

**UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS CLÍNICAS**

Perspectivas actuales en la investigación en Perinatología, Ginecología y Pediatría



**LA TROMBOCITOPENIA COMO FACTOR DE RIESGO EN  
EL DUCTUS ARTERIOSUS PERSISTENTE DEL RECIÉN  
NACIDO PREMATURO**

**Tesis doctoral presentada por M<sup>a</sup> Pilar Bas Suárez para optar al grado de doctor en Medicina.**

**Dirigida por los Doctores Dr. Luis Peña Quintana, Dr. Eduardo Villamor Zambrano y Dra. Gema E. González Luis.**

**Fdo. Directores**

**Fdo. Doctorando**

Las Palmas de Gran Canaria, 28 de septiembre de 2015



## **AYUDAS**

Esta tesis ha sido posible gracias a la aportación recibida por la Beca otorgada por el Colegio de Médicos de Las Palmas de Gran Canaria en el año 2011.



*A mi padre, por enseñarme a amar esta profesión*

*A Javi por demostrarme que la paciencia abre puertas*



### **Agradecimientos:**

- A mi madre, por ayudarme ser quien soy, por demostrarme que la entrega personalizada existe. Gracias por ponerme las metas bien altas, no conformarte nunca con nada y enseñarme a dar el máximo de mí. Tu espíritu de lucha y tu tesón ante la vida han sido la mayor enseñanza que me has aportado, mamá. GRACIAS.
- A mi padrino Pediátrico, Dr. Luis Peña, por su perseverancia y tesón. Gracias por apostar por esta tesis. Me enseñaste que lo que uno se propone, corre el riesgo de conseguirlo con un poco de esfuerzo y entrega.
- Al Dr. Eduardo Villamor, por su paciencia detrás de un teléfono a 4000 km de distancia. Por aceptar este proyecto con una canaria desconocida. Gracias por hacer realidad este proyecto plaquetario, una idea que no conseguía ver la luz. Tu fuiste esa linterna que iluminó el duro y oscuro camino en los momentos más duros. Gracias.
- A la Dra. Gema González-Luis, por ese espíritu positivo y alentador. Por enseñarme que sí se puede, por intentar ver color donde hay grises y poner una sonrisa y una carcajada donde las lágrimas afloran. Gracias.
- Al Dr. Saavedra, por ilustrarme en el mundo árido de la estadística y hacer realidad el primer proyecto de esta tesis. Gracias por su extrema paciencia y su entrega incondicional.
- A mis compañeros neonatólogos del CHUIMI de los que tanto he aprendido estos 9 años. Soy una parte de ustedes, una prolongación, y seguiré siendo uno más aunque no me encuentre entre ustedes. Les debo mi afán de superación y mis ganas de seguir aprendiendo y aportando algo a esta medicina.
- A mis prematuros y sus padres que han participado en este proyecto. Gracias por demostrarme que hasta en los momentos de mayor incertidumbre, siempre queda una esperanza. Por la resistencia que demuestran día a día, la entereza que le ponen a las desgracias y la fuerza que derrochan cada minuto de existencia. Porque los minutos hacen horas, y estos, a su vez, son días de vida.
- A Laura y Roque por esa búsqueda incesante de artículos que llegaban a mi bandeja de entrada en tiempo récord. Una parte de esta tesis les pertenece.
- A mi querida Loli y Alejandro por mostrarme una sonrisa diaria a pesar de sobrecargarles de trabajo. Por buscar ese informe perdido y esa información necesaria para esta tesis, MIL gracias por ser la cara amable de la neonatología grancanaria.
- A mi querida Dra. Díaz, por ser mi modelo a imitar. Gracias por haberme empujado a seguir con esta tesis en las horas bajas y enseñarme que el esfuerzo

tiene recompensa. Me demostraste el amor al estudio, al aprender cada día algo nuevo, a la fuerza de voluntad sin medida. Tu prudencia es tu mayor fortaleza, y ese apego al trabajo que te hace invencible. Esta tesis también te pertenece.

- A las mejores compañeras de residencia Ana Bello y Olga Afonso. Con ustedes aprendí y seguiré aprendiendo. Gracias por hacerme disfrutar de este viaje, la aventura pediátrica que todavía continúa y continuará y de la que espero seguir sumando capítulos junto a ustedes.... y por muchos años....
- A los Dr. Shah y cols., Dr. Fujioka y cols., Dr. Dani y cols. y Dr. Dizdar y cols. por contribuir con sus datos en esta Tesis Doctoral.
- A la Dra. Dimpna Calila Albert por su aportación visual ecográfica.
- A Juan Pablo por cuidar en todo detalle el diseño de esta tesis.
- Al Dr. Ronald I. Clyman, a la D<sup>a</sup> Sorina R. Simon, al D<sup>a</sup> Lieke van Zogchel y al Dr. Giacomo Cavarallo por su contribución a la publicación del metaanálisis.



## **GLOSARIO DE ABREVIATURAS**

**ADP:** Adenosina difosfato

**AI/Ao:** Cociente aurícula izquierda-aorta.

**AINEs:** Antiinflamatorios no esteroideos

**AMPc:** Adenosina 3'-5'- monofosfato cíclico

**ARNm:** Ácido ribonucleico mensajero

**BNP:** Péptido natriurético cerebral o de tipo B<sup>1</sup>

**BPD:** Displasia broncopulmonar<sup>1</sup>

**CIR:** Retraso crecimiento intrauterino

**COX:** Ciclooxigenasa

**CPAP:** Presión continua positiva en la vía aérea<sup>1</sup>

**DA:** Ductus arteriosus

**DAP-HS:** Ductus arteriosus persistente hemodinámicamente significativo

**DAP:** Ductus arteriosus persistente

**EG:** Edad gestacional

**FvW:** Factor de Von Willebrand

**Gp:** Glicoproteína

**HIV:** Hemorragia intraventricular

**MG:** Megacariocito

**NEC:** Enterocolitis necrotizante<sup>1</sup>

**NO:** Óxido nítrico

**NR-pro-BNP:** Prohormona N-terminal del BNP

**nSMase:** Esfingomielinasa neutra<sup>1</sup>

**PaO<sub>2</sub>:** Presión arterial de oxígeno

**PAR:** Receptores activados por las proteasas<sup>1</sup>

**PEEP:** Presión positiva al final de la espiración<sup>1</sup>

**PEG:** Pequeño para la edad gestacional

**PG:** Prostaglandina

**PGI:** Prostaciclina

**RNP:** Recién nacido pretérmino

**RNT:** Recién nacido a término

**ROP:** Retinopatía de la prematuridad<sup>1</sup>

**RVP:** Resistencia vascular pulmonar

**Sd:** Síndrome

**SDR:** Síndrome de distrés respiratorio

**TGF-  $\beta$ :** Factor beta de crecimiento de transformación

**TPO:** Trombopoyetina

**TXA<sub>2</sub>:** Tromboxano A<sub>2</sub>

**VEGF:** Factor de crecimiento vascular endotelial<sup>1</sup>

**VPH:** Vasoconstricción pulmonar hipóxica

<sup>1</sup>Por sus siglas en inglés.

# ÍNDICE



## Índice

<b>I.</b>	<b>RESUMEN (en inglés)</b> .....	15
<b>II.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	21
1.	El ductus arteriosus en la circulación fetal y neonatal.....	23
1.1.	Biología del DAP.....	23
1.1.1.	Factores vasoactivos en el control del tono ductal. ....	26
1.1.2.	El cierre del DAP.....	32
1.1.3.	El DA del prematuro.....	33
1.1.4.	Plaquetas y DA.....	34
2.	El DAP del prematuro como problema clínico.....	36
2.1.	Incidencia. ....	36
2.2.	Implicaciones hemodinámicas y consideraciones clínicas.....	37
2.3.	Diagnóstico.....	39
2.4.	Tratamiento del DAP-HS.....	43
2.4.1.	Tratamiento médico del DAP-HS.....	43
2.4.2.	Tratamiento conservador del DAP-HS.....	46
2.4.3.	Tratamiento quirúrgico del DAP-HS.....	47
3.	Las plaquetas.....	48
3.1.	Estructura de las plaquetas .....	48
3.2.	El papel de las plaquetas en la hemostasia Primaria .....	52
3.3.	Las plaquetas en el periodo neonatal. Diferencias en la producción y en la función .....	52
3.3.1.	Función plaquetaria en recién nacidos sanos .....	53
3.3.2.	Función plaquetaria en neonatos pretérminos .....	54
3.3.3.	Cambios postnatales en la función plaquetaria .....	55

3.4	Trombocitopenia.....	55
3.4.1	Definición trombocitopenia en RNT y RNP.....	55
3.4.2	Causas de trombocitopenia .....	56
3.4.3	Manejo de la trombocitopenia. Transfusión de plaquetas.....	58
<b>III.</b>	<b>JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS .....</b>	<b>59</b>
<b>IV.</b>	<b>PACIENTES Y MÉTODOS .....</b>	<b>63</b>
<b>V.</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>73</b>
<b>VI.</b>	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>101</b>
<b>VII.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>113</b>
<b>VIII.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>119</b>
<b>IX.</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>135</b>

## **RESUMEN**





## Thrombocytopenia as risk factor for patent ductus arteriosus in preterm infants

---

BACKGROUND: Despite decades of research, the persistence of a patent ductus arteriosus (PDA) in very preterm infants is still presenting challenges in terms of pathobiology and clinical implications. One of the most remarkable recent contributions to our knowledge of the pathobiology of PDA has been the elucidation by Echtler et al. of the role played by platelets in its closure (*Echtler et al., 2010*). These authors proposed a model of closure of the ductus arteriosus (DA) in mice, in which the initial constriction results in changes in the vascular wall, which adopts a prothrombotic phenotype. This triggers the accumulation of platelets, leading to the formation of a platelet plug that seals the lumen. The formation of this platelet plug is a critical step, linking the initial reversible constriction and final anatomic remodeling of the DA.

Echtler et al. (*2010*) also performed a retrospective evaluation of the relationship between thrombocytopenia (defined as platelet count  $\leq 150 \times 10^9/L$ ) on the first day of life and DA closure on the third to fifth day of life in a group of infants born at 24-30 weeks gestation. In a logistic regression model, low platelet count was identified as an independent predictor of hemodynamically significant PDA (HSPDA). Since the publication of the above study, several additional studies in preterm infants have been performed. Some of these investigations (*Dizdar y cols., 2012; Dani y cols., 2010*) confirmed the findings of Echtler et al., whereas others (*Fujioka y cols., 2011; Sallmon y cols., 2012; Shah et al., 2011*) produced discordant observations and do not suggest that thrombocytopenia in the first days of life consistently results in HSPDA. Additional series of patients are required to resolve this controversy. The present Thesis reports on a new cohort of preterm infants in which the relationship between platelet counts and PDA was analyzed. In addition, we combined in a meta-analysis our results with those of previously published studies .

## Resumen

**METHODS:** The first study was a retrospective study that was aimed at evaluating platelet count in the first two days of life count and DA status in a cohort from 194 infants born at 24-30 weeks gestation in a tertiary hospital. The rate of response to the treatment of cyclooxygenase (COX) inhibitors was also evaluated. We used multivariable logistic regression modeling to determine whether there was an independent relationship between platelet count and the presence of HSPDA on day 3. The second part of this thesis consists of a meta-analysis, which combines our results with all the studies reported to date addressing the association between low platelet counts and the presence of a PDA/HSPDA.

**RESULTS:** Median platelet count nadir and rate of thrombocytopenia-defined as platelet count  $< 150 \times 10^9/L$  and graded as mild ( $100 \times 10^9/L$  to  $< 150 \times 10^9/L$ ), moderate ( $50$  to  $< 100 \times 10^9/L$ ) and severe ( $< 50 \times 10^9/L$ )- within the first 2 days of life were not significantly associated with the presence of HSPDA on day 3. Moreover, low platelet counts, either on days 1-2 or 3-7, were not significantly associated with the rate of response to treatment with COX inhibitors.

Meta-analysis showed a significant positive association between PDA and platelet counts  $<150 \times 10^9/L$  [6 studies, risk ratio (RR) = 1.215, 95% CI: 1.027–1.436], between PDA and platelet counts  $<100 \times 10^9/L$  (5 studies, RR = 1.255, 95% CI: 1.034– 1.525), and between HSPDA and platelet counts  $<100 \times 10^9/L$  (5 studies, RR = 1.254, 95% CI: 1.021–1.540). The association between HSPDA and platelet counts  $<150 \times 10^9/L$  was not statistically significant (6 studies, RR = 1.289, 95% CI: 0.925–1.795).

**CONCLUSION:** In our cohort, we could not demonstrate any significant association between platelet counts within the first days of life and either spontaneous or pharmacological closure of the DA in very preterm infants. Nevertheless the Meta-Analysis, reveals a marginal but significant association between low platelet counts in the first days of life and PDA/HSPDA in very preterm infants.

## Trombocitopenia como factor de riesgo del ductus arteriosus persistente del recién nacido pretérmino

---

ANTECEDENTES: A pesar de los esfuerzos y las décadas de investigación, el ductus arteriosus del prematuro continúa siendo un desafío en términos de patobiología y consideraciones clínicas. Uno de las contribuciones más recientes e importantes al conocimiento de la biología del ductus arteriosus persistente (DAP) ha sido la aportación de Echtler y cols. sobre el papel de las plaquetas en su cierre (*Echtler et al., 2010*). Dichos autores proponen un modelo de cierre del ductus arteriosus en ratones, en los que la constricción inicial resulta en cambios en la pared que adopta un fenotipo protrombótico. Este proceso desencadena el reclutamiento, la acumulación y la activación de plaquetas circulantes en la luz residual del ductus arteriosus (DA) y la formación de un coágulo que sella el cierre de la luz residual del DA y supone un paso crucial en el cierre definitivo del DA.

Echtler y cols. analizaron en el mismo estudio (*2010*) de forma retrospectiva la relación entre la trombocitopenia (definida como plaquetas  $\leq 150 \times 10^9/L$ ) en el primer día de vida y la presencia de un Ductus Arteriosus Persistente hemodinámicamente significativo (DAP-HS) entre el tercer y el quinto día de vida en una cohorte de 124 RNP entre 24 y 30 semanas de edad gestacional. En un modelo de regresión logística, se identificó la trombocitopenia como único factor de riesgo independiente para la presencia de DAP-HS. Desde la publicación de este trabajo, varias cohortes han sido publicadas. Aunque los resultados clínicos de Echtler han sido confirmados por unos autores (*Dizdar y cols., 2012; Dani y cols., 2010*), también han sido publicados otros estudios retrospectivos de cohortes que no encuentran tal asociación entre trombocitopenia en los primeros días y DAP-HS. (*Fujioka y cols., 2011; Sallmon y cols., 2012; Shah y cols., 2011*). Se precisa un mayor número de pacientes para resolver esta controversia. La presente Tesis muestra una nueva cohorte de Recién Nacidos Prematuros (RNP) en los que se analizó la relación entre recuentos plaquetarios y DAP-HS. Además, se han combinado en un metaanálisis nuestros resultados con los publicados previamente por otros autores.

## Resumen

**MÉTODOS:** El primer trabajo consiste en un estudio retrospectivo en el que se evalúan los recuentos plaquetarios en los primeros 2 días y el estado del DAP en una cohorte de 194 niños nacidos entre las 24 y 30 semanas de edad gestacional en un hospital terciario. También se evaluó el grado de respuesta al tratamiento con inhibidores de la ciclooxigenasa (COX). Se empleó un modelo logístico de regresión multivariable para determinar si la trombocitopenia era un factor independiente para la presencia de DAP-HS al 3º día. La segunda parte de esta Tesis consiste en un metaanálisis en el que se combinan nuestros resultados con los de otras cohortes publicadas hasta la fecha, en las que se ha estudiado la relación entre recuentos bajos de plaquetas y DAP/DAP-HS.

**RESULTADOS:** El nadir plaquetario y el riesgo de trombocitopenia –definida como recuento plaquetario  $<150 \times 10^9/L$  y clasificada en leve ( $100 \times 10^9/L$  a  $< 150 \times 10^9/L$ ), moderada (entre  $50$  y  $100 \times 10^9/L$ ) y severa ( $< 50 \times 10^9/L$ )- durante los 2 primeros días de vida no se asoció de forma estadísticamente significativa con la presencia de DAP-HS al 3º día. Del mismo modo, los recuentos de plaquetas, tanto en los días 1-2 como 3-7, no se asociaron de manera significativa a la respuesta al tratamiento con inhibidores de la COX. El metaanálisis que incluyó un total de 3479 RNP mostró una asociación positiva entre el DAP y los recuentos plaquetarios  $<150 \times 10^9/L$  [6 estudios, riesgo relativo (RR) = 1.215, 95% CI: 1.027–1.436], entre DAP y recuentos plaquetarios  $<100 \times 10^9/l$  (5 estudios, RR = 1.255, 95% CI: 1.034– 1.525), y entre DAP-HS y recuentos plaquetarios  $<100 \times 10^9/L$  (5 estudios, RR = 1.254, 95% CI: 1.021–1.540). La asociación entre DAP-HS y recuentos plaquetarios  $<150 \times 10^9/L$  no fue estadísticamente significativa (6 estudios, RR = 1.289, 95% CI: 0.925–1.795).

**CONCLUSIONES:** En nuestra cohorte no pudimos demostrar asociación alguna entre recuento plaquetario en los primeros días de vida y el cierre tanto espontáneo como farmacológico del DAP en RNP. Sin embargo, el metaanálisis muestra que un recuento bajo de plaquetas en los primeros días aumenta de forma modesta, pero estadísticamente significativa, el riesgo de presentar tanto DAP como DAP-HS.

# **INTRODUCCIÓN**



## II. INTRODUCCIÓN

### 1. El ductus arteriosus en la circulación fetal y neonatal.

El ductus arteriosus (DA) es una importante estructura vascular fetal que comunica la primera parte de la aorta -5-10 mm distal al origen de la arteria subclavia izquierda- con la arteria pulmonar principal, cerca del origen de la rama pulmonar izquierda. El DA deriva de la porción dorsal del sexto arco aórtico, ejerciendo su función desde la 6ª semana de gestación hasta el nacimiento, momento en el que se inicia su cierre (*Stoller y cols., 2012; Bergwerff y cols., 1999, Dzialowski y cols., 2011*)

Durante la vida fetal, la función respiratoria y nutricional es llevada a cabo por la placenta. El patrón circulatorio fetal se caracteriza fundamentalmente por la existencia de cortocircuitos derecha-izquierda y una elevada resistencia vascular pulmonar (RVP) (*Rudolph y Heymann, 1968; Cassin y cols., 1964*). Como consecuencia, la sangre que llega al ventrículo derecho evita su entrada a las arterias pulmonares pasando a través del DA alcanzando así la aorta descendente. En el feto el DA es un vaso de vital importancia cuyo tamaño es similar al de la aorta y por el que pasa un 80-90% de la sangre de la circulación umbilico-placentaria (*Heymann y Rudolph 1975, Rudolph AM., 2009*).

El patrón circulatorio fetal, caracterizado (Figura 1) por la presencia de una RVP elevada y cortocircuitos derecha-izquierda a través del foramen oval y el DA, es sustituido al nacimiento por el patrón circulatorio propio de la vida postnatal y que se caracteriza por una circulación en serie, con baja RVP y sin comunicaciones entre los lados derecho e izquierdo. El descenso de las RVP y el cierre del DA son, probablemente, los dos cambios más significativos en la transición circulatoria perinatal. (*Rudolph y Heymann, 1968; Cassin y cols., 1964; Rudolph, 1970; Dzialowski y cols., 2011*). Las alteraciones en el proceso de descenso de la RVP dan lugar al síndrome de hipertensión pulmonar persistente neonatal mientras que las alteraciones en el cierre del DA dan lugar al DA persistente (DAP).

## Introducción

Los términos DA (o conducto arterioso) persistente, persistencia del DA y DA permeable o patente se han utilizado indistintamente en la literatura científica para designar un DA que permanece abierto y presenta flujo a su través (*Golombek y cols., 2008*). En la presente Tesis utilizaremos el término DAP para designar todas las situaciones en el que el DA permanece abierto, independientemente de su posible significación patológica. Asimismo, utilizaremos el término DAP hemodinámicamente significativo (DAP-HS) para referirnos a aquellas situaciones en las que el DAP implica alteraciones fisiopatológicas o clínicas.

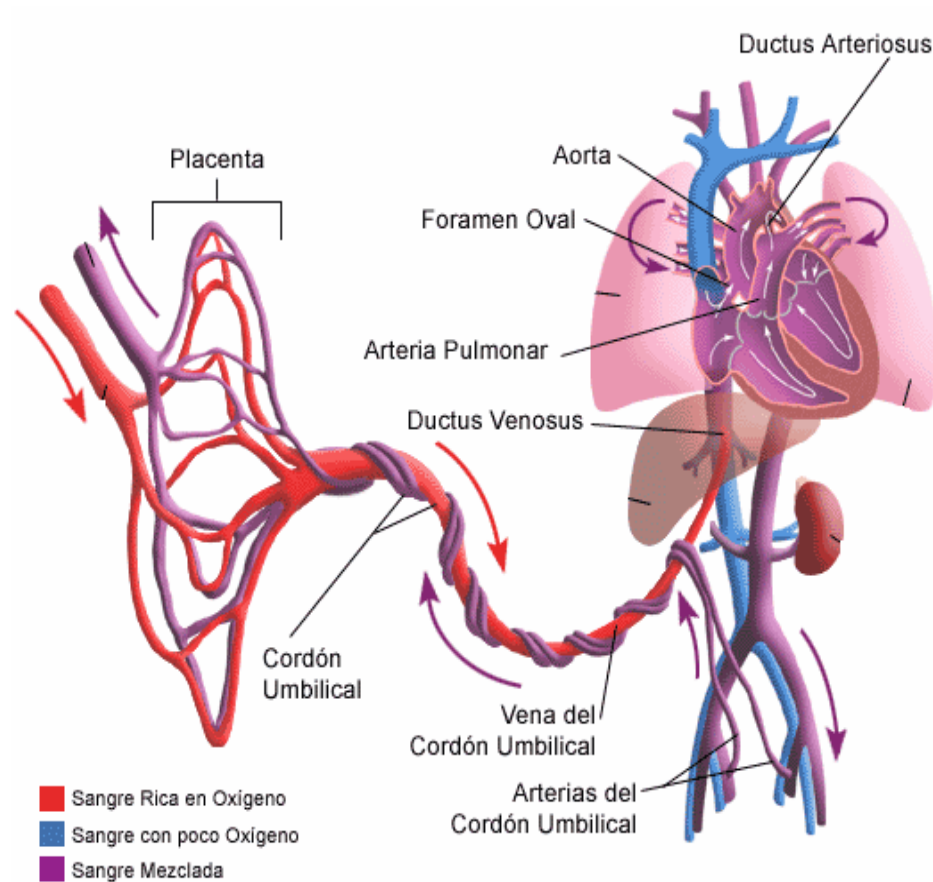
En un 50% de los recién nacidos a término (RNT) sanos el cierre funcional del DA tiene lugar dentro de las primeras 24 horas y, prácticamente en el 90%, ya se encuentra cerrado al 3º día (*Gentile y cols., 1981; Lim y cols., 1992*). De ahí, que un DAP en los primeros 3 días de vida podría ser considerado un shunt fisiológico tanto en niños a término como en prematuros (*Skinner, 2001*).

Cuando se considera el DAP como una entidad patológica, resulta fundamental diferenciar entre el DAP del RNT y el DAP del recién nacido prematuro (RNP). El primero es una consecuencia de una alteración -primaria o adquirida- del desarrollo. Es decir, el DAP del RNT es la consecuencia de un desarrollo anómalo. En estos casos, determinadas alteraciones genéticas o infecciones congénitas pueden encontrarse en la génesis del trastorno (*Bökemkamp y cols., 2010*). El DAP en niños mayores más allá de los 3 meses, se caracteriza histológicamente por una elevada cantidad de elastina y la presencia de una lámina elástica subendotelial anómalamente desarrollada.

Por su parte, el DAP del RNP es la consecuencia de un desarrollo no anómalo sino insuficiente. El DA se prepara para su cierre mediante un delicado programa de desarrollo que le permite permanecer abierto durante la vida fetal y cerrarse al nacimiento. El nacimiento prematuro sorprende al DA con este programa aún



incompleto (Stoller y cols., 2012; Bergwerff y cols., 1999). A partir del momento del nacimiento el DA debe avanzar hacia su cierre con una maquinaria contráctil y proliferativa insuficientemente desarrollada y unas condiciones circulatorias y respiratorias muy diferentes a las fetales. La presente Tesis está exclusivamente centrada en el DAP del prematuro.



**Figura 1.** Esquema de la circulación fetal.

### 1.1. Biología del DA.

Como ya hemos referido anteriormente, el DA del RNP se distingue por presentar una respuesta a los estímulos vasoactivos propia del feto. Por tanto, para entender las dificultades del DA del RNP para cerrarse debemos entender los mecanismos que mantienen el DA abierto en la vida fetal y que propician su cierre al nacimiento. Si quisiéramos sintetizar al máximo la biología del DA podríamos reducirla a la interacción de un vasoconstrictor –el oxígeno- y un vasodilatador- las prostaglandinas (PGs) (*Dzialowski y cols., 2011*). Sin embargo, debemos tener en cuenta que las células musculares lisas y endoteliales del DA producen y responden a numerosos factores vasoactivos que en muchos casos van a modular la acción de oxígeno y PGs. En las siguientes páginas analizaremos con detalle los principales **factores vasoactivos** que participan en el control del tono del DA.

#### a) Oxígeno

Como ya hemos mencionado previamente, el DA se distingue de los grandes vasos que lo rodean por un origen embriológico diferenciado -el 6º arco aórtico- y por una exquisita sensibilidad al oxígeno (*Bergwerff y cols., 1999*). Esta sensibilidad al oxígeno proviene de la importante población de células musculares lisas que, originadas en la cresta neural, migran hacia el DA. Las bajas tensiones de oxígeno, propias de la vida fetal, mantienen el DA relajado. Tras el nacimiento, el incremento en las tensiones de oxígeno es uno de los factores cruciales para inducir la contracción del DA que provoca su cierre funcional (*Weir y cols., 2005; Keck y cols., 2005*). Desde hace más de 50 años se tiene conocimiento que en poblaciones con elevada altitud, donde los niveles atmosféricos de oxígeno son menores, la incidencia de DAP es mayor (*Alzamora-Castro y cols., 1960*). De hecho, la relevancia del oxígeno en el cierre del DA fue ya intuida por Eduard Jörg en 1835 (*Obladen, 2011*). En el momento actual disponemos de mucha información sobre cómo el oxígeno contrae el DA (*Weir y cols., 2005; Keck y cols., 2005*), sin embargo, nuestro conocimiento del proceso está todavía lejos de ser completo.

Las células musculares lisas del DA pertenecen a un grupo de células especializadas en sentir y responder a cambios sutiles en la presión parcial de oxígeno. Además del DA, las células del cuerpo carotídeo y las células musculares lisas de las arteriolas pulmonares precapilares y de las arterias fetoplacentarias pertenecen a este grupo (*Perez-Vizcaino y cols., 2010; Cogolludo y cols., 2009; Weir y cols., 2005*). Las células del cuerpo carotídeo son responsables de la respuesta ventilatoria a la hipoxemia mientras que las células musculares lisas de las arterias pulmonares y fetoplacentarias poseen un mecanismo de vasoconstricción hipóxica que permite acoplar la circulación con la ventilación en el pulmón y con la circulación en la placenta. Estos procesos de vasoconstricción pulmonar hipóxica (VPH) y vasoconstricción feto placentaria hipóxica derivan la sangre a las zonas mejor ventiladas del pulmón y mejor perfundidas de la placenta. Existen numerosas evidencias experimentales que indican que los mecanismos responsables del reconocimiento de la tensión de oxígeno y la señalización de las respuestas vasoconstrictoras pulmonar y feto placentaria a la hipoxia son similares a los mecanismos responsables de la respuesta del DA a la normoxia. Esto es particularmente válido para la VPH y la contracción normóxica del DA; los dos procesos mejor estudiados y conocidos (*Perez-Vizcaino y cols., 2010; Cogolludo y cols., 2009; Weir y cols., 2005; Moreno y cols., 2014*). A continuación analizaremos las dos hipótesis propuestas para explicar la contracción normóxica del DA. Ambas hipótesis identifican distintos sensores de oxígeno, mediadores y efectores de la respuesta.

### ❖ Hipótesis del estado redox y canales iónicos

Esta hipótesis identifica la mitocondria como el **sensor** de oxígeno (Figura 2). La cadena de transporte de electrones y/o la NADPH oxidasa mitocondrial responderían al incremento en las tensiones de oxígeno con un aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno, particularmente de anión superóxido (*Cogolludo y cols., 2009; Tristani-Firouzi y cols., 1996; Michelakis y cols., 2000*).

La NADPH oxidasa de membrana también actúa como fuente adicional de superóxido (*Weir y cols., 2005*). El superóxido es una molécula

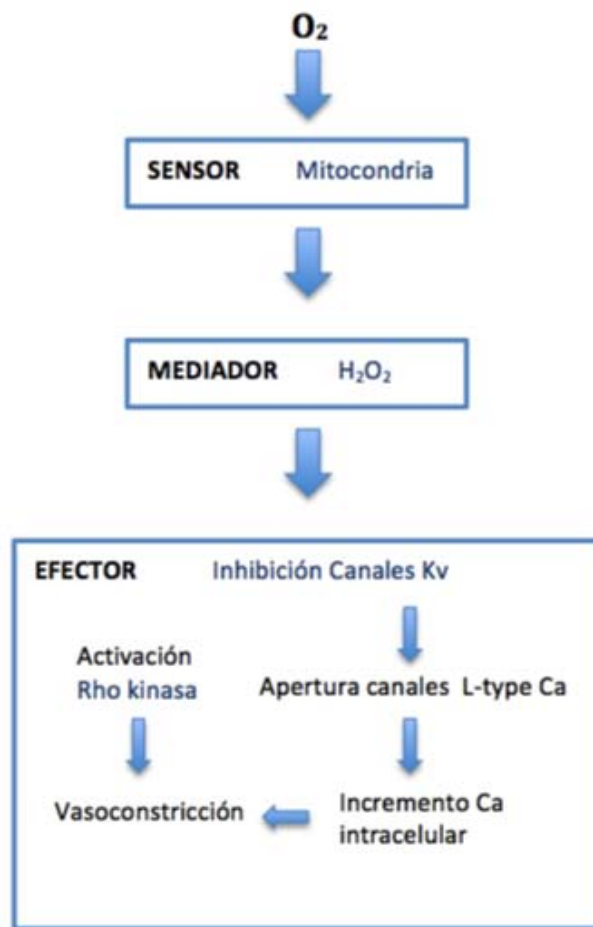
## Introducción

altamente inestable que es rápidamente degradada a  $H_2O_2$  por acción de la superóxido dismutasa (SOD). El  $H_2O_2$  sería el **mediador** de la respuesta a través de su actuación sobre diversos efectores (Figura 2). El principal **efector** propuesto es una familia de canales de potasio voltaje-dependientes ( $K_v$ , particularmente  $K_{v7}$ ) y sensibles al estado redox de la célula (*Cogolludo y cols., 2009; Tristani-Firouzi y cols., 1996; Michelakis y cols., 2000*). El  $H_2O_2$  produciría el cierre de estos canales lo que conduciría a una despolarización de la membrana celular. Esta despolarización induciría la apertura de canales de calcio (tipo L) operados por voltaje. A través de estos canales, el calcio extracelular entraría al interior de la célula. El incremento de la concentración de calcio intracelular es el estímulo que daría lugar a la contracción. Además de los canales  $K_v$  otro posible efector sería el sistema Rho/Rho-quinasa cuya activación trae consigo un incremento de la sensibilidad al calcio de la maquinaria contráctil debida a una persistente fosforilación de la cadena ligera de miosina (*Clyman y cols., 2007; Hong y cols., 2006; Kajimoto y cols., 2007*).

Por último, la liberación de calcio del retículo sarcoplásmico, con el consiguiente incremento de calcio intracelular, así como la activación directa por el oxígeno, de los canales de calcio tipo L han sido también propuestos como **mecanismos efectores** (*Thébaud y cols., 2008*).

Muy recientemente este esquema basado en la mitocondria y NADPH-oxidasa como sensores, el  $H_2O_2$  como mediador y los canales  $K_v$ , la Rho-quinasa como efectores ha recibido dos interesantes aportaciones. Hong y cols. (2013) demostraron que el incremento de la tensión de oxígeno induce un proceso de fisión mitocondrial. Las mitocondrias resultantes de esta fisión producen mayores cantidades de especies reactivas de oxígeno que sus predecesoras. La segunda aportación viene de la mano de Moreno y cols. que han demostrado el importante papel de la ceramida en el proceso de contracción normóxica del DA (*Moreno y cols.,*

2014). La ceramida es un esfingolípido que se sintetiza a partir de la esfingomielina de la membrana a través de una familia de enzimas denominadas esfingomielinasas. La inhibición de la esfingomielinasa neutra (nSMase) produce una marcada reducción de la contracción normóxica del DA. Al ser la nSMase un enzima que es activada por especies reactivas de oxígeno se especula con la posibilidad de que la producción de ceramida sea un mecanismo amplificador de la acción de estas especies producidas por el sensor mitocondrial.



**Figura 2.** Esquema ilustrativo (adaptación con permiso de Cogolludo y cols.) que muestra los pasos para la constricción del DA, mostrando la mitocondria como sensor, el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como mediador y los canales Kv y el sistema Rho kinasa como efectores.

### ❖ **Hipótesis del citocromo P450/ Endotelina-1**

Esta hipótesis propuesta por el grupo de Coceani y cols. (*Coceani y cols.*, 1999; *Baragatti y cols.*, 2011; *Coceani y cols.*, 2012) postula que el sensor de oxígeno es el CYP3A13, una enzima monooxigenasa de la familia 3A del grupo del citocromo P450. La activación de esta enzima por el oxígeno traería consigo la producción de un mediador intermedio no identificado que induciría un incremento en la producción del polipéptido vasoconstrictor endotelina-1. De forma adicional, se postula un efecto directo del oxígeno en la producción de endotelina-1 que podría servir como mecanismo amplificador (*Baragatti y cols.*, 2011; *Coceani y cols.*, 2012). Las dos hipótesis expuestas no son mutuamente excluyentes ya que la endotelina-1 puede tener parte de su acción a través de un incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno (*Pérez-Vizcaíno y cols.*, 2010), por lo que puede interferir en la función de los canales de potasio (*Kech y cols.*, 2005; *Coceani y cols.* 1999) o utilizar la Rho-quinasa como vía de señalización de la respuesta contráctil (*Budzyn y cols.*, 2006).

### **b) Prostaglandinas**

Las prostaglandinas (PGs) son derivados del ácido araquidónico producidos por la acción de las enzimas PG endoperóxido H sintetasa 1 y 2, conocidas comúnmente como ciclooxigenasa (COX) 1 y 2. Aunque ambas isoformas están presentes en el ductus, la COX-1 tiene un papel predominante en el mantenimiento del DA en la etapa fetal. La expresión de estas enzimas aumenta al incrementarse la edad gestacional, lo cual produce más PGE<sub>2</sub>. Loftin y cols., (2001) demostraron que en ratones transgénicos que no expresaban ninguna de las isoformas de la COX, no se observaron alteraciones del DA en el momento previo al nacimiento. Tal hecho nos pone de manifiesto que las prostaglandinas maternas son suficientes para mantener el DA abierto.

De los diversos prostanoideos producidos por la vía de la COX, la PGE<sub>2</sub> es el principal vasodilatador ductal. La PGE<sub>2</sub> regula el tono del DA mediante la interacción con cuatro receptores distintos conocidos como **EP1, EP2, EP3 y EP4** (Bouayad y cols., 2001; Leonhard y cols., 2003; Narumiya y Fitzgerald, 2001). La estimulación de los receptores EP2 y EP4 trae consigo la activación de la adenilato ciclasa con el consiguiente aumento de los niveles de AMPc. El AMPc producirá la relajación del DA. Los niveles intracelulares de AMPc son controlados por las fosfodiesterasas, enzimas responsables de su degradación. La prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) es otro producto de la COX que también induce relajación ductal aunque su papel en el control del tono y cierre del DA es menos relevante que el de la PGE<sub>2</sub> (Schneider y Moore, 2006). La placenta es la principal fuente de PGs. Debido al reducido aclaramiento pulmonar, las PGE<sub>2</sub> y las PGI<sub>2</sub> producidas por la placenta, alcanzan su máxima concentración en el último trimestre del embarazo. Tras el nacimiento, los niveles de PGE<sub>2</sub> y PGI<sub>2</sub> disminuyen debido al metabolismo en los pulmones ahora funcionantes. El papel relevante de las PGs en el mantenimiento del DA tiene importantes connotaciones terapéuticas. La indometacina y el ibuprofeno, dos inhibidores de la COX, son los fármacos utilizados en el tratamiento del DAP. Asimismo, estudios tanto experimentales como clínicos (Moise, 1993; Vermillion y cols., 1997) han demostrado que la administración materna de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) produce la contracción del DA en fetos de más de 31 semanas de gestación.

### **c) Otros factores vasoactivos en el control del tono del DA**

Además del oxígeno y las PGs, el DA es sensible a una gran variedad de estímulos vasoactivos incluyendo, entre otros, el óxido nítrico (NO) (Momma y cols., 1999; Clyman y cols., 1998) el monóxido de carbono (Fay, 1971; Coceani y cols., 1997; van der Sterren y cols., 2011), el ácido sulfhídrico (van der Sterren y cols., 2011), el tromboxano A<sub>2</sub>, los isoprostanos (van der Sterren y cols., 2010), la bradiquinina, la serotonina, las catecolaminas, o la ya mencionada anteriormente endotelina-1 (Smith 1998). El papel de estos factores en el

## Introducción

control del tono ductal varía según la especie estudiada. Sin embargo, en general se puede apreciar un patrón de disminución progresiva con la edad fetal de la respuesta a los factores vasodilatadores y de aumento de la respuesta a los factores vasoconstrictores (*Dzialowski y cols., 2011*). No obstante, el papel de todos estos factores vasoactivos parece secundario cuando se comparan con oxígeno y PGs. Resulta interesante destacar que muchos de estos factores vasoactivos ven modificada su actividad por las tensiones de oxígeno.

### 1.1.2. El cierre del DA

En el momento del nacimiento, al establecerse el patrón circulatorio postnatal, el DA ya no es necesario y se produce su cierre. Cuando se analiza el proceso de cierre del DA se diferencian, de modo clásico, dos etapas: el cierre funcional y el cierre anatómico del vaso.

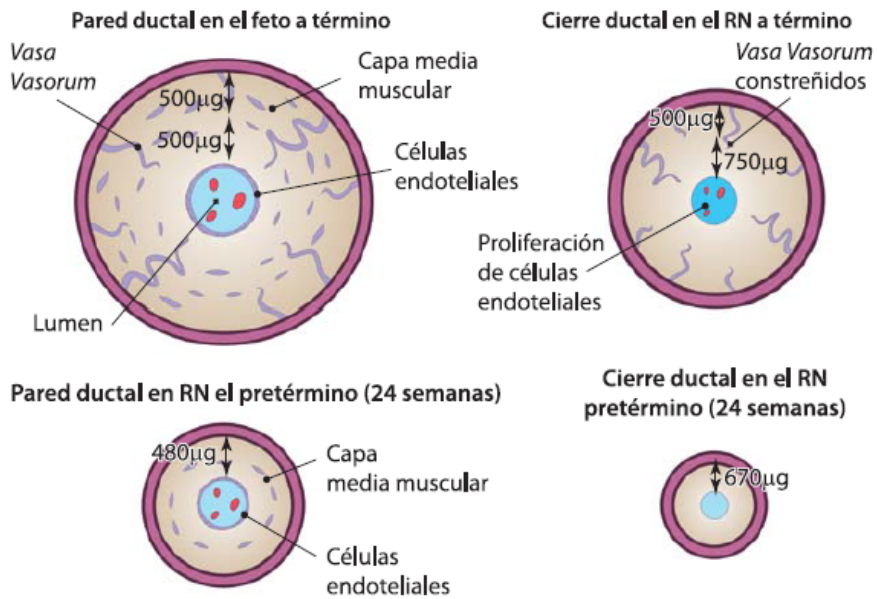
El *cierre funcional* es un proceso de vasoconstricción como resultado de un aumento de la tensión de oxígeno y una disminución de PGs circulantes y locales. Esta vasoconstricción provoca una profunda isquemia-hipoxia en la túnica media vascular que es el primer paso para el *cierre anatómico permanente* (*Clyman 2006; Clyman y Chemtob 2010*). La proliferación de células endoteliales, junto a una migración de las células musculares de la túnica media hacia la íntima, da lugar a la formación de una neointima. La hipoxia inhibe la producción de PGE<sub>2</sub> y NO e induce la producción local de factores de crecimiento como el factor beta de crecimiento de transformación (TGF- $\beta$ ) y factores de crecimiento vascular endotelial (VEGF) (*Clyman y cols., 2006*). Ambos factores y con más protagonismo éste último, jugarán un papel temprano en la remodelación ductal, estimulando la proliferación de células endoteliales a nivel de la íntima con la consiguiente oclusión de la luz del DA.



### 1.1.3. El DA del prematuro

Como ya hemos mencionado anteriormente, el DA del prematuro es menos sensible a la acción vasoconstrictora del oxígeno y más sensible a la acción vasodilatadora de las PGs. Es más, en el prematuro (Figura 3), aún cuando exista una constricción del DA, el grado de hipoxia que se alcanza en la túnica media es inferior al presente en el RNT (*Clyman 2006; Clyman y Chemtob 2010*). Para comprender este fenómeno es preciso entender las diferencias estructurales del DA en el RNP y en el RNT. El DA del RNT está dotado de vasa vasorum. La contracción ductal ocluye estos vasos con lo que una importante parte de la media queda sometida al estímulo hipóxico. Aunque se mantenga una luz ductal residual, el oxígeno que difunde no alcanza distancias mayores de 400-500  $\mu\text{m}$  de la luz (*Hermes-DeSantis y cols., 2006*). En el DA de un prematuro extremo (por ejemplo, 24 semanas de gestación), la pared ductal mide aproximadamente 200  $\mu\text{m}$  de grosor. Los vasa vasorum finalizan en la adventicia y no penetran hasta la capa media, nutriéndose esta delgada pared vascular a través del lumen. Como consecuencia de estas diferencias estructurales, durante el cierre del DA en el RNP, no existe una zona vulnerable de isquemia en la pared ductal que suponga el nivel óptimo de hipoxia necesario para el inicio del remodelado que es esencial en el cierre definitivo del DA (*Clyman 2006; Clyman y Chemtob 2010*).

## Introducción



**Figura 3.** Esquema de cortes transversales de la pared del *ductus arteriosus* en el feto a término, en el RNT y en el RNP de 24 semanas de edad gestacional. Obsérvese como la constricción posnatal del ductus arteriosus en el RNT da lugar a una contracción de las células de la capa media muscular con la consiguiente compresión de los *vasa vasorum*. La hipoxia/isquemia del área ductal supone un estímulo para la proliferación de células endoteliales.

### 1.1.4. Plaquetas y DAP

En el año 2010 Echtler y colaboradores publicaron una muy interesante aportación al conocimiento de la biología del DA, cuyo cierre se compara con un proceso trombótico. Los autores proponen un modelo del cierre del DA en el que la constricción inicial produce cambios en la pared que adopta un fenotipo protrombótico con activación endotelial y depósito de factor de von Willebrand y fibrinógeno. Las células endoteliales pueden separarse de la lámina elástica interna dejando expuestas las fibras de colágeno. Este proceso desencadena el reclutamiento, la acumulación y la activación de plaquetas circulantes en la luz residual del DA y la formación de un coágulo que sella dicha luz.

Para demostrar su hipótesis Echtler y cols. (2010) utilizaron diversas aproximaciones experimentales. En primer lugar demostraron con técnicas de inmunohistoquímica en el DA del ratón, la presencia a las 1, 12 y 24 horas de células

que expresaban glicoproteínas (Gp) como la GpIIb-IIIa y GpVI (ésta última exclusiva de la línea plaquetaria). También identificaron potenciales sustratos para la adhesión plaquetaria, entre los que se incluyeron fibrinógeno, colágeno y Factor de Von Willebrand (vWF). El vWF se encuentra de forma exclusiva en las células endoteliales disfuncionales, de ahí que concluyeran que el cierre del DA está asociado con una disfunción y denudación de las células endoteliales con la consecuente exposición luminal de las fibras de colágeno.

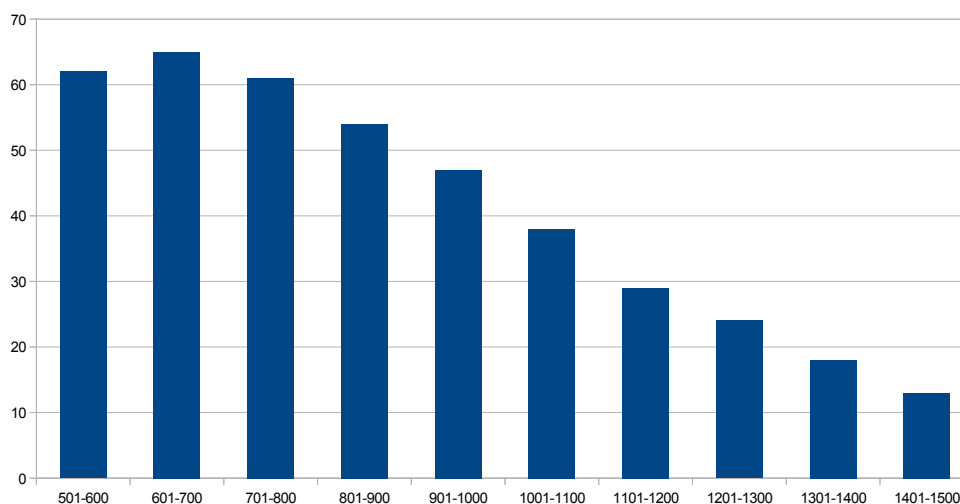
En otra serie de experimentos *in vivo* utilizando microscopía intracavitad confocal demostraron la adhesión plaquetaria a nivel de la pared endotelial. Los autores fueron más allá demostrando que alteraciones en las glicoproteínas plaquetarias encargadas de la adhesión plaquetaria, así como factores nucleares encargados de su biogénesis, pueden influir en el cierre del DA. De este modo, hicieron uso de ratones manipulados genéticamente en los que un déficit de GpIIb, GpVI (adhesión plaquetaria) y factor nuclear (derivado de eritroide 2 o Nfe2) producía una alteración en el remodelado del DA y fracaso del en el cierre del mismo.

Todos los experimentos anteriormente referidos habían sido realizados en modelos murinos. Tratando de responder a la pregunta de la posible extrapolabilidad de sus resultados a los humanos, Echtler y cols. analizaron, de forma retrospectiva, la relación entre la trombocitopenia (definida como plaquetas  $\leq 150 \times 10^9/L$ ) en el primer día de vida y la presencia de un DAP-HS entre el tercer y el quinto día de vida en una cohorte de 124 RNP entre 24 y 30 semanas de edad gestacional. En un modelo de regresión logística, se identificó la trombocitopenia como único factor de riesgo independiente para la presencia de DAP-HS.

## 2. El DAP del prematuro como problema clínico

### 2.1 Incidencia

El DAP en el RNP es inversamente proporcional a la edad gestacional y al peso al nacimiento, siendo más frecuente en aquellos prematuros que presentan distrés respiratorio y no han recibido corticoides prenatales (*Lemmons y cols., 2001*). En una primera publicación de la “Vermont Oxford Network” (1993) que incluía 36 centros hospitalarios y un total de 2961 RNP menores de 1500 g, la incidencia de DAP ascendía al 55-60%. En la actualidad un total de 850 hospitales de todo el mundo componen la red Vermont Oxford y según los datos del 2010 que incluía 53810 prematuros (datos no publicados), hasta un 64% de RNP entre 24 y 26 semanas presentaron DAP (Tablas 1 y 2).



**Tabla 1.** Presentación de la incidencia de DAP (en porcentaje) en niños menores de 1500 gramos según la Vermont Oxford Network 2010 estratificado por peso al nacimiento.

	Todos	<24	24-26	27-29	30-32	>32
PDA	37 (23-44)	61 (20-100)	64 (43-69)	38 (24-50)	16 (4-22)	8 (0-9)

**Tabla 2.** Incidencia de DAP estratificado por edad gestacional según la Vermont Oxford Network 2010. Se expresan las medias (%) y entre paréntesis los percentiles 25 y 75.

## 2.2. Implicaciones hemodinámicas y consideraciones clínicas

En el periodo fetal, las elevadas RPV permiten un “shunt” pulmonar-sistémico, mientras que en el periodo posnatal, tras descender las RPV, la persistencia del ductus conduce a un incremento del flujo sanguíneo desde la aorta a la arteria pulmonar. Este cortocircuito de sangre izquierda-derecha supondrá un incremento del flujo sanguíneo pulmonar y un secuestro de sangre de la circulación sistémica. Las consecuencias fisiológicas de este “robo ductal” dependerán del tamaño del shunt y de la respuesta del corazón, pulmones y otros órganos.

A nivel pulmonar, el DAP incrementa el flujo sanguíneo favoreciendo el edema pulmonar y reduciendo la complianza. Con ello, el tiempo de ventilación mecánica se prolonga y aumentan las necesidades de oxígeno (*De Felice y cols., 2009*), incrementándose probablemente el riesgo de padecer enfermedad pulmonar crónica/displasia broncopulmonar (BPD). Asimismo, el riesgo de hemorragia pulmonar también se encuentra incrementado en prematuros con mayor tamaño ductal (*Kluckow y cols., 2000*).

El descenso del gasto cardiaco secundario al cortocircuito izquierda – derecha lleva consigo una hipoperfusión a los órganos vitales. La disminución del flujo a nivel renal condiciona una hipoperfusión renal con la consecuente disminución del filtrado glomerular. Por otra parte, complicaciones gastrointestinales como la enterocolitis necrotizante (NEC) han sido frecuentemente asociados a la persistencia del DAP-HS (*Wong y cols., 1990*). A nivel cerebral es bien conocido que shunts importantes reducen el flujo y la oxigenación cerebral (*Lemmers y cols., 2008*), hecho que puede contribuir al incremento del riesgo de hemorragia intraventricular (HIV) y leucomalacia periventricular. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que la evidencia para relacionar la presencia de patologías (HIV, NEC, BPD) con el DAP es controvertida ya que asociación no implica causalidad (*Smith y cols., 2012*). Cada vez más, se cuestionan los mecanismos que subyacen en la morbimortalidad atribuible al DA como la propia prematuridad, la redistribución

## Introducción

del flujo sanguíneo o el propio tratamiento administrado para su cierre (*Chorne y cols., 2007*).

Las siguientes manifestaciones clínicas (*Golombek y cols., 2008*) pueden estar presentes en un ductus arterioso hemodinámicamente significativo (DAP-HS):

- Taquicardia.
- Precordio hiperdinámico.
- Empeoramiento del estado respiratorio: taquipnea, episodios de apnea, aumento de los requerimientos de oxígeno, dependencia de CPAP o ventilación mecánica, edema pulmonar.
- Cardiomegalia.
- Caída o disminución de presión arterial media con incremento del gradiente de presión arterial (>25-30 mmHg) por disminución de presión arterial diastólica.
- Oliguria.
- Pulsos saltones.
- Soplo sistólico *in crescendo* a nivel infraclavicular.
- Acidosis metabólica.
- Hepatomegalia.
- Intolerancia digestiva.
- Estancamiento ponderal.
- Hipotensión arterial.

Los prematuros, especialmente los menores de 1000 gramos, con un DAP-HS desarrollarán síntomas en los primeros 2 ó 3 días tras el nacimiento. Tales hallazgos clínicos pueden desarrollarse más tempranamente en los niños tratados con surfactante debido a la reducción de las resistencias vasculares pulmonares con la consiguiente mejoría de la función pulmonar y el incremento del cortocircuito izquierda-derecha. Los signos clínicos no son de gran valor para diagnosticar un DAP de forma precoz (*Skelton y cols., 1994*). De hecho, la

especificidad del soplo cardíaco supera el 90 % sólo después del 6º día, con una baja sensibilidad en los primeros tres días. Los RNP pueden presentar un DAP “silente”, en el que la ausencia de soplo es la característica a destacar. Además, la presión diferencial o de pulso no es diferente estadísticamente en los recién nacidos con DAP-HS (*Ratner y cols., 1985; Evans y cols., 1992*) y el deterioro de la patología respiratoria, a pesar de mostrar una alta sensibilidad, carece de especificidad. Estos datos demuestran que el diagnóstico de DAP dependiendo exclusivamente de los signos físicos, resultaría tardío; es decir cuando el impacto generado por la repercusión hemodinámica del DAP ya se ha instaurado. De ahí que en muchos centros hospitalarios la ecografía cardiaca se recomiende en las primeras 48-72 horas e incluso algunos autores (*Evans N. 2011*) han propugnado su realización más tempranamente.

### 2.3. Diagnóstico

El diagnóstico del DAP-HS se realiza en base a la clínica y a los hallazgos ecográficos. El concepto de hemodinámicamente significativo es amplio y sujeto a continuo debate. (*Golombek y cols., 2008*).

Como ya hemos mencionado, los **hallazgos clínicos** podrían ser de ayuda, pero tienen el inconveniente de presentar una baja sensibilidad para el diagnóstico de DAP-HS. Quizás la hipotensión arterial sistémica, con cifras más bajas de presiones tanto sistólicas como diastólicas, supone una de las características más específicas y sensibles a la hora de diagnosticar el DAP-HS (*Evans y cols., 1992*).

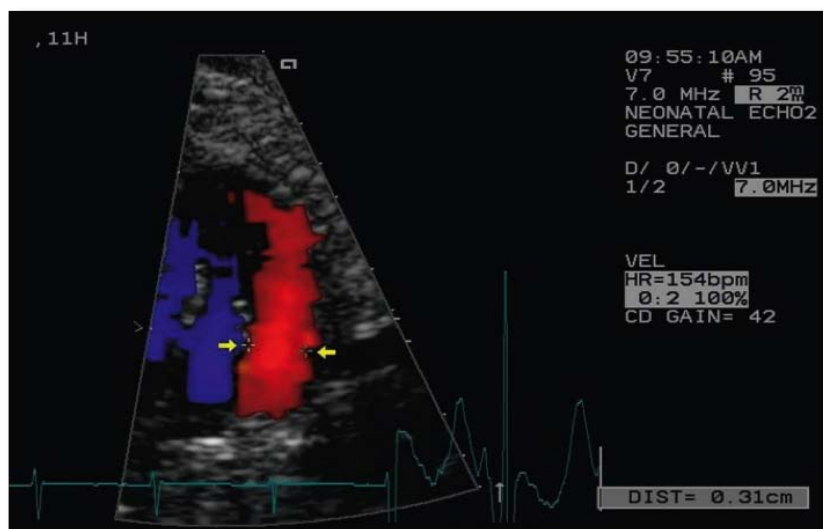
El **electrocardiograma** no es de gran utilidad para el diagnóstico, ya que se encuentra normal en el 80% de los casos. Hallazgos como la hipertrofia ventricular derecha y la hipertrofia biventricular están presentes en el 17 y 6% respectivamente (*Evans y cols., 2004*). La **radiografía de tórax** tampoco presenta un patrón característico que nos ayude al diagnóstico, si bien la cardiomegalia con signos de edema pulmonar pueden ser sugestivos de esta patología.

## Introducción

La **ecografía bi-dimensional Doppler color**, ha demostrado ser el método más seguro para diagnosticar el DAP-HS en pacientes prematuros, incluso en aquellos que no han presentado clínica (DAP silente). La sensibilidad de este recurso diagnóstico se ha reportado de un 89% y una especificidad del 91% (Evans y cols., 2004). En la actualidad, existen numerosos datos que se emplean para diagnosticar el DAP-HS, pero ninguno totalmente válido de manera aislada. Se describen, a continuación los parámetros más utilizados para el diagnóstico ecográfico del DAP-HS.

### a) Tamaño del ductus.

El diámetro transductal es uno de los parámetros mayormente usado para determinar si un DAP es hemodinámicamente significativo o no. Presenta una alta sensibilidad (94%) y especificidad (90%) cuando se realiza por ecografía en 2 D, disminuyendo ligeramente si se realiza la medición de la estructura con Doppler color. Un diámetro mayor de 1.5 mm medido por Doppler color (Figura 4) es indicativo de DAP-HS, mientras que si la medición es por ecografía 2D la medida del DAP-HS debe ser  $> 1.4 \text{ mm/kg}$  (El Hajjar y cols., 2005).



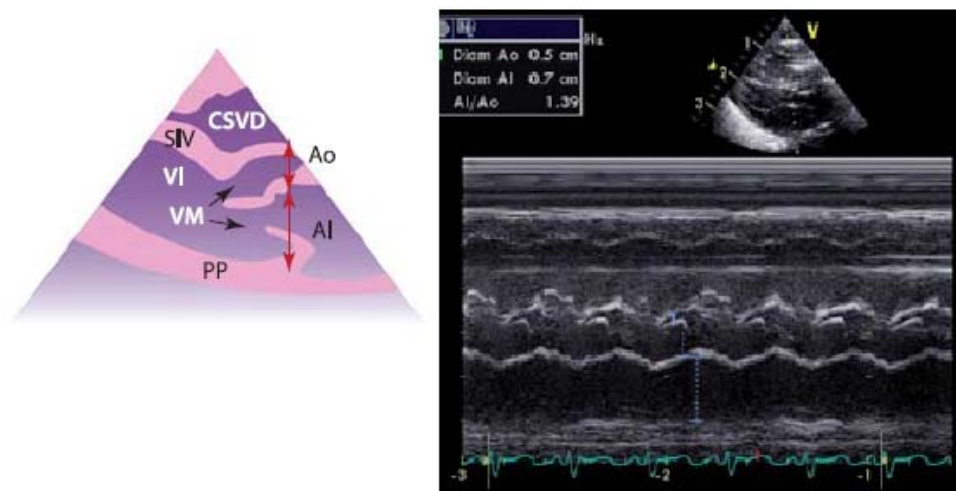
**Figura 4.** Ductus arterioso de tamaño 3,1 mm de diámetro. (Imagen cedida por la Dra. Dimpna Calila Albert).



**b) Relación aurícula izquierda/aorta (AI/Ao)**

La dilatación de cavidades izquierdas del corazón es, junto con el tamaño ductal, una de las medidas más usada para determinar un DAP-HS. Dicha medición se realiza en el plano longitudinal largo a nivel del anillo aórtico con el modo-M (Figura 5) y presenta una sensibilidad y especificidad similares al diámetro ductal.

Ratio AI/Ao > 1.4 es sugestivo de DAP-HS.



**Figura 5.** Corte ecográfico en plano longitudinal en modo M (A) y en modo 2D (B). El índice AI/Ao resulta de dividir las medidas o obtenidas en modo M (flechas rojas). Imagen cedida por la Dra. Dimpna Calila Albert.

**c) Flujo retrógrado holosistólico en la aorta descendente**

Es indicativo de un DAP amplio con robo sistémico a la circulación pulmonar. Cuanto mayor sea el flujo invertido más repercusión existirá.

### **d) Patrón de flujo pulsado o continuo a través del DAP.**

Altamente indicativos de la presencia de un DAP-HS. Para determinar este patrón de flujo es necesaria la utilización del doppler.

### **e) Velocidad transductal y de flujo diastólico de la Arteria pulmonar izquierda postductal.**

La rama pulmonar izquierda recibirá el shunt izquierda-derecha provocado por el ductus; de ahí que la aceleración en la velocidad a nivel de dicha rama pulmonar mayor de 0,42 m/s es un indicador de DAP-HS (*El Hajjar y cols., 2005*).

## **Biomarcadores**

Existe un incremento de evidencia en los últimos años que sugieren el papel de biomarcadores como el **BNP** (péptido natriurético cerebral o de tipo B) y el **NR-pro-BNP** (prohormona N-terminal del BNP) en el diagnóstico del DAP-HS. El BNP podría constituir en el futuro una herramienta de apoyo al diagnóstico al identificar los pacientes subsidiarios de tratamiento médico. Estos biomarcadores permiten, asimismo, monitorizar la respuesta del DAP al tratamiento con inhibidores de la COX, pues concentraciones de BNP < 100 pg/ml (*Attridge y cols., 2009*) durante el tratamiento con indometacina nos permiten suspender el tratamiento y no exponer al recién nacido prematuro a un mayor número de dosis. Es interesante destacar que los niveles plasmáticos de NT-pro-BNP y **troponina T** se encuentran elevados en RNP < 32 semanas con DAP que desarrollan HIV grave y muerte comparados con los que no presentan complicaciones (*El-Khuffash y cols., 2008*). El futuro y las próximas investigaciones terminarán por dilucidar el papel de los biomarcadores en el diagnóstico y tratamiento del DAP-HS en RNP.

## 2.4. Tratamiento del DAP-HS

Clásicamente y durante más de 3 décadas los neonatólogos han estado convencidos de que un DAP-HS debía ser cerrado en los RNP con el fin de evitar las complicaciones. La Sociedad Iberoamericana de Neonatología recomendó en un consenso (*Golombek y cols., 2008*) que todo DAP-HS siempre debería tratarse para evitar un incremento en la morbilidad de esta población. Sin embargo, en los últimos años varios autores (*Benitz, 2012 ; Bose y cols., 2007*) han hecho hincapié en la falta de evidencia científica en el tratamiento del DAP-HS y la aparición de complicaciones posteriores asociadas en mayor medida al tratamiento quirúrgico del DAP-HS. No existen guías de recomendación mundiales con una aceptación amplia, y las pautas de tratamiento cambian entre los distintos países, centros e incluso entre los distintos profesionales del mismo centro.

### 2.4.1 Tratamiento médico del DAP-HS

Hasta la fecha existen comercializados dos fármacos inhibidores no selectivos de la enzima ciclooxigenasa como son la indometacina y el ibuprofeno. La eficacia de estos fármacos depende de la edad gestacional a la que se administren. Así, estos AINES son menos eficaces para el cierre del DAP-HS en los prematuros extremos, hecho a menudo atribuido a la inadecuada contracción de las células musculares lisas.

La **indometacina** ha sido el tratamiento farmacológico utilizado convencionalmente para cerrar el DAP-HS. Sin embargo, a pesar de su eficacia demostrada, su uso se ha asociado a complicaciones derivadas de la disminución que provoca en la perfusión cerebral, renal y mesentérica. En los años 90 se generalizó el uso de la administración profiláctica de la indometacina (administradas en las primeras 6-8 horas de vida), dado que algunos autores (*Ment y cols., 1994*) propugnaron junto a la disminución de la aparición del DAP una reducción en la incidencia de HIV grave. Posteriormente varios ensayos clínicos (*Schmidt y cols., 2001*) y una revisión de la Cochrane (*Fowlie y cols.,*

## Introducción

2010) han demostrado que el beneficio en la disminución de HIV grave no se acompaña de una mejoría en el neurodesarrollo a largo plazo. De ahí que la recomendación de la administración profiláctica de indometacina en el 1º día de vida ha sido abandonada ya que expondríamos a muchos RNP a un fármaco innecesario (60% de los DAP en el 1º día se cerrarán espontáneamente) y no exento de efectos secundarios.

En los últimos años, se ha utilizado profusamente otro inhibidor de la COX de administración intravenosa como es el **ibuprofeno**. Hay que destacar que estudios recientes demuestran que su administración oral es igual de efectiva (tasa de éxito entre 60-80%) sin más efectos secundarios (*Gokmen y cols., 2011, Neumann y cols., 2012*). El ibuprofeno presenta igual tasa de éxito (60-80%) en el cierre del DAP-HS que la indometacina pero en los ensayos clínicos se observó menor incidencia de oliguria y NEC. Pezzati (*Pezzati y cols., 1999*) demostró que el ibuprofeno no reducía significativamente la velocidad del flujo sanguíneo cerebral ni mesentérico. Sin embargo, la administración profiláctica con ibuprofeno se ha asociado a casos de hipertensión pulmonar (especialmente la forma Trometanol) (*Gournay y cols., 2002*), y en algunos estudios se ha observado que la incidencia de BPD (*Van Overmeire y cols., 2000; Sosenko y cols., 2012*) es mayor en los pacientes tratados con este inhibidor de la COX. En cuanto a la farmacocinética, el ibuprofeno se encuentra casi en un 95% de su concentración ligado a la albúmina y se sabe que compite por su unión con la bilirrubina. Sin embargo, el uso del ibuprofeno no ha supuesto un incremento en la tasa de kernicterus en los pacientes tratados e incluidos en los ensayos clínicos, ni se ha observado un aumento en la incidencia de ictericia en los pacientes tratados. Debido a las características descritas, el ibuprofeno constituye hoy en día uno de los fármacos de elección para el cierre farmacológico del DAP-HS.

Como ya hemos mencionado, la tasa de cierre ductal de indometacina e ibuprofeno es similar, entre un 60-80%. En caso de fracaso de cierre tras un

primer ciclo de inhibidores de la COX, una segunda tanda de tratamiento está indicado. En este caso, la tasa de éxito de cierre de ambas drogas se sitúa en torno a un 44%. Las dosis recomendadas de ambos inhibidores de la COX se exponen en las tablas 3 y 4.

Indometacina (dosis administradas cada 12 h)	< 48 h	> 48 h	> 7 días
1ª dosis (mg/kg)	0,2	0,2	0,2
2ª dosis (mg/kg)	0,1	0,2	0,25
3ª dosis (mg/kg)	0,1	0,2	0,25

**Tabla 3.** Pauta recomendada de la indometacina.

Ibuprofeno (dosis administradas cada 12 h)	
1ª dosis (mg/kg)	10
2ª dosis (mg/kg)	5
3ª dosis (mg/kg)	5

**Tabla 4.** Pauta recomendada del ibuprofeno.

Las contraindicaciones del tratamiento médico con indometacina e ibuprofeno son:

- Insuficiencia renal: oliguria <0.5 ml/kg/h o creatinina >1.8 mg/dL (de elección el ibuprofeno por no presentar efectos renales).
- Trombocitopenia <25000 (valorar transfusión).
- Hemorragia activa o HIV.
- Enterocolitis necrotizante.

## Introducción

En los últimos años, el **paracetamol** se ha postulado como una nueva alternativa al cierre del DAP-HS. Desde la aparición de los primeros casos clínicos publicados (*Hammerman y cols., 2011*) en los que se objetivaba el cierre a las 48 horas en 5 pacientes en los que el ibuprofeno había fracasado, no han cesado de aparecer publicaciones (*Yurttutan y cols., 2013; Oncel y cols., 2012*) que confirman tal hallazgo. Recientemente ha sido publicada una revisión de la Cochrane (*Ohlsson y Shah, 2015*) que concluye que el paracetamol de administración oral parece ser tan efectivo para el cierre del DAP-HS como el ibuprofeno oral. Sin embargo, deben realizarse un mayor número de estudios que diluciden los posibles efectos secundarios a nivel neurológico, pues se ha relacionado la administración prenatal de paracetamol a la aparición de autismo en edades ulteriores.

### 2.4.2 Tratamiento conservador del DAP-HS.

El manejo conservador del DAP-HS incluye todos aquellos procedimientos orientados a la disminución del shunt izquierda-derecha sin tratamiento con inhibidores de la síntesis de prostaglandinas. Se recomiendan medidas conservadoras como la restricción hídrica (110-130 ml/kg/día) (*Mosalli y Paes, 2010*), la administración de dopamina o el uso CPAP con PEEP elevada. Otras medidas de tipo conservador podrían ser el mantener un hematocrito superior a 35% o una hipercapnia permisiva. Un metaanálisis no mostró ventajas del uso de dopamina en niños tratados con indometacina en lo referente a la reducción de la oliguria o el incremento de creatinina (*Cooke y cols., 2003*). El uso de diuréticos como la furosemida está desaconsejado por favorecer la producción renal de prostaglandinas y por tanto contribuir al mantenimiento del ductus abierto.

El único ensayo clínico aleatorizado que hasta la fecha ha comparado el tratamiento del DAP sintomático con el manejo conservador concluyó que el

grupo con cierre terapéutico presentaba una menor necesidad de ventilación mecánica y menor tendencia a desarrollar NEC y ROP (*Cotton y cols., 1978*).

### 2.4.3. Tratamiento quirúrgico del DAP-HS

Una de las opciones terapéuticas del DAP ha sido clásicamente la cirugía, que puede ser llevada a cabo en la misma unidad de Cuidados Intensivos. Algunos autores abogan por realizar dicha intervención en aquellos prematuros que han presentado un fracaso del tratamiento médico para el cierre de un DAP-HS con gran repercusión clínica. El cierre quirúrgico a pesar de ser un procedimiento sencillo que puede incluso realizarse a través de videotoracoscopia, no está exento de complicaciones tales como sangrado, lesión de las cuerdas vocales, atelectasias, neumotórax, hipotensión, infección, y a largo plazo, escoliosis. Pero quizás han sido las últimas revisiones (*Chorne y cols., 2007; Jhaveri y cols., 2010; Kabra y cols., 2007*) las que han puesto en evidencia los beneficios de esta práctica, y ha supuesto un cambio de mentalidad en el manejo del DAP-HS. Chorne (*Chorne y cols., 2007*) demostró en un grupo de 447 prematuros a los que se le cerraba el DAP al 5º día que el cierre quirúrgico era un factor de riesgo independiente para presentar BPD. Datos obtenidos del TIPP trial (*Kabra y cols., 2007*), indicaron que a los prematuros que se les realizaba ligadura de DAP presentaban un mayor riesgo para presentar alteraciones en el neurodesarrollo, BPD y retinopatía del prematuro.

Para añadir más controversia al tema, un estudio (*Loeliger y cols., 2009*) realizado en mandriles pretérminos a los que se les sometió al 6º día de vida a una ligadura del DAP demostró una disminución en la densidad de oligodendroglía y masa cefálica en los no ligados quirúrgicamente frente a los ligados. Son necesarios un mayor número de ensayos clínicos que pongan de manifiesto los beneficios de una y otra práctica, pero la mayoría de los expertos coinciden en que la cirugía debería reservarse sólo en casos en los que el DAP sea hemodinámicamente significativo, el tratamiento médico haya fracasado o esté

## Introducción

contraindicado y el paciente se encuentre conectado a ventilación mecánica o precise drogas vasoactivas para mantener tensiones arteriales aceptables.

En los últimos años se está generalizando el uso de toracoscopia videoasistida cerrando el DAP con clips (*Mandhan y cols., 2006; Villa y cols., 2004*) con el que se reduce el tiempo operatorio con una menor morbilidad acompañante y una menor incidencia de ductus residual frente a la ligadura clásica.

## 3. Las plaquetas.

### 3.1. Estructura de las plaquetas

Las plaquetas son pequeños corpúsculos sin núcleo derivados de los megacariocitos de la médula ósea, heterogéneos en tamaño (2-3  $\mu\text{m}$ ) con una vida media de 7-10 días (*Zucker-Franklin D, 1997*). Circulan en la sangre en forma de disco biconvexo (discocito) con un volumen medio de 6-8 fl, y 10 pg de peso. Las plaquetas circulan en concentraciones de 150,000-450,000 células/ml (*Zucker-Franklin D, 1997*). De la cantidad total de plaquetas en el cuerpo, el 70% se mantiene en circulación, mientras que el restante 30% permanece de manera transitoria en el bazo. Tanto el bazo como el hígado se encargan de retirar a la mayoría de las plaquetas después de su senescencia, aunque una pequeña fracción se elimina constantemente como resultado de su participación en el mantenimiento de la integridad vascular.

En condiciones fisiológicas, las plaquetas circulan en forma no activa y expresan en su superficie un número relativamente pequeño de moléculas que, en estado activado facilitan la interacción con otras plaquetas y células de su entorno (*López y Macaya, 2013*). Carecen de ADN, pero contienen ARN mensajero (ARNm) derivado de los megacariocitos y la maquinaria de transcripción necesaria para la síntesis de proteínas.



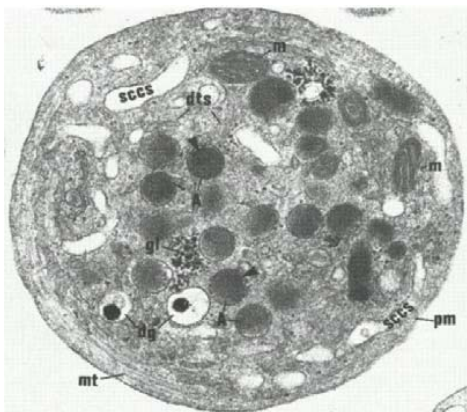
Las plaquetas poseen una estructura celular compleja (Figura 6) que incluye una **membrana externa** que constituye una bicapa lipoproteica con glicoproteínas que funcionan como receptores de los agonistas fisiológicos de las plaquetas (Adenosina Difosfato (ADP), Trombina, TXA<sub>2</sub>), proteínas adhesivas (fibrinógeno, fibronectina, laminina, vitronectina o factor de von Willebrand (vWF)) y para ligandos fibrosos como el colágeno (Klinger, 1996; Andrews y Berndt 2004). Las integrinas, ubicadas en la membrana externa, son responsables de la interacción de la célula con el medio externo a través de receptores. Las *integrinas* más estudiadas son la GPIIb-IIIa y la GPIb-IX (López y Macaya, 2013).

La plaqueta presenta además un sistema de canales conectados a la superficie llamado **sistema canalicular abierto**, que no es más que un sistema que ofrece acceso a las sustancias plasmáticas al interior de la plaqueta y un canal de salida para productos plaquetarios (Morgorstern, 1997; Klinger, 1996). A la liberación de productos plaquetarios a través de este sistema canalicular abierto se denomina “reacción de liberación”.

El **citoesqueleto** de la plaqueta se encuentra debajo de la zona periférica. Esta zona sol-gel constituye el sostén para el mantenimiento de la forma discoide de la plaqueta así como del sistema contráctil que, tras la activación plaquetaria, permite el cambio de forma con la prolongación pseudopódica, la contracción interna y la liberación de los constituyentes granulares (Zucker-Franklin D, 1997).

Otra de las estructuras plaquetarias a destacar es el **sistema tubular denso** (García Mesa y Coma Alfonso, 2000), que consiste en un sistema de membranas que aparece en la vecindad de los microtúbulos y tiene como función regular la activación plaquetaria mediante el secuestro o liberación de calcio. Esta zona también posee sistemas enzimáticos para la síntesis de prostaglandinas (Klinger, 1996).

## Introducción



**Figura 6.** Foto de microscopía electrónica de la ultraestructura plaquetaria. Mt: microtúbulos; M: mitocondria; SCCS: sistema canalicular conectado a la superficie; A: gránulos densos; Dg: gránulos  $\alpha$ ; Gl: glucógeno; Pm: membrana plasmática

En el citoplasma plaquetario se encuentran componentes celulares como los lisosomas, las mitocondrias y gránulos de varios tipos (tabla 5):

### a) Gránulos $\alpha$

Son órganos esféricos (Figura 6) de 140 a 400 nm en diámetro que constituyen un 15% del volumen total de las células. Son reservorios de proteínas que van desde factores de crecimiento hasta moléculas de adhesión o receptores que utiliza la plaqueta para interactuar con otras células (Zucker-Franklin, 1989; Klinger, 1996).

### b) Gránulos densos

Se caracterizan por su alta densidad electrónica que confieren el elevado contenido en calcio y fósforo inorgánico (Morgorstern, 1997). Su liberación ocurre por exocitosis.

c) *Lisomas*

Contienen elastasas y otras proteasas como las catepsinas o hidrolasas ácidas que facilitan la degradación de la matriz extracelular, además de crear un ambiente ácido que favorecerá la acción de estas enzimas.

TIPOS DE GRÁNULOS	CONTENIDO
<b>GRÁNULOS DENSOS</b>	Serotonina Adenosina Difosfato (ADP) Adenosina Trifosfato (ATP) Pirofosfato Calcio
<b>GRÁNULOS <math>\alpha</math></b>	Fibrinógeno Factor de Von Willebrand PDGF, VDGF Beta-tromboglobulina Factor 4 plaquetario Trombospondina PAI-1 Albúmina Fibronectina Factor XI y V

**Tabla 5.** Contenido de los gránulos citoplasmáticos de las plaquetas.

### 3.2 El papel de las plaquetas en la hemostasia primaria

En condiciones fisiológicas, las plaquetas circulan sin adherirse al endotelio vascular. En este sentido, es bien sabido que el endotelio vascular sintetiza y libera una serie de factores antitrombóticos y protrombóticos que favorecen el equilibrio hemostático y regulan la formación del trombo (*Andrews y Berndt, 2004*). En situación quiescente, el endotelio vascular tiene una acción preponderantemente antitrombótica, pero cuando hay alteraciones en la integridad del endotelio vascular o en la fuerza de cizallamiento del flujo sanguíneo, las plaquetas se activan (*Aznar y cols., 1991*).

El mecanismo de formación del trombo plaquetario puede dividirse en tres etapas que se desgranar a continuación:

- a) Frenado de las plaquetas circulantes sobre la pared vascular contra la corriente del flujo sanguíneo que las empuja.
- b) Activación y adhesión firme de la plaqueta al vaso.
- c) Agregación y estabilización del trombo.

### 3.3. Las plaquetas en el periodo neonatal. Diferencias en la producción y en la función.

Las plaquetas aparecen en el feto por primera vez tras la concepción a las 5 semanas. El incremento del número se produce durante la vida fetal, alcanzando la cifra de  $150 \times 10^9/L$  al final del primer trimestre (*Pahal y cols., 2000*) y los valores normales del adulto a las 22 semanas de gestación (*Sola-Visner M, 2012*). En el proceso de producción plaquetaria se distinguen varias fases:

- a. Producción de factores trombopoyéticos (trombopoyetina).
- b. Proliferación de los progenitores megacariocíticos.
- c. Diferenciación y maduración de los megacariocitos
- d. Producción y salida de las plaquetas a la circulación.

Es bien conocido desde hace varias décadas que la concentración de trombopoyetina (TPO) en recién nacidos de cualquier edad gestacional es significativamente mayor que en adultos, si bien en neonatos con trombocitopenia las cifras de TPO son más bajas. Varios trabajos (*Ferrer-Marin y cols., 2013, Sola-Visner 2012, Olson y cols., 1992*) han demostrado que los progenitores megacariocíticos (MG) presentan un alto nivel proliferativo a diferencia de los presentes en adultos, dando como resultado largas colonias de MGs. De hecho, progenitores hematopoyéticos (células CD34) procedentes de sangre de cordón generan aproximadamente unas 10 veces más MG que las células CD34 procedentes de sangre periférica de adultos (*Liu y cols., 2011*). Sin embargo, los MGs tanto fetales como neonatales presentan un menor tamaño y niveles más bajos de ploidía, dando como resultado un menor número de plaquetas que los MGs adultos (*Olson y cols., 1992*). Por todo ello los MGs neonatales/fetales han sido tradicionalmente considerados inmaduros comparados con los de adultos.

### 3.3.1. Función plaquetaria en recién nacidos sanos

Una de las diferencias significativas entre las plaquetas de adultos y las de neonatos es la pobre respuesta a los distintos agonistas como el ADP, la trombina, los análogos del TXA<sub>2</sub> o la epinefrina. Los mecanismos subyacentes a estas diferencias no se conocen en su totalidad, pero se ha sugerido que la hiporreactividad a la epinefrina se debe a la escasa presencia de receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos (*Corbi y cols., 1981*), mientras que la respuesta disminuida al TXA<sub>2</sub> se deriva de diferencias en la

señalización de los receptores en las plaquetas neonatales (*Israels y cols., 2003*).

A pesar de que existe una disminución de los agonistas (*Sitaru y cols., 2005*) que inducen la secreción de gránulos y, por ende un retraso en la activación plaquetaria, los distintos trabajos no han encontrado evidencia de una hemostasia alterada en neonatos a término (*Andrew y cols., 1990 a y b; Israels y cols., 2001*). De hecho, diversos test como el tiempo de sangrado o el PFA-100 nos revelan que la hemostasia primaria en recién nacidos sanos es más efectiva que en adultos, demostrando tiempos de sangrado más cortos. Ello se ha atribuido a la presencia de hematocritos más altos en la edad neonatal, elevados volúmenes corpusculares medios y altas concentraciones de polímeros de FvW. Todos ellos, factores que estimularían la hemostasia primaria y compensarían la menor función plaquetaria neonatal (*Del Vecchio y cols., 2008*).

### 3.3.2. Función plaquetaria en neonatos pretérminos

A pesar del escaso número de estudios llevados a cabo en esta población, la citometría de flujo y la agregometría han confirmado la hiporreactividad de las plaquetas en este grupo comparado con los niños a término. De hecho, dicha hiporreactividad es más acuciada en RNP comparada con los recién nacidos a término, sugiriendo una correlación entre edad gestacional y reactividad plaquetaria. Linder y cols. demostraron que la adhesión plaquetaria a la matriz extracelular era más pobre en el RNP que en el RNT (*Linder y col., 2002*) y que dicha condición no se relacionaba con bajos niveles de FvW o ristocetina, sino a las propiedades intrínsecas de la plaqueta. Publicaciones más recientes (*Wasiluk y cols., 2008*) han demostrado que los prematuros extremos presentan menores niveles de CD62P (P-selectina) y PAC-1, ambas relacionadas con un defecto en la adhesión plaquetaria. De acuerdo con

tales hallazgos, los tiempos de sangrado y PFA-100 son más largos en esta población (*Sallmon y cols., 2011*).

### 3.3.3. Cambios postnatales en la función plaquetaria

Estudios de la función plaquetaria utilizando citometría de flujo (*Bednarek y cols., 2009*) han demostrado que la hiporreactividad plaquetaria está todavía presente entre el 3º y 4º día de vida tanto en RNP como en RNT. El tiempo que se precisa para alcanzar niveles de adultos no está bien establecido, si bien, se han observado cambios significativos en la mejoría de la reactividad plaquetaria a partir de los 10-14 días de vida (*Ferrer-Marin y cols., 2013*).

## 3.4. Trombocitopenia

### 3.4.1. Definición de trombocitopenia en RNT y RNP

La trombocitopenia es la condición hematológica más frecuente durante el periodo neonatal y está presente entre un 18% y un 25% de todos los ingresos de las Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales (*Chakravorty y cols., 2005*).

Distintos trabajos han demostrado que el número de plaquetas fetales alcanza la cifra de  $150 \times 10^9/L$  al final del primer trimestre (*Van den Hof y Nicolaidis, 1990; Pahal y cols., 2000*). Clásicamente se ha mantenido la definición de trombocitopenia neonatal al recuento menor de  $150 \times 10^9/L$  en cualquier neonato sano a cualquier edad gestacional. Esta cifra es ciertamente válida para niños a término en referencia a los grandes estudios poblacionales que demuestran que >98% de los niños a término presentan un recuento plaquetario  $>150 \times 10^9/L$  al nacimiento (*Burrows &*

## Introducción

*Kelton, 1990a y b, 1993*). Sin embargo, algunos autores (*Wiedmeyer y cols., 2009; Christensen y cols., 2012*) abogan por la revisión de los rangos de referencia que encuadran la definición de trombocitopenia en neonatos con edades gestacionales inferiores a 32 semanas. *Wiedmeyer (2009)* demostró en un estudio poblacional que incluyó 47.291 neonatos de todas las edades gestacionales y edades postnatales, que en aquellos nacidos < 32 semanas el valor de referencia por debajo del cual se situaba el percentil 5 era de  $104 \times 10^9 /L$ . En este mismo trabajo llevado a cabo en 18 centros hospitalarios, se observó un incremento de los recuentos plaquetarios conforme avanzaba la edad gestacional. Así, el análisis de regresión lineal puso en evidencia que por cada semana de vida, se producía un incremento del número de plaquetas en  $2089 \mu l^{-1}$ . Sin embargo en prematuros nacidos con EG comprendidas entre 22 y 27, el incremento no se iniciaba hasta una vez alcanzada la edad corregida de 29 semanas.

En vista a lo previamente expuesto, cuando se emplea la definición clásica de trombocitopenia, la prevalencia en RNP asciende al 70-80% (*Sola-Visner 2012, Wiedmeyer y cols., 2009*). Afortunadamente, la mayoría de los casos son leves, de ahí que muchos expertos prefieran referirse a trombocitopenia moderada ( $50-100 \times 10^9/L$ ) o severa ( $< 50 \times 10^9/L$ ) cuyas incidencias descienden entre un 2-4% a un 10% (*Christensen y cols., 2012*).

### 3.4.2. Causas de trombocitopenia

La mayor parte de las causas de trombocitopenia pueden ser identificadas a través de una meticulosa historia clínica. La edad gestacional, la edad de presentación de la trombocitopenia o la historia materna y neonatal son piedras angulares a la hora de establecer una relación entre las distintas causas que subyacen a esta patología (*Ferrer-Marin y cols., 2013*).



La edad de presentación de la trombocitopenia es un importantísimo predictor de la etiología. Así, las causas más frecuentes que se presentan en las primeras 72 horas, obedecen a complicaciones del embarazo y del parto como la insuficiencia placentaria, la preeclampsia materna o la restricción del crecimiento intrauterino. Por el contrario, la gran mayoría de los neonatos que desarrollan trombocitopenia a partir de las 72 horas, suelen presentar infecciones bacterianas adquiridas (Goerge y cols., 2008) o una NEC en caso de ser un RNP (Chakravorty y col., 2005). En la tabla 6 se exponen las principales causas de trombocitopenia neonatal.

Tiempo de presentación	Causas
< 72 horas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hipoxia crónica fetal (preeclampsia, CIR, diabetes materna)</li> <li>• Asfixia perinatal</li> <li>• Infección perinatal (E. coli, streptococo grupo B)</li> <li>• Coagulación vascular diseminada</li> <li>• Trombocitopenia neonatal alloimmune</li> <li>• Trombocitopenia neonatal autoimmune</li> <li>• Infección congénita (CMV, rubeola, toxoplasma)</li> <li>• Trombosis de la vena renal</li> <li>• Leucemia congénita</li> <li>• Síndrome de Kasabach-Merritt</li> </ul>
>72 horas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sepsis tardía</li> <li>• Enterocolitis necrotizante</li> <li>• Infecciones congénitas (CMV, toxoplasma, rubeola, virus Cocksackie)</li> <li>• Autoimmune</li> <li>• Síndrome de Kasabach-Merritt</li> <li>• Enfermedad metabólica</li> </ul>

**Tabla 6.** Causas de trombocitopenia en función de los días de presentación.

### 3.4.3. Manejo de la trombocitopenia. Transfusión de plaquetas.

Hasta la fecha, el único tratamiento específico para la trombocitopenia neonatal, ha sido la transfusión de concentrado de plaquetas. Existen varias guías de consenso nacionales disponibles, ninguna de las cuales está basada en estudios aleatorizados y controlados a doble ciego donde la administración o no de transfusión se asocie a una reducción en la hemorragia o la mejora del pronóstico del neonato con trombocitopenia severa. El único ensayo controlado aleatorizado (*Andrew y cols., 1993*) que evaluó la asociación entre transfusión y pronóstico, fue realizado hace más de 20 años, y demostró que la administración de una transfusión de plaquetas en neonatos con trombocitopenia moderada no mejoraba el pronóstico a corto plazo. Estudios más recientes, como el publicado por Stanworth y colaboradores que incluyó más de 3652 neonatos, arrojó más información acerca de los posibles límites para la administración de transfusión (*Stanworth y cols., 2009*). En este estudio observacional y prospectivo se observó que, a pesar de que un tercio de los pacientes incluidos en el estudio alcanzaba la cifra de  $20 \times 10^9/L$  plaquetas, la mayoría de estos pacientes (91%), apenas desarrollaban hemorragias mayores. De hecho, 2/3 partes de los que presentaron hemorragias importantes eran prematuros con EG <28 semanas, estableciendo este grupo de especial interés, por presentar mayor incidencia de HIV y Leucomalacia periventricular.

Existen múltiples guías de distintos países y hospitales que intentan aportar mayor luz y conocimiento acerca de las distintas pautas de tratamiento. La realidad es que no existe consenso y que la tendencia es a transfundir con menores rangos de plaquetas (entre  $20 \times 10^9$  y  $50 \times 10^9/L$ ) en el grupo de RNP, donde la “inmadurez del sistema hemostático” junto a factores clínicos (coriamnionitis materna, preeclampsia, CIR, sepsis) determinan más que la cifra de plaquetas en sí, el pronóstico.

## **JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**



A pesar de los muchos años y esfuerzos centrados en su investigación, el DAP del RNP continúa siendo una fuente de incógnitas patobiológicas, clínicas y terapéuticas.

Una reciente e interesante aportación al conocimiento de la patobiología del DAP ha sido la elucidación del papel de las plaquetas en el cierre del DA. *Echtler y cols. (2010)* han demostrado, en un modelo murino, que las alteraciones en el número o la función de las plaquetas neonatales se asocian al fracaso del cierre del DA. Estos autores proponen un modelo de cierre del DA en el que la contracción funcional inicial induciría un fenotipo protrombótico en el vaso con exposición de colágeno subendotelial y depósito de factor de von Willebrand y fibrinógeno. Este proceso desencadena el reclutamiento, la acumulación y la activación de plaquetas circulantes en la luz residual del DA y la formación de un coágulo que sella definitivamente el DA.

Tratando de responder a la pregunta de si este modelo es aplicable al humano, los mismos autores finalizan su estudio con el análisis de una cohorte de 128 prematuros en el que demuestran que el número de plaquetas inferior a  $150 \times 10^9/L$  es un factor de riesgo independiente para presentar DAP. Desde la publicación de este trabajo, varias cohortes han sido publicadas (*Fujioka y cols., 2011; Sallmon y cols., 2012; Shah y cols., 2011*) con resultados dispares. Por tanto, la pregunta de si la trombocitopenia es un factor de riesgo en el DAP del RNP no ha sido contestada aún.

Por este motivo el objetivo de la presente tesis es profundizar en esta pregunta que se formula como hipótesis de la siguiente forma:

- La trombocitopenia en los primeros días de vida del RNP es un factor de riesgo para presentar DAP.

## Justificación y Objetivos

La hipótesis ha sido analizada en dos estudios diferentes:

- El primero es un análisis retrospectivo de una cohorte de 194 RNP con EG inferior a 30 semanas y peso al nacimiento menor o igual a 1500 gramos nacidos entre Julio de 2007 y Marzo de 2012 en el Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno Infantil de Canarias.
- El segundo un metaanálisis en el que se combinan nuestros resultados con los de otras 9 cohortes en las que se ha estudiado la relación entre trombocitopenia y DAP del RNP.

## **PACIENTES Y MÉTODOS**





## **ESTUDIO 1.**

### ***Población***

El estudio se llevó a cabo en una cohorte de 238 recién nacidos prematuros con edad gestacional menor a 30 semanas y peso al nacimiento menor a 1500 gramos ingresados en el Complejo Hospitalario Insular Materno Infantil de Canarias (CHUIMI) entre Julio de 2007 y Marzo de 2012. Los pacientes habían sido previamente incluidos en el estudio “Carbamoyl-phosphate Synthase Gene Polymorphisms Influencing Plasma L-arginine Concentrations in Preterm Infants” que fue aprobado por la comisión ética del centro hospitalario y registrado en el “ClinicalTrials.gov Protocol Registration System” (NCT00554866). Se solicitó consentimiento informado por escrito a los padres de los niños incluidos en el estudio.

Los criterios de exclusión del estudio fueron:

- Fallecimiento antes de las 48 horas de vida.
- Malformaciones cardiacas
- Administración profiláctica de indometacina.

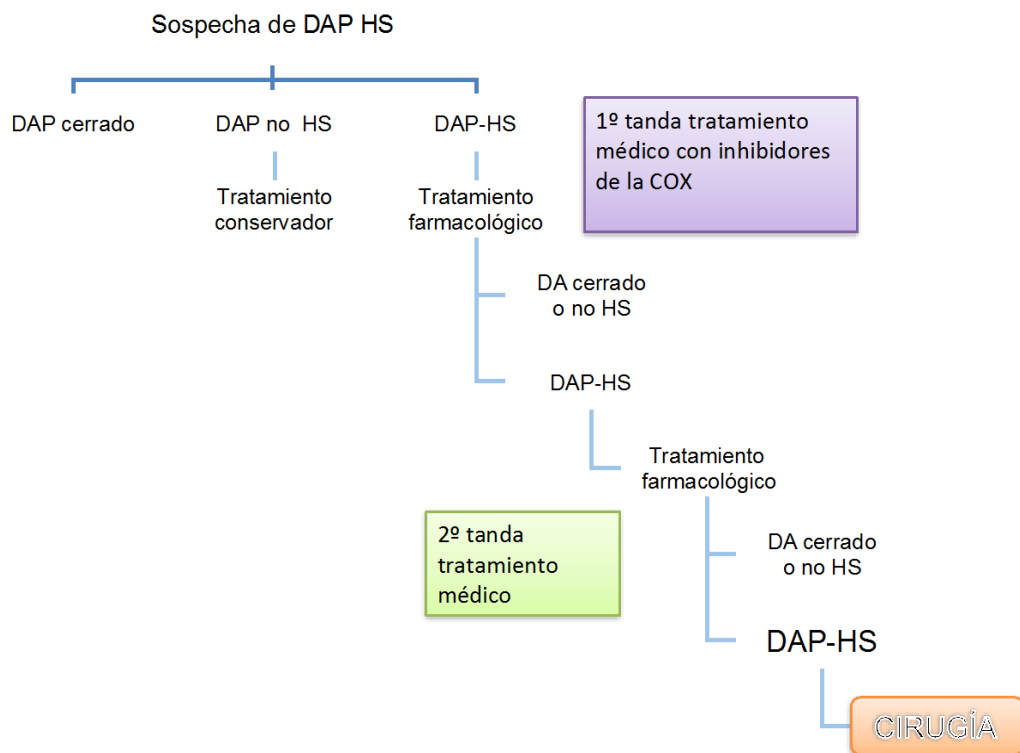
### ***Estudio y tratamiento del DAP-HS***

Según el protocolo de la Unidad de Neonatología del CHUIMI se realizó ecografía cardiaca (ecógrafo Hewlett Packard Sonos 5500) en todos aquellos prematuros que presentaron signos clínicos de sobrecarga pulmonar (incremento del trabajo respiratorio, problemas de oxigenación) entre el 2º y 3º día o de hipoperfusión sistémica (oliguria, distensión abdominal, mala perfusión periférica). Ocasionalmente, cuando el paciente no precisaba soporte respiratorio y en ausencia de inestabilidad hemodinámica, el neonatólogo podía obviar la realización de la ecografía. Dichos pacientes fueron excluidos del estudio (fig. 7).

## Pacientes y Métodos

Se definió DAP-HS si el DA presentaba ecográficamente:

- Diámetro transductal  $>1.5$  mm (medido en proyección paraesternal eje corto con Doppler-color).
- Ratio aurícula izquierda/aorta  $>1.5$ mm (medido en modo M).
- Presencia de Flujo retrógrado holosistólico en la aorta descendente (a nivel diafragmático).



**Figura 7.** Organigrama en el que se detalla la pauta de tratamiento del DAP-HS llevada a cabo.

El tratamiento del DAP-HS consistió en la administración de inhibidores de la COX. Durante el periodo comprendido entre Diciembre 2006 y Junio 2009, los pacientes fueron tratados con indometacina. A partir de Julio 2009 hasta Marzo 2012, el tratamiento se llevó a cabo con Ibuprofeno. Tras la administración de un

ciclo de tratamiento, se evaluó la respuesta mediante una nueva ecocardiografía. Ante la presencia de un DAP-HS, se inició un segundo ciclo de tratamiento (figura 7). La permanencia de un DAP-HS tras 2 ciclos de tratamiento se consideró una indicación para cirugía. También se consideró como indicación para el cierre quirúrgico la presencia de factores que contraindicaran el tratamiento médico tales como enterocolitis necrotizante, HIV o hemorragia activa.

### ***Variables estudiadas***

Se recogieron los siguientes datos maternos y/o perinatales:

- Diabetes materna.
- Preeclampsia.
- Presencia o no de corioamnionitis materna definida como la presencia de fiebre materna acompañada de leucocitosis materna, taquicardia fetal (>180 latidos por minuto) y líquido amniótico maloliente.
- Administración de corticoides prenatales (no, incompleta con 1 dosis o completa con 2 dosis).
- Edad gestacional: Se obtuvo por cálculo de fecha de última regla contrastada con ecografía antes de las 20 semanas.
- Sexo y datos antropométricos: peso (gr), talla (cm) y perímetro cefálico (cm).
- Pequeño para edad gestacional (PEG) definido como la presencia de un peso al nacimiento por debajo del percentil 10 ajustado por sexo y según las gráficas consultadas (*Carrascosa y cols., 2008*).
- Test de Apgar.
- CRIB (Clinical Risk Index for Babies): score o escala de gravedad que incluye la EG, el Peso al nacimiento, la máxima y la mínima FiO<sub>2</sub>, el mínimo exceso de base y la presencia o no de malformaciones.
- Administración de surfactante.
- Media de líquidos administrados al neonato durante los primeros 4 días de vida.

## Pacientes y Métodos

- Presencia de hipotensión arterial, definida como la necesidad de administración de inotrópicos.

Se recogieron los siguientes datos clínicos sobre la evolución de los prematuros:

- Displasia broncopulmonar (BPD), definida como dependencia de oxígeno a las 36 semanas de edad postconcepcional (Jobe y Bancalari, 2001).
- Enterocolitis necrotizante (NEC), definida según la clasificación de Bell (*Bell, 1978*) Se incluyeron los grados 2 y 3.
- Hemorragia intraventricular (HIV) utilizando la clasificación de los 4 grados (*Papile y cols., 1978*). Se incluyeron en el estudio los prematuros que presentaron HIV grados 3 y 4.
- Fallecimiento.

### ***Recuentos plaquetarios***

Las muestras sanguíneas para determinación de recuento plaquetarios se recogieron en tubos con EDTA tripotásico como anticoagulante y se analizaron mediante un autoanalizador Coulter® LH 750 (Beckman Coulter, Inc, Brea, California). Los recuentos plaquetarios fueron evaluados a mano si el recuento automático era inferior a  $100 \times 10^9/L$ . Las muestras sanguíneas fueron tomadas al nacimiento y, posteriormente, según criterio del neonatólogo responsable del paciente. Sin embargo, en cada paciente con DAP-HS, al menos una determinación sanguínea, fue realizada antes y durante la administración del tratamiento con inhibidores de la COX. La recogida de muestras se dividió en 2 periodos (1-2 días y 3-7 días), eligiéndose el valor nadir si se disponía de más de 1 recuento plaquetario en dicho intervalo de tiempo.

Se definió trombocitopenia como recuento plaquetario inferior a  $150 \times 10^9/L$ . Asimismo, se llevó a cabo una clasificación de la trombocitopenia en leve ( $100$  a  $<150 \times 10^9$ ), moderada (entre  $50$  y  $100 \times 10^9$ ) y severa ( $<50 \times 10^9$ ).

***Análisis estadístico.***

El estudio estadístico fue realizado mediante el programa IBM SPSS Statistics software versión 19 (IBM Corp, Ar-monk, New York and SPSS Inc, Chicago, Illinois).

Las variables categóricas se resumieron en frecuencias y porcentajes mientras que las numéricas en medias y desviaciones estándar (SD) o en medianas y rangos intercuartílicos (IQR) según se dieran o no los supuestos de normalidad (evaluada mediante el test de Kolmogoronov-Smirnow). Los porcentajes fueron comparados usando el test de la Chi-square ( $\chi^2$ ) mientras que para el análisis de las medias se empleó el test t-Student. El test de Wilcoxon se utilizó para comparar las medianas.

Para cada uno de los periodos estudiados, aquellas variables que mostraron asociación significativa con el endpoint se introdujeron en un análisis de regresión logístico multidimensional. Se llevó a cabo una selección retrospectiva de variables basada en el criterio de Akaike (*Bozdogan, 2000*). El modelo logístico seleccionado se resume en p-valores (test de razón de verosimilitudes), odd-ratios ajustadas (OR) las cuales se estimaron mediante un intervalo de confianza al 95%, y valores AIC correspondientes a los modelos que resultarían de suprimir la variable examinada. Un test de hipótesis se consideró estadísticamente significativo cuando el correspondiente valor de la p fue inferior a 0.05.

## **ESTUDIO 2. Metaanálisis.**

### ***Protocolo***

Se desarrolló un protocolo de forma prospectiva con objetivos específicos detallados entre los que se encontraban los criterios para la selección de los estudios y la valoración de la calidad de los mismos, así como la metodología estadística.

### ***Fuente de datos***

Se realizó una búsqueda de la literatura usando las bases de datos Pubmed/MEDLINE y EMBASE desde su comienzo hasta el 1 Diciembre de 2014. Se utilizaron los siguientes descriptores: “ductus arteriosus”, “patent ductus arteriosus”, “PDA”, “platelet(s)”, “platelet count(s)” y “thrombocytopenia”.

### ***Selección de estudios***

Tres investigadores evaluaron de forma independiente los estudios para su inclusión. Cualquier discrepancia se resolvió mediante la discusión de los mismos. Los estudios fueron seleccionados si evaluaban prematuros y presentaban un grupo de comparación, así como datos que podrían ser usados para medir la asociación entre DAP y recuentos plaquetarios.

### ***Extracción de datos y valoración de la calidad del estudio***

Dos autores de forma independiente valoraron datos del diseño y la calidad de los estudios, de los datos demográficos, el porcentaje de DAP y/o DAP HS y los recuentos plaquetarios.

Un tercer investigador comprobó la extracción de los datos para completar y valorar su precisión. En ocasiones, se contactó con los autores para solicitar información de datos que faltaban en algunos de los estudios seleccionados. Se valoró la calidad metodológica usando la **escala de Newcastle-Ottawa** (*Wells y cols.*) para estudios de cohortes. Esta escala evalúa la calidad de estudios no aleatorizados buscando incorporar las evaluaciones de calidad en la interpretación de metaanálisis de los resultados obtenidos. La escala de Newcastle-Ottawa (NOS) evalúa la calidad a partir del contenido, diseño y facilidad de uso en la interpretación de los resultados. Está compuesta por 8 items (anexo I) y se clasifica empleando un sistema de valoración de estrellas (rango: 0-9 estrellas).

### ***Análisis estadístico***

Los distintos estudios seleccionados fueron analizados y combinados usando el software COMPREHENSIVE META-ANALISIS V2.0 (Biostat Inc, Englewood, NJ, USA). Las medidas de efecto global utilizadas fueron el riesgo relativo (RR) para las variables dicotómicas y la diferencia estándar de medias para las variables cuantitativas. Se empleó el método DerSimonian-Laird de efectos aleatorios (random-effects) para combinar los resultados y estimar el efecto global con un intervalo de confianza del 95%. Con el fin de identificar aquel estudio que pudiera ejercer una influencia desproporcionada en el efecto global, se llevó a cabo un análisis de sensibilidad. Dicho análisis consiste en replicar los resultados del metaanálisis excluyendo en cada paso uno de los estudios incluidos en la revisión. Si los resultados así obtenidos son similares, tanto en dirección como en magnitud del efecto y significación estadística, indica que el análisis es robusto. La posibilidad de sesgo de publicación se evaluó gráficamente mediante la construcción del gráfico de embudo (funnel plot) y estadísticamente mediante el test de Egger.

La heterogeneidad fue medida utilizando el estadístico Q y cuantificada mediante la  $I^2$  (*Higgins y cols., 2003*). Con el fin de explorar las posibles fuentes de

## Pacientes y Métodos

heterogeneidad se llevó a cabo una meta-regresión usando el modelo de efectos aleatorios (random effects model). Las siguientes posibles fuentes de heterogeneidad fueron analizadas:

- Número de pacientes.
- Edad gestacional media.
- Peso medio al nacimiento.
- Porcentaje de varones.
- Porcentaje de DAP/DAP-HS.
- Intervalo de días en el que los recuentos plaquetarios fueron recogidos.
- Grado de trombocitopenia
- Año de publicación.

Se consideró estadísticamente significativo un valor de probabilidad inferior a 0.05, excepto para los test de heterogeneidad, para el cual el grado de significación estadística aceptado fue de 0,10.



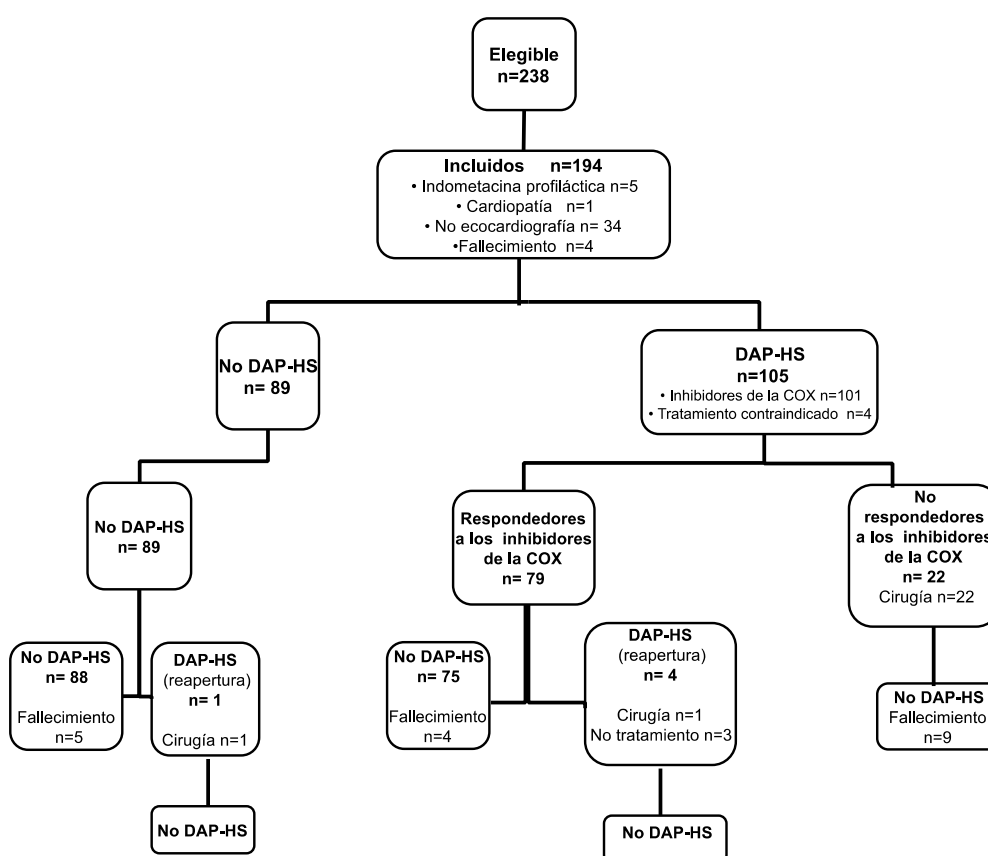
## **RESULTADOS**



## Estudio 1.

### 1.1 Datos relacionados con la evolución del DAP-HS y del grupo

De los 238 niños que cumplían los criterios de inclusión (EG<30 semanas y PN <1500 g), 44 fueron excluidos (figura 8) por fallecimiento antes de las 48 horas de vida (n=4), administración de indometacina profiláctica (n=5), malformación cardíaca (n=1) o ausencia de ecografía cardíaca (n=34), quedando una población fina de estudio de 194 pacientes.



**Fig. 8.** El diagrama de flujo ilustra el número de pacientes incluidos y excluidos del estudio. Se detalla la evolución del DAP en dichos pacientes.

De los 194 RNP incluidos en el estudio, 105 (54,1%) presentaron DAP-HS al 3º día de vida. De esos niños, 101 fueron tratados con inhibidores de la COX: 30,5% fueron tratados con indometacina y 69,5% recibieron ibuprofeno. No recibieron tratamiento

## Resultados

médico 4 pacientes dada la presencia de patologías que contraindicaban la administración de inhibidores de la COX, tales como NEC, HIV severa o insuficiencia renal.

El fallo del tratamiento farmacológico se objetivó en 22 pacientes (21,7% de los tratados), que fueron intervenidos. La ligadura quirúrgica también se realizó en 2 pacientes en los que el DAP presentó una reapertura. La edad media de cierre quirúrgico fue de 17 días y se llevó a cabo en un 22,8% de los pacientes incluidos en el estudio. La mortalidad entre los diferentes grupos puede observarse en la *figura 8*, siendo la **mortalidad** total de un 9,2%.

### 1.2 Datos demográficos maternos y perinatales.

Se llevó a cabo un análisis de las complicaciones obstétricas (Tabla 7) tales como la diabetes gestacional y la preeclampsia en relación a la presencia de DAP-HS. Ninguna de estas patologías se asoció de forma significativa con la presencia o no de DAP-HS. La administración de corticoides prenatales tampoco se asoció significativamente con la presencia de DAP-HS al 3º día de vida.

Ductus arterioso persistente hemodinámicamente significativo al 3º día			
	Si (n=105)	No (n=89)	p
Corticoides prenatales n(%)			
Ciclo completo	79 (76.7)	68 (77.3)	0.771
Ciclo parcial	12 (11.7)	8 (9.1)	
No	13 (12.4)	9 (10.1)	
Preeclampsia, n (%)	19 (18.3)	20 (23.0)	0.420
Diabetes mellitus, n (%)	5 (4.8)	10 (11.4)	0.088
Corioamnionitis, n (%)	5 (4.8)	3 (3.4)	0.729

**Tabla 7.** Características maternas en relación con presencia o no de DAP-HS al 3º día. Los valores son números con sus correspondientes porcentajes.

### 1.3 Características neonatales

El análisis univariable demostró que los pacientes con DAP-HS presentaban de forma significativa menor edad gestacional, menor peso al nacimiento y menor perímetro cefálico (Tabla 8). No hubo diferencias por sexos.

Como se muestra en la tabla 9, el índice de CRIB fue mayor de forma estadísticamente significativa en aquellos pacientes que presentaron DAP-HS. La administración de surfactante y drogas vasoactivas (hipotensión que requirió tratamiento vasopresor) también se asoció de forma significativa a la presencia de DAP-HS.

Ductus arterioso persistente hemodinámicamente significativo al 3º día			
	Si (n=105)	No (n=89)	p
Edad gestacional (semanas)	27 [26 –29]	29 [27 – 29.5]	<0 .001
Peso al nacimiento (gr)	958 ± 233	1068 ± 249	0.002
Altura (cm)	35.3 ± 3.5	36.5 ± 3.5	0.020
Perímetro cefálico (cm)	24.4 ± 2.0	25.4 ± 1.8	<0.001
Sexo masculino n(%)	56 (53.3)	52 (58.4)	0.447
Pequeño para edad gestacional n (%)	17 (16.2)	18 (20.2)	0.463

**Tabla 8.** Características demográficas y somatométricas de los RNP en relación al DAP-HS. Se representan las medias ± desviaciones estándar o las medianas con su rango intercuartílico.

## Resultados

Ductus arterioso persistente hemodinámicamente significativo al 3º día			
	Si (n=105)	No (n=89)	P
CRIB	27 [26 –29]	29 [27 – 29.5]	< 0.001
Surfactante , n(%)	71 (67.6)	33 (37.0)	< 0.001
Administración líquidos ml/kg/d	90.8 ± 11.5	89.9 ± 11.8	0.625
Hipotensión Arterial, n (%)	42 (40.4)	12 (13.5)	< 0.001

**Tabla 9.** Relación del Índice de gravedad al ingreso en UCIN (CRIB), administración de líquidos (media de los 4 primeros días), surfactante e hipotensión arterial en relación a la presencia o no de DAP-HS al 3º día.

### 1.4 Morbilidad neonatal

En cuanto a la evolución por patologías, los niños con DAP-HS presentaron una mayor incidencia de distrés respiratorio al nacimiento y dependencia de oxígeno a las 36 semanas de edad gestacional corregida (BPD) (Tabla 10).

Ductus arterioso persistente hemodinámicamente significativo al 3º día			
	Si (n=105)	No (n=89)	P
SDR	100 (95.2)	68 (76.4)	<0.001
BPD	25 (23.8)	7 (7.9)	0.002
NEC	12 (11.4)	6 (6.7)	0.264
HIV	29 (27.6)	15 (16.9)	0.058

**Tabla 10.** Morbilidad neonatal en los RNP con o sin DAP-HS al 3º día. Los valores son números absolutos con sus porcentajes entre paréntesis.

### 1.5. Plaquetas y DAP-HS

El nadir plaquetario en las primeras 48 horas de vida **no fue estadísticamente diferente** entre los niños con y sin DAP-HS al 3º día vida (tabla 11).

Ductus arterioso persistente hemodinámicamente significativo al 3º día			
	Si (n=105)	No (n=89)	p
Recuento de plaquetas (nadir $\times 10^9/L$ ) primeras 48 horas.	216 $\pm$ 69	220 $\pm$ 69	0.723

**Tabla 11.** Relación entre número de plaquetas y DAP-HS a 3º día de vida.

Se realizó un análisis pormenorizado con el fin de valorar si el grado de severidad de la trombocitopenia se relacionaba con la presencia de DAP-HS al 3º día o con la respuesta al tratamiento con inhibidores de la COX. Para el análisis de la respuesta al tratamiento se tuvieron en cuenta también los recuentos plaquetarios más allá del 2º día de vida. Tal y como se muestra en la tabla 12, ni la presencia ni el grado de trombocitopenia se relacionaron de forma significativa con la presencia de DAP-HS o con la respuesta al tratamiento.

## Resultados

	DAP-HS al 3º día			Respuesta al tratamiento		
	Si (n=105)	No (n=89)	P	Si (n=79)	No (n=22)	p
<b><i>Día de vida 1-2</i></b>						
Recuento plaquetario <150 x 10 <sup>9</sup> /L	10 (9,5)	12 (13,5)	0,386	8 (10,1)	3 (13,7)	0,640
Grado de trombocitopenia			0,130			0,886
No	95 (90,5)	77 (86,5%)		71 (89,9)	19 (86,3)	
Leve	6 (5,7)	3 (3,4%)		1 (3,4)	2 (9,1)	
Moderada	4 (3,8)	7 (7,9)		6 (7,9)	1 (4,6)	
Severa	0 (0,0)	2 (2,2)		1 (2,2)	0 (0,0)	
<b><i>Día de vida 3-7</i></b>						
Recuento plaquetario <150 x 10 <sup>9</sup> /L				23 (29,1)	8 (36,4)	0,514
Grado de trombocitopenia						0,777
No				56 (70,9)	14 (63,6)	
Leve				8 (10,1)	3 (13,7)	
Moderada				8 (10,1)	4 (18,2)	
Severa				7 (8,9)	1 (4,6)	

**Tabla 12.** Trombocitopenia durante la primera semana de vida entre los RNP con o sin DAP-HS al 3º día y los respondedores y no respondedores al tratamiento con inhibidores de la COX. Los valores son número de pacientes con sus respectivos porcentajes.



### 1.6. Análisis multivariable.

En el estudio de regresión multilogístico los factores de riesgo para el DAP-HS al 3º día que se identificaron fueron la edad gestacional, la presencia de SDR y la hipotensión arterial (tabla 13).

	P	OR ajustada	AIC
Edad gestacional (semanas)	0.013	0.778 (0.633-0.951)	238.5
SDR	0.001	5.191 (1.764-15.27)	243.1
Hipotensión arterial	0.006	2.999 (1.338-6.721)	239.9

**Tabla 13.** Análisis de regresión multidimensional de los factores de riesgo para la presencia de DAP-HS al 3º día. Los valores en paréntesis corresponden al intervalo de confianza al 95%. p valores: test de razón de verosimilitudes (likelihood ratio test). AIC: valor de AIC si la variable es eliminada del modelo (para el modelo completo, AIC: 234,3).

### 1.7 Respuesta al tratamiento con inhibidores de la COX

En la tabla 14 se reflejan las características maternas, clínicas y demográficas de los pacientes respondedores y no respondedores al tratamiento con inhibidores de la COX. En el análisis univariable se observó que los pacientes que no respondieron al tratamiento médico presentaban de forma estadísticamente significativa una edad gestacional menor, un peso al nacimiento menor y un índice de CRIB mayor. El aporte total de líquidos en los primeros 4 días fue significativamente mayor en el grupo de los no respondedores, grupo en el que también se observó de forma significativa una mayor incidencia de hipotensión arterial (tabla 14).

En cuanto al número de plaquetas (tabla 14), y los grados de trombocitopenia (tabla 12) durante los intervalos de días 1-2 y 3-7 no se observó una diferencia estadísticamente significativa entre respondedores y no respondedores.

El análisis de regresión logístico multivariable demostró que la hipotensión arterial era un factor independiente para la falta de respuesta al tratamiento (OR= 4.550, 95% CI: 1.508-13.73, p= 0.005).

## Resultados

Respuesta al tratamiento			
	Si (n=79)	No (n=22)	P
Corticoides prenatales n(%)			0.926
Ciclo completo	60 (75.9)	17 (77.3)	
Ciclo parcial	8 (10.1)	3 (13.6)	
No	11 (13.9)	2 (10.1)	
Preeclampsia, n (%)	15 (19)	4 (18.2)	0.932
Diabetes mellitus, n (%)	4 (5.1)	1 (4.5)	0.921
Corioamnionitis	5 (6.3)	0 (0.0)	0.226
Edad gestacional (semanas)	27 (26-29)	26 (25-27)	<b>0.006</b>
Peso al nacimiento (g)	994 ± 250	869 ± 181	<b>0.003</b>
Sexo masculino n (%)	42 (53.3)	10 (45.6)	0.522
PEG n (%)	13 (16.5)	4 (19.0)	0.848
CRIB	4 (1-6)	1 (1-3)	<b>&lt; 0.001</b>
Surfactante , n(%)	51 (64.6)	19 (86.4)	0.106
Líquidos administrados (ml/kg/d)	87 [80- 97]	94 [89-101]	<b>.009</b>
Hipotensión Arterial, n (%)	27 (34.2)	14 (63.6)	<b>0.013</b>
SDR	74 (93.7)	22 (100)	0.226
BPD	15 (19.0)	8 (36.4)	0.085
NEC	6(7.6)	4 (18.2)	0.142
HIV	20 (25.3)	9 (40.9)	0.153
Nadir recuento plaquetario (x 10 <sup>9</sup> /L)			
Dias 1-2	221 (174-260)	210 (186-268)	0.764
Dias 3-7	151 (92-208)	166 (94-215)	0.633

**Tabla 14.** Características maternas y neonatales de los respondedores y no respondedores al tratamiento del DAP HS con inhibidores de la COX.

## Estudio 2. Metaanálisis.

Se identificaron 31 estudios potencialmente relevantes a través de los sistemas de búsqueda electrónica y manual. Tras una revisión cuidadosa, 8 estudios (*Echtler y cols., 2010; Dizdar y cols., 2012; Dani y cols., 2013; Shah y cols., 2010; Sallmon y cols., 2012; Chen y cols., 2014; Bas-Suarez y cols., 2014; Brunner y cols., 2013*), una carta al editor (*Fujioka y cols., 2011*) y 1 abstract (*Dwarakanath y cols., 2011*) fueron finalmente incluidos en el metaanálisis. Una cohorte adicional no publicada de 126 prematuros fue incluida en el metaanálisis. Los niños de esa cohorte habían participado en un estudio multicéntrico sobre la influencia de los polimorfismos genéticos de la Carbamil Fosfato Sintetasa (CPS) como factor de riesgo para la enterocolitis necrotizante. Los criterios de inclusión de dicho estudio fueron: edad gestacional menor a 30 semanas y peso al nacimiento menor o igual a 1500 gramos.

La combinación de los 11 estudios supuso una muestra global de 3479 recién nacidos prematuros. Las principales características de los estudios están resumidas en la tabla 15. Todos los estudios fueron retrospectivos salvo uno (*Brunner y cols., 2013*) que fue prospectivo. Todos los trabajos presentaron una calidad alta y fueron evaluados con, al menos, 6 estrellas NOS.

De los estudios incluidos en el metaanálisis, cuatro (*Fujioka y cols., Shah cols., Brunner y cols. y Dwarakanath y cols.*) comparaban niños con y sin DAP. Es decir, los pacientes con un DAP residual no HS se incluían en el grupo DAP. Por su parte otros 4 estudios (*Dizdar y cols., Dani y cols., Chen y cols., y Bas-Suarez y cols.*) comparaban niños con o sin DAP-HS. Es decir, los DAP pequeños eran incluidos en el grupo control. Finalmente, 2 estudios (*Echtler y cols. y Sallmon y cols.*) y la cohorte CPS, ofrecían datos sobre DAP cerrado, DAP no HS y DAP-HS. Dichos estudios se incluyeron en ambos análisis: DAP vs no DAP; DAP-HS vs no DAP-HS.

## Resultados

En la tabla 16 se muestran los factores de riesgo para DAP/ DAP-HS identificados mediante el análisis multivariable en los diferentes estudios.

1º autor del estudio	Factores de riesgo significativos en el análisis multivariable (OR; 95% CI)
Echtler y cols.	Recuento plaquetario <150 x 10 <sup>9</sup> /L (13.13; 3.47-49.60)
Shah y cols.	Nadir plaquetario (0.73; 0.55-0.98), mayor quintil plaquetario (nadir) (0.43; 0.2-0.91), edad gestacional (0.84; 0.70-0.99); corticoides prenatales (0.52; 0.34-0.81); preeclampsia (0.37; 0.14-0.99); SDR (2.73; 1.37-5.40); líquidos administrados (1.09; 1.00-1.19).
Dizdar y cols.	Recuento plaquetario <150 x 10 <sup>9</sup> /L (2.083; 1.252-3.465); ancho de distribución plaquetaria > 17 (3.030; 1.571-5.847), SDR (2.534; 1.602-4.009);
Sallmon y cols.	Sexo masculino (1.64; 1.32-2.04) <sup>a</sup> ; sepsis (2.82; 1.47-5.40) <sup>a</sup> ; EG (OR no mostrado)
Dani y cols.	Recuento plaquetario <100 x 10 <sup>9</sup> /L (4.50; 1.39-14.61); EG (1.25; 1.12-1.39);
Bas-Suárez y cols.	EG (OR, 0.778; 0.633-0.951); SDR (5.19; 95% CI, 1.76-15.27); hipotensión arterial (2.99; 1.338-6.721)

**Tabla 16.** Factores de riesgo para el desarrollo del DAP/DAP-HS. <sup>a</sup> OR univariable. OR: Odds ratio. CI: Intervalo de confianza. EG: edad gestacional. SDR: Síndrome distres respiratorio.

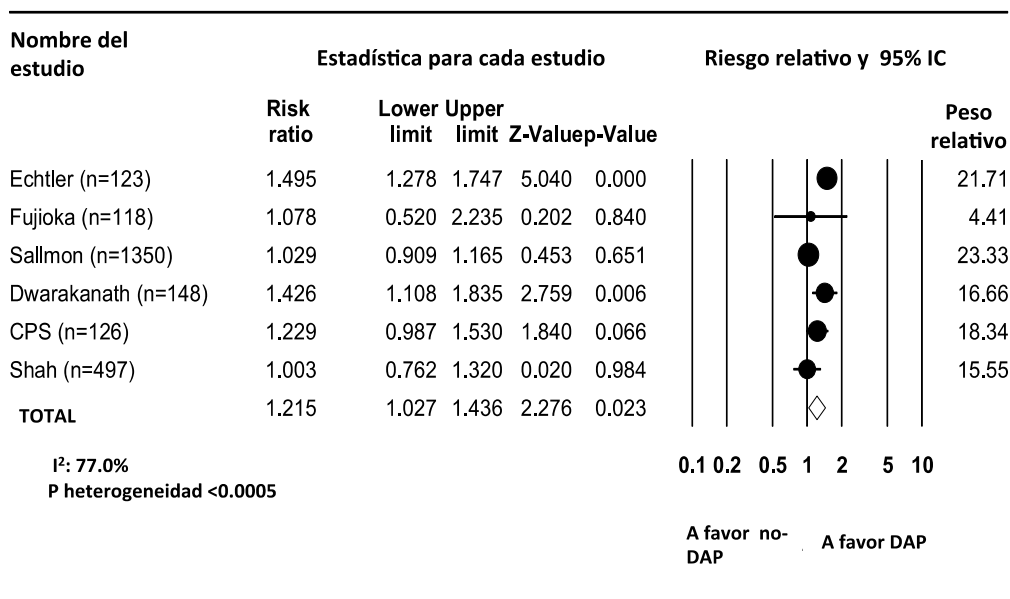
1º autor del estudio	Año	n	EG cohorte (semanas)	PN cohorte (g)	% varones	Días valoración plaquetas	% DAP	% DAP-HS	Rango de valoración PL (días)	% PL<150	% PL<100
Echtler	2010	123	28.0	1036	48.8	3-5	70,7	23,6	1	15.4	0.0
Fujioka	2011	118	27.9	1059	57.6	3-5	29,7	23,7 <sup>a</sup>	1	16.1	6.8 <sup>a</sup>
Shah	2011	497	25.8	825	52.6	3	34.0	NR	3	27.2 <sup>a</sup>	8.7 <sup>a</sup>
Dwarakanath <sup>b</sup>	2011	148	26.0	733	50.0	NR	60,8	45,9 <sup>c</sup>	3	41.2	NR
Dizdar	2012	361	28.6	1054	46.5	3-5	NR	42,7	3	23.82	5.5 <sup>a</sup>
Sallmon	2012	1350	28.3	1060	48.7	4-5	56,3	26,7	1	16.44	3.4
Dani	2012	163	27.1	931	49.7	1-2	NR	82,8	1	32.5	19.6 <sup>a</sup>
Brunner	2013	322	29.0	1170	50.6	2-7	50,9	47,2	1	NR	2.8 <sup>d</sup>
Bas	2014	194	27.9	1008	55.7	2-4	NR	54,6	2	11.3	6.7
Chen	2014	77	29.5	1153	49.4	3-6	NR	44,2	1	NR	NR
CPS <sup>e</sup>	2015	126	28.4	1096	51.2	2-4	69,8	64,3	2	28.57	14.28

**Tabla 15.** Características de los estudios incluidos en el metaanálisis. En el estudio de Shah y cols (2011) todos los pacientes recibieron indometacina profiláctica. En el estudio de Echtler y cols (2010) un número no disponible de pacientes recibió indometacina profiláctica. EG: Edad gestacional de la cohorte (semanas, media o mediana); PN: peso al nacimiento de la cohorte (g, media o mediana); PL: plaquetas ( $\times 10^9/L$ ); NR: Datos no disponibles; DAP: ductus arteriosus persistente; DAP-HS: Ductus arteriosus persistente hemodinámicamente significativo <sup>a</sup>Datos que no aparecen en los artículos originales, pero facilitados por sus autores. <sup>b</sup>Abstract. <sup>c</sup>Basado en el número de pacientes tratados con inhibidores de la COX. <sup>d</sup>Pacientes con recuentos de plaquetas  $<50 \times 10^9/L$  excluidos. <sup>e</sup>Estudio multicéntrico no publicado hasta la fecha. Polimorfismos de la Carbamil Fosfato Sintetasa (CPS) como factor de riesgo de la NEC.

## Resultados

### 2.1 Recuento plaquetario < 150 x 10<sup>9</sup>/L y DAP.

Los datos del porcentaje de DAP en los niños con recuentos plaquetarios inferiores o superiores a 150 x 10<sup>9</sup>/L estaban disponibles en 6 estudios (figura 9).

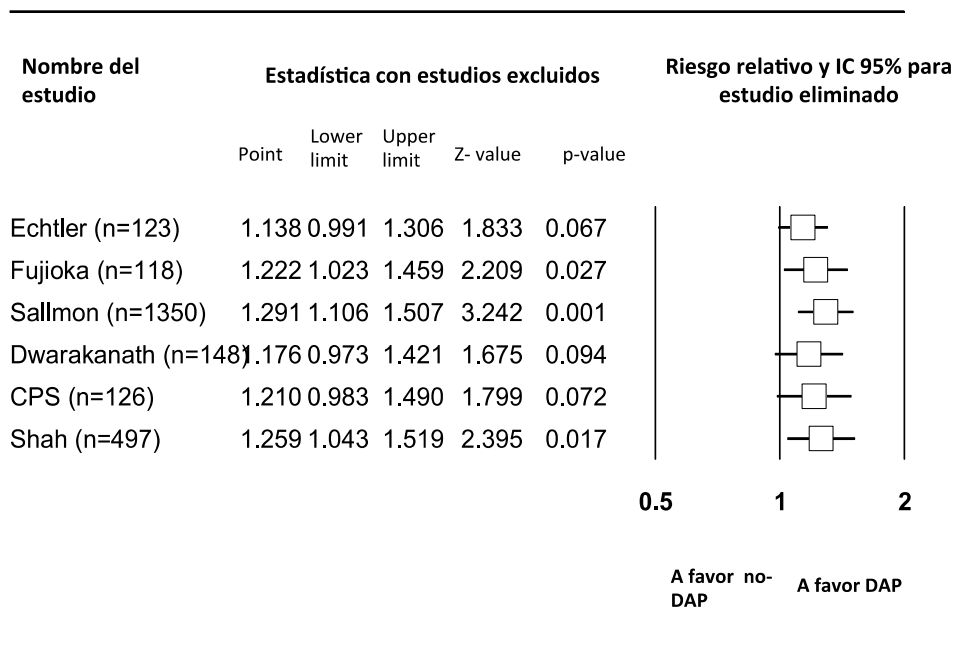


**Figura 9.** Forest plot de los estudios que examinan el efecto de las plaquetas por debajo de 150 x 10<sup>9</sup>/L en los primeros días sobre el DAP. El riesgo relativo (RR) >1 significa incremento del riesgo de DAP. Los datos de Shah y cols. no se presentan en el artículo, pero fueron cedidos por el autor.

Como se muestra en la figura 9, se detectó una **asociación positiva estadísticamente significativa** (RR: 1.215; CI 95% 1.027-1.436) entre el DAP y el número de plaquetas por debajo de 150 x 10<sup>9</sup>/L. Dicho de otro modo, el hecho de presentar en los primeros de vidas postnatal un número de plaquetas <150 x 10<sup>9</sup>/L incrementa el riesgo de presentar un DAP entre un 2.7% y un 43%.

Para verificar la robustez de los resultados se llevó a cabo un análisis de sensibilidad excluyendo un estudio cada vez y calculando el nuevo efecto global y su intervalo de confianza. Cuando se excluyó el estudio de Echtler y cols. el RR se situó en 1.138 (95% CI 0.991-1.306, p=0.067), mientras que si se excluye el estudio de mayor peso, (Sallmon y cols.), el RR ascendió a 1,291 (95% CI 1.106-1.507; p=0,001). En la figura 10 se

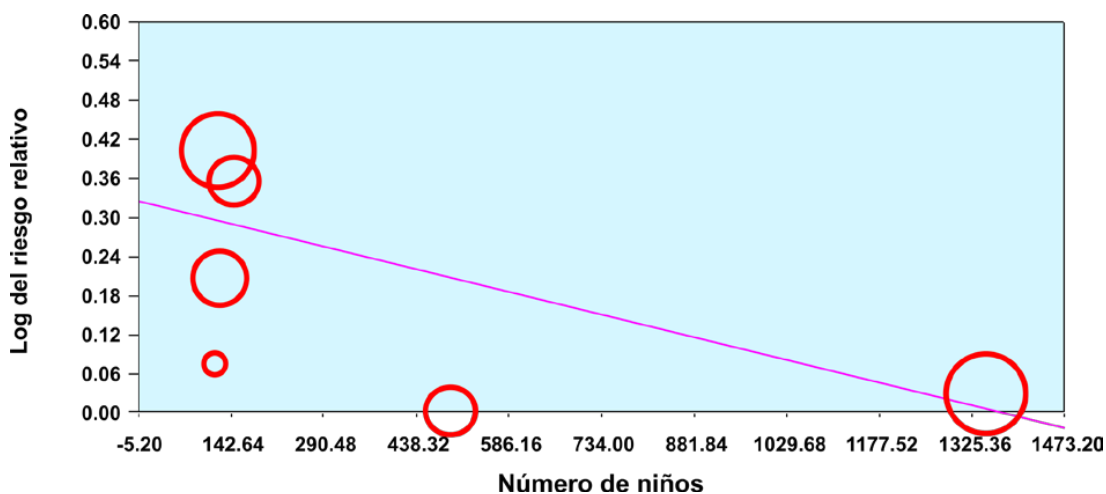
representa gráficamente el resultado del análisis permitiendo visualizar cómo afecta la eliminación de cada estudio al resultado global.



**Figura 10.** Forest plot tras análisis (sensibilidad) extrayendo uno a uno cada uno de los estudios.

El análisis de metarregresión (modelo efectos aleatorios) demostró que aquellos estudios que incluían un mayor número de niños (figura 11) presentaban un riesgo relativo significativamente menor de DAP con recuentos plaquetarios por debajo de  $150 \times 10^9/L$  ( $Z = -2.460$ ,  $p < 0.014$ ). No se observó ninguna otra correlación estadísticamente significativa con las otras variables estudiadas mediante metarregresión (porcentaje de varones, EG media, peso medio al nacimiento, rango de días de valoración de plaquetas, porcentaje de DAP y porcentaje de niños con plaquetas  $< 150 \times 10^9/L$ ). En el anexo III podemos encontrar las representaciones gráficas de dichas metarregresiones (Figuras 25-30).

## Resultados

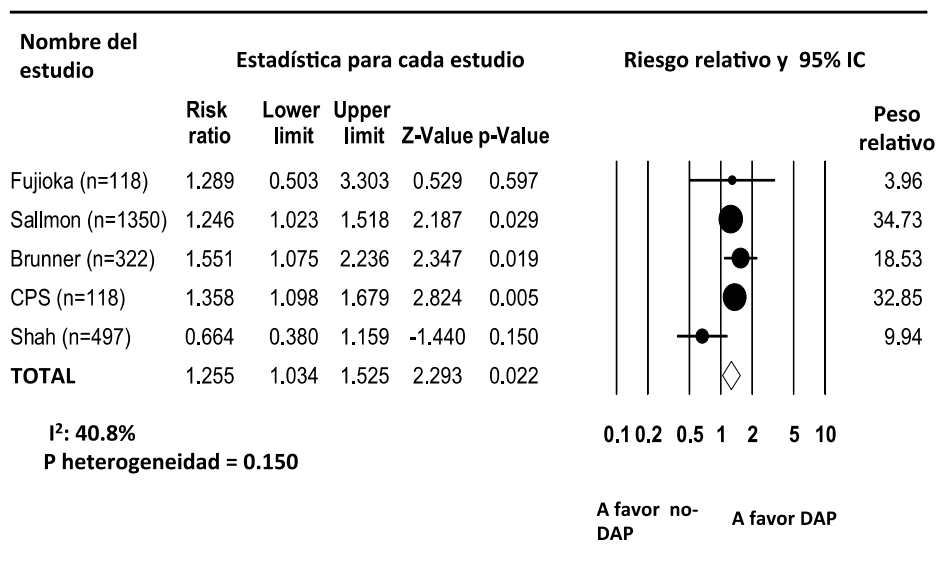


**Figura 11.** Gráfico de burbujas que muestra el análisis de metarregresión (modelo de efectos aleatorios) entre el número de pacientes incluidos en el estudio y el riesgo de presentar un DAP con plaquetas  $< 150 \times 10^9/L$  en los primeros días de vida. Cada uno de los círculos representa a uno de los estudios incluidos en el análisis. El área de los círculos representa el peso relativo de cada estudio.

### 2.2 Recuento plaquetarios $< 100 \times 10^9/L$ y DAP.

Los datos del número de niños que presentaron DAP con recuentos plaquetarios inferiores o superiores a  $100 \times 10^9/L$  estaban disponibles en 5 estudios (figura 12). Ninguno de los niños que participaron en el estudio de Echlter y cols. presentaban un número de plaquetas inferior a  $100 \times 10^9/L$ . Se observó una **asociación positiva estadísticamente significativa** entre el DAP y los recuentos plaquetarios inferiores a  $100 \times 10^9/L$  (RR: 1.255; IC 95%: 1.034-1.525;  $p= 0.022$ . Figura 12).





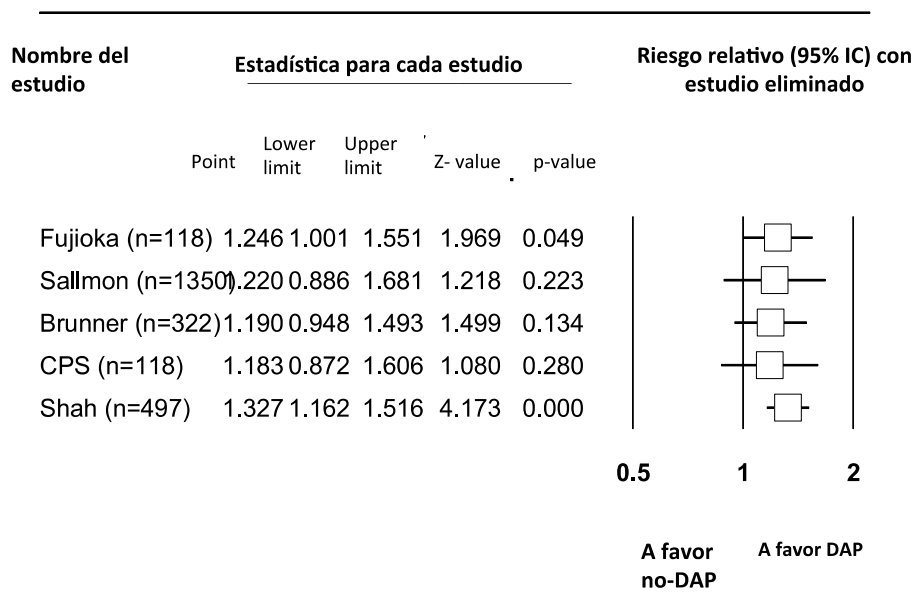
**Figura 12.** Forest plot de los estudios que examinan el efecto de las plaquetas por debajo de  $100 \times 10^9/L$  en los primeros días sobre el DAP. El riesgo relativo (RR) > de 1 significa incremento del riesgo de DAP. Los datos de Shah y cols. y Fujioka y cols. no estaban disponibles en las publicaciones originales pero fueron amablemente cedidos por los autores.

En el análisis de sensibilidad, excluyendo los estudios uno a uno (Figura 13) se observó que cuando se eliminaba el estudio de Sallmon el RR alcanzaba 1.220 (IC 95%: 0.886-1.681;  $p=0.223$ ), mientras que si excluíamos el trabajo de Shah y cols. el RR se situaba en 1.327 (IC 95% :1.162-1.516,  $p<0.001$ ).

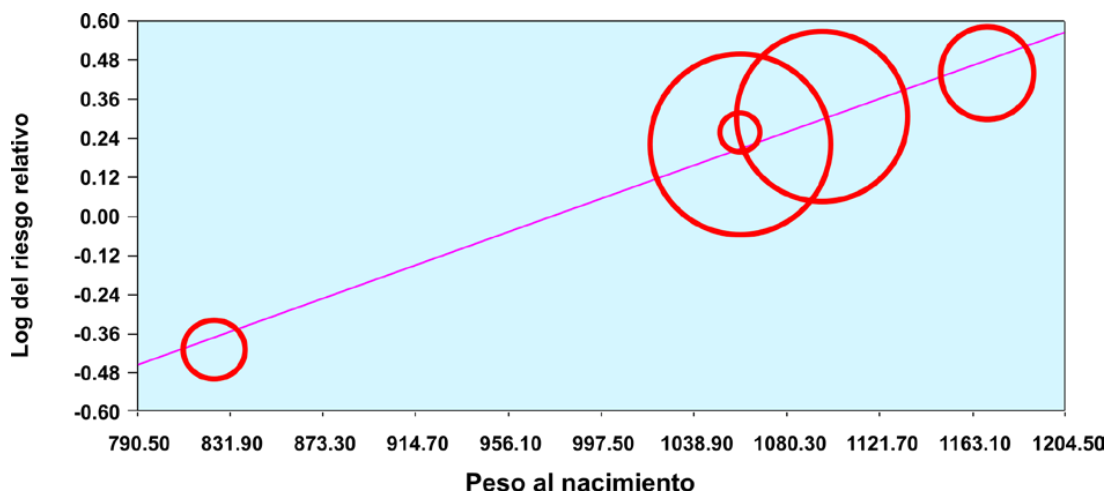
Por su parte, el análisis de metarregresión (modelo efectos aleatorios) puso de manifiesto una **correlación positiva estadísticamente significativa** entre la edad gestacional media ( $Z=2.550$ ;  $p=0.010$ . Figura 15) y el peso medio al nacimiento ( $Z=2.580$ ,  $p=0.009$ . Figura 14) de los niños incluidos en cada estudio y el riesgo de presentar DAP con recuento de plaquetas  $< 100 \times 10^9/L$ . Es decir, aquellos estudios que incluían grupos de niños más maduros y con mayor peso, presentaban mayor riesgo de DAP con plaquetas  $< 100 \times 10^9/L$  (ver estadística más detallada en anexo II). No se observó ninguna otra correlación estadísticamente significativa con las otras variables

## Resultados

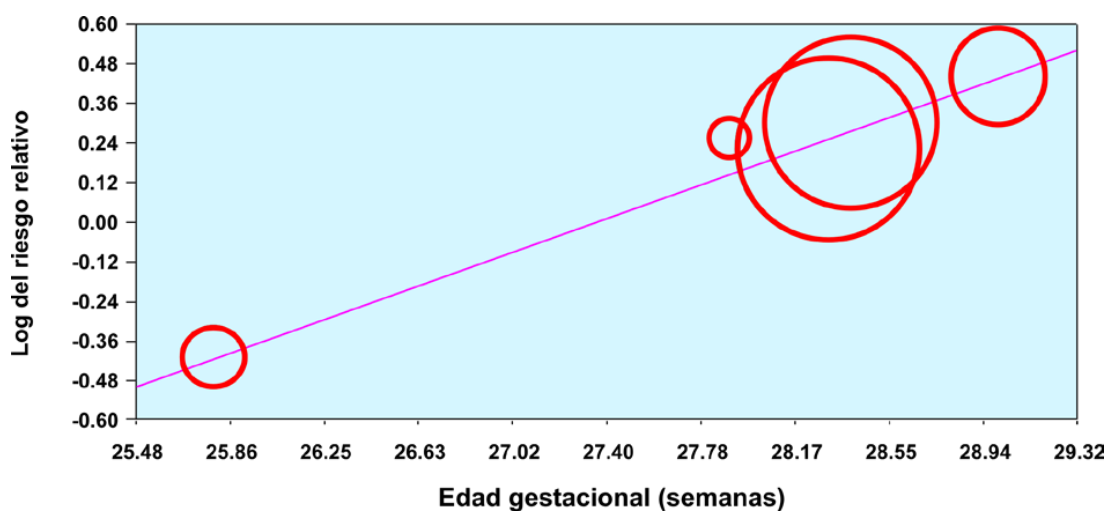
estudiadas mediante metarregresión (porcentaje de varones, porcentaje de DAP, número de pacientes incluidos, porcentaje de niños con plaquetas  $<100 \times 10^9/L$  y año de publicación). En el anexo IV podemos observar las representaciones gráficas de dichas metarregresiones (figuras 31-36).



**Figura 13.** Forest plot tras análisis sensibilidad, extrayendo uno a uno cada uno de los estudios.



**Figura 14.** Gráfico de burbujas que muestra el análisis de metarregresión (modelo de efectos aleatorios) que relaciona el peso al nacimiento con el riesgo de presentar DAP y recuento de plaquetas por debajo de  $100 \times 10^9/L$  en los primeros días.



**Figura 15.** Gráfico de burbujas que muestra el análisis de metarregresión (modelo de efectos aleatorios) entre la edad gestacional de los pacientes incluidos en el estudio y el riesgo de presentar un DAP con plaquetas  $< 100 \times 10^9/L$  en los primeros días de vida. Cada uno de los círculos representa a uno de los estudios incluidos en el análisis. El área de los círculos representa el peso relativo de cada estudio.

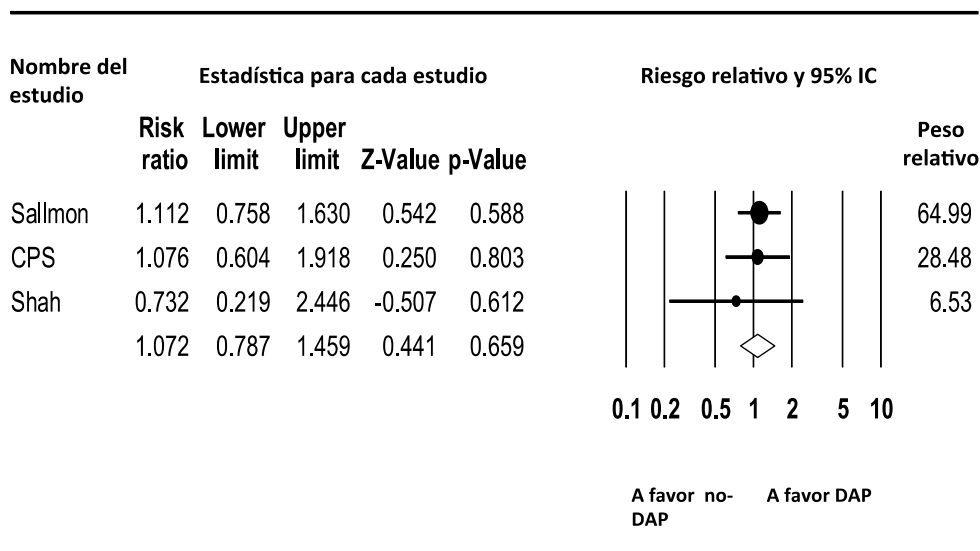
No se observó sesgo de publicación ni mediante el análisis visual del gráfico de embudo ni mediante el test de Egger (anexo VII: figura 48).

El rango de número de días postnatales en el que los recuentos plaquetarios fueron evaluados no se correlacionó con la incidencia de trombocitopenia leve (coeficiente de correlación de Spearman,  $\rho_s = 0.4276$ ,  $p = 0.2499$ ) o moderada ( $\rho_s = 0.2951$ ,  $p = 0.4366$ ).

## Resultados

### 2.3 Recuento plaquetarios < 50 x 10<sup>9</sup>/L y DAP

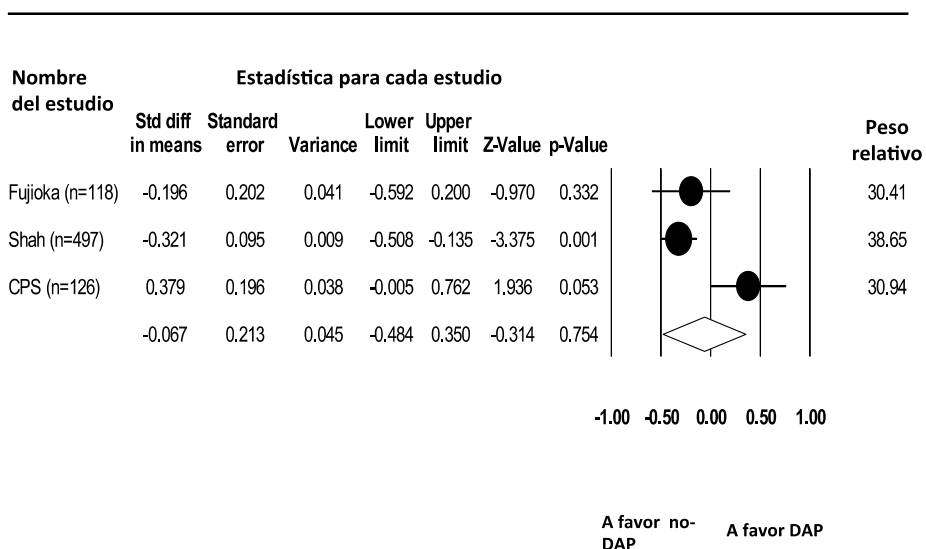
Los datos de los niños cuyos recuentos plaquetarios eran inferiores a 50 x 10<sup>9</sup>/L estaban disponibles en 3 cohortes. El metaanálisis no detectó asociación estadísticamente significativa entre el DAP y los recuentos <50 x 10<sup>9</sup>/L (figura 16).



**Figura 16.** Forest plot de los estudios que examinan el efecto de las plaquetas por debajo de 50 x 10<sup>9</sup>/L en los primeros días sobre el DAP. El riesgo relativo (RR) > de 1 significa incremento del riesgo de DAP.

### 2.4. Diferencias en el recuento plaquetario medio en RN con y sin DAP.

La media de los recuentos plaquetarios en los niños que presentaron o no DAP estaban disponibles en 3 cohortes (figura 17). El valor combinado de la diferencia estándar de las medias (no DAP menos DAP) incluyó el valor 0 y, por tanto, no es estadísticamente significativa (-6.67 x 10<sup>9</sup>, IC95%: -48.4 - 35.0, p=0.754).



**Figura 17.** Forest plot de los estudios que examinan las diferencias de medias.

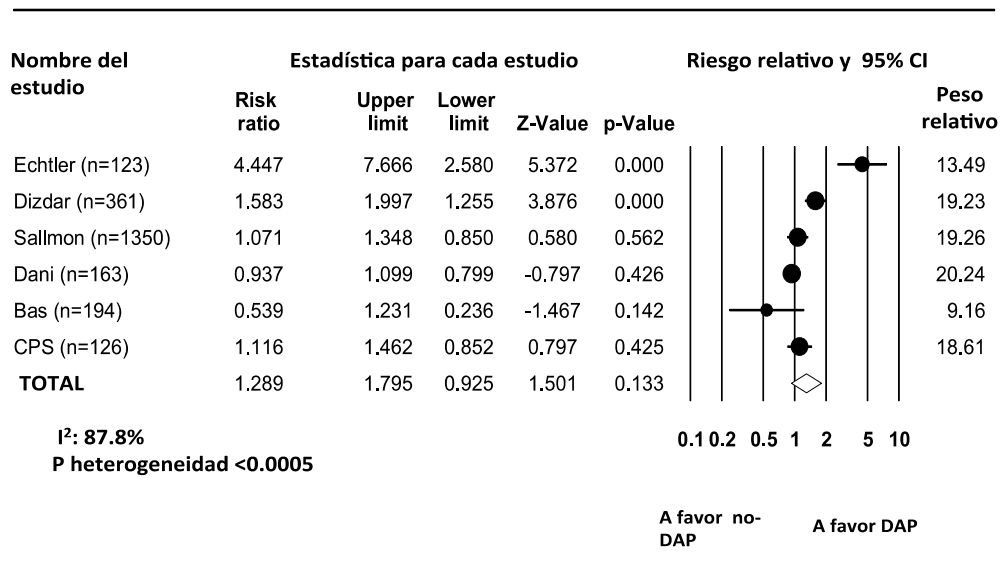
## 2.5. Recuento plaquetarios < 150 x 10<sup>9</sup>/L y DAP-HS

Los datos del porcentaje de DAP-HS en niños cuyos recuentos plaquetarios eran inferiores o superiores a 150 x 10<sup>9</sup>/L estaban disponibles en 6 cohortes (figura 18).

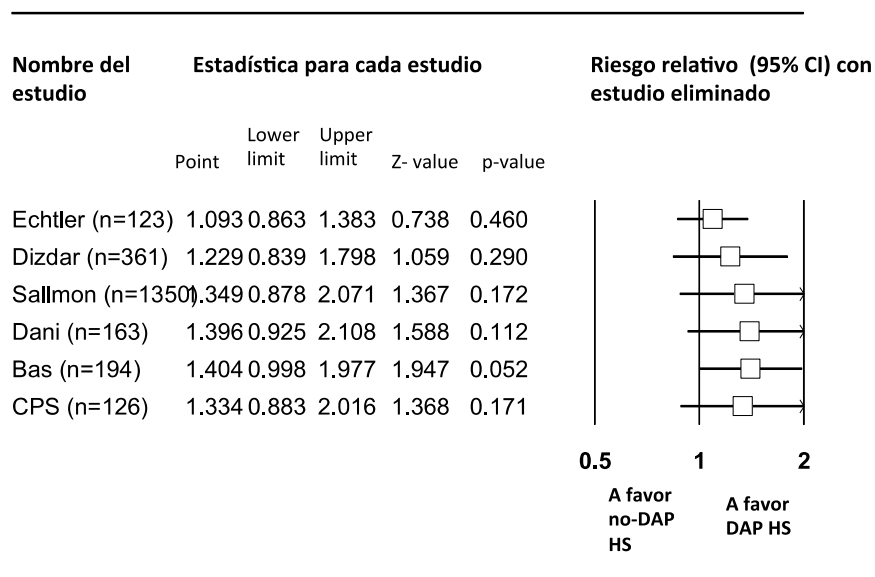
El metaanálisis no mostró una asociación estadísticamente significativa entre DAP-HS y número de plaquetas por debajo de 150 x 10<sup>9</sup>/L (RR:1.289 (IC 95%:1.795,0,925, p=0.133).

El I<sup>2</sup> ascendió a 87.8%, lo que nos muestra una gran heterogeneidad estadística (p<0.0005). En el análisis de sensibilidad (Figura 19), excluyendo los estudios uno a uno se observó que cuando se eliminaba el estudio de Erchtler y cols. el RR alcanzaba el valor de 1.093 (IC 95%: 0.863-1.383, P=0.460) mientras que el RR ascendía a 1.404 (IC 95%: 0.998-1.977, P: 0.052) si se excluía el trabajo de Bas y cols.

## Resultados



**Figura 18.** Forest plot de los estudios que examinan el efecto de los recuentos plaquetarios por debajo de  $150 \times 10^9/L$  en los primeros días sobre el DAP-HS. El riesgo relativo (RR) >1 significa incremento del riesgo de DAP-HS. Los datos del trabajo de Dani y cols. no se mostraron en el artículo, pero fueron cedidos por el autor.

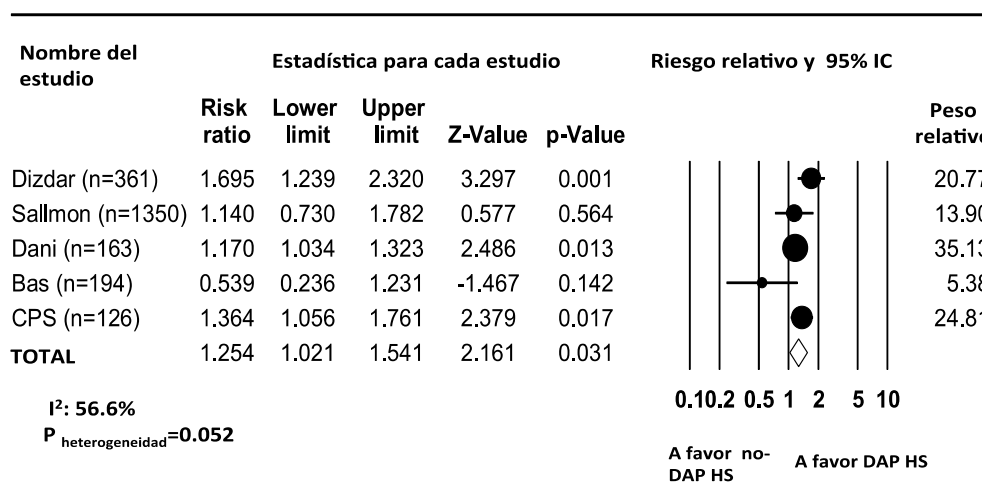


**Figura 19.** Forest plot tras análisis de sensibilidad, extrayendo uno a uno cada uno de los estudios.

En el análisis de metarregresión no se observó ninguna correlación estadísticamente significativa con las variables estudiadas: Edad gestacional, peso al nacimiento, porcentaje de varones, porcentaje de DAP-HS, número de pacientes incluidos, porcentaje de niños con plaquetas  $<150 \times 10^9/L$  y año de publicación (anexo IV: figuras 37-42).

### 2.6. Recuento plaquetarios $< 100 \times 10^9/L$ y DAP-HS

5 cohortes ofrecieron datos sobre niños con DAP-HS y recuentos plaquetarios por debajo de  $100 \times 10^9/L$  (figura 20).

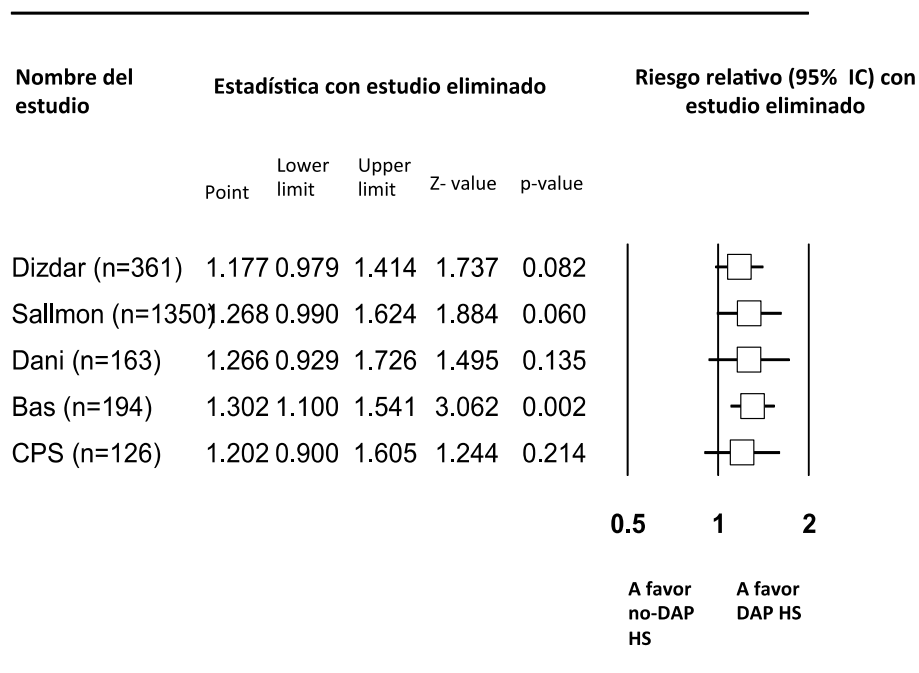


**Figura 20.** Forest plot para los estudios que examinan el efecto de los recuentos plaquetarios por debajo de  $100 \times 10^9/L$  y la presencia de DAP-HS en los primeros días. El riesgo relativo (RR)  $>1$  significa incremento del riesgo de DAP-HS. Los datos de Dani y cols. y de Dizdar y cols. no estaban disponibles en las publicaciones originales pero fueron ofrecidos por los autores.

Como puede observarse en la figura 20, se observó una **asociación positiva estadísticamente significativa** entre el DAP HS y los recuentos plaquetarios  $<100 \times 10^9/L$  (RR: 1.254 con IC 95%: 1.021-1.541, p= 0.031).

## Resultados

En el análisis de sensibilidad, excluyendo los estudios uno a uno (Figura 21), se observó que cuando se eliminaba el estudio de Dizdar y cols. el RR se situaba en 1.177, mientras que si se eliminaba el estudio de Bas cols. el RR ascendía a 1.302 con sus correspondientes intervalos de confianza que se muestran en la figura 21.

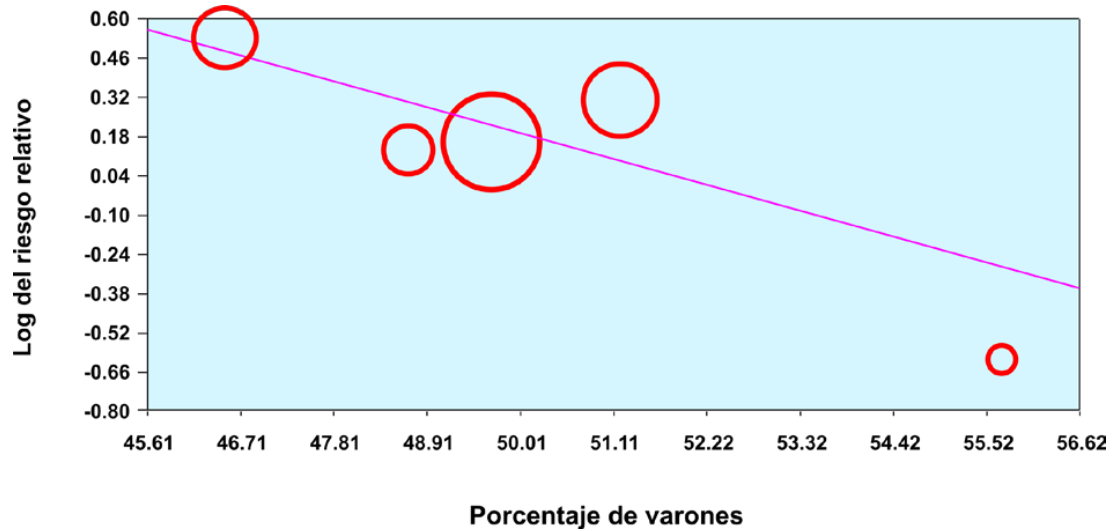


**Figura 21.** Forest plot tras análisis extrayendo uno a uno cada uno de los estudios.

El análisis de metarregresión (modelo efectos aleatorios) demostró una **correlación negativa estadísticamente significativa** entre el sexo masculino y el riesgo de presentar DAP-HS con recuentos plaquetarios por debajo  $100 \times 10^9/L$  ( $Z=-1.976$ ,  $p=0.048$ . Figura 22). Es decir, aquellos estudios que incluían un menor porcentaje de varones presentaban mayor riesgo de DAP-HS con plaquetas  $< 100 \times 10^9/L$  (estadística más detallada en anexo II). No se observó ninguna otra correlación estadísticamente significativa con las otras variables estudiadas mediante metarregresión (edad gestacional, peso al nacimiento, porcentaje de DAP-HS, número de pacientes incluidos, porcentaje de niños con plaquetas  $<100 \times 10^9/L$  y año de



publicación). En el apéndice VI se muestran las representaciones gráficas de dichas metarregresiones (anexo VI: fig. 43-47).



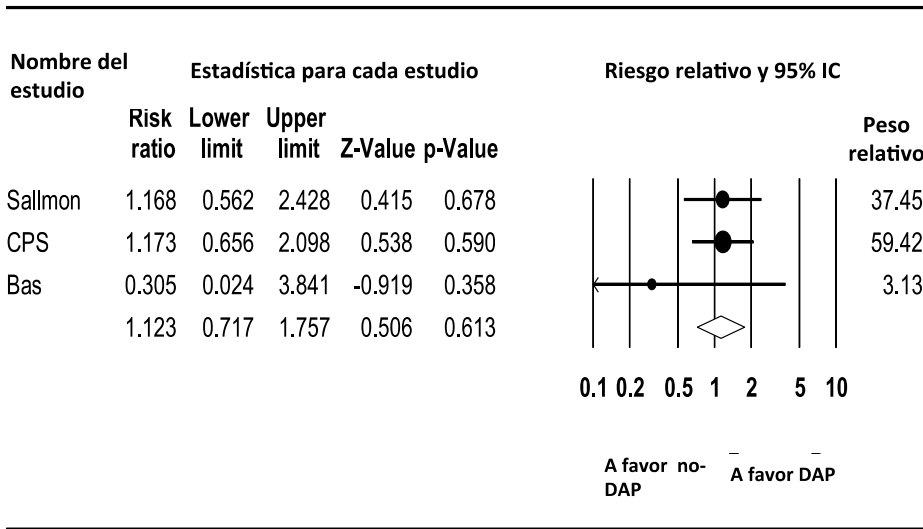
**Figura 22.** Gráfico de burbujas que muestra el análisis de metarregresión (modelo efectos aleatorios) entre el porcentaje de varones incluidos en el estudio y el riesgo de presentar DAP-HS con recuento de plaquetas  $<100 \times 10^9/L$ .

Finalmente mediante el test de Egger se comprobó la ausencia de **sesgo de publicación** estadísticamente significativo. En el anexo VII (figura 49) se muestra el gráfico de embudo (gráfico de Light y Pillemer) y la estadística correspondiente.

**Resultados**

**2.5. Recuento plaquetario < 50 x 10<sup>9</sup>/L y DAP HS**

Los datos de los niños cuyos recuentos plaquetarios eran inferiores a 50 x 10<sup>9</sup>/L estaban disponibles en 3 cohortes (figura 23). El metaanálisis no pudo detectar asociación estadísticamente significativa entre el DAP y los recuentos plaquetarios < 50 x 10<sup>9</sup>/L (RR: 1.123 IC 95%: 0.717-1.757, p= 0.613).



**Figura 23.** Forest plot para los estudios que examinan el efecto de los recuentos plaquetarios por debajo de 50 x 10<sup>9</sup>/L y la presencia de DAP-HS en los primeros días.

### 2.6. Diferencias en el recuento plaquetario medio en RN con o sin DAP-HS

La media de los recuentos plaquetarios en los niños que presentaron o no DAP-HS estaban disponibles en 5 estudios (Figura 24). El valor combinado de la diferencia estándar de las medias (no DAP-HS menos DAP-HS) incluye el valor 0 y, por tanto, no es estadísticamente significativo ( $11.69 \times 10^9$ , IC95%:-16.23 - 39.62,  $p=0.412$ ).

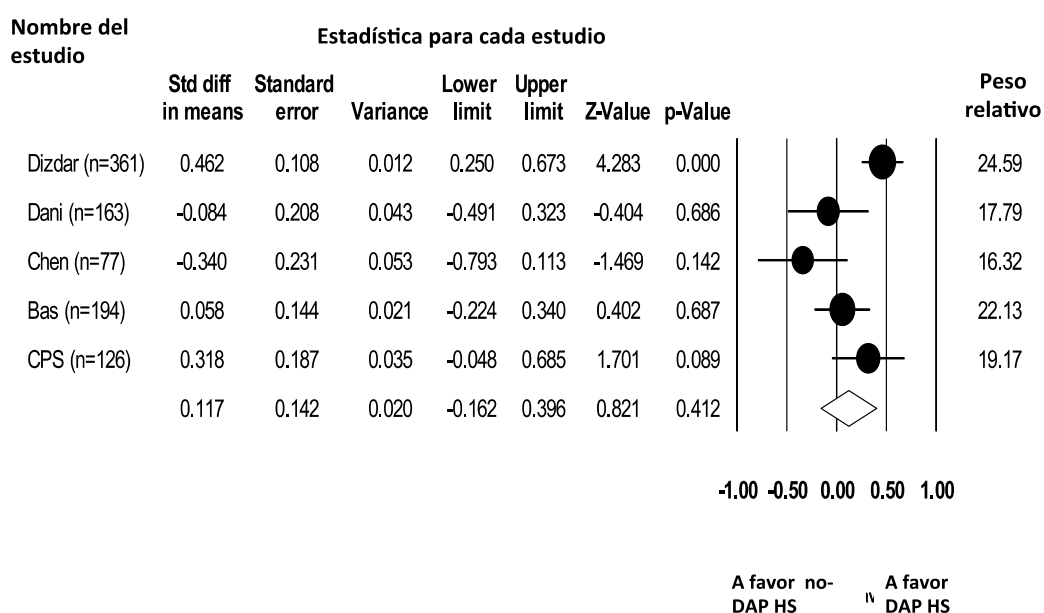


Figura 24. Forest plot de los estudios que examinan las diferencias de medias.



## **DISCUSIÓN**



Estudios experimentales realizados en ratones han demostrado la importancia de la presencia de plaquetas normales en número y función para el cierre permanente anatómico del DA (Echtler y cols., 2010). Estos mismos autores han identificado la trombocitopenia leve al nacimiento como un factor de riesgo para el fracaso del cierre del DA en prematuros. Aunque los resultados clínicos de Echtler han sido confirmados por otros autores (Dizdar y cols., 2012; Dani y cols., 2013) también se han publicado otros estudios retrospectivos de cohortes que no encuentran esta asociación entre trombocitopenia y DAP (Fujioka y cols., 2011; Sallmon y cols., 2012; Shah y cols., 2011). Por tanto, la extrapolación de los hallazgos de Echtler en su modelo murino al RN humano resulta altamente controvertida. El objetivo de la presente tesis ha sido intentar ofrecer argumentos adicionales a esta discusión científica.

Inicialmente intentamos analizar si en nuestra población de RNP se cumplía lo demostrado por Echtler; es decir, que un nivel de plaquetas menor de  $150 \times 10^9/L$  al nacimiento era un factor de riesgo independiente para presentar un DAP en RNP. La cohorte analizada por nosotros incluyó 194 prematuros (EG <30 semanas y peso al nacimiento inferior a 1500 g) ingresados en un único centro de nivel terciario. En este grupo de pacientes, no hemos encontrado ninguna asociación significativa entre el nadir plaquetario observado en los primeros dos días de vida y la presencia de DAP-HS en el tercer día de vida. Del mismo modo, el recuento plaquetario obtenido a lo largo de la primera semana de vida no influyó de manera significativa en la respuesta al tratamiento del DAP-HS con indometacina o ibuprofeno. Estos datos nos permiten concluir que, al menos en nuestra población, no existe evidencia de una asociación entre los niveles bajos de plaquetas y el DAP del RNP. Como ya hemos mencionado, nuestros resultados no coinciden con los de Echtler y cols. (2010), Dizdar y cols. (2012), y Dani y cols. (2013), pero sí con los de Fujioka y cols. (2011), Sallmon y cols. (2012), y Shah y cols. (2011). Debido a estas disparidades, decidimos combinar todos los resultados publicados hasta la fecha en un metaanálisis.

## Discusión

Nuestro metaanálisis combinó 11 estudios de cohortes que incluían 3479 RNP y muestra que un recuento bajo de plaquetas en los primeros días de vida aumenta de una forma modesta, pero estadísticamente significativa, el riesgo de presentar tanto DAP como DAP-HS. Sin embargo, la baja robustez de la asociación y el alto nivel de heterogeneidad estadística entre los estudios nos lleva a sugerir que el nexo entre número de plaquetas y cierre del DAP probablemente carezca de relevancia clínica.

Las diferencias en el diseño del estudio, las características de la población, etc. pueden llevar a resultados muy diferentes y comprometer los resultados de un metaanálisis. Nuestro metaanálisis incluye estudios relativamente homogéneos en cuanto a diseño y población; al menos en cuanto a edad gestacional y peso al nacimiento se refiere. A pesar de ello, cuando hemos analizado la relación entre trombocitopenia y DAP/DAP-HS, hemos observado una gran heterogeneidad estadística. La heterogeneidad estadística únicamente cuantifica la variabilidad entre los resultados de los estudios y puede ser debida a las diferencias reales de planteamiento y ejecución entre los estudios incluidos o a otras causas (*Higgins y Thompson, 2002; Bowden y cols., 2011*). La metarregresión sirve para investigar si la heterogeneidad entre los resultados de diferentes estudios está relacionada con características específicas de dichos estudios (*Baker y cols., 2009*). Esas características se incluyen en el modelo de metarregresión como covariable y son discutidas en diversos párrafos de este capítulo.

Las alteraciones en el número o la función de las plaquetas no parecen ser ningún obstáculo para el cierre del DA en el RNT. Así lo demuestra el hecho de que los RN con trombocitopenia aloinmune, síndrome de Wiskott-Aldrich, o tromboastenia de Glanzman no presentan una mayor incidencia de DAP (*Clyman y cols., 2010; Awidi, 1992; Bussel y cols., 2005; Ochs y cols., 2009*). Este argumento ha sido utilizado para cuestionar si el modelo de Echtler de cierre trombótico del DA en ratones puede ser extrapolado a humanos. Un argumento en defensa del modelo de Echtler es la semejanza entre el DA murino y el DA del pretérmino humano. Como se ha comentado en la introducción, el cierre funcional del DA del RNT produce una



compresión de los vasa vasorum con el consiguiente estímulo hipóxico. En el RNP, al igual que ocurre en el ratón, el DA tiene paredes mucho más finas y carece de vasa vasorum. Por tanto, existiría la posibilidad de que el oxígeno presente en la sangre que circula por el lumen residual difundiera a la túnica media impidiendo el estímulo hipóxico que es fundamental para el cierre definitivo del DA (*Clyman y cols., 2010; Goldberg y cols., 2003; Kajino y cols., 2002*). Siguiendo este razonamiento, la oclusión del lumen ductal por el trombo plaquetario resultaría relevante solamente en el RNP, al igual que ocurre en el ratón (*Clyman and Chemtob 2010*). Sin embargo, un argumento en contra de esta hipótesis la encontramos en nuestro estudio de metarregresión, en el que observamos una correlación positiva entre la edad gestacional de los niños y la asociación entre DAP y trombocitopenia (figura 14). Es decir, aquellas cohortes con una edad gestacional media mayor tendían a mostrar una mayor asociación entre DAP y trombocitopenia.

Una de las mayores dificultades para entender la posible asociación entre trombocitopenia y DAP/DAP-HS es que se trata de correlacionar dos entidades cuya definición en el RNP es controvertida. La trombocitopenia neonatal ha sido clásicamente definida como un recuento inferior a  $150 \times 10^9/L$ . Esta definición es válida para neonatos a término ya que más del 98% presentan recuentos superiores a esta cifra al nacimiento (*Chakravorty y cols., 2012*). Sin embargo, no está claro si este límite es adecuado para RNP. En un estudio multicéntrico que incluyó 47.291 neonatos el percentil 5 de los recuentos plaquetarios fue  $104 \times 10^9/L$  (*Wiedmeier y cols., 2009*). Si usamos la definición clásica de trombocitopenia la incidencia de esta entidad en los niños de muy bajo peso al nacimiento alcanza el 70-80% (*Sola-Visner, 2012; Chakravorty y Roberts, 2012*). Sin embargo, en la mayor parte de los casos se trata de trombocitopenias leves o moderadas mientras que la prevalencia de la trombocitopenia grave (recuento plaquetario  $< 50 \times 10^9/L$ ) que se comunica en la mayoría de las series se mantiene entre el 2 y el 10% (*Sola-Visner 2012*). Por otra parte, la trombocitopenia leve, e incluso la moderada, no parecen tener una gran relevancia clínica (*Sola-Visner 2012*). En el único estudio aleatorizado prospectivo que abordó este tema, los investigadores encontraron que la transfusión de plaquetas para tratar la trombocitopenia leve o moderada no alteraba la incidencia

## Discusión

de DAP ni de otras patologías a corto plazo (*Andrew y cols., 1993*). En la actualidad diversos grupos se encuentran estudiando de modo prospectivo distintos límites para la transfusión de plaquetas (*Curley y cols., 2014; Nickel y Josephson, 2015; Sparger y cols., 2015*) y es de esperar que los resultados de estos estudios nos proporcionen una información relevante sobre los riesgos y consecuencias clínicas de la trombocitopenia en el RNP.

La definición de DAP y las posibles implicaciones clínicas de presentar un DAP en el prematuro también están sujetos a un intenso debate entre los neonatólogos (*Benitz 2010; Clyman y cols., 2012; Clyman y Chorne, 2007; Laughon y cols., 2004*). El temor a las posibles consecuencias del cortocircuito ductal sobre la morbilidad y mortalidad del prematuro ha derivado en que, durante décadas, el DAP del RNP haya sido tratado de forma agresiva. La ausencia de una evidencia clara sobre el beneficio de estas pautas terapéuticas agresivas ha llevado a algunos autores a plantear pautas conservadoras (esperar y observar) ya que consideran el DAP como una expresión de la adaptación circulatoria del prematuro (*Benitz 2010; Laughon y cols., 2004; Schena y cols., 2011*). Sin embargo, tampoco existe evidencia científica que, de momento, de soporte a estas aproximaciones conservadoras (*Heuchan y Clyman 2014*). Por tanto, la esencia del debate reside en el desafío que supone saber quién debe recibir tratamiento, si realmente lo necesita, y qué intervención es la más efectiva. Esta incertidumbre ha resultado en diferentes definiciones de lo que los diversos autores llaman “DAP significativo”; es decir, aquel que causa síntomas y debe ser tratado (*Heuchan y Clyman, 2014; Clyman, 2014; Zonnemberg y cols., 2012*). Esta controversia está reflejada en nuestro metaanálisis que incluye cohortes en las que la incidencia de DAP/DAP-HS oscila entre el 23 y el 82% (tabla 15). Estas cifras son la consecuencia de los diferentes criterios empleados para definir un DAP como clínica y/o hemodinámicamente significativo (*Zonnemberg y cols. 2012; Sehgal y McNamara, 2012*). También el momento de evaluación del DAP va a influir en su incidencia. Por ejemplo, en el estudio de Dani y cols. (2013), la evaluación precoz (dentro de los primeros dos días de vida) se acompaña de la incidencia de DAP más alta entre los estudios incluidos en el metaanálisis. A pesar de esta importante variabilidad de porcentajes de incidencia de DAP/DAP HS, el análisis de

metarregresión no demostró un impacto significativo de los porcentajes de DAP/DAP HS de los distintos estudios en los resultados del metaanálisis (anexo III-VI, figuras 29, 34, 39 y 47).

Cuando los diversos autores que han analizado la relación entre trombocitopenia y DAP han tratado de explicar las diferencias en los resultados han aludido a diferencias raciales y a distribución en la ratio niño: niña en las distintas poblaciones (*Echtler y cols., 2011; Sallmon y cols., 2012*). El estudio primigenio de Echtler incluye pacientes caucásicos y el primer estudio que no confirma sus hallazgos fue realizado en un grupo de prematuros japoneses (*Fujioka y cols., 2011*). Sin embargo, la ausencia de relación entre trombocitopenia y DAP ha sido confirmada en otras cohortes de características raciales semejantes a la cohorte de Echtler (*Sallmon y cols., 2012*). Por su parte, nuestra cohorte incluye fundamentalmente prematuros de origen canario. La población canaria posee un trasfondo genético que se estima 70% español, 20% bereber y 10% del África subsahariana (*Pinto y cols., 1994*). En lo que al sexo de los RN se refiere, Echtler y cols., en su réplica a Fujioka, alegan que una posible justificación para la diferencia entre sus resultados es el elevado porcentaje de prematuros de sexo masculino incluidos en el estudio de Fujioka, cuando el DAP es más frecuente en niñas (*Echtler y cols., 2011*). En primer lugar habría que destacar que esta información de Echtler y cols. no se encuentra sostenida por la literatura. Si bien es cierto, que el DAP del RNT ocurre con una frecuencia mayor (2:1) en las niñas (*Schneider, 2012*), esto no ha sido demostrado en el RNP. Es un hecho generalmente aceptado que la morbilidad y la mortalidad neonatal son mayores en los prematuros de sexo masculino (*Drevenstedt y cols. 2008; Di Renzo, 2007*) pero esto no ha sido demostrado de forma concluyente para el DAP. En un reciente, todavía no publicado, metaanálisis llevado a cabo por el grupo del Dr. Villamor y que incluye mas de 400.000 prematuros no se observan diferencias por el sexo en la incidencia de DAP. Finalmente, nuestra metarregresión no demuestra una correlación significativa entre el porcentaje de varones incluidos en los estudios y la asociación DAP/trombocitopenia.

## Discusión

Aunque nuestro metaanálisis demuestra una asociación estadísticamente significativa entre trombocitopenia y DAP, dicha asociación no implica causalidad. Debe tenerse en cuenta que los dos factores etiológicos más importantes de la trombocitopenia del prematuro, CIR e infección perinatal, también pueden afectar al desarrollo del DA. El CIR es, en la mayor parte de los casos, la consecuencia de una insuficiencia placentaria que combina hipoxia y déficit nutricional (Fang, 2005). Las posibles alteraciones que la hipoxia y otros factores adversos durante la vida fetal pudieran producir en el desarrollo del DA no han sido aún determinados de un modo claro. Hay estudios que muestran signos de una maduración histológica acelerada en el DA de neonatos expuestos a estrés intrauterino crónico (King y cols., 1980). Por otra parte, hay autores que describen en el DA de prematuros con CIR cambios histológicos como fragmentación, coagulación, necrosis de la lámina elástica interna, hemorragias y pérdida de tejido elástico y muscular en la túnica media (Ibara y cols., 1994). Estos ductus seriamente dañados podrían presentar dificultades para su cierre. En un estudio experimental, utilizando un modelo de hipoxia crónica prenatal en el embrión de pollo, van der Sterren y cols. observaron que la hipoxia crónica producía retraso del crecimiento y alteraciones en la función endotelial del DA (Van der Sterren y cols., 2009). Sin embargo, no apreciaron ni cambios en la respuesta a oxígeno ni alteraciones en el cierre del DA (Van der Sterren y col., 2009).

En lo que a la infección perinatal se refiere, existen numerosos estudios que han identificado un mayor riesgo de DAP en prematuros con el antecedente de corioamnionitis (Arayici y cols., 2014; Elimian y cols., 2000; Ecevit y cols., 2014; Erdemir y cols., 2013; Lau y cols., 2005; Ogunyemi y cols., 2003; Perrone y cols., 2012; Miyazaki y cols., 2015). Sin embargo, los trabajos de otros autores no confirman esta asociación (Ahn y cols., 2012; Lee y cols., 2006; Liu y cols., 2014). Resulta particularmente interesante que en las series con mayor número de pacientes (García-Muñoz Rodrigo y cols., 2014; Miyazaki y cols., 2015; Soraisham y cols., 2009), la corioamnionitis incrementa el riesgo de presentar DAP, pero cuando se corrige para la EG y el peso al nacimiento, la corioamnionitis tiene un efecto protector sobre el DAP. Esto sugiere que una parte importante del efecto de la corioamnionitis sobre

la epidemiología del DAP pudiera estar en relación con su papel como agente etiológico de prematuridad. Por otra parte, la sepsis neonatal, tanto de inicio precoz como tardío, ha sido señalada como un importante factor de riesgo para la presencia de DAP en el RNP y para la falta de respuesta al tratamiento con inhibidores de la COX (Vucovich y col., 2014; Stoll y cols., 1996a, b; Van de Bor y cols., 1988). Las posibles interacciones entre infección/inflamación y DAP son complejas. Por ejemplo, los mediadores inflamatorios pueden afectar el desarrollo del DA o tener efectos vasoactivos directos (Perrone y cols. 2012; Vucovich y cols., 2014). También los fármacos utilizados en el tratamiento de la sepsis pueden tener efectos ductales (Vucovich y cols., 2014; Reese y cols., 2010). Por último, la inestabilidad respiratoria, hemodinámica y metabólica que acompaña a las sepsis graves pueden tener una importante influencia en el proceso de cierre del DA (Vucovich y cols., 2014; Groeneveld, 2002).

Otra posibilidad que ha sido sugerida para explicar la posible asociación entre trombocitopenia y DAP es que un número normal de plaquetas sea más que un factor directamente relacionado con el cierre del DA, un marcador de estabilidad clínica de los pacientes (Shah y cols., 2011). Estos prematuros más estables clínicamente tendrían menos dificultad para llevar a cabo la transición circulatoria postnatal. En esta línea, Rastogi y cols. (2011) demostraron que una caída en el número de plaquetas, aún sin alcanzar los límites de trombocitopenia, se asociaba con un aumento de la mortalidad y morbilidad del prematuro. También hay que destacar que en el estudio de Shah y cols. los prematuros cuyo número de plaquetas nunca descendió por debajo del último quintil ( $>230 \times 10^9/L$ ) presentaron una incidencia de DAP significativamente menor (Shah y cols., 2011). En cualquier caso, resulta necesario destacar que el estudio de Shah difiere de los otros incluidos en el metaanálisis ya que todos sus pacientes fueron tratados con indometacina profiláctica y por tanto no evalúa, en un sentido estricto, el cierre espontáneo del DA. En el estudio de Echtler también un número no comunicado de prematuros recibieron indometacina profiláctica.

### LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Las principales limitaciones tanto de nuestra cohorte como de la mayoría de las incluidas en el metaanálisis son su relativamente pequeño tamaño muestral y su carácter retrospectivo. La combinación de resultados mediante metaanálisis nos permite soslayar, al menos parcialmente, el problema del tamaño muestral. Sin embargo el carácter retrospectivo de los estudios puede haber influido en los resultados ya que factores de riesgo importantes pueden no haber sido adecuadamente identificados (*Sedgwick, 2014*). Uno de los principales inconvenientes de la retrospectividad es que los recuentos plaquetarios no fueron realizados en tiempos fijos e iguales para todos los neonatos sino que dependieron del criterio clínico. Esto hace que en aquellos pacientes más inestables se llevaran a cabo más recuentos plaquetarios resultando más fácil identificar un episodio trombocitopénico. También resulta importante destacar que la mayoría de los estudios limitan el estudio de las plaquetas al nacimiento o, como máximo, los primeros 3 días de vida. Sin embargo, la mayoría de los prematuros que desarrollan trombocitopenia durante la primera semana de vida tienen un recuento normal-bajo de plaquetas ( $150-200 \times 10^9/L$ ) o una trombocitopenia leve al nacimiento (*Murray, 2002*). Durante los siguientes días, el número de plaquetas descenderá alcanzando el nadir sobre el 4<sup>º</sup>-5<sup>º</sup> día, antes de recuperar los niveles por encima de  $150 \times 10^9/L$  en torno al 7<sup>º</sup>-10<sup>º</sup> día. La relación entre el momento en que se produce el nadir plaquetario y el cierre del DA es importante, ya que sólo el 10-15% de los niños prematuros <28 semanas cierran su DA entre el 1<sup>º</sup> y el 3<sup>º</sup> día de vida (*Clyman 2006*). De los estudios incluidos en el metaanálisis tan sólo los de Shah, Brunner y el nuestro presentaron datos de los recuentos plaquetarios más allá del 3<sup>º</sup> día de vida. Hay que resaltar que ninguno de estos trabajos encuentra una relación entre bajo número de plaquetas entre los días 3 y 7 y presencia de DAP/ DAP-HS.

Una limitación inherente al metaanálisis tradicional es la imposibilidad de corregir para posibles factores de confusión como el peso o la edad gestacional que pueden influir en la incidencia del DAP/DAP-HS. Como ya hemos referido, la metarregresión permite, en cierta medida, soslayar este problema. Una mejor alternativa es, sin embargo, el metaanálisis de datos individuales en el cual los datos

crudos de cada paciente son utilizados para la síntesis (Riley y cols., 2010). El principal obstáculo para esta técnica es la resistencia de los investigadores a compartir sus datos (Jaspers y Degraeuwe, 2014).

#### PERSPECTIVAS FUTURAS

Nuestra pregunta inicial sobre la relación entre la trombocitopenia y el DAP ha quedado solo contestada de un modo parcial tras nuestro estudio. Sería necesario un estudio prospectivo para obtener una respuesta más completa y convincente. Este estudio debería establecer un protocolo con definición de tiempos fijos para la determinación de los recuentos plaquetarios y criterios claros y prospectivos para definir el DAP-HS. También los estudios futuros no deberían limitarse a la cuantificación de las plaquetas sino que deberían tener también en cuenta los cambios madurativos en la función plaquetaria (Sallmon y cols., 2011). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que las pruebas de función plaquetaria requieren grandes volúmenes de sangre y además los estudios *in vitro* no reflejan siempre de un modo adecuado el proceso hemostático *in vivo* (Haley y cols., 2014). Por otra parte, si aceptamos la visión del cierre del DA como un proceso trombótico, una perspectiva futura de gran interés podría ser analizar la influencia de factores etiopatogénicos de la trombosis del adulto en el DAP del prematuro. En este momento estamos estudiando si determinadas variantes genéticas que predisponen a enfermedades tromboembólicas (Williams y cols., 2010) afectan a la incidencia de DAP.

También queda por examinar en profundidad el papel de las plaquetas en el cierre farmacológico del DA. En un estudio prospectivo (Boo y cols., 2006) que incluyó 60 prematuros con peso al nacimiento menor a 1750 gramos se observó una asociación entre trombocitopenia leve y ausencia de respuesta a la indometacina. Recientemente, Ahamed y cols (2015) también ha encontrado una relación entre recuentos bajos de plaquetas y fallo de respuesta al tratamiento. Sin embargo, tanto en nuestra serie como en la de Shah y cols. (2011) no se observó tal asociación. Actualmente estamos llevando a cabo un metaanálisis para tratar de obtener una respuesta a esta pregunta.

## Discusión

Finalmente una perspectiva experimental que nos gustaría sugerir es el estudio de la posible influencia de los factores vasoactivos que liberan las plaquetas en la contractilidad y el cierre del DA. Las plaquetas activadas liberan mediadores como serotonina, trombina, tromboxano A<sub>2</sub> o factor activador de plaquetas. De alguna de ellas, principalmente del tromboxano A<sub>2</sub>, conocemos sus efectos ductales (*Smith, 1998; Agren y cols., 2007; Schuurman y Villamor, 2010; van der Sterren y Villamor, 2011*). Utilizando el embrión de pollo como modelo, el grupo del Dr. Villamor ha demostrado que tanto la serotonina (*van Zogchel y Villamor, 2014*) como la trombina (*Kartal y cols., 2012*) son vasoconstrictores específicos del DA. Además estos factores podrían no limitar su efecto al cierre funcional del DA sino que, a través de sus capacidades prometóticas (*Coughlin 2000; Lesurtel y Clavien, 2010*) participar en el cierre anatómico definitivo.



## **CONCLUSIONES**



En nuestra muestra formada por 194 prematuros con edad gestacional inferior a 30 semanas y peso al nacimiento inferior a 1500 g:

1. No se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de un ductus arteriosus persistente hemodinámicamente significativo al tercer día de vida y el recuento de plaquetas en los dos primeros días de vida.
2. La presencia en los dos primeros días de vida de una trombocitopenia – definida como un recuento plaquetario inferior a  $150 \times 10^9/L$  y clasificada como leve ( $100 -150 \times 10^9/L$ ), moderada ( $50-100 \times 10^9/L$ ), o grave ( $<50 \times 10^9/L$ )– no se asoció de forma estadísticamente significativa con la presencia de un ductus arteriosus persistente hemodinámicamente significativo al tercer día de vida.
3. La respuesta al tratamiento con indometacina o ibuprofeno no se vio afectada de forma estadísticamente significativa por la cifra de plaquetas o por la presencia de trombocitopenia leve, moderada o grave durante los siete primeros días de vida.
4. La presencia de un ductus arteriosus hemodinámicamente significativo en el tercer día de vida se asoció de forma independiente con la edad gestacional, la presencia de síndrome de distrés respiratorio y la hipotensión arterial.

## Conclusiones

En un metaanálisis que combinó nuestra muestra con otras once publicadas en la literatura para conseguir una muestra global de 3479 recién nacidos prematuros se observó:

1. Que la presencia de una trombocitopenia leve o moderada aumentaba de forma marginal, pero estadísticamente significativa, el riesgo de presentar un ductus arteriosus persistente.
2. Que la presencia de una trombocitopenia moderada aumentaba de forma marginal, pero estadísticamente significativa, el riesgo de presentar un ductus arteriosus persistente hemodinámicamente significativo

**English**

In our cohort, which included 194 preterm infants with gestational age below 30 weeks and birth-weight below 1500 g:

1. The presence of hemodynamically significant patent ductus arteriosus on the third day of life was not significantly associated with the median platelet count nadir within the first two days of life.
2. The presence of hemodynamically significant patent ductus arteriosus on the third day of life was not significantly associated with the rate of thrombocytopenia –defined as platelet count  $<150 \times 10^9/L$  and graded as mild ( $100$  to  $<150 \times 10^9/L$ ), moderate ( $50$  to  $<100 \times 10^9/L$ ), or severe ( $<50 \times 10^9/L$ )– within the first 2 days of life.
3. The response of hemodynamically significant patent ductus arteriosus to treatment with indomethacin or ibuprofen was not significantly affected by platelet counts within the first seven days of life.
4. The presence of hemodynamically significant patent ductus arteriosus on the third day of life was independently associated with gestational age, arterial hypotension, and respiratory distress syndrome.

## Conclusiones

In a meta-analysis, which combined our cohort with 10 previously published studies and included data from 3.479 preterm infants, it was observed that:

1. The presence of mild or moderate thrombocytopenia was marginally, but significantly, associated with patent ductus arteriosus.
2. The presence of moderate thrombocytopenia was marginally, but significantly, associated with hemodynamically significant patent ductus arteriosus.

## **BIBLIOGRAFÍA**





1. Agren P, Cogolludo AL, Kessels CG, Perez-Vizcaino F, De Mey JG, Blanco CE. et al. Ontogeny of chicken ductus arteriosus response to oxygen and vasoconstrictors. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007;292:485-96.
2. Ahamed MF, Verma P, Lee S, Vega M, Wang D, Kim M et al. Predictors of successful closure of patent ductus arteriosus with indomethacin. *J Perinatol* 2015;35:729-34.
3. Ahn HM, Park EA, Cho SJ, Kim YJ, Park HS. The association of histological chorioamnionitis and antenatal steroids on neonatal outcome in preterm infants born at less than thirty-four weeks' gestation. *Neonatology* 2012;102:259-64.
4. Allegaert K., Anderson B., Simons S, Van Overmeire B. Paracetamol to induce ductus arteriosus closure: Is it valid?. *Arch Dis Child* 2013;98:462-6.
5. Alyamac Dizdar E, Ozdemir R, Nur Sari F, Yurttutan S, Gokmen T, Erdeve O. et al. Low platelet count is associated with ductus arteriosus patency in preterm newborns. *Early Hum Dev* 2012;88:813-6.
6. Alzamora-Castro V, Battilana G, Abigattas R, Sailer S. Patent ductus arteriosus and high altitude. *Am J Cardiol* 1960;5:761-3.
7. Andrew M, Vegh P, Caco C, Kirpalani H, Jefferies A, Ohlsson A et al. A randomized, controlled trial of platelet transfusions in thrombocytopenic premature infants. *J Pediatr* 1993;123:285-91.
8. Andrew M, Paes B, Johnston M. Development of the hemostatic system in the neonate and young infant. *Pediatr Hematol Oncol* 1990;12:95-104.
9. Andrew M, Paes B, Bowker J, Vegh P. Evaluation of an automated bleeding time device in the newborn. *Am J Hematol* 1990;35:275-7.
10. Andrews RK, Berndt M. Platelet physiology and thrombosis. *Thromb Res* 2004; 114:447-53.
11. Arayici S, Kadioglu Simsek G, Oncel MY, Eras Z, Canpolat FE, Oguz SS. et al. The effect of histological chorioamnionitis on the short-term outcome of preterm infants  $\leq 32$  weeks: a single-center study. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2014;27:1129-33.
12. Attridge JT, Kaufman KA, Lim DS. B-type natriuretic peptide concentrations to guide treatment of patent ductus arteriosus. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2009; 94:178-82.
13. Awidi AS. Delivery of infants with Glanzmann thrombasthenia and subsequent blood transfusion requirements: a follow-up of 39 patients. *Am J Hematol* 1992;40:1-4.
14. Aznar J, España F, Estelles A, García Frade LJ, Gilabert J, Jiménez Cossío J. et al. Aportaciones más recientes al conocimiento y comprensión de la hemostasia. Madrid: Ed. Dolores Vallejo (Ed);1991.
15. Baker WL, White CM, Cappelleri JC, Kluger J, Coleman CI, Health Outcomes Policy, and Economics (HOPE) Collaborative Group. Understanding heterogeneity in meta-analysis: the role of meta-regression. *Int J Clin Pract* 2009;63:1426-34.
16. Baragatti B, Ciofini E, Scelba F, Angeloni D, Sodini D, Luin S. et al. Cytochrome P-450 3A13 and endothelin jointly mediate ductus arteriosus constriction to oxygen in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011;300:892-901.
17. Bas-Suarez MP, Gonzalez-Luis GE, Saavedra P, Villamor E. Platelet counts in the first seven days of life and patent ductus arteriosus in preterm very low-birth-weight infants. *Neonatology* 2014;106:188-94.

## Bibliografia

18. Bednarek FJ, Bean S, Barnard MR, Frelinger AL, Michelson AD. The platelet hyporeactivity of extremely low birth weight neonates is age-dependent. *Thromb Res* 2009;124:42-45.
19. Bell MJ. Neonatal necrotising enterocolitis. *N Engl J Med* 1978;298:281-2.
20. Benitz WE. Patent ductus arteriosus: to treat or not to treat? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2012;97:80-2.
21. Benitz WE. Treatment of persistent patent ductus arteriosus in preterm infants: time to accept the null hypothesis? *J Perinatol* 2010;30:241-52.
22. Bergwerff M, DeRuiter MC, Gittenberger-de Groot AC. Comparative anatomy and ontogeny of the ductus arteriosus, a vascular outsider. *Anat Embryol(Berl)* 1999;200:559-71.
23. Bogdanov VY, Balasubramanian V, Hathcock J, Vele O, Lieb M, Nemerson Y. Alternatively spliced human tissue factor: a circulating, soluble, thrombogenic protein. *Nat Med* 2003;9:458-62.
24. Bökemkamp R, DeRuiter MC, Van Munsternen C, Gittenberger-de Groot AC. Insights into the pathogenesis and genetic background of patency of the ductus arteriosus. *Neonatology* 2010;98:6-17.
25. Boo NY, Mohd-Amin I, Bilkis AA, Yong-Junina F. Predictors of failed closure of patent ductus arteriosus with indomethacin. *Singapore Med J* 2006;47:763-8.
26. Borenstein M, Hedges LV, Higgins JP y Rothstein HR. Introduction to Meta-Analysis. United Kingdom: Ed John Wiley & sons, Ltd; 2009.
27. Bose CL, Laughon MM. Patent ductus arteriosus: lack of evidence for common treatments. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2007;92:498-502.
28. Bouayad A, Kajino A, Kajino H, Waleh H, Fouron JC, Varma DR et al. Characterization of PGE<sub>2</sub> receptors in fetal and newborn lamb ductus arteriosus. *Am J Physiol Heart Circ Physio* 2001;280: 2342-9.
29. Bowden J, Tierney JF, Copas AJ, Burdett S. Quantifying, displaying and accounting for heterogeneity in the meta-analysis of RCTs using standard and generalised Q statistics. *BMC Med Res Methodol* 2011;11:41.
30. Bozdogan H. Akaike's information criterion and recent developments in information complexity. *J Math Psychol* 2000;44:62-91.
31. Broze GJ. Tissue factor pathway inhibitor and the revised theory of coagulation. *Annu Rev Med* 1995; 46:103-12.
32. Brunner B, Hoeck M, Schermer E, Streif W, Kiechl-Kohlendorfer U. Patent ductus arteriosus, low platelets, cyclooxygenase inhibitors, and intraventricular hemorrhage in very low birth weight preterm infants. *J Pediatr* 2013;163:23-8.
33. Budzyn K, Marley PD, Sobey CG. Targeting Rho and Rho-kinase in the treatment of cardiovascular disease. *Trends Pharmacol Sci* 2006;27:97-104.
34. Burrows, RF, Kelton JG. Thrombocytopenia at delivery: a prospective survey of 6715 deliveries. *Am J Obstet Gynecol* 1990;162:731-4.
35. Burrows, RF, Kelton, JG. Fetal thrombocytopenia and its relations to maternal thrombocytopenia. *N Engl J Med* 1993;399:1463-6.
36. Burrows, RF, Kelton JG. Low fetal risks in pregnancies associated with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Am J Obstet Gynecol* 1990;163:1147-50.
37. Bussel JB, Zacharoulis S, Kramer K, McFarland JG, Pauliny J, Kaplan C. Clinical and diagnostic comparison of neonatal alloimmune thrombocytopenia to non-immune cases of thrombocytopenia. *Pediatr blood cancer* 2005;45:176-83.

38. Carrascosa A, Fernández JM, Fernández C, Ferrandez A, Lopez-Siguero JP, Sanchez E. et al. Spanish growth studies 2008. New anthropometric standards. *Endocrinol Nutr* 2008;55:484-506.
39. Cassin S, Dawes GS, Mott JC, Ross BB, Strang LB. Vascular resistance of the foetal and newly ventilated lung of the lamb. *J Physiol* 1964;171:61-79.
40. Chakravorty S, Murray N, Roberts I. Neonatal thrombocytopenia. *Early Hum Dev* 2005;81:35-41.
41. Chakravorty S, Roberts I. How I manage neonatal thrombocytopenia. *Br J Haematol* 2012;156:155-62.
42. Chen JX, O'Mara PW, Poole SD, Brown N, Ehinger NJ, Slaughter JC. et al. Isoprostanés as physiological mediators of transition to newborn life: novel mechanisms regulating patency of the term and preterm ductus arteriosus. *Pediatr Res* 2012;72:122-8.
43. Chen YY, Wang HP, Chang JT, Chiou YH, Huang YF, Hsieh KS. Perinatal factors in patent ductus arteriosus in very low-birthweight infants. *Pediatr Int* 2014;56:72-6.
44. Chirico G, Gasparoni MC, Rondini G. Exchange transfusion for indomethacin-induced hemorrhagi complication in the neonate. *J Pediatr* 1985;107:312.
45. Chorne N, Leonard C, Piecuch R, Clyman RI. Patent ductus arteriosus and its treatment as risk factors for neonatal and neurodevelopmental morbidity. *Pediatrics* 2007;119:1165-74.
46. Christensen RD, Henry E, Del Vecchio A. Thrombocytosis and thrombocytopenia in the NICU: incidence, mechanisms and treatments. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012;25:15-7.
47. Clyman R, Chemtob S. Vessel remodeling in the newborn: platelets fill the gap. *Nat Med* 2010;16:33-35.
48. Clyman R. Early Treatment Versus Delayed Conservative Treatment of the Patent Ductus Arteriosus (PDA:TOLERATE). University of California, San Francisco. 2014. Disponible en URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01958320>
49. Clyman RI, Chorne N. Patent ductus arteriosus: evidence for and against treatment. *J Pediatr* 2007; 150:216-19.
50. Clyman RI, Couto J, Murphy GM. Patent ductus arteriosus: are current neonatal treatment options better or worse than no treatment at all? *Semin Perinatol* 2012;36:123-9.
51. Clyman RI, Waleh N, Black SM, Riemer RK, Mauray F, Chen YQ. Regulation of ductus arteriosus patency by nitric oxide in fetal lambs: the role of gestation, oxygen tension, and vasa vasorum. *Pediatr Res* 1998;43:633.
52. Clyman RI. Mechanisms regulating the Ductus arteriosus. *Biol neonate* 2006; 89:330-5.
53. Coceani F, Kelsey L, Seidlitz E, Marks GS, McLaughlin BE, Vreman HJ. et al. Carbon monoxide formation in the ductus arteriosus in the lamb: implications for the regulation of muscle tone. *Br J Pharmacol* 1997;120:599-608.
54. Coceani F, Kelsey L. Endothelin-1 release from lamb ductus arteriosus: relevance to postnatal closure of the vessel. *Can J Physiol Pharmacol* 1991;69:218-21.
55. Coceani F, Baragatti B. Mechanisms for ductus arteriosus closure. *Semin Perinatol* 2012;36:92-7.

## Bibliografia

56. Coceani F, Liu Y, Seidlitz E, Kelsey L, Kuwaki T, Ackerley C et al. Endothelin A receptor is necessary for O<sub>2</sub> constriction but not closure of ductus arteriosus. *Am J Physiol* 1999;277:1521-31.
57. Cogolludo AL, Moral-Sanz J, van der Sterren S, Frazziano G, van Cleef AN, Menéndez C. et al. Maturation of O<sub>2</sub> sensing and signaling in the chicken ductus arteriosus. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2009;297:619-30.
58. Cooke L, Steer P, Woodgate P. Indomethacin for asymptomatic patent ductus arteriosus in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2003:CD003745.
59. Corby DG, O'Barr TP. Decreased alpha-adrenergic receptors in newborn platelets: cause of abnormal response to epinephrine. *Dev Pharmacol Ther* 1981;2:215-25.
60. Cotton RB, Stahlman MT, Bender HW, Graham TP, Catterton WZ, Kovar I. Randomized trial of early closure of symptomatic patent ductus arteriosus in small preterm infants. *J Pediatr* 1978;93:647-51.
61. Coughlin SR. Thrombin signalling and protease-activated receptors. *Nature* 2000;407:258-64.
62. Curley A, Venkatesh V, Stanworth S, Clarke P, Watts T, New H. et al. Platelets for neonatal transfusion - study 2: a randomised controlled trial to compare two different platelet count thresholds for prophylactic platelet transfusion to preterm neonates. *Neonatology* 2014;106:102-6.
63. Dani C, Poggi C, Fontanelli G. Relationship between Platelet Count and Volume and Spontaneous and Pharmacological Closure of Ductus Arteriosus in Preterm Infants. *Am J Perinatol* 2013;30:359-64.
64. Dani C, Vangi V, Bertini G, Pratesi S, Lori I, Favelli F. et al. High-Dose Ibuprofen for Patent Ductus Arteriosus in Extremely Preterm Infants: A Randomized Controlled Study. *Clin Pharmacol Ther* 2012;91:590-6.
65. Davì G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *N Engl J Med* 2007;357:2482-94.
66. De Felice C, Bechelli S, Tonni G, Hansmann G. Systematic underestimation of oxygen delivery in ventilated preterm infant. *Neonatology* 2009;98:18-22.
67. Del Vecchio A, Latini G, Henry E, Christensen RD. Template bleeding times of 240 neonates born at 24 to 41 weeks gestation. *J Perinatol* 2008;28:427-31.
68. Di Renzo GC, Rosati A, Sarti RD, Cruciani L, Cutuli AM. Does fetal sex affect pregnancy outcome? *Gend Med* 2007;4:19-30.
69. Dias-Guichot Y, Verver E, Van Der Sterren S, Villamor E. Magnesium Sulfate Evokes Endothelium-Independent Relaxation in the Chicken Ductus Arteriosus. *Pediatr Res* 2011;70:285.
70. Drevenstedt GL, Crimmins EM, Vasunilashorn S, Finch CE. The rise and fall of excess male infant mortality. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:5016-21.
71. Dwarakanath K, Dereddy N, Chabra D, Schabacker C, Calo J, Parton L. Spontaneous and Pharmacological Closure of PDAs in ELBW Infants Is Influenced by ThrombocytopeniaE-PAS 21. *Unpublished data*. 2011.
72. Dzialowski EM, Sirsat T, van der Sterren S, Villamor E. Prenatal cardiovascular shunts in amniotic vertebrates. *Respir physiol neurobiol* 2011;178:66-74.
73. Ecevit A, Anuk-Ince D, Yapakci E, Kupana-Ayva S, Kurt A, Yanik FF. et al. Association of respiratory distress syndrome and perinatal hypoxia with histologic chorioamnionitis in preterm infants. *Turk J Pediatr* 2014;56:56-61.
74. Echtler K, Konstantin Stark K, Genzel-Borovicz O, Kastrati A, Steffen Massberg S. Reply to: 'Does thrombocytopenia contribute to patent ductus arteriosus?'. *Nat Med* 2011;17:30-3.

75. El Hajjar M, Vaksmann G, Rakza T, Kongolo G, Storme L. Severity of the ductal shunt: a comparison of different markers. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2005;90:19-22.
76. Elimian A, Verma U, Beneck D, Cipriano R, Visintainer P, Tejani N. Histologic chorioamnionitis, antenatal steroids, and perinatal outcomes. *Obstet Gynecol* 2000;96:333-6.
77. El-Khuffash A, Barry D, Walsh K, Davis PG, Molloy EJ. Biochemical markers may identify preterm infants with a patent ductus arteriosus at high risk of death or severe intraventricular haemorrhage. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2008;93:407-12.
78. Erdemir G, Kultursay N, Calkavur S, Zekioglu O, Koroglu OA, Cakmak B. et al. Histological chorioamnionitis: effects on premature delivery and neonatal prognosis. *Pediatr Neonatol* 2013;54:267-74.
79. Evans N, Malcolm G, Osbron D, Kluchow M. Diagnosis of patent ductus arteriosus in preterm infants. *Neoreviews* 2004;5:86-96.
80. Evans N, Moorcraft J. Effect of patency of the ductus arteriosus on blood pressure in very preterm infants. *Arch Dis Child* 1992;67:1169-73.
81. Evans N. Management of the patent ductus arteriosus in the very preterm infant. *Paediatrics and Child Health* 2011;21:247-53.
82. Fang S. Management of preterm infants with intrauterine growth restriction. *Early Hum Dev* 2005;81:889-900.
83. Fay FS. Guinea pig ductus arteriosus. I. Cellular and metabolic basis for oxygen sensitivity. *Am J Physiol* 1971;221:470-7.
84. Ferrer-Marin F, Stanworth S, Josephson C y Sola-Visner M. Distinct differences in platelet production and function between neonates and adults: implications for platelet transfusion practice. *Transfusion* 2013;53:2814-21.
85. Fowlie PW, Davis PG, McWire W. Prophylactic intravenous indomethacin for preventing mortality and morbidity in preterm infants. *Cochrane database Syst Rev* 2010: CD000174.
86. Fujioka K, Morioka I, Miwa A, Morikawa S, Shibata A, Yokoyama N. et al. Does thrombocytopenia contribute to patent ductus arteriosus? *Nat Med* 2011;17:29-30.
87. Gailani D, Broze GJ. Factor XI activation in a revised model of blood coagulation. *Science* 1991;253:909-12.
88. García Mesa M. y Coma Alfonso C. Características estructurales y funcionales de las plaquetas. *Rev Cubana Angiol y Cir Vasc* 2000;1:132-41.
89. Garcia-Muñoz Rodrigo F, Galan Henriquez G, Figueras Aloy J, Garcia-Alix Perez A. Outcomes of very-low-birth-weight infants exposed to maternal clinical chorioamnionitis: a multicentre study. *Neonatology* 2014;106:229-34.
90. Gentile R, Stevenson G, Dooley T, Franklin D, Kawabori I, Pearlman A. Pulsed Doppler echocardiographic determination of time of ductal closure in normal newborn infants. *J Pediatr* 1981; 98:443-8.
91. Goerge T, Ho-Tin-Noe B, Carbo C, Benarafa C, Remold-O'Donnell E, Zhao BQ. et al. Inflammation induces hemorrhage in thrombocytopenia. *Blood* 2008;111:4958-64.
92. Gokmen T, Erdeve O, Altug N, Oguz SS, Uras N, Dilmen U. Efficacy and Safety of Oral Versus Intravenous Ibuprofen in Very Low Birth Weight Preterm Infants with Patent Ductus Arteriosus. *J Pediatr* 2011;158:549-54.

## Bibliografía

93. Goldbarg S, Quinn T, Waleh N, Roman C, Liu BM, Mauray F. et al. Effects of hypoxia, hypoglycemia, and muscle shortening on cell death in the sheep ductus arteriosus. *Pediatr Res* 2003;54:204-11.
94. Golombek SG, Sola A, Baquero H, Borbonet D, Cabañas F, Fajardo C. et al; Primer Grupo de Consenso Clínico SIBEN.[First SIBEN clinical consensus: diagnostic and therapeutic approach to patent ductus arteriosus in premature newborns]. *An Pediatr (Barc)*. 2008;69:454-81.
95. Gournay V, Savagner C, Thiriez G, Kuster A, Roze JC. Pulmonary hypertension after ibuprofen prophylaxis in very preterm infants. *Lancet* 2002;359:1486-8.
96. Groeneveld AJ. Vascular pharmacology of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Vascul pharmacol* 2002;39:247-56.
97. Haley KM, Recht M, McCarty OJ. Neonatal platelets: mediators of primary hemostasis in the developing hemostatic system. *Pediatr Res* 2014;76:230-7.
98. Hammerman C, Bin-Nun A, Markovitch E, Schimmel MS, Kaplan M, Fink D. Ductal closure with paracetamol: a surprising new approach to patent ductus arteriosus treatment. *Pediatrics* 2011;128:1618-21.
99. Heemskerk JW, Siljander PR, Bevers EM, Farndale RW, Lindhout T. Receptors and signalling mechanisms in the procoagulant response of platelets. *Platelets* 2000;11: 301-6.
100. Hermes-DeSantis ER, Clyman RI. Patent ductus arteriosus: pathophysiology and management. *J Perinatol* 2006;26:S14-8;S22-3.
101. Heuchan AM, Clyman RI. Managing the patent ductus arteriosus. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2014;99:431-6.
102. Heymann MA, Rudolph AM. Control of the ductus arteriosus. *Physiol Rev* 1975;55:62-78.
103. Higgins JP, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ* 2003. 6;327:557-60.
104. Higgins JP, Thompson SG. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Stat Med* 2002;21:1539-58.
105. Hong Z, Hong F, Olschewski A, Cabrera JA, Varghese A, Nelson DP et al. Role of store-operated calcium channels and calcium sensitization in normoxic contraction of the ductus arteriosus. *Circulation* 2006;114:1372-9.
106. Hong Z, Kutty S, Toth PT, Marsboom G, Hammel JM, Charnberlain C. et al. Role of dynamin-related protein 1 (Drp1) -mediated mitochondrial fission in oxygen sensing and constriction of the ductus arteriosus. *Circ Res* 2013; 112:802-15.
107. Ibara S, Tokunaga M, Ikenoue T, Murata Y, Hirano T, Asano H. et al. Histologic observation of the ductus arteriosus in premature infants with intrauterine growth retardation. *J Perinatol* 1994;14:411-6.
108. Investigators of the Vermont-Oxford TrialsNetwork Database Project. The Vermont-Oxford Trials Network: very low birthweight outcomes for 1990. *Pediatrics* 1993;91:540-5.
109. Israels SJ, Rand ML, Michelson AD. Neonatal platelet function. *Semin Thromb Hemost* 2003;29:363-72.
110. Israels SJ, Cheang T, McMillan-Ward EM, Cheang M. Evaluation of primary hemostasis in neonates with a new in vitro platelet function analyzer. *J Pediatr* 2001;138:116-9.
111. Jaspers GJ, Degraeuwe PL. A failed attempt to conduct an individual patient data meta-analysis. *Syst Rev* 2014;3:97.

112. Jhaveri N, Moon-Grady A, Clyman RI. Early surgical ligation versus a conservative approach for management of patent ductus arteriosus that fails to close after indomethacin treatment. *J Pediatr* 2010;157:381-7.
113. Jobe A, Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;163:1723-29.
114. Kabra NS, Schmidt B, Roberts RS, Doyle LW, Papile L, Fanaroff A. Neurosensory impairment after surgical closure of patent ductus arteriosus in extremely low birth weight infants: results from the Trial of Indomethacin Prophylaxis in Preterms. *J Pediatr* 2007;150:229-34.
115. Kajimoto H, Hashimoto K, Bonnet SN, Haromy A, Harry G, Moudgil R, et al. Oxygen activates the Rho/Rho-kinase pathway and induces RhoB and ROCK-1 expression in human and rabbit ductus arteriosus by increasing mitochondria-derived reactive oxygen species: a newly recognized mechanism for sustaining ductal constriction. *Circulation* 2007;115:1777-88.
116. Kajino H, Goldbarg S, Roman C, Liu BM, Mauray F, Chen YQ. et al. Vasa vasorum hypoperfusion is responsible for medial hypoxia and anatomic remodeling in the newborn lamb ductus arteriosus. *Pediatr Res* 2002;51:228-35.
117. Kartal K, Meekels J, Mohammed R, van der Sterren S, Villamor E. 1134 Protease-Activated Receptor (PAR)-Mediated Contraction of the Chicken Ductus Arteriosus. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2012;97:A325-325.
118. Keck M, Resnik E, Linden B, Anderson F, Sukovich DJ, Herron J et al. Oxygen increases ductus arteriosus smooth muscle cytosolic calcium via release of calcium from inositol triphosphate-sensitive stores. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005;288:917-23.
119. King DT, Emmanouilides GC, Andrews JC, Hirose FM. Morphologic evidence of accelerated closure of the ductus arteriosus in preterm infants. *Pediatrics* 1980;65:872-80.
120. Klinger MHF: The storage lesion of platelets: ultrastructural and functional aspects. *Ann Hematol* 1996; 73:103-12.
121. Kluckow M, Evans N. Ductal shunting, high pulmonary blood flow, and pulmonary hemorrhage. *J Pediatr* 2000;137:68.
122. Koch J, Hensley G, Roy L, Brown S, Ramaciotti C, Rosenfeld CR. Prevalence of spontaneous closure of the ductus arteriosus in neonates at a birth weight of 1000grams or less. *Pediatrics* 2006;117:1113-21.
123. Kramer RM, Roberts EF, Um SL, Börsch-Haubold AG, Watson SP, Fisher MJ. et al. p38 mitogen-activated protein kinase phosphorylates cytosolic phospholipase A2 (cPLA2) in thrombin-stimulated platelets. Evidence that proline-directed phosphorylation is not required for mobilization of arachidonic acid by cPLA2. *J Biol Chem* 1996;271:27723-9.
124. Kunapuli SP, Dorsan RT, Kim S, Quinton TM. Platelet purinergic receptors. *Curr Opin Pharmacol* 2003;3:175-80.
125. Lau J, Magee F, Qiu Z, Hoube J, Von Dadelszen P, Lee SK. Chorioamnionitis with a fetal inflammatory response is associated with higher neonatal mortality, morbidity, and resource use than chorioamnionitis displaying a maternal inflammatory response only. *Am J Obstet Gynecol* 2005;193:708-13.
126. Laughon MM, Simmons MA, Bose CL. Patency of the ductus arteriosus in the premature infant: is it pathologic? Should it be treated? *Curr Opin Pediatr* 2004;16:146-51.

## Bibliografía

127. Lee SY, Ng DK, Fung GP, Chow CB, Shek CC, Tang PM. et al. Chorioamnionitis with or without funisitis increases the risk of hypotension in very low birthweight infants on the first postnatal day but not later. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2006;91:346-8.
128. Leger AJL, Jacques SL, Badar J, Kaneider NC, Derian CK, Andrade-Gordon P. et al. Blocking the Protease-Activated Receptor 1-4 Heterodimer in Platelet-Mediated Thrombosis. *Circulation* 2006;113:1244-54.
129. Lemmers PM, Toet MC, van Bel F. Impact of patent ductus arteriosus and subsequent therapy with indomethacin on cerebral oxygenation in preterm infants. *Pediatrics* 2008; 121:142-7.
130. Lemons JA, Bauer CR, Oh W, Korones SB, Papile LA, Stoll BJ et al. Very low birth weight outcomes of the National Institute of Child health and human development neonatal research network, January 1995 through December 1996. NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics* 2001; 107:E1.
131. Léon C, Hechler B, Freund M, Eckly A, Vial C, Ohlmann P. et al. Defective platelet aggregation and increased resistance to thrombosis in purinergic P2Y(1) receptor-null mice. *J Clin Invest* 1999;104:1731-7.
132. Leonhardt A, Glaser A, Wegmann M, Schranz D, Seyberth H, Nusing R. Expression of prostanoid receptors in human ductus arteriosus. *Br J Pharmacol* 2003;138:655-9.
133. Lesurtel M, Clavien PA. Platelets: A New Cell Type in Liver Physiology. En: Dufour JF, Clavien PA. Signaling Pathways in Liver Diseases. Berlin Heidelberg Springer. 2010; 105-16.
134. Lim MK, Hanretty K, Houston AB, Lilley S, Murtagh EP: Intermittent ductal patency in healthy newborn infants: demonstration by colour Doppler flow mapping. *Arch Dis Child* 1992;67:1217-8.
135. Linder N, Shenkman B, Levin E, Sirota L, Vishne TH, Tamarin I. et al. Deposition of whole blood platelets on extracellular matrix under flow conditions in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2002;86:127-30.
136. Liu B, Andrieu-Abadie N, Levade T, Zhang P, Obeid LM, Hannun YA. Glutathione regulation of neutral sphingomyelinase in tumor necrosis factor-alpha-induced cell death. *J Biol Chem* 1998;273:11313-20.
137. Liu Z, Tang Z, Li J, Yang Y. Effects of placental inflammation on neonatal outcome in preterm infants. *Pediatr Neonatol* 2014;55:35-40.
138. Liu ZJ, Italiano J, Ferrer-Marin F, Gutti R, Bailey M, Poterjoy B. et al. Developmental differences in megakaryocytopoiesis are associated with upregulated TPO signaling through mTOR and elevated GATA-1 levels in neonatal megakaryocytes. *Blood* 2011;117:4106-17.
139. Loeliger M, Inder TE, Dalitz PA, Cain S, Camm EJ, Yoder B. et al. Developmental and neuropathological consequences of ductal ligation in the preterm baboon. *Pediatr Res* 2009;65:209-14.
140. Loftin CD, Trivedi DB, Tiano HF, Clark JA, Lee CA, Epstein JA. et al. Failure of ductus arteriosus closure and remodeling in neonatal mice deficient in cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:1059-64.
141. López Farré, Macaya C. Plaqueta: fisiología de la activación y la inhibición. *Rev Esp Cardiol Supl* 2013;13:2-7.
142. Lucas R, Warner TD, Vojnovic I, Mitchell JA. Cellular mechanisms of acetaminophen: role of cyclo-oxygenase. *Faseb J* 2005;19:635-7.



143. Ma DC, Sun YH, Chang KZ, Zuo W. Developmental change of megakaryocyte maturation and DNA ploidy in human fetus. *Eur J Haematol* 1996;57:121-7.
144. Mandal SK, Pendurthi UR, Rao LV. Cellular localization and trafficking of tissue factor. *Blood* 2006; 107:4746-53.
145. Mandhan PL, Samarakkody U, Brown S, Kukkady A, Maoate K, Blakelock R. et al. Comparison of suture ligation and clip application for the treatment of patent ductus arteriosus in preterm neonates. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006; 132: 672-4.
146. Ment LR, Oh W, Ehrenkranz RA, Philip AG, Vohr B, Allan W. et al. Low-dose indomethacin and prevention of intraventricular hemorrhage: a multicenter randomized trial. *Pediatrics* 1994;93:543-50.
147. Michelakis, E, Rebeyka I, Bateson J, Olley P, Puttagunta L, Archer S. Voltage-gated potassium channels in human ductus arteriosus. *Lancet* 2000;356:134-7.
148. Miyazaki K, Furuhashi M, Ishikawa K, Tamakoshi K, Hayashi K, Kai A. et al. Impact of chorioamnionitis on short- and long-term outcomes in very low birth weight preterm infants: the Neonatal Research Network Japan. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2015;25:1-7.
149. Moise KJ. Effect of advancing gestational age on the frequency of fetal ductal constriction in association with maternal indomethacin use. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168:1350-3.
150. Momma K, Toyono M: The role of nitric oxide in dilating the fetal ductus arteriosus in rats. *Pediatr Res* 1999;46:311-5.
151. Moreno L, Moral-Sanz J, Morales-Cano D, Barreira B, Moreno E, Ferrarini A et al. Ceramide mediates acute oxygen sensing in vascular tissues. *Antioxid Redox Signal* 2014;20:1-14.
152. Morgorstern E. Human platelet morphology/ultrastructure. In von Bruchhausen F, Walter U (Eds). *Handbook of experimental pharmacology*, vol 126. Platelets and their factors. Heidelberg, Springer Verlag Berlin, 1997:28-60.
153. Moroi M, Jung SM, Okuma M, Shinmyozu K. A patient with platelets deficient in glycoprotein VI that lack both collagen-induced aggregation and adhesion. *J Clin Invest* 1989;84:1440-5.
154. Mosalli R y Paes B. Patent Ductus Arteriosus: Optimal fluid requirements in preterm infants. *Neoreviews* 2010;11:495-502.
155. Motovska Z, Kvasnicka J, Widimsky P, Petr R, Hajkova J, Bobcikova P. et al. Platelet glycoprotein GP VI 13254C allele is an independent risk factor of premature myocardial infarction. *Thromb Res* 2010;125:61-4.
156. Murray NA. Evaluation and treatment of thrombocytopenia in the neonatal intensive care unit. *Acta Paediatr* 2002;91:74-81.
157. Narumiya S. y Fitzgerald SA. Genetic and pharmacological analysis of prostanoid receptor function. *J Clin Invest* 2001;108:25-30.
158. Neumann R, Schulzke SM, Bühner C. Oral ibuprofen versus intravenous ibuprofen or intravenous indomethacin for the treatment of patent ductus arteriosus in preterm infants: a systematic review and meta-analysis. *Neonatology* 2012;102:9-15.
159. Nickel RS, Josephson CD. Neonatal Transfusion Medicine: Five Major Unanswered Research Questions for the Twenty-First Century. *Clin Perinatol* 2015;42:499-513.
160. Obladen M. History of the ductus arteriosus: 1. Anatomy and spontaneous closure. *Neonatology* 2011;99:83-9.

## Bibliografía

161. Ochs HD, Filipovich AH, Veys P, Cowan MJ, Kapoor N. Wiskott-Aldrich syndrome: diagnosis, clinical and laboratory manifestations, and treatment. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15:84-90.
162. Ogunyemi D, Murillo M, Jackson U, Hunter N, Alpers B. The relationship between placental histopathology findings and perinatal outcome in preterm infants. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2003;13:102-9.
163. Ohlsson A, Shah PS. Paracetamol (acetaminophen) for patent ductus arteriosus in preterm or low-birth-weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2015; 11;3:CD010061.
164. Ohlsson A, Walia R, Shah S. Ibuprofen for the treatment of patent ductus arteriosus in preterm and/or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2008;23:CD003481.
165. Olson Ta, Levine RF, Mazur EM, Wright DG, Salvado AJ. Megakaryocytes and megakaryocyte progenitors in human cord blood. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1992;14:241-7.
166. Oncel MY, Yurttutan O, Erdeve N, Uras N, Altug S, Oguz S. Oral paracetamol versus oral ibuprofen in the management of patent ductus arteriosus in preterm infants: A randomized controlled trial. *J Pediatr* 2014;164:510-4.
167. Oncel MY, Yurttutan S, Degirmencioglu H, Uras N, Altug N, Erdeve O. et al. Intravenous paracetamol treatment in the management of patent ductus arteriosus in Extremely Low Birth Weight infants. *Neonatology* 2012;103:166-9.
168. Ossovskaya VS, Bunnet NW. Protease-Activated Receptors: Contribution to Physiology and Disease. *Physiol Rev* 2004;84: 579-621.
169. Pahal G, Jauniaux E, Kinnon C, Thrasher AJ, Rodeck CH. Normal development of human fetal hematopoiesis between eight and seventeen weeks' gestation. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183:1029-34.
170. Papile LA, Burstein J, Burstein R, Koffler H. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weights less than 1,500 gm. *J Pediatr* 1978;92:529-34.
171. Perez-Vizcaino F, Cogolludo A, Moreno L. Reactive oxygen species signaling in pulmonary vascular smooth muscle. *Respir Physiol Neurobiol* 2010;174:212-20.
172. Perrone S, Toti P, Toti MS, Badii S, Becucci E, Gatti MG. et al. Perinatal outcome and placental histological characteristics: a single-center study. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012;25:110-3.
173. Pezzati M, Vangi V, Biagiotti R, Bertini G, Cianciulli D, Rubaltelli FF. Effects of indomethacin and ibuprofen on mesenteric and renal blood flow in preterm infants with patent ductus arteriosus. *J Pediatr* 1999;135:733-8.
174. Pinto F, Cabrera VM, Gonzalez AM, Larruga JM, Noya A, Hernandez M. Human enzyme polymorphism in the Canary Islands. VI. Northwest African influence. *Hum Hered* 1994;44:156-6.
175. Rastogi S, Olmez I, Bhutada A, Rastogi D. Drop in platelet counts in extremely preterm neonates and its association with clinical outcomes. *J Pediatr Hematol Oncol* 2011;33:580-4.
176. Ratner I, Perelmuter B, Toews W, Whitfield J. Association of low systolic and diastolic blood pressure with significant patent ductus arteriosus in the very low birth weight infant. *Crit Care Med* 1985;13:497-500.
177. Reese J, Veldman A, Shah L, Vucovich M, Cotton RB. Inadvertent relaxation of the ductus arteriosus by pharmacologic agents that are commonly used in the neonatal period. *Semin Perinatol* 2010;34:222-30.

178. Riley RD, Lambert PC, Abo-Zaid G. Meta-analysis of individual participant data: rationale, conduct, and reporting. *BMJ* 2010;340:c221.
179. Rudolph AM, Heymann MA. The fetal circulation. *Annu Rev Med.* 1968;19:195-206.
180. Rudolph AM. The changes in the circulation after birth. Their importance in congenital heart disease. *Circulation* 1970;41:343-53.
181. Rudolph AM. The ductus arteriosus and persistent patency of the ductus arteriosus. En *Congenital Diseases of the Heart, clinical-physiological considerations*. 3Ed. San Francisco CA, USA; Wiley-Blackwell; 2009;118-145.
182. Sallmon H, Weber SC, Huning B, Stein A, Horn PA, Metze BC. et al. Thrombocytopenia in the first 24 hours after birth and incidence of patent ductus arteriosus. *Pediatrics* 2012;130:623-30.
183. Sallmon H, Weber SC, von Gise A, Koehne P, Hansmann G. Ductal closure in neonates: a developmental perspective on platelet-endothelial interactions. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2011;22:242-4.
184. Schena F, Ciarmoli E, Mosca F. Patent ductus arteriosus: wait and see? *J Matern Fetal Neonatal Med* 2011;24:2-4.
185. Schmidt B, Davis P, Moddemann D, Ohlsson A, Roberts RS, Saigal S. Trial of Indomethacin Prophylaxis in Preterms Investigators. Long-term effects of indomethacin prophylaxis in extremely-low-birth-weight infants. *N Engl J Med* 2001;344:1966-72.
186. Schneider DJ, Moore JW. Patent Ductus Arteriosus. *Circulation* 2006; 114:1873-82.
187. Schneider DJ. The patent ductus arteriosus in term infants, children, and adults. *Semin Perinatol* 2012;36:146-53.
188. Schuurman MJ, Villamor E. Endothelium-dependent contraction induced by acetylcholine in the chicken ductus arteriosus involves cyclooxygenase-1 activation and TP receptor stimulation. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2010;157:28-34.
189. Sedgwick P. Retrospective cohort studies: advantages and disadvantages. *Bmj* 2014;348:1072.
190. Sehgal A, McNamara PJ. The Ductus arteriosus: a refined approach. *Semin Perinatol* 2012;36:105-13.
191. Shah NA, Hills NK, Waleh N, McCurnin D, Seidner S, Chemtob S. et al. Relationship between circulating platelet counts and ductus arteriosus patency after indomethacin treatment. *J Pediatr* 2011;158:919-23.
192. Shattil SJ, Newman PJ. Integrins: dynamic scaffolds for adhesion and signaling in platelets. *Blood* 2004;104:1606-15.
193. Sheffield MJ, Schmutz N, Lamber DK, Henry E, Christensen RD. Ibuprofen lysine administration to neonates with a patent ductus arteriosus: effect on platelet plug formation assessed by in vivo and in vitro measurements. *J Perinatol* 2009;28:39-43.
194. Sitaru AG, Holzhauer S, Speer CP, Singer D, Obergfell A, Walter U. et al. Neonatal platelets from cord blood and peripheral blood. *Platelets* 2005;16:203-10.
195. Skelton R, Evans N, Smythe J. A blinded comparison of clinical and echocardiographic evaluation of the preterm infant for patent ductus arteriosus. *J Paediatr Child Health* 1994;30:406-11.
196. Skinner J. Diagnosis of patent ductus arteriosus. *Semin Neonatol* 2001;6:49-61
197. Smith CL. And Kissack CM. Patent ductus arteriosus: time to grasp the nettle? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2012;98:269-71.

## Bibliografía

198. Smith GC. The pharmacology of the ductus arteriosus. *Pharmacol Rev* 1998;50:35-58.
199. Sola-Visner M. Platelets in the neonatal period: developmental differences in platelet production, function, and hemostasis and the potential impact of therapies. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012;2012:506-11.
200. Soraisham AS, Singhal N, McMillan DD, Sauve RS, Lee SK, Canadian Neonatal N. A multicenter study on the clinical outcome of chorioamnionitis in preterm infants. *Am J Obstet Gynecol* 2009;200:372-6.
201. Sosenko IR, Florencia Fajardo M, Claire N, Bancalari E. Timing of patent ductus arteriosus treatment and respiratory outcome in premature infants: a double-blind randomized controlled trial. *J Pediatr* 2012;160:929-35.
202. Sparger K, Deschmann E, Sola-Visner M. Platelet Transfusions in the Neonatal Intensive Care Unit. *Clin Perinatol* 2015;42:613-23.
203. Stanworth SJ, Clarke P, Watts T, Ballard S, Choo L, Morris T. et al. Prospective, observational study of outcomes in neonates with severe thrombocytopenia. *Pediatrics* 2009;124:826-34.
204. Stoll BJ, Gordon T, Korones SB, Shankaran S, Tyson JE, Bauer CR. et al. Early-onset sepsis in very low birth weight neonates: a report from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *J. Pediatr* 1996a;129:72-80.
205. Stoll BJ, Gordon T, Korones SB, Shankaran S, Tyson JE, Bauer CR. et al. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: a report from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *J. Pediatr* 1996b;129:63-71.
206. Stoller JZ, DeMauro SB, Dagle JM, Reese J. Current Perspectives on Pathobiology of the Ductus Arteriosus. *J Clin Exp Cardiol* 2012;8:S8-001.
207. Thébaud B, Wu XC, Kajimoto H., Bonnet S., Hashimoto K., Michelakis ED. et al. Development absence of the O<sub>2</sub> sensitivity of L-type calcium channels in preterm ductus arteriosus smooth muscle cells impairs O<sub>2</sub> constriction contributing to patent ductus arteriosus. *Pediatr Res* 2008;63:176-81.
208. Tomiyama Y, Tsubakio T, Piotrowicz RS, Kurata Y, Loftus JC, Kunicki TJ. The Arg-Gly-Asp (RGD) recognition site of platelet glycoprotein IIb-IIIa on nonactivated platelets is accessible to high-affinity macromolecules. *Blood* 1992;79:2303-12.
209. Tristani-Firouzi M, Reeve HL, Tolarova S, Weir EK, Archer SL. Oxygen-induced constriction of rabbit ductus arteriosus occurs via inhibition of a 4-aminopyridine-, voltage-sensitive potassium channel. *J Clin Invest* 1996;98:1959-65.
210. Van de Bor M, Verloove-Vanhorick S, Brand R, Ruys J. Patent ductus arteriosus in a cohort of 1338 preterm infants: a collaborative study. *Paediatr Perinat Epidemiol* 1998;2:328-36.
211. Van den Hof MC, Nicolaidis KH. Platelet count in normal, small, and anemic fetuses. *Am J Obstet Gynecol* 1990;162:735-9.
212. Van der Sterren S, Agren P, Zoer B, Kessels L, Blanco CE, Villamor E. Morphological and functional alterations of the ductus arteriosus in a chicken model of hypoxia-induced fetal growth retardation. *Pediatr Res* 2009;65:279-84.
213. Van der Sterren S, Villamor E. Contractile effects of 15-E<sub>2</sub>t-isoprostane and 15-F<sub>2</sub>t-isoprostane on chicken embryo ductus arteriosus. *Comp Biochem Physiol, Part A Mol Integr Physiol* 2011; 159:436-44.

214. Van der Sterren S, Kleikers P, Zimmermann LJ, Villamor E. Vasoactivity of the gasotransmitters hydrogen sulfide and carbon monoxide in the chicken ductus arteriosus. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2011;301:1186-98.
215. Van Overmeire B, Smets K, Lecoutere D, Van de Broek H, Weyler J, Degroote K. A comparison of ibuprofen and indomethacin for closure of patent ductus arteriosus. *N Engl J Med* 2000;343:674-81.
216. Van Zogchel L, Villamor E. O-032 Serotonin Is A Selective Vasoconstrictor Of Chicken Embryo Ductus Arteriosus. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2014;99:A34.
217. Vermillion ST, Scardo JA, Lashus AG, Wiles HB. The effect of indomethacin tocolysis on fetal ductus arteriosus constriction with advancing gestational age. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177:259-61.
218. Villa E, Vanden Eynden F, Le Bret E, Folliguet T, Laborde F. Paediatric video-assisted thoracoscopic clipping of patent ductus arteriosus: experience in more than 700 cases. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004;25:387-93.
219. Vogel SM, Gao X, Mehta D, Ye RD, John TA, Andrade-Gordon P. et al. Abrogation of thrombin-induced increase in pulmonary microvascular permeability in PAR-1 knockout mice. *Physiol Genomics* 2000;18:137-45.
220. Vucovich MM, Cotton RB, Shelton EL, Goettel JA, Ehinger NJ, Poole SD. et al. Aminoglycoside-mediated relaxation of the ductus arteriosus in sepsis-associated PDA. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2014;307:732-40.
221. Wasiluk A, Mantur M, Szczepanski M, Kemonia H, Baran E, Kemonia- Chetnik I. The effect of gestational age on platelet surface expression of CD62P in preterm newborns. *Platelets* 2008;19:236-8.
222. Watson SP, Herbert MJ, Pollitt AY. GPVI and CLEC-2 in hemostasis and vascular integrity. *J Thromb Haemost* 2010;8:1456-67.
223. Weir EK, Lopez-Barneo J, Buckler KJ, Archer SL. Acute oxygen-sensing mechanisms. *N Engl J Med* 2005;353:2042-55.
224. Weir EK, Obrezhtchikova M, Vargese A, Cabrera JA, Peterson DA and Hong Z. Mechanisms of oxygen sensing: a key to therapy of pulmonary hypertension and patent ductus arteriosus. *Br J Pharmacol* 2008;155:300-7.
225. Wells GA, Shea B, O'Connell D, Peterson J, Welch V, Losos M. The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of non randomized studies in meta-analyses.  
Disponibile en: [http://www.ohri.ca/programs/clinical\\_epidemiology/oxford.asp](http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp)
226. Wiedmeier SE, Henry E, Sola-Visner MC, Christensen RD. Platelet reference ranges for neonates, defined using data from over 47 000 patients in a multihospital healthcare system. *J Perinatol* 2009; 29:130-6.
227. Williams MS, Weiss EJ, Sabatine MS, Simon DI, Bahou WF, Becker LC. et al. Genetic regulation of platelet receptor expression and function: application in clinical practice and drug development. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010;30: 2372-84.
228. Wong SN, Lo RN, Hui PW. Abnormal renal and splanchnic arterial Doppler pattern in preamture babies with symptomatic patent ductus arteriosus. *J Ultrasound Med* 1990;9:125-30.
229. Yurttutan S, Oncel MY, Arayici S, Uras N, Altug N, Erdevi O. et al. A different first choice drug in the medical management of patent ductus arteriosus: oral paracetamol. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2013;26:825-7.

## Bibliografia

230. Zonnenberg I, de Waal K. The definition of a haemodynamic significant duct in randomized controlled trials: a systematic literature review. *Acta Paediatr* 2012;101:247-51.
231. Zucker-Franklin D. Platelet structure and function. En *Thrombopoiesis and Thrombopoietins: Molecular, Cellular, Preclinical, and Clinical biology*. Kuter DJ, Hunt P, Sheridan, Zucker-Franklin D. Totowa NJ Ed. Humana Press;1997:41-62.
232. Zucker-Franklin D. The relationship of alpha granules to the membrane systems of platelets and megakaryocytes. *Blood cells* 1989;15:73-9.

## **ANEXOS**





## ANEXO I: Escala de Newcastle-Otawa.

### QUALITY ASSESSMENT SCALE COHORT STUDIES

Note: A study can be awarded a maximum of one star for each numbered item within the Selection and Outcome categories. A maximum of two stars can be given for Comparability

#### Selection

- 1) Representativeness of the exposed cohort
  - a) truly representative of the average \_\_\_\_\_ (describe) in the community Ø b) somewhat representative of the average \_\_\_\_\_ in the community Ø
  - c) selected group of users eg nurses, volunteers
  - d) no description of the derivation of the cohort
  
- 2) Selection of the non exposed cohort
  - a) drawn from the same community as the exposed cohort Ø b) drawn from a different source
  - c) no description of the derivation of the non exposed cohort
  
- 3) Ascertainment of exposure
  - a) secure record (eg surgical records) Ø b) structured interview Ø
  - c) written self report
  - d) no description
  
- 4) Demonstration that outcome of interest was not present at start of study a) yes Ø
  - b) no

#### Comparability

- 1) Comparability of cohorts on the basis of the design or analysis
  - a) study controls for \_\_\_\_\_ (select the most important factor) Ø
  - b) study controls for any additional factor Ø (This criteria could be modified to indicate specific control for a second important factor.)

#### Outcome

- 1) Assessment of outcome
  - a) independent blind assessment Ø b) record linkage Ø
  - c) self report
  - d) no description
  
- 2) Was follow-up long enough for outcomes to occur
  - a) yes (select an adequate follow up period for outcome of interest) Ø b) no
  
- 3) Adequacy of follow up of cohorts
  - a) complete follow up - all subjects accounted for Ø
  - b) subjects lost to follow up unlikely to introduce bias - small number lost - > \_\_\_\_ % (select an adequate %) follow up, or description provided of those lost)c) follow up rate < \_\_\_\_ % (select an adequate %) and no description of those lost d) no statement

## ANEXO II: Estadística de las metarregresiones.

Mixed effects regression (method of moments)						
	Point estimate	Standard error	Lower limit	Upper limit	Z-value	p-Value
<b>Slope</b>	-0.00024	0.00010	-0.00042	-0.00005	-2.46041	0.01388
<b>Intercept</b>	0.32491	0.07550	0.17694	0.47288	4.30364	0.00002
<b>Tau-squared</b>	0.00473					
	<b>Q</b>	<b>df</b>	<b>p-value</b>			
<b>Model</b>	6.05362	1.00000	0.01388			
<b>Residual</b>	3.78768	4.00000	0.43550			
<b>Total</b>	9.84131	5.00000	0.07986			

II.1 Estadística correspondiente a la metarregresión mostrada en la Figura 11, que relaciona número de niños con riesgo de presentar DAP con número de plaquetas  $<150 \times 10^9/L$ .

Mixed effects regression (method of moments)						
	Point estimate	Standard error	Lower limit	Upper limit	Z-value	p-Value
<b>Slope</b>	0.26534	0.10379	0.06191	0.46877	2.55643	0.011
<b>Intercept</b>	-7.25836	2.93621	-13.01322	-1.50351	-2.47202	0.011
<b>Tau-squared</b>	0.00000					
	<b>Q</b>	<b>df</b>	<b>p-value</b>			
<b>Model</b>	6.53531	1.00000	0.01058			
<b>Residual</b>	0.21601	3.00000	0.97496			
<b>Total</b>	6.75133	4.00000	0.14963			

II.2 Estadística correspondiente a la metarregresión mostrada en la Figura 14, que relaciona edad gestacional con riesgo de presentar DAP con número de plaquetas  $<100 \times 10^9/L$ .

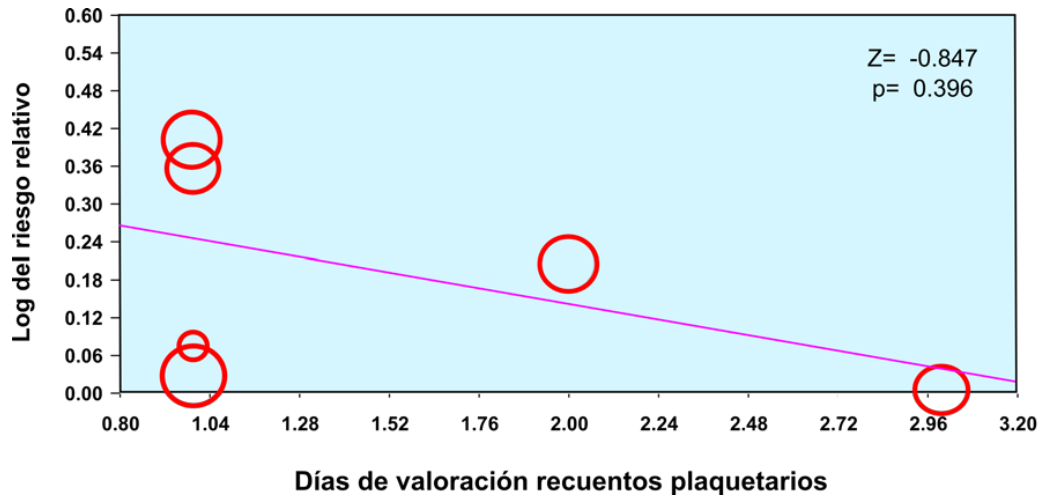
Mixed effects regression (method of moments)						
	Point estimate	Standard error	Lower limit	Upper limit	Z-value	p-Value
<b>Slope</b>	0.00247	0.00096	0.00059	0.00434	2.58016	0.00988
<b>Intercept</b>	-2.40529	1.02966	-4.42338	-0.38719	-2.33600	0.01949
<b>Tau-squared</b>	0.00000					
	Q	df	p-value			
<b>Model</b>	6.65720	1.00000	0.00988			
<b>Residual</b>	0.09412	3.00000	0.99253			
<b>Total</b>	6.75133	4.00000	0.14963			

II.3 Estadística correspondiente a la metarregresión mostrada en la Figura 18, que relaciona edad gestacional con riesgo de presentar DAP con número de plaquetas  $<100 \times 10^9/L$ .

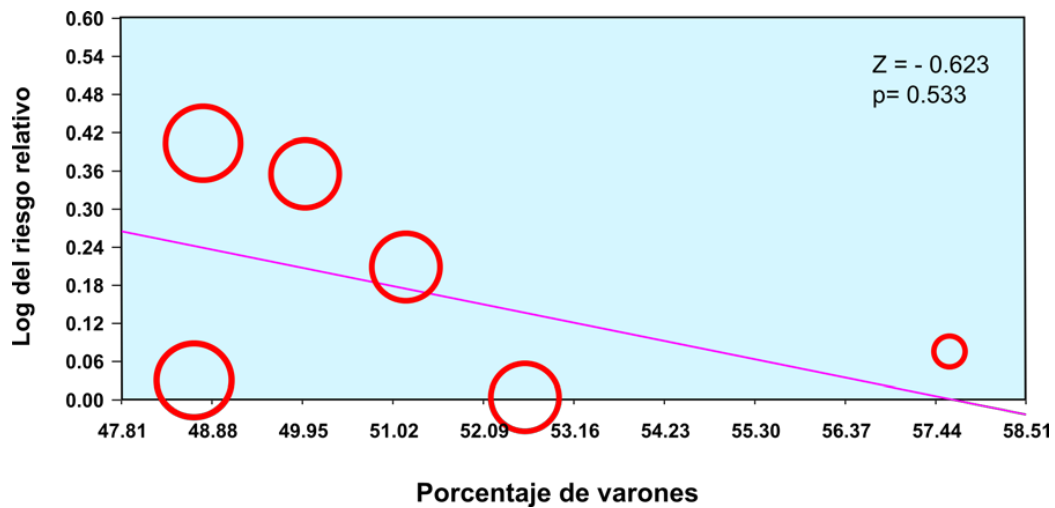
Mixed effects regression (method of moments)						
	Point estimate	Standard error	Lower limit	Upper limit	Z-value	p-Value
<b>Slope</b>	-0.08419	0.04261	-0.16770	-0.00068	-1.97601	0.04815
<b>Intercept</b>	4.40525	2.11439	0.26112	8.54939	2.08346	0.03721
<b>Tau-squared</b>	0.01180					
	Q	df	p-value			
<b>Model</b>	3.90461	1.00000	0.04815			
<b>Residual</b>	2.97880	3.00000	0.39490			
<b>Total</b>	6.88341	4.00000	0.14218			

II.4. Estadística correspondiente a la metarregresión mostrada en la Figura 27, que relaciona porcentaje de varones con riesgo de presentar DAP-HS con número de plaquetas  $<100 \times 10^9/L$ .

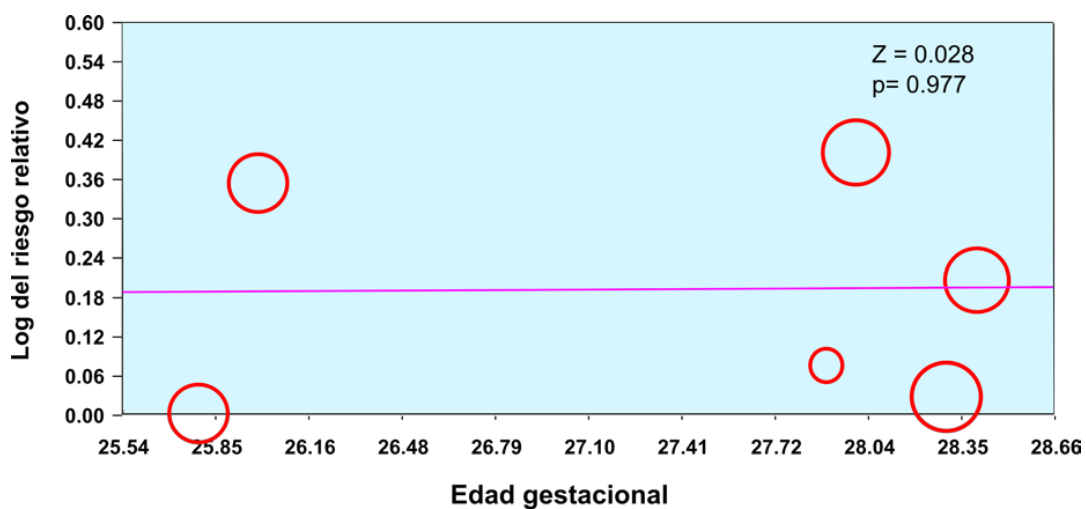
**Anexo III. Figuras de las metarregresiones que analizan DAP con plaquetas  $< 150 \times 10^9/L$**



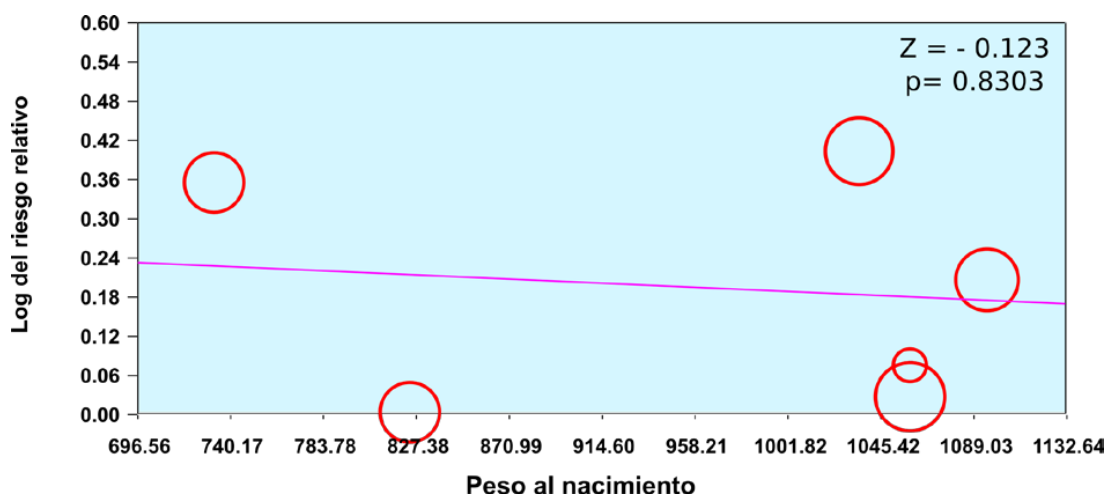
**Figura 25.** Gráfico de burbujas que muestra el análisis de metarregresión (modelo de efectos aleatorios) entre el rango de días de valoración de los recuentos plaquetarios y el riesgo de presentar un DAP con plaquetas  $< 150 \times 10^9/L$  en los primeros días de vida.



**Figura 26.** Gráfico de burbujas que muestra la relación entre el porcentaje de varones y el riesgo de presentar DAP con plaquetas  $< 150 \times 10^9/L$  en los primeros días de vida.

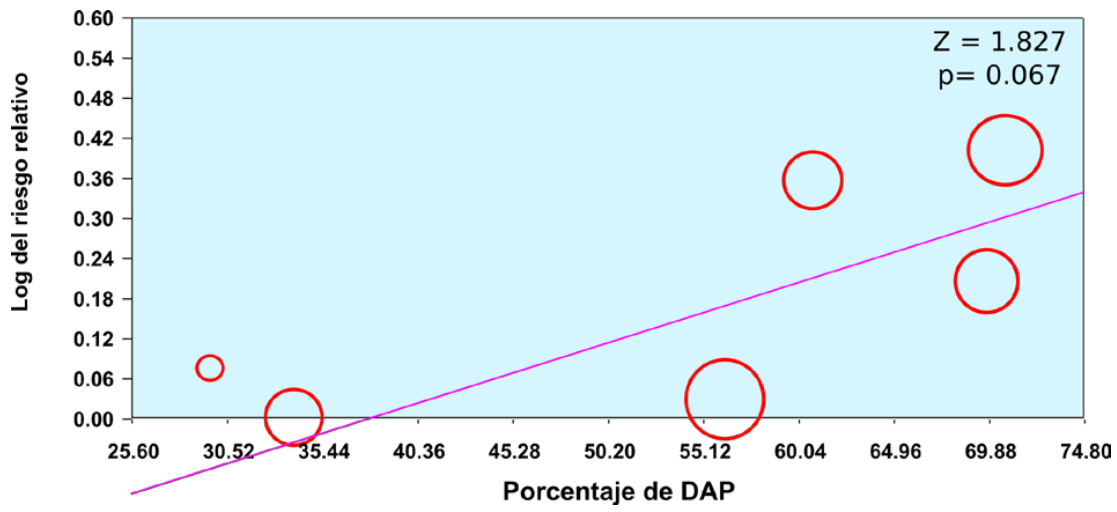


**Figura 27.** Gráfico de burbujas que analiza la relación entre la edad gestacional de los pacientes incluidos en el estudio y el riesgo de presentar un DAP con plaquetas  $< 150 \times 10^9/L$  en los primeros días de vida.

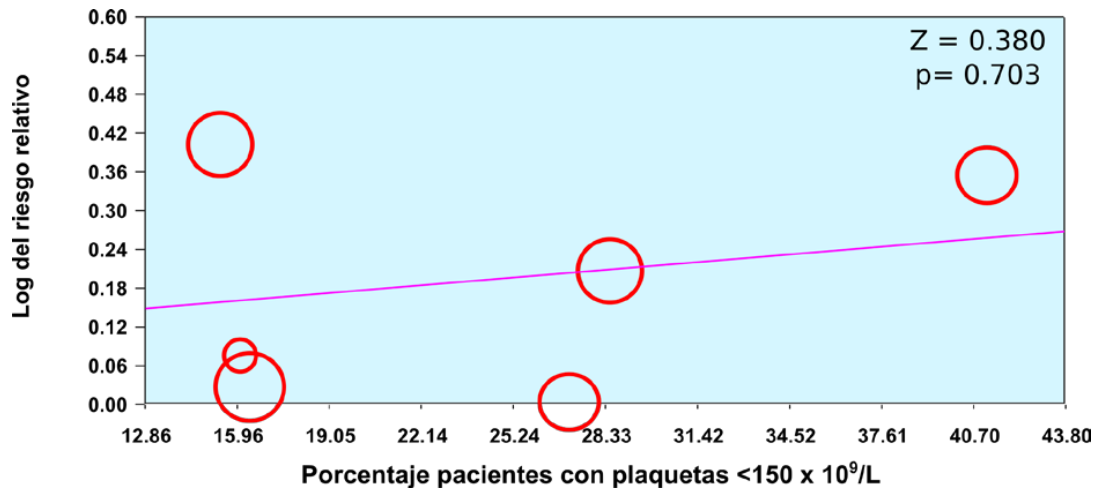


**Figura 28.** Gráfico de burbujas que analiza peso al nacimiento de de los pacientes incluidos en el estudio frente a riesgo de presentar DAP con plaquetas  $< 150 \times 10^9/L$  en los primeros días de vida.

Anexos

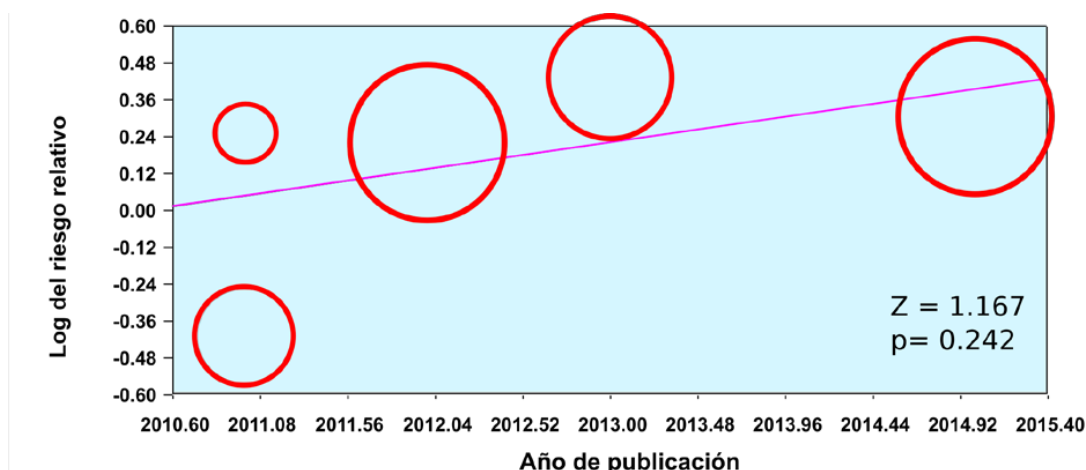


**Figura 29.** Gráfico de burbujas que analiza porcentaje de pacientes con DAP de los pacientes incluidos en el estudio y riesgo de presentar DAP con plaquetas  $< 150 \times 10^9/L$  en los primeros días de vida.

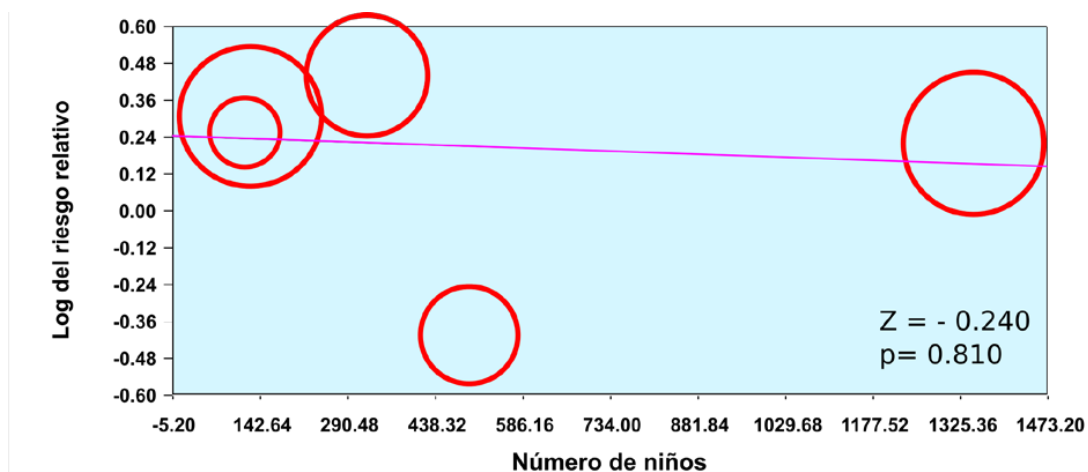


**Figura 30.** Gráfico de burbujas que analiza porcentaje de niños con plaquetas  $< 150 \times 10^9/L$ , y el riesgo de presentar DAP con plaquetas  $< 150 \times 10^9/L$  en los primeros días de vida

### Anexo IV. Figuras de las metarregresiones que analizan DAP con plaquetas $< 100 \times 10^9/L$

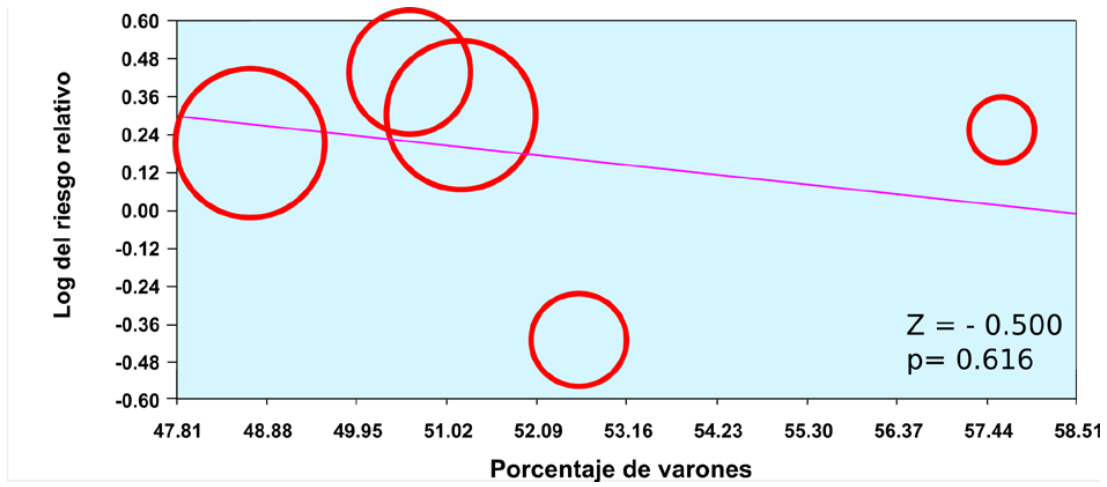


**Figura 31.** Gráfico de burbujas que analiza el año de publicación del artículo con el riesgo de de presentar DAP con plaquetas  $< 100 \times 10^9/L$  en los primeros días de vida.

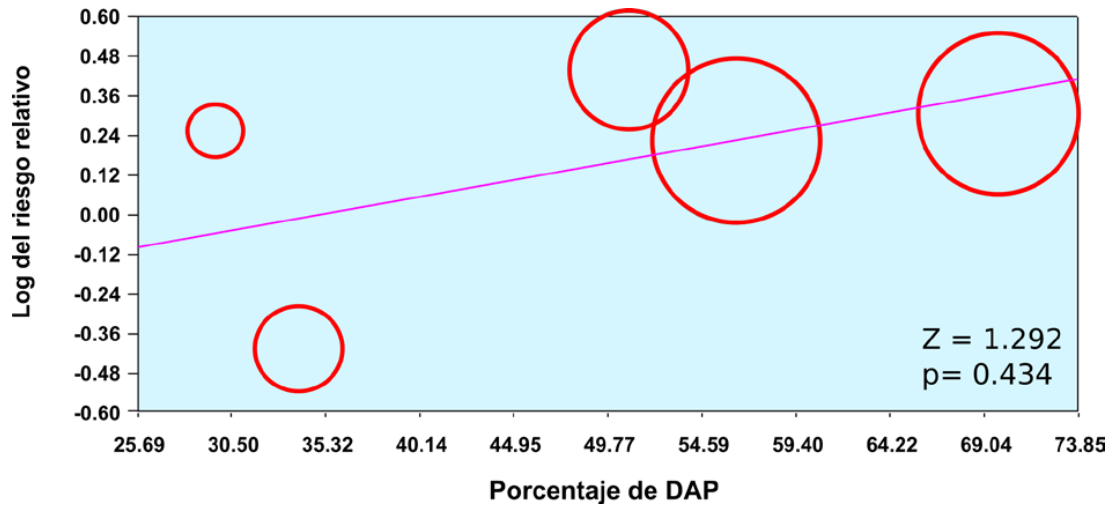


**Figura 32.** Gráfico de burbujas que analiza el número de niños incluidos en el estudio con el riesgo de de presentar DAP con plaquetas  $< 100 \times 10^9/L$  en los primeros días de vida.

Anexos

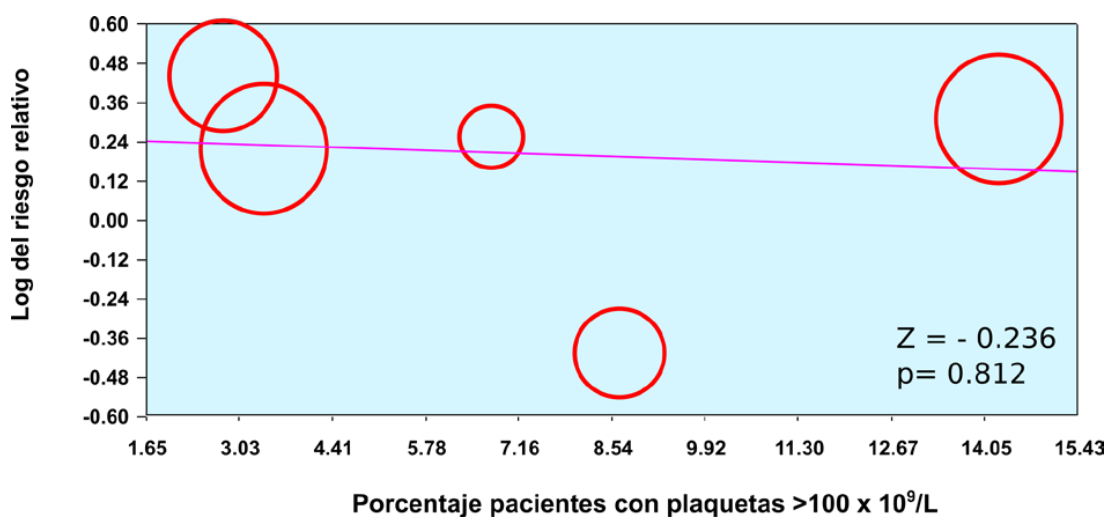


**Figura 33.** Gráfico de burbujas que muestra el análisis de metarregresión entre el porcentaje de varones y el riesgo de presentar un DAP con plaquetas  $< 150 \times 10^9/L$  en los primeros días de vida.

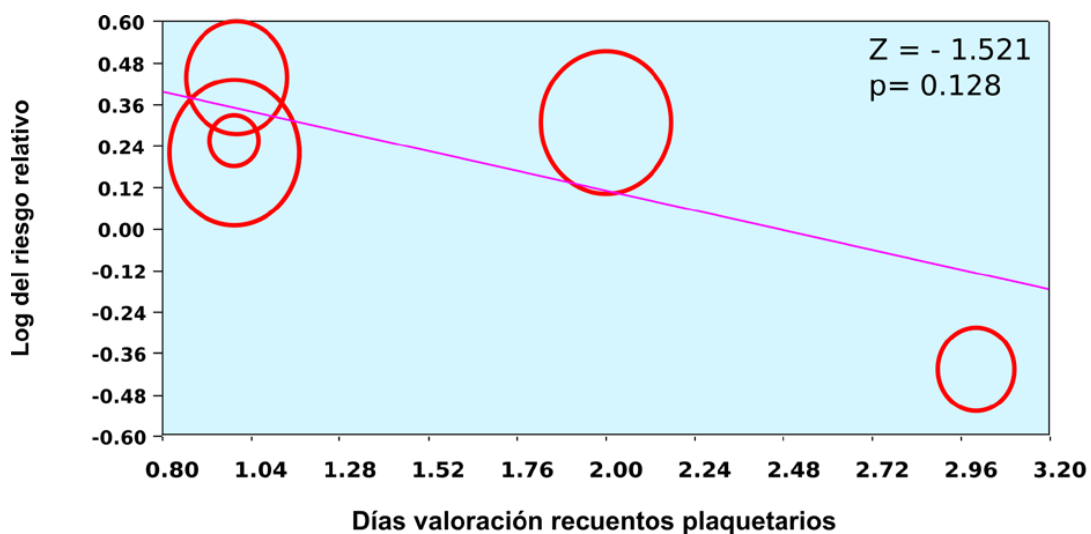


**Figura 34.** Gráficos de burbujas que muestra análisis de metarregresión de la relación entre el porcentaje de DAP y el riesgo de presentar DAP con plaquetas  $< 100 \times 10^9/L$  en los primeros días de vida.



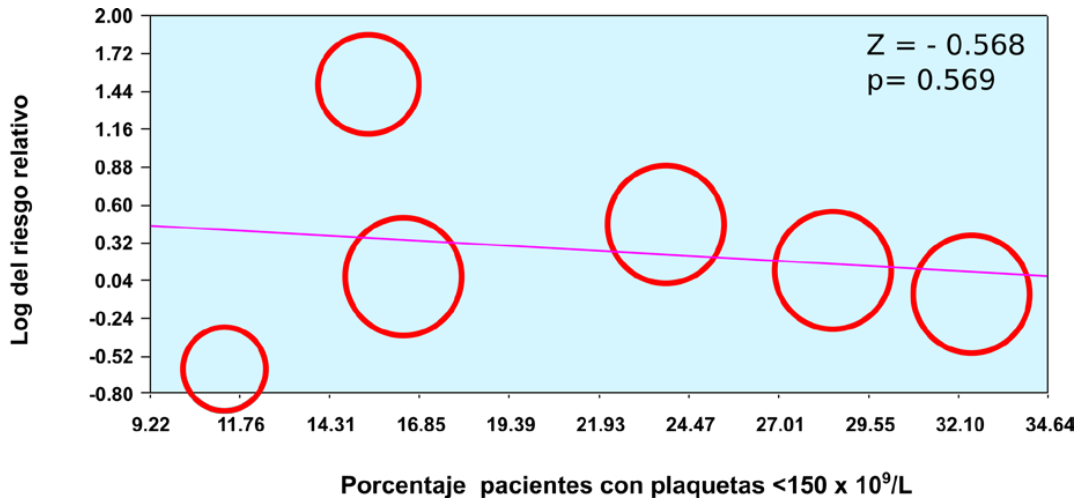


**Figura 35.** Gráfico de burbujas que muestra análisis de metarregresión de la relación entre el porcentaje de pacientes con plaquetas  $< 100 \times 10^9/L$  y el riesgo de presentar DAP con plaquetas  $< 100 \times 10^9/L$  en los primeros días.

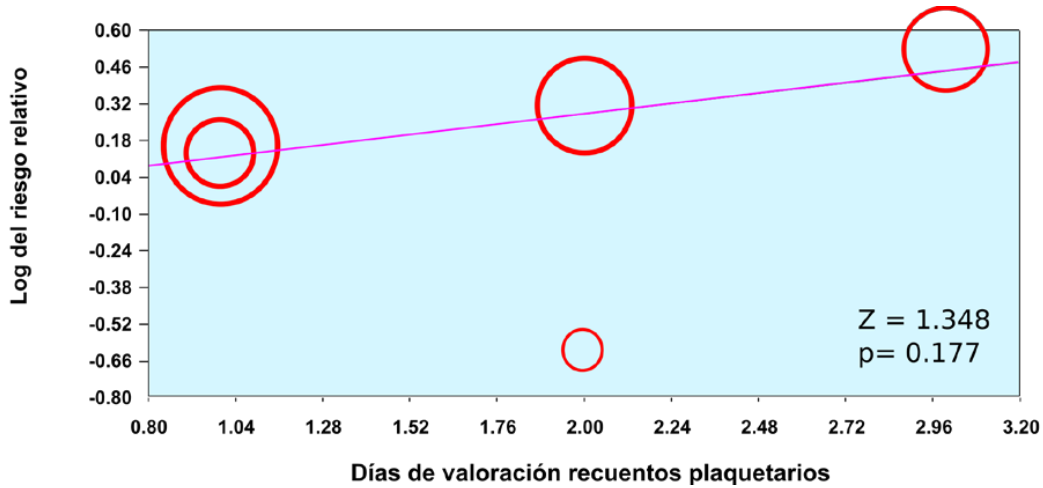


**Figura 36.** Gráfico de burbujas que analiza el rango de días para la valoración de los recuentos plaquetarios y el riesgo de presentar un DAP con plaquetas  $< 100 \times 10^9/L$  en los primeros días de vida.

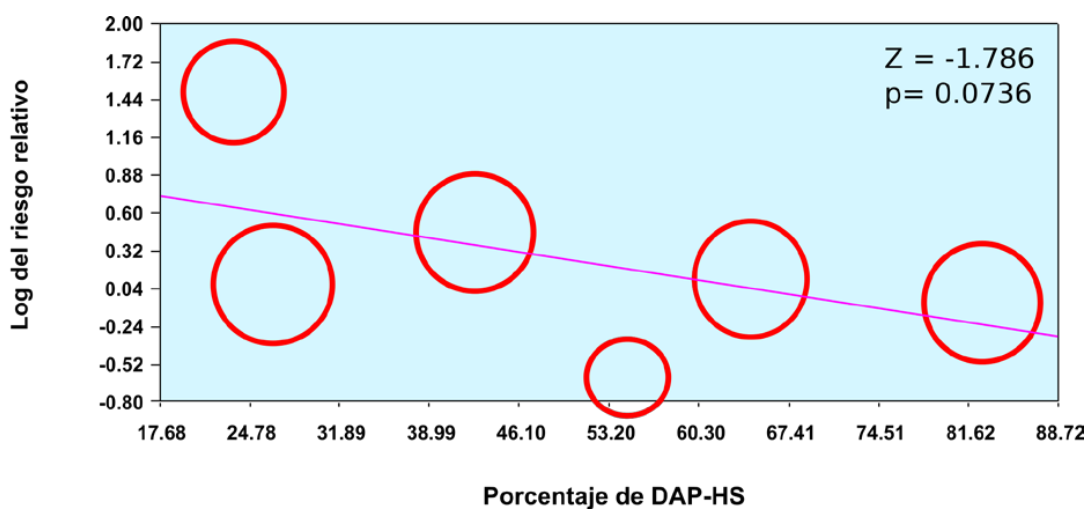
**Anexo V. Figuras de las metarregresiones que analizan DAP-HS con plaquetas <math> < 150 \times 10^9/L </math>**



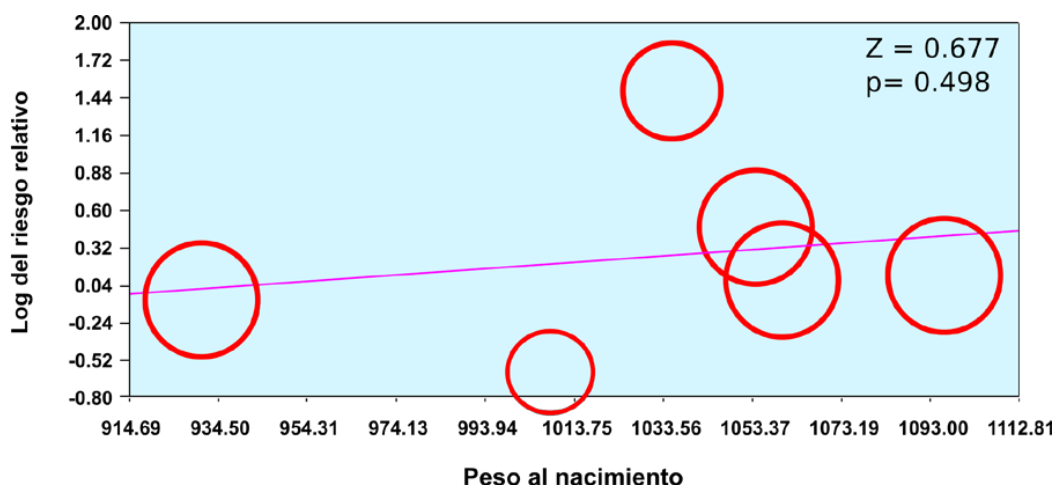
**Figura 37.** Gráfico de burbujas que muestra análisis de metarregresión de la relación entre el porcentaje de pacientes con plaquetas  $< 150 \times 10^9/L$  y el riesgo de presentar DAP HS con plaquetas  $< 150 \times 10^9/L$  en los primeros días.



**Figura 38.** Gráfico de burbujas que muestra análisis de metarregresión de la relación entre la media de días de valoración de los recuentos plaquetarios y el riesgo de presentar DAP-HS con plaquetas  $< 150 \times 10^9/L$  en los primeros días.

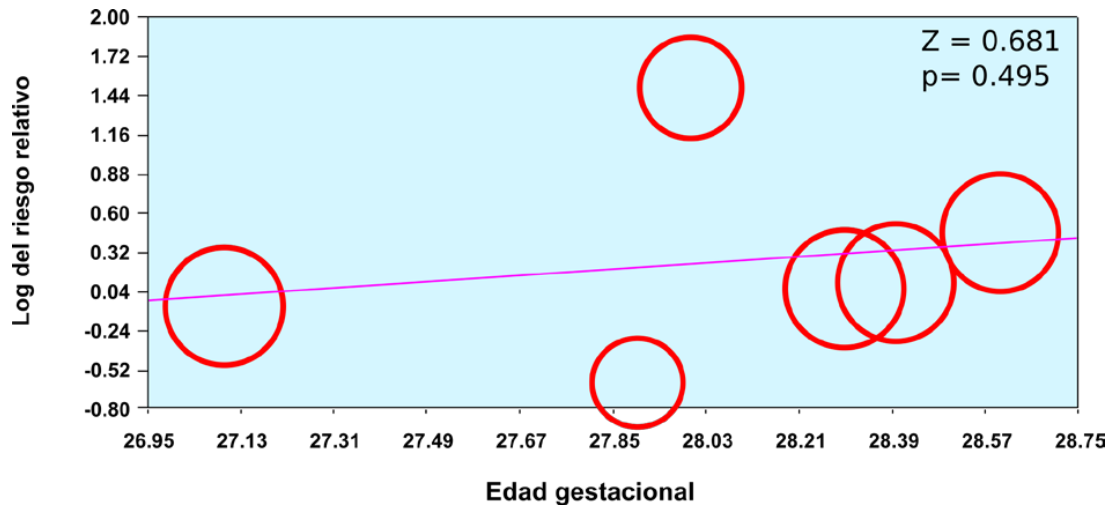


**Figura 39.** Gráfico de burbujas que analiza porcentaje de pacientes con DAP-HS de la muestra y riesgo de presentar DAP-HS con plaquetas  $< 150 \times 10^9/L$  en los primeros días de vida.

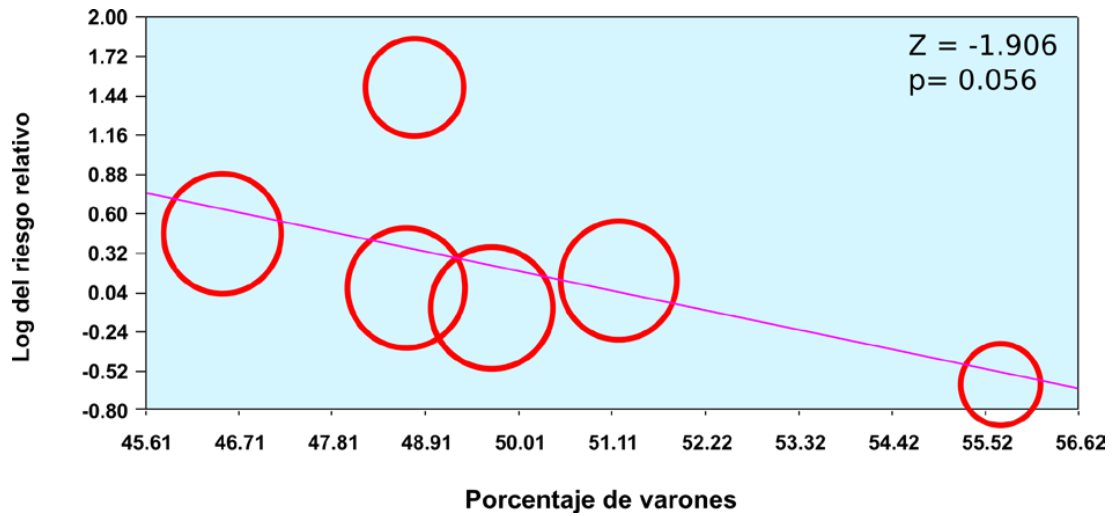


**Figura 40.** Gráfico de burbujas que muestra análisis de metarregresión de la relación entre la media del peso al nacimiento de la muestra y el riesgo de presentar DAP-HS con plaquetas  $< 150 \times 10^9/L$  en los primeros días de vida.

Anexos

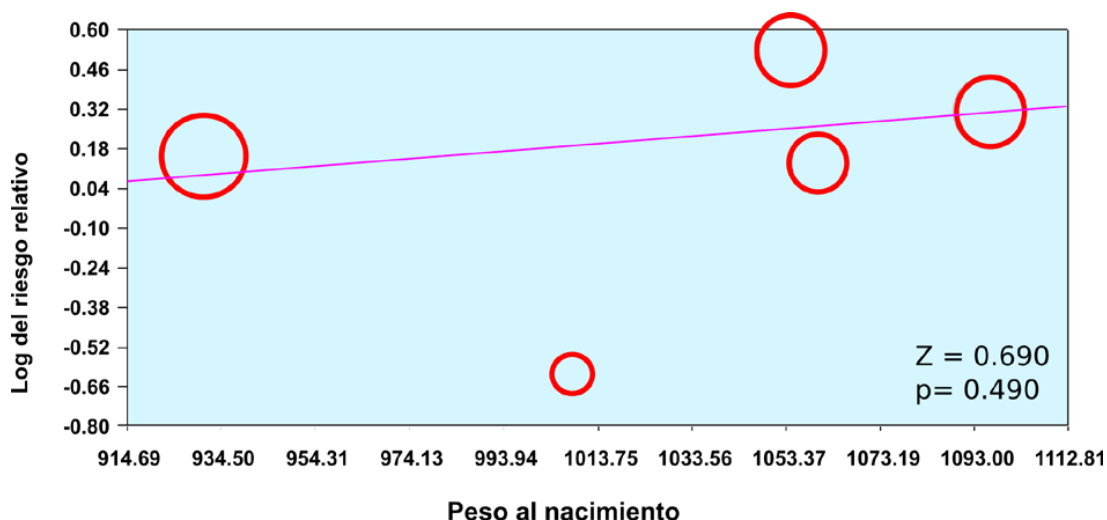


**Figura 41.** Gráficos de burbujas que muestra análisis de metarregresión de la relación entre la edad gestacional media de la muestra y el riesgo de presentar DAP-HS con plaquetas  $< 150 \times 10^9/L$  en los primeros días de vida

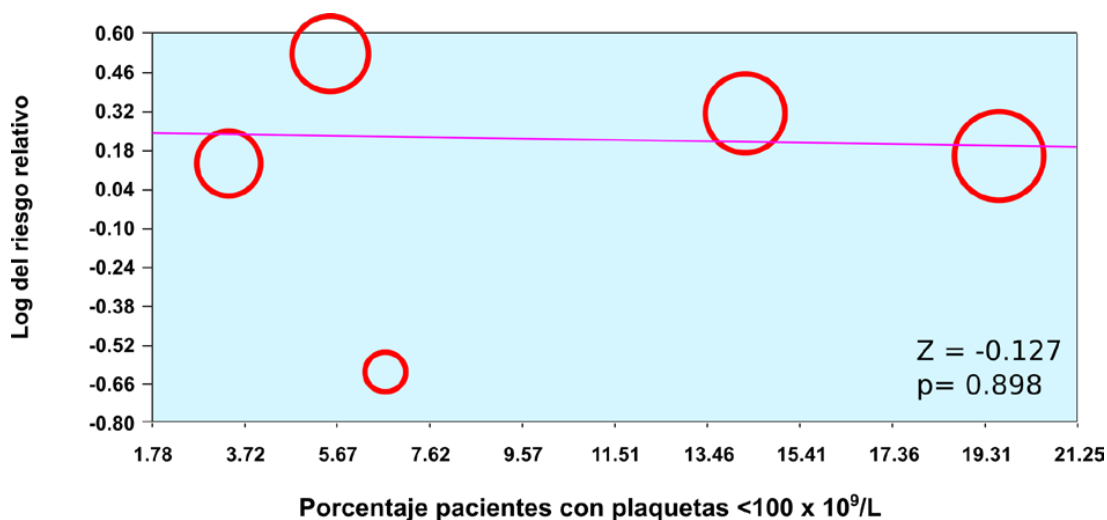


**Figura 42.** Gráfico de burbujas que analiza porcentaje de varones incluidos en el estudio y el riesgo de presentar DAP-HS con plaquetas  $< 150 \times 10^9/L$  en los primeros días de vida.

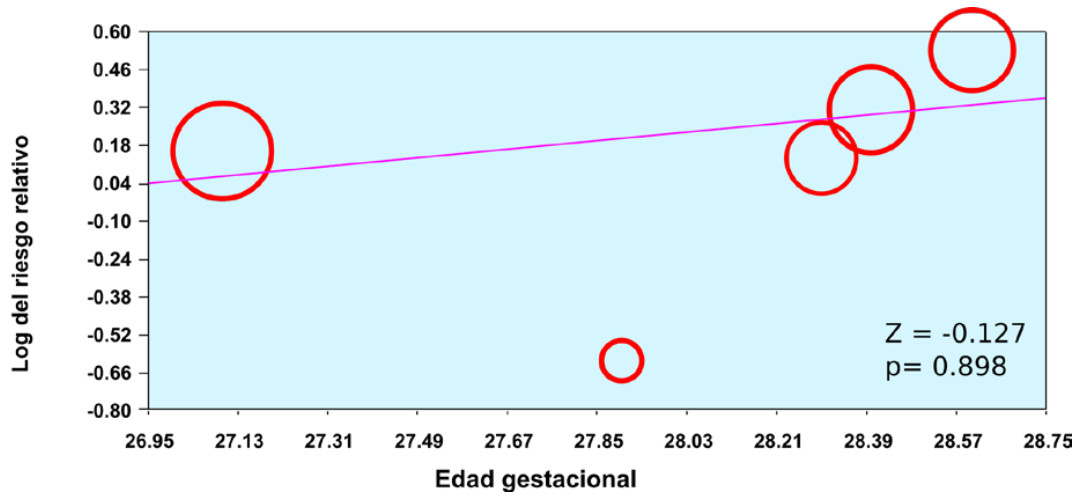
**Anexo VI. Figuras de las metarregresiones que analizan DAP- HS con plaquetas < 100 x 10<sup>9</sup>/L**



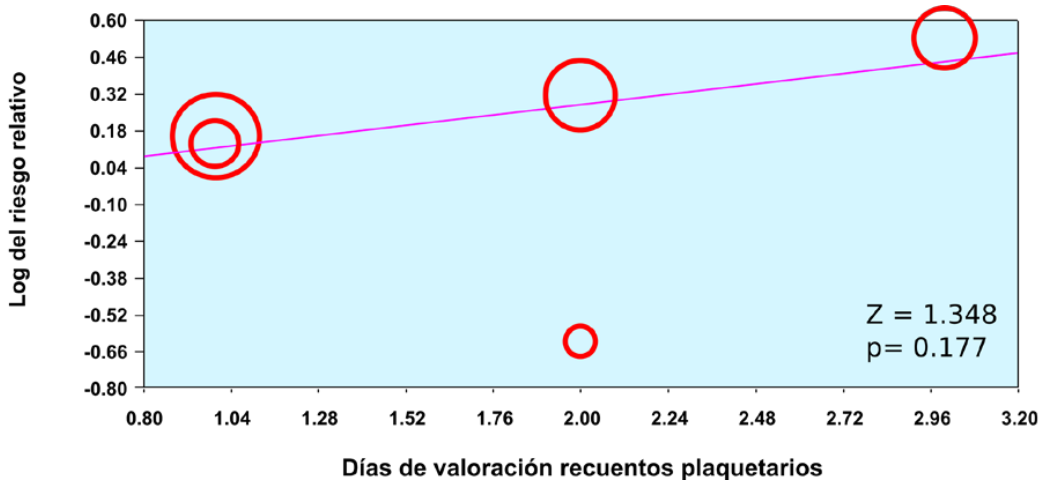
**Figura 43.** Gráficos de burbujas que muestra análisis de metarregresión de la relación entre el peso medio de la muestra y el riesgo de presentar DAP-HS con plaquetas < 100 x 10<sup>9</sup>/L en los primeros días de vida.



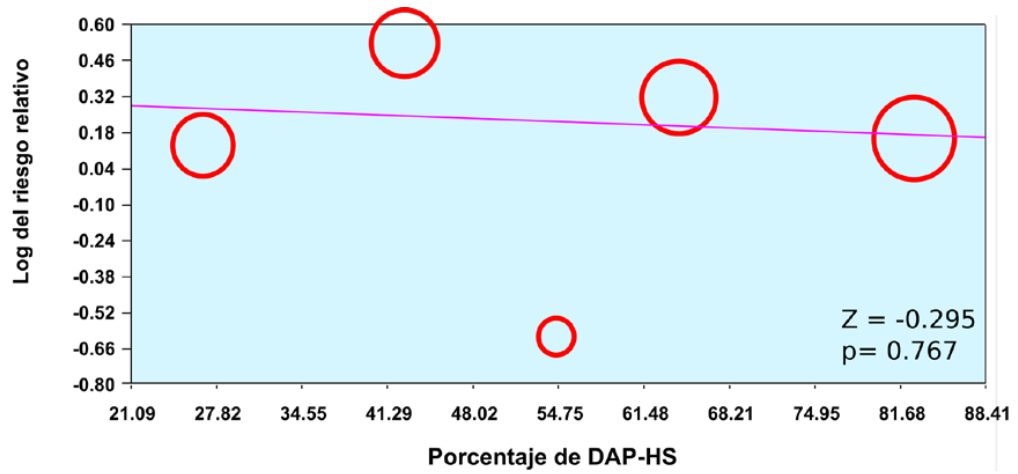
**Figura 44.** Gráfico de burbujas que analiza el porcentaje de niños con plaquetas < 100 x 10<sup>9</sup>/L frente a riesgo de presentar DAP-HS con plaquetas < 100 x 10<sup>9</sup>/L en los primeros días de vida.



**Figura 45.** Gráficos de burbujas que muestra análisis de metarregresión de la relación entre la edad gestacional media de la muestra y el riesgo de presentar DAP HS con plaquetas < 100 x 10<sup>9</sup>/L en los primeros días de vida.

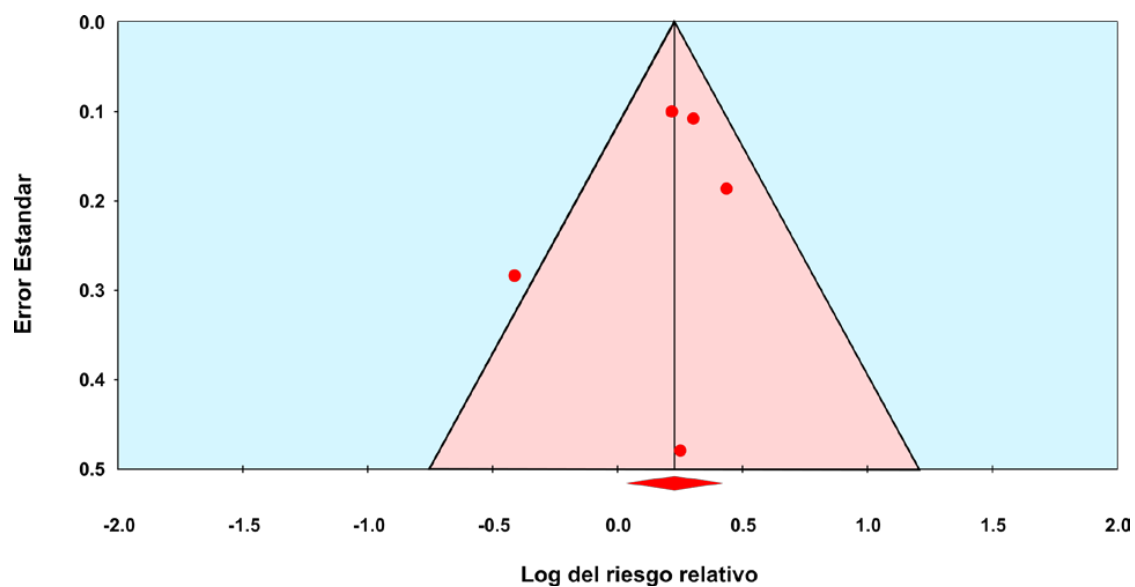


**Figura 46.** Gráfico de burbujas que muestra análisis de metarregresión de la relación entre el rango de días para la valoración de los recuentos plaquetarios y el riesgo de presentar DAP-HS con plaquetas < 100 x 10<sup>9</sup>/L en los primeros días de vida.



**Figura 47.** Gráficos de burbujas que analiza porcentaje de pacientes con DAP-HS de la muestra y el riesgo de presentar DAP-HS con plaquetas  $< 100 \times 10^9/L$  en los primeros días de vida.

**ANEXO VII.**

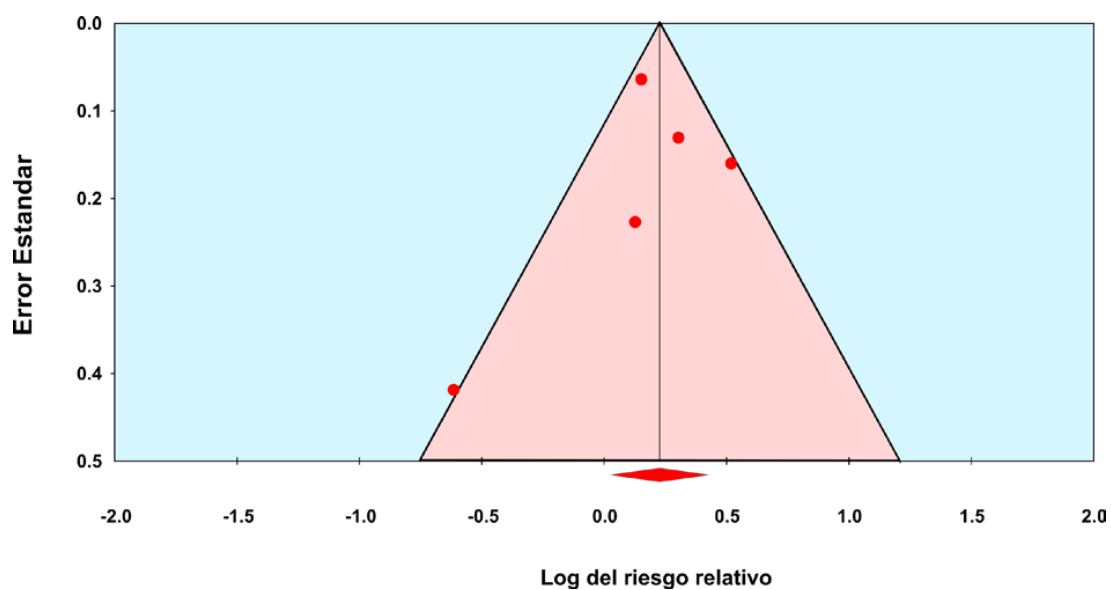


**Figura 48.** Gráfico de embudo (funnel plot) que muestra la presentación de los artículos que relacionan DAP y trombocitopenia en forma de embudo invertido (gráfico de Light y Pillemer). Los círculos representan los artículos. Debajo se representa el estadístico test de Edger.

**Egger's regression intercept**

Intercept	-0.92001
Standard error	1.36880
95% lower limit (2-tailed)	-5.27614
95% upper limit (2-tailed)	3.43611
t-value	0.67213
df	3.00000
P-value (1-tailed)	0.27482
P-value (2-tailed)	0.54963





**Figura 49.** Gráfico de embudo (funnel plot) que muestra la presentación de los artículos que relacionan DAP-HS y trombocitopenia en forma de embudo invertido. Los círculos representan los artículos. Debajo se representa el estadístico test de Egger.

#### Egger's regression intercept

Intercept	-0.19247
Standard error	1.46056
95% lower limit (2-tailed)	-4.84061
95% upper limit (2-tailed)	4.45568
t-value	0.13178
df	3.00000
P-value (1-tailed)	0.45175
P-value (2-tailed)	0.90350