of femoral and subclavian venous catheterization in critically ill patients: a randomized controlled trial. *JAMA.* 8 de agosto de 2001;286(6):700-7.

254. Samama MM, Dahl OE, Quinlan DJ, Mismetti P, Rosencher N. Quantification of risk factors for venous thromboembolism: a preliminary study for the development of a risk assessment tool. *Haematologica.* diciembre de 2003;88(12):1410-21.

255. Sweetland S, Green J, Liu B, Berrington de González A, Canonico M, Reeves G, et al. Duration and magnitude of the postoperative risk of venous thromboembolism in middle aged women: prospective cohort study. *BMJ.* 3 de diciembre de 2009;339:b4583.

256. White RH, Zhou H, Romano PS. Incidence of symptomatic venous thromboembolism after different elective or urgent surgical procedures. *Thromb Haemost.* septiembre de 2003;90(3):446-55.

257. Edmonds MJR, Crichton TJH, Runciman WB, Pradhan M. Evidence-based risk factors for postoperative deep vein thrombosis. *ANZ J Surg.* diciembre de 2004;74(12):1082-97.

258. Bergqvist D, Lowe G. Venous thromboembolism in patients undergoing laparoscopic and arthroscopic surgery and in leg casts. *Arch Intern Med.* 28 de octubre de 2002;162(19):2173-6.

259. Sweetland S, Parkin L, Balkwill A, Green J, Reeves G, Beral V, et al. Smoking, surgery, and venous thromboembolism risk in women: United Kingdom cohort study. *Circulation.* 26 de marzo de 2013;127(12):1276-82.

260. Goldhaber SZ, Tapson VF, DVT FREE Steering Committee. A prospective registry of 5,451 patients with ultrasound-confirmed deep vein thrombosis. *Am J Cardiol.* 15 de enero de 2004;93(2):259-62.

261. Mantilla CB, Horlocker TT, Schroeder DR, Berry DJ, Brown DL. Risk factors for clinically relevant pulmonary embolism and deep venous thrombosis in patients undergoing primary hip or knee arthroplasty. *Anesthesiology.* septiembre de 2003;99(3):552-60; discussion 5A.

262. Monreal M, Fernandez-Llamazares J, Perandreu J, Urrutia A, Sahuquillo JC, Contel E. Occult cancer in patients with venous thromboembolism: which patients, which cancers. *Thromb Haemost.* noviembre de 1997;78(5):1316-8.

263. Prandoni P, Lensing AW, Büller HR, Cogo A, Prins MH, Cattelan AM, et al. Deep-vein thrombosis and the incidence of subsequent symptomatic cancer. *N Engl J Med.* 15 de octubre de 1992;327(16):1128-33.

264. Chew HK, Wun T, Harvey D, Zhou H, White RH. Incidence of venous thromboembolism and its effect on survival among patients with common cancers. *Arch Intern Med.* 27 de febrero de 2006;166(4):458-64.

265. Blom JW, Vanderschoot JPM, Oostindiër MJ, Osanto S, van der Meer FJM, Rosendaal FR. Incidence of venous thrombosis in a large cohort of 66,329 cancer patients: results of a record linkage study. *J Thromb Haemost JTH.* marzo de 2006;4(3):529-35.

266. Heit JA, Silverstein MD, Mohr DN, Petterson TM, O'Fallon WM, Melton LJ. Risk factors for deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a population-

- based case-control study. *Arch Intern Med.* 27 de marzo de 2000;160(6):809-15.
267. Stein PD, Beemath A, Meyers FA, Skaf E, Sanchez J, Olson RE. Incidence of Venous Thromboembolism in Patients Hospitalized with Cancer. *Am J Med.* enero de 2006;119(1):60-8.
268. Monreal M, Falgá C, Valdés M, Suárez C, Gabriel F, Tolosa C, et al. Fatal pulmonary embolism and fatal bleeding in cancer patients with venous thromboembolism: findings from the RIETE registry. *J Thromb Haemost JTH.* septiembre de 2006;4(9):1950-6.
269. Khorana AA, Francis CW, Culakova E, Kuderer NM, Lyman GH. Thromboembolism is a leading cause of death in cancer patients receiving outpatient chemotherapy. *J Thromb Haemost.* 2007;5(3):632-4.
270. Blom JW, Doggen CJM, Osanto S, Rosendaal FR. Malignancies, prothrombotic mutations, and the risk of venous thrombosis. *JAMA.* 9 de febrero de 2005;293(6):715-22.
271. Falanga A. Mechanisms of hypercoagulation in malignancy and during chemotherapy. *Haemostasis.* 1998;28 Suppl 3:50-60.
272. Aj T, H K, We W, Rd M, Aa A, Rs M, et al. The association of active cancer with venous thromboembolism location: a population-based study. *Mayo Clin Proc [Internet].* enero de 2011 [citado 7 de julio de 2022];86(1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21193652/>
273. Carrier M, Le Gal G, Wells PS, Fergusson D, Ramsay T, Rodger MA. Systematic review: the Trousseau syndrome revisited: should we screen extensively for cancer in patients with venous thromboembolism? *Ann Intern Med.* 2 de septiembre de 2008;149(5):323-33.
274. Heit JA, Kobbervig CE, James AH, Petterson TM, Bailey KR, Melton LJ. Trends in the incidence of venous thromboembolism during pregnancy or postpartum: a 30-year population-based study. *Ann Intern Med.* 15 de noviembre de 2005;143(10):697-706.
275. James AH. Venous thromboembolism in pregnancy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* marzo de 2009;29(3):326-31.
276. Abe K, Kuklina EV, Hooper WC, Callaghan WM. Venous thromboembolism as a cause of severe maternal morbidity and mortality in the United States. *Semin Perinatol.* junio de 2019;43(4):200-4.
277. Ray JG, Chan WS. Deep vein thrombosis during pregnancy and the puerperium: a meta-analysis of the period of risk and the leg of presentation. *Obstet Gynecol Surv.* abril de 1999;54(4):265-71.
278. Sultan AA, West J, Tata LJ, Fleming KM, Nelson-Piercy C, Grainge MJ. Risk of first venous thromboembolism in and around pregnancy: a population-based cohort study. *Br J Haematol.* febrero de 2012;156(3):366-73.
279. Knight M, UKOSS. Antenatal pulmonary embolism: risk factors, management and outcomes. *BJOG Int J Obstet Gynaecol.* marzo de 2008;115(4):453-61.
280. American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Practice Bulletins—Obstetrics. ACOG Practice Bulletin No. 196: Thromboembolism in Pregnancy. *Obstet Gynecol.* julio de 2018;132(1):e1-17.
281. Bates SM. Preventing thrombophilia-related complications of pregnancy: an update. *Expert Rev Hematol.* junio de 2013;6(3):287-300.

282. Danilenko-Dixon DR, Heit JA, Silverstein MD, Yawn BP, Petterson TM, Lohse CM, et al. Risk factors for deep vein thrombosis and pulmonary embolism during pregnancy or post partum: a population-based, case-control study. *Am J Obstet Gynecol.* enero de 2001;184(2):104-10.
283. Roach REJ, Lijfering WM, van Hylckama Vlieg A, Helmerhorst FM, Rosendaal FR, Cannegieter SC. The risk of venous thrombosis in individuals with a history of superficial vein thrombosis and acquired venous thrombotic risk factors. *Blood.* 19 de diciembre de 2013;122(26):4264-9.
284. Marik PE, Plante LA. Venous thromboembolic disease and pregnancy. *N Engl J Med.* 6 de noviembre de 2008;359(19):2025-33.
285. McColl MD, Ramsay JE, Tait RC, Walker ID, McCall F, Conkie JA, et al. Risk factors for pregnancy associated venous thromboembolism. *Thromb Haemost.* octubre de 1997;78(4):1183-8.
286. Grady D, Wenger NK, Herrington D, Khan S, Furberg C, Hunninghake D, et al. Postmenopausal hormone therapy increases risk for venous thromboembolic disease. The Heart and Estrogen/progestin Replacement Study. *Ann Intern Med.* 2 de mayo de 2000;132(9):689-96.
287. Barsoum MK, Heit JA, Ashrani AA, Leibson CL, Petterson TM, Bailey KR. Is progestin an independent risk factor for incident venous thromboembolism? A population-based case-control study. *Thromb Res.* noviembre de 2010;126(5):373-8.
288. Gomes MPV, Deitcher SR. Risk of venous thromboembolic disease associated with hormonal contraceptives and hormone replacement therapy: a clinical review. *Arch Intern Med.* 11 de octubre de 2004;164(18):1965-76.
289. Scarabin PY, Oger E, Plu-Bureau G, EStrogen and THromboEmbolism Risk Study Group. Differential association of oral and transdermal oestrogen-replacement therapy with venous thromboembolism risk. *Lancet Lond Engl.* 9 de agosto de 2003;362(9382):428-32.
290. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA.* 17 de julio de 2002;288(3):321-33.
291. Huerta C, Johansson S, Wallander MA, García Rodríguez LA. Risk factors and short-term mortality of venous thromboembolism diagnosed in the primary care setting in the United Kingdom. *Arch Intern Med.* 14 de mayo de 2007;167(9):935-43.
292. Johannessdottir SA, Horváth-Puhó E, Dekkers OM, Cannegieter SC, Jørgensen JOL, Ehrenstein V, et al. Use of glucocorticoids and risk of venous thromboembolism: a nationwide population-based case-control study. *JAMA Intern Med.* 13 de mayo de 2013;173(9):743-52.
293. Majoor CJ, Sneeboer MMS, de Kievit A, Meijers JCM, van der Poll T, Lutter R, et al. The influence of corticosteroids on hemostasis in healthy subjects. *J Thromb Haemost JTH.* abril de 2016;14(4):716-23.
294. Decousus H, Quéré I, Presles E, Becker F, Barrellier MT, Chanut M, et al. Superficial venous thrombosis and venous thromboembolism: a large, prospective epidemiologic study. *Ann Intern Med.* 16 de febrero de 2010;152(4):218-24.
295. Cogo A, Bernardi E, Prandoni P, Girolami B, Noventa F, Simioni P, et al.

- Acquired risk factors for deep-vein thrombosis in symptomatic outpatients. *Arch Intern Med.* 24 de enero de 1994;154(2):164-8.
296. Goldhaber SZ, Savage DD, Garrison RJ, Castelli WP, Kannel WB, McNamara PM, et al. Risk factors for pulmonary embolism. The Framingham Study. *Am J Med.* junio de 1983;74(6):1023-8.
297. Lijfering WM, Flinterman LE, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR, Cannegieter SC. Relationship between venous and arterial thrombosis: a review of the literature from a causal perspective. *Semin Thromb Hemost.* noviembre de 2011;37(8):885-96.
298. Doggen CJM, Smith NL, Lemaitre RN, Heckbert SR, Rosendaal FR, Psaty BM. Serum lipid levels and the risk of venous thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* octubre de 2004;24(10):1970-5.
299. Chamberlain AM, Folsom AR, Heckbert SR, Rosamond WD, Cushman M. High-density lipoprotein cholesterol and venous thromboembolism in the Longitudinal Investigation of Thromboembolism Etiology (LITE). *Blood.* 1 de octubre de 2008;112(7):2675-80.
300. Barsoum MK, Cohoon KP, Roger VL, Mehta RA, Hodge DO, Bailey KR, et al. Are myocardial infarction and venous thromboembolism associated? Population-based case-control and cohort studies. *Thromb Res.* septiembre de 2014;134(3):593-8.
301. Folsom AR, Chamberlain A. Lipoprotein(a) and venous thromboembolism. *Am J Med.* febrero de 2008;121(2):e17; author reply e19.
302. Zöller B, Li X, Sundquist J, Sundquist K. Venous thromboembolism does not share strong familial susceptibility with coronary heart disease: a nationwide family study in Sweden. *Eur Heart J.* noviembre de 2011;32(22):2800-5.
303. Ludvigsson JF, Welander A, Lassila R, Ekbom A, Montgomery SM. Risk of thromboembolism in 14,000 individuals with coeliac disease. *Br J Haematol.* octubre de 2007;139(1):121-7.
304. Shantsila E, Lip GYH, Chong BH. Heparin-induced thrombocytopenia. A contemporary clinical approach to diagnosis and management. *Chest.* junio de 2009;135(6):1651-64.
305. van Zaane B, Squizzato A, Huijgen R, van Zanten AP, Fliers E, Cannegieter SC, et al. Increasing levels of free thyroxine as a risk factor for a first venous thrombosis: a case-control study. *Blood.* 3 de junio de 2010;115(22):4344-9.
306. Boyle S, White RH, Brunson A, Wun T. Splenectomy and the incidence of venous thromboembolism and sepsis in patients with immune thrombocytopenia. *Blood.* 6 de junio de 2013;121(23):4782-90.
307. Grainge MJ, West J, Card TR. Venous thromboembolism during active disease and remission in inflammatory bowel disease: a cohort study. *Lancet Lond Engl.* 20 de febrero de 2010;375(9715):657-63.
308. Dentali F, Squizzato A, Brivio L, Appio L, Campiotti L, Crowther M, et al. JAK2V617F mutation for the early diagnosis of Ph- myeloproliferative neoplasms in patients with venous thromboembolism: a meta-analysis. *Blood.* 28 de mayo de 2009;113(22):5617-23.
309. Barbui T, Carobbio A, Cervantes F, Vannucchi AM, Guglielmelli P, Antonioli E, et al. Thrombosis in primary myelofibrosis: incidence and risk factors. *Blood.* 28 de enero de 2010;115(4):778-82.

310. Kayali F, Najjar R, Aswad F, Matta F, Stein PD. Venous thromboembolism in patients hospitalized with nephrotic syndrome. *Am J Med.* marzo de 2008;121(3):226-30.
311. Kearon C, Akl EA, Comerota AJ, Prandoni P, Bounameaux H, Goldhaber SZ, et al. Antithrombotic therapy for VTE disease: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest.* febrero de 2012;141(2 Suppl):e419S-e496S.
312. Kahn SR, Lim W, Dunn AS, Cushman M, Dentali F, Akl EA, et al. Prevention of VTE in nonsurgical patients: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest.* febrero de 2012;141(2 Suppl):e195S-e226S.
313. Matute CR. Enfermedad tromboembólica venosa. *Profilaxis.* :10.
314. GPC_499_PRETEMED_2007.pdf [Internet]. [citado 25 de junio de 2022]. Disponible en: https://portal.guiasalud.es/wp-content/uploads/2018/12/GPC_499_PRETEMED_2007.pdf
315. Gould MK, Garcia DA, Wren SM, Karanicolas PJ, Arcelus JI, Heit JA, et al. Prevention of VTE in nonorthopedic surgical patients: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest.* febrero de 2012;141(2 Suppl):e227S-e277S.
316. Ruiz-Iban MA, Díaz-Heredia J, Elías-Martín ME, Martos-Rodríguez LA, Cebreiro-Martínez del Val I, Pascual-Martín-Gamero FJ. [The new guidelines for deep venous thromboembolic disease prophylaxis in elective hip and knee replacement surgery. Are we nearer or further away from a consensus?]. *Rev Espanola Cirugia Ortop Traumatol.* agosto de 2012;56(4):328-37.
317. Linkins LA, Choi PT, Douketis JD. Clinical impact of bleeding in patients taking oral anticoagulant therapy for venous thromboembolism: a meta-analysis. *Ann Intern Med.* 2 de diciembre de 2003;139(11):893-900.
318. McMahan DA, Smith DM, Carey MA, Zhou XH. Risk of major hemorrhage for outpatients treated with warfarin. *J Gen Intern Med.* mayo de 1998;13(5):311-6.
319. Beyth RJ, Quinn L, Landefeld CS. A multicomponent intervention to prevent major bleeding complications in older patients receiving warfarin. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med.* 7 de noviembre de 2000;133(9):687-95.
320. Carrier M, Le Gal G, Wells PS, Rodger MA. Systematic review: case-fatality rates of recurrent venous thromboembolism and major bleeding events among patients treated for venous thromboembolism. *Ann Intern Med.* 4 de mayo de 2010;152(9):578-89.
321. Ageno W, Squizzato A, Wells PS, Büller HR, Johnson G. The diagnosis of symptomatic recurrent pulmonary embolism and deep vein thrombosis: guidance from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost.* 2013;11(8):1597-602.
322. Douketis J, Tosetto A, Marcucci M, Baglin T, Cosmi B, Cushman M, et al. Risk of recurrence after venous thromboembolism in men and women: patient level meta-analysis. *BMJ.* 24 de febrero de 2011;342:d813.
323. Iorio A, Kearon C, Filippucci E, Marcucci M, Macura A, Pengo V, et al. Risk of recurrence after a first episode of symptomatic venous thromboembolism provoked by a transient risk factor: a systematic review. *Arch Intern Med.* 25 de

octubre de 2010;170(19):1710-6.

324. Baglin T, Douketis J, Tosetto A, Marcucci M, Cushman M, Kyrle P, et al. Does the clinical presentation and extent of venous thrombosis predict likelihood and type of recurrence? A patient-level meta-analysis. *J Thromb Haemost JTH*. noviembre de 2010;8(11):2436-42.

325. Douketis JD, Gu CS, Schulman S, Ghirarduzzi A, Pengo V, Prandoni P. The risk for fatal pulmonary embolism after discontinuing anticoagulant therapy for venous thromboembolism. *Ann Intern Med*. 4 de diciembre de 2007;147(11):766-74.

326. Eichinger S, Weltermann A, Minar E, Stain M, Schönauer V, Schneider B, et al. Symptomatic pulmonary embolism and the risk of recurrent venous thromboembolism. *Arch Intern Med*. 12 de enero de 2004;164(1):92-6.

327. Jiménez D, Díaz G, Marín E, Vidal R, Sueiro A, Yusen RD. The risk of recurrent venous thromboembolism in patients with unprovoked symptomatic deep vein thrombosis and asymptomatic pulmonary embolism. *Thromb Haemost*. marzo de 2006;95(3):562-6.

328. Murin S, Romano PS, White RH. Comparison of outcomes after hospitalization for deep venous thrombosis or pulmonary embolism. *Thromb Haemost*. septiembre de 2002;88(3):407-14.

329. Agnelli G, Prandoni P, Becattini C, Silingardi M, Taliani MR, Miccio M, et al. Extended oral anticoagulant therapy after a first episode of pulmonary embolism. *Ann Intern Med*. 1 de julio de 2003;139(1):19-25.

330. Hutten BA, Prins MH, Gent M, Ginsberg J, Tijssen JG, Büller HR. Incidence of recurrent thromboembolic and bleeding complications among patients with venous thromboembolism in relation to both malignancy and achieved international normalized ratio: a retrospective analysis. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. septiembre de 2000;18(17):3078-83.

331. Prandoni P, Lensing AWA, Piccioli A, Bernardi E, Simioni P, Girolami B, et al. Recurrent venous thromboembolism and bleeding complications during anticoagulant treatment in patients with cancer and venous thrombosis. *Blood*. 15 de noviembre de 2002;100(10):3484-8.

332. Louzada ML, Majeed H, Dao V, Wells PS. Risk of recurrent venous thromboembolism according to malignancy characteristics in patients with cancer-associated thrombosis: a systematic review of observational and intervention studies. *Blood Coagul Fibrinolysis Int J Haemost Thromb*. marzo de 2011;22(2):86-91.

333. De Stefano V, Martinelli I, Rossi E, Battaglioli T, Za T, Mannuccio Mannucci P, et al. The risk of recurrent venous thromboembolism in pregnancy and puerperium without antithrombotic prophylaxis. *Br J Haematol*. noviembre de 2006;135(3):386-91.

334. White RH, Chan WS, Zhou H, Ginsberg JS. Recurrent venous thromboembolism after pregnancy-associated versus unprovoked thromboembolism. *Thromb Haemost*. agosto de 2008;100(2):246-52.

335. Hansson PO, Sörbo J, Eriksson H. Recurrent venous thromboembolism after deep vein thrombosis: incidence and risk factors. *Arch Intern Med*. 27 de marzo de 2000;160(6):769-74.

336. 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 Haemost JTH*. diciembre de 2005;3(12):2671-6.

337. Eichinger S, Minar E, Bialonczyk C, Hirschl M, Quehenberger P, Schneider B, et al. D-dimer levels and risk of recurrent venous thromboembolism. *JAMA*. 27 de agosto de 2003;290(8):1071-4.

338. Cosmi B, Legnani C, Cini M, Guazzaloca G, Palareti G. D-dimer and residual vein obstruction as risk factors for recurrence during and after anticoagulation withdrawal in patients with a first episode of provoked deep-vein thrombosis. *Thromb Haemost*. mayo de 2011;105(5):837-45.

339. Bruinstroop E, Klok FA, Van De Ree MA, Oosterwijk FL, Huisman MV. Elevated D-dimer levels predict recurrence in patients with idiopathic venous thromboembolism: a meta-analysis. *J Thromb Haemost JTH*. abril de 2009;7(4):611-8.

340. Palareti G, Cosmi B, Legnani C, Tositto A, Brusi C, Iorio A, et al. D-dimer testing to determine the duration of anticoagulation therapy. *N Engl J Med*. 26 de octubre de 2006;355(17):1780-9.

341. Cosmi B, Legnani C, Tositto A, Pengo V, Ghirarduzzi A, Alatri A, et al. Use of D-dimer testing to determine duration of anticoagulation, risk of cardiovascular events and occult cancer after a first episode of idiopathic venous thromboembolism: the extended follow-up of the PROLONG study. *J Thromb Thrombolysis*. noviembre de 2009;28(4):381-8.

342. Cosmi B, Legnani C, Tositto 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*. 21 de enero de 2010;115(3):481-8.

343. Palareti G, Cosmi B, Antonucci E, Legnani C, Erba N, Ghirarduzzi A, et al. Duration of anticoagulation after isolated pulmonary embolism. *Eur Respir J*. mayo de 2016;47(5):1429-35.

344. 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*. 10 de julio de 2014;124(2):196-203.

345. Kearon C, Spencer FA, O'Keefe D, Parpia S, Schulman S, Baglin T, et al. D-dimer testing to select patients with a first unprovoked venous thromboembolism who can stop anticoagulant therapy: a cohort study. *Ann Intern Med*. 6 de enero de 2015;162(1):27-34.

346. Kearon C, Parpia S, Spencer FA, Schulman S, Stevens SM, Shah V, et al. Long-term risk of recurrence in patients with a first unprovoked venous thromboembolism managed according to d-dimer results; A cohort study. *J Thromb Haemost JTH*. julio de 2019;17(7):1144-52.

347. Young L, Ockelford P, Milne D, Rolfe-Vyson V, Mckelvie S, Harper P. Post-treatment residual thrombus increases the risk of recurrent deep vein thrombosis and mortality. *J Thromb Haemost JTH*. septiembre de 2006;4(9):1919-24.

348. 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*. 1 de agosto de 2008;112(3):511-5.

349. 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.* 5 de mayo de 2009;150(9):577-85.
350. LE Gal G, Carrier M, Kovacs MJ, Betancourt MT, Kahn SR, Wells PS, et al. Residual vein obstruction as a predictor for recurrent thromboembolic events after a first unprovoked episode: data from the REVERSE cohort study. *J Thromb Haemost JTH.* junio de 2011;9(6):1126-32.
351. 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.* abril de 2011;153(2):168-78.
352. 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 JTH.* junio de 2011;9(6):1119-25.
353. Siragusa S, Malato A, Saccullo G, Iorio A, Di Ianni M, Caracciolo C, et al. Residual vein thrombosis for assessing duration of anticoagulation after unprovoked deep vein thrombosis of the lower limbs: the extended DACUS study. *Am J Hematol.* noviembre de 2011;86(11):914-7.
354. Baglin T, Luddington R, Brown K, Baglin C. Incidence of recurrent venous thromboembolism in relation to clinical and thrombophilic risk factors: prospective cohort study. *Lancet Lond Engl.* 16 de agosto de 2003;362(9383):523-6.
355. Ho WK, Hankey GJ, Quinlan DJ, Eikelboom JW. Risk of recurrent venous thromboembolism in patients with common thrombophilia: a systematic review. *Arch Intern Med.* 10 de abril de 2006;166(7):729-36.
356. Kearon C, Akl EA, Ornelas J, Blaivas A, Jimenez D, Bounameaux H, et al. Antithrombotic Therapy for VTE Disease: CHEST Guideline and Expert Panel Report. *Chest.* febrero de 2016;149(2):315-52.
357. Hicks LK, Bering H, Carson KR, Kleinerman J, Kukreti V, Ma A, et al. The ASH Choosing Wisely® campaign: five hematologic tests and treatments to question. *Blood.* 5 de diciembre de 2013;122(24):3879-83.
358. Baglin T, Gray E, Greaves M, Hunt BJ, Keeling D, Machin S, et al. Clinical guidelines for testing for heritable thrombophilia. *Br J Haematol.* abril de 2010;149(2):209-20.
359. Couturaud F, Leroyer C, Tromeur C, Julian JA, Kahn SR, Ginsberg JS, et al. Factors that predict thrombosis in relatives of patients with venous thromboembolism. *Blood.* 25 de septiembre de 2014;124(13):2124-30.
360. Connors JM. Thrombophilia Testing and Venous Thrombosis. *N Engl J Med.* 21 de septiembre de 2017;377(12):1177-87.
361. Goldenberg NA, Knapp-Clevenger R, Manco-Johnson MJ, Mountain States Regional Thrombophilia Group. Elevated plasma factor VIII and D-dimer levels as predictors of poor outcomes of thrombosis in children. *N Engl J Med.* 9 de septiembre de 2004;351(11):1081-8.
362. Eichinger S, Heinze G, Jandek LM, Kyrle PA. Risk assessment of recurrence in patients with unprovoked deep vein thrombosis or pulmonary embolism: the Vienna prediction model. *Circulation.* 13 de abril de 2010;121(14):1630-6.
363. Tosetto A, Iorio A, Marcucci M, Baglin T, Cushman M, Eichinger S, et al.

Predicting disease recurrence in patients with previous unprovoked venous thromboembolism: a proposed prediction score (DASH). *J Thromb Haemost JTH*. junio de 2012;10(6):1019-25.

364. Klok FA, Hösel V, Clemens A, Yollo WD, Tilke C, Schulman S, et al. Prediction of bleeding events in patients with venous thromboembolism on stable anticoagulation treatment. *Eur Respir J*. noviembre de 2016;48(5):1369-76.

365. Klok FA, Barco S, Turpie AGG, Haas S, Kreuz R, Mantovani LG, et al. Predictive value of venous thromboembolism (VTE)-BLEED to predict major bleeding and other adverse events in a practice-based cohort of patients with VTE: results of the XALIA study. *Br J Haematol*. noviembre de 2018;183(3):457-65.

366. Vlieg A van H, Flinterman LE, Bare LA, Cannegieter SC, Reitsma PH, Arellano AR, et al. Genetic Variations Associated With Recurrent Venous Thrombosis. *Circ Cardiovasc Genet*. diciembre de 2014;7(6):806-13.

367. Ahmad A, Sundquist K, Palmér K, Svensson PJ, Sundquist J, Memon AA. Risk prediction of recurrent venous thromboembolism: a multiple genetic risk model. *J Thromb Thrombolysis*. febrero de 2019;47(2):216-26.

368. de Haan HG, Bezemer ID, Doggen CJM, Le Cessie S, Reitsma PH, Arellano AR, et al. Multiple SNP testing improves risk prediction of first venous thrombosis. *Blood*. 19 de julio de 2012;120(3):656-63.

369. Soria JM, Morange PE, Vila J, Souto JC, Moyano M, Trégouët DA, et al. Multilocus genetic risk scores for venous thromboembolism risk assessment. *J Am Heart Assoc*. 23 de octubre de 2014;3(5):e001060.

370. Hodeib H, Youssef A, Allam AA, Selim A, Tawfik MA, Abosamak MF, et al. Genetic Risk Profiling Associated with Recurrent Unprovoked Venous Thromboembolism. *Genes*. 7 de junio de 2021;12(6):874.

371. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 2000;894:i-xii, 1-253.

372. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *Rev Espanola Cardiol Engl Ed*. febrero de 2019;72(2):160.

373. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2019. *Diabetes Care*. enero de 2019;42(Suppl 1):S13-28.

374. Bates SM, Jaeschke R, Stevens SM, Goodacre S, Wells PS, Stevenson MD, et al. Diagnosis of DVT: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*. febrero de 2012;141(2 Suppl):e351S-e418S.

375. Schulman S, Kearon C, Scientific the SOCOAOT, Thrombosis SC of the ISO, Haemostasis. Definition of major bleeding in clinical investigations of antihemostatic medicinal products in non-surgical patients. *J Thromb Haemost*. 2005;3(4):692-4.

376. Kaatz S, Ahmad D, Spyropoulos AC, Schulman S, Anticoagulation the S on C of. Definition of clinically relevant non-major bleeding in studies of anticoagulants in atrial fibrillation and venous thromboembolic disease in non-surgical patients: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2015;13(11):2119-26.

377. Assessment of validity and reproducibility of a clinical scale for the post-thrombotic syndrome – ScienceOpen [Internet]. [citado 25 de junio de 2022].

- Disponible en: <https://www.scienceopen.com/document?vid=804de613-4ec3-4177-b9ea-b3bce2292dao>
378. Kahn SR, Partsch H, Vedantham S, Prandoni P, Kearon C, on behalf of the Subcommittee on Control of Anticoagulation of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Definition of post-thrombotic syndrome of the leg for use in clinical investigations: a recommendation for standardization. *J Thromb Haemost.* 2009;7(5):879-83.
379. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 11 de febrero de 1988;16(3):1215.
380. Oscanoa J, Sivapalan L, Gadaleta E, Dayem Ullah AZ, Lemoine NR, Chelala C. SNPnexus: a web server for functional annotation of human genome sequence variation (2020 update). *Nucleic Acids Res.* 2 de julio de 2020;48(W1):W185-92.
381. Gillespie M, Jassal B, Stephan R, Milacic M, Rothfels K, Senff-Ribeiro A, et al. The reactome pathway knowledgebase 2022. *Nucleic Acids Res.* 7 de enero de 2022;50(D1):D687-92.
382. Barret JC, Fry B, Maller J, Daly ML. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics.* 2005;21(2):263-5.
383. Enrique GG. Prevalencia de sobrepeso y obesidad en España en el informe "The heavy burden of obesity" (OCDE 2019) y en otras fuentes de datos. y en. 2019;9.
384. Cushman M, Tsai AW, White RH, Heckbert SR, Rosamond WD, Enright P, et al. Deep vein thrombosis and pulmonary embolism in two cohorts: the longitudinal investigation of thromboembolism etiology. *Am J Med.* 1 de julio de 2004;117(1):19-25.
385. Ridker PM, Miletich JP, Hennekens CH, Buring JE. Ethnic distribution of factor V Leiden in 4047 men and women. Implications for venous thromboembolism screening. *JAMA.* 23 de abril de 1997;277(16):1305-7.
386. Ungprasert P, Srivali N, Wijarnpreecha K, Charoenpong P, Knight EL. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of venous thromboembolism: a systematic review and meta-analysis. *Rheumatology.* 1 de abril de 2015;54(4):736-42.
387. Rosendaal FR. Thrombosis in the young: epidemiology and risk factors. A focus on venous thrombosis. *Thromb Haemost.* julio de 1997;78(1):1-6.
388. Arellano AR, Bezemer ID, Tong CH, Catanese JJ, Devlin JJ, Reitsma PH, et al. Gene variants associated with venous thrombosis: confirmation in the MEGA study. *J Thromb Haemost JTH.* mayo de 2010;8(5):1132-4.
389. Gohil R, Peck G, Sharma P. The genetics of venous thromboembolism. A meta-analysis involving approximately 120,000 cases and 180,000 controls. *Thromb Haemost.* agosto de 2009;102(2):360-70.
390. Burzotta F, Di Castelnuovo A, Amore C, D'Orazio A, Di Bitondo R, Donati MB, et al. 4G/5G promoter PAI-1 gene polymorphism is associated with plasmatic PAI-1 activity in Italians: a model of gene-environment interaction. *Thromb Haemost.* febrero de 1998;79(2):354-8.
391. Eriksson P, Kallin B, van 't Hooft FM, Båvenholm P, Hamsten A. Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 14 de marzo

de 1995;92(6):1851-5.

392. Kohler HP, Grant PJ. Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *N Engl J Med.* 15 de junio de 2000;342(24):1792-801.

393. Fay WP, Garg N, Sunkar M. Vascular functions of the plasminogen activation system. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* junio de 2007;27(6):1231-7.

394. Koch W, Schrempf M, Erl A, Mueller JC, Hoppmann P, Schömig A, et al. 4G/5G polymorphism and haplotypes of SERPINE1 in atherosclerotic diseases of coronary arteries. *Thromb Haemost.* junio de 2010;103(6):1170-80.

395. Kohler HP, Stickland MH, Ossei-Gerning N, Carter A, Mikkola H, Grant PJ. Association of a common polymorphism in the factor XIII gene with myocardial infarction. *Thromb Haemost.* enero de 1998;79(1):8-13.

396. Junker R, Heinrich J, Schulte H, Tataru M, Köhler E, Schönfeld R, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G-polymorphism and factor V Q506 mutation are not associated with myocardial infarction in young men. *Blood Coagul Fibrinolysis Int J Haemost Thromb.* octubre de 1998;9(7):597-602.

397. van der Poll T, Levi M, Büller HR, van Deventer SJ, de Boer JP, Hack CE, et al. Fibrinolytic response to tumor necrosis factor in healthy subjects. *J Exp Med.* 1 de septiembre de 1991;174(3):729-32.

398. Kruithof EK, Mestries JC, Gascon MP, Ythier A. The coagulation and fibrinolytic responses of baboons after in vivo thrombin generation--effect of interleukin 6. *Thromb Haemost.* mayo de 1997;77(5):905-10.

399. Heinrich PC, Castell JV, Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J.* 1 de febrero de 1990;265(3):621-36.

400. Bataille R, Klein B. C-reactive protein levels as a direct indicator of interleukin-6 levels in humans in vivo. *Arthritis Rheum.* agosto de 1992;35(8):982-4.

401. Mestries JC, Kruithof EK, Gascon MP, Herodin F, Agay D, Ythier A. In vivo modulation of coagulation and fibrinolysis by recombinant glycosylated human interleukin-6 in baboons. *Eur Cytokine Netw.* junio de 1994;5(3):275-81.

402. Niessen RW, Lamping RJ, Jansen PM, Prins MH, Peters M, Taylor FB, et al. Antithrombin acts as a negative acute phase protein as established with studies on HepG2 cells and in baboons. *Thromb Haemost.* septiembre de 1997;78(3):1088-92.

403. Burstein SA. Effects of interleukin 6 on megakaryocytes and on canine platelet function. *Stem Cells Dayt Ohio.* julio de 1994;12(4):386-93.

404. Soslau G, Morgan DA, Jaffe JS, Brodsky I, Wang Y. Cytokine mRNA expression in human platelets and a megakaryocytic cell line and cytokine modulation of platelet function. *Cytokine.* junio de 1997;9(6):405-11.

405. Landin K, Stigendal L, Eriksson E, Krotkiewski M, Risberg B, Tengborn L, et al. Abdominal obesity is associated with an impaired fibrinolytic activity and elevated plasminogen activator inhibitor-1. *Metabolism.* octubre de 1990;39(10):1044-8.

406. Bouchard L, Mauriège P, Vohl MC, Bouchard C, Pérusse L. Plasminogen-activator inhibitor-1 polymorphisms are associated with obesity and fat distribution in the Quebec Family Study: evidence of interactions with menopause. *Menopause N Y N.* marzo de 2005;12(2):136-43.

407. Yamamoto K, Kojima T, Adachi T, Hayashi M, Matsushita T, Takamatsu J, et al. Obesity enhances the induction of plasminogen activator inhibitor-1 by

- restraint stress: a possible mechanism of stress-induced renal fibrin deposition in obese mice. *J Thromb Haemost JTH*. julio de 2005;3(7):1495-502.
408. Yudkin JS, Kumari M, Humphries SE, Mohamed-Ali V. Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? *Atherosclerosis*. febrero de 2000;148(2):209-14.
409. Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, Bosch RJ, Deem R, Simsolo RB. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. *J Clin Invest*. mayo de 1995;95(5):2111-9.
410. Akar N, Yilmaz E, Akar E, Avcu F, Yalçın A, Cin S. Effect of plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism in Turkish deep vein thrombotic patients with and without FV1691 G-A. *Thromb Res*. 15 de febrero de 2000;97(4):227-30.
411. Akhter MS, Biswas A, Ranjan R, Meena A, Yadav BK, Sharma A, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene 4G/5G promoter polymorphism is seen in higher frequency in the Indian patients with deep vein thrombosis. *Clin Appl Thromb Off J Int Acad Clin Appl Thromb*. abril de 2010;16(2):184-8.
412. Kupeli E, Verdi H, Simsek A, Atac FB, Eyuboglu FO. Genetic mutations in Turkish population with pulmonary embolism and deep venous thrombosis. *Clin Appl Thromb Off J Int Acad Clin Appl Thromb*. diciembre de 2011;17(6):E87-94.
413. Lichy C, Kloss M, Reismann P, Genius J, Grau A, Reuner K. No evidence for plasminogen activator inhibitor 1 4G/4G genotype as risk factor for cerebral venous thrombosis. *J Neurol*. agosto de 2007;254(8):1124-5.
414. Vuckovic BA, Djerić MJ, Tomic BV, Djordjević VJ, Bajkin BV, Mitic GP. Influence of decreased fibrinolytic activity and plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism on the risk of venous thrombosis. *Blood Coagul Fibrinolysis Int J Haemost Thromb*. enero de 2018;29(1):19-24.
415. Tsantes AE, Nikolopoulos GK, Bagos PG, Rapti E, Mantzios G, Kapsimali V, et al. Association between the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism and venous thrombosis. A meta-analysis. *Thromb Haemost*. junio de 2007;97(6):907-13.
416. Sundquist K, Wang X, Svensson PJ, Sundquist J, Hedelius A, Larsson Lönn S, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism, factor V Leiden, prothrombin mutations and the risk of VTE recurrence. *Thromb Haemost*. 25 de noviembre de 2015;114(6):1156-64.
417. Wang J, Wang C, Chen N, Shu C, Guo X, He Y, et al. Association between the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism and risk of venous thromboembolism: a meta-analysis. *Thromb Res*. diciembre de 2014;134(6):1241-8.
418. Seguí R, Estellés A, Mira Y, España F, Villa P, Falcó C, et al. PAI-1 promoter 4G/5G genotype as an additional risk factor for venous thrombosis in subjects with genetic thrombophilic defects. *Br J Haematol*. octubre de 2000;111(1):122-8.
419. Tsantes AE, Nikolopoulos GK, Bagos PG, Bonovas S, Kopterides P, Vaiopoulos G. The effect of the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism on the thrombotic risk. *Thromb Res*. 2008;122(6):736-42.
420. Janssens ACJW, Aulchenko YS, Elefante S, Borsboom GJJM, Steyerberg EW, van Duijn CM. Predictive testing for complex diseases using multiple genes: fact or fiction? *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. julio de 2006;8(7):395-400.

Tesis doctoral

421. Van Hylckama Vlieg A, Baglin CA, Bare LA, Rosendaal FR, Baglin TP. Proof of principle of potential clinical utility of multiple SNP analysis for prediction of recurrent venous thrombosis: *SNPs and recurrent venous thrombosis*. J Thromb Haemost. mayo de 2008;6(5):751-4.