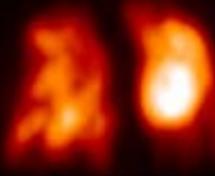


**Tomografía de perfusión
en la Hipertensión Pulmonar
Tromboembólica Crónica**



**Dr. Xavier Soler i Tomàs
Tesis Doctoral - 2009**

**Tomografía de perfusión pulmonar
en la Hipertensión Pulmonar Tromboembólica Crónica**

Departament de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

Dr. Xavier Soler i Tomàs

TESIS DOCTORAL

2009

Director

Dr. Joan Ruiz Manzano



AGRAÏMENTS

A la meva família, i en especial a la Mònica, ja que sense ella aquesta tesi no havés estat possible. Al Ferran i a la Berta, els autèntics motors de la meva vida.

També al Joan Ruiz, company i mentor durant la meva etapa clínica a Barcelona. Per les oportunitats i els consells. Per la seva fonda amistat. Per ser el director d'aquesta tesi.

Als professors i companys de feina amb els que he tingut la sort de treballar i que tant m'han ensenyat durant la meva etapa de formació i també clínica.

Als membres del tribunal de la tesi.

De la Universitat de Califòrnia San Diego (UCSD) vull destacar l'ajuda de les següents persones: Dra. Patricia Finn, cap de Servei de Pneumología, per la fe incondicional en la meva persona i capacitat. També pel seu continu recolzament i oportunitats. Al Dr. Andrew Ries, per ensenyarme de nou la fisiología i acollir-me en el seu cercle. Al Dr. Tim Morris, per obrir-me el seu laboratori i del que he après les primeres passes en la recerca. Al Dr. J. Loredo, pels consells i amistat. Per donar-me projectes i estimular l'estudi. Al Jim Marsh i al Peter Chiles, que sempre han ofert la seva ajuda en les revisions crítiques dels treballs i han ajudat en la seva edició sense demanar-ne res a canvi.

Als malalts que he tingut la sort de conèixer, i dels que tant he après i espero encara aprendre. No m'he oblidat de cap d'ells.

PRÓLOGO

El eje principal de la tesis es el estudio de la perfusión pulmonar mediante pruebas de imagen en pacientes afectados de Hipertensión Pulmonar Tromboembólica Crónica, en adelante CTEPH, por el acrónimo inglés de *Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension*, es decir pacientes que padecen de tromboembolismo pulmonar crónico y que desarrollan hipertensión pulmonar secundaria a la obstrucción vascular pulmonar.

El tromboembolismo pulmonar (TEP) es una de las patologías respiratorias más graves a las que se enfrenta el médico clínico. El embolismo pulmonar es una causa frecuente de muerte tanto dentro como fuera del hospital. Si el tromboembolismo no se resuelve mediante la lisis del coágulo y el émbolo persiste de forma crónica en el árbol vascular o bien se producen embolismos de repetición, puede desencadenarse hipertensión pulmonar secundaria en pocos meses, que si no es sospechada y tratada adecuadamente conducirá en la mayoría de los casos a la muerte por insuficiencia cardíaca derecha. Dicha fase crónica de la enfermedad tromboembólica es poco conocida, muy grave y de difícil diagnóstico por lo que creí oportuno profundizar en su estudio mediante pruebas de imagen, con el fin de aumentar el conocimiento de la misma y a ser posible mejorar su detección.

La CTEPH puede afectar a sujetos previamente sanos de cualquier edad, con o sin antecedentes previos de embolismo pulmonar. Su sintomatología es inespecífica y a menudo poco expresiva por lo que es necesario sospecharla para diagnosticarla. Los síntomas pueden ser idénticos a otras patologías cardíacas o respiratorias, tales como disnea, dolor torácico o sibilantes. En el seno de enfermedades oncológicas sus síntomas pueden ser confundidos con efectos secundarios al tratamiento quimioterápico o con la propia evolución de la enfermedad. En mujeres jóvenes los síntomas se pueden confundir con crisis de ansiedad. Todo ello dificulta pues, su diagnóstico.

En las últimas dos décadas, se han destinado recursos para profundizar en la fisiopatología de la enfermedad tromboembólica (ETV), en nuevas técnicas de laboratorio, se han sugerido y consensuado nuevos algoritmos clínicos y han aparecido avances en el tratamiento. Sin embargo, se ha avanzado muy poco en cuanto a la aplicación de técnicas de imagen en el TEP y menos aún en la CTEPH. La evaluación de la CTEPH no ha sufrido grandes cambios en las últimas décadas a pesar de los avances tecnológicos que existen y que sí se han incorporado en otras especialidades médicas o quirúrgicas.

Mi principal objetivo es, por tanto, estudiar si la tomografía de perfusión pulmonar o SPECT permite evaluar de manera más sensible que la gammagrafía en modo planar en el contexto de la enfermedad tromboembólica crónica. Trabajos recientes han demostrado la mayor sensibilidad del SPECT en relación a la gammagrafía convencional en la evaluación de la sospecha de TEP, pero no existe ningún trabajo específicamente diseñado para evaluar al paciente con CTEPH mediante el SPECT de perfusión. Si el SPECT es más sensible en detectar obstrucción en la perfusión como lo es en el embolismo pulmonar agudo, es posible

que ocurra de manera similar en la CTEPH. Es fundamental hacer un diagnóstico temprano y lo más preciso posible de ésta condición, y a ser posible, realizar el tratamiento quirúrgico o tromboendarterectomía pulmonar (PTE), único tratamiento potencialmente curativo de ésta enfermedad.

ÍNDICE

Prólogo	i	
PARTE 1 INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS		
Capítulo 1	Introducción	7
	1.1 Introducción a la enfermedad tromboembólica	
	1.2 CTEPH e Hipertensión Pulmonar	
	no tromboembólica	
	1.3 Tomografía Computerizada de perfusión	
	(CTPA) y tomografía de perfusión (SPECT)	
	en la evaluación del árbol vascular pulmonar	
Capítulo 2	Fisiopatología de la enfermedad tromboembólica venosa	21
Capítulo 3	La tomografía de perfusión (SPECT) en neumología	37
Capítulo 4	Objetivos	49
PARTE 2 RESULTADOS		
Capítulo 5	<i>Single Photon Emission Computed Tomography in Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension</i>	
	Manuscrito enviado para su publicación	55
Capítulo 6	<i>Tomographic perfusion scan (SPECT) and Computed Tomographic Pulmonary Angiography (CTPA) in Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension</i>	
	Manuscrito en preparación	75

Capítulo 7	El número de segmentos vasculares pulmonares ocluidos analizados mediante SPECT de perfusión en la Hipertensión Pulmonar Tromboembólica Crónica no predice los resultados hemodinámicos post-tromboendarterectomía	87
Capítulo 8	SPECT de perfusión en la Hipertensión Arterial Pulmonar no tromboembólica	101
Capítulo 9	<i>High prevalence of dysfibrinogenemia among patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension</i> Blood 2009; 114: 1929-36	109
PARTE 3	DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	
Capítulo 10	Discusión	127
Capítulo 11	Conclusiones	147
ANEXO I	Referencias	151
ANEXO II	Abreviaturas	161
ANEXO III	Material complementario	163

PARTE 1

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Capítulo 1
Introducción

1.1 Introducción a la enfermedad tromboembólica

La enfermedad tromboembólica venosa (ETV) comprende la trombosis venosa profunda (TVP) y la tromboembolia pulmonar (TEP). Aunque Tulpius en 1641 (citado por Liebow en 1960)¹ describió por primera vez la oclusión masiva de las arterias pulmonares, fue Rudolf Virchow en 1859 el primero en describir que los coágulos hallados en las arterias pulmonares tenían su origen en el desprendimiento de fragmentos de trombos venosos y en llamar embolia a esta posibilidad.² El trombo, por tanto, se forma en los vasos del sistema venoso profundo de las extremidades, sobre todo inferiores, dando lugar a la trombosis venosa profunda para después desprenderse y circular hasta los vasos pulmonares desencadenando el tromboembolismo pulmonar.

La ETV es la tercera causa más frecuente de enfermedad vascular (tras la cardiopatía isquémica y el accidente cerebral vascular). El TEP puede ocurrir hasta en el 40% de los pacientes con TVP con una mortalidad asociada a los 3 meses del 17%, lo que en EEUU significa: más de 2 millones de casos anuales de TVP y un número de muertes anuales para TEP que podrían oscilar entre 60.000 y 200.000, lo que es equivalente a las muertes por SIDA, cáncer de mama y accidentes de tráfico juntos.³ La incidencia puede variar entre 56 a 182 casos por 100.000 habitantes y aumenta de forma exponencial por encima de los 60 años de edad, con un rango que comprende desde unos 5 casos por 100.000 individuos/año en pacientes menores de 15 años hasta llegar a los más de 600 casos por 100.000 individuos/año a los 80 años de edad.^{4,5,6} Existen pocos datos epidemiológicos en España, ya que usualmente se extrapolan cifras de otros países, podrían estimarse en 65.000 casos/año de ETV y 25.000 casos/año de TEP declarados en el

Sistema Nacional de Salud.⁷ Datos recientes estiman la tasa para ETV en nuestro país en unos 103 casos por 100.000 habitantes.⁸

Desde el punto de vista clínico, la ETV cursa en muchas ocasiones de forma asintomática, por lo que su prevención es muy importante.⁹ Se estima que sólo se diagnostican el 1% de los episodios de TVP y menos de un tercio de los TEP, por lo que la frecuencia real de la ETV es mucho mayor. La recurrencia estimada para TEP es del 8% durante el primer año y del 20% durante los 5 años siguientes al episodio y depende sobre todo de los factores de riesgo asociados. Además existe suficiente evidencia para sugerir que el desarrollo de la hipertensión pulmonar secundaria al tromboembolismo crónico (CTEPH) es una extensión de la historia natural del TEP agudo, que ocurre en una elevada proporción de casos.¹⁰

La ETV se asocia a factores de riesgo conocidos en un 50-80% de los casos. Los más importantes son la edad avanzada, la cirugía reciente, el cáncer, las trombofilias, episodios tromboembólicos previos y la hospitalización.^{4,11,12} Dichos factores alteran el flujo sanguíneo por mecanismos desconocidos y provocar lesiones en el propio endotelio vascular y/o activar la coagulación sanguínea desencadenando la formación del trombo venoso y consecuentemente la posibilidad de migración al lecho arterial pulmonar.¹³

1.2 CTEPH e Hipertensión Pulmonar no tromboembólica (PAH)

La hipertensión pulmonar tromboembólica crónica (CTEPH) se entiende como una extensión de la historia natural del TEP y puede ocurrir hasta en el 3.8% de los pacientes después de un episodio tromboembólico agudo.¹⁰ La CTEPH se caracteriza por la persistencia de un trombo no

resuelto en el árbol arterial vascular pulmonar que provoca una disminución o la completa obstrucción de los vasos pulmonares. Ello provoca la aparición de remodelado vascular y de tejido fibrótico que incrementa las resistencias vasculares periféricas y como consecuencia el desarrollo de disfunción ventricular derecha, motivo habitual de muerte en éstos pacientes.¹⁴

Se desconoce el mecanismo por el cual un embolismo agudo se cronifica. Episodios de TEP de repetición o la persistencia de defectos en la perfusión después de un episodio de TEP agudo puede estar, entre otros, relacionados con alteraciones en el sistema de la coagulación. Esos defectos en la perfusión se pueden detectar hasta en un 50% de los casos después de varios meses del episodio agudo, y como consecuencia desencadenar CTEPH en un 3.8% de pacientes como se ha comentado.¹⁰ Uno de los mecanismos propuestos es la resistencia del trombo a la lisis de la fibrina. Dicha resistencia podría ser debida a alteraciones en la estructura del fibrinógeno que afectan la accesibilidad a la fibrina de los puntos de corte y por tanto prolongar la persistencia del coágulo en el sistema vascular pulmonar, lo que puede promover la transición desde la lesión aguda a la obstrucción crónica.¹⁵ Nuevas técnicas de laboratorio como la cromatografía líquida de alto rendimiento y su análisis mediante la espectrometría de masas han permitido detectar mutaciones en la estructura del fibrinógeno que explicarían, en algunos pacientes, la persistencia del material trombótico en el lecho vascular pulmonar.¹⁶

Sin tratamiento la CTEPH es una enfermedad progresiva y a menudo fatal, siendo el único tratamiento efectivo la resección quirúrgica del molde trombótico en su totalidad, técnica llamada tromboendarterectomía pulmonar o PTE, intervención de una alta complejidad.^{17,18} En algunos pacientes que han rechazado la cirugía se han propuesto otras formas menos invasivas de

tratamiento como el abordaje endovascular con control por imagen.¹⁹ Por todo ello, la presencia de émbolos en el árbol vascular pulmonar es una condición clínica muy grave que, unido a la poca especificidad de su sintomatología, ocasiona grandes dificultades de diagnóstico. Por ello, la mejoría en las técnicas de imagen que permitan una mejor evaluación y su correcto diagnóstico tiene una gran relevancia.

La hipertensión arterial pulmonar se define como una presión arterial pulmonar (PAP) en reposo mayor de 25 mmHg. mediante cateterización cardíaca derecha.²⁰ Es una condición que puede ocurrir en el seno de una gran variedad de enfermedades o bien ser un desorden de causa desconocida, llamada idiopática o PAH.²¹⁻²³ En su forma secundaria es bastante frecuente. Su patogénesis es muy compleja y se incluyen factores genéticos y ambientales que alteran la estructura vascular y su función. La enfermedad pulmonar obstructiva crónica avanzada, la insuficiencia cardíaca izquierda o enfermedades asociadas al tejido conectivo son causas comunes de HAP secundaria.²¹ La PAH es una enfermedad grave y progresiva que si no es tratada provoca insuficiencia cardíaca derecha y muerte. Afortunadamente, han aparecido fármacos muy efectivos en el tratamiento de ésta enfermedad que han mejorado notablemente su supervivencia.²⁴⁻²⁶ El diagnóstico es básicamente de exclusión, siendo muy importante descartar la presencia de material trombótico en la circulación vascular pulmonar.

La dificultad en diferenciar la CTEPH de la hipertensión pulmonar no tromboembólica (PH) radica en que las manifestaciones clínicas son muy parecidas, sino iguales, entre ambas entidades y sin embargo el enfoque terapéutico es muy diferente: tratamiento médico para la PH y tratamiento quirúrgico (PTE) en los pacientes que padecen CTEPH.^{20,22,27-29} Los protocolos

actuales siguen basando la evaluación de la perfusión pulmonar y por tanto, el diagnóstico diferencial entre ellas mediante la gammagrafía bidimensional o planar.^{14,30} Fishman y colaboradores describieron su utilidad en una serie de pacientes con hipertensión arterial pulmonar. La gammagrafía planar de los pacientes con enfermedad no tromboembólica no detectó defectos segmentarios o sub-segmentarios compatibles con material trombótico en los vasos pulmonares en ninguno de ellos. Por el contrario, todos los pacientes con CTEPH tenían defectos de perfusión compatibles con enfermedad tromboembólica. Aunque se trataba de un estudio retrospectivo con un pequeño número de sujetos, sentó la bases para la evaluación de los pacientes afectados de PH.³¹ Lisbona y colaboradores tuvieron resultados similares en un trabajo con 8 pacientes a través del estudio necrópsico y/o angiografía pulmonar a los que se les había realizado una gammagrafía planar para el estudio de su hipertensión pulmonar. Así pues, si el estudio de perfusión era negativo para enfermedad tromboembólica no era necesario realizar pruebas invasivas como la angiografía pulmonar.³² Cabe decir, sin embargo, que en un porcentaje de pacientes con PH, el estudio de perfusión mediante gammagrafía planar no tiene un patrón estrictamente normal, mostrando un patrón no segmentario, no homogéneo descrito como parcheado.³¹ Por otro parte, es reconocido que no todos los pacientes con PH responden bien al tratamiento médico lo que permite especular que quizás en algunas ocasiones la gammagrafía planar no sería suficientemente sensible para localizar defectos de perfusión en todos los pacientes afectados de CTPEH, es decir, puedan existir pacientes mal clasificados dentro del grupo de PH idiopática por la menor sensibilidad de la técnica.

1.3 Tomografía Computerizada de perfusión (CTPA o angio-TC) y tomografía de perfusión (SPECT) para la evaluación del árbol vascular pulmonar

Existe un considerable debate en relación al óptimo estudio de imagen para la evaluación de la enfermedad tromboembólica.³³ Las opciones incluyen principalmente pruebas de medicina nuclear, el CTPA o angio-TC y la angiografía pulmonar^{21,34-36} Otras opciones, como la resonancia magnética nuclear aún están en fase experimental.³⁷ La angiografía pulmonar (PA) es la prueba de referencia para obtener el diagnóstico de certeza en el tromboembolismo pulmonar (TEP) y en el contexto de la hipertensión pulmonar tromboembólica crónica (CTEPH).^{14,38,39} Esta prueba además aporta información hemodinámica de manera simultánea que puede ser útil para el manejo clínico del paciente. A pesar de ello, se realiza en casos seleccionados por sus efectos secundarios asociados (entre el 3.5% y 6% de morbilidad y 0.2% al 0.5% de mortalidad).^{39,40}

Desde hace varios años, se utilizan casi indistintamente las técnicas de medicina nuclear (gammagrafía pulmonar) y la tomografía computerizada torácica de alta resolución con contraste o CTPA para la evaluación del paciente con sospecha de TEP.⁴¹ El gran avance tecnológico ha permitido que ambas técnicas obtengan una gran calidad de imagen y un aumento en la sensibilidad para detectar defectos de perfusión.^{28,33,42-46}

La gammagrafía convencional tiene reconocidas limitaciones.^{40,47} Cuando los pulmones son evaluados en dos dimensiones, como ocurre con la gammagrafía planar, existe una superposición de los segmentos pulmonares, disminuyendo la probabilidad de una valoración adecuada de las áreas afectadas. Defectos de perfusión pueden no ser detectados si existen sombras que

provienen de segmentos en el mismo plano con una perfusión normal. También se han descrito limitaciones derivadas de los criterios para la interpretación de los defectos de perfusión detectados con gammagrafía convencional, es decir, variabilidad inter-observador.

Para incrementar el valor diagnóstico de la gammagrafía tradicional, se aplicaron algoritmos computerizados procedentes de las pruebas de imagen mediante rayos X (tomografía computerizada) dando lugar a la aparición del SPECT o tomografía de perfusión.⁴⁷⁻⁵¹ Podemos decir que el SPECT de perfusión pulmonar es en relación a la gammagrafía planar lo que el CTPA a la radiografía simple de tórax. El estudio nuclear con adquisición topográfica, SPECT, ofrece muchas ventajas sobre las imágenes bidimensionales. Una de las más importantes es la mayor resolución de la imagen adquirida debido a la rotación de la gamma-cámara alrededor del organismo que permite adquirir un número mayor de imágenes.⁵² Ello permite que la imagen obtenida proceda de un espacio anatómico menor, es decir, la adquisición se realiza sobre una parte más detallada del órgano estudiado y ello minimiza la superposición de imágenes que pudieran oscurecer el área de interés. Además, el SPECT proporciona una captación de la distribución del trazador radiactivo en todo el arco del espacio, que permite la reconstrucción tridimensional⁴⁸. Las ventajas del SPECT respecto al modo planar en el estudio del TEP ha sido demostradas recientemente, primero en modelo computerizado, más tarde en animal y finalmente en estudios clínicos donde el SPECT demostró ser más sensible que el modo planar.^{47,48,50-52}

El estudio tomográfico computerizado del árbol vascular pulmonar (CTPA) se basa en la reconstrucción tridimensional mediante rayos X después de la inyección de contraste yodado endovenoso. Con la aparición de aparatos de alta resolución o MDCT (*Multidetector*

Computerized Tomography) la calidad de reconstrucción anatómica de la imagen es muy elevada.^{28,35,53} En muchas instituciones, el CTPA se utiliza como primera línea diagnóstica ya que ofrece la ventaja de visualizar de manera directa el trombo a diferencia de las pruebas de imagen indirectas como la gammagrafía de perfusión⁵⁴. Además, el CTPA permite la evaluación del área mediastínica y del parénquima pulmonar con un gran detalle anatómico lo que puede tener un interés añadido, sobretodo en la evaluación de un paciente en el área de urgencias (Figura 1).

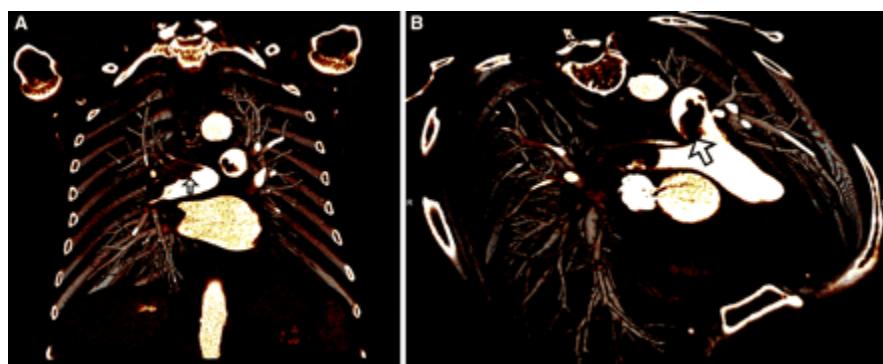


Figura 1. Tomografía Computerizada de perfusión en un varón de 72 años de edad con un embolismo pulmonar central en silla de montar, que se extiende en ambas arterias pulmonares (flecha). Se presenta un corte sagital (panel izquierdo) y uno coronal (panel derecho). Reproducido con permiso de Schoepf.⁵⁴

Dicha información puede aportar diagnósticos adicionales. Otra ventaja del CTPA es el elevado grado de correlación inter-observador usando la nueva generación de TC, y se equipara o incluso supera a la de la angiografía pulmonar, probablemente debido a la gran calidad de la imagen anatómica.⁵⁴

De todas maneras, se han descrito un elevado porcentaje de falsos negativos.³⁵ En general, el CTPA no es capaz de detectar de manera eficiente los émbolos periféricos de pequeño tamaño y aunque el significado clínico del tromboembolismo periférico no está bien definido, parece razonable disponer de técnicas que permitan su detección de la manera más precisa posible.³⁶ Los nuevos aparatos de CTPA de hasta 64 coronas resuelven parcialmente el problema.²⁸ El gran poder resolutivo de los TC espirales multidetector permiten reconstrucciones anatómicas muy realistas tanto en 2-D como en 3-D para una mejor visualización (Figura 2).

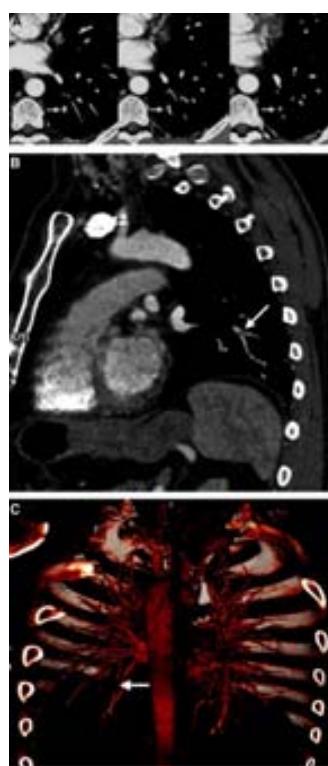


Figura 2. (página anterior) Tomografía Computerizada con contraste en un varón de 45 años con trombosis venosa profunda en la pantorrilla después de un vuelo de larga duración. Se observa un tromboembolismo pulmonar único a nivel de la arteria pulmonar subsegmentaria del lóbulo inferior del pulmón derecho que es visualizado en las 3 imágenes consecutivas transaxiales (flecha en A) y en la imagen reconstruida oblicua sagital multiplanar (flecha en B). La reconstrucción volumétrica en 3-D posterior muestra un defecto de relleno del vaso pulmonar (flecha en C) siendo el resto del árbol vascular pulmonar normal. Reproducido con permiso de Schoepf.⁵⁴

La calidad anatómica de la imagen puede, en teoría, ayudar en la localización anatómica del TEP. Además, presenta la información de forma más intuitiva, aunque ello no se ha traducido en una mejoría de la sensibilidad diagnóstica del TEP. El estudio PIOPED II, que analizó mediante CTPA de alta resolución 824 pacientes con sospecha de embolismo pulmonar agudo, concluyó que al existir un 17% de falsos negativos era preciso disponer de información clínica adicional para descartar el TEP,³⁵ por lo que dicha técnica no ha podido superar en términos de sensibilidad o especificidad al método tradicional en modo planar o bidimensional. Recientemente, Bajc y cols. han demostrado que en el estudio del TEP el SPECT de perfusión tiene una mayor sensibilidad y especificidad que el CTPA. Disponemos de excelentes revisiones y guías para el uso de ambas pruebas, SPECT y CTPA en la evaluación del tromboembolismo pulmonar.^{42,43,45}

En la evaluación de la enfermedad tromboembólica crónica, CTEPH, un estudio reciente describe la utilidad del CTPA de 64 coronas para su evaluación. Al ser una enfermedad que implica principalmente el árbol arterial pulmonar proximal o a nivel segmentario, su capacidad

de resolución es muy alta para evaluar anatómicamente dicha obstrucción.²⁸ Sin embargo no existe ningún estudio comparativo entre el CTPA y el SPECT para la evaluación de dicha condición.

Aunque pueda existir una cierta batalla entre ambos métodos para el estudio del paciente con sospecha de embolismo agudo y quizás crónico, ambas técnicas representan prismas diferentes de la misma enfermedad: una imagen detallada más anatómica para el CTPA y una representación más funcional en el caso de la gammagrafía de perfusión o del SPECT. Así pues, ambas técnicas deben ser utilizadas de manera complementaria y no excluyente en la mayoría de los casos. La tecnología de la que se dispone, capaz de fusionar ambas técnicas permite la evaluación anatómico-funcional y por ello parece muy atractiva para la evaluación de las enfermedades pulmonares. Estudios clínicos serán necesarios para su validación.^{55,56}

Capítulo 2

Fisiopatología de la enfermedad tromboembólica

Xavier Soler

RESPIRA FC. Plan de Formación Continuada 2008-2010
Curso 1: Área de Circulación: Enfermedad Tromboembólica Venosa
Capítulo 1; Revisión en Patogenia y Fisiopatología

ENFERMEDAD TROMBOEMBÓLICA VENOSA: REVISIÓN EN PATOGENIA Y FISIOPATOLOGÍA

Dr. X. Soler Tomás

Pulmonary and Critical Care Medicine. Thromboembolic Research Unit
University of California San Diego (UCSD)

INTRODUCCIÓN

La enfermedad tromboembólica venosa (ETV) comprende la trombosis venosa profunda (TVP) y la embolia pulmonar (TEP). Aunque Tulpianus en 1641 (citado por Liebow en 1960)¹ describió por primera vez la oclusión masiva de las arterias pulmonares, fue Rudolf Virchow en 1859 el primero en describir que los coágulos hallados en las arterias pulmonares tenían su origen en el desprendimiento de fragmentos de trombos venosos, y en llamar embolia a esta posibilidad². El trombo, por lo tanto, se forma en los vasos del sistema venoso profundo de las extremidades, sobre todo inferiores, dando lugar a la trombosis venosa profunda para después desprenderse y circular hasta los vasos pulmonares desencadenando el tromboembolismo pulmonar.

La ETV es la tercera causa más frecuente de enfermedad vascular (tras la cardiopatía isquémica y el accidente cerebral vascular). El TEP puede ocurrir hasta en el 40% de los pacientes con TVP con una mortalidad asociada a los 3 meses del 17%, lo que en EE.UU. significa más de 2 millones de casos anuales de TVP, con más de 600.000 hospitalizaciones y un número de muertes anuales para TEP que podrían oscilar entre 60.000 y 200.000, lo que es equivalente a las muertes por SIDA, cáncer de mama y accidentes de tráfico juntos³. La incidencia varía entre 56/100.000 a 182/100.000⁴ y aumenta de forma exponencial por encima de los 60 años de edad, con un rango inferior a 5 por 100.000 por año en pacientes menores de 15 años hasta 600 por 100.000 por año a los 80 años de edad^{5,6}.

Existen pocos datos epidemiológicos en España, ya que usualmente se extrapolan cifras de otros países, pero podrían estimarse en 65.000 casos/año de ETV y unos 25.000 casos/año de TEP declarados en el Sistema Nacional de Salud⁷.

La ETV cursa en muchas ocasiones de forma asintomática. Se estima que sólo se diagnostican un 1% de los episodios de TVP y menos de un tercio de los TEP, por lo que la frecuencia real de la ETV es mucho mayor. La recurrencia estimada para TEP es del 8% durante el primer año y del 20% durante los 5 años siguientes al episodio, y depende sobre todo de los factores de riesgo asociados. Además existe suficiente evidencia para sugerir que el desarrollo de la hipertensión pulmonar secundaria al tromboembolismo crónico (CTEPH) es una extensión de la historia natural del TEP, que ocurre en una elevada proporción de casos⁸.

La ETV se asocia a factores de riesgo conocidos en un 50-80% de los casos. Los más importantes son la edad avanzada, la cirugía reciente, el cáncer, las trombofilias, los episodios embólicos previos y la hospitalización^{4,9,10}. Dichos factores pueden alterar el flujo sanguíneo por mecanismos algunos de ellos desconocidos y provocar lesiones en el propio endotelio vascular y/o activar la coagulación sanguínea desencadenando la formación del trombo venoso y consecuentemente, la posibilidad de migración al lecho arterial pulmonar¹¹.

En la última década ha tomado especial interés la investigación de los mecanismos moleculares implicados gracias a los avances en la biología molecular y celular, gené-

tica, bioquímica y al desarrollo de nuevas técnicas como la espectrometría de masas (ESI-MS) o la cromatografía de alta resolución (HP-LC) que permiten explorar la estructura de las proteínas implicadas para su estudio detallado.

PUNTOS DE APRENDIZAJE

- La enfermedad tromboembólica venosa (ETV) comprende la trombosis venosa profunda (TVP) y la embolia pulmonar (EP). Es una enfermedad muy frecuente y tratable.
- La ETV es la tercera causa de enfermedad vascular y tiene un riesgo acumulado de muerte del 17% a los 3 meses.
- Los factores de riesgo asociado más importantes son la edad avanzada, la cirugía reciente, el cáncer, las trombofilias, los episodios embólicos previos y la hospitalización.
- Se investiga en los mecanismos implicados a nivel molecular para explicar los fenómenos trombóticos y la persistencia del coágulo en dichos pacientes, ya que casi en un 4% pueden desarrollar hipertensión pulmonar crónica (CTEPH) después del episodio agudo de TEP.

FISIOPATOLOGÍA

La trombosis sucede cuando la activación de la coagulación sobrepasa la capacidad del sistema fibrinolítico de degradar la fibrina. En el s. XIX Virchow propuso la tríada de factores que, en mayor o menor medida, intervienen en la trombosis venosa: un estado de hipercoagulabilidad, el estasis venoso y por último, el daño endotelial, aun vigentes hoy en día¹². Se establece que tienen que coexistir dos de estos factores para que se forme el coágulo, siendo el estasis venoso y el estado de hipercoagulabilidad los más importantes para su génesis. El trombo se forma tanto en los trayectos sinuosos venosos como en los bolsillos valvulares de los vasos del sistema venoso profundo, principalmente de las extremidades inferiores^{13,14}; generalmente dicho proceso es bilateral, aunque pueda diferir el tamaño y la localización de los coágulos¹⁵. Estas trombosis pueden ser asintomáticas o bien ser dolorosas si se obstruye el flujo venoso o se induce inflamación en el endotelio vascular. La obstrucción del flujo venoso es más probable cuando se afec-

tan las venas poplíteas y venas más proximales del sistema venoso. Por lo tanto, la trombosis venosa proximal es sintomática con más frecuencia que la distal¹⁶, y es la que embolizará con mayor probabilidad^{14,16}.

En este apartado se explicará en primer lugar los mecanismos que promueven la trombogénesis, en segundo lugar los mecanismos que previenen la trombosis y, finalmente los factores de riesgo conocidos.

Estímulos trombogénicos

Los estímulos protrombóticos son: daño vascular, estasis venoso y una excesiva activación de la coagulación. El fenómeno trombótico tiene lugar generalmente cuando existe una predisposición individual a la trombosis y además un insulto o condición que precipita dicha trombosis. Los estudios genéticos han demostrado la importante contribución de las anomalías genéticas asociadas al estado procoagulante en la ETV^{17,18}.

Daño vascular

El endotelio separa las células sanguíneas y factores plasmáticos de elementos altamente protrombóticos que se encuentran en las capas profundas de la pared vascular. Dichos elementos incluyen el colágeno, la fibronectina, la vitronectina y el factor de von Willebrand que promueven la adhesión plaquetar, así como el factor tisular (FT), los fibroblastos y los macrófagos que son gatillos para iniciar el proceso de la coagulación¹⁹.

La superficie endotelial es per se resistente al trombo. No activa a las plaquetas ni a la coagulación, elaborando sustancias que previenen la agregación plaquetar (tales como el óxido nítrico y las prostaciclinas) y otras que promueven la fibrinólisis, tales como el factor tisular activador del plasminógeno (t-PA) y su regulador más importante, el inhibidor del activador tisular del plasminógeno de tipo I (PAI-1). Además, dos de los mecanismos anticoagulantes naturales dependen directamente de los componentes del endotelio vascular. El heparán sulfato que se encuentra en la superficie del endotelio une y activa a la antitrombina, siendo un inhibidor importante de la trombina. Dichas células endoteliales también expresan trombomodulina y el receptor de la proteína C en su superficie, que son parte del sistema anticoagulante que se explicará más adelante. Estas propiedades desaparecen si el epitelio se daña. El daño o lesión expone al

factor tisular y las proteínas de la matriz subendotelial a la luz vascular e inicia la activación de las plaquetas, y con ello la cascada de la coagulación.

A pesar de lo dicho, la lesión endotelial como factor iniciador del fenómeno de la trombosis local no parece ser un factor predominante en la ETV. Algunos estudios han analizado microscópicamente dichos vasos sin evidenciar lesión vascular; aunque es fácil especular sobre posibles alteraciones bioquímicas a nivel celular (interpretadas como daño vascular) que podrían desencadenar el fenómeno trombótico. En otras ocasiones, el daño vascular puede ser causado por traumatismo directo, como en el caso de las intervenciones ortopédicas, o por el estasis de la sangre que dañaría el endotelio por un fenómeno de estiramiento de las fibras del vaso o por la hipoxia secundaria a la sangre acumulada²⁰.

Estasis venoso

El retorno venoso desde las extremidades inferiores sucede gracias a la contracción mecánica de los músculos de la pantorrilla y a un sistema valvular que mantiene el flujo en dirección ascendente. La velocidad del flujo sanguíneo es importante para prevenir la acumulación de enzimas coagulantes en los lugares de daño vascular, y para minimizar el contacto plaquetar y los leucocitos con la pared vascular.

Ante una situación de estasis venoso, la hipoxia secundaria a la permanencia de sangre poco oxigenada en dicha área produce daño en las células endoteliales que expresan P-selectina en su superficie, así como FT y otros factores que desencadenan la coagulación^{21,22}. Además, al disminuir el flujo se acumulan los factores procoagulantes en el lecho venoso, lo que amplifica el proceso trombótico. Los bolsillos valvulares son avasculares, por lo que son zonas muy sensibles a la formación de trombosis venosa por lesión vascular secundaria a hipoxia por estasis²³.

La obstrucción del flujo venoso en el embarazo o debido a tumores locales, la insuficiencia cardíaca derecha o la dilatación venosa por venas varicosas son situaciones que cursan también con estasis venoso.

Activación de la coagulación

El sistema de la hemostasia tiene la compleja misión de mantener la sangre en estado fluido para que pueda cir-

cular bajo condiciones fisiológicas y, al mismo tiempo y de manera simultánea, ser capaz de convertirse de modo explosivo en un gel insoluble en los lugares de daño vascular. Dicho sistema está activado de manera permanente en el organismo, manteniendo un delicado equilibrio entre la formación de coágulos y su posterior disolución a través de la cascada de la coagulación y del sistema de la fibrinólisis.

El concepto de cascada de la coagulación se acuñó en 1964^{24,25}. Los factores de la coagulación son zimógenos (enzimas inactivas) que se activan a través del contacto tisular (llamada vía intrínseca) o bien por la estimulación a través del FT (vía extrínseca de la coagulación). Aunque el sistema de la coagulación puede iniciarse *in vitro* por ambos mecanismos, esta división no tiene lugar en el organismo *in vivo* ya que el complejo FT-factor VII_a es un potente activador de ambas vías. Tras activarse los zimógenos y convertirse en proteasas activas, activan de manera consecutiva al siguiente zimógeno hasta activar la trombina (factor II) que convierte el fibrinógeno (soluble) en fibrina (insoluble)^{19,23}. Aunque una pequeña fracción de factor VII_a circulante está activa, el factor VII_a tiene poca actividad proteolítica hasta que se une al FT. El complejo FT-VII_a incrementa la eficiencia catalítica del factor VII_a que activa a los factores IX y X desencadenando la cadena enzimática hasta la formación del coágulo²⁶ (Fig. 1).

Todas estas reacciones ocurren en las superficies ricas en fosfolípidos del endotelio. Dichos fosfolípidos como la fosfatidilserina, están cargados negativamente y tienen el potencial de unirse a los factores de la coagulación ensamblando los complejos enzima-cofactor cruciales en la eficiente propagación del sistema²⁶. Se puede consultar un detallado esquema de la coagulación en la referencia²⁷.

La coagulación se activa sobre todo por la exposición del factor tisular en los lugares de daño vascular o por su síntesis por los monocitos como respuesta a citoquinas inflamatorias. Aunque hay una cierta controversia parece que el FT puede circular de forma soluble en el plasma, o asociado a microvesículas formadas por membranas derivadas de células. Estas microvesículas provendrían de monocitos/macrófagos ya que expresan marcadores específicos para ellos. En el caso de TVP donde no hay claro daño vascular ni depósito de plaquetas, la expresión de fosfatidilserina en la superficie de la célula endotelial haría de recep-

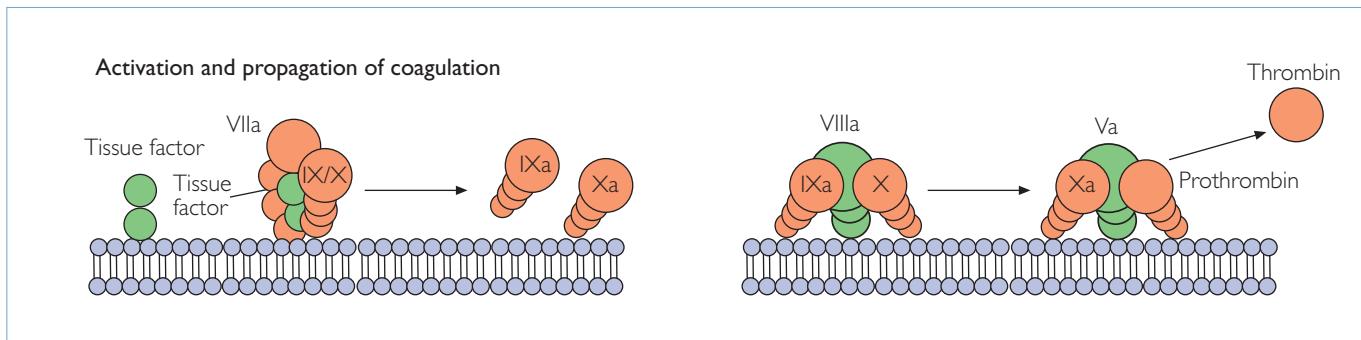


Figura 1. El factor VIIa se une al FT y activa a los factores IX y X. Los F IXa y Xa con los factores VIIIa y Va forman el complejo de la tenasa y protrombinasa que activarán al factor X y a la protrombina, respectivamente. La activación de los factores IX, V y VIII mediada por la trombina produce una amplificación por retroalimentación positiva²⁶.

tor para que el complejo microvesícula-FT se uniera e iniciara la cascada de la coagulación²¹.

La trombina es la llave efectora en el sistema de la coagulación. Sus funciones son: (a) activación de las plaquetas, (b) conversión del fibrinógeno a una red de fibrina y (c) amplificar la coagulación ya que activa a los factores V, VIII y XI. La expresión máxima de trombina ocurre después de la formación del coágulo de fibrina. Esta trombina es importante para la formación de fibrina adicional así como para la activación del factor XIII (transglutaminasa que estabiliza la fibrina del coágulo) y el factor inhibidor de la fibrinólisis.

Al final de la cascada de la coagulación los trombos venosos se componen de una red de fibrina y eritrocitos atrapados en su interior; a diferencia de los trombos arteriales donde predominan las plaquetas unidas a pequeñas cantidades de fibrina. Las características del trombo, rico en fibrina en la parte proximal (en la unión al vaso) y pocas plaquetas en la parte distal del trombo sugieren que la activación de la coagulación precede a la activación/agregación plaquetaria. Es por este motivo que el tratamiento preventivo de los trombos de origen venoso son los fármacos anticoagulantes y en los coágulos arteriales los antiagregantes plaquetarios²¹.

PUNTOS DE APRENDIZAJE

- El estasis venoso, la hipercoagulabilidad y la lesión endotelial son factores que contribuyen en la formación del coágulo, siendo el estasis venoso y el estado de hipercoagulabilidad los más importantes.
- El fenómeno trombótico tiene lugar generalmente cuando existe una predisposición individual a la trombosis

y además un insulto o condición que precipita dicha trombosis.

- El endotelio vascular es tromborresistente por la liberación de sustancias que inhiben la agregación plaquetaria y promueven la fibrinólisis. Su lesión directa o por hipoxia local desencadena la secreción de sustancias procoagulantes como factor tisular que es el principal efector de la cadena de la coagulación.
- El trombo venoso tiene unas características propias que difieren de la embolia arterial, tanto a nivel fisiopatológico como clínico.

Sistemas anticoagulantes

Sistemas anticoagulantes naturales

1. *Antitrombina III:* tal como se ha comentado anteriormente, el heparán sulfato en la superficie endotelial une y activa a la antitrombina III, que inhibirá a la trombina. El hecho que pacientes con déficit de este inhibidor tenga mayor predisposición a desarrollar trombosis demuestra su importancia como sistema anticoagulante.
2. *Sistema de la proteína C:* la vía de la proteína C es el sistema anticoagulante circulante más potente para mantener el equilibrio en favor de la anticoagulación. Las células endoteliales expresan trombomodulina, que es una proteína transmembrana que sirve de receptor de la trombina. Una vez unida a la trombomodulina, la trombina cambia de conformación en su sitio activo y la convierte en un potente activador de la proteína C. Esta proteína se produce en el hígado y depende de la vitamina K27. Una vez la proteína C es activada

Activation of protein C and inhibition of coagulation

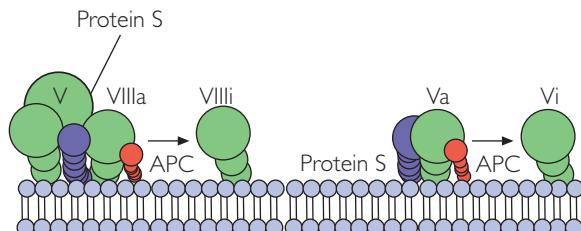
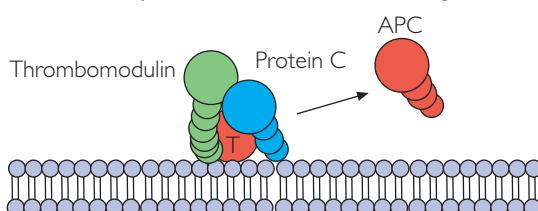


Figura 2. La trombomodulina está presente en las células endoteliales. La trombina generada en la vecindad de la célula endotelial intacta se une a la trombomodulina y activa a la proteína C de manera eficiente. La APC y la proteína S forman un complejo en la membrana plasmática de la célula endotelial. Este complejo inactiva los factores Va y VIIIa. La degradación del factor VIIIa por la APC es estimulada por la proteína S y por el factor V, que en este contexto funciona como una proteína anticoagulante²⁶.

(APC) degrada e inactiva a los factores Va y VIIIa. Esta reacción requiere a la proteína S que actúa como cofactor (Fig. 2).

3. *El sistema inhibidor del FT (FTPI)*: este inhibidor se une e inactiva primero al factor Xa, y el complejo FTPI/Xa inhibe de forma eficiente al complejo FT/VIIa.

Sistema fibrinolítico

El fibrinógeno es una proteína fundamental en el proceso de la formación y mantenimiento del coágulo. Es una proteína muy abundante en la sangre que se activa ante diferentes estímulos como la inflamación, el embarazo, el cáncer o las infecciones. Doolittle describió su estructura tal y como la entendemos actualmente²⁸. El fibrinógeno se compone de un dímero de tres cadenas entrelazadas con un peso molecular de 340 kDa. Las cadenas A α (a-alfa), B β (b-beta) y γ (gamma) están unidas mediante puentes disulfuro, con dos dominios externos (D) unidos mediante un ovillo a la estructura central (E)²⁹. El fibrinógeno se convierte en fibrina por acción de la trombina que modifica su estructura liberando el fibrinopéptido terminal (FPA) de la cadena A α y el fibrinopéptido terminal B (FPB) de la B β , aunque este último de manera más lenta. El desprendimiento de dichos fragmentos conlleva un cambio en la configuración tridimensional de los péptidos que permite su polimerización y la unión de las fibras de fibrina, creando la red necesaria para la formación del coágulo atrapando hematíes en su interior (Fig. 3).

La fibrinólisis se inicia mediante los activadores del plasminógeno que convierten el plasminógeno circulante en plasmina por la hidrólisis en el péptido Arg561-Val562^{30,31}.

Existen dos activadores del plasminógeno (y con ello de la fibrinólisis) distintos: el activador tisular del plasminógeno (t-PA) que encontramos en el plasma y el activador del plasminógeno presente en la orina (u-PA) o urokinasa. Ambos son secretados por las células endoteliales. La vía mediada por la t-PA es la que primariamente se asocia a la homeostasis de la fibrina. El u-PA está relacionada con fenómenos de migración celular y remodelado del tejido³². La enzima t-PA aumenta su actividad ante la presencia de fibrina y se une junto al plasminógeno reclutado de la circulación en la superficie de la fibrina. La plasmina es una serina-proteasa similar a la tripsina y degrada la fibrina en productos de degradación solubles de la fibrina llamados fragmentos X-, Y-, D- y E-. Los lugares más sensibles para la proteólisis por parte de la plasmina son Lys/Arg en las posiciones 584, 425 y 207 de la cadena β y la 42 de la cadena α , del fibrinógeno. El fragmento X- todavía mantiene la estructura polimérica por lo que es insoluble, y no es hasta la degradación posterior (fragmentos Y-, D- y E-) que el trombo se vuelve soluble³¹.

El sistema de la fibrinólisis se regula por dos mecanismos: en primer lugar existe una inhibición de los activadores del plasminógeno por parte de los inhibidores de la activación del plasminógeno (PAI), especialmente del PAI-1. En segundo lugar, la plasmina circulante se inactiva principalmente por la α 2-antiplasmina. La plasmina, al unirse de manera específica a la fibrina para degradar el trombo queda protegida de la degradación por parte de la α 2-antiplasmina a diferencia de la plasmina libre que es inhibida rápidamente por dicho sistema. Otros inhibidores de la plasmina incluyen a la α 2-macroglobulina y la α 1-anti-

RESPIRA FC

PLAN DE FORMACIÓN CONTINUADA

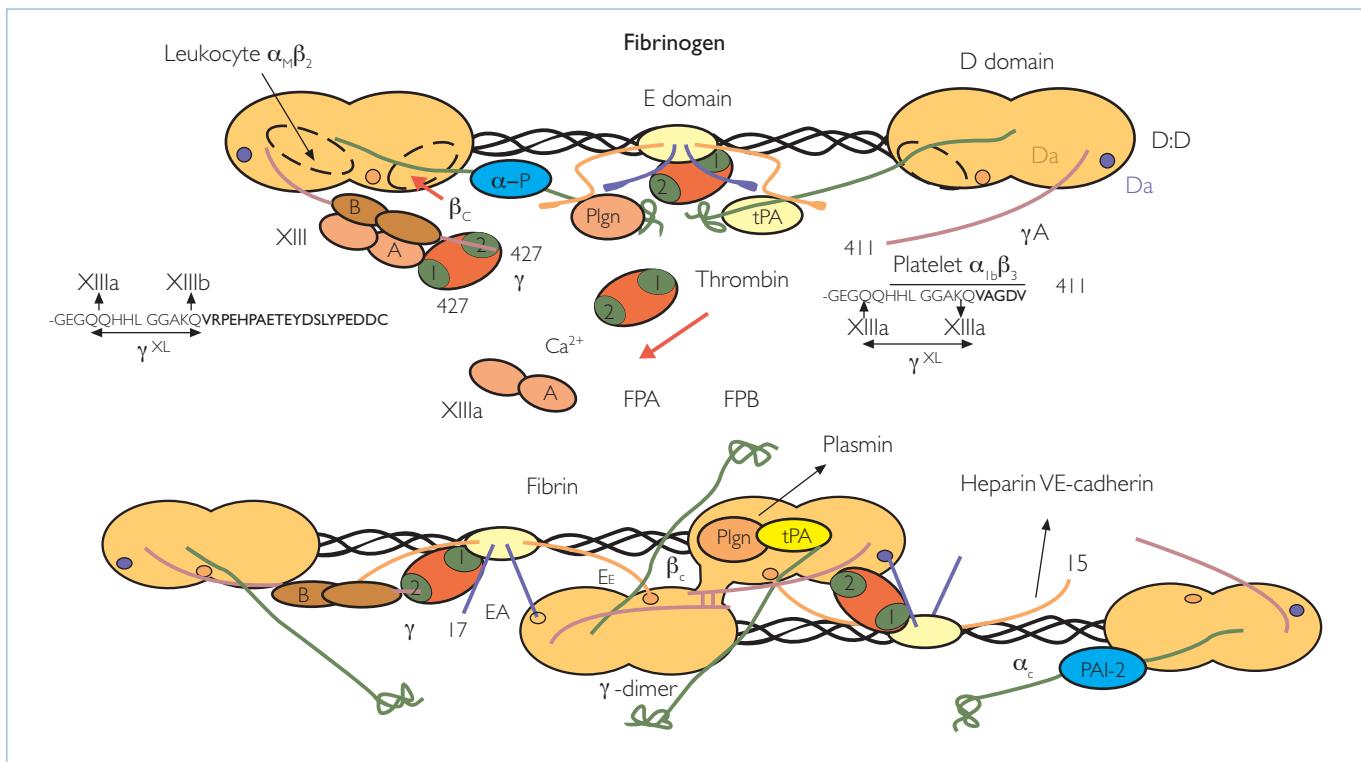


Figura 3. Esquema de la estructura del fibrinógeno, su conversión en fibrina, y la conversión mediada por la trombina del factor nati-vo XIII a XIIIa. También se ilustran los lugares de unión para proteínas, enzimas, receptores y otras moléculas que participan en las funciones del fibrinógeno y de la fibrina²⁹.

tripsina. Los defectos en este sistema fibrinolítico, como la deficiencia congénita del plasminógeno o el incremento en los niveles de PAI-1, se asocian a la ETV.

La persistencia de defectos en la perfusión después de un episodio de TEP puede estar relacionado con alteraciones en el sistema fibrinolítico. Esos defectos en la perfusión se pueden detectar hasta en un 50% de los casos después de varios meses del episodio agudo³³, y como consecuencia desencadenar en un 3,8% de pacientes hipertensión pulmonar secundaria al proceso embólico (CTEPH)^{8,34,35} (Fig. 4).

La CTEPH está caracterizada por la persistencia de un trombo no resuelto en el árbol arterial vascular pulmonar, que provoca la disminución del calibre vascular o su completa obstrucción, así como de una alteración del remodelado vascular y la aparición de tejido fibrótico que provoca un incremento de las resistencias vasculares periféricas y la posible disfunción del ventrículo derecho. Sin tratamiento la enfermedad es progresiva y a menudo fatal, siendo el único tratamiento efectivo actual la resección qui-

rúrgica del molde trombótico del árbol vascular pulmonar cuando el mismo es accesible, técnica llamada tromboendarterectomía pulmonar. Se desconocen los mecanismos por los cuales existe el paso de un embolismo agudo a crónico. Uno de los mecanismos propuestos es la resistencia del trombo a la lisis de la fibrina³⁶. Dicha resistencia podría ser debida a alteraciones en la estructura del fibrinógeno que afectan la accesibilidad a la fibrina de los puntos de corte y, por tanto, la persistencia del coágulo, por lo que se promueve la transición de la lesión aguda a la obstrucción crónica³⁷. Nuevas técnicas de laboratorio como la cromatografía líquida de alto rendimiento y su análisis mediante la espectrometría de masas, han permitido estudiar y detectar nuevas mutaciones en la estructura del fibrinógeno que explicarían, en algunos pacientes, la persistencia de los coágulos en el lecho pulmonar³⁶ (Morris y cols., manuscrito en preparación). Otra consecuencia importante que puede desencadenarse por la ausencia de resolución del trombo a nivel del sistema venoso profundo de las extremidades inferiores es el síndrome postflebitico³⁸.

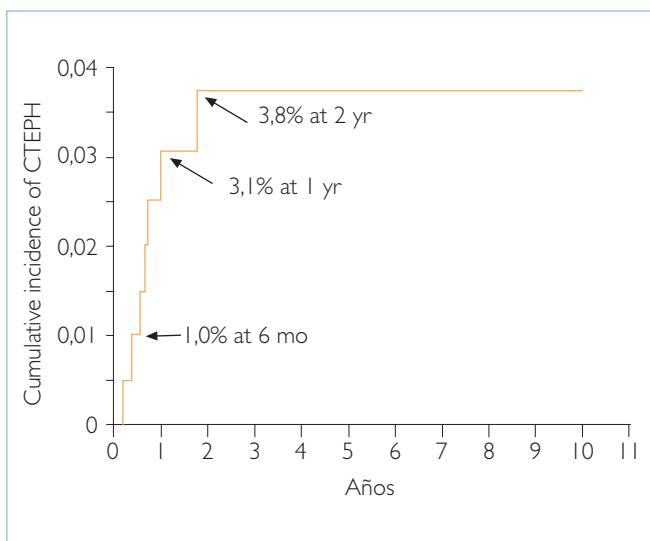


Figura 4. Incidencia acumulada de hipertensión pulmonar (CTEPH) después del primer episodio de TEP sin TVP previa⁸.

PUNTOS DE APRENDIZAJE

- Los estados protrombóticos y la fibrinólisis están en permanente equilibrio a favor de la anticoagulación.
- El sistema de la proteína C es el anticoagulante natural circulante más potente para mantener el equilibrio en favor de la anticoagulación, siendo la proteína S su cofactor.
- El fibrinógeno es la proteína fundamental en la génesis del coágulo y sus alteraciones provocan estados tanto protrombóticos como hemorrágicos.
- La falta de resolución de un episodio tromboembólico es frecuente y puede desencadenar hipertensión pulmonar secundaria.

FACTORES DE RIESGO PARA LA ETV

El equilibrio entre los mecanismos protrombóticos y antitrombóticos puede alterarse por causas hereditarias o adquiridas. Existen factores de riesgo reversibles asociados a la ETV como la obesidad, la hipertensión arterial sistémica y el consumo de cigarrillos³⁹. Las condiciones que con más frecuencia se asocian a la ETV son la cirugía previa al episodio, la inmovilidad, el cáncer y la obesidad⁴⁰ (Tabla I).

Factores de riesgo adquiridos en la ETV

Cáncer: Trousseau⁴¹ en el s. XIX ya relacionó la *tromboflebitis migrans* con el cáncer de origen digestivo. Los ade-

Tabla I. Factores de riesgo para la ETV

Causas adquiridas

- Inmovilización prolongada
- Cirugía
- Enfermedades médicas asociadas
- Anticonceptivos orales, terapia hormonal sustitutiva
- Cáncer
- Hipertensión arterial sistémica, raza, obesidad, edad, tabaco
- Gestación
- Viajes largos, especialmente en avión
- Anticuerpos antifosfolípidos
- Hiperhomocisteinemia

Causas hereditarias

- Factor V Leiden
- Mutaciones del gen de la protrombina
- Deficiencia de antitrombina III
- Deficiencia de proteína C
- Deficiencia de proteína S
- Deficiencia de plasminógeno
- Disfibrinogenemia
- Elevación del factor VIII, IX o XI
- Elevación del nivel de lipoproteínas

nocarcinomas secretores de mucina son los que más se asocian a la ETV junto con tumores cerebrales, síndromes mieloproliferativos y algunas leucemias⁴². Los mecanismos implicados son: a) activación de la coagulación por las propias células neoplásicas, b) daño vascular directo causado por los tratamientos quimioterápicos (QT), c) invasión local del tumor y d) estasis venoso. La QT incrementa la secreción de citoquinas y de factores procoagulantes por parte de las células tumorales dañadas y reduce la concentración de proteína C, S y antitrombina III debido a su hepatotoxicidad. Algunos cánceres pueden directamente inducir la activación de los factores de la coagulación, como el factor X, aumentar la formación de trombina y estimular los monocitos/macrófagos que secretarán el FT. La inmovilidad o compresión venosa por masas extrínsecas favorece el estasis venoso. Tras un episodio de TVP idiopático, el paciente tendrá un elevado riesgo de padecer cáncer durante el año posterior⁴³ (Fig. 5).

Cirugía general y Ortopedia: la cirugía ortopédica, especialmente de cadera y rodilla, y la cirugía relacionada con el cáncer son los factores de riesgo más importantes para la ETV. Hasta un tercio de los pacientes después de la cirugía sufren un episodio de trombosis y hasta en un 50% de

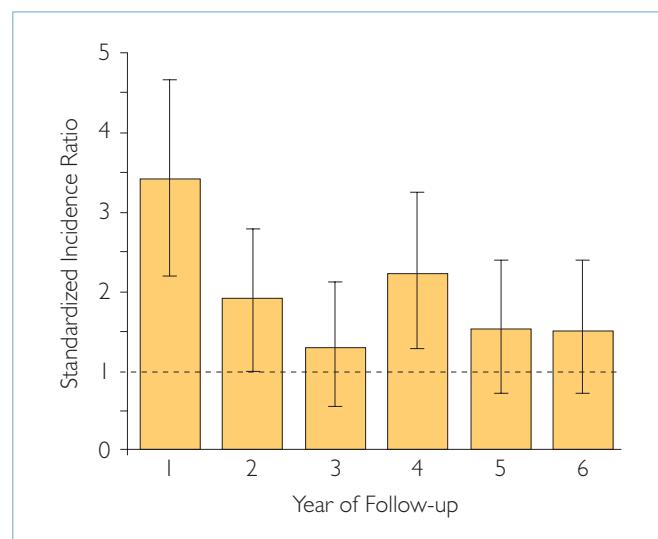


Figura 5. Incidencia de nuevos casos de cáncer después del primer episodio de ETV. Las barras representan los intervalos de confianza del 95%⁴³.

los pacientes tras un recambio completo de rodilla o de cadera si no se realiza profilaxis⁴⁴. La edad, el tipo de cirugía y su duración son los factores directamente relacionados con la mortalidad por TEP en las semanas siguientes al procedimiento quirúrgico. Hay varios motivos que predisponen a la trombosis. Después de una intervención quirúrgica existe una elevación plaquetaria secundaria a la propia intervención y su incremento se correlaciona con el número de eventos trombóticos. Los estados proinflamatorios, entre ellos las infecciones, incrementan el fibrinógeno circulante y la secreción de sustancias procoagulantes por parte de las células inflamatorias reclutadas. Los fármacos anestésicos tienen un efecto vasodilatador que favorecen el estasis venoso y la propia posición del paciente reduce el retorno venoso. La manipulación de los órganos, huesos o músculos pueden provocar lesiones vasculares y la consecuente trombosis por lesión directa del endotelio⁴⁴.

Gestación, anticonceptivos orales y terapia hormonal sustitutiva: el estado de gravidez triplica las posibilidades de padecer un episodio de ETV, principalmente durante el tercer trimestre. La edad avanzada y el parto mediante cesárea (sobre todo si ésta es urgente) también incrementan el riesgo de sufrir un episodio trombótico⁴⁴. La compresión por el útero grávido favorece el estasis venoso en el sistema venoso pélvico. Además hay cambios en la con-

centración plasmática de varios factores como el incremento de los factores II, VII y X, y la disminución de la proteína S.

Los anticonceptivos orales (ACO) a base de estrógenos se han relacionado con ETV desde hace más de 30 años. Los ACO inducen resistencia adquirida a la proteína C activada (APC) debido a las variaciones cíclicas de las concentraciones de proteínas pro y anticoagulantes tales como el aumento de los niveles de fibrinógeno, factores VII, VIII y X, y la disminución del factor S^{26,27}. La segunda generación de ACO contiene menos cantidad de estrógenos lo que ha disminuido la frecuencia de ETV asociada a su uso. En cambio, los ACO de tercera generación, utilizados para el hirsutismo o el acné, con nuevos progestágenos menos androgénicos inducen también el fenómeno de resistencia a la APC incrementando el riesgo de ETV en mayor grado que los de segunda generación, por lo que se utilizan actualmente con más cautela. Lo mismo ocurre con los fármacos utilizados en el síndrome postmenopáusico, que a pesar de su menor cantidad estrogénica también aumentan el riesgo de ETV. Esta terapia está contraindicada en pacientes con antecedentes de ETV. Dicho riesgo se incrementa de manera exponencial en estos sujetos con el tabaquismo activo y la edad avanzada. Las trombofilias hereditarias también incrementan el riesgo de ETV en pacientes que toman ACO o terapia posmenopáusica, pero aún así el riesgo absoluto es bajo. Los moduladores de los receptores de estrógenos tal como el raloxifeno o tamoxifeno también aumentan el riesgo de ETV⁴⁵.

Tabaco, raza y obesidad: los pacientes fumadores tienen un riesgo mayor de ETV⁴. El daño vascular se atribuye a la inflamación causada por el humo del cigarrillo y a la liberación de substancias procoagulantes como el fibrinógeno. El cigarrillo es el mayor causante ambiental del incremento de los niveles de fibrinógeno plasmático⁴. La inflamación persistente incrementa los factores reactantes de fase aguda como el fibrinógeno, la α 1-antitripsina, la producción de citoquinas IL-6, IL-1 β , y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α). La IL-6 parece ser la citoquina procoagulante principal en humanos y su expresión está elevada en fumadores. También se encuentran elevados los niveles de proteína C reactiva en respuesta a la IL-6, que es capaz de aumentar la expresión del factor tisular en los monocitos. La liberación de catecolaminas por el

estímulo de la nicotina también se ha relacionado con estos procesos trombóticos. El tabaco altera el t-PA y provoca una peor respuesta fibrinolítica así como un aumento de la homocisteína circulante, ambos factores de riesgo para la trombosis. El humo del tabaco también está implicado en la desestabilización del coágulo de fibrina y del factor de activación tisular y una disminución de la fibrinólisis⁴. Estas alteraciones se podrían incluso producir en el fumador pasivo. Es interesante resaltar que los niveles de fibrinógeno se normalizan tras 2 semanas de abstención tabáquica⁴⁶.

La obesidad es el factor de riesgo reversible más importante en la ETV³⁹. Un índice de masa corporal (BMI) mayor de 29 correlaciona con tres veces más probabilidad de padecer un episodio de TEP que si el BMI es menor de 21. El estasis venoso causado por la obesidad y el aumento de diversos procoagulantes como el factor VII y fibrinógeno son otros factores implicados⁴⁴.

La raza es un factor de riesgo para la ETV. Los sujetos caucásicos y los afroamericanos tienen una mayor incidencia de TEP que los sujetos hispánicos, asiáticos o de las Islas del Pacífico^{47,48}. Esta menor incidencia puede explicarse, en parte, por la menor incidencia de mutaciones genéticas (p. ej., del factor V en asiáticos). Diferencias entre la actividad fibrinolítica también podría explicar alguna de las diferencias interraciales⁶.

Viajes aéreos: la inmovilidad secundaria al reducido espacio de las aeronaves provoca estasis en el sistema venoso de la pantorrilla desencadenando un estado de hipercoagulabilidad y aumentando la posibilidad de TVP y TEP. Ello es particularmente cierto cuando la duración del trayecto es superior a las 6 horas o a 5.000 km⁴⁴. Otros factores relacionados pueden ser la deshidratación durante el vuelo debido a la baja humedad relativa así como la hemococoncentración desencadenada por el consumo de bebidas alcohólicas, café o la falta de ingesta líquida. También es importante el fenómeno de la hipoxia hipobárica ya que, por la propia construcción de la aeronave, la presión media en la cabina durante los vuelos comerciales es la equivalente a 2.438 m sobre el nivel del mar (8.000 pies), lo que puede suponer una reducción de la fracción inspirada de oxígeno (PiO_2) de 98 a 55 mmHg⁴⁹ en sujetos sanos. Los cambios de presión en la cabina pueden liberar sustancias procoagulantes en los tejidos y la hipoxia

hipobárica favorece la coagulación y la reducción de la actividad fibrinolítica fisiológica de las células endoteliales⁴⁹. Las medias elásticas por debajo de la rodilla son eficaces en prevenir la TVP. En viajes largos tanto terrestres como aéreos se debería considerar la profilaxis con heparinas de bajo peso molecular en aquellos pasajeros con alto riesgo⁴⁴.

Enfermedades asociadas: existen un gran número de enfermedades que aumentan el riesgo de sufrir ETV⁴⁴; la insuficiencia cardiaca, la EPOC⁴, la policitemia vera, el síndrome nefrótico o el infarto cerebral con parálisis de las extremidades se han relacionado con episodios trombóticos. En general el hecho de sufrir enfermedades graves favorece la inmovilidad y el estado procoagulativo secundario a infecciones (con aumento de enzimas procoagulantes y fibrinógeno). Por el mismo motivo, los pacientes ingresados en cuidados intensivos tienen un riesgo elevado de ETV si no se realiza profilaxis de forma adecuada⁵⁰. En el caso de la insuficiencia cardiaca derecha, además del estasis venoso, hay una disminución en la liberación del óxido nítrico derivado de las plaquetas que contribuye a la vasoconstricción periférica y promueve la adhesión plaquetaria al endotelio. La policitemia o la hipergammaglobulinemia son también enfermedades asociadas a fenómenos trombóticos por el incremento en la viscosidad sanguínea.

Catéteres: la inserción de los catéteres venosos puede ocasionar una lesión mecánica directa en el endotelio, activando la cascada de la coagulación y provocando trombosis en un porcentaje elevado de pacientes. Los cambios de flujo sanguíneo alrededor del catéter crean un estado turbulento que propicia la trombosis local. La incorporación de reservorios de administración de medicación subcutáneos (p. ej., para la dispensación de quimioterapia, vasodilatadores o antibióticos), así como desfibriladores o marcapasos han incrementado de manera notable la incidencia de trombosis de extremidades superiores. Para minimizar los riesgos, el extremo distal del catéter debería colocarse en la vena cava superior para minimizar los cambios de flujo y favorecer la dilución de los fármacos. La retirada del catéter o de estos dispositivos también puede desprender trombos y desencadenar un TEP⁵¹.

Anticuerpos antifosfolípido: comprenden una familia de autoanticuerpos que se unen a los fosfolípidos o a com-

Tabla II. Efectos opuestos de los anticuerpos antifosfolípido en la coagulación⁵²

Efecto procoagulante

- Aumento en la secreción del factor de activación tisular
- Inhibición de la actividad de la antitrombina III, de la fibrinólisis, de la acción anticoagulante de la β -2 glicoproteína y de la vía de la proteína C activada
- Lesión por oxidación del endotelio vascular
- Disrupción de la protección de la anexina V en la membrana
- Aumento de la adhesión de neutrófilos y leucocitos a las células endoteliales por aumento de la expresión de moléculas de adhesión. Activación y degranulación de neutrófilos
- Aumento de la actividad y agregación plaquetaria
- Aumento de la unión de la β -I-glicoproteína I y de la protrombina a la membrana

Efecto anticoagulante

- Inhibición de la activación del factor IX, X y de la activación de la protrombina a trombina

plejos fosfolípido-proteína de la célula endotelial. En el síndrome antifosfolípido primario, la ETV o un problema obstétrico o pérdidas fetales son la primera manifestación, pero también pueden aparecer en asociación a otras enfermedades como el lupus eritematoso sistémico. Los anticuerpos antifosfolípido predisponen a las trombosis arteriales y venosas y a los abortos de repetición. El riesgo de trombosis recurrentes es más alto en los pacientes con anticuerpos contra la beta-2-glicoproteína o aquellos con títulos elevados de anticuerpos IgG anticardiolipina^{52,53} (Tabla II).

Homocistinemia: en el momento actual, no se sabe con certeza la verdadera incidencia y el mecanismo por el que elevados niveles de homocisteína ($>15 \mu\text{mol/L}$) incrementan el riesgo de trombosis arterial y venosa⁵⁴.

Miscelánea: deportistas como lanzadores de peso o jabalina, levantadores de pesas o remeros realizan un sobre-esfuerzo de las extremidades superiores. Dicho estiramiento muscular y vascular provoca daño endotelial que activa la trombosis. También ha sido descrito con frecuencia en el jugador de béisbol (pitcher). La hipertrofia muscular y el síndrome del canal torácico predisponen al estasis venoso y a ETV.

Factores de riesgo hereditarios en la ETV

El riesgo de ETV asociado a un factor hereditario es bajo. La mayoría de individuos con dicha alteración no pre-

sentarán ETV si no coexiste otro factor asociado. La mayoría de estos factores hereditarios se asocian al sistema de la proteína C²⁶.

Proteína C o S: los pacientes deficientes en proteína C o S tienen una mayor predisposición a la ETV, lo que muestra la importancia de este sistema anticoagulante. Se han descrito más de cien mutaciones autosómicas dominantes en los genes que codifican estas proteínas, reduciendo su concentración o función, aunque son causas raras de trombosis⁵⁵. El síndrome de la resistencia a la proteína C activa (APC) secundaria a una mutación en el factor V es la causa genética más frecuente que predispone a la ETV y es la responsable de la resistencia del factor Va a su degradación, permaneciendo en su forma activada e incrementando la formación de trombina. Este factor anormal se llama factor V de Leyden o FV Q506 y presenta la mutación G1691A, que provoca un cambio de la arginina en la posición 506 por una glutamina. La incidencia de esta mutación es de hasta el 5%, especialmente en la población blanca del norte de Europa y se puede detectar hasta en un 20-40% de pacientes con trombosis. En los pacientes heterocigotos existe un aumento del riesgo para ETV de 5-10 veces que aumenta 50-100 veces para los sujetos homocigotos. La persistencia de esta mutación a través de la cadena evolutiva puede ser debida al menor riesgo de hemorragia tras el parto en las mujeres portadoras²⁶.

La warfarina inhibe la síntesis de todas las proteínas dependientes de la vitamina K, incluyendo los factores II, VII, IX, proteína C y S, por lo que su análisis debe realizarse sin tomar fármacos inhibidores de la vitamina K. En los pacientes con deficiencia en las proteínas C o S (de vida media muy corta), éstas disminuyen muy rápidamente con la administración de warfarina. Dichos pacientes pueden desarrollar una grave necrosis cutánea en las áreas grasas, como nalgas, pecho o los dedos de los pies por un estado procoagulativo transitorio si no se administra de manera concomitante heparina⁵⁶.

Gen de la protrombina: la mutación del gen de la protrombina es la segunda causa genética que predispone a la ETV. La mutación simple (G20210A) en la región 3 del gen de la protrombina puede detectarse hasta en un 6-8% de pacientes con trombosis. Dicha mutación no afecta la función de la protrombina, pero está asociada con un ligero aumento de los niveles de la misma en plas-

ma e incrementa el riesgo de 3 a 5 veces para ETV en homocigosis.

Gen de la antitrombina III (AT-III): su deficiencia puede ser adquirida, como en la cirrosis, o heredada, como un rasgo autosómico dominante. El déficit de AT-III heterocigota se clasifica como tipo I o II basado en la naturaleza de la mutación, en los niveles de AT-III y en la capacidad de la AT-III de inhibir los factores de la coagulación ante la presencia o no de heparina. La deficiencia de tipo I se caracteriza por niveles reducidos de AT-III y de su actividad. La deficiencia de tipo II se caracteriza por la presencia de una variante de AT-III menos funcional. El riesgo de los pacientes con déficit de AT-III sometidos a cirugía es extremadamente alto porque la propia cirugía reduce los niveles de AT-III. La imposibilidad de prolongar el tiempo de protrombina durante el tratamiento con heparina depende de la gravedad del déficit⁵⁷. El tratamiento con heparina en el seno de la ETV reduce los niveles de AT-III, por lo que no sería fiable su medición durante el tratamiento⁴⁴.

Miscelánea: existen causas poco frecuentes de hipercoagulabilidad y ETV, como el déficit de plasminógeno, las disfibrinogenemias, los elevados niveles de algunos factores procoagulantes como el factor XI que duplica la posibilidad de padecer un episodio trombótico⁵⁸, o el factor VIII que incrementa hasta 7 veces el riesgo de ETV⁵⁹. Una concentración de más de 30 mg/dL de lipoproteína (a), es un factor de riesgo para la ETV ya que su estructura es similar al fibrinógeno y compite con la fibrina disminuyendo la fibrinólisis y predisponiendo a la trombosis⁶⁰.

PUNTOS DE APRENDIZAJE

- Las condiciones que con más frecuencia se asocian a la ETV son la cirugía previa al episodio, la inmovilidad y el cáncer. Existen factores de riesgo reversibles asociados a la ETV como la obesidad y el tabaquismo.
- Los anticonceptivos orales y los fármacos usados para la terapia hormonal sustitutiva en la menopausia son importantes factores de riesgo para la ETV.
- Los pacientes con EPOC, insuficiencia cardiaca o renal y los pacientes ingresados en UCI tienen mayor riesgo de ETV.
- La mutación en el factor V es la mutación genética más frecuente que predispone a la ETV y es la responsable de la resistencia del factor Va a su degradación.

CONSECUENCIAS HEMODINÁMICAS TRAS EL EPISODIO TROMBOEMBÓLICO

En los casos de ETV que se acompañe de obstrucción aguda de las arterias pulmonares por embolia, se afectará tanto la circulación pulmonar (con hipoxemia e infarto del tejido pulmonar secundario) como la función cardiaca. El embolismo pulmonar provoca principalmente un aumento en el espacio muerto alveolar, un cortocircuito derecho-izquierdo y una alteración en la relación ventilación-perfusión (V/Q). Las anormalidades en el intercambio de gases en pacientes con TEP son multifactoriales dependiendo de: a) tamaño, b) características del material embólico, c) extensión de la oclusión, d) tiempo transcurrido desde la embolización, e) factores neurohumorales secretados y sobre todo f) del estado cardiopulmonar previo⁶¹. En la tabla III se resumen las alteraciones en el intercambio de gases y el consecuente estado de hipoxemia.

Tras la embolia pulmonar, sobre todo si es masiva, se desarrolla hipertensión pulmonar con sobrecarga ventricular derecha y elevación de la presión auricular. En ausencia de enfermedad cardiovascular asociada, la oclusión del 25-30 % del lecho vascular se asocia a un aumento de la presión de la arteria pulmonar media⁶² que llega a ser superior a los 40 mmHg cuando el nivel de obstrucción se acerca al 75%. Un ventrículo derecho normal es incapaz de soportar dicha demanda desencadenando insuficiencia cardiaca derecha. El progresivo fallo cardíaco derecho es la principal causa de muerte por TEP, como se dedujo del estudio ICOPER⁶³.

El aumento en la tensión muscular del ventrículo derecho provoca un mayor consumo de oxígeno que predispone a la isquemia miocárdica y arritmias ventriculares. El aumento de llenado ventricular derecho (por sobrecarga derecha) comprime el septo interventricular y lo desplaza hacia el ventrículo izquierdo. Además, el flujo ante esta situación podría desviarse al corazón izquierdo a través de un *foramen ovale* persistente o la existencia de una comunicación interauricular, presente hasta en el 15% de la población. Este mecanismo debe tenerse en cuenta ya que puede explicar un empeoramiento de la hipoxemia ante pequeños esfuerzos en algunos pacientes con TEP. El septo tiene un movimiento paradójico que distorsiona la dinámica normal circulatoria del ventrículo izquierdo con

Tabla III. Alteraciones en el intercambio de gases durante un episodio de embolismo pulmonar y mecanismos de hipoxemia. Modificado de ref. 39.

1. **Incremento de las resistencias pulmonares periféricas** debido a la propia obstrucción vascular y a la secreción de factores neuromoduladores que provocan vasoconstricción.
2. **Hipoxemia** creada por la disminución de la perfusión en las áreas distales al coágulo, con un aumento de la perfusión compensatoria en áreas alejadas del área obstruida como consecuencia de la redistribución sanguínea hacia las áreas no obstruidas.
3. **Disminución de las unidades de V/Q:** disminución de la transferencia de oxígeno a los capilares pulmonares, con preservación del flujo sanguíneo. Relación ventilación/perfusión <1.0 .
4. **Incremento del espacio muerto alveolar y fisiológico.** El primero, por la obstrucción vascular, provocando hipoxemia por el cortocircuito o shunt derecho-izquierdo de sangre poco oxigenada (sin ventilación). El espacio muerto fisiológico se incrementa porque la ventilación en las unidades de intercambio excede las unidades de flujo sanguíneo. El espacio muerto anatómico aumenta por broncoconstricción distal, edema y atelectasia secundaria a la obstrucción.
5. **Alcalosis respiratoria e hipercapnia** por la hiperventilación alveolar debido a la activación de receptores de irritación locales. Existe hipoperfusión pulmonar local que provoca hipocapnia e hiperventilación compensatoria por un fenómeno de constrictión bronquiolar. La hipercapnia reflejaría un episodio de TEP masivo por un gran aumento del espacio muerto total (anatómico y fisiológico).
6. **Incremento del gradiente alveolo-arterial ($\text{PAO}_2-\text{PaO}_2$)** por ser la misma FiO_2 y menor SatO_2 .
7. **Descenso de la compliance pulmonar** por el edema pulmonar, la hemorragia y la pérdida del surfactante que acompaña al evento embólico. Las atelectasias hemorrágicas son ocasionadas por la pérdida de surfactante ante la oclusión del flujo de sangre de los vasos arteriales pulmonares además del material embólico cubierto de plaquetas que provoca obstrucción y promueve la broncoconstricción y la pérdida de surfactante pulmonar.
8. **Disminución de la DLCO** (difusión de monóxido de carbono), por decremento de la presión parcial de oxígeno.

un menor llenado ventricular. Como consecuencia también la aurícula izquierda tiene un mayor trabajo para llenar el ventrículo (onda A prominente). A medida que el estrés sobre la pared ventricular derecha se incrementa, el aumento de presión en dicha cavidad puede comprimir la arteria coronaria derecha y causar isquemia cardiaca por disminución de la perfusión subendocárdica al limitar el aporte de oxígeno³⁹. Microinfartos ventriculares derechos conllevan elevación de la troponina y la sobrecarga

ventricular derecha ocasiona también elevación de los péptidos natriuréticos tipo pro-B y tipo B. La dilatación del anillo tricuspídeo y la hipoquinesis ventricular secundaria al TEP contribuyen al fallo ventricular derecho³⁹.

Debido a la mala dinámica cardiaca, se deprime la función sistólica y se produce una caída del gasto cardiaco. Por otra parte, el incremento de las resistencias pulmonares periféricas dificulta la salida de flujo de las cavidades derechas y también reduce la precarga ventricular izquierda. Tanto la disminución de la precarga ventricular izquierda como la hipoxemia desencadenan un mecanismo compensatorio orientado a mantener el gasto cardiaco a través de la secreción de catecolaminas (taquicardia, vasoconstricción y aumento de la presión arterial pulmonar)⁶² aumentando el retorno venoso y el volumen cardíaco.

Esta descompensación hemodinámica no ocurre solo por la obstrucción mecánica del vaso, sino por la liberación de factores humorales, reflejos neurales, liberación de serotonina por las plaquetas, trombina del plasma e histamina del tejido vascular³⁹. La agregación plaquetaria acompañada de la descarga de varios mediadores vasoactivos contribuyen a la vasoconstricción pulmonar. Estos mecanismos pueden influir en el elevado compromiso hemodinámico hallado en algunos pacientes. La presencia de enfermedad cardiovascular previa, por tanto, es el peor factor de riesgo ante un episodio de TEP, ya que el corazón no es capaz de gestionar la sobrecarga ventricular y una oclusión menor del lecho vascular pulmonar produce mayor insuficiencia cardiaca derecha⁶².

PUNTOS DE APRENDIZAJE

- El embolismo pulmonar provoca principalmente un aumento del espacio muerto alveolar, un cortocircuito derecho-izquierdo y una alteración en la relación ventilación-perfusión (V/Q).
- La insuficiencia cardiaca derecha es la causa principal de muerte en el embolismo pulmonar por la sobrecarga ventricular y la dilatación de cavidades derechas secundaria.
- También contribuyen al empeoramiento de la dinámica cardiaca la liberación de factores humorales, reflejos neurales, liberación de serotonina por parte de las plaquetas, trombina plasmática e histamina.

RESPIRA FC

PLAN DE FORMACIÓN CONTINUADA

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Liebow AA. Cardiovascular disease: pulmonary hypertension. *Annu Rev Med* 1960;11:95-112.
- 2 Virchow R. *Cellular Pathology*. 1859 Special edition. London: John Churchill 1978;204-207.
- 3 Tapson VF, Humbert M. Incidence and prevalence of chronic thromboembolic pulmonary hypertension: from acute to chronic pulmonary embolism. *Proc Am Thorac Soc* 2006;3:564-567.
- 4 Tapson VF. The role of smoking in coagulation and thromboembolism in chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc* 2005;2:71-77.
- 5 Anderson FA, Jr, Wheeler HB, Goldberg RJ, et al. A population-based perspective of the hospital incidence and case-fatality rates of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. The Worcester DVT Study. *Arch Intern Med* 1991;151:933-938.
- 6 White RH. The epidemiology of venous thromboembolism. *Circulation* 2003;107:14-8.
- 7 Montes Santiago J. Tromboembolismo pulmonar en pacientes médicos. Aproximación a los costes hospitalarios y tendencias evolutivas en España. *An Med Interna* 2004;21:326-330.
- 8 Pengo V, Lensing AW, Prins MH, et al. Incidence of chronic thromboembolic pulmonary hypertension after pulmonary embolism. *N Engl J Med* 2004;350:2257-2264.
- 9 British Thoracic Society guidelines for the management of suspected acute pulmonary embolism. *Thorax* 2003;58:470-483.
- 10 Blann AD, Lip GY. Venous thromboembolism. *Bmj* 2006;332:215-219.
- 11 Mammen EF. Pathogenesis of venous thrombosis. *Chest* 1992;102:640S-644S.
- 12 Virchow R. Weitere Untersuchungen ueber die Verstopfung der Lungenarterien und ihre Folge. *Traube's Beitraege exp path u Physiol*. Berlin 1846; 21-31.
- 13 Nicolaides AN, Kakkar VV, Field ES, et al. The origin of deep vein thrombosis: a venographic study. *Br J Radiol* 1971;44:653-663.
- 14 Kakkar VV, Howe CT, Flanc C, et al. Natural history of postoperative deep-vein thrombosis. *Lancet* 1969;2:230-232.
- 15 Godleski J. Pathology of Deep Venous Thrombosis and Pulmonary Embolism. In: Goldhaber SZ, ed. *Pulmonary Embolism and Deep Venous Thrombosis*. WB. Saunders Company 1985.
- 16 Moser KM, LeMoine JR. Is embolic risk conditioned by location of deep venous thrombosis? *Ann Intern Med* 1981;94:439-444.
- 17 Rosendaal FR, Bovill EG. Heritability of clotting factors and the revival of the prothrombotic state. *Lancet* 2002;359:638-639.
- 18 Seligsohn U, Lubetsky A. Genetic susceptibility to venous thrombosis. *N Engl J Med* 2001;344:1222-1231.
- 19 Colemann. *Hemostasis and Thrombosis*, 2006.
- 20 Sevitt S. The structure and growth of valve-pocket thrombi in femoral veins. *J Clin Pathol* 1974;27:517-528.
- 21 Lopez JA, Kearon C, Lee AY. Deep venous thrombosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2004:439-456.
- 22 Hamer JD, Malone PC, Silver IA. The PO₂ in venous valve pockets: its possible bearing on thrombogenesis. *Br J Surg* 1981;68:166-170.
- 23 Weitz JAH, J. Pathogenesis of Venous Thromboembolism. In: Dalen JE, ed. *Venous Thromboembolism*: Marcel Dekker, Inc 2003;39-56.
- 24 Macfarlane RG. An Enzyme Cascade in the Blood Clotting Mechanism, and Its Function as a Biochemical Amplifier. *Nature* 1964;202:498-499.
- 25 Davie EW, Ratnoff OD. Waterfall Sequence for Intrinsic Blood Clotting. *Science* 1964;145:1310-1312.
- 26 Dahlback B. Blood coagulation. *Lancet* 2000;355:1627-1632.
- 27 Spronk HM, Govers-Riemslag JW, ten Cate H. The blood coagulation system as a molecular machine. *Bioessays* 2003;25:1220-1228.
- 28 Doolittle RF. Structure and function of fibrinogen. *Horiz Biochem Biophys* 1977;3:164-191.
- 29 Mosesson MW. Fibrinogen and fibrin structure and functions. *J Thromb Haemost* 2005;3:1894-1904.
- 30 Collen D, Lijnen HR. Basic and clinical aspects of fibrinolysis and thrombolysis. *Blood* 1991;78:3114-3124.
- 31 Dobrovolsky AB, Titaeva EV. The fibrinolysis system: regulation of activity and physiologic functions of its main components. *Biochemistry (Mosc)* 2002;67:99-108.
- 32 Colman R. *Hemostasis and Thrombosis. Basic Principles and Clinical Practice*. Fifth Edition ed: Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
- 33 Wartski M, Collignon MA. Incomplete recovery of lung perfusion after 3 months in patients with acute pulmonary embolism treated with antithrombotic agents. THESEE Study Group. *Tinzaparin ou Heparin Standard: Evaluation dans l'Embolie Pulmonaire Study*. *J Nucl Med* 2000;41:1043-1048.
- 34 Nijkeuter M, Hovens MM, Davidson BL, et al. Resolution of thromboemboli in patients with acute pulmonary embolism: a systematic review. *Chest* 2006;129:192-197.
- 35 Lang I, Kerr K. Risk factors for chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Proc Am Thorac Soc* 2006;3:568-570.
- 36 Morris TA, Marsh JJ, Chiles PG, et al. Abnormally sialylated fibrinogen gamma-chains in a patient with chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Thromb Res* 2007;119:257-259.
- 37 Morris TA, Marsh JJ, Chiles PG, et al. Fibrin derived from patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension is resistant to lysis. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;173:1270-1275.
- 38 Kahn SR. The post-thrombotic syndrome: progress and pitfalls. *Br J Haematol* 2006;134:357-365.
- 39 Goldhaber SZ, Elliott CG. Acute pulmonary embolism: part I: epidemiology, pathophysiology, and diagnosis. *Circulation* 2003;108:2726-2729.
- 40 Goldhaber SZ, Tapson VF. A prospective registry of 5,451 patients with ultrasound-confirmed deep vein thrombosis. *Am J Cardiol* 2004;93:259-262.
- 41 Troussseau A. Phlegmasia alba dolens. *Clinique Medicale de l'Hotel Dieu de Paris Balhiere*. Paris 1865;94.
- 42 Piccoli A, Prandoni P, Ewenstein BM, et al. Cancer and venous thromboembolism. *Am Heart J* 1996;132:850-855.
- 43 Schulman S, Lindmarker P. Incidence of cancer after prophylaxis with warfarin against recurrent venous thromboembolism. Duration of Anticoagulation Trial. *N Engl J Med* 2000;342:1953-1958.
- 44 Joffe HVG, SZ. Hypercoagulate States and Other Risk Factors for Venous Thromboembolism. In: Dalen JE, ed. *Venous Thromboembolism* 2003;11-38.
- 45 Goldhaber SZ. Pulmonary embolism. *Lancet* 2004;363:1295-1305.

- 46 Hunter KA, Garlick PJ, Broom I, et al. Effects of smoking and abstention from smoking on fibrinogen synthesis in humans. *Clin Sci (Lond)* 2001; 100:459-465.
- 47 White RH, Zhou H, Romano PS. Incidence of idiopathic deep venous thrombosis and secondary thromboembolism among ethnic groups in California. *Ann Intern Med* 1998;128:737-740.
- 48 Klatsky AL, Armstrong MA, Poggi J. Risk of pulmonary embolism and/or deep venous thrombosis in Asian-Americans. *Am J Cardiol* 2000;85:1334-1337.
- 49 Garcia Rio F, Borderias Clau L, Casanova Macario C, et al. [Air travel and respiratory diseases]. *Arch Bronconeumol* 2007;43:101-125.
- 50 Attia J, Ray JG, Cook DJ, et al. Deep vein thrombosis and its prevention in critically ill adults. *Arch Intern Med* 2001;161:1268-1279.
- 51 Soler X. Tromboembolismo pulmonar durante el recambio de un catéter. *Med Intensiva* 1999;23:1303-1311.
- 52 Levine JS, Branch DW, Rauch J. The antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med* 2002;346:752-763.
- 53 Finazzi G, Brancaccio V, Moia M, et al. Natural history and risk factors for thrombosis in 360 patients with antiphospholipid antibodies: a four-year prospective study from the Italian Registry. *Am J Med* 1996;100:530-536.
- 54 den Heijer M, Koster T, Blom HJ, et al. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for deep-vein thrombosis. *N Engl J Med* 1996;334:759-762.
- 55 Engesser L, Broekmans AW, Briet E, et al. Hereditary protein S deficiency: clinical manifestations. *Ann Intern Med* 1987;106:677-682.
- 56 Sallah S, Thomas DP, Roberts HR. Warfarin and heparin-induced skin necrosis and the purple toe syndrome: infrequent complications of anticoagulant treatment. *Thromb Haemost* 1997;78:785-790.
- 57 Buller HR, ten Cate JW. Acquired antithrombin III deficiency: laboratory diagnosis, incidence, clinical implications, and treatment with antithrombin III concentrate. *Am J Med* 1989;87:44S-48S.
- 58 Meijers JC, Tekelenburg WL, Bouma BN, et al. High levels of coagulation factor XI as a risk factor for venous thrombosis. *N Engl J Med* 2000;342:696-701.
- 59 Kyrie PA, Minar E, Hirschl M, et al. High plasma levels of factor VIII and the risk of recurrent venous thromboembolism. *N Engl J Med* 2000; 343:457-462.
- 60 von Depka M, Nowak-Gottl U, Eisert R, et al. Increased lipoprotein (a) levels as an independent risk factor for venous thromboembolism. *Blood* 2000;96:3364-3368.
- 61 Goldhaber SZ. Echocardiography in the management of pulmonary embolism. *Ann Intern Med* 2002;136:691-700.
- 62 Tapson VF. Acute pulmonary embolism. *Cardiol Clin* 2004;22:353-365.
- 63 Torbicki A, Galie N, Covezzoli A, et al. Right heart thrombi in pulmonary embolism: results from the International Cooperative Pulmonary Embolism Registry. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:2245-2251.

Capítulo 3

Tomografía de perfusión (SPECT) en Neumología

Xavier Soler

Medicina respiratoria 2009; 2 (2): 15-24

Tomografía de perfusión pulmonar (SPECT) en Neumología

XAVIER SOLERT TOMAS

Pulmonary and Critical Care Medicine Division
University of California San Diego
9300 Campus Point Dr. M/C 0804
La Jolla, CA, 92037-0804
USA

e-mail: xsoler@ucsd.edu

RESUMEN

El tromboembolismo pulmonar (TEP) es una de las causas más frecuentes de muerte de origen vascular. Sin embargo, su diagnóstico es difícil debido a la falta de una sintomatología específica. La gammagrafía de perfusión es una prueba de medicina nuclear que evalúa los defectos de perfusión pulmonar ante un paciente con sospecha de TEP. Dichos defectos de perfusión son una medida indirecta del bloqueo vascular pulmonar secundario a la presencia de trombos en su interior. A pesar de estar tecnológicamente superada por el SPECT, acrónimo de *Single Photon Emission Computerized Tomography*, la técnica en modo planar o bidimensional es la más utilizada, relegando al SPECT pulmonar a estudios de investigación clínica. Sin embargo, el SPECT permite evaluar la perfusión en todo el arco del espacio y permite la reconstrucción tridimensional así como la cuantificación de la perfusión. Se ha demostrado su utilidad en el TEP agudo y recientemente en el TEP crónico. Sin duda, el uso del SPECT se irá incorporando progresivamente a otras situaciones clínicas para las que en la actualidad se usa la gammagrafía planar. El presente artículo analiza el papel del SPECT pulmonar en el TEP y también su posible aplicación en otras áreas de la neumología.

PALABRAS CLAVE: SPECT pulmonar, gammagrafía de perfusión, enfermedad tromboembólica venosa, tromboembolismo pulmonar.

FUENTES DE FINANCIACIÓN: Parcialmente por la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR) y Fundació Catalana de Pneumologia (FUCAP).

El problema de la enfermedad tromboembólica

La enfermedad tromboembólica venosa (ETV) comprende la trombosis venosa profunda (TVP) y el TEP, siendo la tercera causa más frecuente de enfermedad vascular tras la cardiopatía isquémica y el accidente vascular cerebral. En un 50-80% de los casos, la ETV se asocia a factores de riesgo conocidos como la edad avanzada, la cirugía reciente,

cáncer, trombofilias, episodios embólicos previos y la hospitalización.^{1,3}

El TEP es una entidad frecuente con una elevada mortalidad. Hasta el 40% de los pacientes con TVP pueden evolucionar a TEP, cuya mortalidad a los 3 meses del episodio agudo es de hasta un 17% y su recurrencia estimada es del 20% durante los 5 años siguientes al episodio. En Estados Unidos existen más de 600.000 hospitalizaciones por año por TVP y el número de muertes anuales atribuidas a TEP

oscila entre 60.000 y 200.000. Ello equivale a las muertes por SIDA, cáncer de mama y accidentes de tráfico juntos². La incidencia de la ETV varía entre 56/100.000 y 182/100.000, y aumenta de forma exponencial por encima de los 60 años de edad.^{3,4} Existen pocos datos epidemiológicos en España, ya que normalmente se extrapolan cifras de otros países, pero podrían estimarse en 65.000 casos/año de ETV y en unos 25.000 casos/año de TEP declarados en el Sistema Nacional de Salud.⁵ La ETV cursa de forma asintomática en muchas ocasiones. Se estima que sólo se diagnostican un 1% de los episodios de TVP y me-

nos de un tercio de los TEP, por lo que la frecuencia real de la ETV podría ser mayor.

La hipertensión pulmonar secundaria al tromboembolismo crónico (CTEPH) se entiende como una extensión de la historia natural del TEP y puede ocurrir entre el 3 y el 4% de pacientes después de un episodio agudo tromboembólico.⁶ La CTEPH se caracteriza por la persistencia de un trombo no resuelto en el árbol arterial vascular pulmonar que provoca una disminución o la completa obstrucción de los vasos pulmonares. Ello provoca la aparición de remodelado vascular y de tejido fibrótico que incrementa las resistencias vasculares periféricas y como consecuencia el desarrollo de disfunción ventricular derecha, motivo habitual de muerte en estos pacientes.⁷ Sin tratamiento la enfermedad es progresiva y a menudo fatal, siendo la resección quirúrgica del molde trombótico mediante tromboendarterectomía pulmonar (PTE) el único tratamiento eficaz⁸.

Por todo ello, la presencia de émbolos en el árbol vascular pulmonar es una condición clínica muy grave que, unida a la poca especificidad de sus síntomas, ocasiona grandes dificultades de diagnóstico. La mejora en técnicas de imagen para su correcto diagnóstico y evaluación tiene una gran relevancia.^{6,9}

Medicina nuclear para la evaluación de la perfusión pulmonar.

La circulación arterial pulmonar sigue un trayecto paralelo al árbol bronquial desde los bronquios principales hasta las unidades alveolares. Cada alveolo es irrigado por una arteriola pulmonar terminal. Así pues, el bloqueo de la perfusión por un TEP provoca un déficit de perfusión en el parénquima pulmonar distal a la oclusión que puede evaluarse mediante la gammagrafía de perfusión. El ra-

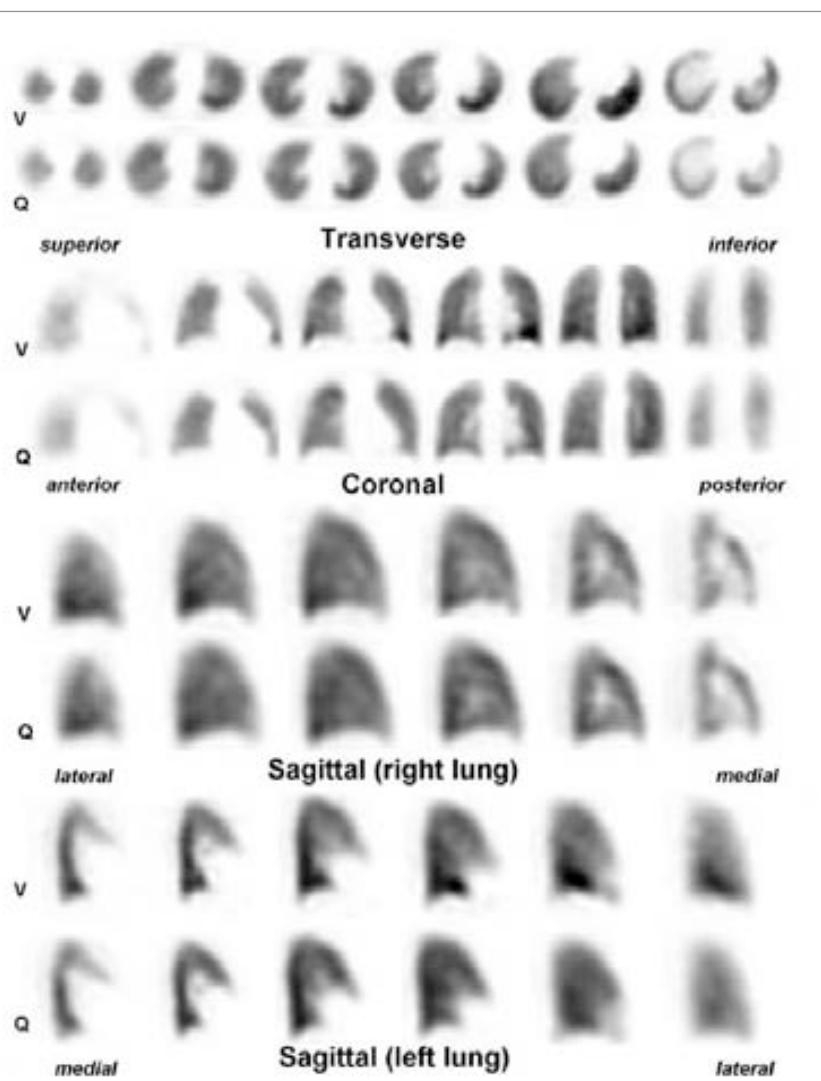


FIGURA 1. Ejemplo de un SPECT pulmonar normal. Las imágenes de ventilación y perfusión (usando Technegas para la ventilación y 99m Tc-MAA para el estudio de la perfusión) son presentadas alineadas y en los planos transverso, coronal y sagital. V: Ventilación; Q: Perfusion. Reproducido con permiso de Roth et al. 2008

dioisótopo o trazador nuclear utilizado para la evaluación de la perfusión pulmonar es el tecnecio unido a macro-agregados de albúmina ($^{99}\text{TC-MAA}$). El mecanismo de acción del $^{99}\text{TC-MAA}$ es crear de manera temporal “micro-émbolos” a nivel capilar pulmonar ya que las partículas mayores de $>10 \mu\text{m}$ de diámetro quedan atrapadas en la circulación capilar en un efecto de primer paso.¹⁰⁻¹² El número de microembolismos causados por los $^{99}\text{TC-MAA}$ depende del número de partículas injectadas y del número de arteriolas y capilares presentes, es decir, del flujo sanguíneo de cada segmento o subsegmento pulmonar. En sujetos adultos se aconseja inyectar al menos 100.000 partículas radiactivas y no más de 700.000 ya que podría ocasionar un exceso en el bloqueo capilar y una alteración hemodinámica secundaria.^{12,13} El tamaño ideal de las partículas es entre 25-60 μm . Partículas más pequeñas se degradan muy rápidamente y las mayores de 60 μm de diámetro pueden bloquear el árbol capilar pulmonar en zonas más proximales de la circulación pulmonar y también causar alteraciones hemodinámicas.¹² Siguiendo a dicha acumulación en los pulmones (98% en 1-2 min.), los $^{99}\text{TC-MAA}$ son mecánica y enzimáticamente degradados en el pulmón en las 2 a 4 horas siguientes a su inyección, para después ser fagocitados en el hígado y en el bazo. La gammagrafía de perfusión detecta las partículas acumuladas antes de su degradación, por lo que en pacientes con perfusión normal la imagen tendrá una distribución homogénea y bilateral del trazador (Figura 1) a diferencia de la imagen compatible con un defecto de perfusión, que mostrará una ausencia de trazador radiactivo en el segmento o subsegmentos pulmonares afectados. (Figura 2).

Dos contraindicaciones relativas en los estudios de perfusión son la presencia de hipertensión pulmonar grave (HTAP) y pacientes con reconocido *shunt* o comunicación derecha-izquierda.¹³ En el caso de la HTAP por tratarse de un paciente con disminución de la reserva circulatoria y un lecho vascular pulmonar con resistencias elevadas. En los pacientes con un shunt derecha-izquierda, para evitar el trasvase y posterior impacto de partículas

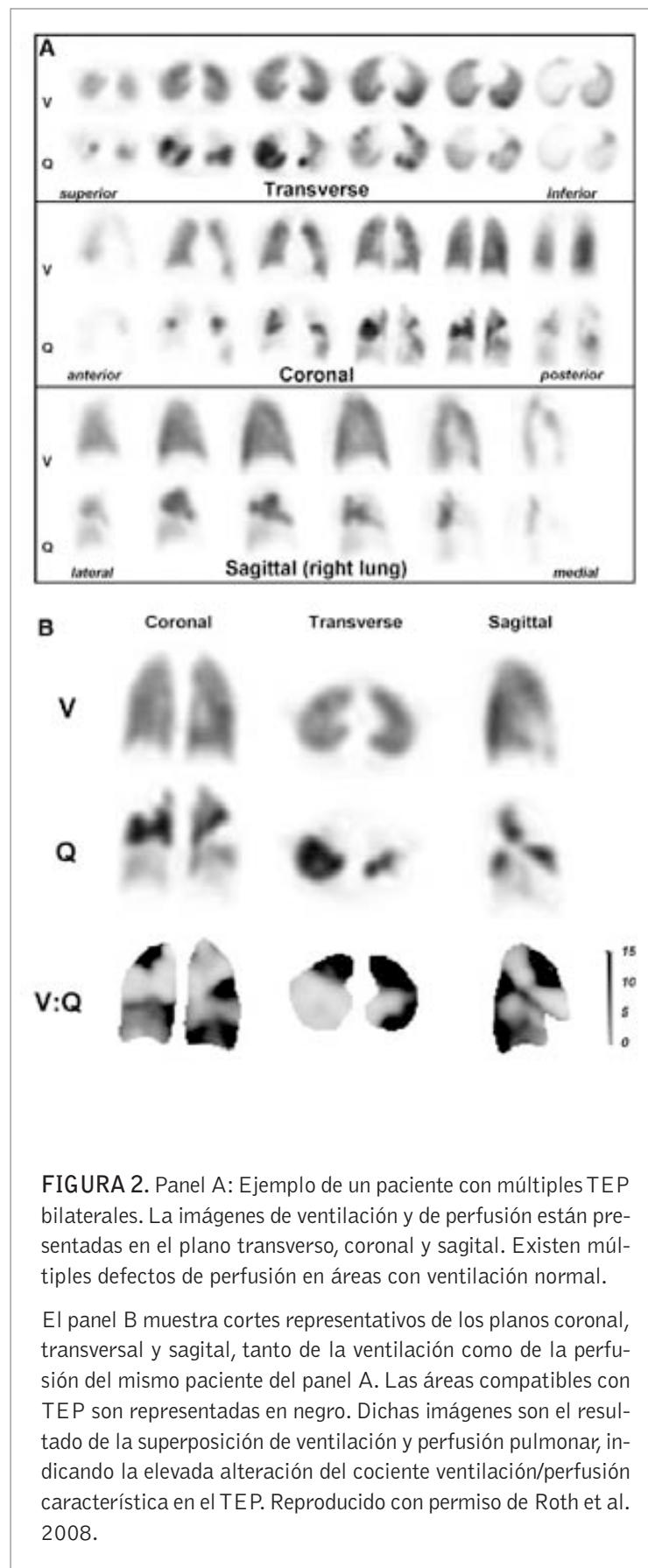


FIGURA 2. Panel A: Ejemplo de un paciente con múltiples TEP bilaterales. La imágenes de ventilación y de perfusión están presentadas en el plano transverso, coronal y sagital. Existen múltiples defectos de perfusión en áreas con ventilación normal.

El panel B muestra cortes representativos de los planos coronal, transversal y sagital, tanto de la ventilación como de la perfusión del mismo paciente del panel A. Las áreas compatibles con TEP son representadas en negro. Dichas imágenes son el resultado de la superposición de ventilación y perfusión pulmonar, indicando la elevada alteración del cociente ventilación/perfusión característica en el TEP. Reproducido con permiso de Roth et al. 2008.

de material radiactivo en la circulación cerebral o coronaria que pueda desencadenar un accidente vascular cerebral iatrogénico. En ambos casos, la reducción de la cantidad de partículas inyectadas (por ejemplo 60-100.000 partículas) permite un margen razonable de seguridad.¹³

El estudio de la ventilación pulmonar, aunque no imprescindible en la evaluación de enfermedades con defectos en la perfusión puede ser útil en el proceso diagnóstico, ya que en este caso la ventilación tendría que estar conservada si el paciente no está afectado de enfermedad que afecte la vía aérea. El ¹³³Xenon es uno de los trazadores usados para el estudio de la ventilación. Este aerosol es lavado rápidamente del pulmón por lo que no interfiere en el estudio de perfusión posterior. Una de las limitaciones más importantes del uso de ¹³³Xenon es que sólo se puede realizar una proyección (usualmente la posterior) por su corta vida media. Ello comporta que pueda existir alguna área mal ventilada insuficientemente evaluada y dificultar así la interpretación de la prueba.¹³ Los aerosoles marcados con Tecnecio que utilizan el *dietil-triamin-pentaacetic-acid* (^{99m}Tc-DTPA) como vehículo permiten una mejor evaluación de la ventilación pulmonar al permanecer más tiempo depositados en la vía aérea y permitir la adquisición de imágenes en diferentes proyecciones¹³. El ^{99m}Tc-DTPA tiene otras ventajas respecto al ¹³³Xenon. Entre ellas destacan la elevada energía de imagen que desprende el radioisótopo, lo que hace innecesaria una franca colaboración del paciente para su administración, la mayor disponibilidad del radioisótopo en cualquier laboratorio de medicina nuclear y que se puede administrar en habitaciones independientes minutos antes de la prueba. Su principal inconveniente es que puede interferir en el estudio de perfusión posterior por su mayor vida media, afectando sobre todo la evaluación de pacientes con CTEPH en los que la afectación de la perfusión suele ser central y puede coincidir con lugares donde el ^{99m}Tc-DTPA se acumula, tales como la tráquea y los bronquios principales.¹²

A pesar de que las técnicas de medicina nuclear encaminadas a evaluar la perfusión pulmonar y por tanto la presencia de trombos en el lecho vascular se utilizan desde hace más de 30 años, tienen reconocidas limitaciones.¹⁴ Cuando los pulmones son evaluados en dos dimensiones, como ocurre con la gammagrafía convencional existe una superposición de los segmentos pulmonares, disminuyendo la probabilidad de una valoración adecuada de los segmentos

afectados. Los defectos de perfusión pueden no ser detectados si existen sombras que provienen de segmentos en el mismo plano con una perfusión normal.¹⁵ También se han descrito limitaciones derivadas de los criterios para la interpretación de los defectos de perfusión detectados con gammagrafía convencional.¹⁴

El diagnóstico del embolismo pulmonar no es una situación en la que el médico clínico agradezca informes con diagnóstico "indeterminado" como resultado.¹⁴ Para incrementar el valor diagnóstico de la gammagrafía tradicional, se aplicaron algoritmos computerizados procedentes de las pruebas de imagen mediante rayos X (tomografía computerizada o TC) dando lugar a la aparición del SPECT o tomografía de perfusión. Podemos decir que el SPECT de perfusión pulmonar es en relación a la gammagrafía planar lo que la angio-TC es a la radiografía antero-posterior de tórax. Dicha técnica de imagen ya se utilizaba ampliamente en otros campos como la neurología y en el estudio de la perfusión miocárdica o del hígado.¹⁴

El estudio nuclear con adquisición tomográfica ofrece muchas ventajas sobre las imágenes bidimensionales. Una de las más importantes es la mayor resolución de la imagen adquirida, debido a la rotación de la gammacámara alrededor del organismo. Ello permite que la imagen obtenida provenga de una parcela anatómica menor, es decir, la adquisición se realiza sobre una parte más detallada del órgano estudiado y ello minimiza la superposición de imágenes que pudieran oscurecer el área de interés. Además, el SPECT proporciona una captación tridimensional real de la distribución del trazador radiactivo usado. Brevemente, el SPECT es un aparato con una cabeza detectora móvil orbitando alrededor del sujeto en todo el arco del espacio (360°). Existen aparatos con una o varias cámaras de detección. Éstas últimas proporcionan mayor rapidez de adquisición de la imagen. Dichas cámaras son de muy alta calidad para permitir la definición necesaria.¹⁶ Los datos provienen de múltiples imágenes adquiridas en diferentes ángulos del espacio a través de la rotación del detector alrededor del paciente. Por ejemplo 60 stops (representando cada uno de ellos 6 grados de arco) permiten realizar la técnica en 20 minutos aproximadamente (normalmente no se precisan más de 20 segundos por corte). La cantidad de cortes necesarios depende de la indicación de la prueba, características del paciente, cantidad de trazador utilizado y

consideraciones de resolución requeridas. Usualmente, 64 imágenes sobre 360 grados son suficientes para una reconstrucción tridimensional de calidad óptima.¹⁶

Tomografía de perfusión (SPECT) y el Tromboembolismo Pulmonar (TEP)

Las ventajas del SPECT respecto al modo planar en el estudio del TEP ha sido bien demostradas en las dos últimas décadas induciendo TEP en diferentes modelos. Primero fue Osborne en un modelo animal canino¹⁷; años más tarde Magnussen en un modelo realizado a partir de pulmón de cadáver¹⁸ y más recientemente Bajc realizó un estupendo trabajo en un modelo porcino.¹⁹ Todos ellos mostraron que el SPECT era más sensible que el estudio convencional. En el estudio de Bajc la sensibilidad del SPECT fue del 91% vs. 64% en modo planar, con una especificidad del 87% y 79% respectivamente. Recientemente, se han investigado las prestaciones del SPECT en estudios clínicos. Bajc y colaboradores, en un estudio con 53 pacientes con sospecha de TEP, demostraron que el SPECT era más sensible que el modo planar (100% versus 85%).²⁰ Los autores mostraron además que el SPECT delineaba las imágenes y los defectos de ventilación/perfusión con menor variabilidad inter-observador comparado con el estudio bidimensional. Collart y su grupo, en un estudio con 114 pacientes también demostraron una mayor especificidad (96% vs. 78%), así como una mejor reproducibilidad intra-observador (94% versus 91%) y inter-observador (88% vs. 79%).²¹ Recientemente, se estudiaron de forma retrospectiva 2.328 pacientes en los que se había realizado un SPECT de perfusión por sospecha de TEP. De los 1.785 pacientes que completaron el estudio, 607 (34%) fueron diagnosticados de embolismo pulmonar. Las sensibilidades fueron del 99% para el diagnóstico de TEP y la especificidad del 98%. Los valores predictivos positivo y negativo fueron del 99% en ambos casos.⁹ Todos estos datos sugieren que SPECT tiene una mayor sensibilidad y especificidad con una mayor reproducibilidad respecto al estudio de perfusión en modo planar o bidimensional para el estudio del TEP.

Es interesante destacar, que a pesar de los avances tecnológicos en la tomografía computerizada mediante angiografía

pulmonar (angio-TC), dicha técnica no ha superado a la gammagrafía para el estudio del TEP. El estudio gammagráfico y sobre todo mediante el SPECT permite una evaluación cuantitativa de la función pulmonar y tiene la habilidad de mostrar tanto la integridad aérea como vascular a diferencia de estudios más morfológicos o anatómicos, como la angio-TC. Además en los defectos de perfusión periféricos el SPECT parece ser más sensible que la angio-TC.^{12,22,23} Cabe decir que prácticamente todos los estudios en los que se ha comparado la gammagrafía y la angio-TC, se han realizado comparando la adquisición de imagen en modo planar y no mediante SPECT por lo que el beneficio del SPECT probablemente es mayor en el diagnóstico del TEP agudo. El SPECT por lo tanto, tiene un papel muy relevante en el estudio de la enfermedad trombo-embólica.¹⁵ Resulta sorprendente que no sea una técnica ampliamente utilizada para el estudio de la perfusión pulmonar sobre todo si se tiene en cuenta que las gammacámaras con multi-detector están disponibles en la mayoría de centros en nuestro país y el procesamiento de las imágenes adquiridas mediante SPECT es muy rápido y preciso.

Estudios de perfusión en la hipertensión pulmonar

La importancia de diferenciar la HTAP de la CTPEH radica en que la presentación clínica es muy similar, sino igual, entre ambas entidades y sin embargo, el enfoque terapéutico es muy diferente: tratamiento médico para la HTAP y PTE en los pacientes afectados de CTPEH. Fishman evaluó mediante gammagrafía convencional la perfusión en pacientes afectados de HTAP sin encontrar en ninguno de ellos defectos segmentarios o sub-segmentarios compatibles con material trombótico en los vasos pulmonares. Todos los pacientes habían sido estudiados previamente con angiografía pulmonar. Por el contrario, todos los pacientes con CTPEH tenían defectos de perfusión compatibles con enfermedad tromboembólica.²⁴ Aunque se trataba de un estudio retrospectivo con un pequeño número de sujetos, fue uno de los estudios que sentaron las bases para la evaluación de los pacientes afectados de hipertensión pulmonar. Así pues, en dichos pacientes, si el estudio de perfusión es negativo para enfermedad tromboembólica no hace falta realizar pruebas invasivas como la angiografía pulmonar.²⁵

Lisbona y colaboradores tuvieron resultados similares en un trabajo con 8 pacientes diagnosticados de HTAP mediante autopsia y/o angiografía pulmonar estudiados con gammagrafía planar.²⁶

Cabe decir, sin embargo, que el estudio de perfusión mediante gammagrafía planar no es estrictamente normal en algunos enfermos afectados de HTAP. En ellos existe un patrón gammagráfico no segmentario, no homogéneo y parcheado.^{24,27} Ante dichos hallazgos han aparecido diferentes teorías: alteración parcial de la perfusión como parte de un remodelado vascular, o bien consecuencia de microembolismos periféricos. Sin embargo, ninguna de ellas se ha demostrado. Nuestro grupo está realizando en la actualidad un estudio mediante SPECT en pacientes con HTAP con el objetivo de caracterizar de una manera más precisa los cambios inespecíficos que aparecen descritos en los estudios de perfusión en modo planar.

SPECT y Hipertensión Pulmonar Tromboembólica Crónica (CTEPH)

La angiografía pulmonar y los estudios de perfusión mediante gammagrafía planar subestiman la intensidad de la oclusión en la CTEPH cuando se determina por tromboendarterectomía.²⁷⁻³⁰ Por ello, en la Universidad de California en San Diego hemos realizado un trabajo para averiguar si el SPECT es más sensible que la gammagrafía convencional en la población afectada de CTEPH³¹ y (Soler et al., enviado para su publicación). En dicho estudio, se analizó a 20 pacientes consecutivos con el fin de comparar las sensibilidades de la gammagrafía de perfusión bidimensional y del SPECT. En los 17 sujetos que cumplieron los criterios de inclusión se realizaron ambas pruebas de manera consecutiva antes de someterse al programa quirúrgico (PTE). Para definir el criterio de referencia o gold standard añadimos a la angiografía pulmonar, prueba estándar, una aproximación clínico-patológica mediante la pieza quirúrgica resecada (molde del árbol vascular pulmonar) y otras pruebas al alcance como la angio-TC o la angioscopia en el caso de haberse realizado. Dos clínicos expertos en CTEPH evaluaron de forma independiente dicha información para decidir la presencia o no de trombo en cada segmento pul-

monar. Los resultados mostraron un aumento significativo de la sensibilidad a favor del SPECT para evaluar la presencia de oclusión en los segmentos vasculares pulmonares (63% vs. 42%) sin diferencias significativas en la especificidad (Figura 3). Se ha de tener en cuenta que los defectos de perfusión pueden recanalizar parcialmente a lo largo de meses o años, existir un proceso de remodelado vascular o aparecer circulación colateral compensatoria que pueden explicar, al menos en parte, la menor sensibilidad de las pruebas de perfusión en la enfermedad tromboembólica crónica respecto al proceso embólico agudo. En dicho estudio analizamos además la sensibilidad y especificidad entre la angio-TC y el SPECT en un subgrupo de pacientes. En este estudio piloto, el SPECT demostró una mayor especificidad respecto al angio-TC sin diferencias significativas en la sensibilidad.³² Aunque se trata de un estudio piloto con un número reducido de sujetos, los resultados sugieren que el SPECT podría ser la prueba de elección en pacientes afectados de CTEPH. En mi opinión, el uso rutinario del angio-TC para la evaluación de pacientes con CTEPH, no sería aconsejable al no estar dicha técnica suficientemente validada en la CTEPH mientras sí lo está en el TEP agudo.

SPECT en otras enfermedades neumológicas

Existen otras enfermedades que pueden y deben estudiarse mediante pruebas de medicina nuclear ya que proporcionan la información funcional adicional necesaria para su interpretación y análisis. Es decir, podremos cuantificar la perfusión o la ventilación pulmonar de manera detallada y dicho resultado se utilizará para la evaluación del paciente y posible tratamiento. El uso del SPECT pulmonar en estas enfermedades no se ha validado todavía, aunque ya ha comenzado a utilizarse en algunos centros. En mi opinión, su uso se irá extendiendo cada vez más debido a que permite una evaluación más precisa y detallada del área a estudiar.^{12,33,34}

a. Evaluación pre-operatoria de la función pulmonar

Los tests convencionales realizados en el laboratorio de función pulmonar como la espirometría pueden reflejar de manera muy precisa la función pulmonar global, aunque no permiten detectar diferencias existentes entre segmentos pulmonares, así como tampoco entre el pulmón izquierdo y

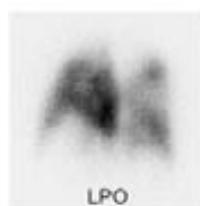
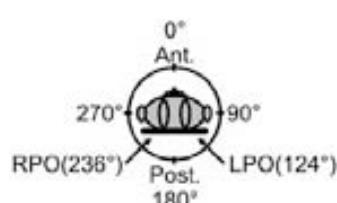
derecho. El estudio de la ventilación pulmonar a través de técnicas de medicina nuclear permite dicha cuantificación segmentaria y con ello disponer de un valor expresado en porcentaje del pulmón “funcionante”, es decir disponer de datos fisiológicos y no sólo anatómicos. Dicha evaluación es de gran utilidad, por ejemplo en la cirugía de riesgo. La cuantificación permitirá el cálculo del porcentaje de pulmón residual fisiológicamente viable en la planificación de técnicas quirúrgicas que conlleven resección de parénquima pulmonar. Dicha evaluación es más precisa mediante técnicas de SPECT por su mayor capacidad de resolución y más recientemente se ha sugerido la utilidad de la fusión entre el SPECT y la angio-TC.¹⁴ Especial interés tiene en la evaluación del paciente con cáncer de pulmón ya que dichos sujetos tienen dañados, al menos parcialmente, otros segmentos pulmonares por efecto del humo del tabaco. Así pues, la gammagrafía pulmonar permite la evaluación funcional a nivel regional y cuantificar diferentes segmentos pulmonares. En la actualidad el estudio mediante gamma-

grafía de ventilación/perfusión (V/Q) pulmonar es un test complementario muy valorado junto a la medida del aire espirado en el primer segundo (FEV1) en el contexto del paciente quirúrgico. Si el FEV1 es menor de 1 litro, la cirugía estaría en general contraindicada y los estudios de V/Q no serían necesarios para predecir la función pulmonar post-operatoria. Si el FEV1 se encuentra entre 1 y 2.5 l, las pruebas de V/Q permiten predecir si la función pulmonar post-quirúrgica será mayor del mínimo necesario (1 l/s) para no incurrir en insuficiencia respiratoria.^{12,35} Otros métodos propuestos como la resonancia nuclear magnética son más costosos y no existen estudios comparativos con la gammagrafía tradicional que sugieran una mayor eficacia.

b. Evaluación pre-operatoria en el transplante pulmonar

La evaluación cualitativa de la perfusión pulmonar aporta información muy valiosa en la evaluación del paciente candidato a transplante pulmonar al poder evaluar con precisión el porcentaje de pulmón funcionalmente activo.

Planar Perfusion Scans



SPECT Perfusion Scans

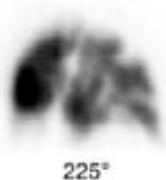


FIGURA 3. En la parte superior de la imagen se muestran dos planos del estudio de perfusión en modo planar de un paciente con CTEPH afectado de múltiples defectos de perfusión. Pulmón izquierdo: defectos de perfusión en segmento apical del lóbulo superior y en los cuatro segmentos inferiores. Pulmón derecho: defectos de perfusión en segmento apical del lóbulo superior (LSD), segmento anterior LSD, segmento superior del lóbulo inferior y en el segmento basal posterior del lóbulo inferior. En el SPECT de perfusión (representado por las seis imágenes inferiores del panel) se muestran defectos adicionales (flechas) que incluyen el segmento posterior del LSI y língula, segmento anterior del LSD y segmentos lateral, medial y lateral basal del LID. A pesar que las imágenes del SPECT son representadas en modo bidimensional o planar, la interpretación del SPECT se realizó en proyección tridimensional.

Además, existen otros hallazgos interesantes: En un estudio realizado en 46 pacientes de fibrosis quística, en lista de espera para transplante pulmonar, se demostró que los defectos de perfusión unilaterales estaban asociados a una mayor mortalidad durante el periodo previo a cirugía, por lo que dicho estudio aconsejaba modificar el criterio de espera para dichos pacientes.³⁶ En otro estudio en el que se cuantificó la perfusión al mes y a los tres meses post-transplante, la gammagrafía de perfusión fue capaz de predecir el rechazo pulmonar con una mayor sensibilidad (83% vs. 80%) y especificidad (88% vs. 67%) que el estudio espirométrico de función pulmonar utilizado habitualmente.³⁷

c. Optimización de la radioterapia para el cáncer de pulmón

El tratamiento radioterápico provoca neumonitis secundaria en un 10% de los pacientes. En algunos, dicha lesión desencadena fibrosis pulmonar irreversible asociada a un aumento de la mortalidad³⁸ y depende de la cantidad de radiación utilizada, del volumen pulmonar irradiado, de factores biológicos y también si el tratamiento ha sido administrado de manera fraccionada. Los tests de perfusión pulmonar con ^{99m}Tc-MAA ayudan a optimizar el esquema de tratamiento radioterápico ya que permiten evaluar el efecto de la radiación sobre la función pulmonar. Una prueba cuantitativa de V/Q mediante SPECT da información regional y funcional que los métodos morfológicos no pueden proporcionar, y es capaz de predecir mejor los efectos de la radiación sobre el tejido pulmonar.¹²

d. Cuantificación de la comunicación o shunt derecho-izquierdo

En el adulto, las causas más frecuentes de comunicación o shunt inter-pulmonar derecha/izquierda son la enfermedad de Rendu-Webber-Osler, la macroglobulinemia de Waldenström, la esclerodermia, el angioma arterio-venoso y la fibrosis pulmonar.³⁹ Además, varias enfermedades pulmonares como la hipertensión pulmonar primaria presentan con frecuencia *shunt* en su fase final.⁴⁰ El estudio de perfusión mediante gammagrafía ofrece el método mas económico y simple para la detección y cuantificación de las comunicaciones derecha/izquierda.³⁵ Sospechamos comunicación cuando existe depósito extrapulmonar de material radiactivo en el cerebro, el hígado y en los riñones. La ausencia de trazador en las imágenes cerebrales significan prácticamente la exclusión de una comunicación significativa.⁴⁰

Uso de la gammagrafía pulmonar en pediatría

El estudio de perfusión pulmonar en la población pediátrica tiene un significado especial, ya que algunas de las pruebas que se utilizan en la edad adulta para evaluar enfermedades pulmonares están normalmente contraindicadas por su elevado contenido radiactivo como sucede con el contraste iodado utilizado en la angio-TC. Así pues, debemos utilizar la gammagrafía ante la pérdida de función pulmonar en la fibrosis quística, ante la sospecha de bronquiectasias, la evaluación de la perfusión pulmonar pre y post-quirúrgica en anomalías cardíacas congénitas. También es una prueba utilizada para la cuantificación de shunts derecha/izquierda o el estudio de TEP. Las dosificaciones de los fármacos radiactivos están en las diferentes guías disponibles.⁴¹ No existen en la actualidad estudios publicados utilizando el SPECT en dicha población pediátrica, aunque cabe suponer que se irá incorporando de manera progresiva.

Conclusiones

Los estudios clínicos actuales han demostrado que la gammagrafía de perfusión pulmonar tiene un papel principal ante la sospecha de un embolismo pulmonar agudo o crónico, en la evaluación de la cuantificación pulmonar, en la de otras enfermedades pulmonares como las comunicaciones derecha-izquierda o en el paciente pediátrico. También en el estudio pre-operatorio principalmente del cáncer de pulmón y en el contexto del tratamiento con radioterapia. El modo SPECT de perfusión supone un claro avance al aumentar la capacidad de análisis por disponer de una mayor resolución espacial y mejor adquisición de la imagen. Sin embargo, su divulgación sigue siendo muy limitada a pesar de ser una técnica asequible en la gran mayoría de Centros Hospitalarios.²³

Aunque en el embolismo agudo grave (y por ello probablemente de gran tamaño y central), la angio-TC pueda ser útil para evaluar otras patologías de manera simultánea, la gammagrafía en modo planar o el SPECT sigue siendo la prueba de elección. Además, debemos de utilizar dichas técnicas (SPECT o planar) ante la sospecha de TEP en la mujer embarazada (es recomendable plantear su uso en todas las mujeres en edad fértil), en la insuficiencia renal y en pa-

cientes alérgicos al contraste yodado. Otras ventajas del SPECT o la gammagrafía planar sobre la angio-TC es que utilizan una cantidad de radiactividad mucho menor que el contraste iodado, por lo que es una técnica ideal en el paciente pediátrico o en el seguimiento a largo plazo. Finalmente, las técnicas de perfusión no han sido superadas por la angio-TAC para el estudio de defectos periféricos, es decir, en la circulación pulmonar a nivel sub-segmentario.

En conclusión y en mi opinión, los estudios de perfusión en modo bidimensional o planar son a día de hoy una técnica obsoleta que debe sustituirse de manera progresiva por la adquisición de imagen mediante SPECT para el estudio de los trastornos que incluyan la evaluación de la perfusión pulmonar.

BIBLIOGRAFÍA

1. Tapson VF. The role of smoking in coagulation and thromboembolism in chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc* 2005; 2:71-77
2. Tapson VF, Humbert M. Incidence and prevalence of chronic thromboembolic pulmonary hypertension: from acute to chronic pulmonary embolism. *Proc Am Thorac Soc* 2006; 3:564-567
3. White RH. The epidemiology of venous thromboembolism. *Circulation* 2003; 107:I4-8
4. Anderson FA, Jr., Wheeler HB, Goldberg RJ, et al. A population-based perspective of the hospital incidence and case-fatality rates of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. The Worcester DVT Study. *Arch Intern Med* 1991; 151:933-938
5. Montes Santiago J. Tromboembolismo pulmonar en pacientes médicos. Aproximación a los costes hospitalarios y tendencias evolutivas en España. *An Med Interna* 2004; 21:326-330
6. Pengo V, Lensing AW, Prins MH, et al. Incidence of chronic thromboembolic pulmonary hypertension after pulmonary embolism. *N Engl J Med* 2004; 350:2257-2264
7. Auger WR, Kim NH, Kerr KM, et al. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Clin Chest Med* 2007; 28:255-269, x
8. Thistlethwaite PA, Madani M, Jamieson SW. Pulmonary thromboendarterectomy surgery. *Cardiol Clin* 2004; 22:467-478, vii
9. Bajc M, Olsson B, Palmer J, et al. Ventilation/Perfusion SPECT for diagnostics of pulmonary embolism in clinical practice. *J Intern Med* 2008; 264:379-387
10. Kumar AM, Parker JA. Ventilation/perfusion scintigraphy. *Emerg Med Clin North Am* 2001; 19:957-973
11. Taplin GV, MacDonald NS. Radiochemistry of macroaggregated albumin and newer lung scanning agents. *Semin Nucl Med* 1971; 1:132-152
12. Zophel K, Bacher-Stier C, Pinkert J, et al. Ventilation/perfusion lung scintigraphy: what is still needed? A review considering technetium-99m-labeled macro-aggregates of albumin. *Ann Nucl Med* 2009; 23:1-16
13. Mettler. *Essentials of Nuclear Medicine Imaging*, 2006; 159-201
14. Roach PJ, Bailey DL, Harris BE. Enhancing lung scintigraphy with single-photon emission computed tomography. *Semin Nucl Med* 2008; 38:441-449
15. Meignan MA. Lung ventilation/perfusion SPECT: the right technique for hard times. *J Nucl Med* 2002; 43:648-651
16. Petersson J, Sanchez-Crespo A, Larsson SA, et al. Physiological imaging of the lung: single-photon-emission computed tomography (SPECT). *J Appl Physiol* 2007; 102:468-476
17. Osborne DR, Jaszczak RJ, Greer K, et al. Detection of pulmonary emboli in dogs: comparison of single photon emission computed tomography, gamma camera imaging, and angiography. *Radiology* 1983; 146:493-497
18. Magnussen JS, Chicco P, Palmer AW, et al. Single-photon emission tomography of a computerised model of pulmonary embolism. *Eur J Nucl Med* 1999; 26:1430-1438
19. Bajc M, Bitzen U, Olsson B, et al. Lung ventilation/perfusion SPECT in the artificially embolized pig. *J Nucl Med* 2002; 43:640-647
20. Bajc M, Olsson CG, Olsson B, et al. Diagnostic evaluation of planar and tomographic ventilation/perfusion lung images in patients with suspected pulmonary emboli. *Clin Physiol Funct Imaging* 2004; 24:249-256
21. Collart JP, Roelants V, Vanpee D, et al. Is a lung perfusion scan obtained by using single photon emission computed tomography able to improve the radionuclide diagnosis of pulmonary embolism? *Nucl Med Commun* 2002; 23:1107-1113

22. Schumichen C. V/Q-scanning/SPECT for the diagnosis of pulmonary embolism. *Respiration* 2003; 70:329-342
23. Sostman HD, Stein PD, Gottschalk A, et al. Acute pulmonary embolism: sensitivity and specificity of ventilation-perfusion scintigraphy in PIOPED II study. *Radiology* 2008; 246:941-946
24. Fishman AJ, Moser KM, Fedullo PF. Perfusion lung scans vs pulmonary angiography in evaluation of suspected primary pulmonary hypertension. *Chest* 1983; 84:679-683
25. Powe JE, Palevsky HI, McCarthy KE, et al. Pulmonary arterial hypertension: value of perfusion scintigraphy. *Radiology* 1987; 164:727-730
26. Lisbona R, Kreisman H, Novales-Diaz J, et al. Perfusion lung scanning: differentiation of primary from thromboembolic pulmonary hypertension. *AJR Am J Roentgenol* 1985; 144:27-30
27. Worsley DF, Palevsky HI, Alavi A. Ventilation-perfusion lung scanning in the evaluation of pulmonary hypertension. *J Nucl Med* 1994; 35:793-796
28. Auger WR, Fedullo PF, Moser KM, et al. Chronic major-vessel thromboembolic pulmonary artery obstruction: appearance at angiography. *Radiology* 1992; 182:393-398
29. Ryan KL, Fedullo PF, Davis GB, et al. Perfusion scan findings underestimate the severity of angiographic and hemodynamic compromise in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Chest* 1988; 93:1180-1185
30. Brandstetter RD, Naccarato E, Sperber RJ, et al. Normal lung perfusion scan with extensive thromboembolic disease. *Chest* 1987; 92:565-567
31. Soler X, Hoh CK, Test V, et al. SPECT perfusion scanning in Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2008; 177:A185
32. Soler X, Renner J, Hoh C, Morris TA. SPECT perfusion scanning and Computed Tomographic Pulmonary Angiography (CTPA) in Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 179 (1) A3331
33. Freeman LM. Don't bury the V/Q scan: it's as good as multidetector CT angiograms with a lot less radiation exposure. *J Nucl Med* 2008; 49:5-8
34. Freeman LM. Scintigraphy or Multidetector CT Angiography for Suspected Pulmonary Embolism? *J Nucl Med* 2008
35. Schumichen C. [Guidelines for lung scintigraphy]. *Nuklearmedizin* 1999; 38:233-236
36. Stanchina ML, Tantisira KG, Aquino SL, et al. Association of lung perfusion disparity and mortality in patients with cystic fibrosis awaiting lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2002; 21:217-225
37. Hardoff R, Steinmetz AP, Krausz Y, et al. The prognostic value of perfusion lung scintigraphy in patients who underwent single-lung transplantation for emphysema and pulmonary fibrosis. *J Nucl Med* 2000; 41:1771-1776
38. Goethals I, Dierckx R, De Meerleer G, et al. The role of nuclear medicine in the prediction and detection of radiation-associated normal pulmonary and cardiac damage. *J Nucl Med* 2003; 44:1531-1539
39. Schumichen C. [Nuclear medicine diagnosis of the lung]. *Radiologie* 2000; 40:878-887
40. Graves MW, Kiratli PO, Mozley D, et al. Scintigraphic diagnosis of a right to left shunt in end-stage lung disease. *Respir Med* 2003; 97:549-554
41. Piepsz A, Colarinha P, Gordon I, et al. [Recommendations for the performance of DMSA scintigraphy in children]. *Nuklearmedizin* 1999; 38:259-261

Capítulo 4

Objetivos

Los objetivos principales son:

1. Evaluar si la tomografía de perfusión (SPECT) pulmonar es más sensible que la gammagrafía en modo planar en el estudio de los defectos de perfusión en la Hipertensión Pulmonar Tromboembólica Crónica (CTEPH).
2. Evaluar si el SPECT pulmonar es más sensible que la tomografía computerizada con contraste (CTPA) para la evaluación de las áreas obstruidas en la Hipertensión Pulmonar Tromboembólica Crónica (CTEPH).
3. Evaluar y comparar la perfusión pulmonar mediante SPECT y gammagrafía en modo planar en la Hipertensión Pulmonar no Tromboembólica con el fin de definir el patrón de perfusión en dicha enfermedad.
4. Profundizar en el conocimiento de los mecanismos por los que un tromboembolismo agudo puede cronificarse y producir CTEPH.

PARTE 2

RESULTADOS

Capítulo 5

Single Photon Emission Computed Tomography in Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension

Soler X, Hoh CK, Kerr KM, Test VJ, Marsh JJ, Morris TA

Manuscrito enviado para su publicación

Single Photon Emission Computed Tomography in Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension

Xavier Soler^{1, 3}, MD, Carl K. Hoh², MD, Victor J. Test¹, MD, Kim M. Kerr¹, MD, James J. Marsh¹, PhD, Timothy A. Morris¹, MD¹

Division of Pulmonary and Critical Care Medicine, Department of Medicine, and ²Division of Nuclear Medicine, Department of Radiology, University of California, San Diego (UCSD), San Diego, California; ³Departament de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra (BCN), Spain

Sources of Funding: XS is partially funded by grants from the Spanish pulmonary societies Fundació Catalana de Pneumologia (FUCAP) and Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR).

ABSTRACT

Background: Chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH) is a complication of acute pulmonary embolism characterized by persistent obstruction of pulmonary arteries, elevated pulmonary vascular resistance, and right ventricular failure. Planar perfusion scanning is commonly used to evaluate lung segments involved in CTEPH; however, planar scans have been reported to under-represent the extent of vascular obstruction. We conducted this study to test the hypothesis that single photon emission computed tomography (SPECT) lung perfusion scanning is more accurate than planar scanning in the evaluation of CTEPH for evaluation of patients with suspected CTEPH. **Methods:** Planar and SPECT perfusion scans were performed pre-operatively in patients undergoing pulmonary thromboendarterectomy (PTE) for treatment of CTEPH. Both scans were performed during the same session. A nuclear medicine expert documented the segmental anatomy of the perfusion defects. Two clinical experts independently documented the segmental anatomy of the vascular obstructions by reviewing clinical records, pulmonary and CT angiograms, and surgical specimens. **Results:** Clinical/pathological evaluation disclosed 241 obstructed and 99 unobstructed lung segments in 17 patients. Sensitivity for detecting obstructed segments was significantly higher for SPECT than for planar scanning ($63.5 \pm 3.1\%$ vs. $42.7 \pm 3.2\%$, respectively; $p < 0.01$). Specificities of SPECT and planar scanning were not significantly different ($62.6 \pm 4.8\%$ vs. $76.8 \pm 4.2\%$, respectively; $p = 0.092$). **Conclusions:** SPECT is more sensitive than planar perfusion scanning for identifying obstructed segments in CTEPH. However, even SPECT under-represents the true extent of the vascular occlusions in CTEPH.

INTRODUCTION

Chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH) is a life threatening long-term complication of acute pulmonary embolism (PE) manifested by persistence of thromboembolic material in the pulmonary arteries, which is remodeled into intravascular scars¹. The diagnosis of CTEPH is commonly delayed. The symptoms are non-specific and many patients are initially misdiagnosed with chronic obstructive pulmonary disease, congestive heart failure, physical deconditioning, and even, on occasion, psychogenic dyspnea. The first step towards making the correct diagnosis is the assessment of regional lung perfusion defects, which is commonly performed with scintigraphic planar lung scans.

Planar perfusion lung scintigraphy, combined with ventilation scanning, has a long history of utility for the diagnosis of acute pulmonary embolism^{2,3} and remains an accurate method for diagnosing it currently.⁴ Similarly, perfusion scintigraphy is useful for the initial evaluation of CTEPH and for the evaluation of perfusion recovery after pulmonary thromboendarterectomy.¹ The SPECT perfusion scan, the scintigraphic equivalent of a CT scan, represents the state of the art in perfusion scintigraphy. SPECT has emerged as a more precise method than planar scintigraphy for characterizing perfusion defects in acute pulmonary embolism.⁵⁻⁹ For this reason, we postulated that SPECT scanning may be more accurate than planar scanning for the evaluation of regional perfusion defects in CTEPH.

The aim of our study was to compare SPECT perfusion scanning with planar perfusion scanning for the detection of perfusion defects in patients with CTEPH. We performed SPECT and planar scanning on a series of CTEPH patients and compared their accuracies for identifying regional

perfusion defects, using an objective evaluation made after pulmonary thromboendarterectomy as the standard of comparison.

METHODS

Subjects. Subjects were recruited for the study from the patient population referred to the University of California San Diego for the evaluation of CTEPH and consideration of PTE. The inclusion criteria for recruitment were: 1) the clinical suspicion for CTEPH; 2) age of 18 or greater; 3) cardiopulmonary symptoms lasting more than one month; 4) objective findings of elevated right ventricular or pulmonary artery pressures (resting mean pulmonary artery pressure - mPAP- greater than 25 mm Hg in the setting of normal or reduced cardiac output and a normal capillary wedge pressure);¹⁰ and 5) pulmonary angiography confirming the characteristic obstruction of the pulmonary arteries at the segmental or more proximal levels. The scans described below were performed on all enrolled subjects. However, only subjects in whom the extent of CTEPH was confirmed through PTE were included in the analysis.¹¹ The Institutional Review Board (IRB) for human studies approved the protocol and written consent was obtained from the subjects prior to beginning any research-related procedures.

Scintigraphic methods. The perfusion scans were performed after intravenous injection of 148 MBq of ^{99m}Tc-MAA with the patient in the supine position. The initial perfusion images were a set of six static planar images (anterior, posterior, left and right anterior oblique and left and right posterior oblique views). All scans were acquired on an ADAC Forte dual headed gamma camera with high resolution collimators. The time duration required for obtaining a 500K count posterior view was used for all other views which typically were between 1-2 minutes per view. Immediately after the planar imaging, SPECT acquisition was performed with a step and shoot mode of 45 angular stops each of 8 degrees and 20 seconds per stop. Images were reconstructed

with the standard iterative reconstruction algorithm provided by the ADAC/Philips Pegasys workstation running version 7.50 software. The tomographic images of the lungs in DICOM3.0 format were then transferred to a computer workstation running custom software developed in IDL6.3 for generating maximum intensity projection images from the restacked tomographic image sets. The images from the SPECT perfusion scans and the planar perfusion scan were independently assessed by an experienced referee (CKH) who was unaware of the patient's identity, the results of the other scintigraphic examination and any other clinical data. The (unpaired) image sets were evaluated in random order. A segmental lung reference chart was used to record the localization of each defect from the scintigraphy data.

Clinical/pathological evaluation. Two experienced clinicians (VJT and KMK) independently performed the clinical/pathological evaluation by reviewing the clinical records, pulmonary angiograms, CT angiogram, angioscopy and fully resected surgical specimens. They were unaware of the results of the other examinations. The inclusion of the surgical specimen as a "mold" of the occluded pulmonary vasculature is an important component of our gold standard evaluating the sensitivity and specificity of planar and SPECT scans. A consensus between the 2 referees was reached by discussing each case if the disagreement was more than three segments over the 20 total possible (85% agreement). All cases were evaluated in random order. A segmental lung reference chart was used to record the localization of each defect from the clinical impression data.

Statistical analysis. The specificities and sensitivities of the planar and SPECT scans were compared to each other, with the clinical/pathological interpretations as the gold standard. A "true positive" lung segment was defined as a segment in which a scan documented decreased perfusion less than 25% of normal and the clinical interpretation documented local obstruction or

upstream obstruction (e.g. lobar obstruction would be counted as obstruction of all individual segments). A “true negative” segment was defined as one in which there was normal perfusion and no local or upstream obstruction. Data are presented as proportion or mean \pm standard deviation unless otherwise noted. We compared the concordances of the SPECT vs. planar methods using McNemar’s test. Statistical analysis was done using SPSS for Windows (release 17.0, Chicago, IL).

RESULTS

A total of 22 patients (11 men, 11 women; age 47.5 ± 17.2 y) were prospectively enrolled from the Pulmonary Vascular Center Clinic at our institution. All patients received planar and SPECT perfusion scans pre-operatively after intravenous administration of radionuclide. Planar and SPECT perfusion scans were performed during the same session. All patients tolerated without symptoms the time required to perform both procedures in the supine position. Seventeen patients (77.3%) went on to receive PTE, and were therefore included in the final analysis. Five patients did not undergo surgery and were excluded; one was diagnosed with small vessel pulmonary arterial hypertension, one was not a surgical candidate because of high co-morbidity, two patients were deemed by other clinical tests to have surgically inaccessible distal disease, and one patient had undergone PTE ten years earlier and was excluded in order to avoid the confounding influence of the previous procedure. The demographic characteristics of the final study population are described in Table 1.

Table 1. Patient characteristics. M, male; F, female; AA, afro-american; NHW, non-hispanic white; NA, not available.

Case	Age (y)	Gender	Ethnicity	Diagnostic (months)	Weight (kg)	Height (cm)	Mean PAP (cm H ₂ O)	PVR dyn•sec/cm ⁵
1	38	F	AA	20	110	162	53	717
2	37	M	AA	60	88	180	45	619
3	74	M	NHW	96	79	183	43	786
4	73	M	NHW	5	87	183	38	517
6	62	M	NHW	36	95	185	29	316
7	43	F	NHW	24	100	162	57	851
8	30	F	NHW	84	84.4	160	31	333
10	46	F	NHW	36	77	170	NA	NA
13	39	M	NHW	130	96	195	33	466
14	54	M	NHW	36	79	170	39	570
15	74	M	NHW	7	48	167	52	2511
16	26	F	AA	120	127	178	54	657
17	37	F	AA	60	107	170	49	847
18	65	M	NHW	69	106	168	45	194
19	29	F	NHW	7	99	165	50	608
20	24	M	NHW	24	125	193	52	800
22	56	F	NHW	36	103	152	30	218

There were 8 females and 9 males. They ranged in age from 24 to 74 years (mean age of 47.5). The duration of their symptoms of pulmonary hypertension ranged from 5 to 130 months prior to the initial right heart catheterization (average time of 50 ± 38.6 months). Before surgery the mean pulmonary arterial pressure (PAP) was 43.7 ± 9.3 mmHg (range: 29-57) and the mean pulmonary vascular resistances (PVR) was 688 ± 465 dyn•sec/cm⁵ (range: 194-2213). After surgery mean PAP was 26.4 ± 10.6 mmHg (range: 16-58) and PVR 246.7 ± 135.9 dyn•sec/cm⁵ (range: 91-587).

Hemodynamic parameters improved in all surviving patients after PTE. One patient (# 15) died less than 24 hours after surgery.

Two clinical experts documented the segmental anatomy of the vascular obstructions independently by reviewing the clinical records, pulmonary angiograms, CT angiograms, angioscopy (if performed) and pictures of the resected surgical specimens (Figure 1).

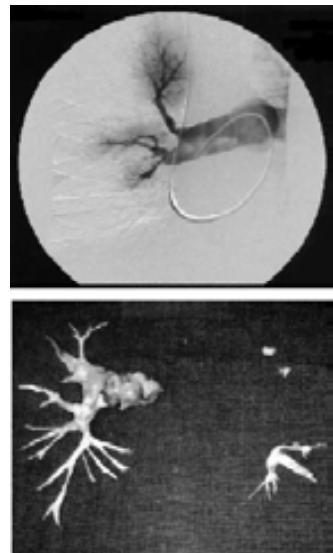


Figure 1. Pulmonary angiogram (*top*) and specimen resected during PTE surgery (*bottom*) from one of the patients. We used both as a part of our clinical/pathological approach as the more accurate method to evaluate the real occlusion of the pulmonary vascular tree.

Clinical/pathological evaluation disclosed 241 obstructed lung segments and 99 unobstructed segments (14.2 ± 4.3 segments per patient). An illustrative case of patient with CTEPH is shown in Figure 2.

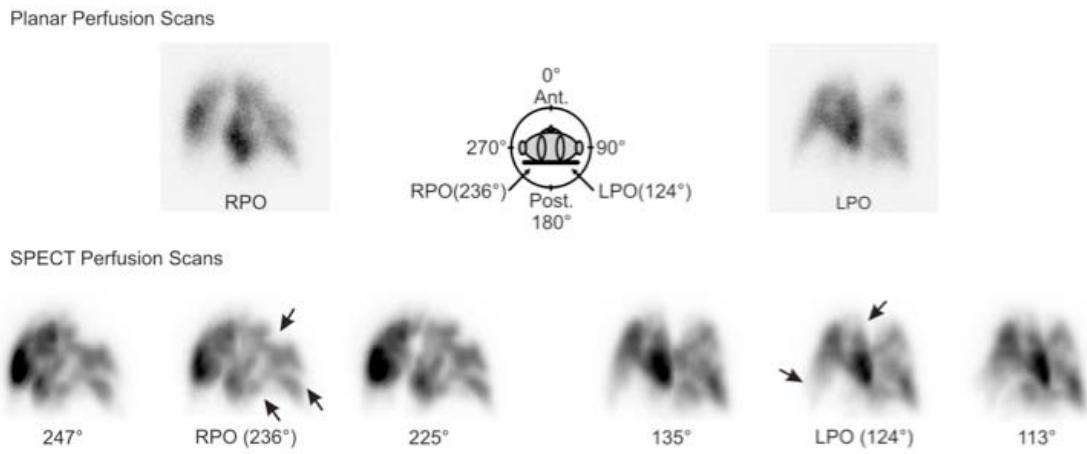


Figure 2. Planar perfusion scan: Images from one of the patients show perfusion defects in the apical-posterior segment of the left upper lobe (LUL) and in the superior, posterior, lateral basal and anterior medial basal segments of the left lower lobe. In the right lung, defects are seen in the apical segment of the right upper lobe (RUL), and anterior basal, superior, and posterior basal segments of the right lower lobe (RLL). SPECT perfusion scan: Additional defects were identified by SPECT (arrows) include apical-posterior segment LUL and lingular superior and inferior, anterior segment RUL, and lateral basal, anterior basal and posterior basal segments of the RLL. Although planar views of the SPECT images are shown, the SPECT interpretation was performed on three dimensional views.

SPECT scanning correctly identified 153/241 (63.5%) of the obstructed segments and 62/99 (62.6%) of the unobstructed segments (Table 2).

Table 2. Number of vascular segments occluded in each patient according to planar and SPECT imaging.

Case	Segments Occluded		
	Planar	SPECT	Clinical-pathological
1	4	11	13
2	11	12	15
3	8	11	11
4	6	5	13
6	8	14	18
7	7	13	0
8	6	8	13
10	9	16	17
13	5	12	18
14	9	13	13
15	14	15	15
16	11	14	13
17	5	11	18
18	10	16	13
19	10	13	17
20	7	8	16
22	3	3	18

By comparison, planar scans correctly identified only 103/241 (42.7%) of the obstructed segments and 76/99 (76.8%) of the unobstructed ones. As illustrated in Figure 3

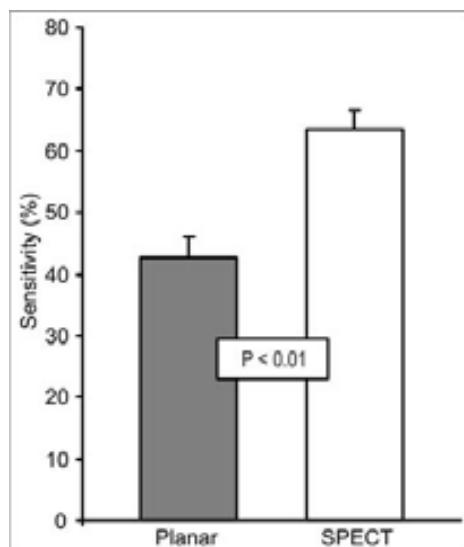


Figure 3. Overall sensitivity for SPECT and planar perfusion scans showing an increase of 21% in sensitivity for SPECT scan.

Sensitivity for detecting obstructed segments was significantly higher for SPECT scanning than for planar scanning ($63.5\% \pm 3.1$ vs. 42.7 ± 3.2 respectively; $p < 0.01$). SPECT increased the number of detectable defects by a factor of 1.5. There was no significant difference between the specificities of SPECT scanning and planar scanning ($62.6\% \pm 4.8$ vs. $76.8\% \pm 4.2$ respectively; $p = 0.092$).

The sensitivities of the planar and SPECT perfusion scans for each pulmonary segment location are shown in Figure 4.

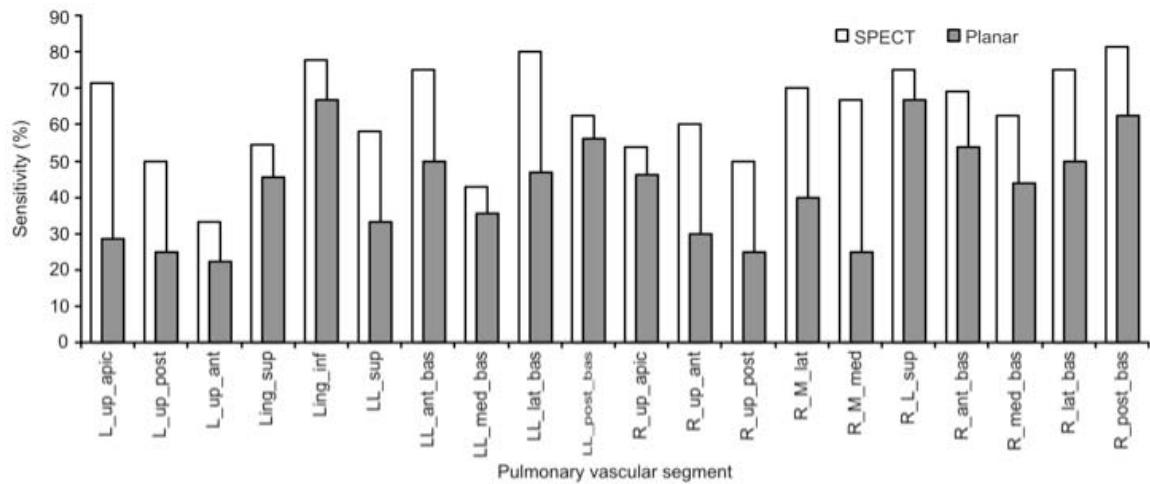


Figure 4. Representation of the sensitivity for each segment for the planar and SPECT perfusion scans. The segments follow an anatomical order from the left upper apical segment to the right posterior basal one.

Both the SPECT and the planar perfusion scans had difficulty in assessing occlusion in the upper lobe segments, especially in the left lung. The segments with lowest sensitivity for the planar scan were the apical-posterior and anterior segment of the left upper lobe, anterior and posterior segments of the right upper lobe and medial segment of the right middle lobe. SPECT perfusion scan increased the sensitivity by 100%, 60% and 166% for the anterior segment, apical-posterior and medial segment of the middle lobe in the Right lung respectively, and 47% for the apical-posterior segment in the Left lung. The segment with lowest sensitivity was the upper anterior in the left lung for both planar and SPECT perfusion scans.

DISCUSSION

This is the first reported study of the use of SPECT imaging in CTEPH. In our study, SPECT was significantly more sensitive than planar scanning for detecting regional lung perfusion defects in patients with CTEPH. The increased sensitivity was observed throughout all regions of the lungs, and was somewhat more prominent in the right lung. SPECT scanning was well tolerated in all patients. SPECT was performed with the same radiolabeling agent and scintigraphic equipment as the planar scans, and required not more than ten extra minutes than planar scanning to acquire images.

A quantitative evaluation of region perfusion defects is important to the management of patients being evaluated for CTEPH.¹ Segmental or larger perfusion defects are nearly always present in patients with CTEPH, and are useful in distinguishing it from other causes of pulmonary hypertension.¹² In clinical practice, the extent of the perfusion defects in CTEPH is typically much higher than what is estimated by planar perfusion scintigraphy.¹³ There was a statistically insignificant trend towards lower specificity in the SPECT than the planar scintigraphy. However, the clinical role of perfusion scintigraphy as a screening test for CTEPH places a greater importance on sensitivity.

SPECT may be especially useful for CTEPH, in which planar scintigraphic representation of perfusion deficits appears to be more accurate for the diagnosis than contrast-enhanced CT scanning.¹⁴ In SPECT, the computerized construction of two- and three-dimensional tomographic images from scintigraphic data, similar to how CT converts radiographic data, allows a precise

comparison of the relative perfusion in various lung segments. SPECT scanning has been well validated for this purpose in acute PE patients.^{5-7,9,15,16}

However, because of the inherent difficulties in establishing a “gold standard” for PE imaging, it is difficult to make an unbiased comparison of the accuracies of SPECT to planar scintigraphy, CT scanning or other techniques. Unlike acute PE, CTEPH is commonly treated surgically, allowing anatomical localization of the vascular obstruction in a way that is not possible in acute PE. For this reason, our findings may be considered an even stronger validation of the precision of SPECT than previous PE studies, which used standards of comparison that were not as certain as the analysis of surgical pathology specimens. In our study, SPECT was more sensitive than planar imaging. However, many regions of the lung downstream from pulmonary arterial obstruction did not manifest detectable perfusion defects, even on SPECT. This phenomenon was especially prominent on the upper lobes, which are normally less perfused than the rest of the lung. The explanation for this observation is more likely related to the physiology of CTEPH than a technical limitation of SPECT. In CTEPH, blood flow is typically reduced in the regions that are downstream from the pulmonary arterial obstructions, although it may not be eliminated entirely. This phenomenon can sometimes result in “grey zones”, corresponding to regions with relatively decreased perfusion. In order to maintain cardiac output, pulmonary artery blood flow is redistributed from severely obstructed lung regions to other lung regions, even to those that themselves have partially occluded pulmonary arteries. The upper lobes, which are normally not highly perfused, may be the recipients of redistributed blood flow from other obstructed regions.^{17, 18} The redistribution of flow may be sufficient to counterbalance the effect of partial

obstruction in the upper lobe arteries, resulting in preserved, or even enhanced parenchymal perfusion (especially when the patient is scanned in the supine position).

The performance of planar perfusion scintigraphy and SPECT perfusion scanning during the same sessions enhanced our ability to compare the two studies in an unbiased fashion. However, this strategy did entail some limitations. Ventilation scans for CTEPH patients in our practice are performed after inhalation of ^{133}Xe gas rather than aerosolized $^{99\text{m}}\text{Tc}$ particles because retention of the later due to airway impaction can interfere with the evaluation of the “grey zones” described in the previous paragraph. Unfortunately, the rapidity with which ^{133}Xe gas moves into and out of the lungs precluded our ability to image it accurately with SPECT. For this reason, our analysis was limited to the detection of perfusion defects, without consideration of corresponding ventilation defects. It may be that the accuracy of SPECT would be improved in CTEPH patients by performance of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ventilation scans, and that the superior spatial resolution of SPECT would eliminate the concerns regarding airway impaction of aerosolized $^{99\text{m}}\text{Tc}$ particles. However, this speculation would need to be tested in subsequent clinical trials. Also, we acknowledge the small number of patients included in this study could be a limitation. In addition, we used a retrospective determination of thromboembolic material location by looking at preoperative biplane pulmonary angiography, two dimensional pictures of surgical specimens and operative report and CTPA/angiography were available as our “gold standard”. Real time localization of thrombus with a feasible approach could be a superior gold standard in the future.

In summary, this is the first study to demonstrate the feasibility and utility of SPECT scanning as a method of evaluating perfusion defects in the CTEPH population. SPECT perfusion scanning is

more sensitive than planar perfusion scanning for identifying obstructed segments in CTEPH, and just as specific. However, the clinical role of SPECT

scanning in evaluating CTEPH has yet to be determined. Future avenues of research with SPECT scanning in this patient population may include the value of SPECT imaging in patients with distal/inoperable CTEPH or the preoperative prediction of residual pulmonary hypertension following pulmonary thromboendarterectomy. Extending SPECT imaging to the study of other pulmonary vascular diseases may also be of value.

Acknowledgements

The authors wish to thank Peter Chiles for assistance with illustration and form editing, Loki Natarajan for her statistical support, Mr. Scott Cartwright as a PTE program manager for his schedule assistance, T. Mitchell for her work performing perfusion scans and Dr. Debby Ngo for her contribution to the IRB proposal. Also we want to thank our patients who kindly participated in this study.

Part of this data was presented in abstract form at the International Conference of the American Thoracic Society 2008.¹⁹

REFERENCES

- 1 Auger WR, Kim NH, Kerr KM, et al. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension. Clin Chest Med 2007; 28:255-269, x
- 2 Wagner HN, Jr., Sabiston DC, Jr., McAfee JG, et al. Diagnosis of Massive Pulmonary Embolism in Man by Radioisotope Scanning. N Engl J Med 1964; 271:377-384
- 3 Juni JE, Alavi A. Lung scanning in the diagnosis of pulmonary embolism: the emperor redressed. Semin Nucl Med 1991; 21:281-296
- 4 Anderson DR, Kahn SR, Rodger MA, et al. Computed tomographic pulmonary angiography vs ventilation-perfusion lung scanning in patients with suspected pulmonary embolism: a randomized controlled trial. JAMA 2007; 298:2743-2753
- 5 Reinartz P, Wildberger JE, Schaefer W, et al. Tomographic imaging in the diagnosis of pulmonary embolism: a comparison between V/Q lung scintigraphy in SPECT technique and multislice spiral CT. J Nucl Med 2004; 45:1501-1508
- 6 Roach PJ, Thomas P, Bajc M, et al. Merits of V/Q SPECT scintigraphy compared with CTPA in imaging of pulmonary embolism. J Nucl Med 2008; 49:167-168; author reply 168
- 7 Collart JP, Roelants V, Vanpee D, et al. Is a lung perfusion scan obtained by using single photon emission computed tomography able to improve the radionuclide diagnosis of pulmonary embolism? Nucl Med Commun 2002; 23:1107-1113
- 8 Harris B, Bailey D, Miles S, et al. Objective analysis of tomographic ventilation-perfusion scintigraphy in pulmonary embolism. Am J Respir Crit Care Med 2007; 175:1173-1180
- 9 Bajc M, Olsson B, Palmer J, et al. Ventilation/Perfusion SPECT for diagnostics of pulmonary embolism in clinical practice. J Intern Med 2008; 264:379-387
- 10 Barst RJ, McGoon M, Torbicki A, et al. Diagnosis and differential assessment of pulmonary arterial hypertension. J Am Coll Cardiol 2004; 3:40S-47S
- 11 Moser KM, Auger WR, Fedullo PF, et al. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension: clinical picture and surgical treatment. Eur Respir J 1992; 5:334-342
- 12 Fishman AJ, Moser KM, Fedullo PF. Perfusion lung scans vs pulmonary angiography in evaluation of suspected primary pulmonary hypertension. Chest JID - 0231335 1983; 84:679-683

- 13 Ryan KL, Fedullo PF, Davis GB, et al. Perfusion scan findings understate the severity of angiographic and hemodynamic compromise in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Chest* 1988; 93:1180-1185
- 14 Tunariu N, Gibbs SJ, Win Z, et al. Ventilation-perfusion scintigraphy is more sensitive than multidetector CTPA in detecting chronic thromboembolic pulmonary disease as a treatable cause of pulmonary hypertension. *J Nucl Med* 2007; 48:680-684
- 15 Reinartz P, Kaiser HJ, Wildberger JE, et al. SPECT imaging in the diagnosis of pulmonary embolism: automated detection of match and mismatch defects by means of image-processing techniques. *J Nucl Med* 2006; 47:968-973
- 16 Strashun AM. A reduced role of V/Q scintigraphy in the diagnosis of acute pulmonary embolism. *J Nucl Med* 2007; 48:1405-1407
- 17 Moser KM, Metersky ML, Auger WR, et al. Resolution of vascular steal after pulmonary thromboendarterectomy. *Chest* 1993; 104:1441-1444
- 18 Olman MA, Auger WR, Fedullo PF, et al. Pulmonary vascular steal in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Chest* 1990; 98:1430-1434
- 19 Soler X, Hoh CK, Test V, et al. SPECT perfusion scanning in Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2008; 177:A185

Capítulo 6

*Tomographic perfusion scan (SPECT) and
Computed Tomographic Pulmonary Angiography (CTPA)
in Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension*

Soler X, Renner J, Hoh CK, Marsh JJ, Morris TA
Manuscrito en preparación

INTRODUCTION

Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension (CTEPH) is a life threatening long-term complication of acute pulmonary embolism (PE) manifested by persistence of thromboembolic material in the pulmonary arteries, which is remodeled into intravascular scars.¹ The diagnosis of CTEPH is commonly delayed. The symptoms are non-specific and many patients are initially misdiagnosed with chronic obstructive pulmonary disease, congestive heart failure, physical deconditioning, and even, on occasion, psychogenic dyspnea. The first step towards making the correct diagnosis is the assessment of regional lung perfusion defects, which is commonly performed with scintigraphic planar lung scans. Planar perfusion lung scintigraphy has a long history of utility for the diagnosis of acute pulmonary embolism.² Similarly, perfusion scintigraphy is useful for the initial evaluation of CTEPH and for the evaluation of perfusion recovery after pulmonary thromboendarterectomy (PTE).¹ The single photon emission computed tomography (SPECT) perfusion scan represents the state of the art in perfusion scintigraphy and has emerged as being more precise than planar scintigraphy for characterizing perfusion defects in acute pulmonary embolism.³⁻⁵ recognizing that contrast enhanced CT pulmonary angiography (CTPA) is commonly used for the evaluation of acute pulmonary embolism and even for CTEPH evaluation. We performed a pilot trial to compare CTPA to SPECT for the localization of regional vascular obstruction in CTEPH patients. We postulated that SPECT may be more accurate than CTPA for the evaluation of regional perfusion defects in CTEPH.

METHODS

We performed this pilot study with subjects recruited from the patient population referred to the University of California San Diego for the evaluation of CTEPH and consideration of PTE having objective findings of elevated right ventricular or pulmonary artery pressures defined as resting mean pulmonary artery pressure -mPAP- greater than 25 mm Hg in the setting of normal or reduced cardiac output and a normal capillary wedge pressure. The scans described below were performed on all enrolled subjects. However, only subjects in whom the extent of CTEPH was confirmed through PTE and having a good quality CTPA were included in the analysis. The local ethics committee approved the protocol and written consent was obtained from the study participants. We analyzed patients who had undergone both SPECT and CTPA at the time of evaluation. SPECT was performed with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAA acquired on high-resolution dual head gamma-camera collimators. SPECT images were independently assessed by an experienced referee (CKH), unaware of the patient's identity or other clinical data. Nine of seventeen patients had CTPA right before surgery. CTPA images were acquired on scanners ranging from 4-slice to 64-slice which resulted in somewhat variable, but interpretable image quality. Some CTPA scans were from referring medical centers. An expert thoracic radiologist (JR) interpreted the CTPA and identified arterial branches that displayed a lack of contrast filling (vessel cut-off), if it stated visualization of the thrombus, calcified thrombus, recanalization, sudden change in vessel caliber, strictures, post-stenotic dilatation, webs, or perfusion abnormality. Two experienced clinicians (VJT and KMK) independently performed a clinical/pathological evaluation by reviewing clinical records, pulmonary angiograms, and fully resected surgical specimens. The inclusion of the surgical specimen as a "mold" of the occluded pulmonary vasculature is an important component of our gold standard evaluating the sensitivity and specificity of the test. All cases

were evaluated in random order. A segmental lung reference chart was used to record the localization of each defect from SPECT, CTPA and clinical/pathological impression data. The specificities and sensitivities of the SPECT scans and CTPA were compared for each segment to each other, using the clinical/pathological interpretations as the gold standard. Data are presented as proportion or mean \pm standard deviation unless otherwise noted. We compared the concordances of the SPECT versus CTPA methods using McNemar's test. Statistical analysis was done using SPSS for Windows (release 17.0, Chicago, IL).

RESULTS

We enrolled seventeen patients for this pilot study from the Pulmonary Vascular Center Clinic at our institution. Nine of them had CTPA performed and interpretable and were included in the study. There were 5 men and 4 women; mean age 52.8 ± 14.3 years. All of them had SPECT perfusion scan, CTPA and PTE surgery. All collected data were interpretable. Images of the surgical specimen, CTPA, and SPECT from a representative patient are shown in Figure 1.

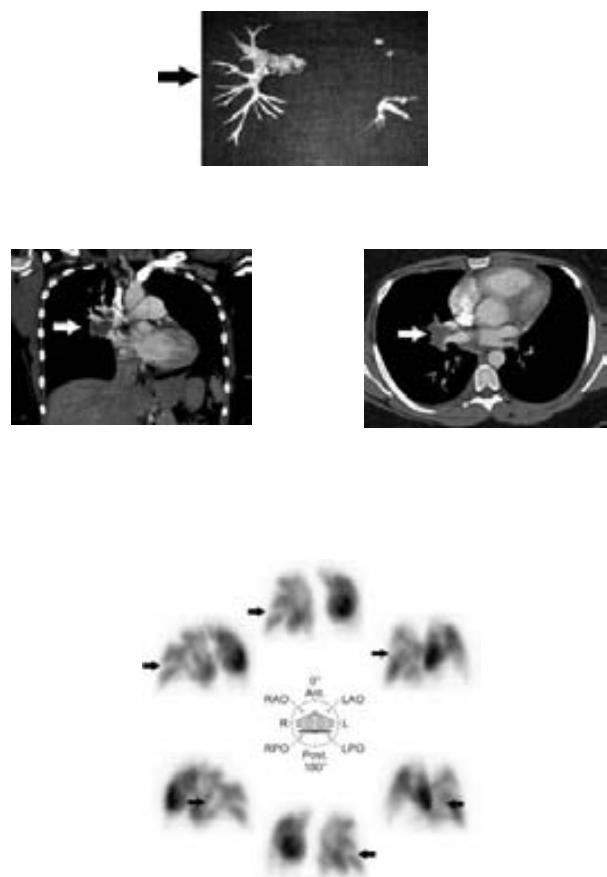


Figure 1. Surgical specimen, CTPA and SPECT from a representative CTEPH patient. Upper panel: the surgical specimen was resected primarily from the right pulmonary artery (black arrow). Middle panel: CTPA disclosed the right pulmonary artery perfusion defect (white arrows) in the axial (left) and coronal (right) views. Lower panel: SPECT perfusion scan demonstrated the same perfusion defect (black arrows) in multiple views.

Clinical/pathological evaluation disclosed 140 obstructed lung segments and 40 unobstructed segments (15.5 ± 2.5 segments per patient). SPECT scanning correctly identified 87/140 (62%) of the obstructed segments and 29/40 (72%) of the unobstructed segments. By comparison, CTPA correctly identified only 67/140 (47.8%) of the obstructed segments and 32/40 (80%) of the unobstructed ones.

Sensitivity for detecting obstructed segments was significantly higher for SPECT scanning than for planar scanning ($62\% \pm 4.1$ vs. 47.8 ± 2.9 respectively; $p < 0.03$). SPECT increased the number of detectable defects by a factor of 1.5. There was no significant difference between the specificities of SPECT scanning and planar scanning ($72\% \pm 6.3$ vs. $80\% \pm 7$ respectively; $p = \text{NS}$). Sensitivities and specificities are represented in figure 2.

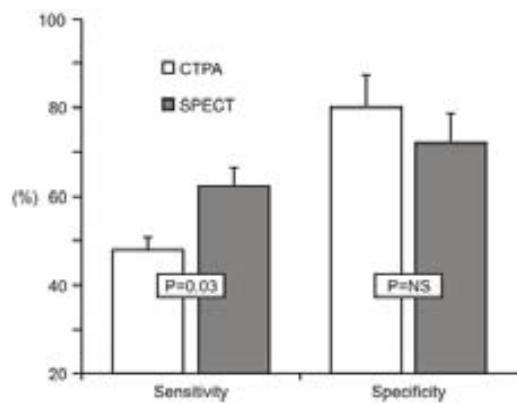


Figure 2. Comparison of the overall specificity and sensitivity achieved with SPECT and CTPA for identifying obstructed lung segments in CTEPH patients. SPECT was more sensitive and just specific as CTPA.

The sensitivities of the planar and SPECT perfusion scans for each pulmonary segment location are shown in Figure 3.

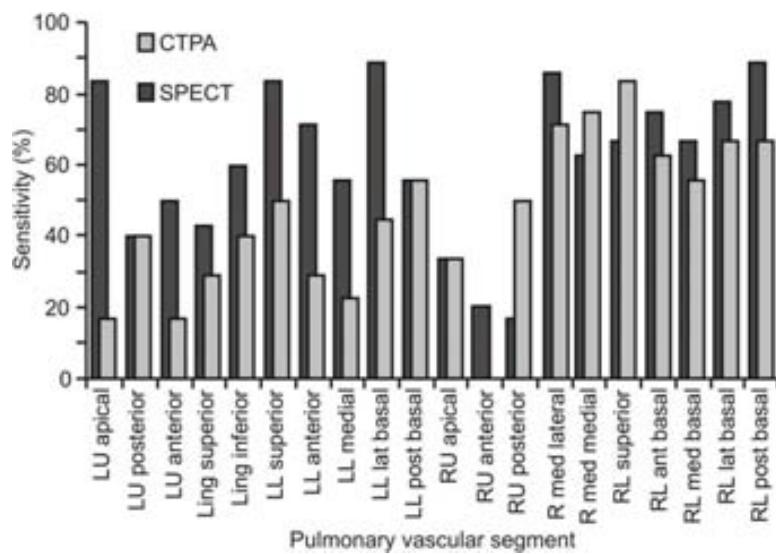


Figure 3. Representation of the sensitivity for each segment as determined by CTPA and SPECT perfusion scanning. The segments follow an anatomical order from the left upper apical segment to the right posterior basal one.

DISCUSSION

CTPEH is commonly treated surgically, allowing anatomical localization of the vascular obstruction in a way that is not possible in other forms of pulmonary arterial hypertension or acute PE. That fact allowed us to evaluate the accuracy of SPECT and CTPA as methods for identifying vascular obstruction using the clinic/pathological evaluation as the gold standard.^{6, 7}

In clinical practice, the extent of the perfusion defects in CTEPH detected by the clinic/pathological evaluation is higher than the extension estimated by conventional perfusion scintigraphy or by SPECT⁸, and image findings need to be confirmed by pulmonary angiography to map the pulmonary vascular tree and the surgical approach feasibility⁹. So another method to improve the accuracy of the measurements seems crucial. This is the first pilot study of the comparison of SPECT imaging and CTPA in CTEPH. Our results show that SPECT perfusion scanning is more sensitive than CTPA for identifying obstructed segments in CTEPH population with a 13.5% increase in sensitivity ($p < 0.05$) and non-significant decrease in specificity. This increment in the sensitivity was more pronounced in the left lung. The evidence-based for using a multidetector computerized tomography (MDCT) or high resolution CTPA as the principal imaging tool for diagnosis of vascular occlusions is not as robust as was generally thought.¹⁰ The CTPA did not demonstrate superiority compared to perfusion planar scan in the detection of perfusion defects in acute PE as published in PIOPED II study.¹¹ However, physiological differences need to be considered when comparing acute and chronic evaluation. The fact that CTEPH is a chronic condition allows the vessels to have partial reperfusion, blood flow redistribution and new vessel growth surrounding the occluded area, phenomena generally not present in acute PE. Also, the vascular remodeling present in CTEPH can play a role in flow distribution. This might explain partially the lower sensitivity and specificity values in chronic

versus acute emboli when we study its imaging by conventional planar scintigraphy. Our results show that CTPA is not superior in the detection of perfusion defects in CTEPH either. We acknowledge a limitation of our pilot study is the small number of patients. Also, we acknowledge the limitation of having non-uniform performance of CTPA examinations. The newest CTPA devices are more accurate in mapping the pulmonary arterial tree. In a recent study, Reichelt demonstrated elegantly that 64-slice CT of the pulmonary arteries can yield diagnostically excellent image quality and can delineate the typical angiographic findings in CTEPH such as complete obstruction, bands and webs and intimal irregularities as accurately and reliably as pulmonary angiography. However, in contrast to SPECT, the technique is limited to the main or segmental pulmonary arteries.¹²

In summary, this pilot study is the first comparing SPECT and CTPA as a method of evaluating perfusion defects in the CTEPH. SPECT perfusion scanning is more sensitive than and as specific as CTPA for identifying obstructed segments in CTEPH. An important consideration is SPECT perfusion scanning does not require potentially nephrotoxic contrast agents as does CTPA, the radiation dosage is lower, and it is easy to perform requiring the same procedure time as the planar perfusion scan for CTEPH evaluation.^{7,11-19} Future investigation will be necessary to confirm our results.

Acknowledgements

The authors wish to thank Jim Marsh for critical review of the manuscript and Peter Chiles for assistance with the illustrations.

Part of this data was presented in abstract form at the International Conference of the American Thoracic Society 2009.²⁰

Bibliography

1. Auger WR, Kim NH, Kerr KM, Test VJ, Fedullo PF. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Clinics in chest medicine*. Mar 2007;28(1):255-269.
2. Value of the ventilation/perfusion scan in acute pulmonary embolism. Results of the prospective investigation of pulmonary embolism diagnosis (PIOPED). The PIOPED Investigators. *Jama*. May 23-30 1990;263(20):2753-2759.
3. Collart JP, Roelants V, Vanpee D, et al. Is a lung perfusion scan obtained by using single photon emission computed tomography able to improve the radionuclide diagnosis of pulmonary embolism? *Nuclear medicine communications*. Nov 2002;23(11):1107-1113.
4. Reinartz P, Wildberger JE, Schaefer W, Nowak B, Mahnken AH, Buell U. Tomographic imaging in the diagnosis of pulmonary embolism: a comparison between V/Q lung scintigraphy in SPECT technique and multislice spiral CT. *J Nucl Med*. Sep 2004;45(9):1501-1508.
5. Roach PJ, Thomas P, Bajc M, Jonson B. Merits of V/Q SPECT scintigraphy compared with CTPA in imaging of pulmonary embolism. *J Nucl Med*. Jan 2008;49(1):167-168; author reply 168.
6. Worsley DF, Palevsky HI, Alavi A. Ventilation-perfusion lung scanning in the evaluation of pulmonary hypertension. *J Nucl Med*. May 1994;35(5):793-796.
7. Tunariu N, Gibbs SJ, Win Z, et al. Ventilation-perfusion scintigraphy is more sensitive than multidetector CTPA in detecting chronic thromboembolic pulmonary disease as a treatable cause of pulmonary hypertension. *J Nucl Med*. May 2007;48(5):680-684.
8. Soler X, Hoh CK, Test V, Kerr KM, Marsh JJ, Morris TA. SPECT perfusion scanning in Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2008;177:A185.
9. Fishman AJ, Moser KM, Fedullo PF. Perfusion lung scans vs pulmonary angiography in evaluation of suspected primary pulmonary hypertension. *Chest*. Dec 1983;84(6):679-683.
10. Freeman LM, Haramati LB. V/Q scintigraphy: alive, well and equal to the challenge of CT angiography. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. Mar 2009;36(3):499-504.
11. Stein PD, Fowler SE, Goodman LR, et al. Multidetector computed tomography for acute pulmonary embolism. *The New England journal of medicine*. Jun 1 2006;354(22):2317-2327.

- 12.** Reichelt A, Hoeper MM, Galanski M, Keberle M. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension: evaluation with 64-detector row CT versus digital subtraction angiography. *European journal of radiology*. Jul 2009;71(1):49-54.
- 13.** Bajc M, Jonson B. Ventilation/perfusion SPECT--an essential but underrated method for diagnosis of pulmonary embolism and other diseases. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. May 2009;36(5):875-878.
- 14.** Bajc M, Neilly JB, Miniati M, Schuemichen C, Meignan M, Jonson B. EANM guidelines for ventilation/perfusion scintigraphy : Part 1. Pulmonary imaging with ventilation/perfusion single photon emission tomography. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. Aug 2009;36(8):1356-1370.
- 15.** Bajc M, Neilly JB, Miniati M, Schuemichen C, Meignan M, Jonson B. EANM guidelines for ventilation/perfusion scintigraphy : Part 2. Algorithms and clinical considerations for diagnosis of pulmonary emboli with V/P(SPECT) and MDCT. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. Sep 2009;36(9):1528-1538.
- 16.** Freeman LM. Don't bury the V/Q scan: it's as good as multidetector CT angiograms with a lot less radiation exposure. *J Nucl Med*. Jan 2008;49(1):5-8.
- 17.** Petersson J, Sanchez-Crespo A, Larsson SA, Mure M. Physiological imaging of the lung: single-photon-emission computed tomography (SPECT). *J Appl Physiol*. Jan 2007;102(1):468-476.
- 18.** Stein PD, Woodard PK, Weg JG, et al. Diagnostic pathways in acute pulmonary embolism: recommendations of the PIOPED II investigators. *The American journal of medicine*. Dec 2006;119(12):1048-1055.
- 19.** Schuemichen C. Pulmonary embolism: is multislice CT the method of choice? Against. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. Jan 2005;32(1):107-112.
- 20.** Soler X, Renner JW, Hoh CK, Test VJ, Morris TA. SPECT Perfusion Scanning and Computed Tomographic Pulmonary Angiography (CTPA) in Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension (CTEPH). *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. April 2009;179:A3331.

Capítulo 7

**El número de segmentos vasculares pulmonares ocluidos
evaluados con SPECT de perfusión en la Hipertensión
Pulmonar Tromboembólica Crónica no predice los
resultados hemodinámicos post-tromboendarterectomía**

Soler X, Kim NK, Test VT, Morris TA
Comunicación breve en preparación

INTRODUCCION

La hipertensión pulmonar tromboembólica crónica (CTEPH) es una complicación muy grave de la enfermedad tromboembólica pulmonar y es secundaria a la permanencia del trombo en el sistema vascular pulmonar.¹ Se ha estimado una incidencia de hasta 2500 casos nuevos anuales solo en Estados Unidos.² Al igual que otras formas de hipertensión arterial pulmonar, esta enfermedad progresiva hacia insuficiencia cardiaca derecha y muerte. Los vasos afectados en la CTEPH son arterias pulmonares de gran diámetro y elasticidad, aunque en ocasiones la pared muscular de los vasos de pequeño tamaño también muestran alteraciones patológicas.³ La localización proximal en las arterias pulmonares principales o en sus ramas segmentarias permite el acceso quirúrgico mediante la técnica llamada tromboendarterectomía pulmonar (PTE). La extracción quirúrgica de las lesiones que obstruyen los vasos pulmonares es el tratamiento de elección en la CTEPH.^{1,4,5}

Aunque la hipertensión arterial pulmonar en esta enfermedad es consecuencia principalmente de la existencia de trombos organizados en el interior del árbol vascular pulmonar, en la CTEPH existe también un grado de vasculopatía arterial pulmonar periférica cuya fisiopatología es desconocida.³ En dichos pacientes, la hipertensión pulmonar puede persistir después de la PTE, y se relaciona directamente con una mayor morbilidad y mortalidad.² Más de un tercio de las muertes peri-operatorias y la mitad de los fallecimientos a largo plazo son atribuidos a la persistencia de dicha hipertensión pulmonar y al aumento de las resistencias vasculares pulmonares residuales (PVR) después de la PTE.⁵⁻⁸

Varios trabajos han intentado estratificar el riesgo post-quirúrgico e identificar marcadores que predigan qué pacientes se benefician más de la PTE.^{9,10} Existen estudios que sugieren que un análisis de la onda de la presión arterial pulmonar a través de la cateterización de la arteria pulmonar es capaz de discernir entre enfermedad vascular distal o de pequeño vaso y nivel proximal y con ello ayudar en la evaluación y en el pronóstico. Otros estudios sugieren que la ecocardiografía podría ser útil en la evaluación de los pacientes afectados de CTEPH.^{9,11,12} Sin embargo, hasta el momento el cálculo de las PVR y el valor de la presión arterial pulmonar media (PAPm) post-quirúrgicos son los mejores parámetros para predecir dicha morbi-mortalidad post-operatoria. Valores de las PVR post-quirúrgicos mayores de 500 dynas-m-sec-5 predicen un peor pronóstico.^{5,8}

Sería muy útil disponer de más herramientas especialmente en la evaluación pre-quirúrgica que permitieran clasificar los pacientes de manera más precisa antes de la intervención^{1,5}. En este estudio, determinamos si la extensión de la obstrucción arterial pulmonar en la CTEPH estimada mediante SPECT, correlaciona con los parámetros hemodinámicos postquirúrgicos.

PACIENTES Y METODOS

Pacientes y evaluación clínica. Veintidós pacientes remitidos para evaluación de CTEPH fueron reclutados de manera consecutiva en la consulta del *Pulmonary Vascular Center* de la Universidad de San Diego (UCSD). El diagnóstico pre-operatorio fue realizado siguiendo el protocolo de la UCSD. De ellos un total de diecisiete cumplieron los criterios de inclusión y fueron intervenidos (PTE) e incluidos en el estudio. Los resultados post-operatorios confirmaron

el diagnóstico de CTEPH en todos ellos. Para cada caso, dos expertos clínicos documentaron la anatomía vascular pulmonar a nivel segmentario para identificar los segmentos ocluidos, revisando la historia clínica, la angiografía pulmonar, el angio-TC si estaba presente así como el informe post-quirúrgico y la pieza resecada, que es un molde del vaso o vasos pulmonares afectados.

Estudio hemodinámico. Los datos hemodinámicos pre- y post-operatorios fueron determinados a través de cateterización cardíaca derecha.

Estudio gammagráfico mediante tomografía pulmonar de perfusión (SPECT): El estudio de ventilación se realizó después de la inhalación de ^{133}Xe . Los estudios de perfusión fueron realizados después de una única inyección intravenosa de $^{99\text{m}}\text{Tc-MAA}$ (148 MBq) con el paciente en posición supina. La perfusión fue adquirida mediante un sistema de paro y disparo cada 8 grados para un total de 45 ángulos de estudio con una gamma-cámara de doble cabeza con sistema de adquisición de imagen de alta resolución. Las imágenes fueron reconstruidas con el algoritmo estándar de reconstrucción de la estación de trabajo ADAC/Philips Pegasus version 7.50 del software. Las imágenes tomográficas de los pulmones en formato DICOM3.0 se transfirieron a una estación de trabajo con software personalizado desarrollado en IDL6.3 para generar una máxima intensidad de proyección desde los grupos de imagen tomográficos. Las imágenes adquiridas fueron evaluadas por un especialista en medicina nuclear (CKH) que desconocía la identidad de los pacientes, los resultados de las otras pruebas de perfusión o cualquier otra información clínica.

Análisis estadístico: Utilizamos el coeficiente de correlación de Spearman para determinar el grado de relación entre el grado de obstrucción pulmonar y la mejoría en las PVR después de la cirugía.

RESULTADOS

Diecisiete pacientes fueron analizados. La tabla 1 resume los datos demográficos y hemodinámicas de cada caso. La media (SD) de mejoría hemodinámica en las resistencias vasculares pulmonares después de la PTE fue del 55.5% [desde 567 (222) hasta 252 (140) dynas-m/sec-5]. La media (SD) de segmentos vasculares pulmonares afectados por la obstrucción (PAO) en la evaluación clínico-patológica y del SPECT de perfusión fueron 14 (5) segmentos y 11 (4) segmentos respectivamente.

Tabla 1: Datos demográficos y hemodinámicos pre-tromboendarterectomía y post-quirúrgicos.

Table 1. Hemodynamic data and number of segments occluded by SPECT and clinic-pathologic evaluation for each patient enrolled in the study. Five patients dropped the study because they did not have surgery regardless having CTEPH (cases # 5, 9, 11, 12 and 21).

Case	Age	Gender	Ethnicity	SPECT	C-P	mPAP*	PVR*	mPAP**	PVR**
1	38	F	A-A	11	13	63	717	44	528
2	37	M	A-A	12	15	45	619	20	169
3	74	M	NHW	11	11	43	786	29	260
4	73	M	NHW	5	13	38	517	23	290
6	62	M	NHW	14	18	29	316	21	208
7	43	F	NHW	13	0	57	851	58	587
8	30	F	NHW	8	13	31	333	32	221
10	46	F	NHW	16	17	NA	NA	23	159
13	39	M	NHW	12	18	33	466	16	103
14	54	M	NHW	13	13	39	570	18	91
15 †	74	M	NHW	15	15	52	2511	NA	1000
16	26	F	A-A	14	13	54	657	32	188
17	37	F	A-A	11	18	49	847	22	300
18	65	M	NHW	16	13	45	194	26	190
19	29	F	NHW	13	17	50	608	24	300
20	24	M	NHW	8	16	62	800	20	200
22	56	F	NHW	3	18	30	218	24	163

* Values pre-pulmonary thromboendarterectomy

** Values post-pulmonary thromboendarterectomy

† Patient died after surgery. PVR estimative.

NA Data not available

El análisis de las PVR y PAPm antes y después de la cirugía se comparó con el número de segmentos afectados determinados tanto por SPECT como gracias a la evaluación clínico-patológica. En el análisis inicial de los parámetros hemodinámicos (PAPm y PVR) antes de la intervención quirúrgica, no existe correlación entre el número de segmentos obstruidos evaluados mediante los datos clínico-patológicos ($r = -0.142$) ni mediante el SPECT de perfusión ($r = 0.3$). El valor hemodinámico representado mediante la diferencia de las PVR antes y después del procedimiento quirúrgico tampoco correlaciona con el grado de extensión de la obstrucción medido con la evaluación clínico-patológica ($r = -0.06$) o con el SPECT de perfusión ($r = 0.09$) tal como se muestra en la figura 1.

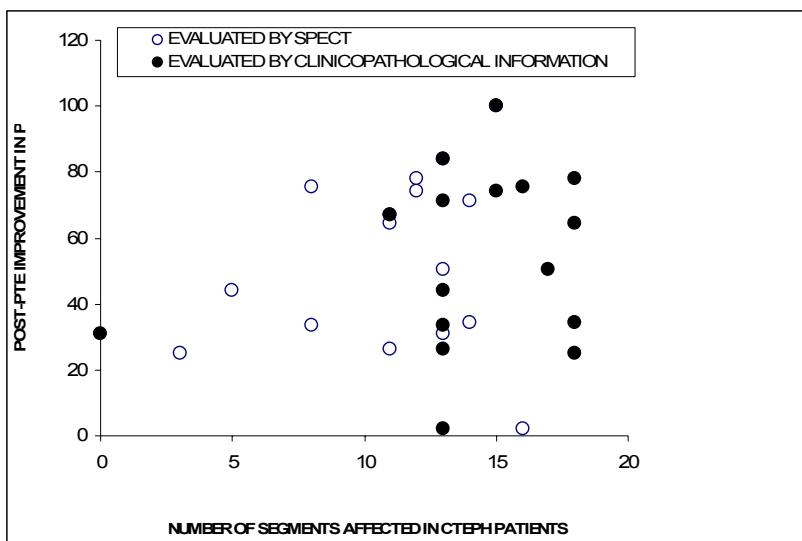


Figura 1. Gráfica en la que se muestra la falta de correlación entre el número de segmentos afectados antes de la cirugía en los pacientes afectados de CTEPH y los resultados hemodinámicos post-quirúrgicos representados por las resistencias vasculares pulmonares en pacientes evaluados mediante SPECT de perfusión (círculos blancos) y los pacientes evaluados mediante el patrón de referencia clínico-patológico (círculos negros). La mejoría de las PVR se presenta en tanto por ciento.

DISCUSION

El tratamiento quirúrgico mediante tromboendarterectomía pulmonar (PTE) mejora de manera sustancial los parámetros hemodinámicos en los pacientes que padecen CTEPH siendo curativa en la gran mayoría de los casos.^{1,5} Sin embargo, dicha mejora en las PVR no se puede predecir mediante el estudio preoperatorio del grado de obstrucción arterial pulmonar tal como muestra nuestro estudio. Parecería lógico esperar una correlación entre el grado de obstrucción y los parámetros hemodinámicos, ya que podemos argumentar que a más segmentos pulmonares obstruidos y peor estado hemodinámico previo al tratamiento, su resolución a través de la PTE llevaría a una recuperación del flujo sanguíneo en las áreas previamente obstruidas y con ello una disminución de las resistencias vasculares periféricas e incluso de la PAPm hasta valores normales o ligeramente elevados. En nuestro trabajo hemos demostrado que no existe dicha relación.

La extensión de la obstrucción vascular pulmonar se ha realizado mediante dos métodos muy sensibles para diagnosticar los segmentos obstruidos. La evaluación clínico-patológica utiliza el molde de vascular extraído en la PTE, que es una pieza anátomo-patológica de material muy organizado y compacto que sigue fielmente el árbol vascular pulmonar y que es extraído en bloque. Además, la evaluación de dichos pacientes ha incluido la realización de la angiografía pulmonar en todos los casos que permite un mapa preciso de la extensión del material trombótico (Figura 2).

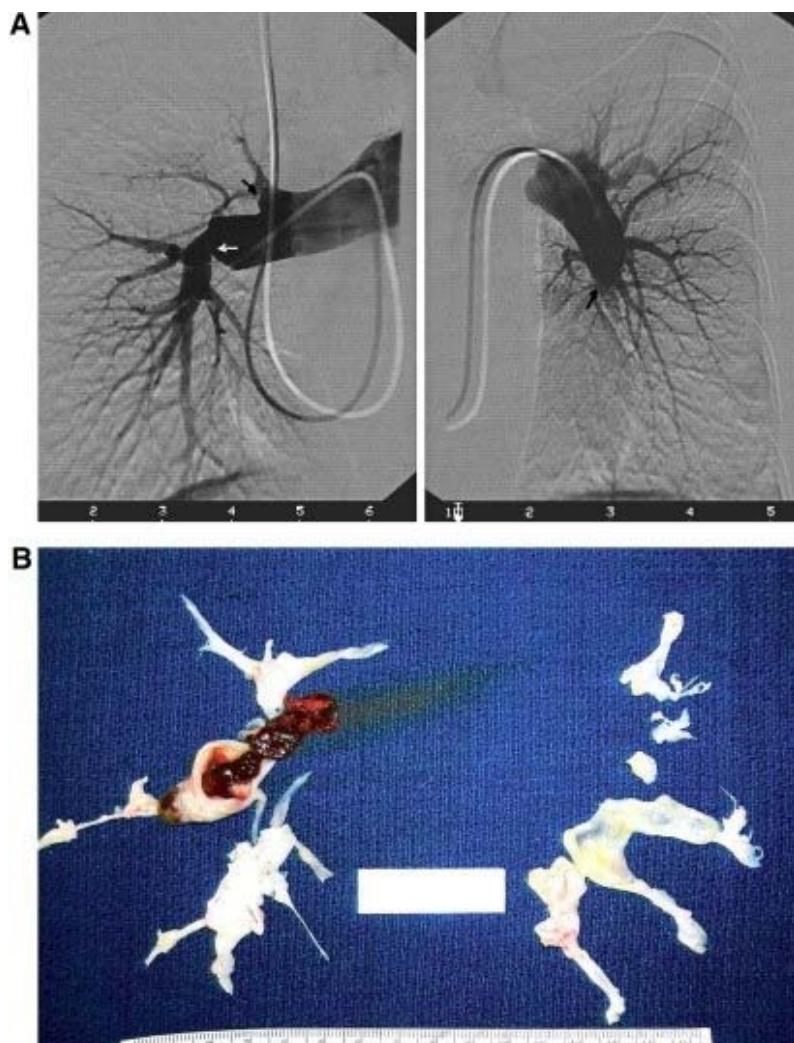


Fig. 2. (A) En el panel superior se muestra una arteriografía pulmonar de un paciente afectado de CTEPH. Las flechas negras señalan los típicos hallazgos en forma de “pouch” que casi ocluyen completamente el flujo arterial pulmonar; las flechas blancas indican una disminución importante del calibre de la arteria interlobar derecha por la presencia de material trombótico crónico. (B) Panel inferior que muestra la pieza resecada quirúrgicamente mediante tromboendarterectomía pulmonar del mismo paciente del panel superior. Reproducido con permiso de Auger et al. 2007.

Se realizó SPECT de perfusión en lugar de la gammagrafía convencional en modo planar ya que ha sido demostrada una mayor sensibilidad del SPECT respecto al modo planar en la evaluación de los defectos de perfusión en el embolismo agudo así como recientemente en los pacientes afectos de CTEPH.¹³⁻¹⁶ Un motivo que puede explicar la falta de correlación entre el grado de obstrucción y los resultados hemodinámicos tanto pre como post-quirúrgicos es la presencia de diferentes grados de vasculopatía y remodelado arteriolar.³ Una respuesta inflamatoria a nivel de la capa muscular de los vasos periféricos que dependa de la rapidez de instauración del trombo también podría estar implicada. Otros factores podrían ser el grado de hipoxemia y hipocapnia mantenida que estimularía una respuesta local con la consecuente liberación de sustancias pro-inflamatorias. Por otra parte, la presencia de factores de riesgo para enfermedad tromboembólica venosa también podría influir. Parece lógico un papel más destacado en la fisiopatología de la persistencia de un episodio trombótico en un paciente con una alteración genética o esplenectomizado que un paciente en el que el TEP sea consecuencia de un factor puntual aislado como consecuencia de un viaje de largo trayecto. De todas formas, el TEP sucede habitualmente en sujetos con cierta predisposición y un factor desencadenante como la cirugía o la inmovilización.

Así pues, parece ser que existen dos mecanismos diferentes relacionados pero independientes en el desarrollo de CTEPH. Una obstrucción inicial de los vasos arteriales pulmonares y posteriormente una respuesta individualizada. Ambos probablemente dependen de factores celulares, moleculares o genéticos, o factores de riesgo acompañante y que podrían explicar, al menos en parte, el comportamiento independiente de las resistencias vasculares periféricas y de

las PAPm en relación al grado de obstrucción en el seno de los pacientes afectados de CTEPH.¹⁷⁻

²¹ Aunque los resultados de este estudio son negativos, no por ello es menos importante conocer que el resultado post-quirúrgico será independiente del grado de obstrucción *per se*, ya que tiene implicaciones clínicas y sirve además de base para ampliar el conocimiento de dicha enfermedad más allá de la obstrucción mecánica de los vasos arteriales pulmonares.

Los resultados de éste trabajo se presentaron parcialmente en forma de póster en la *International Conference of American Thoracic Society*. San Diego, 2009.²²

Bibliografía

- 1 Auger WR, Fedullo PF. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Semin Respir Crit Care Med* 2009; 30:471-483
- 2 Auger WR, Kim NH, Kerr KM, et al. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Clin Chest Med* 2007; 28:255-269, x
- 3 Galie N, Kim NH. Pulmonary microvascular disease in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Proc Am Thorac Soc* 2006; 3:571-576
- 4 Keogh AM, Mayer E, Benza RL, et al. Interventional and surgical modalities of treatment in pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54:S67-77
- 5 Thistlethwaite PA, Kaneko K, Madani MM, et al. Technique and outcomes of pulmonary endarterectomy surgery. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 14:274-282
- 6 Thistlethwaite PA, Madani M, Jamieson SW. Pulmonary thromboendarterectomy surgery. *Cardiol Clin* 2004; 22:467-478, vii
- 7 Madani MM, Jamieson SW. Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 2000; 2:141-148
- 8 Rubens FD, Bourke M, Hynes M, et al. Surgery for chronic thromboembolic pulmonary hypertension--inclusive experience from a national referral center. *Ann Thorac Surg* 2007; 83:1075-1081
- 9 Blanchard DG, Malouf PJ, Gurudevan SV, et al. Utility of right ventricular Tei index in the noninvasive evaluation of chronic thromboembolic pulmonary hypertension before and after pulmonary thromboendarterectomy. *JACC Cardiovasc Imaging* 2009; 2:143-149
- 10 Kim NH, Fesler P, Channick RN, et al. Preoperative partitioning of pulmonary vascular resistance correlates with early outcome after thromboendarterectomy for chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Circulation* 2004; 109:18-22
- 11 Gurudevan SV, Malouf PJ, Kahn AM, et al. Noninvasive assessment of pulmonary vascular resistance using Doppler tissue imaging of the tricuspid annulus. *J Am Soc Echocardiogr* 2007; 20:1167-1171

- 12 Gurudevan SV, Malouf PJ, Auger WR, et al. Abnormal left ventricular diastolic filling in chronic thromboembolic pulmonary hypertension: true diastolic dysfunction or left ventricular underfilling? *J Am Coll Cardiol* 2007; 49:1334-1339
- 13 Freeman LM, Haramati LB. V/Q scintigraphy: alive, well and equal to the challenge of CT angiography. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009; 36:499-504
- 14 Bajc M, Jonson B. Ventilation/perfusion SPECT--an essential but underrated method for diagnosis of pulmonary embolism and other diseases. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009; 36:875-878
- 15 Bajc M, Neilly JB, Miniati M, et al. EANM guidelines for ventilation/perfusion scintigraphy : Part 2. Algorithms and clinical considerations for diagnosis of pulmonary emboli with V/P(SPECT) and MDCT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009; 36:1528-1538
- 16 Soler X, Hoh CK, Test V, Kerr KM, Marsh JJ, Morris TA. SPECT perfusion scanning in Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2008; 177:A185
- 17 Yao W, Firth AL, Sacks RS, et al. Identification of putative endothelial progenitor cells (CD34+CD133+Flk-1+) in endarterectomized tissue of patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2009; 296:L870-878
- 18 Ogawa A, Firth AL, Yao W, et al. Inhibition of mTOR Attenuates Store-operated Ca²⁺ Entry in Cells from Endarterectomized Tissues of Patients with Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2009
- 19 Firth AL, Yau J, White A, et al. Chronic exposure to fibrin and fibrinogen differentially regulates intracellular Ca²⁺ in human pulmonary arterial smooth muscle and endothelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2009; 296:L979-986
- 20 Sacks RS, Remillard CV, Agange N, et al. Molecular biology of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2006; 18:265-276
- 21 Morris TA, Marsh JJ, Chiles PG, et al. High prevalence of dysfibrinogenemia among patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Blood* 2009; 114:1929-1936

- 22 Soler X, Kerr KM, Test V, Hoh CK, Morris TA. Improvement after Pulmonary Thromboendarterectomy (PTE) Does Not Depend on the Extent of Macroscopic Vascular Obstruction in Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension (CTEPH). Am. J. Respir. Crit. Care Med 2009; 179:A3332

Capítulo 8

SPECT de perfusión en la Hipertensión Pulmonar no tromboembólica

Datos preliminares

INTRODUCCION

La hipertensión arterial pulmonar (PH) se define con la presencia de una presión arterial pulmonar (PAP) mayor a 25 mmHg. en reposo y medida mediante cateterismo cardíaco derecho.^{20,24} Como consecuencia, las resistencias vasculares pulmonares (PVR) se elevan y la sobrecarga en la circulación pulmonar conlleva una eventual disfunción ventricular derecha y, sin tratamiento, a la muerte. Existen múltiples causas de hipertensión arterial pulmonar, siendo la idiopática la más estudiada (PAH) aunque paradójicamente, infrecuente. Recientemente se han publicado actualizaciones para su diagnóstico y tratamiento.^{21,24,57} Uno de los retos más importantes a los que se enfrenta el médico clínico ante un paciente afectado de hipertensión arterial es su correcta clasificación y, en la medida de lo posible, identificar causas tratables de la enfermedad como la presencia de material tromboembólico en árbol vascular pulmonar ya que su enfoque terapéutico es diferente.¹⁴ Desde hace varias décadas, el estudio de perfusión en modo planar es la herramienta utilizada para descartar la presencia de material embólico y con ello CTEPH.^{31,32,58} Así pues, si el estudio de perfusión es negativo para la presencia de material tromboembólico a nivel pulmonar, no será necesario realizar pruebas invasivas como la angiografía pulmonar. Por el contrario, ante un estudio de perfusión compatible con obstrucción, se realiza una angiografía pulmonar para confirmar el diagnóstico de hipertensión pulmonar tromboembólica crónica (CTEPH).^{59,60} Si se confirma la presencia de material trombótico proximal o segmentario, el paciente es valorado para realizar una tromboendarterectomía (PTE). Este proceso quirúrgico es curativo en la mayoría de los casos aunque es una técnica muy compleja realizada en muy pocos centros del mundo. La mortalidad media se estima entre el 5% y el 20%, dependiendo de la experiencia del centro y la co-morbilidad asociada.¹⁷

Se desconoce el motivo por el que una fracción de pacientes afectados de PH no responden a la terapia médica convencional. Diferente farmacogenética, polimorfismos genéticos o diferentes grados de remodelado secundarios al grado de oclusión pueden influir en la falta de respuesta terapéutica de algunos pacientes.²⁶ Otra causa podría ser debida a la presencia de material tromboembólico distal de pequeño tamaño o microtrombosis periférica que pueda simular una PAH idiopática. Cabe decir además, que algunos pacientes muestran un patrón de perfusión anormal, no segmentario, no homogéneo y parcheado, cuyo significado fisiopatológico es incierto.³¹ Según nuestra hipótesis, los pacientes que acuden para la evaluación de hipertensión arterial pulmonar puede ser evaluados y con ello clasificados de una manera más precisa mediante el SPECT de perfusión, debido a su mayor sensibilidad para detectar defectos de perfusión respecto a la gammagrafía planar convencional.

PACIENTES Y MÉTODOS

Pacientes

Ocho pacientes referidos para la evaluación o sospecha de Hipertensión Arterial Pulmonar (PH) fueron reclutados de manera consecutiva en la *Pulmonary Vascular Clinic* de la Universidad de California San Diego (UCSD), California. Los criterios de inclusión fueron: 1) sospecha clínica de PAH; 2) edad igual o mayor a 18 años; 3) síntomas objetivos de elevación de las presiones a nivel auricular derecho o de las arterias pulmonares por ecografía doppler y confirmación por cateterismo cardíaco derecho en el caso de ser necesario. El Institutional Review Board (IRB) para estudios de investigación de UCSD aprobó el protocolo y se obtuvo el consentimiento informado por escrito previamente a la realización del SPECT de perfusión en todos los casos.

Estudio gammagráfico

El estudio de ventilación se realizó después de la inhalación de ^{133}Xe . El estudio de ventilación fue evaluado en modo planar debido al rápido lavado del ^{133}Xe en el pulmón después de su inhalación no permite el tiempo necesario para su estudio mediante SPECT. Los estudios de perfusión fueron realizados después de única inyección intravenosa de $^{99\text{m}}\text{Tc-MAA}$ (148 MBq) con el paciente en posición supina tanto para la realización en modo planar como en modo SPECT. Los estudios de perfusión iniciales –modo planar- fueron un conjunto de seis proyecciones estáticas (anterior, posterior, oblicua anterior izquierda, oblicua anterior derecha, oblicua posterior izquierda y oblicua posterior derecha). Todos los estudios de perfusión fueron adquiridos mediante una gamma-cámara de doble cabeza con sistema de adquisición de imagen de alta resolución. Inmediatamente después de la adquisición de las proyecciones en modo planar, se realizó el estudio de perfusión en modo SPECT mediante un sistema de paro y disparo cada 8 grados para un total de 45 ángulos de estudio. Las imágenes fueron reconstruidas con el algoritmo estándar de reconstrucción de la estación de trabajo ADAC/Philips Pegasys version 7.50 del software. Las imágenes tomográficas de los pulmones en formato DICOM3.0 se transfirieron a una estación de trabajo con software personalizado desarrollado en IDL6.3 para generar una máxima intensidad de proyección desde los grupos de imagen tomográficos. Las imágenes del SPECT de perfusión y en modo planar fueron evaluadas de manera independiente por un especialista en medicina nuclear (CKH) que desconocía la identidad de los pacientes, los resultados de las otras pruebas de perfusión y cualquier otra información clínica. Los estudios fueron evaluados de manera aleatoria en forma no apareada (planar/SPECT). Se utilizó un esquema de la circulación pulmonar segmentaria como guía para la localización de cada segmento pulmonar afectado (Anexo III).

Evaluación clínica

El diagnóstico de PH se basó en los resultados del cateterismo cardíaco derecho (excepto en un caso que no se realizó por considerarse muy poco probable la existencia de hipertensión arterial), estudio de marcadores autoinmunes, gammagrafía planar, la exploración física y juicio clínico así como otras pruebas complementarias en función de la historia clínica, tales como polisomnografía nocturna, CTPA, pruebas de función respiratoria, gasometría arterial o test de la marcha de 6 minutos. Un reconocido experto clínico en el diagnóstico y tratamiento de la PH interpretó todos los resultados. No se tuvo en consideración para la evaluación o el tratamiento del paciente los resultados del SPECT de perfusión por no formar parte del protocolo de nuestro centro. Para evitar el sesgo, RC no dispuso de dicha información previamente a la evaluación de los pacientes.

Análisis estadístico

Definimos defecto de perfusión, “verdadero positivo”, a un segmento en el que existe una disminución de al menos el 25% del flujo vascular normal en el estudio de perfusión (sea en modo planar o en modo SPECT) y se define un segmento “verdadero negativo” en el que no existe obstrucción de flujo sanguíneo tanto a nivel distal como proximal del segmento estudiado. Por ejemplo, una obstrucción a nivel lobar sería clasificada como obstrucción de todos los segmentos afectados de manera individual.

RESULTADOS

Un total de ocho pacientes (6 mujeres y 2 hombres; edad $57,2 \pm 9,4$ años, rango 42 a 70 años) fueron reclutados en nuestro centro. A todos los pacientes se les realizó las pruebas de perfusión en modo planar y SPECT. Ambos procedimientos fueron realizados de manera consecutiva en una misma sesión. Todos los pacientes toleraron la realización de ambas pruebas en posición supina sin efectos secundarios. Los ocho pacientes estudiados pudieron ser analizados según nuestro protocolo. Las características demográficas, el número de segmentos ocluidos para cada el SPECT y el modo planar y el diagnóstico son representados en la tabla 1.

Tabla 1. Número de segmentos afectados y diagnóstico analizado con SPECT de perfusión y en modo planar en una muestra de 8 pacientes remitidos para valoración de hipertensión pulmonar.

Caso	Edad	Género	Motivo de consulta	Diagnóstico	Planar	SPECT
1	42	Mujer	Disnea	PAH idiopática	0	0
2	60	Hombre	ECO compatible	PAH secundaria	0	0
3	56	Mujer	ECO compatible	PAH secundaria	1	2
4	51	Mujer	Disnea	PVOD*	2	17
5	70	Mujer	Disnea	TEP	3	3
6	50	Hombre	Disnea	CTEPH	11	11
7	62	Mujer	Disnea	PAH idiopática	0	8
8	67	Mujer	ECO compatible	PAH idiopática	0	4

*PVOD: enfermedad pulmonar veno-oclusiva

Un 37.5% de pacientes (3 pacientes de 8) remitidos fueron diagnosticados de HAP de causa desconocida o idiopática. El resto de pacientes fueron diagnosticados como sigue: Un paciente (número 6) fue diagnosticado de CTEPH, con 11 segmentos obstruidos en ambos estudios, planar y SPECT. Otro paciente fue diagnosticado de embolismo pulmonar (caso número 5), con 3 segmentos afectados en las dos pruebas de perfusión. Dos pacientes fueron diagnosticados de hipertensión pulmonar secundaria a sobrecarga por insuficiencia renal y a cardiomiopatía hipertrófica congénita (casos 2 y 3). Otro paciente (caso 4) fue diagnosticado de enfermedad pulmonar veno-oclusiva (POVD) con 2 defectos de perfusión en el modo planar y 17 en el SPECT.

El estudio de perfusión planar en todos los pacientes diagnosticados de HAP primaria (casos 1, 7 y 8) no detectó defectos de perfusión compatible con tromboembolismo. Sin embargo el SPECT detectó 8 y 4 defectos de perfusión en los casos 7 y 8 respectivamente.

Capítulo 9

High prevalence of rare fibrinogen mutations in Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension

Morris TA, Marsh JJ, Chiles PG, Magaña MM, Liang NC

Soler X, Desantis DJ, Ngo D, Woods VL Jr.

This research was originally published in Blood. 2009 Aug 27;114(9):1929-36 © the American Society of Hematology

High prevalence of dysfibrinogenemia among patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension

Timothy A. Morris,¹ James J. Marsh,¹ Peter G. Chiles,¹ Marisa M. Magaña,¹ Ni-Cheng Liang,¹ Xavier Soler,^{1,2} Daniel J. DeSantis,¹ Debby Ngo,¹ and Virgil L. Woods Jr³

¹Division of Pulmonary and Critical Care Medicine, University of California, San Diego; ²Departament de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona Bellaterra, Spain; and ³Department of Medicine and Biomedical Sciences Graduate Program, University of California, San Diego

The mechanism by which chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH) develops after acute pulmonary thromboembolism is unknown. We previously reported that fibrin from CTEPH patients is relatively resistant to fibrinolysis in vitro. In the present study, we performed proteomic, genomic, and functional studies on fibrinogen to investigate whether abnormal fibrinogen might contribute to the pathogenesis of CTEPH. Reduced and denatured fibrinogen from

33 CTEPH patients was subjected to liquid chromatography-mass spectrometry analysis. Fibrinogen from 21 healthy controls was used to distinguish atypical from commonly occurring mass peaks. Atypical peaks were further investigated by targeted genomic DNA sequencing. Five fibrinogen variants with corresponding heterozygous gene mutations (dysfibrinogenemias) were observed in 5 of 33 CTEPH patients: B β P235L/ γ R375W, B β P235L/ γ Y114H, B β P235L, A α L69H, and

A α R554H (fibrinogen α -chain). B β P235L was found in 3 unrelated CTEPH patients. Functional analysis disclosed abnormalities in fibrin polymer structure and/or lysis with all CTEPH-associated mutations. These results suggest that, in some patients, differences in the molecular structure of fibrin may be implicated in the development of CTEPH after acute thromboembolism. (Blood. 2009;114:1929-1936)

Introduction

Chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH) is a complication of acute thromboembolic pulmonary embolism (PE) characterized by persistent obstruction of the proximal pulmonary arteries with fibrotic material, elevated pulmonary vascular resistance, and life-threatening right ventricular failure.¹ Definitive treatment requires surgical resection of the obstruction by a highly invasive procedure known as pulmonary thromboendarterectomy.² Because the mechanism of CTEPH development after acute PE is poorly understood, it is currently difficult to prevent CTEPH or predict its development after acute PE.

We recently reported that fibrinogen purified from patients with CTEPH and clotted in vitro is partially resistant to plasmin-mediated lysis, relative to healthy controls.³ This observation raises the possibility that structural or functional abnormalities of fibrinogen in CTEPH patients may confer resistance to fibrinolysis in vivo and constitute an important etiologic step in the development of CTEPH. Structurally abnormal fibrin might persist within thromboemboli and stimulate remodeling of the thrombotic material into vascular scars.

We undertook this study to search for fibrinogen structural variants and underlying genetic mutations (dysfibrinogenemias) that might be present in patients with CTEPH. Patient and control fibrinogen was analyzed for the presence of structural variants by mass spectroscopic analysis, and the presence of variants suggested by this analysis was further investigated by targeted fibrinogen gene sequencing. We observed 5 dysfibrinogenemias in our group of 33 CTEPH patients: 2 with genetic mutations reported in neither

the open literature nor the single nucleotide polymorphism (SNP) databases (Seattle SNPs; National Heart, Lung, and Blood Institute [NHLBI] Program for Genomic Applications, <http://pga.gs.washington.edu>; National Center for Biotechnology Information [NCBI] Single Nucleotide Polymorphism, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>) at the time of this writing.

Methods

Materials

Human α₂ thrombin and human glu-plasminogen were purchased from Enzyme Research Laboratories. Recombinant human tissue-type plasminogen activator (t-PA), 2-chain form, was obtained from Burroughs Wellcome Company. A synthetic peptide corresponding to the first 18 residues of the β chain of human fibrin (designated B-knob standard) was obtained from Bachem Americas. A murine monoclonal antibody (isotype IgG1) raised against the first 7 residues of the β chain of human fibrin (designated H-knob antibody) was obtained from Hybritech Inc. A peroxidase-conjugated goat anti-mouse IgG (Fc fragment specific) was purchased from Jackson ImmunoResearch Laboratories. All other chemicals were reagent grade or better.

Patient enrollment

Patients who were being evaluated at the University of California, San Diego (UCSD) Medical Center for the diagnosis and treatment of CTEPH

Submitted February 28, 2009; accepted June 18, 2009. Prepublished online as Blood First Edition paper, July 7, 2009; DOI 10.1182/blood-2009-03-208264.

The online version of this article contains a data supplement.

Portions of this data have been presented in abstract form at the International Conference of the American Thoracic Society^{4,5} (2007 Conference, San Francisco, CA, May 23, 2007; 2008 Conference, Toronto, Canada, May 18

2008) and the XXIX Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Geneva, Switzerland, July 11, 2007.⁶⁻⁸

The publication costs of this article were defrayed in part by page charge payment. Therefore, and solely to indicate this fact, this article is hereby marked "advertisement" in accordance with 10 USC section 1734.

© 2009 by The American Society of Hematology

Table 1. Predicted and observed fibrinogen chain masses in 21 healthy subjects

Fibrinogen chain/ phosphorylation state*	Sialylation state†	Common polymorphisms	Predicted mass, Da‡	Observed mass mean (SD)
Aα				
		312A	66 102	66 101 (4)
		312T	66 132	66 134 (4)
1		312A	66 182	66 180 (5)
1		312T	66 212	66 214 (4)
2		312A	66 262	66 259 (4)
2		312T	66 292	66 293 (4)
Bβ				
	1	448K	54 185	54 182 (2)
	1	448R	54 213	54 213 (3)
	2	448K	54 476	54 473 (2)
	2	448R	54 504	54 504 (3)
γ				
	1		48 368	48 381 (3)
	2		48 659	48 672 (3)

*Denotes the number of phosphate groups (80 Da each) attached to the chain.

†Denotes the number of sialic acid groups (291 Da each) attached to the chain.

‡Predicted masses of the fibrinogen chains¹⁶ were used to identify predominant LC-MS peaks that would be expected in a normal population. These include nonphosphorylation, monophosphorylation, and diphosphorylation of the Aα chain, monosialylation and disialylation of the Bβ and γ chains, and the common polymorphisms Aα T312A and Bβ R448X, which have allele frequencies of 24% and 15%, respectively, in healthy subjects.¹⁷

were considered for recruitment into the study. Patients with CTEPH were defined as those with cardiopulmonary symptoms lasting more than one month, accompanied by the objective findings of elevated right ventricular or pulmonary artery pressures as well as pulmonary angiography confirming the characteristic obstruction of the pulmonary arteries at the segmental or more proximal levels.¹⁸ The diagnosis was confirmed by histologic examination of the obstructive tissue removed during pulmonary thromboendarterectomy or during autopsy.¹⁹ This material distinguishes patients with CTEPH from those with more unusual causes of chronic proximal pulmonary arterial obstruction, such as pulmonary artery sarcoma and pulmonary arteritis.

Forty consecutive patients being evaluated for CTEPH between October 2003 and February 2004 were enrolled in the study. Eight patients did not have hemodynamically significant CTEPH. Thirty-two remaining patients had CTEPH confirmed by the removal of significant amounts of intra-arterial organized thrombotic material during pulmonary thromboendarterectomy and were included in the analysis. One additional histologically confirmed CTEPH patient, referred because of postoperative thrombosis despite therapeutic-range INRs during warfarin therapy, was also analyzed, for a total of 33 CTEPH patients (mean age, 54 ± 13 years; 9 males and 24 females). One of these patients has been reported previously.²⁰ Twenty-one healthy volunteers with no history of thrombotic diseases or events were enrolled to represent "typical mass spectrometry data" so that abnormalities could be visually identified.

After written informed consent was obtained in accordance with the Declaration of Helsinki, blood samples were collected from patients (before surgery) and controls. The patients' clinical courses were followed until discharge after pulmonary thromboendarterectomy. The UCSD Institutional Review Board approved this study.

Blood sample collection and processing

Blood (20 mL) was collected from each subject into a one-tenth volume of buffered sodium citrate (3.8%) and plasma was obtained by centrifugation at 2000×g for 10 minutes at 4°C. The white blood cell layer was collected as a source of genomic DNA. Functional fibrinogen plasma levels were determined by the Clauss method and antigenic levels by a commercially available kit (Enzyme Research Laboratories) using the Factor Assay Control plasma from George King Bio Medical as standard for both assays.

Fibrinogen was purified from plasma as previously described.²¹ The fibrinogen preparations were more than 90% pure, as judged by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) analysis under reducing conditions on 10% NuPAGE gels (Invitrogen), and con-

tained more than 90% clottable protein. Genomic DNA was isolated using a QIAamp DNA Blood Kit (QIAGEN) according to the manufacturer's instructions. All samples were stored at -70°C until used.

Liquid chromatography-mass spectrometry

Fibrinogen was suspended in 100 mM Tris buffer (pH 8.0) containing 8 M urea and 20 mM dithiothreitol, and incubated for 4 hours at 37°C to denature the subunits and reduce disulfide bonds.²² The reduced protein (100 µg) was then acetylated with 0.05% trifluoroacetic acid and injected onto a 1 mm × 50 mm, 100 Å C-4 reversed phase column (Phenomenex). Individual fibrinogen Aα, Bβ, and γ chains were eluted in that order with a linear acetonitrile gradient containing 0.05% trifluoroacetic acid and directed into an electrospray MicroMass Q-ToF mass spectrometer (Waters Corporation) with continuous acquisition of MS1 spectra (150–2000 m/z).²³ Data were acquired and processed using MassLynx 4.5 software (Waters Corporation). The mass-to-charge (M/Z) range 1000 to 2000 was used to transform the data onto a true molecular mass scale using the maximum entropy (MaxEnt 1) component of the software. Peak areas were determined using the peak integration component of the MassLynx software.²⁴

Screening of liquid chromatography-mass spectrometry spectra for uncommon fibrinogen variants

Normal liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) fibrinogen component peaks (narrow, bilaterally symmetrical peaks that were observed in both patient and healthy volunteers and that corresponded to the predicted masses of common fibrinogen isotypes) were identified (Table 1), including the common fibrinogen polymorphisms Aα T312A and Bβ R448X.¹⁷ Variant LC-MS peaks (peaks with masses not found in Table 1, or wide, asymmetrical peaks that suggested the superimposition of 2 distinct isotypes with mass differences too small to be resolved by LC-MS) were also identified.

Gene sequencing

Exons contained within the fibrinogen genes FGA, FGB, and FGG (encoding the Aα, Bβ, and γ fibrinogen chains, respectively) were amplified from 50 ng genomic DNA using 10 pmol each of forward and reverse primers in a 50-µL amplification mixture containing AmpliTaq Gold PCR Master Mix (Applied Biosystems). The samples were amplified for 35 cycles of denaturation (94°C, 30 seconds), annealing (58°C, 30 seconds), and extension (72°C, 30–90 seconds depending on fragment size), preceded

by a 12-minute denaturation step at 94°C, and followed by a 7-minute extension step at 72°C. After confirmation of the presence of polymerase chain reaction (PCR) fragments of the expected size by electrophoresis in 2% agarose gels, PCR products were purified using a QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN). DNA sequencing of the PCR fragments was performed at the UCSD DNA Sequencing Facility according to standard protocols. All missense mutations were confirmed by sequencing of the complementary strand. Primer sequences are available from the authors on request.

Frequency of CTEPH-associated mutations among historical controls

We performed a comprehensive literature search to determine whether the fibrinogen gene variations (other than the common polymorphisms described in Table 1) we observed in CTEPH patients had been reported among patients with acute venous thromboembolism (VTE). We searched the MEDLINE database¹⁰ using the following search terms: ("Fibrinogen/genetics"[Mesh] AND ["Venous Thromboembolism"[Mesh] OR "Pulmonary Embolism"[Mesh] OR "Venous Thrombosis"[Mesh]]) OR ("Venous Thrombosis/genetics"[Mesh] AND fibrinogen). The bibliographies from review articles were also searched for relevant publications. Identified articles were included in the analysis if they met the inclusion criteria recommended by Friedenreich,¹¹ modified as follows: (1) the study sampled healthy subjects as well as patients with acute deep vein thrombosis or PE,¹² (2) subjects were selected for enrollment consecutively, randomly, or by a method unlikely to bias the genetic analysis; (3) the study was judged to be of "high quality" by 2 independent readers (T.A.M. and N.C.L.), and (4) all exons from all 3 fibrinogen genes were sequenced and the results were reported in all enrolled subjects.

To estimate further the prevalence of the CTEPH-associated dysfibrinogenemias among the general population, we searched the NCBI and Seattle SNP databases for the corresponding allele frequencies.

Molecular modeling of variant fibrinogens

The locations of each amino acid substitution were modeled with the "3D" software package (Uppsala University, Uppsala, Sweden),¹³ using x-ray crystallographic data derived from fibrinogen.^{14,15} The most likely orientations of the amino acid side chains were estimated by the "3D" package, in relation to the existing crystallographic data.

Turbidimetric fibrin clot lysis assay

Fibrin clots were simultaneously formed and lysed by combining fibrinogen (patient or control, 1.4 mg/mL), plasminogen (10 µg/mL), fibrinolysin (0.2 NIH units/mL), t-PA (0.1 µg/mL), and CaCl₂ (10 mM) in 200 µL TN buffer (50 mM Tris, pH 7.0 containing 150 mM NaCl). The mixture was immediately added to a microtiter plate well and the turbidity of the solution (absorbance at 405 nm) was monitored in a plate reader (Molecular Devices) at 1-minute intervals for a period of 1 hour at room temperature. Each curve was characterized by an increase in absorbance (clot formation), followed by brief plateau and then a decrease in absorbance (clot lysis) to baseline. Net turbidity was defined as the difference between the maximum and baseline absorbance values. The lysis rate was determined from the slope of the lysis portion of the curve at 50% clot lysis. A typical experiment included analysis of fibrinogen from 1 patient and 2 controls, and each experiment was repeated 2 to 3 times. The 2 controls used in each experiment were randomly selected from a set of fibrinogen preparations from 5 healthy controls. The relative turbidity (or lysis rate) was calculated as the net turbidity (or lysis rate) of the patient's fibrin relative to the average net turbidity (or lysis rate) of fibrin from 2 controls run in parallel.

Fibrin B knob release assay

As an independent method for evaluating fibrin lysis, an assay for measuring the release of B knobs containing fibrin fragments during lysis was developed. Fibrin clots were prepared in microcentrifuge tubes by combining fibrinogen (1.4 mg/mL), plasminogen (20 µg/mL), fibrinolysin (0.2 NIH units/mL), and CaCl₂ (10 mM) in 50 µL TN buffer. After clotting

for 1 hour at room temperature, fibrinolysis was initiated by adding 50 µL t-PA (0.1 µg/mL) to the surface of the clot. After 6 hours of incubation at 37°C, D-Ala-Phe-Lys-chloromethyl ketone was added (10 µM final concentration) to arrest plasmin activity, and the residual fibrin clot (about 25% of the initial amount) was removed by centrifugation. The supernatant was applied to a Microcon YM-30 Centrifugal Device (Millipore) and centrifuged (12 minutes, 10,000g) to remove intact fibrin, plasminogen, and t-PA. The filtrate (containing fibrinolytic fragments) was then assayed for B knob-containing peptides using a competition enzyme-linked immunosorbent assay.

Enzyme-linked immunosorbent assay plate wells (Nunc Maxisorp[®]) were coated with fibrinogen solution (2 µg/mL in TN buffer, 50 µL/well) for 3 hours at room temperature. After washing with PBS containing 0.05% Tween-20, wells were treated with thrombin solution (0.2 IU/mL in PBS containing 1 mg/mL BSA; 100 µL/well) for 1 hour, which simultaneously exposes the fibrin B knob on surface-bound fibrinogen and blocks residual protein binding sites on the wells. Meanwhile, preincubation mixtures composed of B knob antibody (0.5 µg/mL) and B knob standard (0.5 µM; or B knob antibody and subject-derived fibrinolytic fragments were each prepared in 220 µL PBS containing 1 mg/mL BSA and 0.05% Tween 20 (dilution buffer). After 3 to 4 hours of incubation, 100 µL of each preincubation mixture was applied to duplicate fibrinogen-coated thrombin-treated wells that had been previously washed. After a 1-hour incubation, the wells were washed again and peroxidase-conjugated anti-mouse IgG antibody (1:5000 in dilution buffer; 100 µL/well) was added. After a 1-hour incubation, the wells were washed a final time and chromogenic peroxidase substrate (o-phenylene diamine; 100 µL/well) was added. The reaction was stopped after 5 minutes by adding 3N H₂SO₄ (100 µL/well) and the absorbance at 490 nm of each well was read in a microplate reader. A standard curve was generated from a 4-parameter fit of concentration versus absorbance values of the standards. The concentration of B knob peptide in each sample was interpolated from the standard curve. Results of each patient sample are expressed as a percentage of the mean B knob peptide concentration of 14 different control samples included in the assay. The assay was validated by comparing the competition curve obtained with the synthetic B knob peptide with that of a crude peptide mixture derived from a complete plasmin digest of fibrin of known concentration. As shown in supplemental Figure 1 (available on the *Blood* website; see the Supplemental Materials link at the top of the online article), the 2 curves were essentially superimposable, demonstrating the suitability of the synthetic peptide as a standard in this assay.

Results

LC-MS of fibrinogen from healthy subjects

LC-MS data from 21 healthy subjects (mean age, 45.2 ± 10.6 years; 11 males, 10 females) were used to validate the precision and accuracy of the technique for measuring the masses of fibrinogen Aα, Bβ, and γ chains and to identify peaks corresponding to commonly occurring polymorphisms.¹⁶ Observed masses in the healthy subjects that corresponded to the calculated masses of the common fibrinogen isotypes¹⁶ are presented in Table 1.

LC-MS of fibrinogen from CTEPH patients

LC-MS data from 33 CTEPH patients and the 21 healthy controls were examined for the presence of fibrinogen chain peaks that are not found in the general population. Five CTEPH patients were observed to have abnormal peak patterns (Table 2). Patients nos 1, 2, and 3 all exhibited a similar abnormal peak pattern in their Bβ chain spectra. An abnormal peak pattern was also observed in the γ chain spectrum of patient no. 2, and 2 distinct abnormal peak patterns were observed in the Aα chain spectra of patients nos 4 and 5. No abnormal peak patterns were found among the control subjects.

Table 2. Fibrinogen variants in CTEPH patients

LC-MS findings	Patients with the finding	Gene	Exon	Nucleotide variation* (rs #)	Amino acid variation†
Increase in the size of disialylated $\beta\beta$ and γ	1	FGG	9	9163C>T	γ R375W
Additional γ peak pair 28 Da lighter than typical peak pair		FGG		3977T>C (rs2066870)	γ Y114H
Atypical $\beta\beta$ peak pair 14 Da heavier than typical peak pair	1, 2, 3	FGG	5	7337C>T (rs6054)	$\beta\beta$ P235L
Atypical α peak pattern 24 Da heavier than typical peak pattern	4	FGA	9	4075T>A	α L69H
Additional α peak pattern 19 Da lighter than typical peak pattern	5	FGA	5	7261G>A	α R554H

*Nucleotide numbering based on GenBank DNA accession numbers AF381104 ($\beta\beta$), AF380026 (γ), and AF350254 (FGG).¹⁷ Mutations reported herein have been submitted to the NCBI Single Nucleotide Polymorphism database, and have been assigned the following identification (rs) numbers: 120032890 (FGG 9163C>T), 120032885 (FGG 3977T>C), 120032888 (FGG 7337C>T), 120032886 (FGA 4075T>A), and 120032887 (FGA 7261G>A).

†Reference cluster identification numbers assigned in the SNP database, if previously reported.

‡Codon numbering based on the mature polypeptide chains.

Gene sequencing

Fibrinogen gene sequencing disclosed missense mutations corresponding to all the abnormal LC-MS peaks identified in the 5 CTEPH patients (Table 2). Patients nos. 1 and 2 were found to have 2 mutations each, one of which they had in common with each other and with patient no. 3. Targeted sequencing of genomic DNA from each of the 21 healthy controls was performed to search for the missense mutations that had been identified in the CTEPH patients. The search disclosed none of these mutations.

Fibrinogen_{San Diego I}: compound of heterozygous γ R375W (associated with excessive $\beta\beta$ and γ chain disialylation) and heterozygous $\beta\beta$ P235L

CTEPH patient no. 1 exhibited a much higher percentage of disialylated $\beta\beta$ chains (77.3%) and disialylated γ chains (56.0%) than the controls (40.8% \pm 8.3% and 25.3% \pm 6.6%, respectively) on mass spectrometry (supplemental Figure 2). DNA sequencing disclosed a heterozygous C>T substitution in exon 9 of the patient's *FGG* gene, resulting in a R375W amino acid substitution in the γ chain (corresponding to an R401W substitution in the precursor polypeptide). The mass difference affected by this substitution (-30 Da) was not reflected in the γ chain mass spectrum. However, fibrinogen molecules with this type of variant

γ chain never reach the circulation,¹⁸⁻²⁰ but contribute to excessive disialylation of otherwise normal $\beta\beta$ and γ chains (Figure 1). The $\beta\beta$ P235L variant also found in this patient is described in "Fibrinogen_{San Diego II}: heterozygous $\beta\beta$ P235L."

Fibrinogen_{San Diego II}: compound of heterozygous γ Y114H and heterozygous $\beta\beta$ P235L

The γ chain of patient no. 2 disclosed a variant peak pattern that was 28 Da lighter than expected (supplemental Figure 3). DNA sequence analysis revealed a heterozygous T>C substitution in exon 5 of the patient's *FGG* gene, resulting in a Y114H amino acid substitution in the fibrinogen γ chain (corresponding to a Y140H substitution in the precursor polypeptide). This mutation localizes to the coiled coil region of fibrinogen (Figure 1). The predicted mass difference affected by this substitution is -26 Da. The $\beta\beta$ P235L variant also found in this patient is described in "Fibrinogen_{San Diego III}: heterozygous $\beta\beta$ P235L."

Fibrinogen_{San Diego III}: heterozygous $\beta\beta$ P235L

The $\beta\beta$ chain from patients nos. 1, 2, and 3 exhibited a variant peak pattern that was 15 Da heavier than expected (supplemental Figure 4). DNA sequencing disclosed that all 3 CTEPH patients had the same heterozygous C>T substitution in exon 5 of the *FGG* gene.

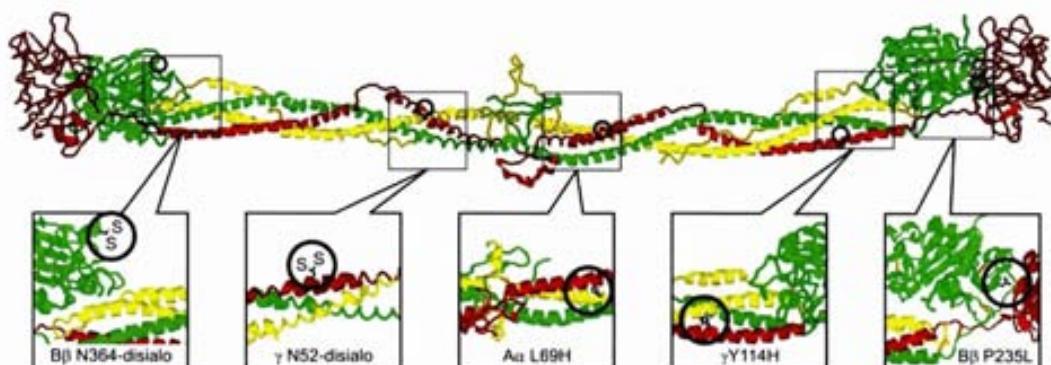


Figure 1. Structural locations of fibrinogen variants in patients with CTEPH. The positions of the alterations expected from the various mutations are illustrated on a ribbon model of chicken fibrinogen.²¹ In fibrinogen_{San Diego I}, the oligosaccharides attached to $\beta\beta$ -Asn-364 and γ -Asn-52 are excessively disialylated, which imparts negative charges to the regions, thereby promoting the formation of "thin" fibrin fibers.^{22,23} A similar situation exists for fibrinogen_{San Diego II} (Al R554H), in which the arginine→histidine substitution would also reduce the net charge in that region (not shown because it occurs in a region too flexible for crystallographic resolution). In fibrinogen_{San Diego II} (γ Y114H) and fibrinogen_{San Diego III} (Al L69H) the substitutions result in the insertion of a polar imidazole side chain within the "helix-permissive" hydrophobic center of the coiled coil,²⁴ which could disrupt the molecular structure. In fibrinogen_{San Diego III}, the $\beta\beta$ P235L substitution occurs at an articulation site in the BC region that ordinarily allows exposure of a 1-Pt binding site within the coiled coil. Substitution of leucine for the conformationally rigid proline in this area could affect the flexibility between the BC region and the coiled coil,¹⁴ which normally allows exposure of a region (circumAsn-157) that has been implicated in the activation of 1-Pt by fibrin.²⁵

Table 3. Clinical characteristics of CTEPH patients with fibrinogen variants

Patient ID	Fibrinogen variant	Age, y/sex	History*	Severity†	Duration of symptoms	PVR, dyne/cm ²		Plasma fibrinogen mg/dL	
						Preop	Postop	Class‡	Antigen
1	San Diego I	23M	No	Severe	7 y	311	157	94	96
2	San Diego II	45F	No	Moderate	9 mo	1175	378	319	317
3	San Diego III	54F	Yes	Mild	18 mo	1570	172	260	244
4	San Diego IV	49M	Yes	Mild	20 mo	679	166	N/A	N/A
5	San Diego V	33F	No	Moderate	8 mo	772	242	387	451

PVR indicates pulmonary vascular resistance; and N/A, not available.

*Family history of acute thrombosis.

†Severity of initial acute PE: severe indicates unstable in ICU, moderate, hospitalized, and mild, outpatient.

resulting in a P235I amino acid substitution in the B β chain (or P265I substitution in the precursor polypeptide). This mutation localizes to the globular "D" region of fibrinogen (Figure 1). The predicted mass difference affected by this substitution is +16 Da.

Fibrinogen San Diego IV: heterozygous A α L69H

The A α chain of patient no. 4 disclosed a variant peak pattern that was 24 Da heavier than expected (supplemental Figure 5). DNA sequence analysis revealed a heterozygous T>A substitution in exon 3 of the FGA gene, resulting in an L69H amino acid substitution in the A α chain (an L88H substitution in the precursor polypeptide). This mutation localizes to the coiled coil region of fibrinogen (Figure 1) and the predicted mass difference affected by this substitution is +24 Da.

Fibrinogen San Diego V: heterozygous A α R554H

The A α chain of patient no. 5 disclosed a variant peak pattern that was 17 Da lighter than that expected for the common A α T312A polymorphism²⁶ (supplemental Figure 6). In addition to the T312A polymorphism, DNA sequence analysis disclosed a heterozygous G>A substitution in exon 5 of the FGA gene, resulting in a R554H amino acid substitution in the A α chain (an R573H substitution in the precursor polypeptide). This mutation localizes to a region near the carboxyl terminus of the A α chain outside of the globular D region. The observed mass difference is consistent with both genetic variants residing on the same allele in this patient.

Frequency of CTEPH-associated mutations among patients with VTE and in the general population

The MEDLINE search and subsequent bibliography review disclosed 86 candidate references, only one of which met the predetermined criteria for subject similarity, design, enrollment methodology, and quality.²⁷ This publication enrolled 474 consecutively diagnosed patients with objectively confirmed first episodes of deep vein thrombosis (57.4% women) and 474 controls frequency matched for sex and age. However, the selected study did not report complete sequencing of all exons from all 3 fibrinogen genes. The study included only haplotype tagging of single nucleotide polymorphisms (htSNPs) that were common among the healthy subjects of European descent ($n = 23$) reported in the Seattle SNPs database. These polymorphisms did not include the mutations responsible for the 5 CTEPH-associated dysfibrinogenemias identified in the current study. In fact, the common A α T312A variant (observed with an allele frequency of 20% in the referenced Seattle SNPs sample) was the only single nucleotide polymorphism studied that occurred in a coding region of the fibrinogen genes.

Clinical characteristics of CTEPH patients with variant fibrinogens

The clinical characteristics of CTEPH patients with variant fibrinogens are presented in Table 3. Three of the 5 patients had documented histories of previous venous thromboembolism, but no other systemic thrombotic disorders. None of the 5 patients had clinical, radiographic, or laboratory evidence of cirrhosis, liver dysfunction, or amyloidosis. Although severe hepatic dysfunction has been present in patients previously reported with heterozygous γ R375W,¹⁸⁻²⁰ our patient had no clinical manifestations of liver dysfunction and only a slight (<10%) increase in alanine aminotransferase upon presentation. Serum albumin, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, and bilirubin levels were normal.

Plasma fibrinogen levels were measured in 4 of the 5 patients with mutations (Table 3). Patient no. 1 had plasma fibrinogen levels that were just under half the lower limit of normal. Patients nos. 2, 3, and 5 had normal fibrinogen levels. There was insufficient plasma available to assay the fibrinogen levels of patient no. 4, who had been lost to follow up before further blood samples could be obtained; however, based on the yield of purified fibrinogen, hypofibrinogenemia in this patient seems unlikely.

Fibrin clot turbidity and susceptibility to lysis

Analysis of the purified variant fibrinogens by SDS PAGE under reducing conditions revealed typical heterogeneity of the A α chains but no evidence of degradation of the fibrinogen chains (Figure 2). Turbidimetric clot lysis assays revealed abnormalities in fibrin clot turbidity, susceptibility to lysis, or both (Figure 3). Relative clot turbidities and lysis rates determined from the lysis

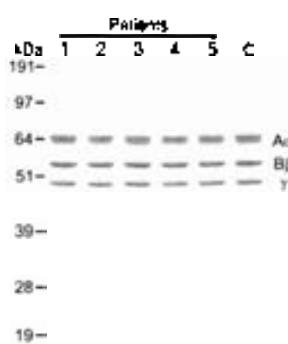


Figure 2. Analysis of purified fibrinogen. Samples of variant fibrinogen (1 μg) from CTEPH patients (patients nos. 1-5) as well as normal fibrinogen from a representative healthy control (C) were subjected to SDS PAGE (10% reducing gel) followed by staining with Coomassie blue. Mobilities of the fibrinogen chains (A α , B β , γ) and molecular mass markers (kilodaltons) are shown.

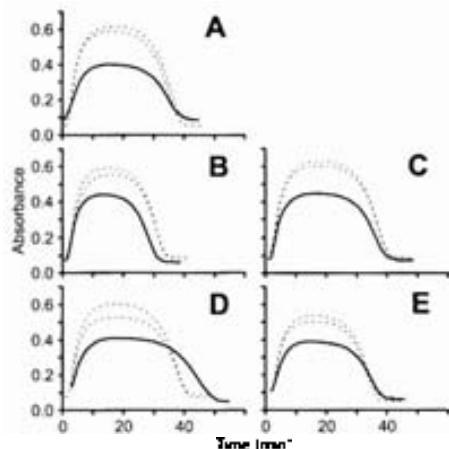


Figure 3. Turbidometric clot lysis curves. Fibrin clot polymerization/lysis curves for each patient (solid line) were generated in parallel with 2 different healthy controls (dotted lines) by measuring absorbance at 405 nm at 1-minute intervals for 1 hour of room temperature. Each panel represents a separate experiment and each experiment was repeated 2 to 3 times. A representative experiment for each fibrinogen variant is shown: (A) Fibrinogenase def. B β P235L/r375W; (B) Fibrinogenase def. B β P235L/γ Y114H; (C) Fibrinogenase def. B β P235L; (D) Fibrinogenase def. γ A α L69H; (E) Fibrinogenase def. γ A α P554H.

curves as described in "Turbidimetric fibrin clot lysis assay" for each of the variant fibrinogens are presented in Table 4.

As an independent measure of clot lysis, t-PA-mediated release of B knob-containing peptide from preformed fibrin clots was also evaluated. In general, there was a reasonably good concordance between the lysis rate and B knob release for each patient (Table 4).

Discussion

CTEPH is an uncommon disease caused by the persistence of pulmonary thromboemboli and eventual organization into intramural scars. We observed 5 dysfibrinogenemias in our group of 33 CTEPH patients. The prevalence of dysfibrinogenemia in our sample was 15% (95% confidence interval, 3%-27%). Although the prevalence of fibrinogen mutations in the general population has not been determined, 454 variants (of any type) have been reported in the Groupe d'Etudes sur l'Hémostase et la Thrombose (GÉHT; Study Group on Hemostasis and Thrombosis) international database^{28,29} by the time of this writing.

The γ R375W mutation had been previously reported in a family without thrombotic disease.^{18,19} An additional 2 mutations that we found have been previously reported in the NCBI SNP database. The B β P235L mutation (rs6054) occurred with a frequency of 9.1% in our cohort of CTEPH patients, which is 11 times the frequency of heterozygotes reported in the database (0.8%). A previously published series, which had not been included in our structured literature review, found the B β P235L mutation with an allele frequency of 5% among 31 healthy subjects enrolled

in New Zealand.²⁰ The differences in the frequencies of the B β P235L mutation between that sample and the population samples included in the NCBI database, our own healthy subjects, and the reports included in our literature review are as yet unexplained. The γ Y114H polymorphism (rs2066870) occurred with a frequency of 3.0% in our cohort of CTEPH patients. The overall average frequency for heterozygous rs2066870 was not computed in the SNP database, but in a sample composed of approximately 50% persons of African descent, the frequency was 4.8%. Of note, our CTEPH patient with this polymorphism is of African descent. No mutations were found in our healthy control group aside from the common polymorphisms listed in Table 1.

Unfortunately, our structured literature review did not disclose sufficient evidence to determine whether the CTEPH-associated dysfibrinogenemias reported here are associated with VTE itself. The one study that met our criteria for clinical trial methodology did not search for the dysfibrinogenemias that we now report. An additional trial, which enrolled perimenopausal and postmenopausal women with firm-time VTE ($n = 349$) and healthy women controls ($n = 1680$),²¹ was also a haplotype-tagged search for common polymorphisms, which did not include the 5 CTEPH-associated dysfibrinogenemias. In fact, none of the citations produced by our MEDLINE search (regardless of inclusion criteria) reported an association between the CTEPH-associated mutations we discovered and acute VTE itself.

The unusually high prevalence of these 5 dysfibrinogenemias in CTEPH patients raises the possibility that they have in common the capacity to impair resistance to the fibrinolytic mechanisms that normally lead to resolution of pulmonary thromboemboli. Modeling¹³ of the regions affected by fibrinogen_{αα}Arg114γ_γ within the structure of fibrinogen determined by x-ray crystallography discloses potential mechanisms by which each mutant could influence the structure of the fibrin clot (Figure 1). Our turbidity data suggest that the mutations may lead to "thin" fibrin fibers,^{17,22} which contain relatively few lateral protofibril associations (Table 4, Figure 3). Such fibers form clots that are transparent and more resistant to lysis than opaque clots composed of "thick" fibers.¹² We speculate that alterations in net charge caused by oversialylation in fibrinogen_{αα}Arg114γ_γ or the arginine to histidine substitution in fibrinogen_{αα}Arg114γ_γ might cause abnormalities in fibrin polymerization. In fibrinogen_{αα}Arg114γ_γ and fibrinogen_{αα}Arg114γ_γ, perturbations of the basic structure of the fibrin coiled coils, the regions targeted by fibrinolytic enzymes, might lead to fibrinolytic defects. Finally, the conformational changes resulting from fibrinogen_{αα}Arg114γ_γ could interfere with the binding of lytic agents to fibrin.

Our findings are consistent with a previous report of another heterozygous fibrinogen mutation associated with CTEPH, fibrinogen Bellingham (γ R275C).²² This variant is associated with a relative resistance to t-PA-mediated fibrinolysis, presumably related to steric interference with the normal polymerization/cross-linking structure due to the cysteine residue or a structure bound to

Table 4. Fibrin clot turbidity and lysis

Fibrinogen variant	Amino acid substitution	Turbidity, % of control	Lysis rate, % of control	B knob release, % of control
San Diego I	B β P235L/γ R375W	59.3	56.9	66.3
San Diego II	B β P235L/γ Y114H	77.1	78.1	64.8
San Diego III	B β P235L	71.3	70.7	73.0
San Diego IV	γ A α L69H	74.2	55.2	49.0
San Diego V	γ A α P554H	71.9	64.6	80.2

it. Interestingly, relatives and other individuals with the γ R275C polymorphism alone did not develop CTEPH. The mutation was not sufficient to cause CTEPH; rather, CTEPH required the combination of acute PE (in the reported case, due to knee replacement surgery) as well as an additive thrombogenic genetic risk factor along with the resistance to fibrinolysis.

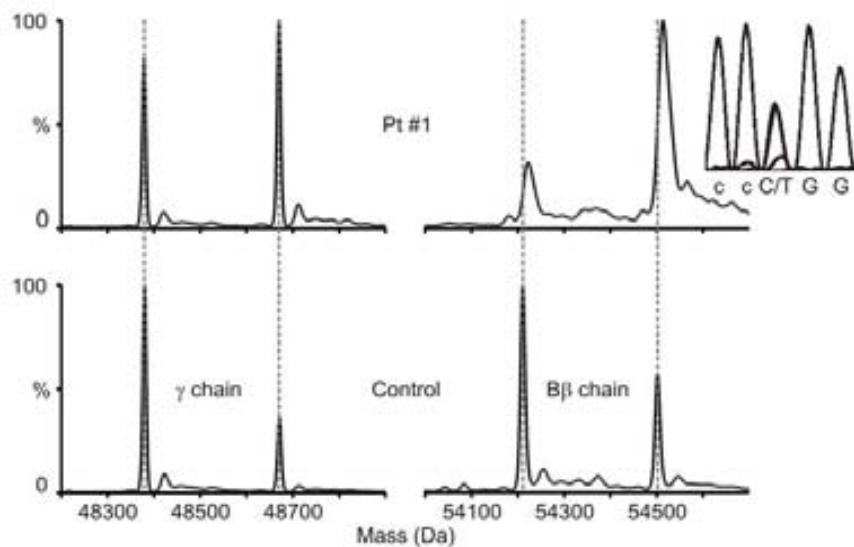
Although the molecular alterations we describe for the mutations are speculative, it seems unlikely that they occurred by coincidence in our small sample of patients with an extreme manifestation of unresolved pulmonary thromboembolism. It is more likely that the rare mutations we report are implicated in the development of CTEPH after acute pulmonary embolism. The fact that fibrinogen variants were not observed in all of the patients who we studied makes it likely that other clinical factors also contribute to this disease progression. Nevertheless, our findings support the conclusion that incomplete lysis by any number of means may predispose to CTEPH.

Our findings may also be relevant to PE patients who have not developed CTEPH, per se. After a PE, thrombotic material in the pulmonary arteries either resolves by fibrinolysis or is remodeled into organized scars. The extent to which remodeling occurs, and the severity of the resulting vascular obstruction, varies among patients. In some, lung perfusion is rapidly restored,³⁴ although the resolution in the first week is typically incomplete. Recovery continues at a slower pace for the next 1 to 2 months,^{35,36} during which clot remodeling may be occurring. Residual defects persist commonly beyond this period, suggesting that the clots have been remodeled into permanent vascular scars.³⁷ Long-term follow-up studies have consistently demonstrated that incomplete perfusion recovery, even years after acute PE, occurs in one-third to more than two-thirds of patients.^{38,41} Up to 15% of acute PE patients remain symptomatically compromised 2 years after treatment⁴² and may have abnormal pulmonary gas exchange (O_2 gradients, dead space, etc) as well.⁴³ These findings suggest that incomplete clot resolution has clinical manifestations in a significant proportion of acute PE patients, the most severe of which is CTEPH. We are currently organizing clinical studies to determine whether the fibrinogen variants we discovered would predict incomplete clot resolution in patients presenting with acute PE.

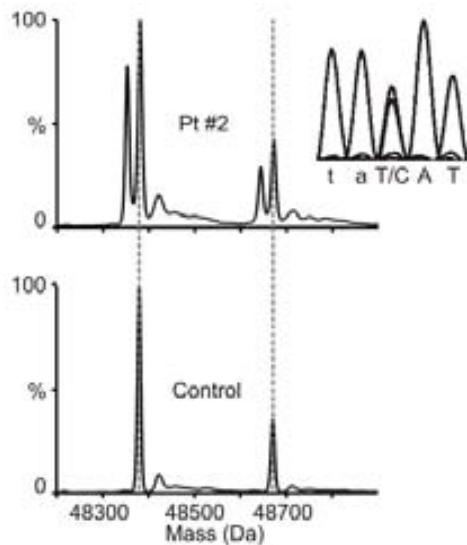
References

1. Fedullo PF, Rubin LJ, Kenney KM, Auger WR, Charnock RN. The natural history of acute and chronic thromboembolic disease: the search for the missing link. *Eur Respir J*. 2000;15(3):435-437.
2. Jamieson SW, Kapelaraki DP, Sakakibara N, et al. Pulmonary endarterectomy: experience and lessons learned in 1,500 cases. *Ann Thorac Surg*. 2003;76(5):1457-1462, discussion 1482-1454.
3. Morris TA, Marsh JJ, Chiles PG, Auger WR, Fedullo PF, Woods VL Jr. Fibrin derived from patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension is resistant to lysis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;178(11):1270-1275.
4. National Heart, Lung, and Blood Institute. Seattle SNPs. <http://hmpc.sjhs.washington.edu>. Accessed May 22, 2009.
5. National Center for Biotechnology Information Single Nucleotide Polymorphism. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>. Accessed May 22, 2009.
6. Fedullo PF, Auger WR, Kenney KM, Rubin LJ. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *N Engl J Med*. 2001;345(20):1465-1472.
7. Bernard J, Yi ES. Pulmonary thromboendarterectomy: a clinicopathologic study of 200 consecutive pulmonary thromboendarterectomy cases in one institution. *Hum Pathol*. 2007;38(6):871-877.
8. Morris TA, Marsh JJ, Chiles PG, et al. Abnormally stabilized fibrinogen gamma-chains in a patient with chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Thromb Haemost*. 2007;100(2):257-259.
9. Beuermann RE, Henschel AH. Human fibrinogen polymorph site analysis by restriction endonuclease digestion and allele-specific polymerase chain reaction amplification: identification of polymorphisms at positions A alpha 312 and B beta 448. *Blood*. 1993;82(7):2117-2124.
10. National Library of Medicine. MFDLINE. <http://medlineplus.gov>. Accessed February 21, 2009.
11. Snijders-van der Meij CM. Methods for pooled analyses of epidemiologic studies. *Epidemiology*. 1993;4(4):295-302.
12. Moreno V, Martin ME, Beach FX, de Sanjose S, Torres F, Munoz N. Combined analysis of matched and unmatched case-control studies: comparison of risk estimates from different studies. *Am J Epidemiol*. 1996;143(3):293-300.
13. Jones TA, Zou JY, Cowan SW, Kyrgiakos M, Im proved methods for building protein models in electron density maps and the location of errors in these models. *Acta Crystlogr A*. 1991;47(6):110-119.
14. Yang Z, Machalkin I, Doolittle RF. A model of fibrin formation based on crystal structures of fibrinogen and fibrin fragments complicated with synthetic peptides. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(26):14156-14161.
15. Yang Z, Kallman JM, Pandi L, Doolittle RF. Crystal structure of native chicken fibrinogen at 2.7 Å resolution. *Biochemistry*. 2001;40(42):12515-12523.
16. Brennan SD. Electrospray ionization analysis of human fibrinogen. *Thromb Haemost*. 1997;78(3):1055-1058.
17. National Center for Biotechnology Information. GenBank. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank>. Accessed April 10, 2007.
18. Rubia-Brandt L, Neerman-Arbal M, Rougemont AL, Maie PJ, Spahr L. Fibrinogen gamma375 arg>Ile mutation (fibrinogen agaudia) causes hereditary hypofibrinogenemia, hepatic endoplasmic reticulum storage disease and arthrosis. *Am J Surg Pathol*. 2006;30(7):906-911.

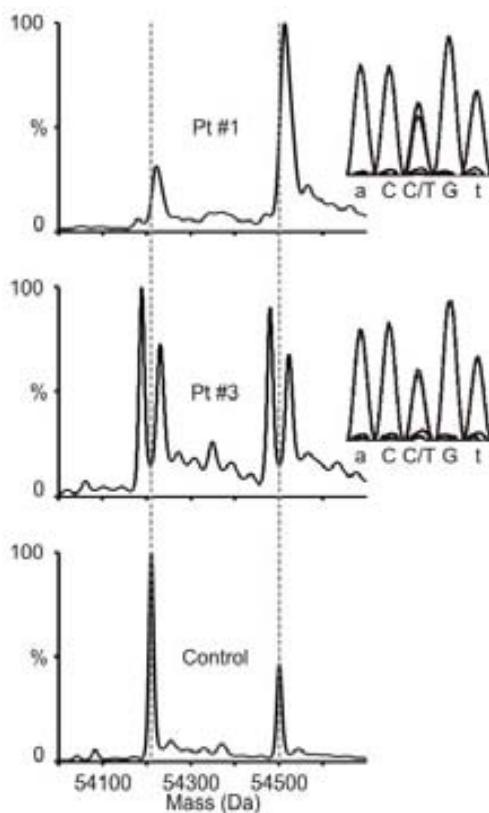
19. Brennan SO, Maghazal G, Shneider BL, Gordon A, Magid MS, George PM. Novel fibrinogen gamma375Arg → Trp mutation (fibrinogen aguadile) causes hepatic endothelial microcalcification storage and hypofibrinogenemia. *Hepatology* 2002; 36(3):652-658.
20. Francalanci P, Santorelli FM, Tafani I, et al. Severe liver disease in early childhood due to fibrinogen storage and de novo gamma375Arg → Trp gene mutation. *J Pediatr* 2006;148(3):395-398.
21. Yang Z, Mochalin I, Veerapandian L, Piley M, Doolittle RF. Crystal structure of native chicken fibrinogen at 5.5 Å resolution. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(8):3907-3912.
22. Martinez J, Palascak J, Pelizzetti C. Functional and metabolic properties of human adult fibrinogen. *J Lab Clin Med* 1977;89(2):367-377.
23. Langer BG, Wiesel JW, Dinarello PA, Nagaswami C, Bell WR. Deglycosylation of fibrinogen accelerates polymerization and increases lateral aggregation of fibrin fibers. *J Biol Chem* 1988; 263(29):15056-15063.
24. Doolittle RF, Cassman KG, Correll BA, Friesner SJ, Takagi T. Amino acid sequence studies on the alpha chain of human fibrinogen. Covalent structure of the alpha-chain portion of fragment Q. *Biochemistry* 1977;16(8):1710-1715.
25. Schepler JL, Adams HP, Voskuilen M, Tesser GU, Nieuwenhuis W. Structural requirements of position Alpha-157 in fibrinogen for the thrombin-induced rate enhancement of the activation of plasminogen by tissue-type plasminogen activator. *Biochem J* 1981;276(pt 3):655-659.
26. Scott EM, Ariosa RA, Grant PJ. Genetic and environmental determinants of fibrin structure and function: relevance to clinical disease. *Antioseptif Thromb Vasculat* 2004;24(9):1586-1588.
27. Little de Wilge S, de Vos MC, Houwing-Duistermaat JJ, Rosendal FR, Vos HL, Berntorp EM. Genetic variation in the fibrinogen gamma gene increases the risk for deep venous thrombosis by reducing plasma fibrinogen gamma levels. *Blood* 2005;106(13):4176-4183.
28. French Society of Haematology Study Group on Haemostasis and Thrombosis (GEHT). http://geht.org/pages?page_id=21. Accessed February 21, 2009.
29. Hanes M, Biot F. A database for human fibrinogen variants. *Ann N Y Acad Sci* 2001;936:89-99.
30. Brennan SO, Fellowes AP, Faed JM, George PM. Hypofibrinogenemia in an individual with 2 coding (gamma372A → G and Bbeta235 P → L) and 2 non-coding mutations. *Blood* 2000;95(5):1709-1713.
31. Smith NL, Hindorf LA, Hackeber SR, et al. Association of genetic variations with nonfatal venous thromboembolism in postmenopausal women. *JAMA* 2007;297(5):489-498.
32. Carr ME, Jr., Alving RM. Effect of fibrin structure on plasmin-mediated dissolution of plasma clots. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1995;6(6):567-573.
33. Linenberger ML, Kindred J, Benner RL, Reiner AP, Cobb HC. Fibrinogen bellington: a gamma-chain R275C substitution and a beta-promoter polymorphism in a thrombotic member of an asymptomatic family. *Am J Hematol* 2000;64(4): 242-250.
34. James WS, Jr, Mann SJ, Messer KM. Rapid resolution of a pulmonary embolus in man. *West J Med* 1978;128(1):60-64.
35. Osten JE, Banas JS, Brooks HL, Evans GL, Paraskevas JA, Dexter L. Resolution rate of acute pulmonary embolism in man. *N Engl J Med* 1969;260(22):1194-1199.
36. Tow DE, Wagner HN Jr. Recovery of pulmonary arterial blood flow in patients with pulmonary embolism. *N Engl J Med* 1967;270(19):1053-1059.
37. Waniski M, Collignon MA. Incomplete recovery of lung perfusion after 3 months in patients with acute pulmonary embolism treated with anti-thrombotic agents. "HESEE Study Group: Tinzaparin ou Heparin Standard. Evaluation dans l'Embole Pulmonaire Study". *J Nucl Med* 2000; 41(6):1043-1048.
38. Paraskevas JA, Adelstein SJ, Smith RE, et al. Late prognosis of acute pulmonary embolism. *N Engl J Med* 1973;289(2):55-58.
39. Hall RJ, Sutton GC, Kerr IH. Long-term prognosis of treated acute massive pulmonary embolism. *Br Heart J* 1977;39(10):1128-1134.
40. Sutton GC, Hall RJ, Kerr IH. Clinical course and late prognosis of treated subacute massive, acute minor, and chronic pulmonary thromboembolism. *Br Heart J* 1977;39(10):1135-1142.
41. De Seyze ND, Murphy MI. Persistent post-embolic pulmonary hypertension. *Chest* 1972; 62(6):665-668.
42. Phear D. Pulmonary embolism: a study of late prognosis. *Lancet* 1960;2:837-838.
43. Prediletto R, Paolletti P, Formai E, et al. Natural course of treated pulmonary embolism. Evaluation by perfusion lung scintigraphy, gas exchange, and chest scintigraphy. *Chest* 1990; 97(3):554-561.
44. Morris TA, Magana MM, DeSantis DJ, et al. A possible mechanism for chronic thromboembolic pulmonary hypertension: excessive sialylation of the fibrinogen γ chain [abstract]. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:A999.
45. Marsh JJ, Chiles PG, Soler X, DeSantis DJ, Woods VL Jr, Morris TA. A mutation affecting the t-PA binding domain of fibrinogen (fibrinogen San Diego III) in patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension [abstract]. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;177:A180.
46. Marsh JJ, Chiles PG, Magana MM, DeSantis DJ, Woods VL Jr, Morris TA. Two mutations in the coiled coil region of fibrinogen in patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension [abstract]. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;177: A180.
47. Morris TA, Marsh JJ, Magana MM, et al. Fibrinogen mutations are common among patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension [abstract]. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;177: A185.
48. Morris TA, Magana MM, Marsh JJ, Chiles PG, DeSantis DJ, Woods VL Jr. Heterozygous fibrinogen γ-375 Arg-Trp mutation associated with resistance to tPA-mediated fibrinolysis and chronic thromboembolic pulmonary hypertension [abstract]. *J Thromb Haemost* 2007;5(suppl 2): P-W-387.
49. Morris TA, Magana MM, Marsh JJ, et al. Heterozygous fibrinogen γ-375 Arg-Trp mutation associated with excessive sialylation, plasmin resistance and chronic thromboembolic pulmonary hypertension [abstract]. *J Thromb Haemost* 2007;5(suppl 2): P-W-388.

FIGURAS SUPLEMENTARIAS

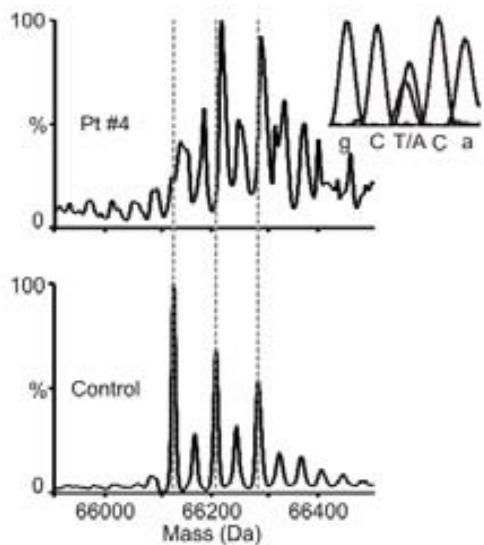
Supplement Figure 1. Fibrinogen_{San Diego I}. The B β and γ chain mass spectra from patient #1 are compared to those of a typical control. The predominant peaks represent the mono and disialylated isoforms of each chain (mono- and disialylation of the biantennary oligosaccharides linked to B β Asn-364 and γ Asn-52). In patient #1, the B β and the γ chains have a higher proportion of the di-sialylated (291 Da heavier peaks) chain compared to all controls. Gene sequencing disclosed a heterozygous C→T mutation in exon 9 of the FGG gene (inset), resulting in an arginine to tryptophan substitution at γ -375 of the mature polypeptide chain. The codon affected by the mutation is in capital letters. Vertical dashed lines denote positions of the predominant peaks in the typical control mass spectrum, which result from mono- and di-sialylation of each chain.



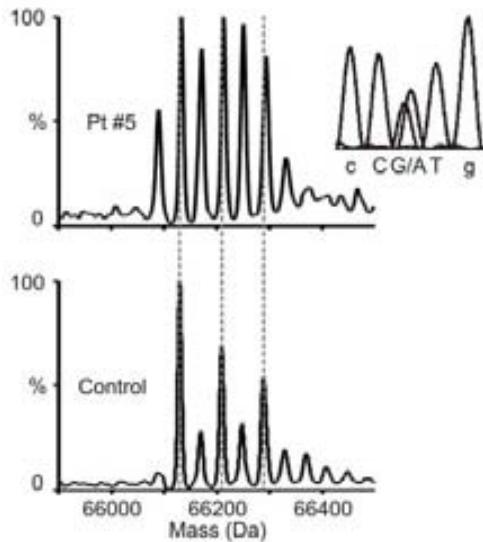
Supplement Figure 2. Fibrinogen_{San Diego II}. The γ chain mass spectrum from patient #2, compared to that of a typical control, disclosed an additional peak pair 28 Da lighter than the typical peak pair observed in both the patient and the control. Gene sequencing disclosed a heterozygous T→C mutation in exon 5 of the FGG gene (inset) resulting in a tyrosine to histidine substitution at γ -114 of the mature polypeptide chain. The mass change affected by this substitution (-26 Da) is in close agreement with the mass difference between the atypical and typical peak pairs in the patient's mass spectrum. The codon affected by the mutation is in capital letters. Vertical dashed lines denote positions of the predominant peaks in the typical control mass spectrum, which result from mono- and di-sialylation of the γ chain.



Supplement Figure 3. Fibrinogen_{San Diego III}. The B β chain mass spectrum from patient #1, compared to that of a typical control, disclosed a predominant peak pair slightly heavier (14 Da) and wider than the peak pair from the control. The B β chain mass spectrum from patient #3, who was heterozygous for the common B β R448K polymorphism, allowed resolution of an additional peak pair 15 Da heavier than the typical peak pair in the control. Gene sequencing disclosed a heterozygous C→T mutation in exon 5 of the FGB gene from both patients (insets), resulting in a proline to leucine substitution at B β -235 of the mature polypeptide chain. The mass change affected by this substitution (+16 Da) is in close agreement with the mass difference between the atypical peak pair in both patients and the typical peak pair in the control. The codon affected by the mutation is in capital letters. Vertical dashed lines denote positions of the predominant peaks in the typical control mass spectrum, which result from mono- and di-sialylation of the B β chain.



Supplement Figure 4. Fibrinogen_{San Diego IV}. The A α chain mass spectrum from patient #4, compared to that of a typical control, disclosed a peak pattern 22 Da heavier than the typical peak pattern observed in the control. Gene sequencing disclosed a heterozygous T \rightarrow A mutation in exon 3 of the FGA gene, resulting in a leucine to histidine substitution at A α -69 of the mature polypeptide chain (inset). The mass change affected by this substitution (+24 Da) is in close agreement with the mass difference between the atypical and typical peak patterns observed in the patient's spectrum. The codon affected by the mutation is in capital letters. Vertical dashed lines denote positions of the predominant peaks in the typical control mass spectrum, which result from non-, mono-, and di-phosphorylation of the A α chain.



Supplement Figure 5. Fibrinogen_{San Diego V.} The A α chain mass spectrum from patient #5 disclosed an additional (atypical) peak pattern 45 Da lighter than the typical peak pattern observed in both the patient and the control. Gene sequencing disclosed the common heterozygous A α T312A polymorphism (not shown) and a second heterozygous G→A mutation in exon 5 of the FGA gene (inset), resulting in an arginine to histidine substitution at A α -554 of the mature polypeptide chain. The mass change affected by both substitutions (-49 Da) is in close agreement with the mass difference between the atypical and typical peak patterns observed in the patient's spectrum. The codon affected by the mutation is in capital letters. Vertical dashed lines denote positions of the predominant peaks in the typical control mass spectrum, which result from non-, mono-, and di-phosphorylation of the A α chain.

PARTE 3

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Capítulo 10

Discusión

El estudio mediante isótopos radiactivos ha sido utilizado desde hace casi cuarenta años para la evaluación y cuantificación de la ventilación así como de la perfusión pulmonares.^{34,48,61-64} La tomografía de perfusión o SPECT (de *Single Photon Emission Computerized Tomography*) no es más que la evolución tecnológica de la gammagrafía bidimensional o modo planar. El SPECT es una adquisición más sofisticada de la imagen que permite la reconstrucción y evaluación tridimensional. A pesar de ello, su uso no se ha generalizado como cabría esperar en el diagnóstico de las enfermedades neumológicas. Otras especialidades médicas como la cardiología o la neurología adoptaron rápidamente su uso para el estudio de perfusión del corazón y cerebro respectivamente. Probablemente uno de los motivos ha sido la aparición de forma casi simultánea de sistemas avanzados de rayos X como la tomografía computerizada de alta resolución (MDCT por el acrónimo de *multidetector computerized tomography*) y la MDCT con contraste (angio-TC o CTPA por *computerized tomography pulmonary angiography*). Además se ha sugerido recientemente que la resonancia magnética nuclear (RNM) también puede ser útil para el estudio de la perfusión y ventilación pulmonar.^{37,65} Existe por lo tanto una pugna entre técnicas de imagen, sobre todo entre las técnicas de medicina nuclear y la CTPA, en la evaluación del paciente con sospecha de tromboembolismo pulmonar (TEP).

La prueba de referencia para la evaluación del embolismo pulmonar es la angiografía pulmonar (PA).³⁹ Aunque sigue siendo el *gold standard*, su morbi-mortalidad asociada deben limitar su uso al mínimo imprescindible.^{39,66} Además, es importante tener en cuenta que no es una técnica infalible, por ejemplo Baile demostró una sensibilidad del 87% y un valor predictivo positivo del 88% en un modelo animal.⁶⁷ Además, no está siempre disponible y su realización requiere de una

gran especialización. Todo ello ha obligado en los últimos años a desarrollar otras pruebas de imagen no invasivas para la evaluación de material trombótico en el interior del árbol vascular pulmonar.

El primer gran estudio diseñado para evaluar la sensibilidad de la gammagrafía en el diagnóstico del TEP fue el *Prospective Investigation of Pulmonary Embolism Diagnosis trial* (PIOPED), en el que se realizó una gammagrafía en modo planar y a continuación la angiografía pulmonar.⁴⁰ Los resultados se dividieron en categorías de probabilidad, es decir: alta, intermedia o baja probabilidad de padecer un episodio de TEP. Sin embargo, en este primer estudio un 59% de pacientes con PA positiva no tenían una gammagrafía de alta probabilidad, la mayoría de los pacientes tuvo un diagnóstico indeterminado o de baja probabilidad y la capacidad de diagnóstico fue baja sobretodo en los pacientes afectados de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) o en pacientes con radiografía de tórax anormal con respecto a la angiografía lo que cuestionó, al menos en parte su utilidad. Más tarde, el estudio PISA-PED tuvo en consideración información complementaria como datos clínicos o de laboratorio antes de la realización del estudio de perfusión, con un aumento significativo de la sensibilidad.⁶⁸⁻⁷¹ De ésta manera, con la aparición de una prueba no invasiva útil para el diagnóstico de la enfermedad tromboembólica como la gammagrafía de perfusión planar, la PA pasó a ser una prueba confirmatoria en casos dudosos graves en el TEP agudo o en la evaluación del tromboembolismo crónico.³⁴ Desde entonces la aparición de nuevas técnicas de imagen o avances tecnológicos en los estudios de perfusión mediante gamma-cámara han intentado detectar de forma más sensible y específica los defectos de perfusión o ventilación.

El SPECT permite la reconstrucción tridimensional *in vivo* de la distribución de la radioactividad en el pulmón. Ello es posible porque la adquisición de datos se realiza en todo el arco del espacio y permite una valoración más precisa de algunos segmentos pulmonares que son difíciles de visualizar con las seis u ocho imágenes del modo planar. Los datos adquiridos se utilizan para la reconstrucción computerizada de una imagen tridimensional que representa la distribución del radiotrazador. Los aparatos de SPECT disponen de varias cabezas o cámaras que permiten una rápida adquisición de todas las imágenes. Típicamente, se requieren unos 20 minutos para su realización, por lo que el tiempo de adquisición de la imagen no difiere entre ambas técnicas.⁵² La capacidad de reproducción espacial de la perfusión pulmonar y la calidad elevada de las imágenes facilita la interpretación de los resultados, con un grado de concordancia inter-observador mayor que en el modo planar.⁵² Además, el SPECT minimiza la superposición de imágenes, una de las fuentes de errores más importantes en el modo planar, y que subestima la extensión de la obstrucción vascular como consecuencia del modo de adquisición de la información.

El SPECT de perfusión es una prueba no invasiva y muy bien tolerada que utiliza una dosis mínima de radiación y que puede ser usada en cualquier tipo de paciente, a diferencia de otros métodos como el CTPA (y por supuesto la angiografía pulmonar) en las que existen contraindicaciones y efectos secundarios.^{33,39,43-45,72} Los marcadores radiactivos utilizados como trazadores son económicos y fáciles de adquirir. Aunque el SPECT tiene una menor resolución espacial que otros métodos y la adquisición de imágenes requiere algo más de tiempo en comparación con el CTPA, permite la realización del estudio de ventilación y de perfusión de todo el pulmón de forma simultánea, lo que no es posible en el CTPA.⁵² Otra característica es que

los marcadores radiactivos permanecen en el pulmón durante cierto tiempo, y permite repetir la prueba en el caso de ser necesario sin tener que inyectar de nuevo los trazadores radiactivos. El SPECT de perfusión permite, además, el estudio fisiológico de la ventilación y perfusión de manera dinámica, por ejemplo se puede estudiar la influencia de los cambios posturales en la distribución de la perfusión, extremo que no es posible mediante otras técnicas estáticas. También es factible realizar estudios fisiológicos en diferentes condiciones de manera seriada como la respuesta fisiológica ante cambios gravitacionales.^{52,73}

La superioridad del SPECT respecto al modo de adquisición de imagen planar para la evaluación de un paciente con sospecha de enfermedad tromboembólica aguda ya ha sido demostrada. Magnussen evaluó el grado de obstrucción en un modelo tomográfico realizado a partir de pulmón de cadáver mediante SPECT. Se usaron 65 simulaciones de obstrucción: 18 defectos completos a nivel segmentario y 47 defectos de perfusión a nivel subsegmentario. Se realizó SPECT de perfusión para cada una de las simulaciones. El SPECT demostró una sensibilidad global del 97%, siendo las mayores diferencias a nivel sub-segmentario.⁵¹ Bajc, usando un modelo artificial computerizado, mostró una sensibilidad del SPECT del 93% frente al 67% en modo planar.⁷⁴ En estudios clínicos, el mismo autor demostró un aumento del 53% en el número de segmentos afectados detectados en el SPECT respecto a la adquisición planar.⁴⁷ Este estudio también mostró que la variabilidad inter-observador era menor usando SPECT que modo planar (96% vs. 78% respectivamente). Otros trabajos también demostraron la utilidad del SPECT.⁷⁵ Reinartz encontró una sensibilidad del 97% y una especificidad del 91% para el SPECT.⁴⁸ Collart y colaboradores estudiaron en una muestra de 114 pacientes con sospecha de TEP y observaron

un aumento en la especificidad (96% vs. 78%, respectivamente) a diferencia de Bajc y cols. Que encontraron diferencias en la sensibilidad.^{45,50} Así pues, el SPECT de perfusión es más sensible y específico en la detección de defectos de perfusión, diferencia que es más acusada si la lesión se produce a nivel subsegmentario.

A pesar de la extensa literatura sobre las nuevas técnicas de imagen en el TEP agudo, existe mucha menos información en el contexto de la hipertensión pulmonar tromboembólica crónica (CTEPH). La CTEPH es una enfermedad grave y compleja con una elevada mortalidad si no es adecuadamente diagnosticada y tratada.¹⁴ Aunque podamos asumir un cierto paralelismo entre el tromboembolismo agudo y crónico, la realidad es que la fisiopatología de la enfermedad no es exactamente la misma por lo que no es prudente evaluarlas de la misma forma. En condiciones normales, después de un episodio de TEP, el coágulo se lisa hasta su completa resolución mediante el proceso de fibrinólisis. Sin embargo la resolución completa ocurre en un menor porcentaje de casos de lo esperable. Diferentes estudios cifran la resolución del trombo solamente entre el 50% y el 70% de los episodios agudos, hecho que se mantiene meses o años tras el episodio agudo.^{60,76-79} En ocasiones, el coágulo va a persistir en el lecho vascular pulmonar y como consecuencia aparece hipertensión pulmonar secundaria. El riesgo de CTEPH se ha cifrado en el 3.8% a los dos años del episodio de TEP.¹⁰ Se han descrito algunos posibles factores de riesgo para la CTEPH tales como esplenectomía previa, la presencia de anticoagulante lúpico o la presencia de una derivación ventrículo-peritoneal entre otros. También alteraciones de la coagulación así como factores biológicos, celulares y genéticos pueden estar implicados.^{14,80-82}

Recientemente, nuestro grupo ha descubierto nuevas mutaciones en las cadenas que conforman el fibrinógeno y como consecuencia una posible alteración en la conformación tridimensional del coágulo que la hace más resistente a su lisis.¹⁶ Quizás éste sea un mecanismo que pueda explicar, en algunos pacientes, el paso del episodio agudo al crónico y como consecuencia CTEPH. A pesar de que el trabajo no demuestra la causalidad entre las alteraciones moleculares y el CTEPH, parece poco probable que ocurran por mera coincidencia en nuestra muestra y aunque otros factores son necesarios para el desarrollo de CTEPH, la lisis incompleta del coágulo en los pacientes analizados podría ser parte del mecanismo implicado. Por otra parte, en la CTEPH, también interviene además del factor obstructivo otros factores como la presencia de una arteriopatía periférica y un efecto de remodelado vascular. En las áreas no perfundidas existe también una disminución de la secreción de surfactante pulmonar así como un fenómeno de vasoconstricción secundaria a la hipocapnia local.^{14,83-85}

En la CTEPH es común la presencia de grandes defectos de perfusión por la presencia de material trombótico de predominio central, fácilmente detectados mediante la gammagrafía pulmonar en modo planar o con el CTPA. Sin embargo para la detección de lesiones a nivel más distal o bien para la cuantificación del grado de obstrucción existe una clara ventaja en favor del SPECT.^{43,72,86} El poder acceder a un test suficientemente sensible como el SPECT, que permite la localización de la presencia de material tromboembólico distal, en ramas subsegmentarias, y por tanto, poco accesibles a la cirugía, parece fundamental en la evaluación de un paciente afectado de CTEPH ya que pueden predecir un peor resultado post-quirúrgico o incluso hacerla poco aconsejable.¹⁴

La investigación de nuevas tecnologías en búsqueda de un conocimiento anatómico y funcional más detallado de la magnitud de la enfermedad tromboembólica crónica que permita analizar el alcance del problema es pues, fundamental.

Los resultados presentados en la primera parte de mi trabajo demuestran la superioridad del SPECT de perfusión respecto el tradicional adquisición de imagen en modo planar para la evaluación del grado de oclusión arterial pulmonar en pacientes afectados de CTEPH, siendo el primer trabajo publicado en este grupo de pacientes. El incremento de sensibilidad en nuestro estudio fue del 21%. Todos los segmentos pulmonares mostraron una mejoría de sensibilidad del SPECT respecto al modo planar, con mayores diferencias en lóbulos superiores y segmentos apicales y mediales del lóbulo inferior derecho, donde la gammagrafía planar mostró la menor sensibilidad. A pesar de ello, existen áreas pulmonares en las que ambas pruebas no “ven” de manera adecuada los defectos de perfusión. En nuestro estudio, dicho fenómeno fue más prominente en áreas apicales, sobretodo del pulmón izquierdo. Dichas limitaciones ya han estado descritas con anterioridad.⁴⁸ Una explicación podría ser la diferente distribución del flujo sanguíneo así como de una alteración fisiológica del cociente ventilación/perfusión en las áreas apicales, aunque ambas pruebas fueron realizadas en posición supina para mitigar dicho fenómeno. La presencia de arteriopatía periférica en el contexto de la enfermedad tromboembólica crónica también puede agravar dicho fenómeno así como las propias limitaciones técnicas del SPECT. Por ejemplo, segmentos relacionados anatómicamente con el área mediastínica dificultan la visualización de tromboembolismo tal como también ocurre en el CTPA.⁷²

Nuestros valores de sensibilidad y especificidad son menores a los publicados en la literatura, aunque es importante comentar que la población de estudio no es exactamente la misma (los estudios publicados han sido en el tromboembolismo pulmonar agudo). Una explicación podría ser debido a las diferentes características de nuestro patrón de referencia o *gold standard*. Nuestro estudio ha sido realizado con una aproximación más detallada comparando segmento a segmento, comparados con su *gold standard* para cada una de las pruebas, SPECT y modo planar. Dicha aproximación no ha sido realizada en la población afectada de CTEPH. Actualmente, y como se ha comentado, la PA es la prueba de referencia para la confirmación diagnóstica de la CTEPH a pesar de sus limitaciones.^{14,39,67} Probablemente, una prueba de referencia más exacta sería disponer de la disección anatómica de todo el árbol vascular y evaluar segmento a segmento la presencia o no de material tromboembólico en su interior. Dicha evaluación no puede realizarse pre-quirúrgicamente. Al disponer nuestro centro de un programa de tromboendarterectomía pulmonar (PTE), tuvimos acceso a dicho material extraído quirúrgicamente que fue utilizado como material complementario para nuestro patrón de referencia y, aunque pueda diferir sensiblemente de la realidad “*in situ*”, creemos que ha permitido un acercamiento más real a la magnitud del problema. Así pues, al realizarse una verdadera tromboendarterectomía y no una embolectomía, y por estar el material trombótico completamente organizado, se obtiene un molde real del árbol vascular pulmonar afectado por material tromboembólico. Además, se utilizó la angiografía pulmonar, el informe quirúrgico y el CTPA en el caso de disponer de él. Todo ello conformó nuestro patrón de referencia que nombramos “evaluación clínico-patológica”. Dicha aproximación no ha sido realizada con anterioridad y creemos que supone un avance en la evaluación de los pacientes con CTEPH respecto a estudios realizados con anterioridad.

Una de las limitaciones en nuestro trabajo es el limitado número de pacientes estudiados, aunque la gran diferencia en sensibilidad y su significancia estadística prevén pocos cambios en un grupo mayor de casos. Otra limitación es la utilización de ^{133}Xe para el estudio de la ventilación. Su rápida eliminación del organismo sólo permite el tiempo suficiente para la realización de una proyección (usualmente la posterior) y no permite la adquisición de todas las imágenes necesarias para la reconstrucción mediante el SPECT. El motivo de realizar el estudio mediante este protocolo es

evitar el depósito de material radiactivo a nivel traqueal y en los bronquios principales que puedan interferir en la interpretación de los resultados en el contexto de la CTEPH ya que existe una relación anatómica muy estrecha entre las arterias pulmonares y los bronquios principales. El depósito de trazador radiactivo en las vías aéreas principales compromete la calidad de la imagen.⁴³ Nuevos aerosoles como el Technegas® pueden resolver éste problema, pero su uso aún no está aprobado por la *Food and Drug Administration* en Estados Unidos aunque sí lo está en Europa. Nuestro estudio está basado en el estudio de la perfusión exclusivamente y no de la ventilación en la evaluación del paciente con CTEPH.

Nuestro estudio sobre la utilidad del SPECT respecto al modo planar de adquisición de imagen en los pacientes afectados de CTEPH aporta por lo tanto dos conocimientos novedosos: demuestra la mayor sensibilidad del SPECT respecto al estudio tradicional o planar y, en segundo lugar, definimos una aproximación clínico-patológica como *gold standard* que, probablemente, puede ser utilizado como medida más precisa en los enfermos afectados de CTEPH.

Durante estos años, el CTPA ha emergido como una técnica útil en el estudio del paciente con sospecha de TEP.^{35,36,54,87} algunos autores han postulado que la gammagrafía ha disminuido su utilidad debido a la aparición del CTPA, extremo que ha sido rebatido por varios autores.^{88,89} El estudio tomográfico del árbol vascular pulmonar mediante aparatos de alta resolución se basa en la reconstrucción tridimensional mediante rayos X después de la inyección de contraste yodado por vía endovenosa. La calidad de la reconstrucción anatómica permite detectar material trombótico y aporta además, otras ventajas. El CTPA visualiza de manera directa el trombo en el interior del árbol vascular, a diferencia de las pruebas de imagen indirectas como la gammagrafía de perfusión que adquieren una imagen indirecta de la falta de perfusión. El CTPA permite valorar tromboembolismos que ocluyen parcialmente los vasos pulmonares tanto a nivel central como segmentario y que no ocluyen totalmente la luz. Dichos pacientes pueden tener un estudio gammagráfico planar normal por existir flujo sanguíneo distal al área trombótica.³⁶ Además, el CTPA permite la evaluación del área mediastínica y del parénquima pulmonar con mejor detalle que las pruebas nucleares y por ello aportar diagnósticos adicionales. Otra ventaja es el elevado grado de correlación inter-observador gracias a los aparatos de última generación que permiten cortes infra-milimétricos.²⁸

El estudio más importante que se realizó para evaluar la superioridad del CTPA frente al estudio gammagráfico en modo planar fue el PIOPED II. A pesar de los grandes avances del CTPA, no se pudo demostrar su superioridad en términos de sensibilidad y especificidad respecto a la gammagrafía planar, y más recientemente, tampoco respecto al SPECT en el estudio del TEP.^{42,48,89}

Se analizaron mediante CTPA 824 pacientes de un total de 1090 pacientes elegibles con sospecha de embolismo pulmonar agudo. Las conclusiones de los autores fueron que el elevado porcentaje de falsos negativos (17%) requería usar información adicional para la interpretación de la prueba y que además no existía una clara superioridad de este último con el método tradicional gammagráfico en modo planar. La sensibilidad global para la detección de TEP mediante CTPA fue tan solo del 78%. Entre el 2% y el 10% de resultados fueron indeterminados bien por fallo técnico, artefactos de origen cardíaco o respiratorio, falta de contraste o factores anatómicos como nódulos hiliares o infiltrados peri-broncovasculares.^{35,66} Los nuevos aparatos de CTPA de hasta 64 coronas resuelven, al menos parcialmente, dicho problema²⁸ y permiten reconstrucciones anatómicas muy realistas tanto en 2-D como en 3-D.⁵⁴ Ello puede ayudar en la localización anatómica o al menos presentar la información en un modo más intuitivo, aunque hasta el momento no parece que se traduzca en una mejora diagnóstica del TEP. Bajc y cols. ha demostrado recientemente en el contexto del TEP agudo, una mayor sensibilidad y especificidad del SPECT de perfusión frente al CTPA.⁴⁵ Por lo tanto, la creencia de que el CTPA es la mejor técnica para la evaluación de la presencia de embolismo pulmonar no es tan robusta como se creía. En la actualidad y con la incorporación del SPECT, el papel del CTPA para evaluar la perfusión pulmonar es controvertido. Aunque la imagen adquirida mediante CTPA es muy superior desde el punto de vista anatómico respecto a la imagen reconstruida con SPECT, no significa una mayor sensibilidad en la localización de los segmentos afectados aunque su presentación sea más atractiva y permita quizás un acercamiento más simple para el médico clínico.

Para conocer si el SPECT también es más sensible que el CTPA en el contexto de la CTEPH, realizamos un estudio piloto para comparar ambas técnicas de imagen con la prueba de referencia clínico-patológica. Nueve de los diecisiete pacientes que incluimos en el estudio disponían de un CTPA de buena calidad (realizados con CTPA entre 6 y 64 coronas). Nuestros resultados demostraron una sensibilidad significativamente superior del SPECT para detectar los segmentos obstruidos en los pacientes afectados de CTEPH (62% vs. 47,8%, p = 0,03). La sensibilidad para detectar los segmentos afectados parece ser más homogénea en el SPECT que en el CTPA, donde se observan mayores diferencias según el área pulmonar estudiada. Si se analizan los segmentos pulmonares de manera independiente, el CTPA tuvo una sensibilidad muy baja (por debajo del 30%) en cinco áreas localizadas en el pulmón izquierdo a diferencia del SPECT, en el que los dos segmentos mal visualizados (sensibilidades menores al 30%) fueron los segmentos anterior y posterior del lóbulo superior derecho. A pesar de que la prueba se realizó en posición supina, la ligera elevación del tórax en la realización del SPECT (<30°) pueden tener una relación con dichos hallazgos por un efecto gravitacional de la distribución de la perfusión. Los pacientes afectados de CTEPH que analizamos eran graves, con una clase funcional para disnea III y IV, por lo que probablemente no hubieran podido tolerar los cero grados de inclinación para eliminar el factor fisiológico gravitacional. La redistribución del flujo sanguíneo debido a la obstrucción crónica de los vasos pulmonares también podría influir en nuestros resultados. Según Bajc y colaboradores, los segmentos mediales adyacentes al mediastino serían más difíciles de evaluar aunque sus observaciones se basan en el TEP agudo y no en la CTEPH.⁴³ Quizás la presencia de arteriopatía periférica y el remodelado acompañante al fenómeno trombótico crónico modifica los patrones de distribución del flujo sanguíneo respecto al tromboembolismo agudo. Diferencias en

la fisiopatología de la enfermedad pueden explicar al menos en parte, dichos hallazgos.^{81,85}

Una vez diagnosticada la enfermedad tromboembólica crónica, se realizan pruebas encaminadas a evaluar la idoneidad del paciente para la tromboendarterectomía pulmonar (PTE), único tratamiento curativo de la CTEPH en el momento actual, técnica de una gran complejidad. No existen herramientas para predecir con exactitud la mortalidad o las complicaciones secundarias al tratamiento quirúrgico. La experiencia del médico especialista y del Centro de referencia para la enfermedad, así como las co-morbilidades asociadas nos dan una aproximación del riesgo quirúrgico, aunque dichos porcentajes pueden diferir entre especialistas del mismo grupo por estar basados parcialmente en medidas subjetivas. Entre el 10% y el 15% de pacientes intervenidos persistirá cierto grado de hipertensión pulmonar después de la PTE y ello se relaciona de manera directa con una mayor morbilidad y mortalidad.^{14,57} Más de un tercio de las muertes peri-operatorias y la mitad de los fallecimientos a largo plazo son atribuidos a la persistencia de dicha hipertensión pulmonar residual y al aumento de las resistencias vasculares pulmonares (PVR) después de la PTE. La mortalidad estimada es entre el 4% y el 15% de los pacientes intervenidos.^{17,18,90}

Varios estudios han intentado estratificar el riesgo post-quirúrgico e identificar predictores de un buen pronóstico post-tratamiento en la evaluación inicial del paciente.^{91,92} Sin embargo, el cálculo de las resistencias vasculares periféricas (PVR) y el valor de la presión arterial pulmonar media (PAPm) post-quirúrgicos siguen siendo los parámetros más sensibles para predecir dicha morbi-mortalidad post-operatoria. Valores de las PVR post-quirúrgicos mayores de 500 dynas-m-sec-5 predicen un peor pronóstico.^{17,93}

Con el fin de evaluar la utilidad del SPECT de perfusión en la evaluación pre-quirúrgica como predictor de los resultados post-quirúrgicos, realizamos un estudio piloto en el que determinamos si la extensión de la obstrucción arterial pulmonar en la CTEPH estimada mediante SPECT se relaciona con los parámetros hemodinámicos postquirúrgicos. Nuestro estudio no detectó una relación entre el número de segmentos ocluidos y los resultados hemodinámicas tras la PTE. Tanto el SPECT como la evaluación clínico-patológica (nuestro *gold standard*) no mostraron correlación con los valores hemodinámicas de resistencias vasculares pulmonares (PVR) o la presión arterial media de la arteria pulmonar (PAPm) antes ni después de la cirugía. Dichos resultados son, cuanto menos, sorprendentes. Parece lógico pensar que a mayor grado de obstrucción, peor situación hemodinámica prequirúrgica y que ello se pueda relacionar con los resultados post-PTE. Además, ante el restablecimiento de los valores hemodinámicos después de la extracción del material endovascular mediante la PTE tendría un efecto en la mejoría hemodinámica proporcional al grado de resolución de la obstrucción vascular. Un motivo que puede explicar nuestros hallazgos podría ser la influencia de otros factores asociados a la CTEPH, enfermedad de extrema complejidad donde se combinan fenómenos de obstrucción mecánica agudos, cambios adaptativos y de re-distribución de la perfusión, arteriopatía, alteraciones celulares y moleculares así como genéticos como la resistencia parcial a la lisis del coágulo en algunos pacientes con mutaciones en las cadenas del fibrinógeno.^{16,81} Después de la resolución mecánica con la extracción quirúrgica del material tromboembólico organizado, fenómenos de remodelado y inflamatorios pueden perpetuar el daño vascular e impedir la normalización de los parámetros hemodinámicos. En conclusión, el grado de oclusión vascular en la evaluación inicial

del paciente mediante SPECT es independiente de los resultados post-PTE en la población afectada de CTEPH.

Aunque el estudio de perfusión pulmonar es fundamental en la evaluación de un paciente con sospecha de hipertensión arterial pulmonar secundaria a tromboembolismo pulmonar crónico, es también crítico en la evaluación inicial de todos los pacientes afectados de hipertensión arterial de origen no tromboembólico (PH). La gammagrafía pulmonar es la prueba de elección para descartar material trombótico y clasificar la hipertensión pulmonar como no tromboembólica si se confirma la ausencia de oclusión, en cuyo caso, el tratamiento será médico y no quirúrgico.^{23,93,94}

Cabe destacar que algunos pacientes presentan un patrón gammagráfico anormal, parcheado, de significado clínico y fisiopatología incierta aunque de características diferentes a la enfermedad trombomólica crónica.^{31,94} Hemos de considerar que existe un porcentaje de pacientes diagnosticados de PH que no responden a la terapia médica habitual, algunos pacientes mejoran con tratamiento anticoagulante y también ha sido demostrada la presencia de áreas de trombosis en biopsias de pacientes con PH de significado incierto.^{21,24} Existe pues la posibilidad de que la gammagrafía planar no detecte parte de las áreas obstruidas y por lo tanto diagnosticar de PH no tromboembólica a enfermos que en realidad podrían padecer de CTEPH, bien en forma “minor” o bien en una fase valle con menos áreas obstruidas. Existen pues, ciertos paralelismos en las muestras anatomo-patológicas analizadas que podrían justificar una relación entre los pacientes afectados de CTEPH y PAH y que merecen nuestra atención.^{81,94}

Debido a que el SPECT detecta mejor las obstrucciones en el árbol vascular pulmonar, tanto en el TEP agudo^{33,42,43,66,72,86,89} como crónico⁹⁵ decidimos realizar un estudio piloto para la evaluación

con SPECT del paciente con hipertensión pulmonar con la hipótesis que el SPECT puede clasificar de manera más precisa los pacientes con y sin enfermedad tromboembólica en el contexto de la hipertensión arterial pulmonar. Como he comentado, quizás un subgrupo de pacientes clasificados como PH serían en realidad afectados de enfermedad tromboembólica distal, con pequeños trombos periféricos como consecuencia de la menor sensibilidad de los estudios de perfusión en modo planar.

El estudio se realizó en ocho pacientes consecutivos que acudieron para evaluación de PH. De los ocho pacientes, tres fueron diagnosticados de PH de causa desconocida o idiopática (PAH). El estudio de perfusión planar no detectó ningún defecto de perfusión en ninguno de los tres pacientes diagnosticados de PAH. Sin embargo, en dos de los pacientes el SPECT mostró cuatro y ocho defectos de perfusión, sub-segmentarios y compatibles con TEP a nivel subsegmentario. Los defectos no habían sido detectados mediante el estudio de perfusión en modo planar. Los resultados preliminares de nuestro estudio pueden tener una implicación clínica importante, y por tanto obligan a preparar un estudio más amplio en la población afectada de PH para confirmar nuestra hipótesis.

En conclusión, los estudios de investigación clínica actuales han demostrado que la tomografía de perfusión (SPECT) con Tc-99m-MAA tiene un papel fundamental en el estudio de la enfermedad tromboembólica. Nuestros resultados apoyan su uso también en el contexto del paciente con CTEPH. Aunque el CTPA puede ser útil en el estudio de la sospecha de TEP, no ha superado a las pruebas de medicina nuclear tradicionales en modo planar ni tampoco al SPECT. El estudio

mediante SPECT pulmonar supone un claro avance en la evaluación de material trombótico en el árbol vascular pulmonar. En el TEP agudo grave (y por ello probablemente de gran tamaño y central) el CTPA puede tener mayor utilidad ya que permite el diagnóstico diferencial con otras patologías vasculares o parenquimatosas con mayor facilidad, sobretodo en el área de urgencias. Sin embargo, y a pesar de su gran avance tecnológico, los nuevos aparatos de CTPA siguen sin permitir una adecuada evaluación de los defectos de perfusión subsegmentarios, es decir distales y periféricos a diferencia del SPECT. Datos preliminares indican la posible utilidad del SPECT para la evaluación y correcta clasificación de los pacientes con PAH.

Otros campos en los que los estudios de perfusión, sean en modo SPECT o planar, no puede ser reemplazados por otras técnicas de imagen son los estudios de cuantificación regionales de la perfusión necesarios en la evaluación pre-operatoria de pacientes de alto riesgo para cirugía torácica, en el contexto de la evaluación de un trasplante pulmonar o en el contexto del tratamiento radioterápico torácico. También en la evaluación del paciente pediátrico, en la mujer embarazada (y quizás en todas las mujeres en edad fértil), en pacientes con insuficiencia renal o en pacientes alérgicos al yodo se debe realizar pruebas de medicina nuclear como el SPECT ya que CTPA estaría contraindicado. Una aplicación interesante en un futuro próximo será la cuantificación tridimensional de la ventilación y de la perfusión que solo es posible mediante la utilización del SPECT.

Por todo ello, y en mi opinión, el SPECT de perfusión pulmonar es el método de adquisición de imagen de elección ante la sospecha de embolia pulmonar, aguda o crónica y en la evaluación del

paciente con PH para su correcta clasificación. A mi entender los estudios de perfusión pulmonar en modo planar son una técnica obsoleta que debe ser sustituida de manera progresiva por el SPECT de perfusión para la evaluación de todos los trastornos que incluyan la evaluación de la ventilación o la perfusión pulmonar. El estudio mediante CTPA puede ser una alternativa en algunos casos. Será interesante conocer la aportación de la angiografía mediante resonancia magnética nuclear (RNM) con Gadolino y los estudios de fusión entre diferentes técnicas de imagen, que permitirán combinar una extraordinaria resolución anatómica tanto del CTPA como de la RNM con el estudio funcional que aporta el SPECT en un futuro próximo.

Capítulo 11

Conclusiones

Conclusiones

1. El SPECT de perfusión pulmonar es una técnica más sensible que la gammagrafía tradicional planar para la evaluación del grado de obstrucción en los pacientes afectados de Hipertensión Pulmonar Tromboembólica Crónica.
2. El SPECT de perfusión pulmonar es más sensible que la tomografía computerizada con contraste (CTPA) para la evaluación de la presencia de material tromboembólico en el árbol vascular pulmonar en la Hipertensión Pulmonar Tromboembólica Crónica.
3. El SPECT de perfusión pulmonar es, probablemente, la técnica más sensible para descartar la presencia de material tromboembólico en la evaluación inicial de los pacientes con Hipertensión Pulmonar.
4. El estudio de perfusión en modo planar debería ser relegado en casos en los que la técnica de SPECT no está disponible y sustituida en todos los demás casos por el modo de adquisición tomográfica tridimensional, SPECT.
5. En los pacientes con Hipertensión Pulmonar Tromboembólica Crónica, el número de segmentos ocluidos analizados mediante SPECT no se correlaciona con los datos hemodinámicos post-quirúrgicos. El grado de obstrucción no puede predecir los resultados hemodinámicos después de la tromboendarterectomía pulmonar.
6. Alteraciones estructurales del fibrinógeno de origen genético o debido a mutaciones espontáneas pueden ser una de las causas implicadas en la fisiopatología de la Hipertensión Pulmonar Tromboembólica Crónica.

ANEXO I**Bibliografía**

- 1 Liebow AA. Cardiovascular disease: pulmonary hypertension. *Annu Rev Med* 1960; 11:95-112
- 2 Virchow R. Weitere Untersuchungen ueber die Verstopfung der Lungenarterien und ihre Folge. *Traube's Beitraege exp path u Physiol.* Berlin, 1846; 21-31
- 3 Tapson VF, Humbert M. Incidence and prevalence of chronic thromboembolic pulmonary hypertension: from acute to chronic pulmonary embolism. *Proc Am Thorac Soc* 2006; 3:564-567
- 4 Tapson VF. The role of smoking in coagulation and thromboembolism in chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc* 2005; 2:71-77
- 5 White RH. The epidemiology of venous thromboembolism. *Circulation* 2003; 107:I4-8
- 6 Anderson FA, Jr., Wheeler HB, Goldberg RJ, et al. A population-based perspective of the hospital incidence and case-fatality rates of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. The Worcester DVT Study. *Arch Intern Med* 1991; 151:933-938
- 7 Montes Santiago J. Tromboembolismo pulmonar en pacientes médicos. Aproximación a los costes hospitalarios y tendencias evolutivas en España. *An Med Interna* 2004; 21:326-330
- 8 Monreal M. Towards a better prevention of venous thromboembolism. *Med Clin (Barc)* 2009; 133:21-22
- 9 Ruiz Manzano J, Alberich P, Blanquer J, et al. Prophylaxis of venous thromboembolic disease. SEPAR's Pulmonary Thromboembolism Group. *Arch Bronconeumol.* 1996; 7:348-56
- 10 Pengo V, Lensing AW, Prins MH, et al. Incidence of chronic thromboembolic pulmonary hypertension after pulmonary embolism. *N Engl J Med* 2004; 350:2257-2264
- 11 Blann AD, Lip GY. Venous thromboembolism. *Bmj* 2006; 332:215-219

- 12 British Thoracic Society guidelines for the management of suspected acute pulmonary embolism. *Thorax* 2003; 58:470-483
- 13 Mammen EF. Pathogenesis of venous thrombosis. *Chest* 1992; 102:640S-644S
- 14 Auger WR, Kim NH, Kerr KM, et al. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Clin Chest Med* 2007; 28:255-269, x
- 15 Morris TA, Marsh JJ, Chiles PG, et al. Fibrin derived from patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension is resistant to lysis. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173:1270-1275
- 16 Morris TA, Marsh JJ, Chiles PG, et al. High prevalence of dysfibrinogenemia among patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Blood* 2009; 114:1929-1936
- 17 Thistlethwaite PA, Kaneko K, Madani MM, et al. Technique and outcomes of pulmonary endarterectomy surgery. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 14:274-282
- 18 Thistlethwaite PA, Madani M, Jamieson SW. Pulmonary thromboendarterectomy surgery. *Cardiol Clin* 2004; 22:467-478, vii
- 19 de Gregorio MA, Laborda A, Ortas R, et al. Image-guided minimally invasive treatment of pulmonary arterial hypertension due to embolic disease. *Arch Bronconeumol* 2008; 44:312-317
- 20 Badesch DB, Champion HC, Sanchez MA, et al. Diagnosis and assessment of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54:S55-66
- 21 Simonneau G, Robbins IM, Beghetti M, et al. Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54:S43-54
- 22 Channick R, Williamson TL. Diagnosis and treatment of pulmonary arterial hypertension. *Cardiol Clin* 2004; 22:441-452, vii
- 23 Hoeper MM, Barbera JA, Channick RN, et al. Diagnosis, assessment, and treatment of non-pulmonary arterial hypertension pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54:S85-96

- 24 Galie N, Hoeper MM, Humbert M, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS), endorsed by the International Society of Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Heart J* 2009
- 25 Adamali H, Gaine SP, Rubin LJ. Medical treatment of pulmonary arterial hypertension. *Semin Respir Crit Care Med* 2009; 30:484-492
- 26 Ghofrani HA, Barst RJ, Benza RL, et al. Future perspectives for the treatment of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54:S108-117
- 27 McLaughlin VV, Badesch DB, Delcroix M, et al. End points and clinical trial design in pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54:S97-107
- 28 Reichelt A, Hoeper MM, Galanski M, et al. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension: evaluation with 64-detector row CT versus digital subtraction angiography. *Eur J Radiol* 2009; 71:49-54
- 29 Jamieson SW, Kapelanski DP, Sakakibara N, et al. Pulmonary endarterectomy: experience and lessons learned in 1,500 cases. *Ann Thorac Surg* 2003; 76:1457-1462; discussion 1462-1454
- 30 Powe JE, Palevsky HI, McCarthy KE, et al. Pulmonary arterial hypertension: value of perfusion scintigraphy. *Radiology* 1987; 164:727-730
- 31 Fishman AJ, Moser KM, Fedullo PF. Perfusion lung scans vs pulmonary angiography in evaluation of suspected primary pulmonary hypertension. *Chest* 1983; 84:679-683
- 32 Lisbona R, Kreisman H, Novales-Diaz J, et al. Perfusion lung scanning: differentiation of primary from thromboembolic pulmonary hypertension. *AJR Am J Roentgenol* 1985; 144:27-30
- 33 Freeman LM, Haramati LB. V/Q scintigraphy: alive, well and equal to the challenge of CT angiography. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009; 36:499-504
- 34 Meyer G, Collignon MA, Guinet F, et al. Comparison of perfusion lung scanning and angiography in the estimation of vascular obstruction in acute pulmonary embolism. *Eur J Nucl Med* 1990; 17:315-319

- 35 Stein PD, Fowler SE, Goodman LR, et al. Multidetector computed tomography for acute pulmonary embolism. *N Engl J Med* 2006; 354:2317-2327
- 36 Stein PD, Kayali F, Hull RD. Spiral computed tomography for the diagnosis of acute pulmonary embolism. *Thromb Haemost* 2007; 98:713-720
- 37 Attenberger UI, Ingrisch M, Busing K, et al. [Magnetic resonance imaging of pulmonary perfusion. Technical requirements and diagnostic impact]. *Radiologe* 2009; 49:739-747
- 38 Quinn MF, Lundell CJ, Klotz TA, et al. Reliability of selective pulmonary arteriography in the diagnosis of pulmonary embolism. *AJR Am J Roentgenol* 1987; 149:469-471
- 39 Stein PD, Athanasoulis C, Alavi A, et al. Complications and validity of pulmonary angiography in acute pulmonary embolism. *Circulation* 1992; 85:462-468
- 40 Value of the ventilation/perfusion scan in acute pulmonary embolism. Results of the prospective investigation of pulmonary embolism diagnosis (PIOPED). The PIOPED Investigators. *Jama* 1990; 263:2753-2759
- 41 Schumichen C. V/Q-scanning/SPECT for the diagnosis of pulmonary embolism. *Respiration* 2003; 70:329-342
- 42 Reid JH, Coche EE, Inoue T, et al. Is the lung scan alive and well? Facts and controversies in defining the role of lung scintigraphy for the diagnosis of pulmonary embolism in the era of MDCT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009; 36:505-521
- 43 Bajc M, Neilly JB, Miniati M, et al. EANM guidelines for ventilation/perfusion scintigraphy : Part 1. Pulmonary imaging with ventilation/perfusion single photon emission tomography. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009; 36:1356-1370
- 44 Freeman LM. Don't bury the V/Q scan: it's as good as multidetector CT angiograms with a lot less radiation exposure. *J Nucl Med* 2008; 49:5-8
- 45 Bajc M, Olsson B, Palmer J, et al. Ventilation/Perfusion SPECT for diagnostics of pulmonary embolism in clinical practice. *J Intern Med* 2008; 264:379-387
- 46 Suga K, Kawakami Y, Iwanaga H, et al. Comprehensive assessment of lung CT attenuation alteration at perfusion defects of acute pulmonary thromboembolism with breath-hold SPECT-CT fusion images. *J Comput Assist Tomogr* 2006; 30:83-91

- 47 Bajc M, Olsson CG, Olsson B, et al. Diagnostic evaluation of planar and tomographic ventilation/perfusion lung images in patients with suspected pulmonary emboli. *Clin Physiol Funct Imaging* 2004; 24:249-256
- 48 Reinartz P, Wildberger JE, Schaefer W, et al. Tomographic imaging in the diagnosis of pulmonary embolism: a comparison between V/Q lung scintigraphy in SPECT technique and multislice spiral CT. *J Nucl Med* 2004; 45:1501-1508
- 49 Reinartz P, Nowak B, Weiss C, et al. Acute pulmonary embolism: thin-collimation spiral CT versus planar ventilation-perfusion scintigraphy. *Radiology* 2004; 232:621; author reply 621-622
- 50 Collart JP, Roelants V, Vanpee D, et al. Is a lung perfusion scan obtained by using single photon emission computed tomography able to improve the radionuclide diagnosis of pulmonary embolism? *Nucl Med Commun* 2002; 23:1107-1113
- 51 Magnussen JS, Chicco P, Palmer AW, et al. Single-photon emission tomography of a computerised model of pulmonary embolism. *Eur J Nucl Med* 1999; 26:1430-1438
- 52 Petersson J, Sanchez-Crespo A, Larsson SA, et al. Physiological imaging of the lung: single-photon-emission computed tomography (SPECT). *J Appl Physiol* 2007; 102:468-476
- 53 Schuemichen C. Pulmonary embolism: is multislice CT the method of choice? Against. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2005; 32:107-112
- 54 Schoepf UJ, Goldhaber SZ, Costello P. Spiral computed tomography for acute pulmonary embolism. *Circulation* 2004; 109:2160-2167
- 55 Schafers KP, Stegger L. Combined imaging of molecular function and morphology with PET/CT and SPECT/CT: image fusion and motion correction. *Basic Res Cardiol* 2008; 103:191-199
- 56 Harris B, Bailey D, Roach P, et al. Fusion imaging of computed tomographic pulmonary angiography and SPECT ventilation/perfusion scintigraphy: initial experience and potential benefit. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007; 34:135-142

- 57 Hooper MM. Definition, classification, and epidemiology of pulmonary arterial hypertension. *Semin Respir Crit Care Med* 2009; 30:369-375
- 58 Chapman CN, Sziklas JJ, Spencer RP, et al. Pulmonary perfusion "without ventilation". *J Nucl Med* 1983; 24:1149-1150
- 59 Fedullo PF, Auger WR, Kerr KM, et al. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 2001; 345:1465-1472
- 60 Fedullo PF, Rubin LJ, Kerr KM, et al. The natural history of acute and chronic thromboembolic disease: the search for the missing link. *Eur Respir J* 2000; 15:435-437
- 61 Wagner HN, Jr., Sabiston DC, Jr., McAfee JG, et al. Diagnosis of Massive Pulmonary Embolism in Man by Radioisotope Scanning. *N Engl J Med* 1964; 271:377-384
- 62 Wagner HN, Jr., Sabiston DC, Jr., Iio M, et al. Regional Pulmonary Blood Flow in Man by Radioisotope Scanning. *Jama* 1964; 187:601-603
- 63 Wagner HN, Jr. Pulmonary Scanning. *Northwest Med* 1964; 63:857-864
- 64 Juni JE, Alavi A. Lung scanning in the diagnosis of pulmonary embolism: the emperor redressed. *Semin Nucl Med* 1991; 21:281-296
- 65 Kluge A, Gerriets T, Muller C, et al. [Thoracic real-time MRI: experience from 2200 examinations in acute and ill-defined thoracic diseases]. *Rofo* 2005; 177:1513-1521
- 66 Zophel K, Bacher-Stier C, Pinkert J, et al. Ventilation/perfusion lung scintigraphy: what is still needed? A review considering technetium-99m-labeled macro-aggregates of albumin. *Ann Nucl Med* 2009; 23:1-16
- 67 Baile EM, King GG, Muller NL, et al. Spiral computed tomography is comparable to angiography for the diagnosis of pulmonary embolism. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:1010-1015
- 68 Invasive and noninvasive diagnosis of pulmonary embolism. Preliminary results of the Prospective Investigative Study of Acute Pulmonary Embolism Diagnosis (PISA-PED). *Chest* 1995; 107:33S-38S
- 69 Bomanji JB. Confession and some lessons. The PISA-PED study. *Chest* 1995; 108:1475-1477

- 70 Miniati M, Pistolesi M, Marini C, et al. Value of perfusion lung scan in the diagnosis of pulmonary embolism: results of the Prospective Investigative Study of Acute Pulmonary Embolism Diagnosis (PISA-PED). *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154:1387-1393
- 71 Wells PS, Anderson DR, Rodger M, et al. Excluding pulmonary embolism at the bedside without diagnostic imaging: management of patients with suspected pulmonary embolism presenting to the emergency department by using a simple clinical model and d-dimer. *Ann Intern Med* 2001; 135:98-107
- 72 Bajc M, Jonson B. Ventilation/perfusion SPECT--an essential but underrated method for diagnosis of pulmonary embolism and other diseases. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009; 36:875-878
- 73 Petersson J, Rohdin M, Sanchez-Crespo A, et al. Paradoxical redistribution of pulmonary blood flow in prone and supine humans exposed to hypergravity. *J Appl Physiol* 2006; 100:240-248
- 74 Bajc M, Bitzen U, Olsson B, et al. Lung ventilation/perfusion SPECT in the artificially embolized pig. *J Nucl Med* 2002; 43:640-647
- 75 Palmer J, Bitzen U, Jonson B, et al. Comprehensive ventilation/perfusion SPECT. *J Nucl Med* 2001; 42:1288-1294
- 76 Wartski M, Collignon MA. Incomplete recovery of lung perfusion after 3 months in patients with acute pulmonary embolism treated with antithrombotic agents. THESEE Study Group. Tinzaparin ou Heparin Standard: Evaluation dans l'Embolie Pulmonaire Study. *J Nucl Med* 2000; 41:1043-1048
- 77 Prediletto R, Paoletti P, Fornai E, et al. Natural course of treated pulmonary embolism. Evaluation by perfusion lung scintigraphy, gas exchange, and chest roentgenogram. *Chest* 1990; 97:554-561
- 78 Menendez R, Nauffal D, Cremades MJ. Prognostic factors in restoration of pulmonary flow after submassive pulmonary embolism: a multiple regression analysis. *Eur Respir J* 1998; 11:560-564
- 79 Palla A, Donnmaria V, Petruzzelli S, et al. Follow-up of pulmonary perfusion recovery after embolism. *J Nucl Med Allied Sci* 1986; 30:23-28

- 80 Jamieson SW, Auger WR, Fedullo PF, et al. Experience and results with 150 pulmonary thromboendarterectomy operations over a 29-month period. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 106:116-126; discussion 126-117
- 81 Sacks RS, Remillard CV, Agange N, et al. Molecular biology of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2006; 18:265-276
- 82 Lang IM. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension--not so rare after all. *N Engl J Med* 2004; 350:2236-2238
- 83 Yao W, Firth AL, Sacks RS, et al. Identification of putative endothelial progenitor cells (CD34+CD133+Flk-1+) in endarterectomized tissue of patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2009; 296:L870-878
- 84 Ogawa A, Firth AL, Yao W, et al. Inhibition of mTOR attenuates store-operated Ca²⁺ entry in cells from endarterectomized tissues of patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2009; 297:L666-676
- 85 Galie N, Kim NH. Pulmonary microvascular disease in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Proc Am Thorac Soc* 2006; 3:571-576
- 86 Bajc M, Neilly JB, Miniati M, et al. EANM guidelines for ventilation/perfusion scintigraphy : Part 2. Algorithms and clinical considerations for diagnosis of pulmonary emboli with V/P(SPECT) and MDCT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009; 36:1528-1538
- 87 Stein PD, Woodard PK, Weg JG, et al. Diagnostic pathways in acute pulmonary embolism: recommendations of the PIOPED II investigators. *Am J Med* 2006; 119:1048-1055
- 88 Strashun AM. A reduced role of V/Q scintigraphy in the diagnosis of acute pulmonary embolism. *J Nucl Med* 2007; 48:1405-1407
- 89 Roach PJ, Thomas P, Bajc M, et al. Merits of V/Q SPECT scintigraphy compared with CTPA in imaging of pulmonary embolism. *J Nucl Med* 2008; 49:167-168; author reply 168

- 90 Rubens FD, Bourke M, Hynes M, et al. Surgery for chronic thromboembolic pulmonary hypertension--inclusive experience from a national referral center. *Ann Thorac Surg* 2007; 83:1075-1081
- 91 Kim NH, Fesler P, Channick RN, et al. Preoperative partitioning of pulmonary vascular resistance correlates with early outcome after thromboendarterectomy for chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Circulation* 2004; 109:18-22
- 92 Blanchard DG, Malouf PJ, Gurudevan SV, et al. Utility of right ventricular Tei index in the noninvasive evaluation of chronic thromboembolic pulmonary hypertension before and after pulmonary thromboendarterectomy. *JACC Cardiovasc Imaging* 2009; 2:143-149
- 93 Auger WR, Fedullo PF. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Semin Respir Crit Care Med* 2009; 30:471-483
- 94 Galie N, Hoeper MM, Humbert M, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. The task force for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS), endorsed by the International Society of Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Respir J* 2009
- 95 Soler X, Hoh CK, Test V, et al. SPECT perfusion scanning in Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2008; 177:A185

ANEXO II**Abreviaturas**

- CTEPH *Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension*
Hipertensión Pulmonar Tromboembólica Crónica
- SPECT *Single Photon Emission Computed Tomography*
Tomografía de perfusión pulmonar
- PTE *Pulmonary Thromboendarterectomy*
Tromboendarterectomía pulmonar
- PE, TEP *Pulmonary Embolism*
Tromboembolismo Pulmonar
- IRB *Institutional Review Board*
Comité ético de investigación
- ⁹⁹Tc-MAA *Macro-aggregates of albumin radio-labeled with Technetium 99*
Albúmina marcada con tecnecio radiactivo 99
- CTPA *Computerized Tomography Pulmonary Angiography*
Tomografía Computerizada pulmonar con contraste
- PVR *Pulmonary Vascular Resistance*
Resistencias Vasculares Pulmonares

Anexo III

Material Complementario

UCSD Human Research Protections Program**New Biomedical Application****RESEARCH PLAN**

Version Date 3/30/2004

1. PROJECT TITLE

Planar versus Single Photon Emission Computerised Tomography Perfusion Scans in Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension

2. PRINCIPAL INVESTIGATOR

Timothy Andrew Morris, MD

3. FACILITIES

UCSD Medical Centers: Hillcrest, La Jolla. Outpatients clinics

4. ESTIMATED DURATION OF THE STUDY

One year

5. SPECIFIC AIMS

The aim of this project is to determine whether perfusion scans acquired by Single Photon Emission Computerised Tomography (SPECT) are more accurate than planar perfusion scans for the evaluation of vascular obstruction in patients with Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension (CTEPH).

The specific aims are as follows;

Primary objectives:

- 1- Determine if perfusion scans acquired by SPECT are more accurate than planar perfusion scans for locating lung regions with vascular obstruction in patients with CTEPH.

6. BACKGROUND AND SIGNIFICANCE

CTEPH is a relatively uncommon disorder manifested by persistence of thrombo-embolic material in the pulmonary arteries and remodelling by vascular scars. One of the manifestations of CTEPH is region defects in lung perfusion. The defects can be quantified by planar ventilation/perfusion (V/Q) scanning. However, SPECT scanning may be more capable of accurately representing regional perfusion in CTEPH, since clinical data has demonstrated that it does so in patients with acute pulmonary embolism. For this reason, SPECT is currently being performed in CTEPH patients in parallel with V/Q scanning. The purpose of this application is to obtain permission to compare the results of these two tests in a series of patients and, if appropriate, report the results of our analysis.

Because of the long-standing success of the pulmonary thrombo-endarterectomy (PTE) program at the University of California, San Diego (UCSD) and its international referral base we have an excellent opportunity to compare lung perfusion scans in those patients. To our knowledge no such study has been previously performed.

7. PROGRESS REPORT/PRELIMINARY STUDIES

The study we are proposing is a pilot and there is no previous data in this population, however, preliminary data in acute pulmonary embolism exist and lead into increased accuracy of SPECT than planar perfusion scans.

8. RESEARCH DESIGN AND METHODS

Consecutive patients in whom the diagnosis of CTEPH is confirmed by the initial description will be asked to participate. The study will be explained to the prospective participant by the investigator and questions will be answered. If the subject decides to participate, the subject and the investigator will sign the standard UCSD consent document provided with this application and the standard UCSD HIPAA authorization form. Enrolment will continue until twenty patients have completed the study.

Perfusion scans will be performed in planar and SPECT modes for clinical reasons in the UCSD Nuclear Medicine area. The standard of care for the Nuclear Medicine division at UCSD is to perform both SPECT V/Q scanning and planar V/Q scanning during the work-up for CTEPH. The reason for doing the SPECT scanning is the emerging clinical data suggesting that SPECT scanning is more accurate than planar scanning. However, SPECT scanning requires the integration of multiple image acquisitions, and is vulnerable to problems if each image is not acquired optimally. For this reason, planar V/Q scanning is done during the same session, and kept as a back-up in the event that there is a problem reconstructing the SPECT images. (A similar process of dual SPECT/planar scanning is done during bone scanning, for the same reasons.) The Nuclear Medicine division policy is to charge the patient or patient's insurer for only one V/Q scan. Participation in the study will not alter the adherence to that policy.

The research protocol will concern the comparison between the two studies. The experimental team will record the number and

size of ventilation/perfusion mismatches in the lung segments determined by planar perfusion scans and those determined by SPECT (see attached data collection form).

The accuracy of the scans will be compared by using as a standard the results of the other clinical tests and procedures that allow localization of the obstructed arteries, including pulmonary angiography, angioscopy and pulmonary thrombo-endarterectomy. These studies and procedures will be performed by the referring clinicians. Their performance and clinical interpretation are not a part of the research protocol. A clinical expert on the research team will review the entire medical record (history, physical examination findings and laboratory tests), radiographic and pathologic results (except for the planar and SPECT nuclear medicine scans) that are directly relevant to ascertaining the presence and extent of chronic thromboembolic disease. Based on this review, the expert will make a conclusion about the location of the vascular obstruction in the patient. The expert will record the location of the obstruction on the data collection form (example attached). No other identifiable patient-related data will be recorded on this form.

The specificities and sensitivities of the planar and SPECT scans will be compared with the following definitions. A “true positive” lung segment will be a segment in which a scan documented decreased perfusion < 25% of normal and the clinical interpretation documented local obstruction or upstream obstruction. A “true negative” segment will be one in which there was normal perfusion and no local or upstream obstruction. False negatives and false positives will be defined as discordance between these measurements.

9. HUMAN SUBJECTS

Patients referred to the UCSD Pulmonary Vascular Group for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension will be considered for recruitment into the study. Patients with CTEPH will be defined as those with cardiopulmonary symptoms lasting more than one month, accompanied by the objective findings of elevated right ventricular or pulmonary artery pressures (echocardiography and right heart catheterization) as well as pulmonary angiographies confirming the characteristic obstruction of the pulmonary arteries at the segmental or more proximal levels.

The age range will be age 18 and above because a diagnosis of CTEPH is much less usual in children under the age of 18, and the standard techniques proposed for the routine diagnosis and treatment of CTEPH have not been validated in young children as well as they have been in adults.

10. RECRUITMENT

Study subjects will be recruited from patients referred to the Pulmonary Vascular group at the UCSD Medical Centers. No recruitment fliers will be used. Both the primary or treating physician and the potential subject must agree to allow the potential subject to be approached by the study investigators. Recruitment will continue for one year, or until twenty patients have completed the study.

11. INFORMED CONSENT (Note: provide information in Section 28 on Surrogate Consent and Decisional Capacity Assessment, if applicable)

After obtaining the assent of the primary or treating physician and the patient, the patient will be approached by one of the study investigators. The study procedures will be explained and the patient will read the UCSD consent and standard UC HIPAA authorization. The study investigator will answer any questions, and if the patient agrees to participate, he or she will sign the consent and HIPAA authorization. The patient will be given a signed copy of these documents and a copy of the Experimental Subject's Bill of Rights to keep. The study investigator will retain the original signed consent and HIPAA authorization in a secure location with the rest of the study-related materials.

12. THERAPEUTIC ALTERNATIVES (therapeutic studies only)

N/A

13. POTENTIAL RISKS

Since the study involves only a comparison of previously perfusion scans there is no risk of injury to the patient by participator. There is a slight risk of loss of privacy, since confidential records will be reviewed

14. RISK MANAGEMENT PROCEDURES

Subjects will sign the standard UC HIPAA Authorization form. The study staff has received training and will follow HIPAA and UCSD guidelines regarding the handling of Protected Health Information (PHI). Information contained in medical records will be kept confidential, unless applicable laws and regulations or the legal process requires disclosure. Study files containing PHI will be kept in a locked cabinet when not in use. Access to the subject's and the study's information will be limited to the study investigators (listed on the application face page), exclusively for the aims of the study. The PI will be responsible for controlling access to the data. A unique subject number as well as gender and age will be used to identify subjects in the study data file. Computer files will contain no identifiable patient information, and will be password protected. Whenever reports or copies of hospital records are used, including nuclear medicine scans, the subject's name and any identifying information will be completely blacked out.

15. POTENTIAL BENEFITS

There will be no benefit to the subjects themselves. Society may benefit about knowledge concerning the relative accuracy of planar and SPECT perfusion scans for the evaluation of CTEPH.

16. RISK/BENEFIT RATIO

The risk of participation is minimal and the potential for benefiting future patients is high.

17. EXPENSE TO SUBJECT

None. The V/Q planar scan would be ordered by the referring physician as part of the normal diagnostic work up and would be charged to the subject or subject's insurer regardless of participation in the study. Any costs associated with the V/Q SPECT scan will be paid for by Pulmonary/Critical Care divisional funds.

18. PAYMENT FOR PARTICIPATION

None.

19. PRIVILEGES/CERTIFICATIONS AND LICENSES

Participating physicians are currently licensed and have full privileges for the practice of medicine at UCSD Medical Center. Dr. Timothy Morris, MD is the principal investigator and will be responsible for the overall operation of the study. Dr. Morris has more than ten years of experience performing clinical trials, data collection and protection of patient-related research data Carl Hoh, MD is the Director of the Nuclear Medicine Department at the UCSD Medical Center. He will provide oversight on the planar and SPECT V/Q nuclear medicine scanning. Victor Test, MD, William Auger, MD, Richard Channick, M.D. Peter Fedullo, MD, Kim Kerr, MD, and Nick Kim, MD are licensed physicians with privileges at the UCSD Medical Centers who care for CTEPH patients during their clinical practice. Along with the PI, these investigators will be responsible for recruitment and enrollment of CTEPH patients at the UCSD Medical Centers. Xavier Soler, MD is a visiting scholar at UCSD. He will assist with recruitment of patients into the trial and with completion of care report forms and data analysis. Isabella London, a licensed nurse with privileges at the UCSD Medical Center, will assist with enrollment and completion of case report forms. James Marsh is a project scientist, Peter Chiles is a research associate. They will assist with the analysis of data under Dr. Morris' supervision. Dr. Marsh and Mr. Chiles are experienced members of Dr. Morris' clinical research staff. All members of the clinical research team have completed the UCSD computer-based training in Research Aspects of HIPAA.

20. BIBLIOGRAPHY

1. Nijkeuter M, Hovens MM, Davidson BL, et al. Resolution of thromboemboli in patients with acute pulmonary embolism: a systematic review. *Chest* 2006; 129:192-197
2. Paraskos JA, Adelstein SJ, Smith RE, et al. Late prognosis of acute pulmonary embolism. *N Engl J Med* 1973; 289:55-58
3. De Soyza ND, Murphy ML. Persistent post-embolic pulmonary hypertension. *Chest* 1972; 62:665-668
4. Fedullo PF, Rubin LJ, Kerr KM, et al. The natural history of acute and chronic thromboembolic disease: the search for the missing link. *Eur Respir J* 2000; 15:435-437
5. Pengo V, Lensing AW, Prins MH, et al. Incidence of chronic thromboembolic pulmonary hypertension after pulmonary embolism. *N Engl J Med*, 2004; 2257-2264
6. Jamieson SW, Kapelanski DP, Sakakibara N, et al. Pulmonary endarterectomy: experience and lessons learned in 1,500 cases. *Ann Thorac Surg* 2003; 76:1457-1462; discussion 1462-1454
7. Collart JP, Roelants V, Vanpee D, Lacroix JP, Delaunois L, Gillet JB, De Coster P, Vander Borght T. Is a lung perfusion scan obtained by using single photon emission computed tomography able to improve the radionuclide diagnosis of pulmonary embolism? *Nuclear Medicine Communications*, 2002, 23, 13
8. Reinartz P, Wildberger JE, Schaefer W, Nowak B, Mahnken AH, Buell U. Tomographic imaging in the diagnosis of pulmonary embolism a comparison between VQ lung scintigraphy in SPECT technique and multislice spiral CT. *J Nucl Med* 2004; 45: 1501-1508
9. Magnussen MJ, ChiccoP, Palmer AW, Bush V, Mackey1 DW et al. Single-photon emission tomography of a computerised model of pulmonary embolism. *Eur J Nucl Med* (1999) 26:1430–1438
10. Palmer J, Bitzen U, Jonson B, Bajc M. Comprehensive Ventilation/Perfusion SPECT. *J Nucl Med* 2001 ; 42 :1288-1294
11. Skoro-Sajer N, Becherer A, Klepetko W, Kneussl M, Maurer G, Lang IM. Longitudinal analysis of perfusion lung scintigrams of patients with unoperated chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Thromb Haemost* 2004; 92: 201-7
12. Lisbona R , Kreisman H, Novales-Diaz et al. Perfusion lung scanning: differentiation of primary from thromboembolic pulmonary hypertension. *Am J Roengenol* 1985; 144: 27,30
13. Meyer G, Collignon MA, Guinet F, et al. Comparison of perfusion lung scanning and angiography in the estimation of vascular obstruction in acute pulmonary embolism. *Eur J Nucl Med* 1990; 17:315-319

14. Wartski M, Collignon MA. Incomplete recovery of lung perfusion after 3 months in patients with acute pulmonary embolism treated with antithrombotic agents. THESEE Study Group. Tinzaparin ou Heparin Standard: Evaluation dans l'Embolie Pulmonaire Study. J Nucl Med JID - 0217410 2000; 41:1043-1048
15. Tow DE, Wagner HN, Jr. Recovery of pulmonary arterial blood flow in patients with pulmonary embolism. N Engl J Med 1967; 276:1053-1059
16. Azarian R, Wartski M, Collignon M, et al. Lung perfusion scans and hemodynamics in acute and chronic pulmonary embolism. J Nucl Med 1997; 38:980-983
17. Palla A, Donnmaria V, Petruzzelli S, et al. Follow-up of pulmonary perfusion recovery after embolism. J Nucl Med Allied Sci 1986; 30:23-28
18. Winebright JW, Gerdes AJ, Nelp WB. Restoration of blood flow after pulmonary embolism. Arch Intern Med 1970; 125:241-247
19. Auger WR, Fedullo PF, Moser KM, et al. Chronic major-vessel thromboembolic pulmonary artery obstruction: appearance at angiography. Radiology 1992; 182:393-398
20. PIOPED Investigators T. Value of the Ventilation/Perfusion Scan in Acute Pulmonary Embolism. Results of the Prospective Investigation of Pulmonary Embolism Diagnosis (PIOPED). JAMA 1990; 263:2753-2759
21. Miniati M, Pistolesi M, Marini C, et al. Value of perfusion lung scan in the diagnosis of pulmonary embolism: results of the Prospective Investigative Study of Acute Pulmonary Embolism Diagnosis (PISA-PED). Am J Respir Crit Care Med 1996; 154:1387-1393

21. INDUSTRY STUDIES

N/A

22. FUNDING SUPPORT FOR THIS STUDY

None.

23. BIOLOGICAL MATERIALS TRANSFER AGREEMENT

N/A

24. INVESTIGATIONAL DRUG FACT SHEET

N/A

25. IMPACT ON NURSING STAFF

N/A

26. CONFLICT OF INTEREST

None

27. CANCER-RELATED STUDIES

N/A

28. PROCEDURES FOR SURROGATE CONSENT AND/OR DECISIONAL CAPACITY ASSESSMENT

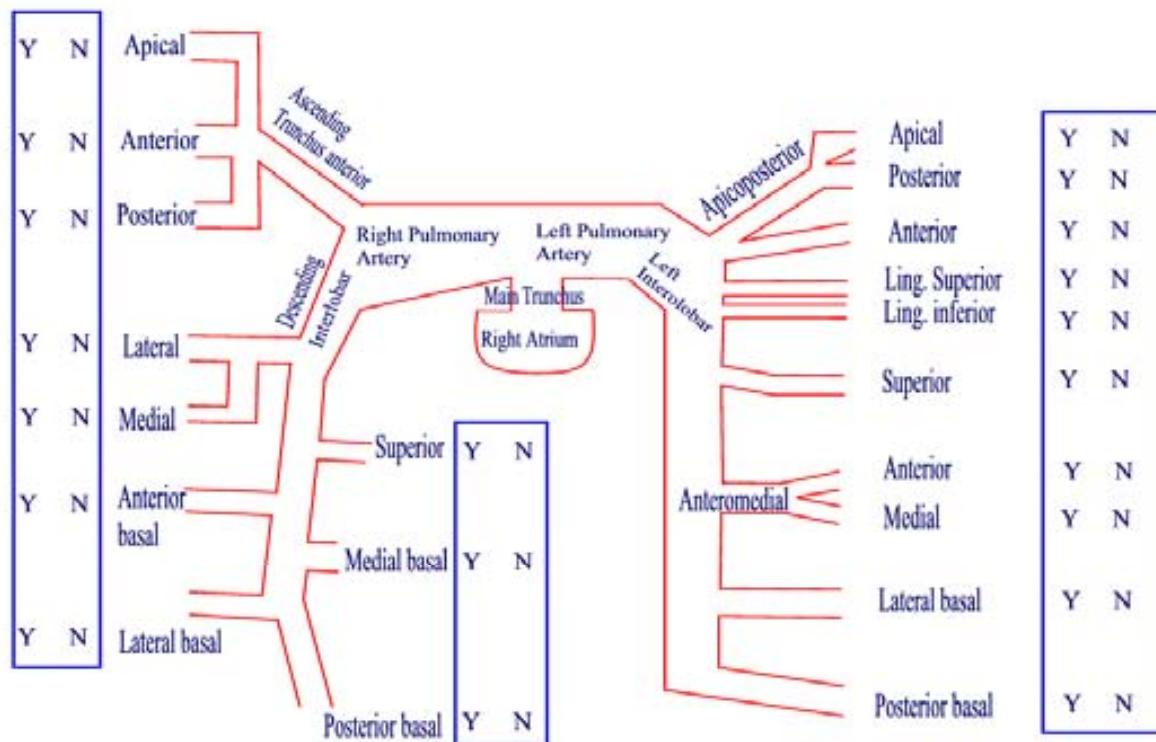
N/A

DATA RECORD

METHOD (CHECK ONE)

- PLANAR
- SPECT
- CLINIC

*Segmental Chronic Thromboemboli in
Schematic Pulmonary Arterial Tree*



Please, cross the right answer about obstruction (Y=yes) or not obstruction (N=no) in each segmental area
Do it in all arterial segments

UNIVERSITY OF CALIFORNIA, San Diego
Consent to Act as a Research Subject

Comparison of Planar V/Q and SPECT V/Q in CTEPH
Principal Investigator: Timothy Morris, MD

Dr. Morris and his colleagues are conducting a research study to find out more about the best method to locate blood flow problems within the lungs of patients with chronic blood clots in the lungs. You have been asked to participate because your doctor suspects that you have chronic blood clots and has ordered a series of tests that show where blood flows within the lungs. Dr. Morris and colleagues would like to compare the results of two of these tests, the V/Q planar scan and the V/Q SPECT scan, to each other. To do this, he will study about 20 patients at UCSD.

If you agree to be in this study, Dr. Morris and his colleagues will record the results of your V/Q planar scan and your V/Q SPECT. They will also record the results of the other tests and review your medical record at UCSD. Once the review of your diagnostic work-up (medical records, labs, and imaging needed for diagnosis of blood flow blockages to the lung) is done, your participation in the study will be completed. The estimated time for completion of this diagnostic work-up is approximately one month. Dr. Morris and his colleagues will then compare how well the V/Q planar and the V/Q SPECT located areas of blood flow blockage in your lungs, compared to where your doctors determined where the blockages are.

Your medical information will be recorded for the purposes of research, but your name and other identifying information will be kept private. You won't directly benefit from participating in this study. The investigators, however, may learn more about the best way to locate blockage of blood flow in the lungs. There will be no cost to you or compensation to you for participation in the study. The V/Q planar scan would normally be ordered by your physician to diagnose blood flow blockages in your lungs. You or your insurer will not be charged for the V/Q SPECT scan.

There is a slight risk to your privacy, since some of your medical information will be recorded. However, your records will be kept in a secure location. Only Dr. Morris and his team and the UCSD Institutional Review Board will have access to this information. Identifying information about you will not be released to outside parties without your permission. Research records will be kept confidential to the extent provided by law. Because this is an investigational study, there may be some unknown risks that are currently unforeseeable. You will be informed of any significant new findings.

If you are injured as a direct result of participation in this research, the University of California will provide any medical care you need to treat those injuries. The University will not provide any other form of compensation to you if you are injured. You may call the Human Research Protections Program Office at 858-455-5050 for more information about this, to inquire about your rights as a research subject or to report research-related problems.

Dr. Xavier Soler has explained this study to you and answered your questions. If you have more research-related problems you can call Dr Morris or his staff at 619-543-6737.

Participation in this research study is entirely voluntary. You may refuse to participate or withdraw at any time without jeopardy to the medical care you will receive at this institution, you must inform your doctor of your wishes. The alternative to participation is not to participate and receive one V/Q planar scan, which meets the current standard of care procedures. Your participation will be stopped if, for any reason, Dr. Morris or your doctors feel it is in your best interest to do so.

You have received a copy of this consent document and a copy of the Experimental Subject's Bill of Rights to keep. You agree to participate.

Subject's signature

Date

Witness

Date

University of California
Permission to Use Personal Health Information for Research

Study Title: Comparison of planar V/Q and SPECT V/Q scans in CTEPH

Sponsor/Funding Agency: University of California, San Diego

A. What is the purpose of this form?

State and federal privacy laws protect the use and release of your health information. Under these laws, the University of California or your health care provider cannot release your health information to the research team unless you give your permission. The research team includes the researchers and people hired by the University or the sponsor to do the research. If you decide to give your permission and to participate in the study, you must sign this form as well as the Consent Form. This form describes the different ways that the researcher, research team and research sponsor may use your health information for the research study. The research team will use and protect your information as described in the attached Consent Form. However, once your health information is released it may not be protected by the privacy laws and might be shared with others. If you have questions, ask a member of the research team.

B. What Personal Health Information will be released?

If you give your permission and sign this form, you are allowing the University of California, San Diego Medical Center to release the following medical records containing your Personal Health Information. Your Personal Health Information includes health information in your medical records and information that can identify you. For example, Personal Health Information may include your name, address, phone number or social security number.

- | | | |
|---|--|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> Entire Medical Record | <input type="checkbox"/> Laboratory Reports | <input type="checkbox"/> Emergency Medicine Center Reports |
| <input type="checkbox"/> Health Care Billing Statements | <input type="checkbox"/> Dental Records | <input type="checkbox"/> History & Physical Exams |
| <input type="checkbox"/> Pathology Reports | <input type="checkbox"/> Operative Reports | <input type="checkbox"/> Diagnostic Imaging Reports |
| <input type="checkbox"/> EKG | <input type="checkbox"/> Radiology Reports | <input type="checkbox"/> Consultations |
| <input type="checkbox"/> Progress Notes | <input type="checkbox"/> Radiologic & MR Scans | <input type="checkbox"/> Outpatient Clinic Records |
| | <input type="checkbox"/> Discharge Summary | <input type="checkbox"/> Psychological Tests |
| <input type="checkbox"/> Other (describe) _____ | | |

C. Do I have to give my permission for certain specific uses?

Yes. The following information will only be released if you give your specific permission by putting your initials on the line(s).

- I agree to the release of information pertaining to drug and alcohol abuse, diagnosis or treatment.
- I agree to the release of HIV/AIDS testing information.
- I agree to the release of genetic testing information.
- I agree to the release of information pertaining to mental health diagnosis or treatment as follows:

D. How will my Personal Health Information be used?

Your Personal Health Information may be released to these people for the following purposes:

1. To the research team for the research described in the attached Consent Form;
2. To others at UC who are required by law to review the research;
3. To others who are required by law to review the quality and safety of the research, including:
U.S. government agencies, such as the Food and Drug Administration, the research sponsor or the sponsor's representatives, or government agencies in other countries. These organizations and their representatives may see your Personal Health Information. They may not copy or take it from your medical records unless permitted or required by law.

E. How will my Personal Health Information be used in a research report?

If you agree to be in this study, the research team may fill out a research report. (This is sometimes called "a case report".) The research report will **not** include your name, address, or telephone or social security number. The research report may include your date of birth, initials, dates you received medical care, and a tracking code. The research report will also include information the research team collects for the study. The research team and the research sponsor may use the research report and share it with others in the following ways:

1. To perform more research;
2. Share it with researchers in the U.S. or other countries;
3. Place it into research databases;
4. Use it to improve the design of future studies;
5. Use it to publish articles or for presentations to other researchers;
6. Share it with business partners of the sponsor; or
7. File applications with U.S. or foreign government agencies to get approval for new drugs or health care products.

F. Does my permission expire?

This permission to release your Personal Health Information expires when the research ends and all required study monitoring is over. Research reports can be used forever.

G. Can I cancel my permission?

You can cancel your permission at any time. You can do this in two ways. You can write to the researcher or you can ask someone on the research team to give you a form to fill out to cancel your permission. If you cancel your permission, you may no longer be in the research study. You may want to ask someone on the research team if canceling will affect your medical treatment. If you cancel, information that was already collected and disclosed about you may continue to be used. Also, if the law requires it, the sponsor and government agencies may continue to look at your medical records to review the quality or safety of the study.

H. Signature

If you agree to the use and release of your Personal Health Information, please sign below. You will be given a signed copy of this form.

Subject's Name (print)

Subject's Signature

Date

