

**TESIS DOCTORAL**  
**D-DÍMEROS EN EL RECIÉN NACIDO SANO**

**Patricia Correcher Medina**

Licenciada en Medicina y Cirugía

**UNIVERSITAT DE VALÈNCIA**

**Facultad de Medicina**



UNIVERSITAT  
DE VALÈNCIA

**2015**

**UNIVERSITAT DE VALÈNCIA**

**Facultad de Medicina**



VNIVERSITAT  
DE VALÈNCIA

**TESIS DOCTORAL**

**D-DÍMEROS EN EL RECIÉN NACIDO SANO**

**Patricia Correcher Medina**

Licenciada en Medicina y Cirugía

**DIRECTORES:**

**PROF. DR. D. RAFAEL FERNÁNDEZ-DELGADO CERDÁ**

**DR. D. EMILIO MONTEAGUDO MONTESINOS**

**2015**





VNIVERSITAT  
ID VALÈNCIA

## Facultad de Medicina y Odontología

Departamento de Pediatría,

Obstetricia y Ginecología

Prof. Dr. Rafael Fernández-Delgado Cerdá, Profesor de Pediatría de la Universidad de Valencia y Jefe de Servicio de Onco-Hematología del Hospital Clínico de Valencia.

Dr. Emilio Monteagudo Montesinos, Jefe de Servicio de Pediatría del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia.

CERTIFICAN:

Que Patricia Correcher Medina, Licenciada en Medicina y Cirugía por la Universidad de Valencia, ha realizado bajo su dirección la presente tesis titulada:

### **“D-dímeros en el recién nacido sano”**

Para la obtención del título de Doctora

Y, para que así conste a los efectos oportunos, firman la presente certificación.

Valencia, a 10 de Noviembre de 2015

Fdo. Prof. Dr. Rafael Fernández-Delgado Cerdá

Fdo. Dr. Emilio Monteagudo Montesinos



## **AGRADECIMIENTOS**

*A todas las personas que han colaborado en la realización de este trabajo.*

*A los Dres. D. Emilio Monteagudo Montesinos y al Profesor Dr. D. Rafael Fernández-Delgado Cerdá por su confianza y guía en la realización de esta Tesis. Por iniciarme e ilusionarme en este proyecto. Por compartir su tiempo e ideas y supervisar las mias. Por haber confiado en mi capacidad para finalizar este trabajo animándome a seguir hasta el final.*

*A mis compañeros pediatras del Hospital Lluís Alcanyís de Xátiva por su disposición, ayuda y comprensión. Por ayudarme a superar esta carrera de obstáculos y hacer fácil lo difícil.*

*Al Dr. Enric Grau, Jefe de Servicio de Hematología del Hospital Lluís Alcanyís de Xátiva por su defenderme ante la adversidad y por su apoyo.*

*A todas las enfermeras y auxiliares de pediatría, maternidad y paritorio, por su incalculable ayuda. Gracias M<sup>a</sup> Angeles.*

*A las técnicas del laboratorio de coagulación por su colaboración, consejos y predisposición. Gracias Sonia.*

*A mi madre y mis hermanas/o, por soportarme y apoyarme SIEMPRE, por ser mi nexo de unión con el mundo real.*

*A Jose, por su paciencia y ayuda incondicional, incluso en los malos momentos. Por su cariño y comprensión. Por estar ahí. Por haberme prestado su tiempo. Por ser mi mejor motor y apoyo. No hay folios...*

*Y a Álvaro y Lucía, gracias chicos, este proyecto ha crecido con vosotros.*



*A Jose, Álvaro y Lucía*



*Ser mejor equivale a  
haber cambiado muchas veces*



## **INDICE GENERAL**

<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	3
1.1	ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA.....	3
1.1.1	Estado actual de conocimientos de fisiología de hemostasia neonatal....	3
1.1.1.1	Concepto y fisiología .....	3
1.1.1.2	Características específicas del recién nacido.....	3
1.1.2	Fibrinólisis neonatal. ....	12
1.1.2.1	Concepto y fisiología .....	12
1.1.2.2	Características específicas del recién nacido.....	13
1.1.3	Marcadores biológicos de activación de coagulación y fibrinólisis.....	18
1.1.4	D- dímero (DD). ....	22
1.1.4.1	Concepto .....	22
1.1.4.2	Métodos de laboratorio para su cuantificación.....	27
1.1.4.3	Importancia clínica.....	40
1.1.4.4	Importancia de la determinación de los D-dímeros en neonatos.....	49
1.1.4.5	Estudios sobre D- dímeros en neonatos.....	57
1.2	MOTIVOS Y JUSTIFICACIÓN. FUNDAMENTO DEL TRABAJO .....	66
<b>2</b>	<b>HIPOTESIS</b> .....	71
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	71
3.1	OBJETIVO PRINCIPAL.....	71
3.2	OBJETIVOS SECUNDARIOS .....	71
<b>4</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS.</b> .....	75
4.1	DISEÑO DEL ESTUDIO.....	75
4.1.1	Características generales del estudio.....	75
4.2	TIPO DE ESTUDIO SELECCIONADO.....	75
4.2.1	Justificación de la elección.....	75
4.2.2	Población. ....	75
4.2.3	Tamaño de la muestra: .....	78
4.2.4	Método de captación y /o selección de sujetos. ....	78
4.2.5	Técnica de asignación. ....	78

4.3	DEFINICIÓN Y MEDICIÓN DE VARIABLES. RECOGIDA DE DATOS. ....	79
4.3.1	Enumeración y definición de variables. ....	79
4.3.2	Fuentes de información y técnicas de medición. ....	80
4.4	PROTOCOLO DE ESTUDIO.....	81
4.4.1	Planilla de datos.....	81
4.4.2	Obtención de la muestra. ....	81
4.4.3	Procesamiento de la muestra.....	85
4.4.4	Autorizaciones .....	90
4.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICO. ESTRATEGIA DE ANÁLISIS PREVISTO. ....	90
4.6	ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA.....	91
<b>5</b>	<b>RESULTADOS.</b> .....	<b>95</b>
5.1	SUJETOS. MUESTRAS OBTENIDAS. ....	95
5.2	ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	118
5.2.1	Análisis univariante de variables clínicas .....	118
5.2.2	Análisis univariante de los D-dímeros .....	120
5.2.3	Análisis univariante de otras variables analíticas.....	124
5.2.4	Análisis bivariante de los D-dímeros con las variables clínicas .....	125
5.2.5	Análisis bivariante de los D-dímeros con las variables analíticas. ....	131
5.2.6	Análisis multivariante de D-dímeros con las variables clínicas y analíticas.....	134
<b>6</b>	<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>137</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>159</b>
<b>8</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>163</b>
<b>9</b>	<b>ANEXOS</b> .....	<b>195</b>

## **INDICE DE ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS.**

ACO: anticoagulantes orales.

ACV: accidente cerebro vascular.

ADP: adenosin difosfato.

AEG: adecuado para la edad gestacional.

AIT: accidente isquémico transitorio.

Ao: Aorta.

$\alpha$ 2 antiplasmina: alfa dos antiplasmina.

$\alpha$ 2- macroglobulina: alfa dos macroglobulina.

ATIII: antitrombina III.

Ca<sup>2+</sup>: calcio iónico.

CC: cardiopatías congénitas.

CID. Coagulación intravascular diseminada.

Cols: colaboradores.

DD: D-dímeros.

EDS: enfermedad por déficit de surfactante

EG: edad gestacional.

EMH: enfermedad de membrana hialina.

ELISA: del inglés *Enzyme-linked Immunosorbent Assay*. Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima.

ELFA: del inglés *Enzyme-Linked Fluorescence Assay*. Ensayo inmuno fluorescente ligado a un enzima.

EP: embolismo pulmonar.

ETP: trombina endógena potencial.

Fa: factor activado.

FDP: productos de degradación del fibrinógeno.

FEU: del inglés "fibrinogen equivalent units", unidades fibrinógeno equivalentes.

FII: factor dos de la coagulación ó protrombina.

FV: factor cinco de la coagulación.

FVII: factor siete de la coagulación.

FVIII: factor ocho de la coagulación.

FIX: factor nueve de la coagulación

FX: factor diez de la coagulación.

FXI: factor once de la coagulación.

FXII: factor doce de la coagulación.

F 1+2: fragmento 1+2 de la protombina.

FM: monómero de fibrina.

FPA: fibrinopéptido A.

FPB: fibrinopéptido B.

FUR: fecha de última regla.

g : gramo  
Gral. : general  
GEG: grande para la edad gestacional.  
HMD: hijo de madre diabética.  
HTA: hipertensión arterial.  
HTPP: hipertensión pulmonar primaria.  
IFA: Inmunofiltración.  
IQ: índice de Quick.  
KAPM: kininógeno de alto peso molecular.  
L: Litro  
LPIA: Ensayo inmunofotométrico en látex.  
MBPN: muy bajo peso al nacimiento.  
ml: mililitro  
Ng: nanogramo  
SFMN: Monómero fibrina soluble Ao (Aorta).  
PDA: persistencia del ductus arterioso.  
PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno 1.  
PAI-2: inhibidor del activador del plasminógeno 2.  
PAP: complejo plasmina antiplasmina.  
PE: pre-eclampsia.  
PEG: pequeño para la edad gestacional.  
PFC: plasma fresco congelado.  
PG: patología gestacional.  
PPG: patología materna previa a la gestación.  
PK: prekalikreina.  
Prot. C: proteína C.  
Prot S: proteína S.  
PSH: púrpura de Schölein Henoch.  
PT: tiempo de protombina.  
RM: resonancia magnética.  
RN: recién nacido.  
RNT: recién nacido a término.  
RNPT: recién nacido pretérmino  
SDR: síndrome de distrés respiratorio.  
SIP: sistema de información poblacional.  
Sistema C/F: sistema coagulación y fibrinólisis.  
SK: estreptokinasa.  
TAC: tomografía axial computerizada.  
TAT: complejo trombina-antitrombina.  
TEP: tromboembolismo pulmonar.

TF: factor tisular.  
TFPI: inhibidor del activador tisular del plasminógeno.  
TM: trombomodulina.  
TMO: trasplante de médula ósea.  
TP: tiempo de trombina.  
t-PA: activador tisular del plasminógeno.  
TTº: tratamiento.  
TTPa: Tiempo parcial de tromboplastina activada  
TVP: trombosis venosa profunda.  
UK urokinasa.  
µL: microlitro.  
UlvWF: multímeros ultralargos del factor de von Willebrand.  
Vit K: vitamina K.  
VPN: valor predictivo negativo.  
VPP: valor predictivo positivo.  
vWF: factor de von Willebrand.



## **ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS**

### **ÍNDICE DE TABLAS**

#### **CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN.**

Tabla 1.1. Resumen de proteínas hemostáticas en recién nacidos respecto adultos .....	17
Tabla 1.2. Propiedades y aplicaciones clínicas de los marcadores de activación de coagulación y fibrinólisis .....	21
Tabla 1.3. Circunstancias en las que las concentraciones de D-dímeros se encuentran elevadas .....	29
Tabla 1.4. Métodos de laboratorio utilizados para la determinación de D-dímeros .....	35
Tabla 1.5. Factores de riesgo de trombosis venosa y arterial en neonatos .....	50
Tabla 1.6. Estudios en población neonatal .....	65

#### **CAPÍTULO 5. RESULTADOS**

Tabla 5.1. Tabla gral. de las variables con todos los datos obtenidos .	95-117
Tabla 5.2. Análisis univariante de las variables clínicas.....	119
Tabla 5.3. D-Dímeros en sangre de cordón y sangre venosa .....	122
Tabla 5.4. Comparación de valores de los D.dímeros entre sangre de cordón y el adulto .....	123
Tabla 5.5. Comparación de valores de los D.dímeros entre sangre de venosa y el adulto .....	123
Tabla 5.6 Hematocrito, TTPa, índice de Quick y tasa de fibrinógeno en sangre de cordón y venosa .....	124
Tablas 5.7a y 5.7b. Análisis bivariante. D-Dímeros en sangre de cordón y variables clínicas .....	125,126
Tabla 5.8a y 5.8b. Análisis bivariante D-Dímeros en sangre venosa y variables clínicas .....	127,128
Tablas 5.9a y 5.9b. Comparación de variables clínicas y su asociación a los D-Dímeros según procedencia de la muestra .....	129,130
Tabla 5.10. Correlación entre la tasa de D-Dímeros y otras variables analíticas en sangre de cordón .....	131
Tabla 5.11. Correlación entre la tasa de D-Dímeros y otras variables analíticas en sangre venosa .....	132
Tabla 5.12. Resultado de regresión múltiple en sangre de cordón. D-Dímeros y resto de variables .....	134
Tabla 5.13. Resultado de regresión múltiple en sangre venosa. D-Dímeros y resto de variables .....	134

## **CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN.**

Tabla 6.1 Estudios que determinan las concentraciones plasmáticas de DD en neonatos, para establecer valores de referencia .....	142
Tabla 6.2. Estudios que determinan niveles de DD en neonatos dentro de la investigación sobre marcadores de activación de la coagulación y fibrinólisis .....	143
Tabla 6.3. Estudios que determinan las concentraciones plasmáticas de DD en neonatos en el contexto de enfermedades neonatales .....	143

## **ÍNDICE DE FIGURAS**

### **CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN.**

Figura 1.1. Adhesión de las plaquetas al subendotelio mediada por el Factor de von Willebrand .....	4
Figura 1.2 Sistema de coagulación y fibrinólisis de la sangre .....	17
Figura 1.3. Vías de formación de marcadores de activación de coagulación y fibrinólisis .....	19
Figura 1.4. Proceso de formación de los D- dímeros .....	24
Figura 1.5. Algoritmo clínico utilizado para el diagnóstico de pacientes con trombosis venosa profunda (TVP) .....	42
Figura 1.6. Algoritmo clínico para el diagnóstico del embolismo pulmonar (TEP) .....	43

### **CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS**

Foto 4.1 Extracción de sangre venosa de cordón umbilical .....	82
Foto 4.2 Extracción de sangre venosa periférica .....	83
Foto 4.3 Extracción indolora de sangre venosa periférica .....	83
Foto 4.4 Coagulómetro STA Compact Diagnostica Stago® .....	86

## **CAPÍTULO 5. RESULTADOS**

Figura 5.1. Histograma de frecuencias de los DD en sangre de cordón .....	120
Figura 5.2. Histograma de frecuencias de los DD en sangre venosa ..	121
Figura 5.3 DD en sangre de cordón y sangre venosa, gráfico de cajas y bigotes .....	122
Figura 5.4 DD en sangre de cordón e índice de Apgar. Gráfico de cajas y bigotes .....	126
Figura 5.5. DD en sangre de cordón y tipo de parto. Gráfico de cajas y bigotes .....	126
Figura 5.6. DD en sangre de cordón y duración de la dilatación. Diagrama de dispersión .....	127
Figura 5.7 DD en sangre venosa e índice de Apgar. Gráfico de cajas y bigotes .....	128
Figura 5.8 DD en sangre venosa y duración de la dilatación. Diagrama de dispersión .....	128
Figura 5.9. Correlación entre DD y fibrinógeno. Diagrama de dispersión .....	131
Figura 5.10. Correlación entre DD y TTPa. Diagrama de dispersión ..	132
Figura 5.11. Correlación entre DD y fibrinógeno. Diagrama de dispersión .....	133
Figura 5.12. Correlación entre DD y TTPa. Diagrama de dispersión ..	133



# **INTRODUCCIÓN**



## **1 INTRODUCCIÓN**

### **1.1 ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA**

#### **1.1.1 Estado actual de conocimientos de fisiología de hemostasia neonatal**

##### **1.1.1.1 Concepto y fisiología**

La hemostasia es un proceso encaminado a mantener la integridad del árbol vascular o hacer que cese el flujo sanguíneo a través de un vaso lesionado. Para garantizar una hemostasia eficaz la respuesta debe ser rápida y adecuada. Una vez iniciada la coagulación, los anticoagulantes han de limitar el proceso al lugar de la lesión. A continuación, el trombo debe disolverse fisiológicamente para restablecer la permeabilidad del vaso mediante la fibrinólisis.

Entender el desarrollo de la hemostasia en sentido amplio optimiza la prevención, diagnóstico y tratamiento de problemas hemostáticos durante la infancia y proporciona una nueva comprensión de la fisiopatología de las complicaciones hemorrágicas y trombóticas para todas las edades.

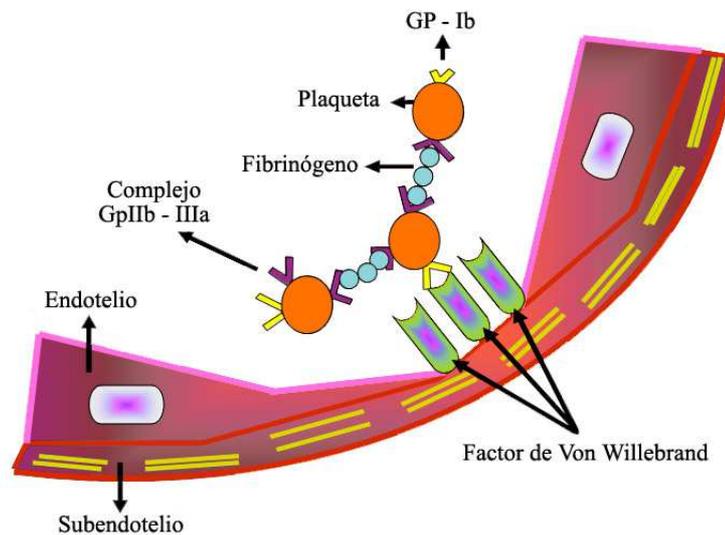
El conocimiento del normal desarrollo pre y postnatal del sistema de coagulación es esencial para una adecuada interpretación de los test de laboratorio que se realizan durante la infancia, con objeto de investigar los trastornos hemorrágicos y trombóticos en niños y neonatos.

##### **1.1.1.2 Características específicas del recién nacido (Tabla 1.1)**

La hemostasia neonatal posee características propias cuando se compara con la hemostasia de adultos. En general, los test de cribado están prolongados al nacimiento, los niveles de factores de coagulación están disminuidos y ambos dependen tanto de la edad postnatal como de la edad gestacional del recién nacido (1-6).

Los valores normales de plaquetas (150000 por microlitro,  $\mu\text{L}$ ) se alcanzan a las 15 semanas de gestación y no varían en la infancia y vida adulta (7). La función plaquetaria está menos definida.

La plaqueta de la sangre producida por la médula ósea y con una vida media de 9 días interactúa con el endotelio vascular lesionado, produciéndose activación, adherencia y agregación plaquetaria que forma un tapón hemostático primario sobre el cual se depositará posteriormente fibrina para formar el tapón de fibrina estable. Para que ocurra adherencia plaquetaria se requiere del factor de Von Willebrand (vWF) molécula asociada al factor VIII que actúa como un puente entre la superficie subendotelial y la glicoproteína Ib de la superficie plaquetaria. Las plaquetas liberan su contenido, fundamentalmente ADP y tromboxano A2 (vasoconstrictor y agregante plaquetario). Para que ocurra agregación plaquetaria el fibrinógeno plasmático se une a los receptores glicoproteicos IIb/IIIa de las plaquetas y sirve como un puente entre las plaquetas (Figura 1.1).



**Figura 1.1** Adhesión de las plaquetas al subendotelio mediada por el vWF unido a la glicoproteína plaquetaria Ib. Agregación de plaquetas mediada por el fibrinógeno plasmático y los receptores GpIIb-IIIa de las plaquetas. Tomado de Lopez A.M. y Perez A. (8).

Estudios in vitro de agregación plaquetaria en neonatos revelan una respuesta disminuida a agonistas como ADP, colágeno y trombina (9-12).

El tiempo de sangría, reflejo de la interacción plaquetaria con la pared vascular es más corto que en el adulto normal (3;10;13). *Andrew* sugiere que este acortamiento es debido a un aumento del vWF, a la presencia de grandes multímeros vWF y a un aumento del hematocrito y tamaño de glóbulos rojos (14). Sin embargo, el significado clínico de estos hallazgos es incierto.

La síntesis del vWF se detecta a las 4 semanas de edad gestacional en las células endoteliales placentarias y a las 4-8 semanas de gestación en médula ósea fetal (5;15). Al contrario que otros factores de coagulación sus niveles se encuentran elevados respecto a los niveles de adultos y alcanzan el rango de adulto entre los 3-6 meses de edad postnatal (1;3).

La presencia de grandes multímeros de vWF en plasma fetal puede deberse a una disminución de su fragmentación desde las células endoteliales, acción que realiza la metaloproteinasa (ADAMTS-13) (16) y que contribuiría, además de al acortamiento del tiempo de sangría, al aumento de la susceptibilidad a la trombosis arterial encontrada en neonatos (5;17). Estos multímeros ultralargos (ULvWF), más abundantes y específicos del plasma fetal y cordón umbilical de recién nacidos (no se encuentran en plasma materno), son 10-20 veces más activos, para inducir agregación plaquetaria y unirse con mayor avidéz a la matriz extracelular de fibroblastos, que las formas multiméricas del plasma normal (18;19). En niños mayores y adultos su presencia es marcador de púrpura trombótica trombopénica y enfermedad microangiopática debida a la deficiencia congénita o adquirida de la metaloproteinasa (ADAMTS-13). Sus niveles disminuyen progresivamente alcanzando el rango normal a las 8 semanas tras el nacimiento (20), y su presencia durante la vida fetal y neonatal se considera fisiológica para equilibrar los bajos niveles de otros factores de coagulación (21).

Aun así, y pese a las diferencias funcionales respecto al adulto, el recién nacido sano a término muestra una adecuada función plaquetaria y la existencia de contusiones, petequias o sangrado como resultado del trabajo de parto son raras (5).

La activación del endotelio vascular lesionado además de contribuir a la formación del trombo plaquetario, permite la activación de la coagulación que resulta en la formación del coágulo de fibrina sobre el trombo plaquetario y/o la superficie endotelial.

Los estudios de *Andrew y colaboradores (cols)* en la década de los 80, han puesto de manifiesto que la hemostasia humana es un proceso dinámico, influenciado por la edad, con valores que cambian durante la vida intrauterina pero sobretodo en las primeras semanas de vida, y que han sido acuñados con el término de "*developmental haemostasis*". La gran mayoría de procoagulantes, anticoagulantes y proteínas implicadas en la fibrinólisis son dependientes de la edad gestacional y sus niveles difieren de los encontrados en niños mayores y adultos. El sistema hemostático neonatal madura durante las primeras semanas y meses de vida alcanzando valores de adulto a los 6 meses. Los recién nacidos prematuros (RNPT) presentan un modelo de maduración acelerada con niveles de proteínas de coagulación similares a los recién nacidos a término (RNT) a los 6 meses (1-3).

Las proteínas que constituyen los factores de coagulación no atraviesan la barrera placentaria y son sintetizadas independientemente por el feto (22;23). El RNAm transcribe para los factores de coagulación VII, VIII, IX, X y fibrinógeno y son detectables en los hepatocitos fetales a las 5 semanas de gestación. A las 10 semanas de gestación los niveles de proteínas plasmáticas de la mayoría de factores son medibles, pero sus niveles están disminuidos, el rango varía desde el 10% de niveles respecto al adulto para el factor IX, al 30%-50% para la mayoría del resto de factores (24).

La regulación de estos niveles de proteínas de coagulación fetales ocurre por mecanismos de transcripción y traslación. *Manco-Jonhson* encuentra además que la relación entre el nivel de factor en el hepatocito respecto al plasma es mayor en fetos y recién nacidos en comparación con adultos, lo que sugeriría un retraso en la liberación de estos factores desde el hepatocito y contribuiría a explicar los niveles plasmáticos más bajos encontrados en ellos (5).

Tanto los valores de factores de contacto (FXI, FXII) como de los factores vitamina K-dependientes (FII, FVII, FIX, FX) son inversamente proporcional a la edad gestacional (2;4;25) están reducidos un 50% sobre los valores del adulto, alcanzando rango de valores de adulto a los 6 meses.

Los factores FII, FVII, FIX, FX, proteína C, S y Z sufren una  $\gamma$ -carboxilación de ciertos residuos de ácido glutámico (agrupados en la región denominada dominio "Gla") dependientes de la vitamina K. Esta  $\gamma$ -carboxilación aumenta las interacciones fosfolípídicas dependientes del calcio de los factores de coagulación y facilita la catalización de las reacciones de la cascada de coagulación.

Durante la gestación se mantiene un gradiente de paso de vitamina K a través de la placenta con niveles fetales de un 10% o menos de los niveles maternos (5;26) y que aumenta en el tercer trimestre (27). Aun así los depósitos de vitamina K en recién nacidos son bajos. La hipótesis que se baraja es que como la vitamina K promueve la mutágenesis del DNA in vivo, los bajos niveles fetales actuarían como mecanismo de prevención del daño cromosómico durante la rápida proliferación embrionaria.(28). Además, resultado de la inmadurez hepática hay una deficiente actividad de la vitamina K reductasa, con ineficiente carboxilación de factores (29). Aun corrigiendo la posible deficiencia de vitamina K mediante administración de vitamina K profiláctica a todos los RN, los niveles de factores vitamina K dependientes se encuentran disminuidos respecto a los niveles de adultos.

Niveles de actividad de FIX adulto no se alcanzan hasta los 9 meses de vida, y Proteína C y protrombina hasta la pubertad.

Otros factores como FV, FVIII, FXIII se encuentran en rango similar o aumentado (1;2;6).

El factor tisular (TF) se expresa amplia y tempranamente en células ectodérmicas y endodérmicas del feto y se le atribuye un papel importante en la proliferación, diferenciación tisular, angiogénesis, así como en la coagulación (30;31).

Los niveles bajos de factores de contacto explicarían el alargamiento del tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) observado en neonatos, mientras que los bajos niveles de factores vitamina K-dependientes explicarían la prolongación ligera del tiempo de protrombina (PT) y la prevalencia de enfermedad hemorrágica en RN que no reciben vitamina K al nacimiento. Estos cambios tienen como resultado una disminución de la generación fisiológica de trombina comparada con adultos (1;2;32).

También en ello coinciden los estudios recientes realizados por *Muntean W. y Monagle P.* (6;33) quienes además presentan rangos de referencia previamente no establecidos de Trombina Endógena Potencial (ETP), entendida como la capacidad del plasma de generar trombina, encontrando valores del 50% del valor de adultos durante toda la infancia.

La actividad anticoagulante puede llevarse a cabo por tres mecanismos:

1. Fragmentación de los FV y VIII por el sistema proteína C/proteína S;
2. Inhibición directa de la trombina por la antitrombina III (ATIII), cofactor II de la heparina y  $\alpha$ 2- macroglobulina y;
3. Inhibición del FVIIa por el inhibidor del factor tisular (TFPI)/ complejo FXa.

Como los procoagulantes, muchos de los anticoagulantes naturales, ATIII, Prot. C, Prot S están disminuidos al nacimiento (excepto la  $\alpha$ 2

macroglobulina que está aumentada) y sus valores alcanzan niveles de adultos a partir de los 6 meses de vida (3;4;6).

La concentración de Proteína C (Prot C) al nacimiento y durante los primeros 6 meses de vida está baja (1-3), no difiere funcionalmente de la Prot C de adultos aunque tiene el doble de Prot C de cadena simple (34) y exhibe una mayor glicosilación (5). La proteína S (Prot S) fetal y neonatal circula en su mayor parte en forma libre (forma activa) debido a una disminución del transportador C4b en esta época de la vida (35). Alcanza valores de adulto a los 10 meses de edad postnatal (36). La Prot C activada se une a la Prot S e inhibe al FVa, VIIIa, siendo este un importante fenómeno anticoagulante. La Prot C es activada por el complejo trombina- trombomodulina en la superficie endotelial y realiza dos funciones: 1. Disminuye la generación de trombina por inhibición de la conversión de FX a FXa y por tanto protombina a trombina. 2. Aumenta la fibrinólisis por inhibición del PAI-1 del plasminógeno y disminución del inhibidor de la fibrinólisis activada por la trombina.

La interacción de la Prot S con la Prot C activada está modulada por la  $\alpha$ 2-macroglobulina. La  $\alpha$ 2- macroglobulina tiene acción procoagulante suprimiendo la formación del complejo Prot C activada/ Prot S. En el RN encontramos niveles elevados que regularían la generación e inhibición de trombina vía regulación del complejo Prot C activada/ Prot S (37). Por otra parte, la  $\alpha$ 2- macroglobulina se describe como uno de los más importantes inhibidores de la trombina (acción anticoagulante) que compensa en parte los bajos niveles de AT III y cofactor II de la heparina, a pesar de ello, la tasa de inhibición de la trombina sigue siendo menor en neonatos que en adultos (38).

Los niveles funcionales de Antitrombina III (ATIII) están disminuidos, con contenido absoluto también menor respecto adulto (3;6;39). Estos niveles reducidos de ATIII probablemente se explican por la relativa resistencia a la heparina en este grupo de edad. Además los RN pretérmino con distrés

respiratorio tienen niveles aún más bajos, y una ATIII disfuncional. Niveles bajos de AT III se han relacionado con un aumento de trombosis asociada a catéter, hemorragia intracraneal y una mayor mortalidad (40-43). Según los estudios de cohortes publicados alcanza valores de adulto a los 3 meses de edad postnatal (1;2;6).

También el cofactor II de la heparina se encuentra disminuido (44) y se ha descrito un dermatán sulfato anticoagulante fetal circulante mediado por el cofactor II de la heparina producido en la placenta de mujeres embarazadas (45).

La trombomodulina, (receptor endotelial para la trombina) se une a la trombina para hacerla antihemostática. El exceso de trombina intravascular se une a la trombomodulina y activan a la proteína C que detiene la generación de trombina. También inhibe la activación del fibrinógeno, FV y plaquetas por la trombina y aumenta la inhibición de la trombina por la antitrombina (46). La unión de la trombina a la trombomodulina permite un cambio de conformación de la molécula que supone el paso de actividad procoagulante a anticoagulante.

En el RN, los niveles de trombomodulina están aumentados, en función de la edad gestacional, encontrándose niveles más altos en recién nacidos prematuros o con asfixia. Alcanza valores de adulto en la adolescencia. Este modelo de maduración fetal distinto al resto de anticoagulantes (ATIII, Proteína C, Proteína S), es atribuido al papel que la trombomodulina juega en la proliferación y diferenciación celular, y su aumento es entendido como reflejo del daño y activación de células endoteliales, o por un menor aclaramiento plasmático (47-49).

El inhibidor del factor tisular (TFPI) se sintetiza y secreta por células endoteliales y se expresa ampliamente en tejido fetal desde la semana 8 a la 24 de gestación (50). Sus niveles constituyen el 50% de niveles de adultos. Se une al complejo FVIIa/ Factor tisular para inhibir al FVIIa y evitar la posterior generación de trombina por esta vía. Los niveles más

bajos de este inhibidor, junto a los de ATIII también bajos, permiten una suficiente generación de trombina en neonatos (51).

Como consecuencia de estos dos hechos (disminución en los niveles de factores de coagulación y de los niveles de anticoagulantes), la generación e inhibición de trombina están disminuidas. Y así, esta deficiencia relativa fisiológica de inhibición de la trombina en el neonato puede ser entendida para equilibrar la disminución de generación de trombina, resultando en una adecuada hemostasia en el RN normal (33).

Figura 1.2 y Tabla 1.1

El fibrinógeno se encuentra en rango normal de adulto. *Andrew* encuentra niveles aumentados al 5º día de vida como parte de la fisiología I postnatal (1). Sin embargo la estructura es diferente debido al aumento posttraslacional en el contenido de fósforo y ácido siálico, longitud más corta y fina de fibras y disminución del residuo N-terminal de Alanina en la cadena A -alfa.

El aumento del contenido de ácido siálico del fibrinógeno, aumenta la repulsión intermolecular y se asocia con una disminución de la tasa de polimerización de fibrina. Es decir, una “disfibrinogenemia fisiológica”, mientras que la eliminación de residuos de ácido siálico permitiría el aumento de la polimerización, explicando así las diferencias del tiempo de protrombina (52). Los residuos de ácido siálico del fibrinógeno de baja afinidad, son ocupados por calcio iónico, y esta unión (con desaparición de ácido siálico) disminuye la repulsión intermolecular entre cadenas de fibrinógeno facilitando la polimerización de fibrina (53).

Sin embargo, la contribución de cada una de estas diferencias moleculares en la alteración de la función del fibrinógeno fetal está debatida, si bien estas modificaciones afectan la conversión de fibrinógeno en coágulo de fibrina medida del tiempo de trombina, que se muestra ligeramente prolongado al nacimiento (5;54;55).

### **1.1.2 Fibrinólisis neonatal.**

#### **1.1.2.1 Concepto y fisiología.**

La fibrinólisis es el proceso de digestión proteolítica de la fibrina formada durante la coagulación. Se caracteriza por la formación de plasmina, a partir de un precursor inactivo del plasma, el plasminógeno. El plasminógeno es una glucoproteína sintetizada en el hígado, (83-93kD de peso molecular y una vida media de dos días), que se encuentra en forma libre 20%, y el resto formando complejos con proteínas como fibrinógeno y fibrina a las que se une en un 15%. De esta forma la concentración relativa de plasminógeno en el trombo es superior a la del plasma.

La activación del plasminógeno a plasmina se produce fundamentalmente por el activador tisular del plasminógeno (tPA) liberado por las células endoteliales de la circulación, y en menor medida por la urocinasa (UK) secretada por células endoteliales y epiteliales que revisten los conductos excretores del organismo (riñón, placenta y macrófagos). Liberación que es estimulada por situaciones como el descenso de la presión parcial de oxígeno en sangre o infecciones bacterianas, a través de la vía extrínseca, o a través de la vía intrínseca por la calicreína.

La plasmina es una serinoproteína (dos cadenas), que se produce a partir del plasminógeno por una acción proteolítica limitada (ruptura del enlace Arg<sub>560</sub>-Val<sub>561</sub>) acompañada de cambios de conformación de la molécula. En la cadena ligera se sitúa el lugar activo que contiene serina y la cadena pesada contiene los "bucles" con los lugares que determinan la interacción con su principal inhibidor  $\alpha_2$  antiplasmina.

La formación de fibrina promueve la adsorción de plasminógeno y de su activador histico y, en consecuencia la formación de plasmina, que así ligada al coágulo está protegida de sus inhibidores. Por la gran afinidad del activador histico por la fibrina, en su presencia la activación del plasminógeno se acelera, lo que favorece la lisis local de la fibrina sin que se produzca degradación del fibrinógeno y, en consecuencia una

fibrinólisis generalizada. Esta también se evita porque cuando concluye la degradación de la fibrina, la plasmina circulante es neutralizada por la  $\alpha 2$  antiplasmina.

La acción de la plasmina sobre la fibrina produce cuatro fragmentos: X, Y, D, y E. Cuando la acción de la plasmina se efectúa sobre la fibrina estabilizada por el factor XIII, se produce, además, un neoantígeno conocido como dímero D compuesto por dos fragmentos D unidos covalentemente, que es aclarado por el sistema reticuloendotelial.

Los productos de degradación del fibrinógeno pueden actuar como inhibidores de la coagulación.

La limitación de la fibrinólisis al sitio de la injuria incluye por un lado la gran eficacia del activador del plasminógeno para actuar dentro del trombo, y por otro la presencia de inhibidores de tPA (PAI-1, relacionado con células endoteliales, PAI-2 producido en trofoblasto placentario y macrófagos) e inhibidores de la plasmina ( $\alpha 2$  antiplasmina y  $\alpha 2$  macroglobulina) en la circulación.

#### **1.1.2.2 Características específicas del recién nacido**

Dentro del sistema fibrinolítico el plasminógeno existe en “forma fetal” y sus niveles así como los de su activador tPA (activador tisular del plasminógeno) son bajos, resultando en un relativo estado hipofibrinolítico (56-58).

El plasminógeno fetal contiene mayor contenido de ácido siálico y exhibe una disminución de la tasa y grado de activación a plasmina (59;60). Numerosos autores han descrito que el plasma neonatal contiene 50-75% menos actividad y contenido del plasminógeno (1;57;60-63). Esta hipoplasminogenemia puede ser debida a reducción de la síntesis, no activación o consumo de la proteína (61).

*Andrew M. y cols* encuentran una respuesta disminuida de agentes trombolíticos (SK, UK, tPA) en el trombo del RN respecto al del adulto,

debido principalmente a disminución del contenido del plasminógeno neonatal (50% menor que en el adulto). En menor medida puede también deberse a una función anormal del mismo, a una mayor resistencia del fibrinógeno fetal a la plasmina, a un aumento de inhibidores de la plasmina ó de los inhibidores de activadores del plasminógeno. Además comprueban que el efecto trombolítico mejora si se añade plasminógeno al plasma fetal (57). Este estudio de *Andrew M.* coincide con el de otros autores que demuestran que una concentración de plasminógeno baja supone una deficiente respuesta fibrinolítica. (56;63)

*Estellés A. y cols* sugieren la posibilidad de un plasminógeno funcionalmente anómalo debido a alteraciones cualitativas, a una disminución de los residuos aminoácidos, así como diferentes aminoácidos N-terminal. Demuestran también una disminución de la incorporación de disopropilfosforofluoridato en la cadena ligera de la plasmina indicando que la hipofunción de la plasmina neonatal parece estar situada en el sitio activo de la molécula (59;64).

Otros como *Corrigan J. y cols* en un estudio con 32 RNT sanos encuentran una disminuida generación de plasmina dependiente de una concentración baja de plasminógeno más que de un plasminógeno neonatal disfuncional (60).

*Al Hilali M.* refiere que la cinética de activación del plasminógeno no es diferente en neonatos y adultos a pesar de los niveles más bajos de plasminógeno neonatal (65).

Los niveles y actividad del tPA se han encontrado normales, ligeramente bajos o incluso aumentados (3;60;66).

Estudios de *Astedt B.* encuentran concentraciones de tPA, y de inhibidores del activador del plasminógeno 1 y 2, (PAI-1 y PAI-2) mayores en RNT respecto a RNPT y adultos, reflejo de la activación del

sistema fibrinolítico y de la maduración progresiva de la síntesis proteica (67).

Otros estudios (68;69) encuentran niveles de tPA similares en RNT y adultos, pero que aumentan en RN con patología (como los afectos de cardiopatías congénitas, síndrome de distres respiratorio ó sepsis) por la mayor activación del sistema fibrinolítico en estos, discrepancia que *Astedt B.* atribuye a las diferencias en la técnica de recogida de muestra. Ellos recogen la muestra de sangre de cordón umbilical cuando la comunicación feto-placentaria aún está preservada antes de clampar, y el trabajo de parto es normal e igual en todos los recién nacidos, en cambio, *Corrigan J. y Mautone A.* recogen la muestra en los primeros días de vida ó de cordón umbilical en el momento del parto. Aun así y a pesar de encontrarse activado el sistema fibrinolítico en los neonatos con patología, debido a que la actividad del PAI no disminuye, la actividad fibrinolítica es subóptima y ello justifica la enfermedad trombótica que pueden desarrollar.

*Ries M. y cols* estudian la cinética in vitro de la fibrinólisis después de añadir diferentes concentraciones de estreptoquinasa (SK), uroquinasa (UK) y activador tisular de plasminógeno (tPA) encontrando una prolongación del tiempo de lisis con UK, y altas concentraciones de SK y tPA, pero no encuentran diferencias respecto adultos con concentraciones bajas de SK y tPA (70).

Además la fibrina fetal es más resistente a la lisis (57;62;70).

Contrariamente los inhibidores de la fibrinólisis (PAI-1,  $\alpha$ 2 antiplasmina) están en el rango del adulto o elevados (3;60;71). *Andrew M.* encuentra niveles ligeramente disminuidos (57). Ello resulta en una menor tendencia a la lisis del coágulo.

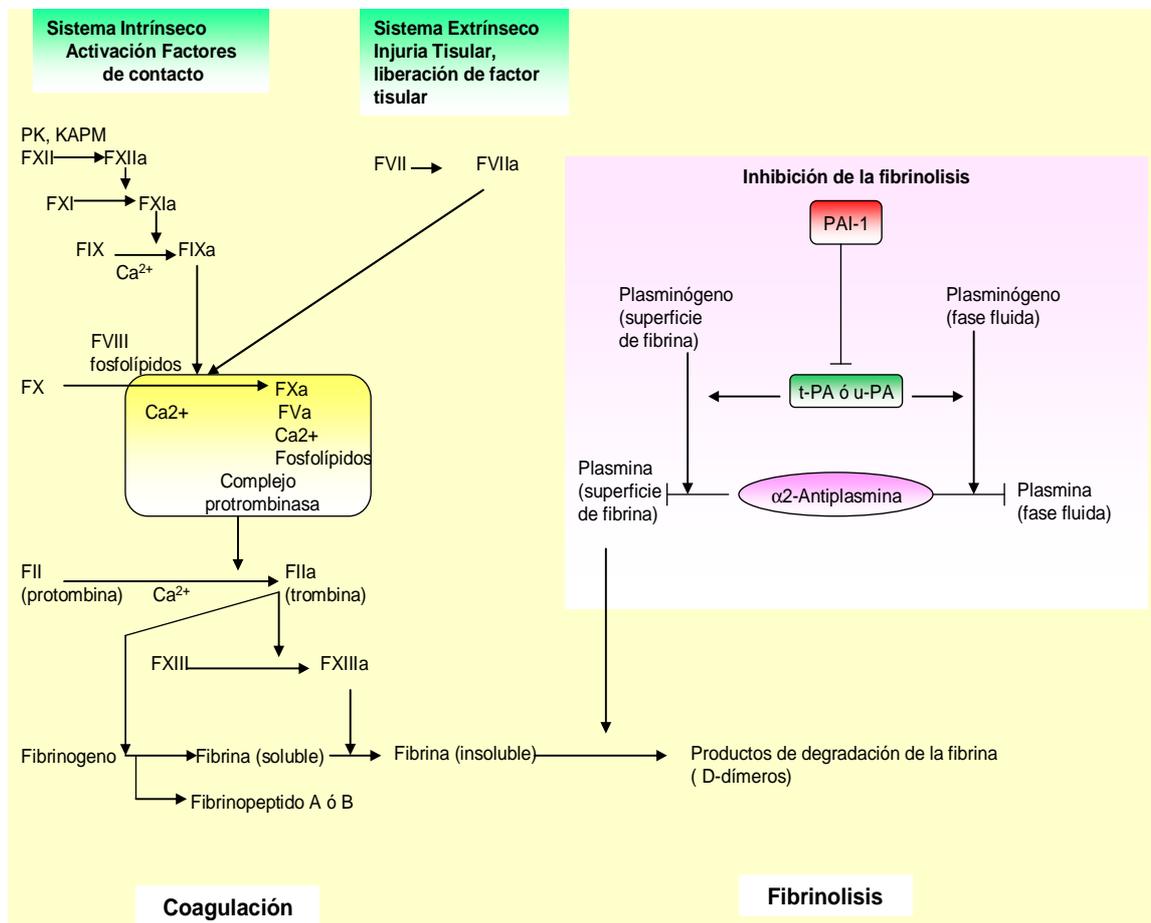
Algunos autores han demostrado un retraso de la inactivación o consumo de la  $\alpha_2$  antiplasmina en plasma fetal, que se traduciría en una acelerada lisis del coágulo (72-74).

Los niveles de PAI-2, están aumentados respecto a los niveles de adultos. *Astedt* Ben uno de sus trabajos no encuentra niveles detectables de PAI-2 en el plasma de mujer adulta no embarazada, concluyendo así que el PAI-2 se produce en el trofoblasto y pasa a circulación fetal, lo que supondría una disminución del riesgo de sangrado pero sin tener efecto trombótico (66;67).

En general, estas diferencias en las concentraciones plasmáticas de procoagulantes anticoagulantes y factores fibrinolíticos son fisiológicas, están equilibradas, y los RN sanos no muestran estados de hipercoagulación ni diátesis hemorrágica. En cambio, en los RN enfermos o prematuros, los cambios en los niveles de proteínas hemostáticas pueden alterar el equilibrio hacia la trombogénesis o coagulopatía (48;67-69). Tabla 1.1 y Figura 1.2

**Tabla 1.1** Resumen de niveles de proteínas hemostáticas en RN respecto adultos.

PROTEINA DE COAGULACIÓN	NEONATOS	EFEECTO HEMOSTÁTICO
HEMOSTASIA PRIMARIA	Descendidos: función plaquetaria Aumentado: FvW	↑ hemostasia primaria
FACTORES DE COAGULACIÓN	Descendidos: FII, FVII, FIX, FX, FXI, FXII Normales: fibrinógeno, FV Elevados: FVIII	↓ generación de trombina
INHIBIDORES NATURALES DE COAGULACIÓN	Descendidos: AT, PC, PS	↓ capacidad de inhibir proteínas de coagulación activadas
FIBRINOLISIS	Descendidos: plasminógeno, t-PA, α2AP Aumentado: PAI	Estado hipofibrinolítico



**Figura 1.2** Sistema de coagulación y fibrinólisis de la sangre (a: factor activado; PK precalicreína; KAPM:kininógeno de alto peso molecular; tPA: activador del plasminógeno tisular; u-PA:activador del plasminógeno urokinasa; PAI-1:inhibidor-1 del activador del plasminógeno).

### **1.1.3 Marcadores biológicos de activación de coagulación y fibrinólisis.**

El estado de activación del sistema de coagulación y fibrinólisis puede ser determinado en plasma mediante la medición de varios parámetros (Figura 1.2), que fundamentalmente incluyen (75-77):

#### **1. Fragmento 1+2 de Protrombina (F1+2)**

Es el resultado de la acción del complejo enzimático protrombinasa (Xa) sobre la Protrombina, a la que escinde en Trombina y un fragmento de protrombina 1+2 (F1+2). Es por tanto un marcador de la generación de trombina in vivo.

#### **2. Complejo Trombina – Antitrombina III (TAT)**

Complejo irreversible que inhibe parcialmente la trombina generada. La cantidad de este complejo es proporcional a la trombina formada in vivo y refleja el estado actual de la activación de la coagulación (trombina generada a corto plazo).

#### **3. Monómeros de Fibrina.**

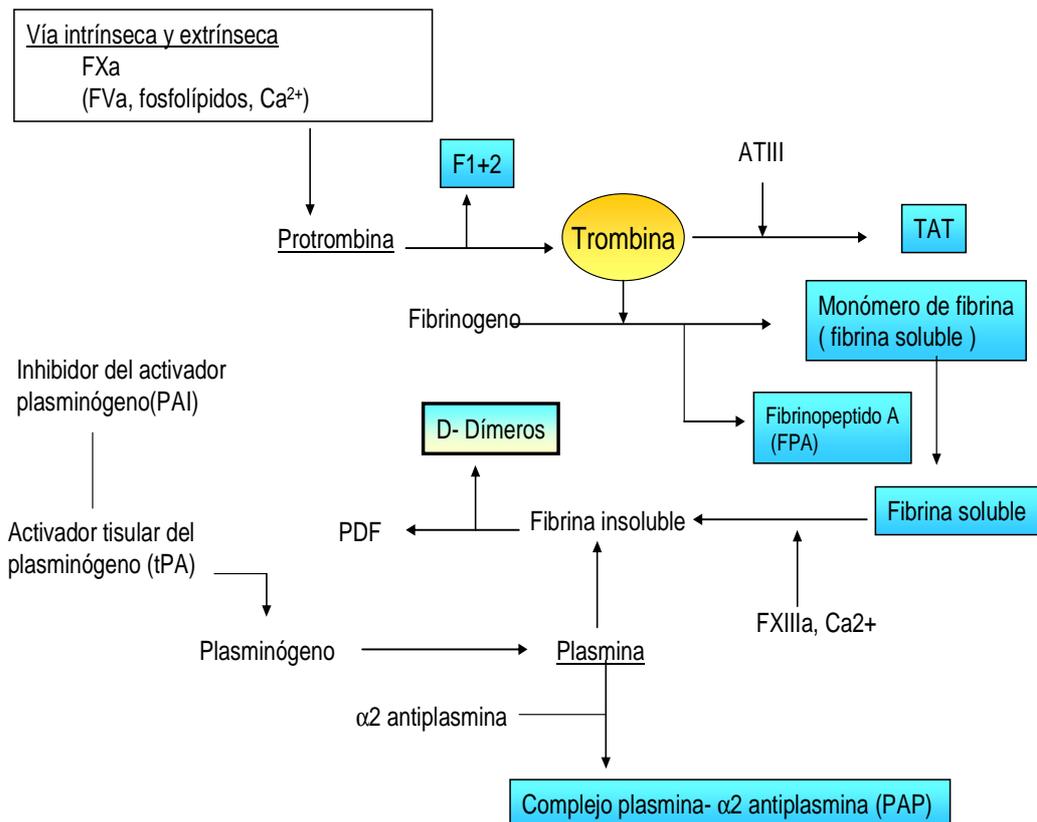
La actuación de la Trombina sobre el fibrinógeno libera de la molécula cuatro péptidos de bajo peso molecular llamados Fibrinopéptidos A y B según sean liberados de las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  respectivamente. El resto del fibrinógeno constituye el Monómero de Fibrina, indicador por tanto de actividad de la trombina y fibrina generada. También como reflejo de actividad de la trombina es posible determinar el Fibrinopéptido A (FPA).

#### **4. Complejo plasmina - $\alpha$ 2 antiplasmina (PAP).**

La activación del sistema fibrinolítico supone la conversión del plasminógeno en plasmina, la cual se une a la fibrina o es rápidamente inactivada por la  $\alpha$ 2 antiplasmina mediante la formación de un complejo inhibidor irreversible, Complejo plasmina -  $\alpha$ 2 antiplasmina (PAP). Es indicador de la plasmina generada y por tanto de actividad fibrinolítica.

## 5. D- dímeros.

Cuando la plasmina actúa sobre el coágulo de fibrina estabilizado por el FXIIIa rompe la malla de fibrina con liberación de varias moléculas, entre las que se encuentra el fragmento D, que aparece como dímero, D- dímero. Los D- dímeros son un verdadero producto de la fragmentación de la fibrina y su medida refleja la extensión de la fibrinólisis secundaria a la activación previa de la coagulación. En el momento actual continúa siendo el biomarcador de referencia, comparado con otros biomarcadores para indicar activación de la coagulación y de la fibrinólisis (78).



**Figura 1.3.** Vías de formación de marcadores de activación de coagulación y fibrinólisis. *Adaptada de Dati F et al. (75)*

La utilidad de estos marcadores (Tabla 1.2) ha sido descrita por muchos autores (75-77;79):

- 1) Para aumentar nuestro conocimiento acerca de los mecanismos que regulan la hemostasia.
- 2) Para una mejor caracterización de pacientes con predisposición a trombosis, siendo considerados índices de hiper-coagulabilidad, aunque también permiten el diagnóstico de estados de hipocoagulabilidad (80).
- 3) Para el manejo y monitorización de enfermedades relacionadas con coagulación intravascular diseminada, como algunos tumores (81) y embarazos de alto riesgo (82).
- 4) Para el diagnóstico de trombosis aguda como la trombosis venosa profunda (TVP), siendo considerados los D-Dímeros los marcadores más sensibles (79).
- 5) Para monitorizar el tratamiento anticoagulante/ fibrinolítico, aunque para ello se necesitan estudios clínicos bien diseñados.

En el recién nacido estos marcadores de activación de coagulación y fibrinólisis están elevados al nacimiento para ir disminuyendo en las primeras 24h de vida según *Dati F. y cols* (75). Sus valores aumentan durante la infección, mostrando el mismo comportamiento que el sistema hemostático maduro del adulto. Refieren que neonatos con síndrome de distres respiratorio muestran niveles elevados de Trombina – Antitrombina III (TAT) y bajos de actividad de Antitrombina III y que al igual que encuentran otros autores ni la edad gestacional ni duración del trabajo de parto tiene efecto en el nivel de estos marcadores (83-85).

*Knöfler R. y cols* (76) también encuentran elevación de estos marcadores de activación de la coagulación al nacimiento, pero con valores que van disminuyendo durante los primeros 12 días de vida en el caso de trombomodulina, TAT III y plasmina -  $\alpha_2$  antiplasmina (PAP), y manteniendo igual nivel de endotelina, factor de V Willebrand y D-dímeros. Estos autores encuentran niveles más elevados de D-dímeros en cordón umbilical de RN con Ph bajo y procedentes de partos

instrumentados sugiriendo la influencia del estrés mecánico con cambios en la microcirculación como responsable, aunque también refieren que puede ser resultado de la adaptación circulatoria o estado de hipoxia aguda que sufren estos RN.

**Tabla 1.2.** Propiedades y aplicaciones clínicas de los marcadores de activación de coagulación y fibrinólisis.

Marcador	Enzimas activos	Utilidad diagnóstica	Relevancia clínica
<b>F1+2</b> Fragmento protrombina 1+2 Trombina generada a largo plazo (últimas horas)	FXa (protrombinasa)	Diagnóstico de estados de Hiper/hipocoagulabilidad	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Monitorización de tratamiento anticoagulante oral.</li> <li>▪ Monitorización tt<sup>o</sup> con heparina</li> <li>▪ Monitorización de tt<sup>o</sup> en CID, tumores y embarazos de riesgo</li> </ul>
<b>TAT</b> Complejo trombina – Antitrombina III Trombina generada a corto plazo (últimos minutos)	FXa (protrombinasa)	Diagnóstico de estados de hipercoagulabilidad	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Monitorización de tt<sup>o</sup> en CID, tumores y embarazos de riesgo.</li> <li>▪ Marcador pronóstico de reoclusión después de tt<sup>o</sup> fibrinolítico en pacientes con infarto agudo de miocardio.</li> </ul>
<b>D-Dímeros</b> Fibrina disuelta	Trombina + plasmina	Diagnóstico de fibrinólisis secundaria a activación de la coagulación	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Exclusión de TVP y EP</li> <li>▪ Diagnóstico de CID</li> </ul>
<b>FDP</b> Productos de degradación de fibrina/ fibrinógeno	Plasmina	Diagnóstico de fibrinólisis primaria y secundaria (actividad de plasmina)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Diagnóstico de CID</li> <li>▪ Detección de hiperfibrinólisis</li> </ul>
<b>PAP</b> Complejo Plasmina α <sub>2</sub> Antiplasmina Plasmina generada	Activadores del plasminógeno (tPA, uPA)	Diagnóstico de estados de Hiper/hipofibrinolíticos	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Marcador pronóstico de infarto agudo de miocardio y angina inestable.</li> <li>▪ Marcador pronóstico en CID.</li> </ul>
<b>FM Monómero de fibrina</b> Fibrina generada realmente	Trombina	Diagnóstico de aumento de consumo de fibrinógeno (actividad de trombina)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Diagnóstico y manejo de CID</li> </ul>

Modificado de *Dati F et al. (75)*. TVP= trombosis venosa profunda; EP= Embolismo pulmonar

#### 1.1.4 D- dímero (DD).

##### 1.1.4.1 Concepto

La activación del sistema de coagulación conduce a la síntesis de fibrina, componente fundamental de los trombos. La producción de fibrina se sigue de la activación del sistema fibrinolítico, que resulta en la generación de plasmina que se encargará de romper la malla de fibrina. En condiciones fisiológicas existe un equilibrio entre estos dos procesos opuestos. La disolución de la fibrina ligada ("crossed fibrin") conduce a la formación de productos específicos de su degradación, incluyendo el D-dímero que puede ser determinado en sangre total y plasma utilizando anticuerpos monoclonales dirigidos contra epítomos localizados en el fragmento del D-dímero.

El DD (fragmentos D de fibrina unidos covalentemente), es el resultado de la acción de la plasmina sobre la fibrina estabilizada por el factor XIII. La molécula de D-dímero se considera por tanto, que es un reflejo de la actividad global de formación y lisis de coágulos y dado que no se puede generar *in vitro* tras la recogida de sangre, su determinación se considera indicador de la actividad hemostática *in vivo* (86).

##### 1.1.4.1.1. Estructura.

El antígeno D-dímero es un marcador único de degradación de la fibrina que se forma por la acción secuencial de 3 enzimas: trombina, FXIIIa y plasmina (Figura 1.3).

En primer lugar *la trombina* convierte el fibrinógeno plasmático en monómeros de fibrina. Estos monómeros de fibrina se asocian con fibrinógeno o fibrina para formar protofibrillas unidas por enlaces no covalentes que polimerizan y sirven como sustrato para activación del FXIII y formación de plasmina (87). La trombina queda asociada a la fibrina y activa al FXIII que circula unido al fibrinógeno. El complejo formado por polímeros de fibrina soluble, trombina y FXIII plasmático

promueve la formación de FXIIIa cuando polimeriza la fibrina y continúa después de que la fibrina ha formado un gel insoluble.

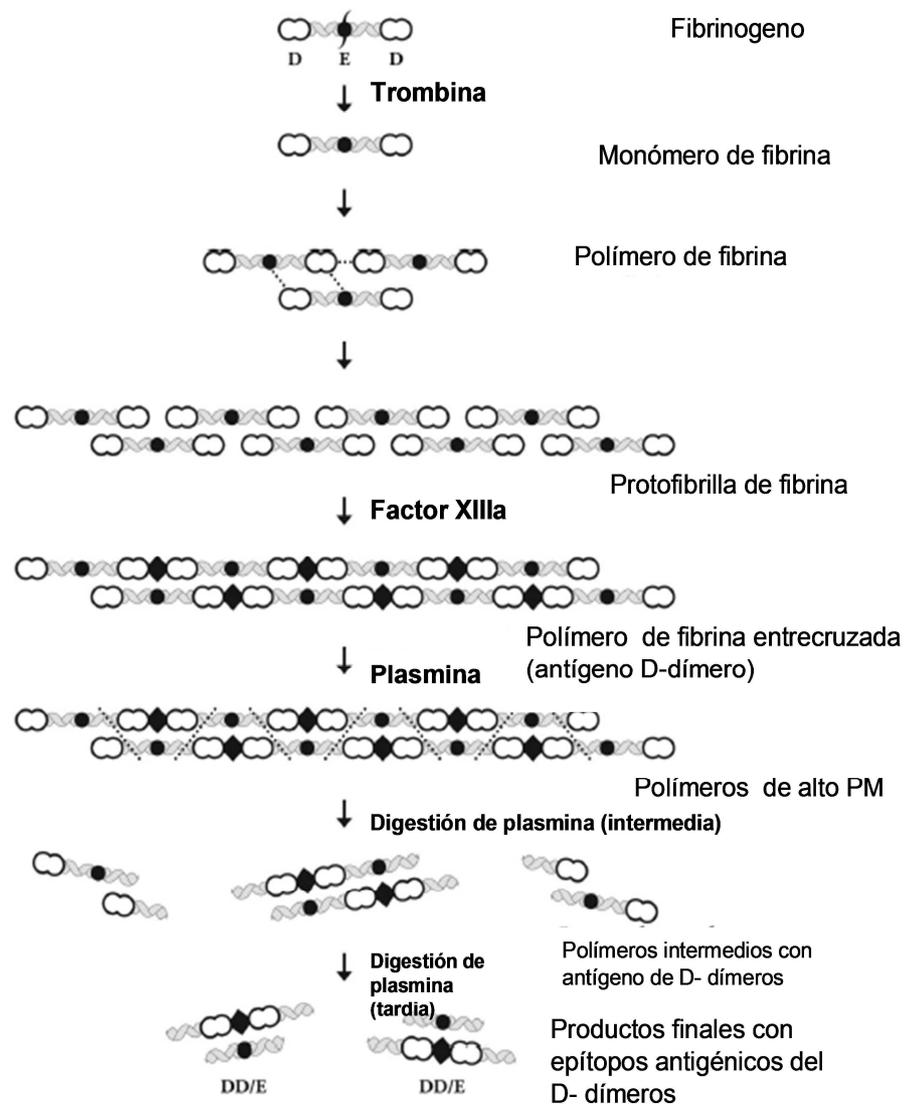
Posteriormente, el *factor XIIIa* por la trombina, cataliza la formación de enlaces covalentes entre los dominios D en la fibrina polimerizada. El FXIIIa es una trasglutaminasa que cataliza la unión de una amida entre el grupo amino de los residuos de lisina y el grupo carbonilo de residuos de glutamina, liberando amoníaco (88). Esta reacción puede producirse entre dos cadenas gamma, dos A- alfa o una gamma con una A-alfa de distintas moléculas. Hay dos tipos de entrecruzamiento: longitudinal, liga los extremos de monómeros alineados, y transversal entrecruza cadenas gamma de dos monómeros de hileras diferentes (89). El D-dímero es indetectable hasta que es liberado de la fibrina por la acción de la plasmina, que degrada la malla de fibrina liberando los productos de degradación y exponiendo el antígeno D-dímero.

La *plasmina* formada en la superficie de la fibrina por la activación del plasminógeno, libera el antígeno del D-dímero de los polímeros de fibrina antes y después de la formación del gel de fibrina (86;90). Así el antígeno de D-dímero detectado puede ser derivado tanto de los polímeros de fibrina soluble antes de su absorción en el trombo, como de los productos liberados por la acción de la plasmina sobre el trombo de fibrina insoluble (91).

La plasmina produce una escisión aleatoria de las moléculas de fibrina estabilizada, a nivel de las uniones no covalentes entre los dominios D y E de los monómeros originales de fibrina, respetando las uniones covalentes entre dominios D de moléculas adyacentes, quedando el DD junto al fragmento E como producto final.

Existen otros productos intermedios de mayor tamaño que se producen como consecuencia de este proceso, como son los denominados genéricamente oligómeros X y que incluyen fragmentos como los DY/YD o D-D/E, los cuales incluyen en su molécula el fragmento Dímero-D. De hecho, la molécula de Dímero-D libre representa una minoría dentro del

total de antígeno existente en plasma. La composición de los distintos fragmentos mencionados varía en virtud de cada individuo y de cada circunstancia clínica, dado que, este proceso no sigue un patrón establecido de forma homogénea. Por tanto, el Dímero-D se genera exclusivamente a partir de la degradación de la fibrina estabilizada, mientras que los PDF (productos de degradación del fibrinógeno) se originan tanto a partir de la degradación del fibrinógeno como de la fibrina no estabilizada; estos últimos originan fragmentos D monoméricos, pero nunca diméricos (92).



**Figura 1.4** Proceso de formación de D-dímeros. Tomado de Adam SS et al.(93)

**1.1.4.1.2. Fisiología.**

Los D-dímeros son producto de la degradación de la fibrina formados durante la lisis de un trombo. Es un conjunto de moléculas heterogéneas que tienen el mismo enlace proteico D=D, con un peso molecular de 180-200 Kdalton y una vida media circulante de 4-8 horas (94;95).

Las elevaciones de DD se detectan en plasma a la hora del inicio de la formación del trombo. Ante la presencia del trombo se produce una fibrinolisis continuada por lo que se podrán detectar niveles de D-dímeros durante este tiempo, que generalmente es de una semana. Después de un tromboembolismo venoso sus niveles aumentan cerca de ocho veces comparando con controles sanos, y estos niveles caen aproximadamente un cuarto del valor inicial entre la primera y segunda semanas desde dicho tromboembolismo (96).

Alcanza niveles más altos en pacientes con tromboembolismo venoso proximal que en aquellos con trombosis profunda de rodilla, con cifras máximas correspondientes a la mayor extensión de la trombosis (79).

*Fraser y cols* usando imágenes de resonancia magnética nuclear demostraron que los niveles de D-dímeros se correlacionan con el volumen del coágulo y el área de superficie del mismo (97).

Debido a que el 2-3% del fibrinógeno plasmático es degradado fisiológicamente a fibrina, pequeñas cantidades de DD son detectadas en plasma de sujetos sanos (cantidades generalmente inferiores a 250 ng/mL).

Dado su peso molecular no es probable que atraviesen la barrera placentaria (98).

Tiene un aclaramiento plasmático vía excreción urinaria fundamentalmente y a través del sistema retículo endotelial (99), aunque también está referido por algunos autores un aclaramiento hepático

(100;101) así, son eliminados normalmente por proteasas en los macrófagos del hígado y riñón.

Después del evento trombótico, los niveles de D-dímeros pueden normalizarse en 15-20 días (79), y por ello se consideran más útiles para el diagnóstico dentro de los 11 primeros días desde el inicio de los síntomas (79;96;102).

La formación y degradación de fibrina en exceso, y la consiguiente elevación de los Dímeros-D, no sólo se produce en procesos de naturaleza trombótica. Se pueden producir también fragmentos D monoméricos como consecuencia de la acción de elastasas de los neutrófilos y de metaloproteasas, los cuales pueden dar reacciones cruzadas en las técnicas de determinación de los Dímeros-D en cuadros inflamatorios agudos o crónicos (103;104). Por tanto, una elevación de los niveles de Dímeros-D por encima de los niveles normales no es específico ni sinónimo de la existencia de un proceso trombótico, sino que deben valorarse las circunstancias clínicas que concurren en cada paciente antes de interpretar un resultado anormal de DD.

#### **1.1.4.2 Métodos de laboratorio para su cuantificación.**

La fibrina entrecruzada genera determinantes antigénicos únicos, uno de los cuales es el que enlaza dos dominios D de monómeros de fibrina adyacentes. Así, el D-dímero (dos fragmentos D de fibrina unidos covalentemente), son los productos de degradación de la fibrina más pequeños y mejor caracterizados.

Existen varios métodos para la detección de los niveles de D-dímeros en sangre. Todos ellos son inmunológicos y utilizan anticuerpos monoclonales que reconocen epítomos presentes en el fragmento de D-dímero de la fibrina entrecruzada y que no se encuentran en productos de degradación del fibrinógeno o productos de degradación de la fibrina no entrecruzada ("noncrosslinked") (105;106). La detección del antígeno de D-dímero requiere anticuerpos monoclonales específicos (107) .

Varios epítomos de anticuerpos monoclonales han sido mapeados y el determinante antigénico reconocido es una cadena de polipéptidos en el dominio-D que son conformacionalmente reactivos después de que el FXIIIa y la plasmina han modificado la proteína (108).

Los anticuerpos frente al DD reaccionan no sólo frente a la molécula de DD libre procedente de la fibrina estabilizada, sino también frente a los fragmentos intermedios de degradación de la misma e incluso de la propia fibrina completa, que contienen en su estructura el DD. También puede existir reacción cruzada con PDF y/ o detectar productos de degradación de fibrina generados por otro enzima diferente a plasmina como la elastasa (104).

Los métodos actualmente disponibles para la determinación del D-dímero no son iguales debido a que el antígeno está presente en productos de degradación de diferentes tamaños, los anticuerpos monoclonales reconocen diferentes epítomos y, debido a que el

formato, el estándar de calibración e instrumentación varía según el método empleado (109;110).

Se ha intentado estandarizar y armonizar los distintos métodos empleados sin éxito, ello hace imposible la comparación de los resultados obtenidos entre cada uno de ellos, siendo así cada resultado método- específico (110-112).

De ahí, que la mayoría de autores aconsejen conocer el tipo y características de la técnica disponible en cada centro y que los laboratorios utilicen métodos previamente evaluados en estudios clínicos publicados (idealmente dentro del hospital en el cual se aplican), para poder incorporarlas a la estrategia diagnóstica con un elevado margen de seguridad (93).

La situación ideal, (como prueba de cribado), sería aquella en la que la técnica empleada para la determinación tuviera una alta sensibilidad para detectar todos los casos de enfermedad, con una moderada especificidad, para detectar solamente los casos de una enfermedad concreta (enfermedad tromboembólica). Además de intentar reunir características como (104) :

- Ofrecer resultados cuantitativos.
- Obtener resultados dentro de un amplio rango de valores.
- Poseer la menor reactividad cruzada posible con los PDF.
- Rapidez y disponibilidad (24h).
- Ser fácil de realizar y ser reproducible.
- Haber sido evaluada en estudios clínicos publicados (a ser posible en el hospital de su realización).

Los niveles de DD pueden aparecer elevados en una gran variedad de procesos tal y como se muestra en la Tabla 1.3, lo que hace que su determinación sea muy sensible pero poco específica. También se ha demostrado ampliamente que la especificidad del test es menor en ancianos (mayores de 80 años), pacientes ingresados (mayor

comorbilidad) y su valor predictivo negativo (VPN) aumenta proporcionalmente dependiendo de la sensibilidad del análisis y está relacionado inversamente con la prevalencia de la enfermedad en la población estudiada (102;113;114).

**Tabla 1.3** Circunstancias en las que las concentraciones de DD se encuentran elevadas.

<b>CONDICIONES CARACTERIZADAS POR ELEVADAS CONCENTRACIONES DE DÍMERO D</b>	
Trombosis venosa profunda	Cirrosis/ insuficiencia hepática
Embolia pulmonar	Insuficiencia renal
Sepsis	Crisis drepanocítica
Neoplasia, lisis tumoral	Aneurisma
Cirugía reciente	Diseccción Aorta
Politraumatismo, quemados	Distres respiratorio agudo
Hemorragia	Enfermedad inflamatoria
Insuficiencia cardíaca	Tratamiento trombolítico
Síndrome coronario agudo	Edad avanzada
Coagulación intravascular diseminada	<b>Periodo neonatal</b>
Ictus cerebral isquémico	Embarazo
Isquemia arterial periférica	Hospitalización

Algunos artículos de revisión refieren el periodo neonatal como circunstancia en la que los DD están elevados pero no lo referencian (92; 115; 116).

Los métodos de laboratorio actualmente disponibles para su determinación se pueden agrupar en tres grupos:

**a. El Enzimoimmunoensayo (ELISA, Ensayo inmuno-absorbente ligado a un enzima).**

ELISA convencional: es el estándar de referencia “gold standart” para la determinación de la concentración de DD. Un anticuerpo con alta afinidad por el D-dímero (“anticuerpo de captura”) se adhiere a una membrana o pocillo, donde se añade plasma del paciente de forma que el D-dímero se una al anticuerpo. Un segundo anticuerpo marcado con una sustancia fluorescente o cromogénica se añade (“anticuerpo de revelado”), y el contenido de sustancia marcada unida es directamente proporcional al contenido de DD presente.

Tiene una alta sensibilidad (90-100%), pero su especificidad es relativamente baja (30-40%), lo que hace que tenga una tasa elevada de falsos positivos (117).

El ELISA convencional no es práctico para el uso clínico debido a que es un método laborioso, que requiere la agrupación de lotes que incluyan varias muestras para su realización, es lento, de elevado coste y difícil utilización en muchos centros.

Los métodos rápidos, ELISA “de segunda generación” (IFA, ELFA inmunofiltración, inmunofluorescencia respectivamente) basados en los principios ELISA, tienen una sensibilidad similar al ELISA, y son más rápidos en su determinación, de 10 a 30 minutos (Nycocard D-dimer®, Instant IA D-dimer®, Vidas D-dimer® ELISA mini-VIDAS®, Acute care DDMR®) (118-122).

Se basan en la presencia de membranas porosas que se colocan con anticuerpos específicos de DD. Se filtra el plasma del paciente a través

de las membranas y se añade el anticuerpo marcado. Un cambio de coloración corresponde a concentraciones de DD mayor o igual que 0,5 µg/ml.

El VIDAS®, ELISA mini-VIDAS® y Acute care DDMR® son métodos inmunoenzimáticos de tipo sándwich, en 2 tiempos, con una detección final por fluorescencia (ELFA). Son cuantitativos y proporcionan un resultado numérico similar al ELISA convencional, con una sensibilidad y valor predictivo negativo (VPN) del 100% y valores de especificidad entre 34-52%.

Diversos estudios han demostrado que el test de ELISA rápido VIDAS puede reemplazar a los test de ELISA convencionales y convertirse en método de referencia para futuros estudios (120;123-126).

En 2007 *Di Nissio y cols* realizaron una revisión sistemática de todos los estudios con determinación de DD en pacientes con sospecha de tromboembolismo venoso. El mejor método fue el ELFA, seguido de ELISA microplate y del látex cuantitativo (127). En 2010, *Lippi y cols* en su revisión concluyen que un valor normal de DD mediante ELFA o técnicas ELISA permite excluir un episodio de tromboembolismo venoso sin necesidad de realizar otros test, teniendo siempre en cuenta la población estudiada (78;128).

Estos métodos ELISA de segunda generación se pueden realizar en tiempo real, son observador independiente y sus resultados se obtienen de 15-35 minutos.

Su principal inconveniente es que requieren analizadores específicos.

**b. Test semicuantitativo de Aglutinación LATEX.**

Consiste en el empleo de anticuerpos monoclonales unidos a partículas de látex. Se forman aglutinados macroscópicos cuando están presentes elevadas cantidades de dímeros D en sangre. Este método es menos sensible que el ELISA (117), pero más rápido, barato y asequible. Tiene una sensibilidad (70-90%) y especificidad (70-90%) moderadas (129). Requiere personal de laboratorio para la lectura visual y descripción de la magnitud de la aglutinación por lo que la variabilidad interobservador es inevitable (130;131).

Modificaciones de este método, implican la cuantificación de la concentración de D-dímeros utilizando un analizador que detecta precipitados fotométrica ó turbidimétricamente (MDA D-dimer®, STA Liatest®, Tinaquant® IL test®, BC D-Dimer Plus®, Turbiquant®).

Sus resultados están disponibles en 5-10 minutos y han conseguido aumentar su sensibilidad al ser observador independiente (132).

Estudios realizados en población adulta han reportado la utilidad de métodos turbidimétricos como el STA Liatest® en el diagnóstico de TVP, TEP, CID, embarazo y cáncer. En ellos se refiere una sensibilidad para un nivel de corte de 0,5 mg/L de entre 94-100% con una especificidad 36-50% y un valor predictivo negativo de 95-100% siendo comparable en eficacia y seguridad a los métodos ELISA pero más fáciles y asequibles para la realización en urgencias (133-135).

El principal interés de estos métodos reside en su automatización en los autoanalizadores de bioquímica y de hemostasia (los mismos analizadores usados para perfiles analíticos normalizados), su rapidez de ejecución (algunos minutos) y su costo menor que la prueba ELISA.

**c. Aglutinación en SANGRE TOTAL, de eritrocitos. (SimpliRED®):**

Consiste en la utilización de un anticuerpo biespecífico que ocasiona una aglutinación de los hematíes en presencia del dímero D. Se utiliza con una gota de sangre entera y los resultados se obtienen en dos minutos (136). Es un método semicuantitativo. Forma parte del grupo de técnicas conocidas como “point of care” o pruebas de cabecera, que se realizan en o cerca del sitio de atención al paciente. Varios autores reportan una sensibilidad similar al ELISA convencional. Tiene la ventaja de la facilidad de su realización, rapidez y bajo coste, pero la lectura es visual con la variabilidad interobservador que ello implica (137-139).

El último método propuesto *Clearview Simplify D-dimer®* es un método cualitativo inmunocromatográfico. Utiliza el anticuerpo monoclonal murino específico de dímeros D, DD3B6/224, conjugado con partículas de oro coloidal, para detectar moléculas que contengan dímero D. El reactivo conjugado anticuerpo-oro se une específicamente a las moléculas que contienen dímero D en la muestra del paciente para formar un complejo. El complejo anticuerpo-oro-dímero D migra a través de una membrana en la fase acuosa hasta ser capturado y concentrado en una zona en la cual un segundo anticuerpo monoclonal murino específico de dímero D ha sido ligado. La captura de los complejos en esta zona produce una línea rosa/púrpura que aparece en la membrana. Si las concentraciones de DD están por debajo del límite clínicamente establecido, no se produce ninguna línea visible. El complejo de oro no capturado continúa fluyendo hasta el extremo de la tira donde es captado en la zona de control del procedimiento por un anticuerpo anti-murino. La formación de una línea rosa/púrpura en la zona de control indica que el dispositivo está funcionando de acuerdo a lo diseñado (140).

La especificidad y sensibilidad de cada uno de los métodos referidos es diferente debido a que pueden reaccionar con productos de degradación del fibrinógeno de diferentes tamaños (110). La correlación entre los diferentes métodos es escasa, y actualmente no es posible estandarizar los resultados de los diferentes métodos, haciendo difícil extrapolar los resultados de un contexto a otro (141). Sin embargo, la correlación entre los resultados de técnicas distintas pertenecientes al mismo grupo es elevada.

***d. Características de los métodos de laboratorio más frecuentemente utilizados para la determinación de Dímeros –D.***

En el momento actual existen más de 30 pruebas diferentes para evaluar los D-Dímeros, algunas de las cuales se reflejan en la Tabla 1.4

En cada prueba se especifica, la técnica o metodología que se utiliza para realizarla, seguida del nombre comercial de la prueba y firma farmacéutica que lo fabrica, la línea de corte establecida a partir del cual se considera que el test es patológico, la valoración de la sensibilidad y especificidad así como de otras características relevantes de cada prueba como, si se realizan en plasma o sangre total, si son cualitativos o cuantitativos, si es de realización manual o automatizada etc. Por último se especifican las series de casos publicados más importantes con cada uno de los métodos.

Tabla 1.4 Métodos de laboratorio utilizados para la determinación de DD.

TÉCNICA	FIRMA COMERCIAL	Línea de corte (ng/ml)	Sensibilidad	Especificidad	Características	Series
<b>ELISA convencional (microplate ELISA)</b>	Asserachrom DD (Stago) Enzygnost (Dade Behring)	500	Alta	Baja	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Prueba de referencia</li> <li>▪ Utilidad clínica limitada.</li> <li>▪ Manual.</li> <li>▪ Muestra plasma.</li> </ul>	Boumameaux y cols (142)
<b>ELISA ELFA (fluorescencia)</b>	VIDAS DD (BioMérieux) AxSym DD ( Abbott) Stratus D-dimer (Dade Behring)	500	Alta	Baja	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Técnica rápida.</li> <li>▪ Sensibilidad similar al ELISA convencional.</li> <li>▪ Cuantitativo</li> <li>▪ Automatizada.</li> <li>▪ Muestra plasma</li> </ul>	Mountain D y cols (143) Carrier M. y cols (144) Van Belle A. (145) Freyburger G (124) De Moerlooose (120)
<b>ELISA quimio-luminiscencia</b>	Immulite (Siemens) Pathfast (Mitsubishi)	500	Alta	Baja	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Técnica rápida.</li> <li>▪ Sensibilidad alta.</li> <li>▪ Automatizada.</li> <li>▪ Muestra plasma, sangre total (Pathfast)</li> </ul>	Dempfle y cols (146) Lippi G (147)
<b>ELISA IFA Inmunofiltración y sándwich</b>	Nycocard (Nycomed) Instant IA (Roche) Cardiac D-dimer (Roche)	500	Alta  Alta	Baja, Intermedia Alta	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Técnica rápida.</li> <li>▪ Sensibilidad alta.</li> <li>▪ Semicuantitativo, cualitativo</li> <li>▪ Automatizada. Manual (Instant IA)</li> <li>▪ Muestra plasma</li> <li>▪ Sangre total (Cardiac DD)</li> </ul>	Scarano y cols (118) Elias A y cols (121) Killick y cols (148) Dale S (119)
<b>LÁTEX semicuantitativo</b>	Dimertest latex (IL) Fibrinosticon (BioMérieux) DDI latex (Stago)	130-500	Intermedia	Intermedia	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Técnica rápida.</li> <li>▪ Sensibilidad insuficiente</li> <li>▪ Manual</li> <li>▪ Muestra plasma</li> <li>▪ Observador dependiente</li> </ul>	Sukhu y cols (149) Veitl y cols (150) Janssen (125) Legnani C (151)
<b>AGLUTINACIÓN SANGRE TOTAL</b>	SimpliRED (Agen) Clearview Simplify DD(Agen)	—	Alta (Intermedia en algunos estudios)	Intermedia	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Técnica rápida.</li> <li>▪ Sensibilidad alta en pacientes con baja probabilidad clínica</li> <li>▪ Cualitativo, semicuantitativo.</li> <li>▪ Manual</li> <li>▪ Muestra Sangre Total</li> <li>▪ Observador dependiente</li> </ul>	De Groot y cols (152) Toulon y cols (153) Di Nisio y cols (127) Neale D (154)
<b>Látex 2ª generación: Inmuno-fotométrico (LPIA) Inmuno-turbimétrica</b>	TinaQuant (Roche) Liatest (Stago) Automat Dimertest (Agen) MDA DD (BioMérieux) Turbiquant (Dade Behring)	500	Alta	Intermedia	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Técnica rápida</li> <li>▪ Sensibilidad similar a ELISA convencional</li> <li>▪ Semicuantitativo</li> <li>▪ Automatizada</li> <li>▪ Muestra plasma</li> </ul>	Van d Graaf y cols (126) Froehling y cols (135) Curtin y cols (155) Brown y cols (132) Freyburger (156)

Fuente: Adaptado Adams S et al (93), Kelly et al (102), Palareti et al (130), Righini et al. (157)

**e. Factores que influyen en la determinación de los niveles plasmáticos.**

Además de las razones metodológicas existen causas clínicas que suponen una variación de los niveles de D-dímeros, y que deben tenerse en consideración a la hora de intentar interpretar y generalizar resultados (109).

- Variaciones debidas al método de análisis (104;110;156;158):
  - Diferencias en la especificidad del anticuerpo hacia el epítipo del D dímero.  
El antígeno DD está presente en productos de degradación de diferentes tamaños, por lo que los anticuerpos monoclonales reconocen diferentes epitopos. Existe una reactividad variable del anticuerpo empleado en la técnica diagnóstica frente a fragmentos de alto o bajo peso molecular.
  - Carencia de unidad estándar de medida.  
Algunos fabricantes utilizan unidades fibrinógeno equivalentes (FEU) mientras otros utilizan unidades de D-dímero (ng/mL ó µg/L) según empleen como calibrador fibrinogeno purificado a partir del cual se obtiene un coágulo de fibrina degradado por plasmina en condiciones controladas, o fragmentos de DD purificados. La equivalencia entre ambas es de 2 FEU por cada µg/L, basándose en que una unidad de FEU es aproximadamente el doble de la masa de una unidad de D-dímero.
  - Carencia de consenso acerca de los valores de corte para considerar un test anormal.  
Los laboratorios determinan los valores de corte de diagnóstico para el dímero-D, a partir de curvas de

referencia método-específicos establecidos, usando los calibradores del fabricante.

El punto de corte más utilizado es de 500 ng/mL (0,5 µg/L) si bien es motivo de discusión actual la conveniencia de emplear distintos puntos de corte en pacientes de diferentes edades y características clínicas, así como en las diversas indicaciones de empleo del DD (92;159).

- Carencia de método de análisis estándar.

Cada método utiliza su propio calibrador y actualmente no existe método establecido de referencia, estandar primario o un calibrador universal estándar para el análisis de DD. Además cada método establece una especificidad y sensibilidad diferente.

- Errores de interpretación que ocurren cuando se utilizan métodos basados en lectura visual (95).
- Interferencias analíticas en la realización del test: muestras hemolizadas, hipertrigliceridemia, hiperbilirrubinemia, concentraciones elevadas de factor reumatoide, del marcador tumoral CA-125 del cáncer ovárico, pueden dar resultados falsamente positivos. La presencia de autoanticuerpos que actúen a bajas temperaturas (crioaglutininas) o plasma muy lipémico puede dar concentraciones de DD falsamente disminuidas por interferir en los ensayos basados en métodos de aglutinación e inmunoturbidimetría (160).

- Variaciones debidas al contexto clínico:

- Diferente estándar de referencia para el diagnóstico de trombosis venosa profunda (TVP) o tromboembolismo pulmonar (TEP) (161). Criterios diagnósticos de enfermedad diferentes. Algunos trabajos establecen como prueba de referencia algún método de imagen no invasivo o un seguimiento de 3 meses, obteniéndose una tasa de

falsos negativos que probablemente podría ser menor que los datos reales.

- Prevalencia variable de la enfermedad TVP, TEP según la población estudiada. El valor predictivo negativo es mayor en estudios de pacientes ambulatorios debido a que la prevalencia de la enfermedad es menor que en pacientes hospitalizados (162).
  - Heterogeneidad de pacientes estudiados.
- Variaciones debidas a características del paciente:
- Extensión de la enfermedad. La menor extensión de la trombosis puede estar asociada con niveles menores de D-dímeros (157). Algunos autores relacionan la masa de fibrina del coágulo con el nivel de DD (79;97).
  - Localización del trombo. La TVP distal (venas infrapoplíteas) comprende aproximadamente el 20% de los casos. En este subgrupo la sensibilidad es menor (163). También se han observado diferencias en la embolia pulmonar con localización en arterias subsegmentarias o segmentarias siendo menor la sensibilidad en las subsegmentarias (126;164).
  - Duración de los síntomas. Una mayor duración puede asociarse con niveles menores de DD. A partir de los 7-15 días después de del inicio de los síntomas disminuye la sensibilidad del test, ya que sus niveles son menos de un 25% de los iniciales y continúan disminuyendo después (96;165). La mayor edad del trombo lo hace menos susceptible a la digestión por la plasmina.
  - Uso de anticoagulantes. La sensibilidad del test puede estar disminuida en pacientes anticoagulados. La heparina o anticoagulantes orales reducen la formación y depósito de fibrina y por tanto, reducen los niveles de DD (166-168).

- Presencia de condiciones comórbidas que disminuyen la especificidad. En una población con alta morbilidad (hospitalizados, oncológicos, post quirúrgicos, etc) existe mayor prevalencia de niveles elevados de DD en plasma, y en estos subgrupos se discute la utilidad de su medición como método de cribado, debido al bajo porcentaje de pacientes con valores normales de dímero-D (113;169;170).
- Edad (mayores de 80 años). Los pacientes de edad avanzada presentan con mayor frecuencia valores elevados de DD. Este hecho se podría explicar porque en este grupo la comorbilidad también es mayor. La especificidad de los test diagnósticos es por tanto menor en este grupo de edad (99;170-173) y por ello, por encima de 80 años de edad, el coste-eficacia del DD no aconseja su uso rutinario. Se ha planteado el establecimiento de puntos de corte diferentes para distintos grupos de edad, pero no se ha generalizado (157;159).
- Embarazo. Los niveles de DD aumentan de manera constante durante un embarazo normal, reflejando una activación fisiológica de la coagulación y fibrinólisis que prepara a la gestante para el parto. Sin embargo, no hay establecidos unos parámetros de normalidad, ni tampoco valores de corte específicos para el diagnóstico de TVP en la embarazada, lo cual disminuye la especificidad y utilidad clínica del test (174).
- Medicaciones. La aspirina, algunas estatinas, warfarina y medicinas antitrombóticas disminuyen los niveles de DD al reducir formación y depósito de fibrina, al contrario que medicaciones que contengan estrógenos, prostaciclina, lidocaína, uroquinasa, estreptoquinasa que los aumentan (175).

### 1.1.4.3 Importancia clínica

La determinación plasmática de los niveles de DD ha demostrado su utilidad clínica en:

#### **a) Diagnóstico y exclusión de Trombosis Venosa Profunda (TVP)**

En adultos, entre las principales aplicaciones clínicas de la determinación del D-dímero, la más ampliamente utilizada, es ayudar al diagnóstico del tromboembolismo pulmonar (TEP) y trombosis venosa profunda (TVP) (117). En este caso concentraciones bajas de D-dímeros prácticamente descartan (debido a su elevada sensibilidad y valor predictivo negativo) y por su bajo coste se ha incorporado a los algoritmos diagnósticos de estas patologías (176;177) bien como única maniobra diagnóstica o en combinación con otras herramientas como la ecografía con compresión o la gammagrafía pulmonar, *siempre* precedida por una adecuada evaluación y estratificación de la probabilidad clínica previa (baja, moderada, alta).

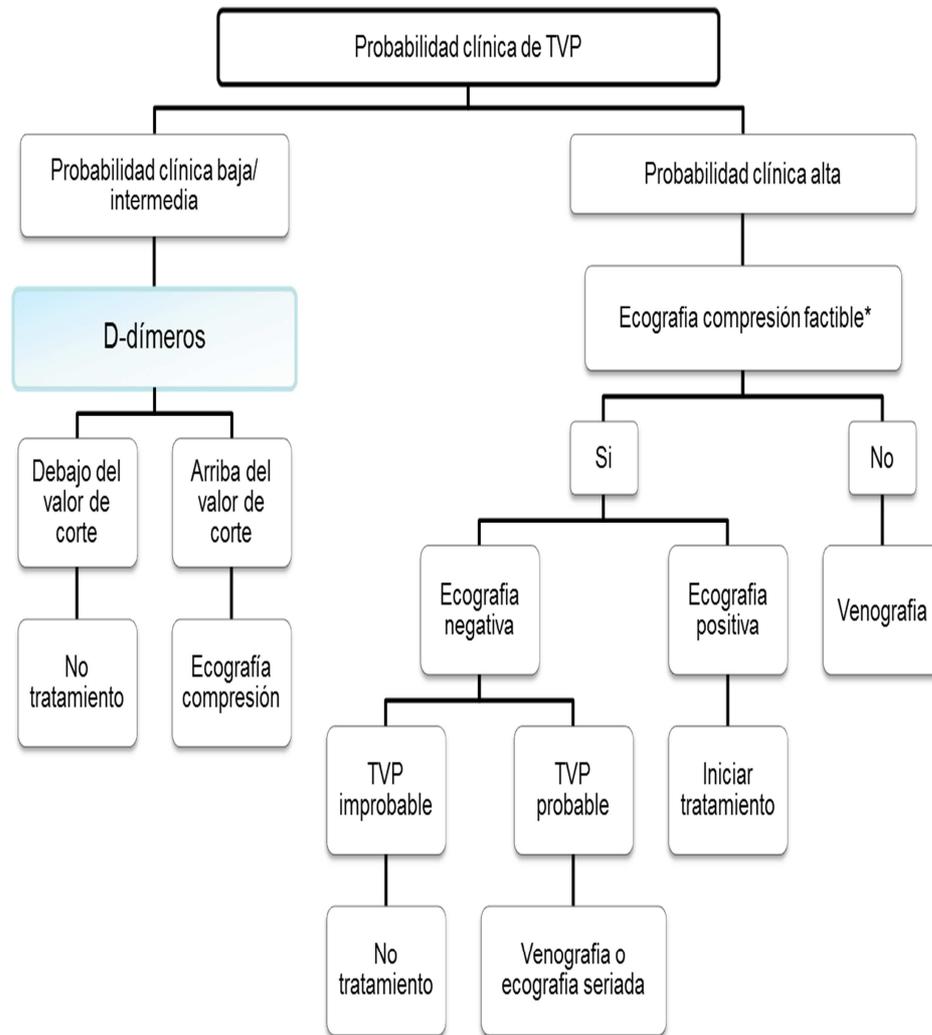
En pacientes ambulatorios, numerosos estudios han demostrado que si se utilizan test con una sensibilidad próxima al 100% y una especificidad razonable, pueden utilizarse el D-dímero para descartar TVP de forma segura y eficaz salvo en aquellos casos en que exista una probabilidad clínica alta (178;179).

Una estrategia alternativa consiste en emplear la determinación de DD después de una ecografía venosa con compresión o de una gammagrafía pulmonar, con métodos menos sensibles pero más específicos (aglutinación en sangre total o látex).

Según diversos estudios una probabilidad clínica pre-test baja y un D-dímero negativo o una ecografía normal y un D-dímero negativo se asocian a un riesgo menor de 0,5% de padecer una TVP, no siendo necesaria la realización de otras exploraciones complementarias para descartar el diagnóstico (180;181).

En pacientes hospitalizados, el diagnóstico de TVP es más complicado por el hecho de que los niveles de DD están frecuentemente elevados, lo que limita su utilidad para la exclusión de TVP (162). La elevación de los valores basales puede ser resultado de procesos subyacentes que inicien la formación intravascular de fibrina sin resultar necesariamente en la formación de trombo (182) o ser resultado de respuestas inflamatorias que activen la coagulación (183), como ocurre en los pacientes de edad avanzada (173). En estos pacientes, la comorbilidad y un menor aclaramiento hepático del DD también contribuyen a encontrar unos niveles más elevados que disminuyen su especificidad y por tanto su utilidad para exclusión de TVP (169).

En resumen, la determinación de DD en la TVP se encuadra dentro de un algoritmo diagnóstico basado en una estratificación clínica y pruebas de imagen no cruentas, y supone la simplificación de la estrategia diagnóstica y la reducción de la necesidad de exploraciones complementarias (Figura 1.5)



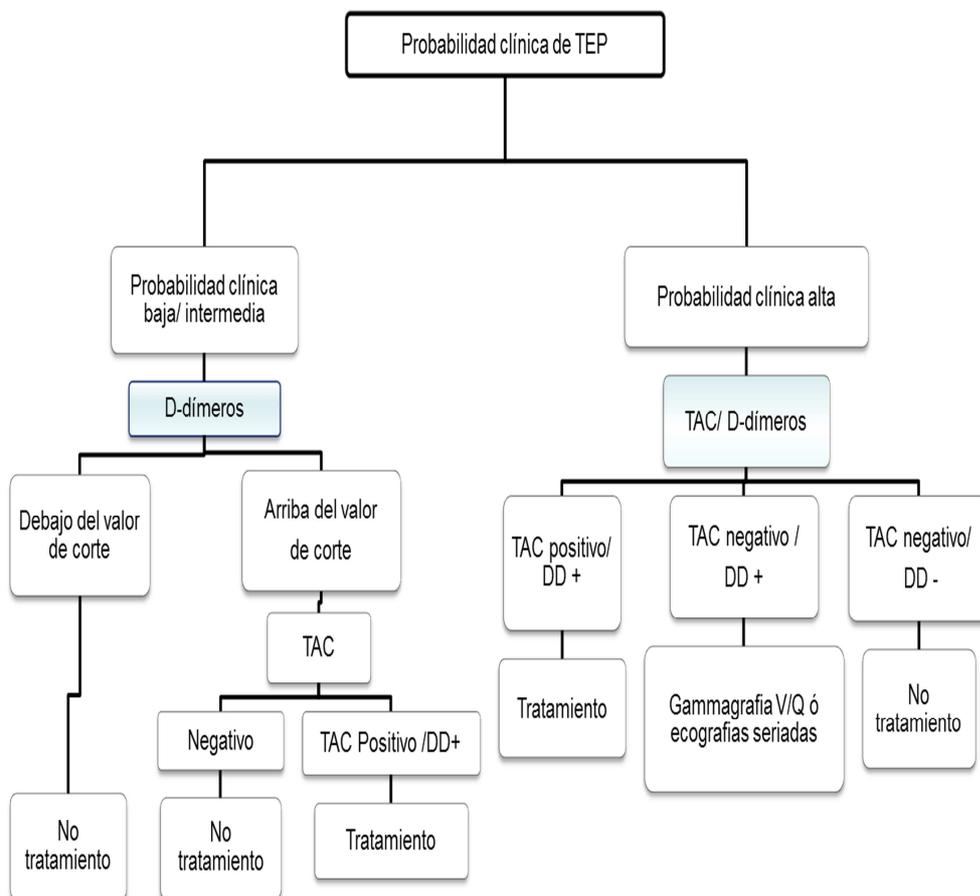
**Figura 1.5** Algoritmo clínico utilizado para el diagnóstico de pacientes con trombosis venosa profunda (TVP). Nótese el lugar que ocupan los D-dímeros (DD).

En pacientes con una baja probabilidad clínica y un DD negativo se descarta la TVP y no van a requerir más exploraciones complementarias. Pacientes con probabilidad clínica alta y/o DD por encima del valor de corte, precisan otras exploraciones complementarias (ecografía con compresión o venografía) para descartar o confirmar el diagnóstico.

\* En algunas situaciones como en la obesidad mórbida la ecografía con compresión puede no resultar factible.

### b) Diagnóstico y exclusión de Tromboembolismo pulmonar (TEP)

En el Tromboembolismo Pulmonar igualmente la determinación de los niveles de D-dímeros forma parte de algoritmos diagnósticos, que junto con la probabilidad clínica pre-test permite excluir el diagnóstico en pacientes con baja probabilidad clínica y DD normal, obviando así la necesidad de realizar evaluaciones más costosas. Numerosos estudios confirman estos hechos (145;169;184-186). Y aunque no existe consenso en cual ha de ser el algoritmo diagnóstico en caso de sospecha de TEP una propuesta válida sería la siguiente. Figura 1.6



**Figura 1.6** Algoritmo clínico para el diagnóstico del embolismo pulmonar (TEP). Pacientes con baja probabilidad clínica y D-dímeros (DD) negativos no van a requerir otras exploraciones para descartar el diagnóstico.

Estudios recientes objetivan que niveles marcadamente elevados de D-dímeros aumentan la probabilidad de diagnóstico de embolismo pulmonar (187).

En ambos casos (TVP, TEP) su coste-eficacia ha sido ampliamente demostrado en pacientes con baja probabilidad clínica.

### **c) Detección recurrencias de TVP.**

La incidencia de recurrencia tras finalizar el tratamiento anticoagulante de un primer episodio de TVP o TEP se estima en 7-20% en el primer año y 25% a los 5 años. Este riesgo es mayor en los primeros meses tras suspender la anticoagulación.

Diversos estudios han intentado identificar factores que ayuden a predecir el riesgo de recidiva trombótica y así ajustar la duración del tratamiento anticoagulante, siendo el DD el marcador biológico más importante en este sentido. Así, *Andreescu AC. y cols* concluyen en su estudio, que niveles aumentados de DD pueden tener valor predictivo como factor de riesgo de TVP en pacientes que ya han padecido un primer episodio de TVP (188).

Igualmente otros estudios reflejan que su determinación parece tener un valor predictivo, esencialmente negativo, para la detección de recurrencias tras el cese del tratamiento anticoagulante (96;189-191)

### **d) Duración y eficacia del tratamiento anticoagulante**

Relacionado con la detección de recurrencias, estudios recientes consideran su utilidad para determinar la duración del tratamiento anticoagulante. En estos casos la presencia de DD por encima del valor de corte definido, podría ser un indicador para prolongar dicho tratamiento (192;193).

En otros estudios, se ha evaluado su utilidad para valorar la eficacia del tratamiento anticoagulante (166;167;190). Es importante tener en cuenta que su sensibilidad en estos casos está disminuida (168).

**e) Identificación de individuos con riesgo aumentado de padecer un primer episodio de TVP.**

La asociación de concentraciones plasmáticas elevadas de determinados marcadores biológicos de activación de la coagulación y fibrinolisis y el riesgo de trombosis venosa se ha referido en muchos estudios, siendo los niveles elevados de DD los marcadores que asocian un riesgo relativo mayor (194;195).

**f) Utilidad en pacientes con cáncer.**

Estudios recientes sugieren que los DD como marcador de generación y degradación de fibrina podría tener aplicabilidad clínica en el paciente oncológico:

- **Exclusión de TVP y TEP.**

Los mayores niveles de D-dímeros encontrados en pacientes con cáncer incluso en ausencia de trombosis (por activación basal de la coagulación) y, la carencia de algoritmos diagnósticos validados (mayor prevalencia de TVP en pacientes oncológicos y escalas de valoración preclínica que incluyen la presencia de cáncer activo en su puntuación) disminuye la especificidad y VPN de la determinación de los D-dímeros para la exclusión de TVP y TEP en estos pacientes (196;197).

Hay estudios en pacientes oncológicos que encuentran que los niveles de D-dímeros tienen un elevado VPN y sensibilidad para el diagnóstico de embolismo pulmonar (198).

Sin embargo, debido a la escasa tasa de pacientes oncológicos con probabilidad preclínica baja y valores de DD negativos, su utilidad en la práctica clínica es baja.

- **Predictor de TVP.**

El riesgo de TVP está aumentado en pacientes con cáncer y las guías clínicas más recientes recomiendan la utilización sistemática de profilaxis antitrombótica en pacientes hospitalizados con cáncer

activo. Por ello, los niveles elevados de DD se han sugerido como indicadores del riesgo de sufrir TVP o recurrencia de la misma tras retirada del tratamiento anticoagulante (199).

- **Marcador de cancer oculto**

Aunque controvertido, la presencia de DD elevados en pacientes que han sufrido un episodio de TVP idiopática se ha asociado a mayor incidencia posterior de cáncer (200).

- **Factor pronóstico**

Existen estudios donde se relacionan niveles elevados de DD con pronóstico desfavorable (201).

### **g) Exclusión de TVP en el embarazo**

A pesar de que los niveles de DD aumentan durante el embarazo (174) y no están establecidos rangos de normalidad consensuados, *Chan WS. y cols* demuestran en un estudio prospectivo su utilidad para excluir TVP en los dos primeros meses de embarazo en mujeres con probabilidad clínica baja (202), aunque son necesarios estudios clínicos más amplios que validen estos resultados.

### **h) Utilidad en el diagnóstico de CID**

La coagulación intravascular diseminada (CID) resulta de la activación y estimulación excesiva del sistema de coagulación con depósito de fibrina en la microcirculación (microangiopatía trombótica) y fibrinólisis secundaria. En este sentido el DD constituye una prueba importante para su diagnóstico en combinación con los hallazgos clínicos, formando parte de los algoritmos diagnósticos (203).

Como biomarcador dinámico su aumento en el contexto de empeoramiento de la CID, puede ser de utilidad para reorientar el tratamiento de la fibrinólisis secundaria (204).

**i) Utilidad en el diagnóstico de trombosis venosa cerebral.**

En la trombosis venosa cerebral, niveles elevados de D-dímeros acompañado de cuadro clínico sugestivo apoyarían el diagnóstico de la misma, aunque unos niveles bajos no serían suficientes para excluir este diagnóstico (205;206).

También se han determinado en otras enfermedades cerebrovasculares como la hemorragia cerebral, el ictus isquémico y la hemorragia subaracnoidea donde su falta de sensibilidad y especificidad no pueden sustituir a una evaluación clínica y radiológica (207).

**j) Utilidad en la enfermedad coronaria.**

Se ha asociado a la incidencia de síndromes coronarios y su recurrencia, aunque su falta de especificidad (sobre todo si existe comorbilidad) ha limitado su uso en esta patología (208). También como marcador de eventos trombóticos cardiovasculares en pacientes con enfermedad arterial periférica, sin embargo, debido a la heterogeneidad de los estudios existentes la interpretación debe ser cautelosa (209).

**k) Predicción de trombosis en fibrilación auricular.**

Niveles elevados de DD se han asociado a una mayor incidencia de fenómenos tromboembólicos y de otras complicaciones cardiovasculares en pacientes que han sufrido una fibrilación auricular (210).

**l) Diagnóstico de la disección aguda de Aorta.**

Aunque puede ser de utilidad para descartar aneurisma de aorta abdominal, o la disección aguda de Aorta, la condición amenazante de la vida hace que la determinación de los DD no deba impedir la evaluación del riesgo y el uso de la prueba de imagen diagnóstica (211;212).

**m) Monitorización del riesgo de trombosis en pacientes sometidos a tratamiento con factores de crecimiento hematopoyético:** eritropoyetina recombinante (EPO), factor estimulante de colonias granulocíticas (G-CSF) y factor estimulante de colonias granulocito-macrófagos (GM-CSF).

No está claro si el factor de crecimiento por sí sólo o el régimen de tratamiento en combinación con el proceso de la enfermedad subyacente conduce a la trombosis. La evaluación de los niveles de DD en pacientes sometidos a tratamiento con estos factores de crecimiento podría ser de utilidad en la predicción de la trombosis en estos pacientes (213).

**n) Monitorización del riesgo de trombosis en pacientes sometidos a determinados tratamientos con quimioterapia y trasplante de médula ósea (TMO).**

Se han encontrado niveles de DD aumentados en pacientes sometidos a tratamientos con agentes quimioterápicos y en pacientes con complicaciones postrasplante (214).

**o) Diagnóstico de estados de hipercoagulabilidad en anemia de células falciformes o talasemias.**

La drepanocitosis se asocia a un estado de hipercoagulabilidad que puede ser evidenciado por el aumento de DD, al igual que en la trombosis que asocia como complicación la talasemia intermedia, sobre todo tras la esplenectomía (215;216).

**p) Marcador pronóstico de enfermedades inflamatorias.**

Se ha demostrado útil como marcador pronóstico en la isquemia intestinal o hemorragia digestiva (176;217;218).

#### 1.1.4.4 Importancia de la determinación de los D-dímeros en neonatos.

##### a) Incidencia relativa de manifestaciones trombóticas en época neonatal.

Debido a las especiales características del sistema hemostático en niños, las manifestaciones trombóticas en población pediátrica no son raras. Los avances en el manejo y supervivencia de la patología pediátrica grave, han supuesto un incremento en los fenómenos tromboembólicos, dado el aumento de técnicas diagnósticas y terapéuticas invasivas (catéteres centrales, cirugía de alto riesgo...) y la presencia concomitante de otros factores que pueden alterar la hemostasia. A ello se asocia la mejora en los métodos para diagnosticarlas. En los últimos años numerosos trabajos reflejan este hecho en lo que han llamado *“new epidemic in pediatric tertiary care hospitals”* (219). Consideran la trombosis como una enfermedad característica del paciente hospitalizado y, tradicionalmente del recién nacido con catéteres centrales.

La incidencia anual de tromboembolismo en niños en los registros publicados es de 0,07 a 0,5 de cada 10,000 niños y 5,3 de cada 10,000 admisiones hospitalarias, excluidos neonatos y accidentes cerebrovasculares (220-222). Recientemente se ha publicado un estudio multicéntrico en Estados Unidos que recoge datos de 7 años (2001-2007) y que demuestra un aumento de la tasa anual de TVP del 70% (pasando de 34 a 58 casos por 10,000 niños, incluidos neonatos) (219).

En la mayoría de estudios publicados la incidencia es mayor en neonatos (1-28 días), con un segundo pico en la pubertad y adolescencia (219-224). Debido a las bajas concentraciones de los inhibidores de la coagulación y a la limitada capacidad fibrinolítica, asociado a un aumento fisiológico del hematocrito, el riesgo de presentar complicaciones tromboembólicas es mayor en neonatos respecto al niño mayor, especialmente en neonatos enfermos, con catéteres, infección o

hipoxia, siendo referida una incidencia neonatal de tromboembolismo que varía de 0,51 casos por 10,000 RN vivos en el registro alemán, a 0,24 casos/10,000 admisiones neonatales en unidades de cuidados intensivos, en el registro canadiense e internacional (224-227) .

La trombosis espontánea es rara en el niño, en la mayor parte de los casos se observan uno o más factores de riesgo protrombóticos (220) . En el registro canadiense sólo el 3% de casos presentaron TVP o embolia pulmonar espontáneas y más del 75% tenían 2 o más factores de riesgo trombótico, datos que coinciden con los obtenidos en otros registros (202-207). Estos factores de riesgo pueden ser congénitos o adquiridos (Tabla 1.5) El catéter intravascular (arterial y venoso) es el factor de riesgo más importante, presente en el 90% de los procesos tromboembólicos neonatales y 50% de otras edades (226) .

**Tabla 1.5** Factores de riesgo de trombosis venosa y arterial en neonatos.

<b>Hereditarios</b>	<b>Adquiridos</b>
Déficit de Prot C, Prot S	<b>Catéter intravascular</b>
Elevación FVIII	Infección / sepsis/ shock
Deficiencia de AT, ADAMTS 13	Hipoxia, asfixia, acidosis
Resistencia PC activada/FVLeiden	Prematuridad
Mutación protombina 20210A	S distres respiratorio (SDR)
Deficit cofactor II de la heparina	Hijo madre DM
Disfibrinogenemia	Cardiopatía congénita
Hipoplasminogenemia	Policitemia
Homocistinuria, S Marfan	Deshidratación, hipovolemia
Hipercolesterolemia familiar	Cirugía: cardiovascular, ortopédica
Elevación lipoproteína	Cáncer, trasplante
Drepanocitosis	Traumatismo, inmovilización
S.Antifosfolípido	Enfermedad inflamatoria, reumática renal, vascular

*Adaptada E.Monteagudo (228).*

**b) Importante morbimortalidad.**

La TVP produce una morbilidad significativa tanto a corto como a largo plazo que depende del vaso trombosado y el tiempo que se tarde en restablecer el flujo. Puede dar lugar a TEP sintomático (6-8%), síndrome posttrombótico (>30%) o recurrencia (6-21%) (220;224;229).

La recurrencia (interpretada como nueva TVP o TEP) según el registro canadiense es del 18,5%. Es importante destacar que el 70% de estos pacientes estaban con tratamiento anticoagulante, a diferencia de los adultos que si bien recurren aproximadamente el 20%, lo hacen generalmente cuando están fuera de tratamiento. El riesgo de recurrencia después de una TVP espontánea puede ser mayor si va asociado a un anticoagulante lúpico o en pacientes que combinan un factor congénito con otro adquirido (230).

Se ha relacionado la existencia de valores elevados de factor VIII, DD o ambos al diagnóstico, y la persistencia de al menos uno de ellos después de los 3-6 meses de anticoagulación, con una mala evolución en niños con trombosis (231).

La trombosis arterial a nivel de los miembros puede dar lugar, a disimetrías por hipotrofia del miembro, atrofia muscular y síndrome de claudicación. A nivel renal (neonatos canalizados vía umbilical) puede ser causa de morbimortalidad por HTA e insuficiencia renal (228).

A nivel cerebral, están descritos déficits neurológicos residuales o síndrome convulsivo hasta en un 66% de pacientes tras un accidente isquémico cerebrovascular, y una mortalidad del 5% (232). Un tercio de los ACV aproximadamente, suceden en el período neonatal.

Se han comunicado casos de trombosis neonatal resuelta, con secuelas a largo plazo como HTA y disimetrías de miembros (233) y, casos de

síndrome posttrombótico en niños con antecedentes de trombosis neonatal incluso cuando esta pasó desapercibida (234).

La mortalidad directamente atribuible a TVP se estima según el registro canadiense en 1,5-2,2% (2 embolias pulmonares y 1 trombosis extensa de cava inferior) (220). *Monagle P. y cols* refieren una mortalidad directa estimada en un 2% (221). En el registro estadounidense no está referida la tasa de mortalidad directa, refieren una tasa de mortalidad del 8% que ellos atribuyen fundamentalmente a la causa subyacente.

La mortalidad neonatal observada en el registro internacional (226) va desde el 5% en niños con trombosis de la vena renal, 18% en otros territorios venosos, 21% trombosis arteriales y 25% en casos de trombosis mixta (arterial y venosa). Hay que tener en cuenta que muchos de ellos sufren enfermedades graves y/ o son muy inmaduros. Las ubicaciones que tienen un peor pronóstico son aurícula derecha y/o cava superior (mortalidad del 33%).

### **c) Utilidad clínica en población pediátrica.**

El estudio de trombofilia se impone cuando la trombosis es espontánea o de gravedad desproporcionada al factor presuntamente desencadenante, recurrente, con historia de tromboembolismo familiar o de localización inusual (senos venosos cerebrales, mesentérica, renal, subclavia, cava, axilar, etc), en este estudio se incluyen los DD.

Los niños son más propensos que los adultos a tener uno o más déficits de coagulación genéticos o adquiridos significativos que pueden requerir tratamiento específico para el manejo de la trombosis aguda, como la deficiencia genética severa de la Prot C y S, o déficits adquiridos para los que son necesarios tratamientos sustitutivos rápidos para interrumpir la coagulopatía de consumo o alcanzar con éxito la anticoagulación (235).

Aunque la utilidad de los test de DD para el diagnóstico de TVP ha sido ampliamente demostrada en adultos, su utilidad en pacientes pediátricos no ha sido evaluada y hay en la literatura escasos estudios con resultados contradictorios.

Un estudio en niños con TEP (n=14) describe niveles elevados de DD en 6 de 10 pacientes pero el rango normal no está descrito (236).

*Biss TT. y cols* concluyen que una evaluación clínica pre-test (Wells) en combinación con los DD puede carecer de utilidad en la valoración del tromboembolismo en niños a diferencia de los adultos (237).

Las vías de coagulación e inflamación están íntimamente relacionadas, lo que conduce a una elevación de los DD durante la fase inflamatoria de la enfermedad. Una aplicación de esta asociación es el uso del DD para monitorizar la evolución en pacientes con artritis idiopática juvenil (AIJ). Niveles elevados de DD parecen ser resultado de una activación endotelial por citocinas y están asociados con actividad de la enfermedad y escasa respuesta al tratamiento. Valores persistentemente elevados se asocian a mala evolución a pesar de tratamiento inmunomodulador, por lo que los DD puede tener un valor predictivo y ayudar a intensificar el tratamiento en pacientes con AIJ de alto riesgo desde fases tempranas de la enfermedad (238).

También han sido descritos niveles elevados de DD en otras enfermedades vasculares sistémicas como la Púrpura de Schölein-Henoch (PSH), enfermedad de Kawasaki y el síndrome hemolítico urémico (239). En ellas los niveles de DD se correlacionan con el estadio de la enfermedad. En la PSH niveles elevados de DD han sido considerados como marcadores de hipercoagulabilidad y actividad inflamatoria gastrointestinal (240;241). Se ha sugerido que pueden tener utilidad pronóstica.

Un estudio reciente realizado en 20 niños con neumonía adquirida en la comunidad (NAC) con o sin derrame y 10 niños con empiema, encuentra una tendencia creciente en los niveles de DD según la complicación, y concluye que su determinación puede suponer una contribución adicional para la evaluación de la gravedad de la NAC y sus complicaciones (242).

El método diagnóstico más sensible para la TVP y el TEP en niños aún no ha sido establecido. El “gold estándar”, la angiografía, es un método invasivo no exento de riesgos y complicaciones. En neonatos, la dificultad de acceso venoso, la limitación de la dosis de contraste debido a la disminución del filtrado glomerular en los prematuros, y la rápida dispersión por el aumento de la frecuencia cardíaca limitan su uso. La ecografía doppler como método no invasivo más utilizado, no consigue el 100% de sensibilidad. La baja presión del pulso de los prematuros, así como la respuesta a la compresión de un vaso con un catéter puede crear dificultades a la hora de interpretarla. La determinación de los DD podría ser de utilidad en este sentido.

Se ha descrito que en niños con eventos trombóticos agudos, niveles elevados de DD van asociados a una mala evolución (trombosis persistente, recurrencia, o síndrome posttrombótico), sin embargo la medida en este estudio fue semicuantitativa y su valor predictivo para el diagnóstico de TVP como hemos dicho no ha sido descrito (231).

Tanto en adultos como en niños un nivel elevado de DD después del tratamiento de TVP parece ser un factor de riesgo para la trombosis recurrente (189;231).

Estudios recientes realizados en una cohorte de 50 niños con ictus isquémico arterial sugieren que elevaciones agudas de biomarcadores de hipercoagulabilidad e inflamación como los DD y la PCR podrían ser de utilidad para clasificar el subtipo etiológico (cardioembólico) y

determinar el pronóstico (recurrencia). En la actualidad hay en marcha estudios en este sentido (243;244).

Al igual que en adultos, está referido en la literatura algún caso en el que pueden ser de ayuda para el diagnóstico de la trombosis cerebral del senovenoso en neonatos pero siempre que se acompañe de clínica compatible y la prueba de imagen correspondiente dada su escasa especificidad (245).

Un estudio reciente realizado en población infantil, 52% de los cuales eran neonatos, determina los marcadores de coagulación y fibrinólisis incluidos los DD, para valorar la extensión de la activación de la hemostasia que se produce durante la oxigenación por membrana extracorpórea (ECMO), y adecuar así los regímenes de anticoagulación, en un intento de evitar complicaciones tanto tromboembólicas como hemorrágicas. Dadas las diferencias encontradas según la edad, subraya la importancia de establecer protocolos de tratamiento de anticoagulación individualizados en base a esta (246).

Estudios realizados en población infantil describen la utilidad de los DD como marcador pronóstico en infecciones pediátricas, teniendo en cuenta que se eleva en procesos inflamatorios de manera inespecífica, lo que hace difícil su interpretación (247;248).

De igual forma que en adultos es frecuentemente utilizado para evaluar la presencia de CID que acompaña a procesos como sepsis, trauma, malignidad y urgencias obstétricas.

**d) Marcador biológico de fácil obtención.**

En neonatos, el indicador hematológico más sensible de proceso trombótico es la elevación de los D-dímeros, que indica la respuesta del organismo activando la fibrinólisis ante la existencia de un trombo.

En ellos, la determinación de los D-dímeros, ha sido sugerida como alternativa a la determinación de otros productos de degradación del fibrinógeno (fibrina, PDF), al demostrarse más sensibles y específicos y poder ser medidos en una pequeña cantidad de plasma como 10  $\mu$ L (249).

La elevación de los DD secundaria a la fibrinólisis fisiológica desencadenada por la existencia de un trombo, podría ser un indicador biológico que por su fácil obtención y determinación sirva para el diagnóstico precoz de la trombosis neonatal y seguimiento y monitorización del paciente con factores de riesgo para el desarrollo de trombosis, como los neonatos portadores de catéter arterial o venoso umbilical, así como neonatos con otros factores de riesgo (ver tabla 5).

La presencia de DD plasmáticos > 500 ng/mL tiene al igual que en adultos una sensibilidad elevada y una menor especificidad, ya que puede haber elevaciones en muchas situaciones. Aunque los DD tienen un valor predictivo negativo evidente (>95%) muchos autores sugieren realizar además un test de imagen para excluir el trombo en esta población (250;251).

Está referido por numerosos autores la necesidad de utilizar en las determinaciones de hemostasia rangos de referencia apropiados, adecuados a cada edad pediátrica, y conocer los reactivos, analizadores y características de las técnicas de laboratorio empleadas en cada hospital concreto, dada la importancia que esto tiene a la hora de la interpretación de los resultados. Hecho especialmente importante en

población neonatal donde los cambios en las proteínas hemostáticas se producen en días o semanas (6).

La utilización de valores de referencia extrapolados de población adulta puede llevar a la conclusión de resultados anormales, suponer el aplazamiento de intervenciones quirúrgicas, realización de analíticas y pruebas para completar el estudio, y puede incluso tener implicaciones legales en la valoración del niño o neonato con sospecha de malos tratos. En este sentido, actualmente, se cuestiona la necesidad de trasfudir plasma fresco congelado de forma profiláctica a recién nacidos pretérmino, por el supuesto riesgo de sangrado derivado de unas pruebas de coagulación aparentemente anormales, práctica habitual en muchos hospitales (252).

En la Guía británica de investigación y manejo de hemostasia y trombosis neonatal (36) se hace una revisión pormenorizada de cómo deben extraerse las muestras técnicamente para que resulten adecuadas, y se refieren rangos de referencia de DD elevados como normales, según lo descrito por Hudson en 1990.

#### **1.1.4.5 Estudios sobre D- dímeros en neonatos.**

El dinamismo del sistema de coagulación neonatal y su rápido desarrollo para alcanzar niveles de adulto, determina la amplia variabilidad en las concentraciones de proteínas hemostáticas en la edad postnatal, con valores que cambian sobre todo en las primeras semanas de vida.

Este hecho supone que la definición de los valores de referencia para cada uno de los parámetros en neonatos sea una labor difícil. Si a ello añadimos los problemas técnicos derivados de la dificultad de obtener muestras de sangre adecuadas, el pequeño tamaño de las muestras que se recogen, la necesidad de usar micro técnicas para realizar múltiples test en las pequeñas muestras y el gran número de niños que deben ser

estudiados debido a la gran variabilidad existente de los distintos valores para cada edad, obtenemos grandes dificultades para su determinación.

Existen pocos datos publicados de valores de referencia de los D-dímeros para el recién nacido sano prematuro y a término al nacimiento. Estos datos están basados en su mayor parte en muestras de sangre de cordón, como única determinación, con lo que no puede establecerse rangos adecuados a cada edad postnatal. Entre otras limitaciones metodológicas, estos estudios utilizan muestras pequeñas, con un número de sujetos menor de 100, lo cual permite determinar la media de los valores, pero no la variabilidad, ni distribución de los mismos (98;249;253-255). Tabla 1.6.

Otros estudios donde se valoran las concentraciones plasmáticas de DD lo hacen dentro de las determinaciones incluidas en la investigación de marcadores de activación de coagulación y fibrinólisis, en determinadas enfermedades y toman como referencia valores extrapolados de población adulta.

*Hudson I. y cols (1990)*, estudian las concentraciones de DD en sangre venosa de 15 RNPT y 45 RNT para establecer el rango de normalidad y valorar si concentraciones maternas elevadas tras el parto pueden afectar a la concentración en neonatos. Encuentran valores de DD por encima de rango normal para adultos en el 48% de RN, y lo atribuyen a activación de la coagulación resultado de ajustes circulatorios como cierre del ductus o conducto venoso y/o al retraso en el aclaramiento renal de los DD. Utiliza como método de análisis la aglutinación látex, semicuantitativo (249).

*Corrigan J. y cols (1992)*, en su valoración del sistema fibrinolítico en 15 RN enfermos (cardiópatas) y 42 RNT sin patología, determina concentraciones plasmáticas de tPA, PAI, HRG (glicoproteína rica en histidina) y DD (sangre venosa en cardíopatas, sangre de cordón tras el

parto en RNT) encontrando niveles de DD mayores en RN con cardiopatía reflejo de activación del sistema fibrinolítico en ellos, estando los valores del grupo control dentro del rango normal de adultos (20-270ng/mL). Utiliza el método ELISA (68) .

*Ries M.y cols (1996)*, dentro del estudio de marcadores del sistema de coagulación estudian los DD en 4 poblaciones de RN (n= 20). 1. RN por cesárea sin trabajo de parto 2.RN por cesárea con trabajo de parto. 3. RN con infección (10-25 días) 4. 20 controles adultos sanos. Concluyen que los marcadores de coagulación y fibrinólisis se elevan tras el parto para disminuir a valores de adultos en las primeras 24h. El trabajo de parto de más de 20h no marca la diferencia. La infección aumenta los marcadores de forma similar a los adultos (84).

*Schneider DM. y cols (1997)*, determinan proteínas de coagulación y DD en sangre de cordón de 59 RN (53 RNT, 6 RNPT) y sus 59 madres (sangre vena cubital). Encuentran además de las diferencias ya reflejadas por otros autores en cuanto a factores e inhibidores de coagulación, niveles más bajos de vWF, PAI y más altos de DD (1514+/-953 ng/mL) que en sangre materna (744,45+/-138,23), aunque no encuentran diferencias según el modo de parto. Atribuyen los niveles encontrados a una prolongación de su vida media debido a una disminución de su aclaramiento por el sistema reticulo endotelial, pero más probablemente a la activación del sistema coagulación – fibrinólisis que se produce durante el parto. El método inmunológico empleado es el ELISA (254).

*Mautone A. y cols (1997)*. Evalúan las variaciones en la activación del sistema de coagulación y fibrinólisis en el RNPT enfermo (n=63) divide a los RN en 4 grupos: 1. RN con SDR. 2. RN con asfixia al nacimiento, 3. RN con sepsis y RN infección leve. 4. RN sano (control). Obtiene las muestras al primer y 7º día de vida de sangre venosa. Aunque la muestra en cada grupo es escasa encuentra niveles elevados de DD y

tPA en el grupo de RNPT con SDR y asfixia respecto al grupo control, y de RN sépticos respecto al grupo de infección leve, pero no establece valores de referencia normales, ni determina cual es el punto de corte para el grupo control. Método: ELISA (69)

*Nako Y. y cols (1997)* Estudian los niveles de trombomodulina en RN de MBPN y con asfixia, encontrando niveles más elevados en estos respecto a RNT sano, reflejo del daño endotelial y de un menor aclaramiento renal. En este estudio determina en una menor proporción de niños los niveles de DD (n=49, n=44 respectivamente), encontrando que en RNPT y con asfixia están más elevados, probablemente por activación de la coagulación y daño endotelial que se produce en el mecanismo del parto. Obtiene muestra de sangre arterial en la primera hora tras el nacimiento. El método empleado es la aglutinación látex fotométrico (48).

*Murtha A. y cols (1998)* estudian las concentraciones de DD en vena umbilical tras el parto, con o sin trabajo de parto. Aunque la metodología es cuestionable, estudian 59 muestras de sangre de cordón establecen 4 grupos: 1. RNT con trabajo de parto vaginal (n=20) 2. RNT con trabajo de parto por CST (n=12) 3. RNPT parto vaginal (18). 4. RNT por CST sin trabajo de parto (n=9). Encuentran solo diferencias significativas en los niveles de DD entre los nacidos con trabajo de parto (niveles más altos, tanto en a término como pretérmino) o sin él (CST), lo que les sugiere una activación de la fibrinólisis fetal tras el trabajo de parto (98).

*Dati F. y cols (1998)* revisan en su artículo la relevancia clínica de los marcadores de activación de coagulación y fibrinólisis entre los que se encuentran los DD. Hace referencia a lo encontrado por Ries M. 1996 (75).

*Knöfler R. y cols (1998)* investigan las concentraciones plasmáticas de marcadores de activación de la coagulación y fibrinólisis en sangre

venosa de 79 RN sanos, 38 niños y 17 adultos, a los 2 y 4 días de vida. Encuentra valores elevados de DD en el RN respecto a los otros 2 grupos, que se mantienen elevados a los 12 días. Concluye que el estrés mecánico que supone el parto, la adaptación circulatoria y el leve estado de hipoxia podrían justificar estos hallazgos, además de considerar una posible activación intrauterina. Utiliza como método ELISA (76).

*Suzuki MD (1998)* determina las concentraciones plasmáticas de DD (como parte de los criterios diagnósticos de CID) en sangre de cordón umbilical de 93 RN, 58 de los cuales sufren asfixia (Apgar 5 minutos <7). Sus resultados establecen una correlación positiva entre nivel de DD y CID en RN con asfixia. No consta el método utilizado (256).

*Akira Shirahata (1998)* también determina niveles de DD en un intento de establecer criterios diagnósticos de CID en RN MBPN (<1500) y concluye que si bien el marcador número de plaquetas es aplicable a RN MBPN, los marcadores del sistema fibrinolítico (fibrinógeno y DD) no son válidos, dado que las concentraciones que encuentran son más bajas que en RN mayores de 1500g sin CID, Método: emplea el latex semicuantitativo (257).

En un estudio metodológicamente cuestionable, *Higgins J.y cols (2000)* intentan valorar el efecto de la pre-eclampsia en el sistema de coagulación-fibrinólisis neonatal. Estudio de niveles de TAT y DD en 16 embarazadas con preeclampsia, 17 embarazadas sanas, y sangre de cordón de sus RN. Concluyen que no hay diferencias significativas entre TAT y DD en embarazadas con/sin preeclampsia y que el sistema de coagulación fetal está protegido de los cambios maternos. Encuentra niveles de DD dentro del rango normal para adultos (pero no define el valor de corte) y relaciona estos hallazgos con el modo de parto (en este estudio cesárea electiva, sin trabajo de parto) a diferencia de otros autores en los que los niveles de DD están elevados en relación con la

activación del sistema hemostático neonatal asociado con el parto vaginal normal. Método: ELISA (255).

*Tay SP. y cols (2003)* escriben un artículo muy interesante que determina niveles de factor tisular (TF), inhibidor plasmático del factor tisular (TFPI), y DD en sangre de cordón de RNT (n=50) comparando con valores de adulto sano. Encuentran niveles de DD en sangre de cordón mayores que en adultos (valor de corte 130 ng/mL) con una distribución no normal. Coinciden con otros autores en que los mayores niveles de DD sangre de cordón son reflejo de activación de fibrinólisis fetal que sigue al parto y representa un grado de activación de la coagulación resultado de ajustes circulatorios como cierre del conducto venoso, o del ductus (DAP), o retraso en el aclaramiento renal de RN. Y que además permite eliminar los depósitos de fibrina para preservar el flujo sanguíneo adecuado y permeabilidad vascular en sangre de cordón aún en presencia de la injuria que puede suponer el nacimiento. Método: ELISA (253).

En un relativamente reciente estudio publicado por *Monagle P. y cols (2006)* (6) se muestran rangos de referencia de proteínas del sistema de coagulación y fibrinólisis, incluyendo D-dímeros en población pediátrica (incluye 112 neonatos). En él se recomienda el establecimiento de cada laboratorio de sus propios rangos de referencia, según edad, y específicos de cada test (reactivos y analizadores), ya que ellos demuestran variaciones de los rangos de referencia absolutos según el sistema analizador y reactivo utilizado. Comparan sus resultados con los establecidos por *Andrew* concluyendo, que al igual que *Andrew M.*, los niveles de proteínas hemostáticas siguen un proceso de desarrollo dinámico con valores que cambian con la edad, y atribuye las diferencias obtenidas a los diferentes test de laboratorio y reactivos utilizados, aunque *Andrew M* no determina en ninguno de sus estudios concentraciones de DD. Utiliza como método el látex inmunoturbidimétrico.

*Gursoy T y cols (2002, 2007)* estudian componentes del sistema fibrinolítico y la capacidad global fibrinolítica (determinación de DD generados tras una fibrinólisis controlada) en relación al SDR del RN pretérmino, y encuentran que concentraciones más bajas de estos podría explicar la capacidad subóptima de este sistema para eliminar la fibrina de microcirculación pulmonar y pequeña vía aérea, y así favorecer el SDR. En uno de los estudios expresa la concentración basal de DD y los refiere elevados respecto a los niveles de adultos descritos en la literatura, pero no constan. Utiliza sangre obtenida de catéter en las primeras 6h. antes de la heparinización. El método utilizado: latex inmunoturbidimétrico (258).

La relación de la activación endotelial en mujeres con preclamsia y sangre de cordón del RN es investigada por *Catarino C. (2008)* que determina niveles plasmáticos de DD entre otros (tPA, PAI 1) en mujeres con/sin pre-eclamsia (n= 44,42) y sangre de cordón de sus RN. Encuentra que los valores en estos son menores que los de sus madres, pero, mayores que los reflejados por otros autores procedentes de cesáreas sin trabajo de parto. Utiliza como método el ELISA (259).

*Takahashi D. y cols (2013)*, evalúan el estado de hipercoagulabilidad y/o CID en RN enfermos utilizando como marcador monómeros de fibrina. En su estudio están reflejados también valores de DD, y aunque no están definidos valores de corte, ni rango de referencia (260).

Para la valoración de alteraciones estructurales en la pared de la aorta en relación con el riesgo cardiovascular posterior, *Ciccone MM. y cols (2013)* evalúan a 70 madres con/sin factores de riesgo y 70 RNT en quienes determinan el diámetro anteroposterior de la aorta abdominal infrarrenal y parámetros bioquímicos en sangre de cordón, entre los que se encuentran los DD. Encuentran relación estadísticamente significativa entre DD y diámetro de aorta, y refieren niveles más

elevados en neonatos respecto a niños mayores y adultos pero no lo referencian. El método de análisis no consta (261).

Recientemente se ha publicado un estudio de *Christensen RD. y cols (2014)* donde establecen rangos de referencia de 175 RNPT (agrupados por edades gestacionales) para los test más comunes de evaluación de coagulación y fibrinólisis, y que incluye los DD. Obtienen la muestra de sangre de cordón. Aunque su determinación no es el objetivo principal del estudio y no establece punto de corte ni rango de referencia del laboratorio, los valores que aparecen están elevados respecto a los valores de adultos. Hay que tener en cuenta que las unidades expresadas son unidades equivalentes de fibrinógeno a diferencia de la mayoría de estudios. Utilizan método de análisis látex cuantitativo inmunoturbidimétrico (252)

Tabla 1.6 Estudios DD en población neonatal

ESTUDIO (año)	OBJETIVO ESTUDIO	MUESTRA (día)	MÉTODO	VALORES (N total y subgrupos)	VALOR REF.	HIPÓTESIS
Hudson (1990)	Valores de referencia	Cordón 1ºd Vena 1º-5ºd	Látex semi-cuantitativ	<250 mg/L 24 RNT 7 PT >250 mg/L.21 RNT 8 PT n= 45 RNT n=15PT	250 mg/L	Ajustes circulatorios ↓ aclaramiento renal
Corrigan (1992)	S.fibrinolítico en CC	Cordón RN Vena (CC) 1º- 29ºd	ELISA	CC 632 ± 436 ng/mL RN 84 ± 58 ng/mL n=15CC n=42 RNT	20-270 ng/mL	Hipercoagulabilidad y trombosis en CC
Ries (1996)	Marcadores C/F	¿?	ELISA	¿?	---	Ajustes circulatorios
Scheider (1997)	Valores de referencia	Cordón 1ºd	ELISA	RN 1514± 953 ng/mL Emb 744±138,23 ng/mL n=59 RN n=59 embaraz	20-400 ng/mL	↓ aclaramiento Activación sistema C/F en el parto
Mautone (1997)	Sistema C/F RNPT enfermo	Venosa 1º-7ºd	ELISA	SDR 1242 ± 206 ng/mL Asfixia 1027 ± 379 ng/mL Sepsis 767±341 ng/mL RN sano 777±406 ng/mL n=63 ( 16,7, 25 ,15)	---	Activación sistema C/F en el RN enfermo
Nako (1997)	Niveles de TM RN MBPN y DD	Arterial 1h 1ºd	Látex fotométric	MBPN 6.2 mg/L RNT 1.8 mg/L n = 44 MBPN asfixia 14 n=49 RN sano	---	Daño endotelial
Murtha (1998)	Activación S. fibrinolítico tras parto	Cordón 1ºd	ELISA	trabajo p 427ng/mL trabajo p CST 773 ng/mL PT p vaginal 326 ng/mL CSTsin trabajo 87 ng/mL n=59 (20, 12, 18, 9)	120 ng/mL	Activación sistema C/F en el parto.
Dati (1998)	Revisión	---	----	-----	-----	-----
Knöfler (1998)	Marcadores C/F	Venosa <12ºd	ELISA	79 RN .420µg/L 38 niños.. 22,5 µg/L 17 adultos.. 23 µg/L	----	estrés del parto ajustes circulatorios leve hipoxia
Suzuki (1998)	CID en RN con asfixia	Cordón	No consta	93 RN, 58 asfixia	----	Activación sistema C/F en RN asfixia
Shirahata (1998)	CID en RN MBPN	---	ELISA SimpliRed	n= 52, 34 MBPN sin CID <200ng/mL	200 ng/mL	Criterios dx CID en <1500g
Higgins (2000)	Preeclamsia Sistema C/F RN	Cordón 1ºd	ELISA	RN sin PE 150 ng/mL RN con PE 225 ng/mL	----	Circ fetal protegida de los cambios en la circ materna
Gursoy (2002,2007)	Fibrinólisis DD, SDR	Vena umbil 1ª- 6horas	Látex turbidimetr	2,6µg/mL 1,6 µg/mL 29 RN SDR, 18 RNsano	----	Activación sistema C/F SDR hipofibrinólisis
Tay (2003)	Valores de referencia	Cordón 1ºd	ELISA	RN 924 ± 733 ng/mL Adultos 45 ± 17 ng/mL n=50	39-130 ng/mL	Ajustes circulatorios ↓ aclaramiento renal Permeabilidad vasc
Monagle (2006)	Valores de referencia	Venosa 1º-3ºd	Látex turbidimetr	1,47µg/mL; 1,34 µg/mL n=112 RN	0,05-0,4 µg/mL	"Developmental hemostasis"
Catarino (2008)	Fibrinólisis preeclamsia	Cordón tras parto	ELISA	RN 200,4 ng/mL RN con PE 190,7 ng/mL n= 40 ; n=44	---	Efecto protector de alteraciones de PE
Takahashi (2013)	MN fibrina en RN CID	venosa	Látex turbidimetr	6,7± 6,9 µg/mL 15,8± 40 µg/mL N=216	---	Correlación SFMN-DD Hipercoagulabilidad
Ciccone (2013)	Alt Ao RN	Cordón	---	332± 648 µg/mL	----	Riesgo vascular
Christensen (2014)	Valores de referencia RNPT	Cordón 1ºd	Látex turbidimetr	<28: 325-1775ngFEU/mL >28: 225-3100ngFEU/mL N=175	---	Mejorar práctica trasfusional PFC

Cardiopatía congénita (CC), Sistema C/F(coagulación/ fibrinólisis),TM (trombomodulina), RNMBP (bajo peso al nacimiento) PE (pre-eclamsia). Monómero fibrina soluble (SFMN), plasma fresco congelado (PFC). Ao (Aorta)

## 1.2 MOTIVOS Y JUSTIFICACIÓN. FUNDAMENTO DEL TRABAJO.

El conocimiento del normal desarrollo postnatal del sistema de coagulación es esencial para investigar los trastornos hemorrágicos y trombóticos en el neonato.

Los estudios de *Andrew M. y cols* han demostrado que la hemostasia humana es un proceso dinámico, influenciado por la edad, con valores que cambian sobre todo en las primeras semanas de vida y que fueron acuñados con el término de "*developmental hemostasis*". Trabajos posteriores realizados por otros investigadores han confirmado estos hechos y así, se ha evidenciado que la gran mayoría de procoagulantes, anticoagulantes y proteínas implicadas en la fibrinólisis son dependientes de la edad gestacional pero también de la edad postnatal. El sistema hemostático neonatal madura durante las primeras semanas y meses de vida alcanzando valores de adulto a los 6 meses. Los recién nacidos prematuros presentan un modelo de maduración acelerada con niveles de proteínas de coagulación similares a los RNT a los 6 meses.

Está referido por numerosos autores la necesidad de utilizar rangos de referencia apropiados a cada edad pediátrica y conocer los reactivos, analizador y técnicas de laboratorio empleadas, dada la importancia que esto tiene a la hora de la interpretación de los resultados. Hecho especialmente importante en población neonatal donde los cambios en las proteínas hemostáticas se producen en días o semanas. El diagnóstico exacto de los trastornos hemostáticos es necesario en el manejo actual de los recién nacidos que con frecuencia deben someterse a intervenciones quirúrgicas y procedimientos diagnósticos y /o terapéuticos invasivos con riesgo de complicaciones hemorrágicas y/o tromboembólicas.

La dificultad técnica de obtención de la muestra adecuada, el pequeño tamaño de las muestras que se recogen, y el gran número de niños que deben ser estudiados debido a la gran variabilidad existente de los distintos

valores para cada edad, en relación a los valores de adultos, hace difícil encontrar valores de referencia para cada uno de los parámetros en esta población.

Los D-dímeros (fragmentos D de fibrina unidos covalentemente), es el resultado de la acción de la plasmina sobre la fibrina estabilizada por el factor XIII, y su aumento se constituye como el indicador hematológico más sensible de proceso trombótico, que indica la respuesta del organismo activando la fibrinólisis ante la existencia de un trombo.

Su determinación como biomarcador de activación de la coagulación y fibrinólisis y su aplicación en la práctica clínica en población adulta ha sido ampliamente demostrada y reconocida sobre todo por su elevado valor predictivo negativo.

En neonatos, los DD supondrían un marcador biológico que por su fácil obtención y determinación resultaría de utilidad para el diagnóstico precoz de la trombosis neonatal (arterial y venosa), y en el seguimiento y monitorización del paciente con factores de riesgo para el desarrollo de trombosis, como pueden ser los neonatos portadores de catéter umbilical (factor de riesgo predominante en estos pacientes) entre otros. También sería de aplicación para el seguimiento del paciente sometido a tratamiento anticoagulante ó antitrombótico en un intento de optimizar la prevención y minimizar el riesgo de complicaciones del mismo.

Existen pocos estudios publicados de valores de referencia de D-dímeros para recién nacidos sanos al nacimiento. Estos valores están basados en muestras de sangre de cordón fundamentalmente y obtenidos de poblaciones reducidas, por ello consideramos interesante ampliar la información obtenida de estos estudios, con un mayor número de casos y determinar los valores de D-dímeros en el recién nacido sano.



## **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**



## **2 HIPÓTESIS**

H<sub>0</sub>: Los valores de D-dímeros en neonatos y su distribución siguen un patrón distinto al de adultos.

H<sub>1</sub>: Los valores de D-dímeros en neonatos y su distribución siguen un patrón igual al de adultos.

## **3 OBJETIVOS**

### **3.1 OBJETIVO PRINCIPAL**

Determinar las concentraciones plasmáticas de D-dímeros en población neonatal sana.

### **3.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS**

- 1) Comparar los niveles plasmáticos de D-dímeros en neonatos con los valores establecidos para adultos.
- 2) Determinar las concentraciones plasmáticas de D-dímeros en sangre de cordón de recién nacidos (RN).
- 3) Determinar las concentraciones plasmáticas de D-dímeros en sangre venosa de neonatos al segundo o cuarto día de vida.
- 4) Comparar los niveles plasmáticos de D-dímeros entre estos dos grupos.



## **MATERIAL Y MÉTODOS**



## **4 MATERIAL Y MÉTODOS.**

### **4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO.**

#### **4.1.1 Características generales del estudio.**

Estudio de las concentraciones plasmáticas de los D-dímeros en sangre de cordón de todos los recién nacidos ingresados en la maternidad del Hospital Lluís Alcanyís de Xàtiva durante 6 meses.

Estudio de las concentraciones plasmáticas de D-dímeros en sangre venosa de neonatos al segundo o cuarto día de vida, de la misma maternidad, durante 4 meses.

### **4.2 TIPO DE ESTUDIO SELECCIONADO.**

Prospectivo. Descriptivo. Observacional simple, transversal, en un hospital de nivel II.

#### **4.2.1 Justificación de la elección**

El estudio fue descriptivo, debido a la propia naturaleza de las variables, ya que no es posible controlar los valores del D-dímero sino tan sólo medirlos. Este tipo de estudio nos permite caracterizar la distribución de los DD, y su comportamiento frente a diferentes variables, pero no establecer relaciones de causalidad. Es importante evitar sesgos de información y selección mediante una adecuada definición criterios de inclusión y exclusión.

#### **4.2.2 Población.**

Criterios de inclusión y exclusión de los sujetos de estudio.

*a. Criterios de inclusión:*

El reclutamiento de pacientes se realizó durante 6 meses para la obtención de muestras de sangre venosa de cordón umbilical de RN sanos (del 1 de Diciembre de 2004 al 30 Mayo de 2005 inclusive), y 4 meses para la obtención de muestras de sangre venosa periférica de RN sanos al segundo o cuarto día de vida (del 1 de Marzo de 2009 a 30 de Junio de 2009 inclusive). En RN por cesárea la extracción de la muestra fue al cuarto día de vida.

Criterios:

- Todos los recién nacidos ingresados en la maternidad del Hospital Lluís Alcanyís de Xàtiva (Valencia), así como los remitidos desde otro centro para los que dicho hospital es referencia (Hospital de Onteniente).
- Recién nacidos sanos de 36 a 42 semanas de gestación (SG).
- Profilaxis con 1mg de vitamina K al nacer. El rango de tiempo después de la inyección de vitamina K para las muestras recogidas el segundo día de vida, de más de 24 horas.

El estudio fue aprobado por el Comité ético del hospital (Anexo 1).

Fue obtenido para cada uno de los pacientes el consentimiento informado (Anexo 2 y 3).

*b. Criterios de exclusión:*

- Referidos al RN:
  - Se excluyeron del estudio aquellos RN que desarrollaron con anterioridad o en la semana posterior a la determinación enfermedades en las que está descrita una activación del sistema de coagulación y fibrinólisis:
    - Enfermedad por déficit de surfactante (EDS).
    - Sepsis.
    - Pérdida de bienestar fetal (Apgar menor de 5 al minuto de vida).
    - Hipertensión pulmonar primaria (HTPP).
    - Ductus arterioso persistente (DAP).

- Cardiopatía congénita (CC).
  - Policitemia.
  - Hijo de madre diabética (HMD)
  - Deshidratación.
  - Shock.
  - Coagulación intravascular diseminada (CID).
  - Malformación vascular placentaria.
  - Onfalitis.
- RNPT menores de 36 semanas de gestación (SG).  
No incluimos la población de RNPT porque las mujeres embarazadas de este grupo tienen con más frecuencia patología gestacional que influye en la fibrinólisis fetal (pre-eclampsia, desprendimiento prematuro de placenta, retraso de crecimiento intrauterino) y por tanto en la determinación de los DD.
- Referidos a la madre:
    - RN de madres sometidas a tratamientos con medicaciones que pudieran alterar el sistema de coagulación y fibrinólisis.
      - Corticoides prenatales.
      - Anticonvulsivantes.
      - Anticoagulantes.
    - RN de madres con enfermedades o procesos gestacionales que asocian de por sí mayor riesgo de trombosis como la embolia del líquido amniótico, el desprendimiento de placenta, la pre-eclampsia, el feto muerto y el síndrome antifosfolípido.
  - Referidos a las muestras
    - Las muestras coaguladas o muy hemolizadas se excluyeron del estudio.

▪ Las muestras que pudieran causar interferencias en la realización del test: hiperbilirrubinémicas, hiperlipémicas.. según especificación del fabricante (Diagnostica Stago Roche®). Plasmas especialmente turbios lipémicos pueden subestimar el nivel de dímero-D (recomiendan que el valor de la absorbancia a 540 nm del plasma diluido al 1/6 en STA® Diluent Buffer sea inferior a 0,35). Refieren que no se producen interferencias significativas por hemoglobina, bilirrubina conjugada, bilirrubina no conjugada, heparinas no fraccionadas y heparinas de bajo peso molecular hasta 5 g/l, 290 mg/l, 200 mg/l y 2 UI/ml, 2 UI anti-Xa/ml respectivamente. Los análisis fueron efectuados conforme a la guía EP7-A2 de CLSI. Las concentraciones de productos de degradación del fibrinógeno mayores de 15 µg/ml, la presencia de factor reumatoide a concentraciones superiores a 50 UI/ml o anticuerpos anti-albúmina bovina y/o anti-ratón pueden llevar a una sobre estimación de los niveles de dímeros D (160;262).

#### **4.2.3 Tamaño de la muestra:**

402 muestras de sangre de cordón, 271 muestras de sangre venosa.

#### **4.2.4 Método de captación y /o selección de sujetos.**

Se realizó a partir del registro de ingresos de la unidad de neonatos y maternidad de nuestro centro, tras verificar si cumplían los criterios de inclusión en la historia clínica de cada uno de ellos y en la historia clínica de la madre. Firmado el consentimiento informado.

#### **4.2.5 Técnica de asignación.**

No hubo técnica de asignación, ni muestreo dado que se analizó toda la población de estudio, coincidiendo así muestra y población de estudio. Se analizaron consecutivamente todos los recién nacidos.

### **4.3 DEFINICIÓN Y MEDICIÓN DE VARIABLES. RECOGIDA DE DATOS.**

#### **4.3.1 Enumeración y definición de variables.**

Descripción de variables (Anexo 3).

1. Variables perinatales y de identificación.
  - Nombre
  - Número de paciente.
  - Número de historia clínica / SIP
  - Fecha de nacimiento
  - Sexo
  - Edad gestacional (determinada según fecha de última regla (FUR) y exploración física del RN mediante el test de Finstron)
  - Edad postnatal, días de vida.
2. DD en sangre de cordón.
3. DD en sangre venosa al segundo o cuarto día de vida.
4. Variables clínicas.
  - Exploración física de cada RN.
  - Peso al nacimiento
  - Clasificación por edad gestacional: PEG, AEG, GEG (pequeño, adecuado y grande para la edad gestacional)
  - Puntuación Apgar.
5. Variables obstétricas.
  - Tipo de parto:
    - Cesárea o parto vaginal
    - Eutócico o distócico
    - Espontáneo o inducido.
  - Tipo de Anestesia: epidural /intradural / general/ local/ ninguna.
  - Duración del parto:
    - Horas del periodo de dilatación en minutos.
    - Horas del periodo de expulsivo en minutos.

- Finalización del parto: Instrumentado o no instrumentado.  
Si es instrumentado qué tipo de instrumentación: vacuum, fórceps o espátulas.

6. Otras variables biológicas

- Pruebas de coagulación: IQ, TTPa, fibrinógeno.
- Hematocrito.

**4.3.2 Fuentes de información y técnicas de medición.**

**4.3.2.1 Fuentes de información:** historia clínica neonatal y materna.

**4.3.2.2 Técnicas de medición.**

- Para las variables clínicas se utilizaron:
  - Exploración física neonatal diaria y cuando fue preciso por las condiciones clínicas.
  - Peso: balanza automática marca Moba Xic®.
  - Longitud y perímetro cefálico, tallímetro marca Año Sayol®, medición del perímetro cefálico mediante cinta métrica anotando el diámetro mayor occipito- frontal.

- Para las variables de laboratorio:

Todas las determinaciones se realizaron con el STA-Compact Analizador de Coagulación automatizado (Diagnostica Stago, France) con 2.5 ml de plasma (IQ, TTPa, fibrinógeno y D-dímero).

Las técnicas de medición utilizadas para cada uno de los parámetros fueron las siguientes:

- Para el Tiempo Parcial de Tromboplastina Activada (TTPa) se utilizó como reactivo Pathromtin SL® (Dade Behring Inc).
- Para el Tiempo de Protrombina (índice de Quick), el reactivo Thromborel® S, (Dade Behring Inc).
- Para la determinación del Fibrinógeno el Dade® Reactivos (Dade Behring Inc®), basado en la medida del tiempo de coagulación del plasma diluido cuando se agrega un exceso de trombina.

- Los niveles de los D-dímeros se midieron utilizando el Sistema de test de Coagulación (STA Compact Analyser) y el Reactivo Liatest D-Di test kit (Diagnostica Stago, France, laboratorios Roche®) mediante la técnica aglutinación látex de segunda generación inmunofotométrica.
- Para los procesos de control de calidad se utilizaron el STA-System Controls N (normal) y P (anormal), proporcionados por el fabricante (Diagnostica Stago, France).
- El Hemograma se realizó con Coulter LH 750® (Beckman Coulter).

#### **4.4 PROTOCOLO DE ESTUDIO.**

##### **4.4.1 Planilla de datos.**

Los datos fueron introducidos en una hoja de cálculo (Office Excel 2003, Microsoft®) diseñada de manera específica para el presente estudio.

##### **4.4.2 Obtención de la muestra.**

###### **i) Procedencia de la muestra**

###### **a) Muestra de sangre venosa de cordón umbilical.**

Muestra de sangre de cordón umbilical de todo recién nacido sano entre 36-42 semanas de gestación.

La muestra fue obtenida inmediatamente tras el parto. El cordón umbilical fue clampado doblemente y la sangre extraída de la vena umbilical.

La técnica de extracción se realizó con aguja 21G 0,8 x 40 mm y jeringa de 5 ml Terumo®. No se realizó la técnica de ordeño del cordón umbilical ("milking"). El pinzamiento del mismo fue realizado en el primer minuto de vida siguiendo las recomendaciones del momento. Foto 4.



**Foto 4.1.** Patricia Correcher. *Extracción de sangre de vena de cordón umbilical.* Hospital Lluís Alcanyís (Xàtiva). Mayo 2004

b) Muestra de sangre venosa periférica de recién nacido.

Muestra de sangre venosa de neonatos al 2º día de vida tras parto vaginal, o al 4º día de vida de los nacidos por cesárea, en recién nacidos sanos entre 36 y 42 semanas de gestación.

La técnica de extracción, fue coincidente con la extracción realizada para la determinación de pruebas metabólicas en sangre venosa (2.5 ml), mediante venopunción con aguja nº 21G, 22G (técnica de “aguja rota”) del dorso de la mano (0,8 x 0,40 mm, marca Terumo®).

El cambio de pauta respecto a la extracción de sangre para la determinación de pruebas metabólicas (en sangre venosa en vez de sangre de talón) se consultó con el Servicio de metabolopatías del hospital de Referencia (Hospital Infantil La Fe) que lo consideró igualmente adecuado. Se aportan referencias bibliográficas que apoyan una menor agresividad de la extracción venosa sobre la extracción de talón (263;264).

El protocolo de recogida de muestras tanto de sangre venosa como de sangre de cordón coincide con el publicado por otros estudios y está validado, así como la técnica empleada para su obtención (6;265) con el fin de obtener muestras adecuadas. Fotos 4.2 y 4.3



**Foto 4.2.** Patricia Correcher. *Extracción de sangre de vena periférica. "Técnica aguja rota".* Hospital Lluís Alcanyís (Xàtiva). Junio 2009



**Foto 4.3.** Patricia Correcher. *Extracción indolora de sangre venosa. "Técnica aguja rota".* Hospital Lluís Alcanyís (Xàtiva). Junio 2009.

## **ii) Volumen de la muestra**

Se precisó un volumen de muestra de 2.5 ml, 0,2 ml para la determinación de pruebas metabólicas, 1,8 ml para pruebas de coagulación y hemostasia y 0.5 ml para hemograma (36). Sólo fueron necesarios 10  $\mu$ L de plasma para la determinación de DD.

No se sobrepasó un número promedio de una extracción por neonato.

### **iii) Almacenamiento de la muestra**

- Preparación del plasma para realización de pruebas de coagulación.
- Las muestras de sangre se recogieron en tubos citratados Vacutainer Branel® que contienen 1 volumen de citrato sódico (0,11mol/L) por 9 volúmenes de sangre. Estos tubos están marcados con una línea indicadora del punto hasta donde deben ser rellenos de sangre, asegurando idéntica anticoagulación para todas las muestras recogidas, y una adecuada relación anticoagulante. Fueron centrifugadas a 3500 rpm durante 15 minutos, de acuerdo a las recomendaciones y guías publicadas, British Journal of Haematology y Thrombosis Task Force en su apartado referido neonatos (36).
- Para la realización del hematocrito las muestras se recogieron en tubos microtainer neonatales de 500 microlitros de volumen máximo (Terumo capiject®).
- Las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente, efectuándose las diversas determinaciones en el plazo de 12 horas desde su extracción (36).
- Dependiendo del volumen de sangre obtenida se realizaron una o dos determinaciones para cada uno de los parámetros.
- No se utilizaron muestras congeladas para los test de coagulación. Muestras coaguladas o hemolizadas se excluyeron así como aquellas que pudieran causar interferencias analíticas según las recomendaciones del fabricante y lo citado anteriormente.

#### **4.4.3 Procesamiento de la muestra.**

Todas las determinaciones fueron realizadas con el STA-Compact Analizador de Coagulación automatizado (Diagnostica Stago, France) con 2.5 ml de plasma (IQ, TTPa, fibrinógeno y D-dímeros).

El Analizador STA-Compact es un método automático, basado en la viscosidad, que mide la reducción del movimiento inducida por el coágulo de una bola de metal sumergida en la muestra sometida a un campo electromagnético alternante. La detección mecánica del coágulo no se ve afectada por contenido de hemoglobina (hemólisis), bilirrubina o lipemia en las muestras, que puede ser fuente de error en las determinaciones realizadas por otros métodos basados en la transmisión de la luz como el sistema ACL utilizado en las publicaciones de Andrew (1).

El Analizador STA-Compact permitió la realización de análisis coagulométricos (por medición de viscosidad del medio, principio electromagnético) cromogénicos e inmunológicos por medición fotométrica (6). Esta última determinación se basa en el aumento de la turbidez de una suspensión de micropartículas de látex medida mediante fotometría. Cuando las microesferas de látex, sobre cuya superficie se han fijado por enlace covalente anticuerpos específicos del dímero D, se mezcla con el plasma, cuyo nivel de dímero D se desea estudiar, la reacción antígeno anticuerpo que ocurre provoca la aglutinación de las microesferas. Este fenómeno conduce al aumento de la turbidez de la mezcla de reacción y por lo tanto a un aumento de la absorbancia del medio. La magnitud de este aumento es función de la cantidad del dímero D contenida en el plasma en estudio.



**Foto 4.4.** Patricia Correcher. Coagulómetro STA-Compact (Diagnostica Stago France). Hospital Lluís Alcanyís (Xàtiva). Junio 2009.

Los métodos individuales se detallan a continuación:

- El Tiempo Parcial de Tromboplastina Activada (TTPa) se realizó utilizando como reactivo Pathromtin SL® (Dade Behring Inc) que contiene partículas de bióxido de silicio, fosfolípidos vegetales, cloruro de sodio (2,4 g/l), hepes (14,3 g/l), ph 7,6. La incubación del plasma con cantidades óptimas de fosfolípidos y un activador de superficie activa los factores del sistema endógeno y mediante agregación de iones calcio se desencadena el proceso de coagulación. Se midió el tiempo transcurrido hasta la formación de un coágulo de fibrina. El resultado se expresó en segundos.
- El Tiempo de Protrombina (según Quick), utilizó como reactivo Thromborel® S, (Dade Behring Inc) tromboplastina humana conteniendo calcio, que se incubó con el plasma, midiendo el tiempo transcurrido hasta la formación del coágulo de fibrina. El valor medido puede expresarse en segundos, en % del valor normal, como tasa de protrombina (Prothrombin Ratio, PR) o en la tasa internacional normalizada (INR). En nuestro caso se expresó en % del valor normal. Al calcular los resultados en el % del valor normal, se tuvieron en cuenta los manuales de referencia del aparato de medida de

coagulación para elaborar de forma adecuada la curva de referencia en % del valor normal. Los rangos de referencia (percentil 5-95) establecidos por el fabricante son: fibrinógeno derivado: 1,8-3,5 g/l, % del valor normal: 70-130%.

- El Fibrinógeno se realizó utilizando el Dade® Reactivos para determinación del Fibrinogeno (Dade Behring Inc®), basado en la medida del tiempo de coagulación del plasma diluido cuando se agrega un exceso de trombina, basado en el principio de Clauss (266). El valor del tiempo de coagulación, obtenido de esta manera se comparó con el de un preparado de fibrinógeno estandarizado. Los resultados se expresarán en g/l. Intervalo de referencia: 1,8-3,5 g/l.
  
- Los niveles de D-dímero se midieron utilizando el Sistema de test de Coagulación (STA Compact Analyser) y el Reactivo Liatest D-Di test kit (Diagnostica Stago, France, laboratorios Roche®). La muestra se mezcló con el reactivo STA Liatest D-Di. Las partículas de látex recubiertas de anticuerpos monoclonales específicos de D-dímero (ratón) aglutinan en presencia de productos de degradación de fibrina. La aglutinación resulta en una dispersión de luz más fuerte que se mide como aumento de densidad óptica. El cambio de la densidad óptica se leyó de la curva de calibración. El nivel de dímero D ( $\mu\text{g/ml}$ ) de las muestras analizadas se mostraron en tiempo real en la pantalla del aparato.

Los niveles de dímero D ( $\mu\text{g/ml}$ ) se expresan en unidades equivalentes de fibrinógeno (FEU). Por definición, una FEU es la cantidad de fibrinógeno inicialmente presente que lleva al nivel observado de DD. La cantidad actual de

dímero D es aproximadamente la mitad de una FEU. Así un valor de 0,500 µg/ml FEU es aproximadamente 0,250 µg/ml (dímero D actual).

Los valores plasmáticos de DD normales en adultos referidos por el fabricante son inferiores a 0,50 (µg/ml) (FEU). En los analizadores STA y STA Compact los valores de D-dímero (microgramos /ml) de las muestras analizadas se representan en la pantalla en las unidades elegidas por el operador, en nuestro caso ng/ml FEU. Teniendo en cuenta que 0,50 µg/ml equivalen a 500 ng/ml, serían 250 ng/ml D-dímero equivalente.

Valores elevados se registran en el embarazo, mujeres que ingieren anticonceptivos orales, ancianos, en condiciones de actividad física y estrés y en otras situaciones clínicas. Las recomendaciones del fabricante están validadas por estudios poblacionales (126). Se analizaron 50 muestras humanas presuntamente normales (25 muestras femeninas, 25 muestras masculinas) y se obtuvieron los siguientes resultados: valor medio=0,23 µg/ml FEU con una desviación estándar de 0,14 µg/ml. Sin embargo, subrayan que cada laboratorio debe comprobar si los intervalos de referencia pueden aplicarse a su colectivo de pacientes y en caso necesario, establecer sus propios rangos de referencia.

Las características del método aportadas por el fabricante son:

- Sensibilidad analítica o límite de detección de 0,22 µg/ml en los sistemas STA como el nuestro.
- Intervalo de medición de 0,22-4,00 µg/ml de D-dímero (FEU). Si el test se realiza con dilución automática de la muestra es 0,22-20 µg/ml (FEU).

- Especificidad, no está referida, si bien apuntan que el test no es sensible al fibrinógeno y al fragmento E, y que existe actividad cruzada con el fragmento D que no tiene efecto debido a que *in vivo* en condiciones fisiológicas la actividad de la  $\alpha_2$  antiplasmina se opone a la producción del fragmento D a partir del fibrinógeno.

Para los procesos de control de calidad se utilizaron STA-System Controls N (normal) y P (anormal), proporcionados por el fabricante (Diagnostica Stago, France). Los controles son necesarios para verificar la exactitud y la reproducibilidad de los resultados.

El Hemograma se realizó con Coulter LH 750® (Beckman Coulter), mediante la tecnología VCS, basada en la medida del volumen, conductividad y dispersión láser de una partícula. Consiste en un citómetro de flujo que identifica las células mediante la medida de estos tres parámetros, de manera simultánea pero independientemente unos de otros. Una vez obtenidas las tres mediciones volumen, conductividad y dispersión láser de cada una de las células, el analizador del COULTER GEN\*S realiza un análisis individualizado de cada una de ellas, clasificándolas según estas tres variables e identificándolas. El sistema de reactivos utilizado incluyó: LH 700 series diluent® (solución diluyente), Lysse III Diff® (reactivo hemolizante para conteo de leucocitos y determinación de hemoglobina), LH 700 series pack® (reactivos para realizar la fórmula leucocitaria), Clenz® (solución de limpieza), Sangre control 5C® (sangre control valorada para todos los parámetros del hemograma).

La relación sangre/anticoagulante no fue modificada para valores de hematocrito. Basados en los valores de hematocrito de recién nacidos sanos aceptable (36).

Las muestras fueron centrifugadas a 3500 rpm durante 15 minutos y recogido el sobrenadante de plasma para su análisis. Todas las determinaciones se realizaron con técnicas publicadas y validadas en estudios previos.

#### **4.4.4 Autorizaciones**

El estudio fue aprobado por el comité ético del Hospital Lluís Alcanyís de Xàtiva (Anexo1).

Fue obtenido para cada uno de los pacientes el consentimiento informado (Anexo 2 y 3).

#### **4.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO. ESTRATEGIA DE ANÁLISIS PREVISTO.**

En el tratamiento estadístico se utilizó el programa MEDCALC stadistical software (versión 15.4) 2015 Bélgica®. El criterio de significación estadístico se estableció en 0,05.

Se han empleado tablas de frecuencia, cálculo de medianas, proporciones y otras medidas de posición, dispersión y forma, así como, intervalos de confianza.

Para determinar si las variables cuantitativas seguían una distribución normal o no se realizó la prueba de *Kolmogorov-Smirnov*, siendo la hipótesis nula que la variable sigue una distribución gaussiana. Por tanto, cuando las variables alcanzaban un grado de significación estadística inferior a 0,05 se rechazaba la hipótesis nula de distribución normal y utilizamos pruebas “no paramétricas” para su análisis estadístico. Las variables con distribución normal se analizaron mediante test estadísticos paramétricos.

Se calculó la diferencia entre variables cuantitativas utilizando: la T de Student si las variables siguen una distribución normal o la U de

Mann-Whitney (ó Kruskal-Wallis) si no existe normalidad o igualdad de varianzas.

Se empleó el Chi-cuadrado (X<sup>2</sup>), para comparación de proporciones. Con la corrección de Yates si precisa o mediante el método exacto de Fisher si el tamaño de la muestra es pequeño.

Se empleó la Regresión lineal y coeficiente de correlación Spearman, para evaluar asociación entre variables, análisis de la varianza y regresión lineal múltiple.

#### **4.6 ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA.**

Se realizó una estrategia de búsqueda bibliográfica sistemática para identificar estudios relevantes utilizando la base de datos Medline <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>. No se hicieron restricciones en cuanto a lenguaje, año o tipo de publicación.

También se contactó con el laboratorio Roche® que nos proporcionó las referencias utilizadas en sus estudios de analizadores y reactivos.

Se realizó una búsqueda retrospectiva exhaustiva y de actualización para recuperar el mayor número posible de referencias de la literatura publicada sobre el tema "*Developmental haemostasis*", "*Activation markers of coagulation and fibrinolysis*" y "*D-dimers in newborn*", acotando a población pediátrica-neonatal.

Se buscaron los artículos más relevantes que incluyeran métodos de laboratorio para la cuantificación de los D-dímeros y su aplicación clínica en población adulta y pediátrica- neonatal.



## **RESULTADOS**



## 5 RESULTADOS.

### 5.1 SUJETOS. MUESTRAS OBTENIDAS.

#### a) Muestras de sangre de cordón.

Se obtuvo un total de 402 muestras de sangre de cordón. Se excluyeron quince casos por:

- Cinco extracciones fallidas.
- Una muestra por objetivarse un volumen de muestra insuficiente para las determinaciones.
- Tres muestras por ingreso de los niños en la unidad de neonatos en la semana posterior a la determinación.
- Seis muestras por prematuridad (semanas de gestación menor de 36).

Quedaron 387 casos. Los datos correspondientes a estas muestras figuran en la Tabla 5.1 (Matriz general de datos obtenidos).

#### b) Muestras de sangre venosa.

Se obtuvo un total de 271 muestras de sangre venosa de recién nacidos de edades comprendidas entre dos y cuatro días de vida. Se excluyeron catorce casos por:

- Siete extracciones fallidas.
- Cinco por muestra insuficiente y/o coagulada.
- Uno por cumplir criterios de exclusión.
- Uno por prematuridad (menor de 36 semanas).

Quedaron 257 casos. Los datos correspondientes a estas muestras figuran en la Tabla 5.1

Tabla 5.1 Sujetos. Número de muestras obtenidas.

MUESTRA	Casos	
	Válidos	Perdidos/Excluidos
VENOSA DE CORDÓN	387	15
VENOSA PERIFÉRICA	257	14

TABLA 5.1 TABLA GENERAL DE LAS VARIABLES CON TODOS LOS DATOS OBTENIDOS

Paciente	Sangre	Sexo	SG	Peso	D_D	Hto	IQ	TTPa	Fibrinógeno	Parto	Dilatación	Expulsivo	Apgar 1min.	Anestesia	Inducción
1	0	1	39	3050	247	53	71	39,0	248	2	0	0	9	epi	no
2	0	0	38	2940	2101	45	76	48,0	102	1	45	15	10	local	no
3	0	0	38	4140	239	50	82	42,6	179	1	375	50	10	local	no
4	0	0	38	3010	5000	49	81	44,0	133	1	30	1	10	local	no
5	0	0	40	3360	1620	52	72	48,0	180	1	585	55	10	epi	no
6	0	1	40	3150	4285	53	46	38,7		1	95	35	10	local	no
7	0	0	38	2900	1509	48	76	44,6	125	1	160	90	10	epi	no
8	0	0	40	4220	146	43	20	59,0	338	1	85	15	10	local	no
9	0	1	41	4010	1453	46	45	41,6		1	35	50	10	local	no
10	0	0	40	2970	4178	49	67	33,2	120	1	135	25	10	intrad	no
11	0	1	41	3380	4343	51	87	28,0	222	4	310	15	10	epi	no
12	0	1	39	3150	685	45	76	52,3	196	1	120	5	10	local	no
13	0	1	40	2490	956	51	68	42,3	98	1	120	15	10	epi	si (4h)
14	0	0	40	2980	856	46	58	61,8	138	1	45	25	10	no	no
16	0	1	37	2530	398	51	67	46,0	62	1	120	10	10	local	si (4h)
17	0	1	40	3140	998	52	77	47,0	164	1	65	5	10	no	no
18	0	1	39	3340	182	51	87	48,0	219	1	30	20	10	local	no
19	0	1	38	3510	613	46	81	54,8	204	1	115	50	10	epi	no
20	0	1	39	2850	12024	47	63	49,0		1	60	20	9	local	no
21	0	1	40	3250	3169	46	79	38,5	213	1	120	25	10	epi	no
22	0	0	40	3450	5896	48	78	42,0	211	1	105	45	10	epi	no
23	0	0	40	4010	1513	46	83	43,8	198	1	75	20	10	epi	si (8h)
24	0	1	41	3580	289	41	76	40,0	246	2	0	0	10	intrad	no
25	0	1	40	3080	628	47	67	50,7	213	1	270	65	9	epi	no

Paciente	Sangre	Sexo	SG	Peso	D_D	Hto	IQ	TTPa	Fibrinogeno	Parto	Dilatación	Expulsivo	Apgar 1min.	Anestesia	Inducción
26	0	1	39	2510	196	50	65	42,8	155	1	90	5	10	local	no
27	0	1	40	2510	662	48	60	49,3	127	1	10	25	9	local	no
28	0	0	41	3300	2291	48	76	38,2	193	1	190	25	10	epi	si (9h)
29	0	0	38	3100	4469	49	77	47,0	165	1	40	10	10	local	no
30	0	1	38	3250	284	50	73	41,0	140	1	25	5	10	local	no
31	0	0	39	3500	480	50	75	42,8	214	1	40	20	10	local	si (6h)
32	0	0	40	3030	1152	57	75	43,6	147	1	60	5	10	local	no
33	0	1	38	2600	3237	52	77	45,7	131	1	75	5	10	local	no
34	0	0	40	3380	10000	43	81	34,2	161	4	180	80	10	local	no
35	0	0	39	3100	188	57	80	44,0	187	1	65	5	10	local	no
36	0	0	38	3330	2400	55	35	42,1	187	1	135	15	9	local	si (8h)
37	0	1	40	3930	9999	52	54	42,5	338	1	60	10	10	local	no
38	0	0	37	3180	453	51	64	44,6	171	1	45	70	9	local	no
39	0	1	36	3040	4406	51	62	49,0	68	4	120	35	10	epi	si (7h)
40	0	0	39	3600	534	51	54	46,5	119	1	65	25	10	local	no
41	0	1	40	3450	756	47	62	33,0	184	1	75	5	10	local	no
42	0	1	38	2620	342	55	53	59,0	152	1	105	15	10	local	no
43	0	0	40	2350	208	57	58	43,0	152	1	30	5	10	local	no
44	0	0	39	2740	471	51	70	42,4	262	1	150	45	10	epi	no
45	0	0	39	3800	594	63	81	33,6	297	1	45	65	10	local	si (3h)
46	0	0	38	2780	353	41	77	38,0	198	1	60	15	10	local	no
47	0	0	38	2940	144	41	69	45,0	194	1	60	15	10	local	no
48	0	0	39	3110	1055	53	42	50,0	213	1	50	35	10	local	no
49	0	1	38	2350	284	47	83	39,7	132	1	30	25	9	local	si (1,30)
50	0	0	41	3200	144	44	36	36,0	168	1	100	20	8	local	si (8h)

Paciente	Sangre	Sexo	SG	Peso	D_D	Hto	IQ	TTPa	Fibrinógeno	Parto	Dilatación	Expulsivo	Apgar 1min.	Anestesia	Inducción
51	0	1	36	2650	836	43	83	48,0	132	2	0	0	10	intrad	no
52	0	0	38	3420	203	49	55	49,4	153	2	0	0	10	intrad	no
54	0	1	39	3170	481	43	64	47,0	178	1	135	145	9	epi	no
55	0	0	37	2760	10000	60	82	48,0	190	1	75	10	10	local	no
57	0	0	40	3210	5000	42	53	37,4	157	1	375	5	10	epi	no
58	0	1	38	2690	257	50	59	47,3	104	1	35	15	10	epi	si (4h)
59	0	1	40	3090	151	45	77	42,7	237	1	80	5	10	local	no
60	0	0	41	3300	229	51	67	41,0	174	2	135	0	10	epi	no
61	0	1	40	4000	284	45	85	42,5	237	2	0	0	10	gral	no
62	0	1	40	3470	228	47	62	45,2	72	1	90	15	10	epi	si (4h)
63	0	0	40	3100	9131	46	68	28,0	87	1	90	15	9	local	no
64	0	1	41	3460	322	45	71	43,8	168	1	180	15	10	local	si (6h)
65	0	1	39	3530	436	49	70	52,5	175	1	80	10	10	local	no
66	0	1	40	4120	743	48	88	43,4	178	1	0	0	10	local	no
67	0	0	40	3290	345	45	74	50,0	345	1	125	5	10	epi	si (9h)
68	0	0	41	3030	1296	49	74	46,4	168	1	160	25	10	epi	no
69	0	1	40	3230	10000	52	56	47,0	83	1	30	15	10	local	no
70	0	0	39	3470	555	48	54	42,8	134	1	135	30	10	local	si (2,30h)
71	0	1	42	2700	10987	53	52	42,6	61	1	90	15	9	local	si (5h)
72	0	0	40	3710	1071	50	77	44,0	177	1	135	45	9	epi	si (5h)
73	0	1	39	2880	11414	52	70	53,2	143	1	135	60	9	local	no
74	0	1	39	3650	370	44	63	53,3	163	1	90	15	10	local	no
75	0	0	39	3220	10456	54	65	47,4	88	1	105	30	10	local	no

Paciente	Sangre	Sexo	SG	Peso	D_D	Hto	IQ	TTPa	Fibrinógeno	Parto	Dilatación	Expulsivo	Apgar 1min.	Anestesia	Inducción
76	0	0	39	2930	3533	54	38	54,0	64	1	155	10	10	local	no
77	0	0	40	4170	455	52	67	32,1	230	1	120	60	9	local	no
78	0	1	41	4320	148	50	61	38,6	220	1	20	20	10	local	no
79	0	0	38	3510	2794	55	46	39,0		1	120	25	10	local	no
80	0	1	40	2900	1311	51	91	38,5	146	1	270	35	10	local	no
81	0	0	39	3780	8727	53	63	51,8	79	4	300	55	9	local	no
82	0	1	40	3350	599	52	73	41,6		1	240	6	10	epi	no
83	0	0	38	2780	351	47	60	59,8	101	1	90	10	9	local	no
84	0	1	41	3180	239	46	66	43,2	202	1	60	5	10	local	si (2h)
85	0	1	41	3850	944	55	74	37,3	130	3	195	185	10	epi	no
86	0	0	40	3280	2961	57	55	33,6	126	1	105	95	10	local	no
87	0	0	41	3700	208	50	50	51,5	185	1	135	60	10	epi	no
88	0	1	38	3050	2387	46	75	56,5	164	1	100	20	10	local	no
89	0	1	39	3670	10000	47	84	32,1	180	1	235	65	10	epi	si (2,30)
90	0	0	40	3030	10000	45	43	45,5	78	1	90	25	9	local	no
91	0	1	41	3200	177	48	42	69,2	133	1	50	5	10	local	no
92	0	1	37	3220	301	51	71	62,3	180	1	30	50	10	local	si (2h)
93	0	0	40	3830	198	46	70	48,9	208	1	50	10	10	local	no
94	0	0	39	2970	1044	53	59	49,4	172	1	45	30	10	local	no
95	0	0	40	3180	269	52	81	37,9	292	1	90	5	10	local	si (1,30h)
96	0	0	40	3320	677	55	64	45,5	180	1	390	115	10	epi	no
97	0	1	38	3300	653	47	99	42,0	308	1	160	20	10	local	si (4h)
98	0	1	37	2960	5000	39	75	44,0	113	2	0	0	9	gral	no
99	0	1	40	3320	996	46	78	24,0	125	1	360	25	10	epi	no
100	0	0	36	3140	471	43	64	64,6	125	1	55	5	10	local	no

Paciente	Sangre	Sexo	SG	Peso	D_D	Hto	IQ	TTPa	Fibrinógeno	Parto	Dilatación	Expulsivo	Apgar 1min.	Anestesia	Inducción
101	0	1	38	3000	217	48	72	48,9	186	2	0	0	9	intrad	no
102	0	1	38	3460	203	41	58	53,0	116	1	55	5	10	no	no
103	0	0	39	3930	800	47	58	37,7	167	1	180	45	10	epi	no
104	0	0	37	3250	1056	47	79	43,9	136	1	98	22	10	local	si (6h)
105	0	0	39	3120	819	44	74	45,0	166	1	260	10	9	local	si (6h)
106	0	1	40	3510	979	44	70	50,0	183	1	135	30	9	local	no
108	0	1	38	2240	3207	47	60	55,6	131	1	10	15	10	local	no
109	0	1	40	3150	3298	45	78	36,5	164	1	480	45	10	local	si (9,45h)
110	0	0	41	3660	10000	50			63	1	120	50	10	epi	no
111	0	0	38	3550	9999	57	19	70,7	225	4	120	110	8	local	no
112	0	1	37	2300	347	42	73	35,8	201	1	30	5	10	local	no
113	0	1	37	2370	1847	41	55	61,7	73	2	0	0	9	intrad	no
114	0	0	38	2430	1587	48	62	51,4	197	1	15	30	10	local	no
115	0	1	40	3340	3046	48	66	52,6	68	1	60	5	10	local	si (3h)
117	0	0	41	3450	387	45	75	49,0	235	1	110	110	9	local	no
118	0	1	40	3810	279	52	76	42,0	165	2	170	0	9	epi	si (10h)
119	0	1	40	3210	1633	48	57	52,3	189	1	195	55	9	epi	no
120	0	1	39	3150	552	45	72	41,8	192	1	0	315	10	no	no
121	0	1	37	3170	558	53	74	42,7	255	1	55	5	10	local	no
122	0	0	41	3260	139	52	48	57,7	166	1	30	15	10	local	no
123	0	1	41	3310	493	52	73	42,7	157	1	386	5	10	epi	no
124	0	0	40	2730	169	50	56	42,0	193	1	20	5	10	local	no
125	0	0	38	3220	7441	51	59	31,1	187	4	320	20	10	epi	si (8h)
126	0	1	41	3900	10000	60	60	30,4	124	1	150	75	10	epi	no
127	0	0	39	3560	10000	56	67	44,0	149	1	115	5	10	local	si (1,30)
128	0	0	39	3130	10000	59	76	38,7	125	1	120	120	10	local	si (4h)
129	0	1	39	3520	489	49	77	46,7	266	3	60	20	9	epi	si (2h)
130	0	1	41	3750	505	52	81	43,3	174	2	0	0	9	intrad	no

Paciente	Sangre	Sexo	SG	Peso	D_D	Hto	IQ	TTPa	Fibrinógeno	Parto	Dilatación	Expulsivo	Apgar 1min.	Anestesia	Inducción
131	0	1	39	3940	1062	50	94	41,0	258	2	245	0	9	epi	si (10h)
132	0	0	38	3640	2147	52	75	38,1	167	1	45	35	9	no	si (2h)
133	0	1	38	3000	316	56	75	42,2	218	4	55	5	10	local	no
134	0	1	39	3520	262	48	65	47,0	110	1	55	10	10	local	no
135	0	1	36	2590	172	57	43	42,6	179	1	30	5	10	no	no
136	0	1	40	3590	1898	47	90	29,6	184	1	90	45	10	epi	si (4h)
137	0	0	40	3530	5686	49	74	35,6	156	1	135	30	8	epi	si (6,15h)
138	0	1	40	4130	10000	53	96	33,0	165	1	30	30	10	local	no
139	0	0	41	3880	608	51	67	40,0	190	1	130	75	9	local	no
140	0	1	38	3570	407	50	72	40,8	144	1	310	7	10	epi	no
141	0	1	39	3030	577	49	72	40,0	133	1	70	5	10	local	si
142	0	0	40	3350	3791	44	73	40,0	136	1	65	7	10	local	no
143	0	0	39	3940	3071	43	60	41,0	60	1	30	15	10	local	no
145	0	1	40	3520	564	51	76	39,6		1	65	15	10	no	no
146	0	1	40	2810	10000	48	88	34,8		1	45	45	10	local	no
147	0	1	39	2900	254	46	79	48,3	255	2	0	0	9	intrad	no
148	0	0	41	3110	776	51	76	36,5	205	1	270	60	9	local	no
149	0	1	39	3460	398	46	83	60,0	205	1	45	30	10	local	si (3h)
150	0	1	38	3500	692	54	58	42,0	178	1	240	30	8	local	no
151	0	1	40	3660	1105	49	67	45,0	218	1	35	10	10	no	si (2h)
152	0	1	40	3640	2404	56	67	44,9		1	200	75	10	local	no
153	0	1	39	3020	288	47	74	48,7	212	1	135	20	10	local	no
155	0	1	42	3750	134	44	66	44,2	251	2	0	0	10	intrad	si (5h)
156	0	1	41	3330	10000	42	48	56,0		1	435	25	9	local	no
157	0	1	39	3550	264	47	52	60,0	147	1	80	20	9	local	no
158	0	1	40	3440	208	46	72	57,8	218	2	0	0	10	intrad	si (1,30)
159	0	0	40	3140	10548	49	50	36,0	160	1	90	55	7	epi	no
160	0	0	38	2800	1835	48	65	43,0	185	2	150	0	9	intrad	no

Paciente	Sangre	Sexo	SG	Peso	D_D	Hto	IQ	TTPa	Fibrinógeno	Parto	Dilatación	Expulsivo	Appgar 1min.	Anestesia	Inducción
161	0	1	40	3260	252	49	62	40,1	222	1	130	35	10	local	no
162	0	1	37	2650	3670	46	75	41,0	214	1	60	10	10	local	no
163	0	1	37	3070	10000	51	63	61,0	212	1	140	25	8	epi	si (4h)
164	0	1	39	3500	829	42	59	43,2	176	1	180	5	10	epi	si (6h)
165	0	1	39	3220	170	43	49	54,0	181	1	0	0	10	no	no
166	0	0	38	2950	181	46	69	46,0	248	1	60	20	10	local	no
167	0	0	40	3380	411	44	66	40,7	305	1	195	60	10	local	no
168	0	0	39	3190	5298	47	100	36,0	156	1	70	20	10	local	no
169	0	0	39	3500	5983	38	96	34,9	187	1	435	30	10	epi	no
170	0	1	37	3100	207	51	63	38,4	184	4	120	45	9	local	si (4h)
171	0	0	38	3750	121	47	56	56,0	163	2	0	0	10	loco-reg	no
172	0	1	39	3280	237	42	85	43,4	203	1	30	20	10	local	no
173	0	0	37	2970	2994	48	54	51,9	159	1	120	45	10	local	si (4h)
174	0	0	40	3300	144	45	60	50,7	141	1	60	20	10	local	no
175	0	1	39	4000	6830	47	14	125,9		1	60	40	10	local	no
176	0	1	39	2670	364	52	59	49,9	158	1	150	25	9	epi	no
177	0	0	39	3670	347	46	77	49,3	166	1	105	15	10	local	no
178	0	1	39	2560	215	49	51	65,3	178	1	100	15	9	local	si (3h)
179	0	1	39	3290	732	47	92	40,0	239	1	40	5	9	local	si (1h)
180	0	0	38	4140	219	46	65	46,3	173	2	330	0	9	intrad	si (13 h)
181	0	0	40	3190	10000	48	75	38,3	97	1	60	40	9	local	no
182	0	1	40	2940	12941	42	84	42,0	204	1	60	10	10	local	no
185	0	0	36	3330	78	35	10	84,0	179	1	45	25	10	local	no
186	0	1	39	3560	130	53	53	51,4	161	1	30	30	9	local	si (3h)
187	0	0	39	3630	172	47	62	42,1	122	1	100	15	10	local	no
188	0	0	40	3720	452	45	66	44,4	112	1	60	5	10	local	no
189	0	1	40	3420	183	46	95	34,7	236	1	175	40	10	local	no
190	0	1	40	3660	277	48	73	41,3	245	1	75	25	10	local	no

Paciente	Sangre	Sexo	SG	Peso	D_D	Hto	IQ	TTPa	Fibrinógeno	Parto	Dilatación	Expulsivo	Apgar 1min.	Anestesia	Inducción
191	0	1	39	3200	757	48	83	42,0	210	2	0	0	10	intrad	no
192	0	1	39	3720	1055	53	81	35,3	183	2	0	0	9	gral	no
193	0	1	38	2700	2568	47	36	58,0	65	1	60	35	9	epi	si (10h)
194	0	1	36	2230	764	52	78	58,0	154	1	30	20	10	local	no
195	0	0	41	2950	1379	40	80	32,0	160	1	110	40	9	local	no
196	0	1	39	3260	337	50	56	44,5	90	1	105	30	10	local	no
197	0	0	40	3470	329	49	57	50,0	213	1	140	15	10	local	si (3,30h)
198	0	0	38	3610	448	51	72	40,0	156	1	120	25	10	local	no
199	0	1	38	3460	1020	45	70	34,3	149	1	90	5	9	no	no
200	0	0	39	3200	680	43		29,6	213	1	30	5	10	local	no
201	0	0	40	3490	188	56	65	57,6	208	1	15	5	10	local	no
202	0	1	38	3620	1962	65	68	38,4	239	1	135	35	8	no	si (7h)
203	0	0	37	3990	540	47	93	46,7	235	1	65	10	9	local	si
205	0	1	40	3520	904	46	86	42,9	208	1	175	70	9	local	no
206	0	1	41	2900	2616	60	64	46,4	188	1	95	10	10	local	no
207	0	1	40	3190	10000	45	83	35,8	84	4	160	165	10	epi	no
208	0	1	38	3050	130	47	71	45,3	196	1	75	45	9	local	no
209	0	1	41	3380	784	50	64	53,0	184	2	90	195	10	epi	si (30m)
210	0	1	39	3390	997	51	83	47,5	221	1	290	95	10	epi	si (9h)
211	0	0	39	3260	3159	52	66	41,7	155	1	115	15	10	local	si (3)
212	0	1	40	3420	2389	50	79	40,2	152	1	100	43	9	epi	si (6h)
213	0	1	40	3000	274	48	68	45,3	151	1	0	0	10	epi	si (4h)
214	0	1	38	3280	559	49	74	44,5	234	1	60	5	10	local	no
215	0	0	39	3260	871	49	26	57,1	159	1	50	5	10	local	no
216	0	1	40	3600	274	50	76	47,0	226	1	40	15	10	local	no
217	0	0	39	2560	307	54	59	48,1	307	1	60	20	10	local	no
218	0	0	40	2730	394	57	50	59,2	93	1	190	15	9	local	no
219	0	1	38	2730	11170	50	87	34,0	84	1	35	5	10	local	no
220	0	0	39	3580	367	46	100	36,0	144	1	40	5	9	local	no

Paciente	Sangre	Sexo	SG	Peso	D_D	Hto	IQ	TTPa	Fibrinógeno	Parto	Dilatación	Expulsivo	Apgar 1min.	Anestesia	Inducción
221	0	1	38	2730	10000	45	66	40,0	71	1	20	240	9	epi	si (9,30)
222	0	1	39	2770	320	51	46	58,3	79	1	165	5	10	epi	si (7h)
223	0	1	39	3190	7393	50	62	30,7	63	1	210	20	10	epi	si (8h)
224	0	0	40	2840	808	51	65	48,5	168	4	120	30	10	epi	si (3h)
225	0	1	40	3220	145	51	42	64,4	101	1	35	25	9	local	si (2h)
226	0	1	41	4110	1129	59	37	77,9	96	1	35	25	10	local	si (2h)
227	0	1	39	2950	641	49	58	51,0	130	2	85	10	10	epi	no
228	0	1	42	3250	474	49	80	45,6	130	2	0	0	10	intrad	si (10h)
229	0	1	41	3020	5000	52	79	35,0	151	1	140	15	9	local	no
230	0	1	39	3650	176	46	46	49,9	151	4	265	50	10	local	no
231	0	1	41	3360	235	43	53	20,0	172	1	15	23	10	local	no
232	0	1	40	3210	562	68	52	23,0	211	1	115	60	10	local	no
233	0	0	39	3400	231	45	100	34,0	211	1	40	10	10	local	no
234	0	0	40	4070	2271	45	68	58,0	180	2	180	150	9	intrad	si (12h)
235	0	1	40	3190	388	45	56	68,4	180	1	20	30	10	local	no
236	0	0	37	2920	1016	47	45	60,0	200	1	120	45	8	epi	si (12h)
237	0	1	39	3300	1081	52	45	60,0	239	2	0	0	10	intrad	si (12h)
238	0	1	42	3100	10000	47	80	31,5	190	1	1080	20	9	local	no
239	0	1	39	3900	2342	47	100	33,2	81	1	90	15	9	local	no
240	0	1	41	2990	320	56	73	47,5	205	2	0	0	9	epi	no
241	0	1	39	3300	3	50	49	44,7	263	1	35	17	9	local	no
242	0	1	39	3140	160	45	64	51,0	156	1	65	10	10	local	no
243	0	1	38	3100	563	53	62	48,8	226	1	90	10	10	local	no
244	0	1	40	2950	203	50	43	62,4	163	1	0	0	10	local	no
245	0	0	39	3620	250	49	43	50,4	263	1	210	100	10	epi	no
246	0	1	39	2910	784	49	67	46,4	213	1	50	10	10	local	no
247	0	1	41	2960	9184	60	56	47,6	112	2	300	45	8	intrad	no
248	0	1	38	3460	759	46	50	82,9	194	1	90	55	9	epi	no
249	0	0	40	3160	1738	54	26	61,4	313	1	225	95	9	intrad	no
250	0	1	40	3850	127	49	77	41,9	164	1	85	15	10	loco-reg	no

Paciente	Sangre	Sexo	SG	Peso	D_D	Hto	IQ	TTPa	Fibrinógeno	Parto	Dilatación	Expulsivo	Apgar 1/min.	Anestesia	Inducción
251	0	0	39	3660	381	57	50	55,2	173	1	30	5	10	local	no
252	0	1	38	3280	10000	35	44	51,1		1	45	20	9	local	no
253	0	0	41	3830	198	55	59	55,3	190	1	60	10	10	local	no
255	0	0	38	2650	421	54	58	50,0	104	1	135	10	9	local	no
256	0	1	38	2720	505	49	79	60,0	317	1	135	20	10	local	no
257	0	0	40	2950	7432	50	91	47,6	233	1	90	15	10	local	no
258	0	1	41	3400	2857	48	78	42,7	173	1	225	5	10	local	no
259	0	0	40	3770	8610	55	28	51,3	194	2	360	0	10	epi	si (11h)
260	0	0	38	3650	196	52	52	56,4	157	1	45	35	9	local	si (2h)
261	0	1	40	3360	5030	52	70	38,8	18	2	0	0	9	gral	no
262	0	0	38	2680	475	57	82	49,0	182	2	0	0	10	intrad	no
263	0	0	41	3850	2780	44	84	34,2	218	4	240	30	9	local	no
264	0	1	40	3280	96	46	48	61,4	174	1	50	5	10	local	no
265	0	1	40	3380	297	51	54	43,3	211	1	225	40	9	epi	si (6h)
266	0	1	37	2530	465	50	69	66,0	153	1	90	25	9	epi	no
267	0	1	38	2360	8032	48		39,9		1	50	15	9	local	si (3h)
268	0	1	39	3230	301	45	57	53,4	163	1	15	10	10	local	no
269	0	1	38	3500	61	50	50	40,1	269	2	405	0	10	epi	no
270	0	1	40	3950	267	46	78	51,3	167	1	25	5	10	local	no
271	0	1	37	3540	719	54	100	47,3	345	1	70	20	9	local	no
272	0	1	39	2970	280	48	64	49,5	143	1	50	5	9	local	no
273	0	1	38	3790	9111	47	51	49,0		1	35	10	10	local	no
274	0	1	38	2640	393	56	82	44,8	148	1	105	20	10	local	no
275	0	0	40	3850	1968	48	77	41,7	136	1	40	15	10	local	no
276	0	1	40	3280	625	45	92	27,7	145	1	105	30	10	epi	si (4,30h)
277	0	1	39	2970	137	49	59	55,0	150	1	105	50	9	epi	no
278	0	0	40	3160	674	53	68	40,0	171	1	90	15	10	local	no
279	0	1	38	3750	549	51	86	52,0	187	1	130	5	10	local	no
280	0	0	41	3650	326	49	56	51,0	161	1	195	25	10	local	no

Paciente	Sangre	Sexo	SG	Peso	D_D	Hto	IQ	TPa	Fibrinógeno	Parto	Dilatación	Expulsivo	Apgar 1/min.	Anestesia	Inducción	
281	0	0	39	3280	7216	49	78	54,2	219	1	40	50	7	local	si (2,50)	
282	0	0	40	3380	1451	47	61	41,0	237	1	85	5	9	local	no	
283	0	0	37	2540	535	44	76	53,1	198	2	0	0	10	intrad	no	
284	0	0	40	3610	1245	52	82	41,6	179	2	0	730	10	gral	si (1h)	
285	0	1	40	2860	4523	53	54	42,7	268	1	75	15	10	local	no	
286	0	1	39	3810	909	43	86	47,6		2	0	0	10	gral	no	
287	0	1	39	3330	12265	52	69	40,0	65	2	180	120	6	gral	si (7h)	
288	0	1	39	3100	167	51	65	44,0	149	1	185	10	9	local	no	
289	0	1	40	3130	13898	49	62	27,4		4	285	40	9	local	no	
290	0	1	39	2960	309	47	58	43,7	141	2	270	0	9	epi	si (9h)	
291	0	1	39	3180	487	50	66	53,6	159	1	5	25	10	epi	no	
292	0	1	39	3000	421	50	70	59,9	23	1	150	85	9	epi	no	
293	0	0	39	3170	1158	53	62	40,3	169	1	215	45	10	epi	no	
294	0	0	41	2940	2013	57	57	50,9	147	1	65	20	9	local	no	
295	0	1	39	3790	571	48	65	33,0	142	2	255	0	10	epi	no	
296	0	0	40	3480	9276	48	96	31,1	64	1	140	55	10	epi	no	
297	0	1	39	3930	185	50	49	51,1	167	1	25	10	10	local	no	
298	0	1	40	3480	397	43	63	57,0		1	195	45	10	epi	no	
299	0	1	38	3280	8072	50	76	44,0	125	1	240	105	8	epi	si (9h)	
300	0	1	39	3030	1208	45	63	39,7	142	1	80	15	10	intrad	no	
301	0	1	40	3000	334	53	79	33,7	195	2	265	0	8	gral	si (7h)	
302	0	1	38	3730	1366	53	51	49,0	187	3	145	105	6	epi	si (8h)	
303	0	0	40	4090	211	48	75	53,9	174	1	90	50	10	epi	no	
304	0	1	39	3400	4776	51	100	33,2	161	1	75	45		10	local	si (4h)
305	0	1	40	3970	908	46	65	46,0	82	1	75	20	9	local	si (2h)	
306	0	0	39	3250	145	42	52	64,0	155	2	0	0	9	intrad	no	
307	0	1	39	3230	289	48	46	60,6	121	1	175	35	9	epi	si (5h)	
308	0	0	39	3570	8711	44	76	32,9		1	210	15	10	epi	no	
309	0	0	40	4090	1227	52	31	42,4		1	290	50	9	local	no	
310	0	1	41	3220	1847	45	73	44,8	88	1	38	7	10	local	no	

Paciente	Sangre	Sexo	SG	Peso	D_D	Hto	IQ	TTPa	Fibrinógeno	Parto	Dilatación	Expulsivo	Apgar 1min.	Anestesia	Inducción
311	0	1	39	3030	261	48	86	46,0	255	2	0	0	10	epi	no
312	0	1	40	3430	493	49	72	51,4	185	1	65	0	10	local	no
313	0	1	40	3960	515	50	66	45,1	184	1	255	30	10	local	no
314	0	1	39	3070	851	55	60	55,0	198	4	60	10	9	local	no
315	0	0	36	2800	822	47	49	65,4		1	60	20	10	local	no
316	0	0	39	4000	3997	61	45	48,2	162	1	135	125	6	epi	si (9h)
317	0	1	40	3880	3194	52	79	27,2	96	1	55	60	10	local	no
318	0	1	38	2740	753	49	82	63,1	170	1	75	15	10	local	no
319	0	1	42	3270	1059	45	62	48,7	133	1	215	15	9	epi	si (6h)
320	0	1	40	3170	5895	56	27	32,1		1	175	15	10	local	no
321	0	0	40	3700	1071	52	44	73,8	107	1	320	30	7	epi	si (7h)
322	0	1	38	2590	1519	47	62	53,3	100	1	35	10	10	local	si (3h)
323	0	1	40	3090	569	53	82	43,3	177	1	90	10	10	local	no
324	0	0	41	3450	5000	52	52	42,0	164	1	130	35	10	local	no
325	0	1	38	2710	162	48	43	56,0	104	1	45	25	10	local	si (5h)
326	0	1	36	2920	6282	50	52	42,1	130	1	120	15	10	local	no
327	0	1	41	3000	295	55	51	34,6	186	1	210	30	9	local	no
328	0	0	41	3020	561	50	52	46,5	191	4	255	30	9	epi	si (9h)
329	0	0	39	3650	224	50	65	53,9	176	1	45	5	9	local	no
330	0	1	36	2650	838	47	72	45,6		1	30	5	10	local	si (4h)
331	0	0	41	3320	382	49	46	67,0	106	1	0	25	10	local	no
332	0	0	40	2850	952	50	50	65,0	153	1	130	15	10	epi	no
333	0	1	40	4100	558	50	46	50,8	170	1	150	25	10	local	no
334	0	1	38	2590	730	46	67	50,1	339	1	35	25	10	local	si (1,30)
335	0	1	41	3630	207	52	70	47,0	124	1	160	155	10	intrad	no
336	0	1	40	3650	272	43	72	45,0	124	1	60	10	9	local	si (2h)
337	0	0	39	3840	253	42	56	60,8	197	1	360	5	10	epi	no
338	0	0	41	3870	297	49	57	52,8	75	1	50	45	10	local	no
339	0	0	40	4090	9786	55	96	30,0	62	1	185	30	10	local	no
340	0	1	41	3880	4998	52	33	48,7	194	1	60	15	10	local	no

Paciente	Sangre	Sexo	SG	Peso	D_D	Hto	IQ	TTPa	Fibrinógeno	Parto	Dilatación	Expulsivo	Apgar 1min.	Anestesia	Inducción
341	0	0	38	3160	265	46	73	46,7	189	1	140	5	10	local	no
342	0	1	39	3400	1805	49	85	40,7	193	2	0	0	9	intrad	no
344	0	1	39	3080	8806	50	47	46,7	88	1	30	10	10	local	no
345	0	0	42	3070	6136	53	57	37,8	138	1	45	30	10	epi	si (10h)
346	0	1	40	3270	4810	45	73	38,0	85	4	200	10	8	epi	no
347	0	1	40	3700	580	55	74	44,8	258	4	115	45	9	epi	si (5h)
348	0	1	40	2990	6073	46	60	50,0	127	1	0	0	10	local	no
349	0	1	40	3170	299	51	82	46,0	214	1	0	0	10	local	no
350	0	0	40	3450	471	46	54	51,1	119	1	65	5	10	local	no
351	0	0	39	3100	3059	49	72	47,3	151	1	45	25	10	epi	no
352	0	0	39	3900	11707	49	55	45,2	134	1	60	20	10	epi	no
353	0	0	39	3230	13640	48	68	48,0	144	1	50	10	10	local	no
354	0	0	38	3150	459	40	59	56,0	63	1	75	70	10	local	no
355	0	0	41	3550	2227	50	64	39,3	165	1	330	40	9	local	no
356	0	0	39	3650	591	54	44	53,0	135	4	135	50	9	epi	si (5,30h)
357	0	0	36	2960	1274	44	46	50,0	70	2	0	0	9	intrad	no
358	0	0	39	4580	343	50	55	70,5	130	1	80	10	6	local	no
359	0	1	39	2930	278	46	55	55,9	134	1	95	10	9	local	no
360	0	1	40	3100	10700	52	73	45,2		3	165	30	9	epi	si (5h)
361	0	1	42	3880	284	55	50	50,0		2	130	0	10	intrad	si 9,30h)
362	0	0	39	3600	580	52	88	41,0	118	1	105	100	9	epi	no
363	0	1	40	3190	243	50	61	40,3	145	1	140	55	10	local	no
364	0	1	41	3150	10451	52	79	40,0		1	160	10	9	local	no
365	0	0	41	3250	596	60	57	42,1	119	1	0	0	10	local	no
366	0	0	39	3010	2764	53	42	54,0		1	80	10	9	local	no
367	0	1	41	2970	712	51	56	33,5	152	1	90	75	10	epi	si (3h)
368	0	0	39	3010	1565	53	32	57,7	131	2	0	0	8	intrad	no
369	0	1	41	3940	2740	56	24	47,2	117	1	120	5	10	local	no
370	0	0	37	3200	4460	54	47	47,0		1	95	20	10	epi	no

Paciente	Sangre	Sexo	SG	Peso	D_D	Hto	IQ	TPa	Fibrinógeno	Parto	Dilatación	Expulsivo	Appgar 1min.	Anestesia	Inducción
371	0	0	40	4340	462	45	64	47,9	280	1	30	5	10	local	si
372	0	1	40	2900	284	51	46	56,6	126	1	65	10	9	gral	no
373	0	0	39	3030	950	47	48	47,8	149	1	220	10	10	epi	no
374	0	1	42	3730	523	49	47	42,4	171	4	150	90	9	epi	si (12h)
375	0	0	40	3490	616	53	30	65,4	174	1	160	20	10	epi	no
376	0	0	39	3130	2440	54	86	44,3	155	1	60	30	9	local	no
377	0	0	39	3080	11844	54	86	47,9	211	2	0	0	8	gral	no
378	0	1	41	3030	8675	53	91	36,1	186	4	70	15	7	epi	si (5h)
379	0	1	39	3100	416	48	79	53,0	231	4	105	15	9	epi	si (5h)
380	0	1	41	3285	250	50	42	49,4	234	3	240	65	9	epi	no
381	0	0	41	3650	508	51	21	46,4	168	1	165	10	9	epi	no
382	0	0	39	3750	9706	47	75	39,0	122	4	105	10	9	local	si (6h)
383	0	0	39	3520	1115	55	59	52,1	436	1	30	25	9	local	no
384	0	0	38	2970	403	46	47	69,2	190	1	75	15	9	local	no
385	0	0	41	4110	569	59	61	45,9	235	1	60	15	9	no	no
386	0	1	39	2890	412	43	95	44,0	189	1	120	10	10	local	no
387	0	1	37	2200	1716	54	28	57,8	173	2	0	0	9	gral	si (4h)
388	0	1	38	3440	3295	45	93	44,8	196	2	0	0	10	epi	si (9h)
389	0	1	39	2820	1050	42	100	40,0	190	2	0	0	10	intrad	no
390	0	0	39	3790	2008	51	53	51,0	139	4	135	65	9	local	si (5h)
391	0	0	38	3400	1022	49	97	44,0	275	1	125	50	9	local	no
392	0	0	36	2950	2530	47	75	60,0	178	1	10	15	10	local	si (1,30h)
393	0	1	40	2620	6484	63	35	37,0	151	1	75	30	10	local	no
394	0	1	42	3360	1050	50	53	42,0	181	1	215	7	9	epi	si (8h)
395	0	0	39	3300	1585	63	11	56,0	216	1	180	15	9	local	no
396	0	1	38	3200	1059	50	54	52,0	194	1	240	25	9	local	no
397	0	0	38	3220	282	43	100	43,0	198	1	90	15	8	local	no
398	0	1	39	2880	658	53	65	37,0	128	1	80	7	9	local	no
399	0	0	38	3030	797	52	91	42,0	198	1	260	75	9	local	si (8h)

Paciente	Sangre	Sexo	SG	Peso	D_D	Hto	IQ	TTPa	Fibrinogeno	Parto	Dilatación	Expulsivo	Apgar 1min.	Anestesia	Inducción
1	1	0	40	3500	4700	55	100	29,5	340	2	160	20	9	gral	no
2	1	1	39	2490	6458	60	46	47,0	378	2	0	0	9	epi	si
3	1	1	39	3430	11800	55	100	28,0	219	1	240	20	10	epi	no
4	1	0	41	3410	3670	47	99	36,4	558	1	130	15	10	local	no
5	1	1	40	3560	1023	55	77	36,2	375	1	55	25	10	local	no
6	1	1	40	2780	922	54	73	40,0	360	1	105	55	10	local	no
7	1	1	41	3440	1062	54	60	49,1	325	2	0	0	10	intra	no
8	1	1	38	2910	11488	50	79	37,1	213	1	120	40	10	local	si
9	1	0	37	2790	2403	45	90	98,0	478	1	165	90	10	local	no
10	1	0	38	3410	14229	53	84	44,4	210	1	60	10	10	epi	si
11	1	1	41	3900	14289	52	95	28,0	465	1	75	15	10	local	no
12	1	0	39	3570	12712	55	89	41,7	275	1	120	25	9	local	no
13	1	0	41	3490	11212	50	100	31,3	183	1	370	80	8	epi+local	si
14	1	0	42	2960	1435	50	20	41,4	243	1	65	35	8	epi	si
15	1	0	41	3980	3707	58	79	35,1	429	1	80	42	10	local	no
16	1	0	42	3340	3472	40	100	32,0	184	1	240	95	8	local	si
17	1	1	39	3260	5533	52	76	35,9	355	2	0	0	10	intra	si
19	1	0	39	3440	3351	57	93	31,0	125	1	160	25	9	local	si
20	1	1	40	2410	9804	63	51	41,7	205	1	40	5	10	no	no
21	1	0	40	3330	2879	59	89	42,0	398	1	45	15	10	epi	si
22	1	0	39	3180	9627	45	69	31,5	138	1	120	15	9	local	no
23	1	0	40	3650	2296	62	97	35,5	479	1	105	30	10	epi	si
24	1	1	40	3000	4754	45	79	34,9	160	1	30	10	10	local	si
25	1	1	40	4320	3315	55		39,9	396	1	120	35	10	local	no
26	1	1	41	3080	5000	48	80	32,5	230	1	265	45	9	epi	si
27	1	1	40	3400	4389	45	93	31,3	269	1	180	90	10	epi+local	no
28	1	1	38	4600	1686	54	59	37,8	385	1	60	63	10	epi	si
29	1	1	38	2420	1910	43	100	31,1	342	2	0	642	10	intra	no
30	1	1	41	3150	7586	46	91	30,3	359	1	90	30	10	local	si

Paciente	Sangre	Sexo	SG	Peso	D_D	Hto	IQ	TPa	Fibrinógeno	Parto	Dilatación	Expulsivo	Apgar 1min.	Anestesia	Inducción
31	1	0	38	2800	2823	40	89	34,1	431	3	50	20	10	epi+local	si
32	1	0	37	3000	2553	51	96	35,8	387	1	45	25	10	epi+local	si
33	1	1	38	2640	11867	54				2	0	0	9	intra	no
34	1	0	39	3150	11493	46	91	41,4	343	1	195	45	9	epi	si
35	1	0	37	2920	4520	41	100	35,6	228	1	215	120	9	local	si
36	1	1	42	3460	3841	49	100	25,8	121	4	120	80	9	epi+local	si
37	1	1	38	3060	835	47	90	45,5	214	2	0	0	10	intra	no
38	1	1	40	2760	12521	45	99	33,9	86	1	100	125	9	epi	si
39	1	1	40	3250	752	47	97	102,0	180	1	175	60	10	epi+local	no
40	1	1	40	2680	2766	38	85	32,9	429	1	90	10	10	local	no
41	1	1	41	3450	5000	50	87	37,6	348	1	40	100	9	local	si
42	1	1	41	3540	3189	60	80	27,4	166	1	75	20	10	local	si
43	1	1	38	3030	1293	51	78	39,8	332	2	0	0	10	intra	no
44	1	1	39	3320	2246	49	100	34,4	233	1	65	10	10	local	no
45	1	0	40	3750	3538	50	71	33,0	164	1	150	100	10	epi	no
46	1	1	40	3070	2443	55	100	37,8	267	1	50	40	10	local	no
47	1	0	42	3240	5000	47	91	31,7	409	1	100	20	8	epi	si
48	1	0	40	2620	5000	56	90	31,8	369	1	100	15	8	epi+local	si
49	1	0	38	3090	1385	45	95	38,0	369	2	0	0	10	intra	no
50	1	0	39	3700	12543	53		53,0		1	40	15	10	local	no
51	1	0	39	3140	1567	53	91	47,7	364	1	75	5	9	local	no
52	1	1	38	3710	8619	48	89	36,5	162	1	100	20	10	local	no
53	1	0	38	2600	14505	43	80	40,9	118	2	0	0	7	intra	no
54	1	1	40	3600	4504	58	96	36,1	246	1	60	10	10		no
55	1	0	39	2900	5000	63	81	39,8	514	1	75	10	10		no
56	1	0	40	3460	5000	43	100	29,2	93	1	120	80	7	epi+local	si
57	1	0	39	3270	5000	46	100	28,5	295	1	210	30	9	epi+local	no
58	1	1	38	2490	3920	46	100	37,7	155	2	0	0	7	intra	no
59	1	0	40	3200	1630	60	79	40,1	547	1	165	55	10	epi+local	no
60	1	0	41	3460	10097	56	29	46,2	279	1	65	5	10	local	no

Paciente	Sangre	Sexo	SG	Peso	D_D	Hto	IQ	TTPa	Fibrinógeno	Parto	Dilatación	Expulsivo	Apgar 1min.	Anestesia	Inducción
61	1	0	41	3650	9076	58	88			1	180	25	10	local	no
62	1	0	41	3460	3384	38	100	26,2	254	4	120	30	9	local	no
63	1	1	39	3380	11021	59	100	27,6	341	1	125	25	7	epi	no
64	1	0	41	4050	2205	53	88			1	130	45	9	epi+local	no
65	1	0	40	3000	1723	44	100	35,8	326	1	9	65	10	local	si
66	1	1	40	4010	5000	49	100	31,5	201	1	185	20	10	local	no
67	1	0	41	3220	1735	48	100	30,3	211	2	0	0	10	intra	no
68	1	0	36	3350	4494	52	89	30,9		1	55	20	10	local	no
69	1	1	40	3600	5000	48	92	32,1	238	2	0	0	9	intra	no
70	1	0	39	2470	2828	57	82	41,5	447	1	95	35	9	local	no
71	1	0	40	3490	5610	56	100	27,7	431	2	0	0	9	intra	si
72	1	0	37	3020	11630	46	100	36,4	250	2	0	0	9	intra	no
73	1	1	41	3120	3344	55	100	27,5		1	90	85	10	local	no
74	1	0	36	2910	2489	50	93	37,9	248	2	0	0	4	gral	no
75	1	0	40	4020	5711	52	75	34,5		1	210	70	9	epi	no
76	1	1	38	2790	5000	62	49		26	1	125	25	10	epi	no
77	1	1	39	2950	11366	52	93	61,0	173	2	0	0	10	intra	no
78	1	0	42	3900	5000	45	100	29,5	430	4	105	15	7	epi+local	si
79	1	1	41	3180	1016	43	100	36,1	499	2	0	0	9	gral	si
80	1	1	37	3050	5000	49	96	34,2	239	1	120	60	9	local	no
81	1	1	37	3090	5000	57	100	29,9		1	180	70	9	epi+local	si
82	1	1	37	2620	7441	56	97	41,4	435	1	0	755	9	no	no
83	1	1	38	3120	5143	57	65	40,8		1	270	65	9	epi+local	no
84	1	0	40	3610	8935	55	11	50,6		1	165	140	9	no	no
85	1	0	40	2950	5000	53	89	41,2	71	1	270	40	10	epi+local	si
88	1	1	39	2670	2606	61	55	48,2	367	1	45	10	10	local	si
89	1	1	40	3730	5000	51	98	32,5	137	1	195	30	10	local	no
90	1	1	41	3000	5000	57	50	44,7		1	200	20	9	local	si

Paciente	Sangre	Sexo	SG	Peso	D_D	Hto	IQ	TPa	Fibrinógeno	Parto	Dilatación	Expulsivo	Apgar 1min.	Anestesia	Inducción
91	1	0	39	3190	2094	50		78,0	43	4	125	5	9	epi	no
92	1	0	40	4280	5000	55		34,3	86	2	0	0	10	intra	si
93	1	0	40	3280	3746	51	92	35,4	101	1	55	5	10	local	no
94	1	1	39	3970	1646	59	65	47,0	404	1	30	15	10	local	no
95	1	0	40	3150	5000	59	23	27,0	363	1	30	30	10	local	no
96	1	0	39	3980	4180	45	64	44,1	499	1	75	30	9	local	no
97	1	1	40	3100	2997	52	77	37,8	570	1	120	35	9	local	no
98	1	0	41	3030	5000	36	81	32,8	243	1	65	5	10	local	si
99	1	0	36	2990	5000	54	100	47,0	512	2	0	0	9	intra	no
100	1	0	39	3500	650	43	94	91,0	547	1	55	5	10	local	no
101	1	1	40	3250	5000	43	51	42,9	156	1	220	35	9	local	no
102	1	1	39	2980	1800	63	85	45,2	508	1	140	70	9	epi+local	si
103	1	0	40	3560	5000	54	100	29,9	239	2	0	0	9	intra	si
104	1	0	39	3280	2702	53	74	53,6	398	1	60	20	10	local	no
105	1	1	41	3560	720	55	91	46,0	482	1	115	5	9	epi	si
106	1	1	40	3100	1408	49	95	48,4	356	1	120	5	9	local	no
107	1	1		3180	646	57	87	42,0	261	1	48	7	10	local	no
108	1	0	39	3650	2455	38	100	41,8		1	110	20	10	local	no
109	1	1	39	3650	4535	55				1	105	5	9	local	no
110	1	1	40	3860	5000	50	100	29,6	298	1	120	50	9	local	no
111	1	0	37	2630	1823	49	84	32,6	432	1	30	5	9	local	no
112	1	0	39	2990	12581	50	100	34,3	332	2	0	0	10	intra	si
113	1	0	37	2660	5844	39	100	32,5	349	2	0	0	10	intra	si
114	1	1	41	3330	1649	47	97	36,2	619	1	180	32	9		si
115	1	0	41	3500	11622	55	79	34,4	222	4	285	45	10	epi+local	no
116	1	0	41	3090	1062	56		58,2		1	135	25	10	epi	no
117	1	0	38	3780	6382	65	100	40,1	134	2	0	0	10	intra	no
118	1	1	38	2850	3202	50	23	34,9		2	0	0	10	epi	si
119	1	1	38	3000	13462	52	39	60,1		1	50	15	10	local	si
120	1	0	40	3650	13478	55	84	40,2		1	240	20	9	epi	si

Paciente	Sangre	Sexo	SG	Peso	D_D	Hto	IQ	TTPa	Fibrinógeno	Parto	Dilatación	Expulsivo	Apgar 1min.	Anestesia	Inducción
153	1	0	40	2970	168	62	94	64,6		1	150	5	10	ept+local	no
154	1	0	39	3280	12030	48	73	35,6		1	70	4	10	no	no
155	1	0	40	2990	9376	66	75	42,8	256	1	210	25	10	local	no
156	1	0	40	4010	12667	45	100	34,6	255	4	235	105	9	ept+local	no
157	1	1	40	3960	3143	48	96	42,5	409	1	180	120	10	ept+local	si
158	1	0	40	3940	107		100	35,2	315	1	240	25	10	ept	no
159	1	0	39	2930	7712	49	88	37,0	280	1	60	20	10	ept	si
160	1	0	41	2950	3030	53	48	40,0		2	0	0	10	gral	no
161	1	0	40	3520	6075	48	89	40,9	381	1	180	10	10	ept	no
162	1	1	39	2510	3618	36	83	37,5	323	1	15	15	9	local	no
163	1	0	40	3650	204	56	100	69,0	430	4	110	20	9	local	si
164	1	0	41	3370	1361	61	76	40,0	343	2	0	690	10	gral	si
165	1	0	41	3750	5797	61	85	33,7	384	1	40	10	10	local	si
166	1	0	39	3620	10666	59	86	42,6		1	45	10	10	local	no
167	1	0	40	2920	9978	59	72	33,6		1	65	5	10	local	no
168	1	1	38	2760	1474	56	80	47,6	357	1	45	35	8	local	no
169	1	0	39	3140	938	60	60	49,1	335	1	30	0	10	no	no
170	1	0	39	2990	491	49	90	39,5	465	1	40	5	10	no	no
171	1	0	39	3620	4893	64	92	38,0	394	1	120	15	10	ept	no
172	1	0	39	3080	5000	47	96	35,1	353	1	155	15	10	local	no
173	1	1	42	4390	5000	51	99	29,4	77	1	90	55	10	ept+local	si
174	1	0	41	3510	2530	54	85	39,8	338	1	75	25	10	ept	si
175	1	0	42	3950	4179	42	100	25,4	314	1	92	123	9	ept	no
176	1	0	41	3720	1086	44	93	35,1	427	1	135	20	10	local	no
177	1	0	41	3740	10092	50	81	34,4	370	1	90	65	10	local	no
178	1	1	39	2960	12691	54	100	32,2	308	1	45	35	9	local	no
179	1	1	39	3570	6523	46	100	37,3	318	1	130	65	9	local	si
180	1	0	39	3160	9378	45	76	44,1		1	240	20	9	ept+local	si
181	1	1	39	3350	5000	46	86	41,0	76	1	155	10	9	local	no
182	1	0	38	2930	5000	61	45	45,4		1	60	45	9	ept+local	no
183	1	1	41	3670	7355	50	93	32,1	507	1	75	30	10	ept+local	si

Paciente	Sangre	Sexo	SG	Peso	D_D	Hto	IQ	TTPa	Fibrinógeno	Parto	Dilatación	Expulsivo	Apgar 1min.	Anestesia	Inducción
184	1	1	41	3250	13910	52	94	31,9	76	1	260	30	10	epi	no
185	1	1	39	3590	4034	48	92	32,4	193	1	55	25	10	local	no
186	1	1	37	3100	1174	47	81	39,4	333	1	200	70	10	epi	no
187	1	0	41	3860	10104	46	100	36,1	347	1	60	20	10	local	no
188	1	1	41	3260	3398	53	95	27,4	275	1	290	45	9	no	no
189	1	1	41	3620	793	54	94	38,2	443	1	150	40	10	epi+local	no
190	1	1	39	3020	9868	57	94	26,2		1	55	10	10	epi	no
191	1	1	37	3330	10680	58	93	32,4	255	1	25	20	10	no	no
192	1	1	38	3420	2868	55	81	40,7	483	1	160	135	9	no	no
193	1	0	41	3030	9944	61	89	35,3	385	4	60	1	8	epi+local	no
194	1	1	38	3190	2525	58	100	32,0	545	3	30	15	9	no	si
195	1	0	36	2340	9944	57	93	40,1		1	90	60	10	epi+local	si
196	1	1	39	3130	450	52	76	45,7	359	1	120	35	9	epi	no
197	1	1	41	3600	9701	45	100	25,0	484	3	446	4	8	epi	no
198	1	0	40	3290	1162	43	73	48,0	371	3	120	20	8	epi	si
199	1	1	41	3210	10192	51	89	35,6	251	1	135	15	10	epi+local	si
200	1	0	37	2550	8965	61	100	39,9	210	1	210	30	10	local	no
201	1	0	41	3470	2435	46	100	36,9	534	1	70	15	10	local	no
202	1	1	42	3730	3564	57	83	34,0	440	4	60	115	9	epi+local	no
203	1	1	41	3570	1620	52	86	35,7	400	2	0	0	10	intra	no
204	1	0	40	2950	12653	56	54	53,8		1	145	25	10	epi+local	no
205	1	1	41	2760	1236	58	75	38,0	289	1	120	105	10	epi+local	no
206	1	1	40	4100	5000	51	100	33,8	449	1	165	95	9	local	no
207	1	0	40	3470	1849	57	88	36,6	396	1	90	60	9	local	no
208	1	1	38	3560	3232	52	91	35,8	543	1	35	27	10	local	no
209	1	1	41	3350	5000	60	95	36,4	515	1	15	5	9	no	si
210	1	1	40	3240	3219	55	79	56,1		1	200	20	9	local	no
211	1	1	40	3170	3526	46	94	45,2		1	60	5	9	local	no
212	1	0	40	3200	5259	52	88	61,7	342	1	40	10	10	local	no
213	1	1	41	3480	3001	47	100	25,6	431	1	105	75	8	local	no
214	1	1	42	3190	3639	62	98	31,1	476	1	191	40	8	epi+local	si

Paciente	Sangre	Sexo	SG	Peso	D_D	Hto	IQ	TTPa	Fibrinogeno	Parto	Dilatación	Expulsivo	Apgar 1min.	Anestesia	Inducción
215	1	0	40	3360	4186	43	96	41,3	331	3	90	10	8	local	si
216	1	1	39	3170	1725	47	100	45,7	380	1	140	5	10	local	no
217	1	1	39	3240	10152	45	87	35,5	72	1	240	15	10	epi+local	no
218	1	0	41	3550	10892	62	83	46,8	363	1	265	20	10	epi+local	no
219	1	1	42	3450	2267	49	80	38,8	343	3	225	145	10	epi	si
220	1	0	40	3790	1679	56	71	39,9	404	1	75	130	10	epi+local	si
221	1	1	40	3240	2582	65	91	37,6	399	1	310	40	10	epi	no
222	1	0	40	3170	11680	56	87	37,8	477	1	75	45	10	local	no
223	1	1	38	2880	11989	48	93	29,8	218	1	0	0	10	epi	no
224	1	0	38	2550	4207	57	86	41,6	297	2	0	0	10	intra	no
225	1	1	39	3060	7959	54	80	35,6	486	1	45	5	10	no	si
226	1	0	40	3780	991	47	100	37,4	463	2	0	0	10	intra	no
227	1	0	41	3590	8477	56	81	32,8	342	2	0	0	10	epi	si
228	1	1	40	2990	11485	51	100	26,4	222	2	0	0	6	gral	no
229	1	0	38	3450	440	50	95	39,7	307	2	0	0	10	intra	si
230	1	0	39	3140	1615	52	93	37,6	419	1	45	15	10	local	no
231	1	0	39	2730	10091	50	80	33,5	138	4	240	10	7	epi+local	si
232	1	1	39	2840	922	59	72	43,7	354	1	40	5	10	no	no
233	1	0	40	3530	6861	57	73	38,0	68	1	30	40	10	local	no
234	1	1	38	2800	8926	57	90	35,7	210	3	120	10	10	no	si
235	1	1	40	3010	11753	48	85	25,7	165	3	165	35	10	epi+local	no
236	1	0	37	3210	920	43	82	45,0	237	1	60	15	10	no	si
237	1	0	40	2910	10743	55	62	42,4	238	1	120	5	10	epi	no
238	1	0	40	3580	5000	60	85	41,1	280	1	120	35	10	local	no
239	1	0	38	3230	3101	44	93	33,3	354	4	45	45	9	local	no
240	1	1	40	4050	2994	51	98	36,1	529	1	35	15	9	no	no
241	1	0	40	3500	739	50	92	36,0	338	2	0	0	9	intra	no
242	1	1	40	3570	9156	59	80	32,0	178	1	305	60	10	epi+local	no
243	1	1	39	3230	3257	48	93	36,1	352	1	160	10	10	local	no
244	1	0	40	3680	5165	48	89	30,4	180	3	65	15	9	local	no
245	1	1	40	3860	2232	46	93	31,0	530	1	90	50	9	local	no

Paciente	Sangre	Sexo	SG	Peso	D_D	Hto	IQ	TTPa	Fibrinógeno	Parto	Dilatación	Expulsivo	Apgar 1min.	Anestesia	Inducción
246	1	0	37	2550	9582	51	42	55,0	50	1	105	30	10	epi	si
247	1	0	37	3080	1865	59	83	30,8	421	2	0	0	8	intra	si
248	1	1	40	3020	3165	54	90	32,4	402	1	120	35	10	local	no
249	1	0	40	3550	528	55	71	38,0	397	1	110	20	9	local	no
250	1	0	37	3020	3493	55	83	44,0	361	1	40	10	10	epi	no
251	1	1	41	3030	5000	58	94	38,6	390	1	55	10	10	local	no
252	1	0	39	3600	2192	59	77	40,0	427	1	10	20	10	local	no
253	1	0	39	3480	630	57	77	45,5	489	1	5	10	10	local	no
254	1	0	39	3380	3084	43	98	35,2	439	4	180	120	10	epi+local	no
255	1	0	39	3400	1705	45	87	37,7	283	4	270	155	9	epi+local	si
256	1	0	41	3930	824	51	100	29,5	291	2	0	0	10	gral	si
257	1	1	39	3050	5000	56	80	27,7	105	2	0	0	10	intra	si
258	1	1	38	3010	5000	56	88	31,5	286	1	20	15	9	no	no
259	1	0	42	2810	9906	52	81	30,1	25	1	35	25	9	local	no
260	1	0	39	4110	1702	51	90	44,0	533	1	155	55	10	local	no
261	1	1	40	3620	911	53	100	40,0	502	1	130	38	10	local	no
262	1	1	39	3110	2695	55	65	43,0	240	1	60	20	10	local	no

**TABLA 5. 1. Relación de valores de los D-dímeros y de las variables clínicas y analíticas. Detalle de las variables a continuación.**

Sangre: 0 cordón, 1 venosa  
 Sexo: 0, 1 (varón, hembra)  
 SG: semanas de gestación  
 Peso: peso al nacimiento en gramos (g).  
 D\_D: D-dímeros, en ng/ml  
 Hto: hematocrito, en %  
 IQ: índice de Quick, en %

TTPa: tiempo de tromboplastina activada, en segundos  
 Fibrinógeno: en mg/dl

Parto: forma de finalización del parto. 1 (vaginal), 2 (cesárea), 3 (fórceps), 4 (vacuum)

Dilatación: duración de la dilatación, en minutos

Expulsivo: duración del expulsivo, en minutos

Apgar 1 min: índice de Apgar al minuto

Tipo de anestesia: epidural, intradural, general, local, ninguna.

Inducción del parto: en caso afirmativo, se expresa la duración (en muestras de sangre de cordón).

## 5.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

### 5.2.1 Análisis univariante de variables clínicas

#### A) SANGRE DE CORDÓN.

Se dispone de un total de 387 muestras correspondientes a idéntico número de pacientes tras depurar la población inicial. Como puede observarse en la Tabla 5.2 existe un ligero predominio de mujeres (57,7%), en la mayoría (98%) no ha existido pérdida de bienestar fetal y el peso medio es adecuado a la edad gestacional. El resto de variables obstétricas estudiadas (tipo de parto, procedimiento anestésico, duración del parto y finalización) figuran en la Tabla 5.2.

#### B) SANGRE VENOSA.

Se dispone de un total de 257 muestras correspondientes a idéntico número de pacientes tras depurar la población inicial. Como puede observarse en la Tabla 5.2 existe un ligero predominio de varones (53,3%), en la mayoría (97%) no ha existido pérdida de bienestar fetal y el peso medio también es adecuado a la edad gestacional. El resto de variables obstétricas estudiadas (tipo de parto, procedimiento anestésico, duración del parto y finalización) figuran también en la Tabla 5.2

#### C) ESTUDIO COMPARATIVO DE SANGRE DE CORDÓN FRENTE A VENOSA.

Ambas poblaciones son similares en sus características clínicas, no encontramos diferencias significativas en cuanto a peso al nacimiento, y pérdida de bienestar fetal. La edad gestacional media es de 39 semanas en el grupo de cordón frente a 40 semanas en el grupo de sangre venosa y hay un predominio significativo de sexo diferente en ambos grupos, mujeres en sangre de cordón y varones en sangre venosa.

En cuanto a las variables obstétricas estudiadas (ver Tabla 5.2), no encontramos diferencias significativas relacionadas con el tipo de parto, la

duración de éste y la forma de finalizarlo (vía vaginal, cesárea o instrumentado). Sí que se observa diferencia entre ambos grupos en el procedimiento anestésico empleado, con un predominio de anestesia local en el grupo de sangre de cordón (60%) frente al grupo de sangre venosa (44%) que incrementa su proporción de anestesia neuroaxial (45%).

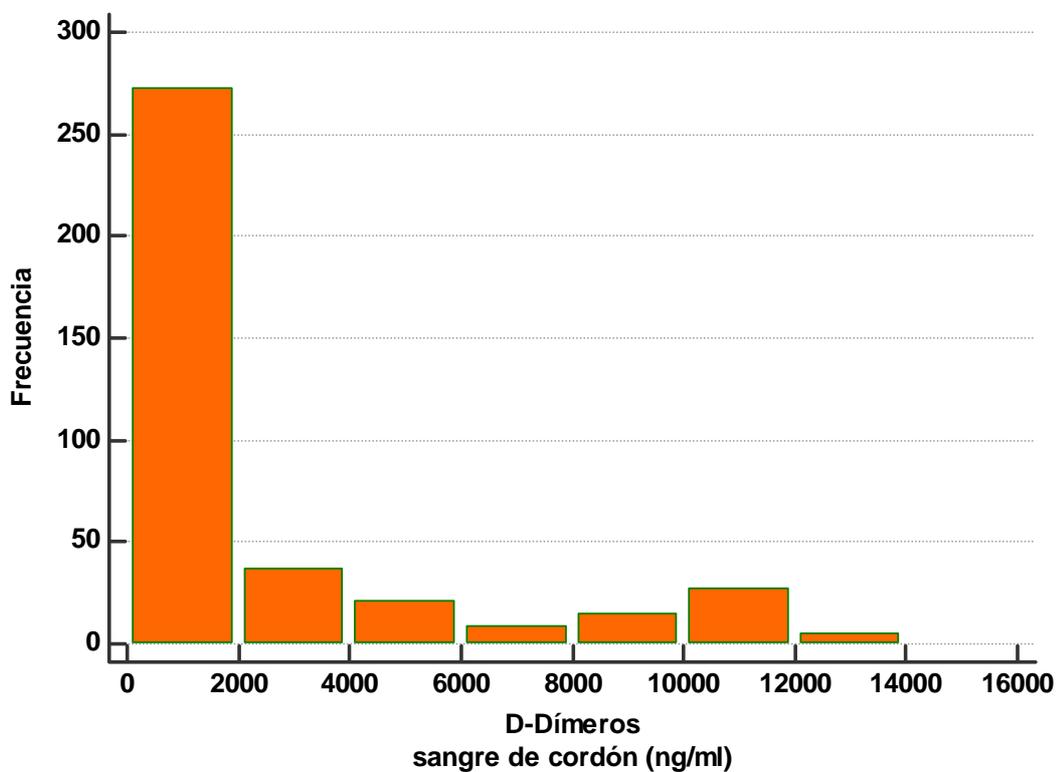
**Tabla 5.2** Análisis univariante de las variables clínicas.

Variable n	sangre de cordón 387	sangre venosa 257	p
Edad gestacional (semanas) Mediana (rango)	39 (36-42)	40 (36-42)	<b>0,037</b>
Sexo masculino	164 (42,3%)	137 (53,3%)	<b>0,006</b>
Sexo femenino	223 (57,7%)	120 (46,7%)	
Peso al nacimiento (gramos) Media (DE)	3286 (486)	3272 (405)	ns
Apgar al minuto >7	379 (98%)	248(97%)	ns
≤ 7	8 (2%)	9 (3%)	
Procedimiento Anestésico General	11 (3%)	7 (3%)	<b>0,0001</b>
Neuroaxial (epidural)	131(34%)	115 (45%)	
Local	233 (60%)	112 (44%)	
Ninguno	12(3%)	20 (8%)	
Tipo de Parto Espontáneo	278 (72%)	176 (69%)	ns
Inducido	108 (28%)	81 (31%)	
Duración de parto Dilatación (minutos)	110 (IC95% 99-121)	99,4 (89-109)	ns
Expulsivo (minutos)	29 (IC95% 25-35)	37 (27-47)	
Finalización del Parto Vaginal	312 (80%)	193(75%)	ns
Cesárea	47 (12%)	41 (16%)	
Forceps	5 (1.3%)	10 (3.9%)	
Vacuum	23 (6%)	13 (5%)	

## 5.2.2 Análisis univariante de los D-dímeros

### A) SANGRE DE CORDÓN.

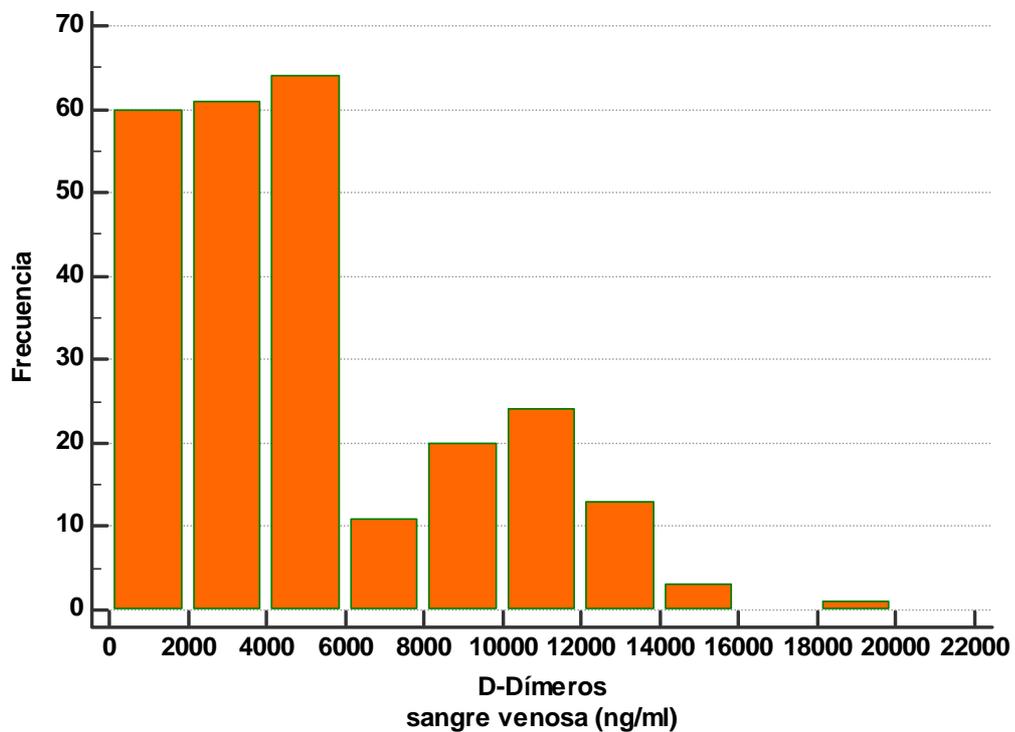
En la Tabla 5.3 se observan los estadísticos que describen la muestra de D-Dímeros de sangre de cordón. Por carecer de una distribución normal (*test Kolmogorov-Smirnov,  $P < 0,001$* ), se ha tomado como medida de la tendencia central la mediana, que es de 730 ng/ml. La Figura 5.1 muestra el histograma de frecuencias correspondiente a dicha distribución.



**Figura 5.1** Histograma de frecuencias de los D-Dímeros en sangre de cordón.

**B) SANGRE VENOSA.**

En la Tabla 5.3 igualmente observamos los estadísticos correspondientes a las muestras de sangre venosa, que también carecen de una distribución normal, tomada la mediana como medida de tendencia central, su valor es de 4494 ng/ml. En la Figura 5.2 se muestra el histograma de frecuencias correspondiente a dicha distribución.



**Figura 5.2** Histograma de frecuencias de los D-Dímeros en sangre venosa.

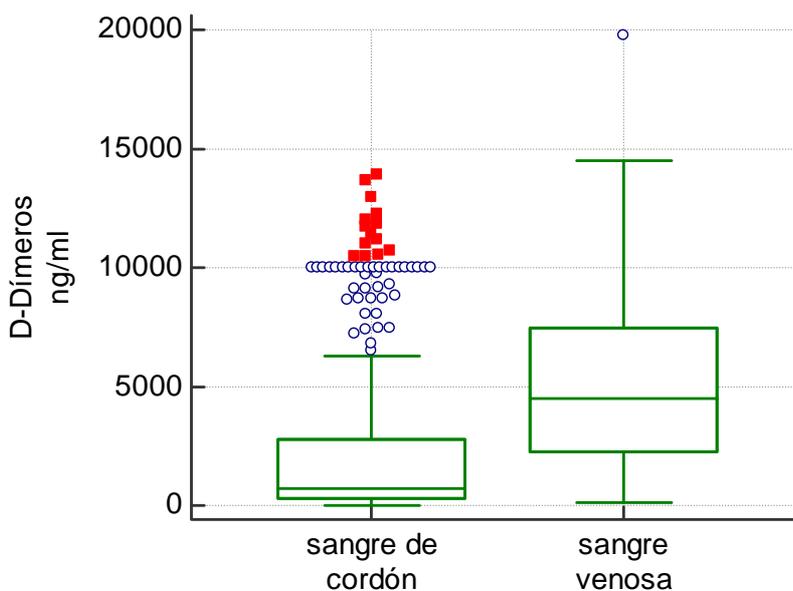
### C) ESTUDIO COMPARATIVO DE SANGRE DE CORDÓN FRENTE A VENOSA.

Los valores de D-dímeros en sangre venosa son significativamente superiores a los determinados en sangre de cordón. La mediana en sangre venosa es de 4494 ng/ml frente a los 730 ng/ml en sangre de cordón. Los valores normales en sangre de cordón se aproximan más a los del adulto y los observados en sangre venosa son muy superiores (Tabla 5.3 y Figura 5.3).

Los valores notablemente elevados en recién nacidos están ampliamente distribuidos (lo que supone un amplio rango de distribución).

**Tabla 5.3** D-Dímeros (ng/ml) en sangre de cordón y sangre venosa.

	sangre de cordón	sangre venosa	p
tamaño muestral	387	257	
valor mínimo	3	107	
valor máximo	13898	19759	
mediana	<b>730</b>	<b>4494</b>	<b>&lt;0,0001</b>
IC 95% para la mediana	593 a 852	3580 a 5000	
rango intercuartil	317 a 2758	2228 a 7477	



**Figura 5.3** D-Dímeros (ng/ml) en sangre de cordón y sangre venosa, gráfico de cajas y bigotes.

#### D) ESTUDIO COMPARATIVO DE SANGRE DE CORDÓN Y VENOSA NEONATAL FRENTE A ADULTOS.

Como se observa en la Tabla 5.4 existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de valores de D-dímeros en sangre de cordón (2.348ng/ml d.s 338) y la media de los valores de adultos referida por el laboratorio (230ng/ml d.s 0,14) con una  $p < 0,0001$ .

**Tabla 5.4** Comparación de los valores de D-D entre la sangre de cordón y el adulto

	Adulto	Sangre de cordón	P
nº muestras	50	387	
media	230 ng/ml	2348 ng/ml	<b>&lt;0,0001</b>
d.s.	0,14	3308	

También como se muestra en la Tabla 5.5, existe diferencia estadísticamente significativa al comparar la media de los valores de adulto (230ng/ml d.s 0,14 ) con respecto a los valores obtenidos en sangre venosa al 2º-4º día ( 5158 ng/ml d.s. 3829) con  $p < 0,0001$ .

**Tabla 5.5** Comparación de los valores de D-D entre la sangre venosa al 2º-4º día de vida y el adulto

	Adulto	Sangre venosa	p
nº muestras	50	257	
media	230 ng/ml	5158 ng/ml	<b>&lt;0,0001</b>
d.s.	0,14	3829	

### 5.2.3 Análisis univariante de otras variables analíticas.

Además de los valores de los D-dímeros se obtuvieron valores de otros parámetros de la hemostasia (fibrinógeno, TTPa, índice de Quick) y del hematocrito. A continuación se detallan distinguiendo también en función de la procedencia de la muestra.

#### A) SANGRE DE CORDÓN.

En sangre de cordón (Tabla 5.6) se observan valores de hematocrito y hemostasia dentro de los límites normales para la edad.

#### B) SANGRE VENOSA.

De igual modo observamos valores normales para la edad (Tabla 5.6).

#### C) ESTUDIO COMPARATIVO DE SANGRE DE CORDÓN FRENTE A VENOSA.

Observamos diferencias significativas en todas las variables, (Tabla 5.6) posiblemente atribuibles a la maduración postnatal y a la pérdida de líquidos, no obstante se evaluará en la discusión

**Tabla 5.6.** Hematocrito, TTPa, índice de Quick y tasa de fibrinógeno en sangre de cordón y venosa.

Variable		sangre de cordón	sangre venosa	p
Fibrinógeno (mg/dl)	n	356	221	<b>&lt;0,001</b>
	media	170	326	
	IC 95%	(164-176)	(308-344)	
	Rango	18- 436	25-619	
IQ (%)	n	383	250	<b>&lt;0,0001</b>
	media	65	86	
	IC 95%	(64-68)	(84-88)	
	Rango	10-100	11-100	
TTPa (seg)	n	385	252	<b>&lt;0,0001</b>
	media	46	39	
	IC 95%	(45-47)	(37-40)	
	Rango	20-125	25-102	
Hematocrito (%)	n	386	256	<b>&lt;0,001</b>
	media	49	52	
	IC 95%	(49-50)	(51-53)	
	Rango	35-68	36-68	

### 5.2.4 Análisis bivariante de los D-dímeros con las variables clínicas

#### A) SANGRE DE CORDÓN.

Tal y como se detalla en la Tabla 5.7a y 5.7b observamos diferencias significativas en los valores de D-Dímeros asociadas a 3 variables clínicas que incrementaron dicho valor: el índice de Apgar al minuto igual o inferior a 7, la instrumentación del parto (fórceps o vacuum) y la duración de la dilatación. En las Figuras 5.4 y 5.5 se observan los gráficos de cajas y bigotes en los que se aprecia la diferencia en la distribución de valores de los D-Dímeros referida a las variables índice de Apgar y tipo de parto respectivamente.

Así pues, se observa un valor superior en los D-Dímeros en sangre de cordón en los pacientes que han tenido un índice de Apgar igual o inferior a 7, dilatación más prolongada y parto instrumentado.

**Tablas 5.7a y 5.7b.** Análisis bivariante. D-Dímeros en sangre de cordón y variables clínicas.

**Tabla 5.7a**

Variable	D-Dímeros (ng/ml)	p
Sexo masculino	641	
Sexo femenino	910	0,1151
<u>Apgar al minuto</u>		
>7	692	<b>0,0107</b>
≤ 7	5606	
<u>Procedimiento Anestésico</u>		
General	1245	
Neuroaxial (epidural)	829	
Local	653	0,2399
Ninguno	712	
<u>Tipo de Parto</u>		
Espontáneo	649	
Inducido	873	0,1928
<u>Finalización del Parto</u>		
Vaginal	689	
Cesárea	571	
Instrumentado	1687	<b>0,0310</b>

Tabla 5.7b

Variable	p
Edad gestacional (semanas)	0,2575
Peso al nacimiento	0,4499
Duración de parto	
Dilatación (minutos)	<b>0,0045</b>
Expulsivo (minutos)	0,0883

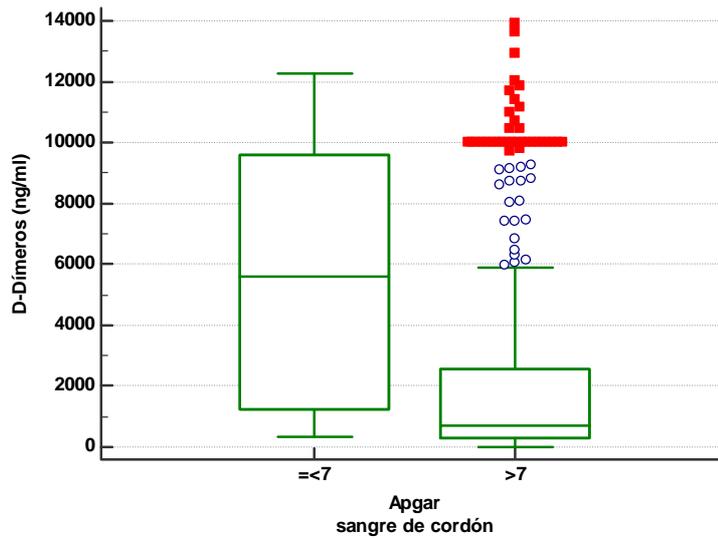


Figura 5.4 Dímeros D en sangre de cordón e índice de Apgar. Gráfico de cajas y bigotes

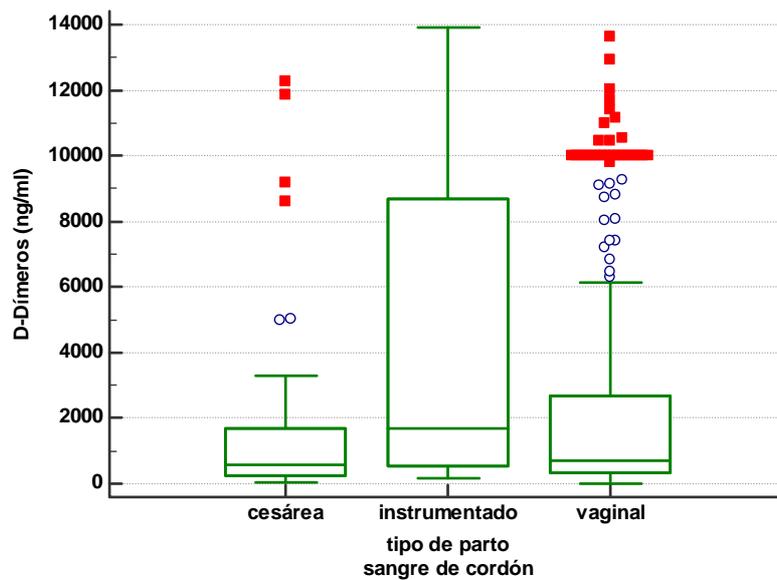
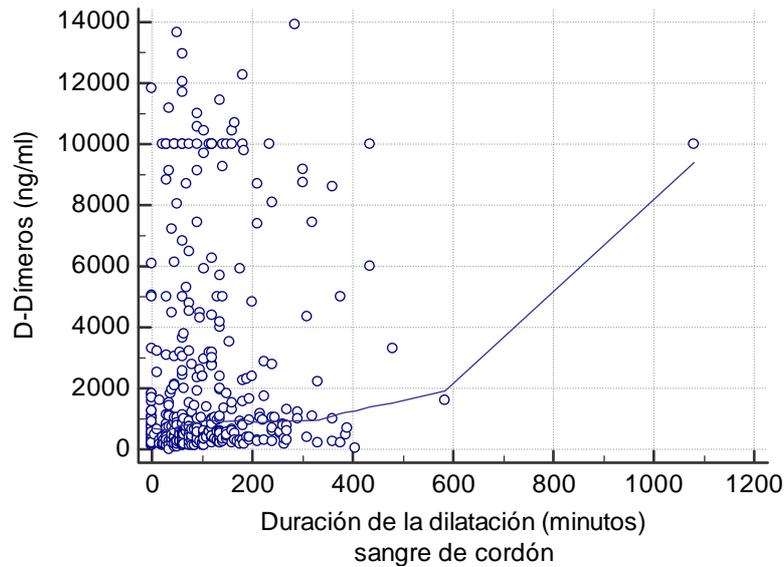


Figura 5.5 Dímeros D en sangre de cordón y tipo de parto. Gráfico de cajas y bigotes.



**Figura 5.6** Dímeros D en sangre de cordón y duración de la dilatación. Diagrama de dispersión.

## B) SANGRE VENOSA.

En sangre venosa observamos únicamente una asociación de valores más altos de Dímeros-D con el índice de Apgar igual o inferior a 7 y una dilatación más prolongada. Véase Tabla 5.8a y 5.8b y Figuras 5.7 y 5.8.

**Tabla 5.8a y 5.8b.** Análisis bivalente D-Dímeros en sangre venosa y variables clínicas.

**Tabla 5.8a**

Variable	D-Dímeros (ng/ml)	p
Sexo masculino	4520	0,7418
Sexo femenino	4211	
Apgar al minuto		<b>0,0457</b>
>7	4255	
≤ 7	5000	
Procedimiento Anestésico		0,3543
General	2489	
Neuroaxial (epidural)	5000	
Local	3890	
Ninguno	4199	
Tipo de Parto		0,5414
Espontáneo	4106	
Inducido	5000	
Finalización del parto		0,7359
Vaginal	4520	
Cesárea	4700	
Instrumentado	3680	

Tabla 5.8b

Variable	p
Edad gestacional (semanas)	0,7026
Peso al nacimiento	0,1009
Duración de parto	
Dilatación (minutos)	<b>0,0398</b>
Expulsivo (minutos)	0,3217

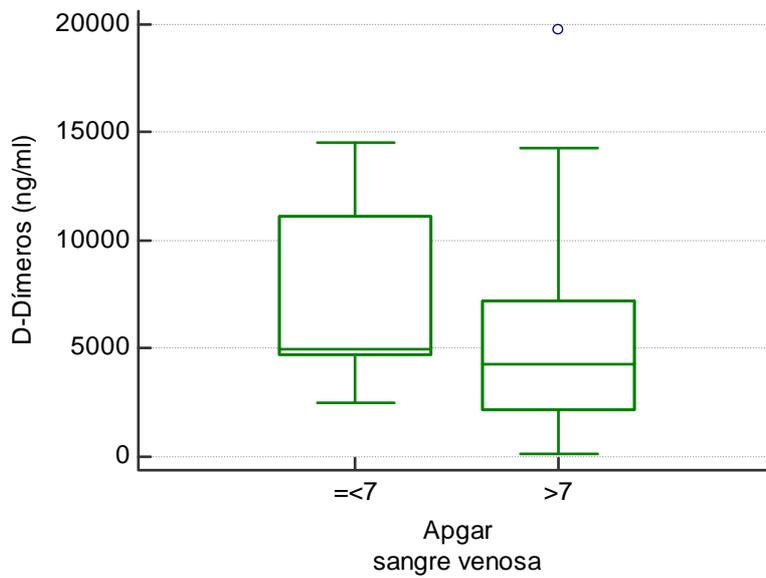


Figura 5.7 Dímeros D en sangre venosa e índice de Apgar. Gráfico de cajas y bigotes.

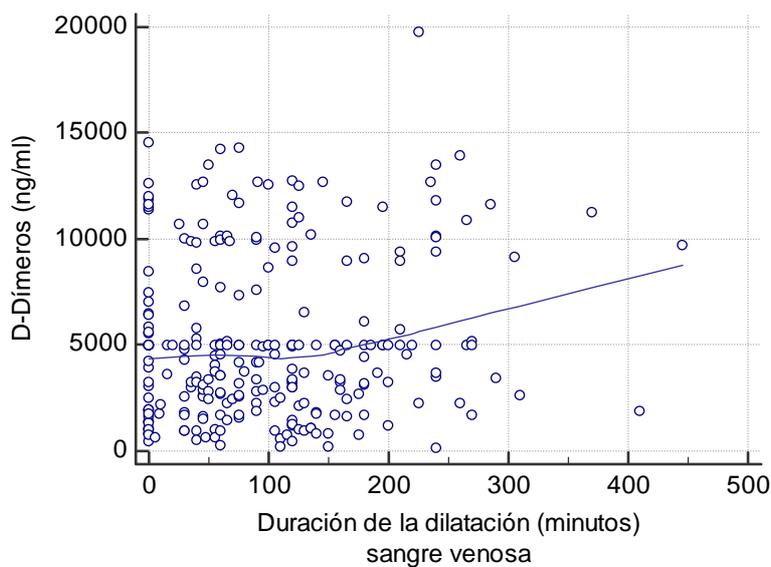


Figura 5.8 D-Dímeros en sangre venosa y duración de la dilatación. Diagrama de dispersión.

### C) ESTUDIO COMPARATIVO DE SANGRE DE CORDÓN FRENTE A VENOSA.

Como podemos deducir de los datos expuestos anteriormente tanto las muestras obtenidas de sangre de cordón como de sangre venosa (Tabla 5.9a y 5.9b) presentan unos valores significativamente más altos en los neonatos con Apgar igual o inferior a 7 así como en los nacidos tras dilataciones más prolongadas. La asociación de valores más elevados a la instrumentación del parto sólo se ha podido observar en las muestras procedentes de sangre de cordón.

**Tablas 5.9a y 5.9b.** Comparación de variables clínicas y su asociación a los D-Dímeros según procedencia de la muestra.

**Tabla 5.9a**

Variable	sangre cordón		sangre venosa	
	D-D (ng/ml)	p	D-D (ng/ml)	p
Sexo masculino	641	0,1151	4520	0,7418
Sexo femenino	910		4211	
<u>Apgar al minuto</u>				
>7	692	<b>0,0107</b>	4255	<b>0,0457</b>
≤ 7	5606		5000	
<u>Procedimiento Anestésico</u>				
General	1245	0,2399	2489	0,3543
Neuroaxial (epidural)	829		5000	
Local	653		3890	
Ninguno	712		4199	
<u>Tipo de Parto</u>				
Espontáneo	649	0,1928	4106	0,5414
Inducido	873		5000	
<u>Finalización del Parto</u>				
Vaginal	689	<b>0,0310</b>	4520	0,7359
Cesárea	571		4700	
Instrumentado	1687		3680	

Tabla 5.9b

Variable	s. cordón p	s. venosa p
Edad gestacional (semanas)	0,2575	0,7026
Peso al nacimiento (g)	0,4499	0,1009
Duración de parto		
Dilatación (minutos)	0,0045	0,0398
Expulsivo (minutos)	0,0883	0,3217

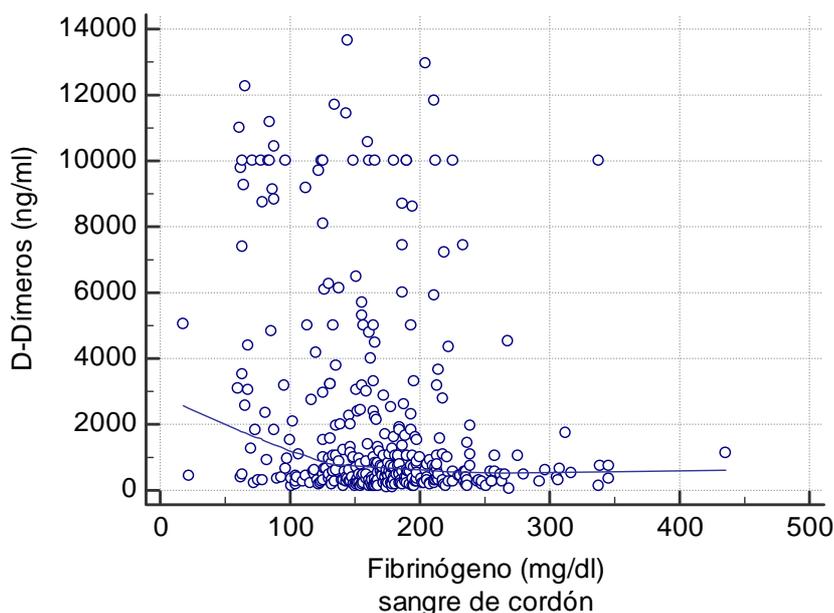
### 5.2.5 Análisis bivalente de los D-dímeros con las variables analíticas.

#### A) SANGRE DE CORDÓN.

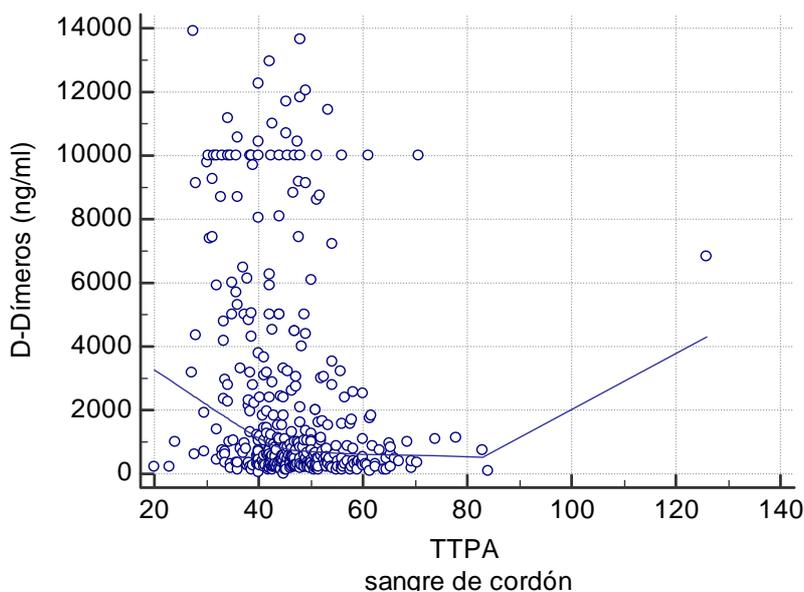
En sangre de cordón se observa una correlación significativa con la tasa de fibrinógeno y el TTPa, de manera que tasas de fibrinógeno o TTPa más elevados se asocian a valores inferiores de Dímeros-D en sangre de cordón (ver Tabla 5.10 y Figuras 5.9 y 5.10).

**Tabla 5.10.** Correlación entre la tasa de D-Dímeros y otras variables analíticas en sangre de cordón.

variable	coeficiente de correlación	p
fibrinógeno	-0,2575	<0,0001
índice de Quick	0,04806	0,3482
TTPa	-0,2026	<0,0001
hematocrito	0,08079	0,1130



**Figura 5.9.** Correlación entre D-Dímeros y fibrinógeno. Diagrama de dispersión



**Figura 5. 10.** Correlación entre D-Dímeros y TTPa. Diagrama de dispersión

#### B) SANGRE VENOSA.

Al igual que en sangre de cordón se observa una correlación significativa con la tasa de fibrinógeno y el TTPa, de manera que tasas de fibrinógeno o TTPa más elevados se asocian a valores inferiores de Dímeros-D en sangre de cordón (ver Tabla 5.11 y Figuras 5.11 y 5.12).

**Tabla 5.11.** Correlación entre la tasa de D-Dímeros y otras variables analíticas en sangre venosa.

variable	coeficiente de correlación	p
fibrinógeno	-0,3434	<b>&lt;0,0001</b>
índice de Quick	-0,05003	0,4310
TTPa	-0,1735	<b>0,0057</b>
hematocrito	0,07301	0,0730

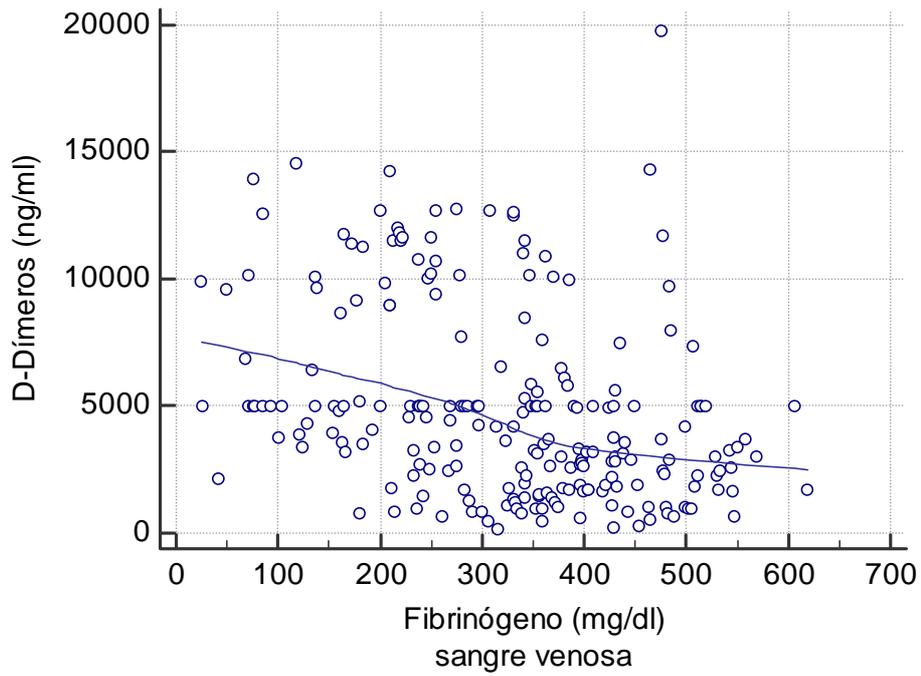


Figura 5.11. Correlación entre D-Dímeros y fibrinógeno. Diagrama de dispersión

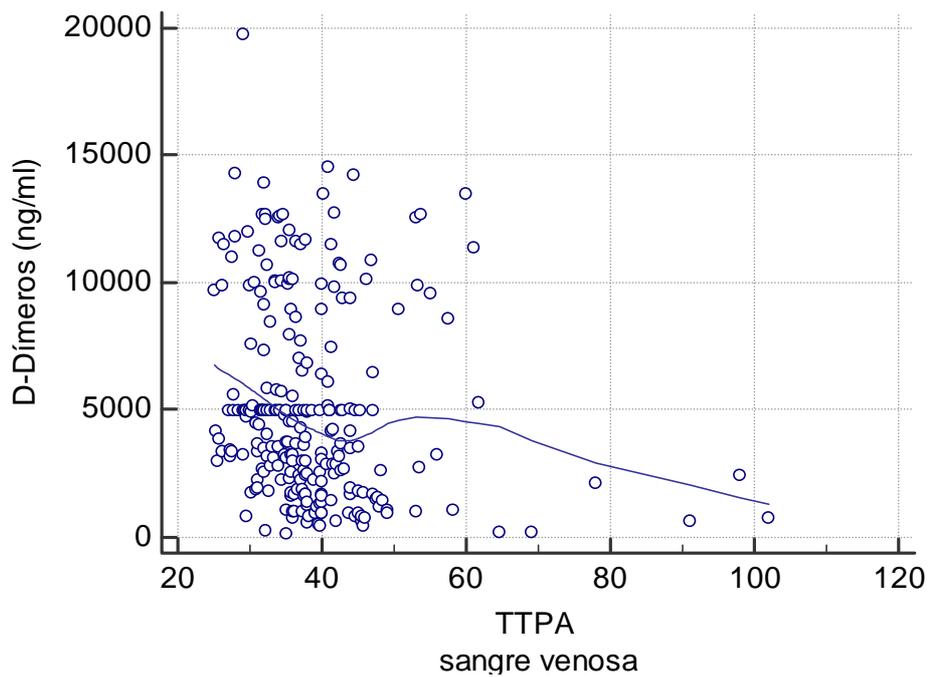


Figura 5.12. Correlación entre D-Dímeros y TTPa. Diagrama de dispersión.

C) ESTUDIO COMPARATIVO DE SANGRE DE CORDÓN FRENTE A VENOSA.

Observamos idénticas asociaciones en las muestras procedentes de sangre de cordón o de sangre venosa.

### 5.2.6 Análisis multivariante de D-dímeros con las variables clínicas y analíticas.

#### A) SANGRE DE CORDÓN.

Tras efectuar un análisis multivariante mediante regresión múltiple paso a paso, con entrada de las variables independientes que resultaron significativas en el análisis bivariante, quedan como variables significativas el índice de Apgar, la tasa de fibrinógeno y el TTPa.

**Tabla 5.12.** Resultado de regresión múltiple en sangre de cordón. D-Dímeros y resto de variables.

Sangre de cordón.

Variables independientes significativas	p
Apgar	0,0006
Fibrinógeno	<0,0001
TTPa	<0,0001

#### B) SANGRE VENOSA.

Tras efectuar un análisis multivariante mediante regresión múltiple paso a paso, con entrada de las variables independientes que resultaron significativas en el análisis bivariante, quedan como variables significativas la tasa de fibrinógeno y el TTPa.

**Tabla 5.13.** Resultado de regresión múltiple en sangre venosa. D-Dímeros y resto de variables.

Sangre venosa.

Variables independientes significativas	p
Fibrinógeno	<0,0001
TTPA	<0,0009

## **DISCUSIÓN**



## 6 DISCUSIÓN

Actualmente está ampliamente reconocido que la fisiología de la hemostasia en pacientes pediátricos difiere de la encontrada en el adulto (267;268) debido a que durante el crecimiento, el organismo sufre un proceso dinámico de cambios progresivos (269). Las concentraciones de la mayoría de proteínas hemostáticas evolucionan fisiológicamente con la edad. La naturaleza dinámica del desarrollo del sistema hemostático durante la infancia fue introducido por *Andrew M. y colaboradores* y acuñado con el término “*developmental hemostasis*” dando una idea de proceso edad-dependiente. La síntesis de proteínas de la coagulación comienza intraútero, si bien los cambios más pronunciados en el proceso hemostático ocurren durante el desarrollo del neonato, en la infancia y adolescencia (4;5;267;270-272). Al nacimiento los niveles de procoagulantes, anticoagulantes y proteínas implicadas en la fibrinólisis se encuentran disminuidas y fisiológicamente equilibradas con niveles que maduran en las primeras semanas de vida alcanzando valores de adulto a los 6 meses de edad postnatal en la mayoría de ellas (1;3).

Estas variaciones fisiológicas deben ser tenidas en cuenta cuando se estudian trastornos de la coagulación en esta población, por lo que no es correcto extrapolar a valores de referencia de adultos. Numerosos autores coinciden en la necesidad de utilizar rangos de referencia apropiados a cada edad pediátrica y conocer el analizador, los reactivos y técnica de laboratorio empleada para una adecuada interpretación de los resultados (6;265;271;273-275).

Además es importante tener en cuenta la dificultad que presenta la obtención de una muestra adecuada para estudios de hemostasia en neonatos.

Los D-Dímeros son el producto de degradación de la fibrina entrecruzada y estabilizada por el factor XIII, mediada por la plasmina, durante la lisis de un trombo, y su medida refleja la extensión de la fibrinólisis secundaria a la activación previa de la coagulación. Se

considera por tanto, el biomarcador más sensible de activación de la coagulación y fibrinólisis. Estudios en población adulta y niños mayores de un año, han demostrado su utilidad y aplicabilidad práctica en base sobretodo a su elevado valor predictivo negativo.

En neonatos, existe en la actualidad una gran heterogeneidad de los estudios en lo que se refiere a la determinación de los DD, diferencias en cuanto a la población de estudio, tanto en el número, como en las características de la misma (estudios que incluyen a recién nacidos a término, estudios con pretérminos, estudios con recién nacidos sanos, enfermos, distintas enfermedades...), diferencias en cuanto a la metodología empleada para el análisis de los DD, unos laboratorios utilizan el test ELISA, otros técnicas de aglutinación de látex (cuantitativas ó semicuantitativas), con distintos reactivos, unidades de referencia diferentes (ng/mL, mg/mL, µg/mL, µg/L unidades de DD, unidades FEU ngFEU/mL...). Además la mayoría de estudios no refleja el valor de corte, ni el rango de normalidad definido por el laboratorio para adultos. Todo ello hace que la comparación y en ocasiones la simple interpretación de los resultados sea complicada.

En base a estos antecedentes, esta investigación se realizó con el objetivo de conocer el valor de los D-Dímeros en la población neonatal sana y compararlo con el de la población adulta.

#### **a) Características de la muestra.**

Este estudio incluye tanto muestras de sangre de vena de cordón umbilical extraídas en el momento del parto como muestras obtenidas de sangre venosa periférica obtenida a los dos o cuatro días de vida. Ambas poblaciones son similares en sus características clínicas (tabla 5.2). No encontramos diferencias estadísticamente significativas respecto al peso al nacimiento (3286g. vs 3272g.) y pérdida de bienestar fetal (Apgar al minuto mayor de 7 en el 98% y 97% respectivamente). La edad gestacional media es de 39 y 40 semanas

de gestación respectivamente, y hay un predominio significativo de sexo diferente en ambos grupos, mujeres en sangre de cordón y varones en sangre venosa. Las variables obstétricas tampoco muestran diferencias estadísticamente significativas en relación al tipo de parto (espontáneo, inducido), duración y finalización del mismo (vaginal, mediante cesárea o instrumentado). Hemos encontrado una diferencia estadísticamente significativa en el procedimiento anestésico empleado, con predominio de anestesia local en las muestras obtenidas de sangre de cordón (60%), frente a las obtenidas en sangre venosa (44%) donde predomina la anestesia neuroaxial (45%). Diferencia atribuible a la creación de una nueva plaza de anestesia en el hospital para hacerse cargo de este procedimiento exclusivamente, coincidente en el tiempo con la obtención de muestras de sangre venosa, que no existía en el caso de sangre de cordón. El porcentaje de cesáreas del Hospital coincide con el de otros hospitales de características similares y también las características clínicas de la población.

A diferencia de otros estudios nosotros no distinguimos entre cesáreas con o sin trabajo de parto (84;98).

#### **b) Niveles de D- dímeros.**

La formación de fibrina in vivo y su digestión fibrinolítica secundaria da lugar a la formación de productos de su degradación uno de los cuales es el D-dímero. El sistema fibrinolítico es esencial para eliminar los depósitos intravasculares de fibrina resultantes de la activación fisiológica o patológica de la coagulación. Juega además un papel importante en diversas situaciones en las que se produce proteólisis tisular, como inflamación, invasión tumoral o neovascularización (276). El D-Dímero (fragmentos D de fibrina unidos covalentemente), es el resultado de la acción de la plasmina sobre la fibrina entrecruzada y estabilizada por el factor XIII, y es considerado como el indicador hematológico más sensible de la fibrinólisis secundaria a activación de la coagulación.

En nuestro estudio hemos encontrado unos niveles de DD tanto en sangre de cordón como en sangre venosa por encima del valor de corte más utilizado para adultos (500 ng/mL). La mediana de DD en sangre de cordón se sitúa en 730 ng/mL (IC 95% 593-852 ng/mL) con una media de 2348ng/mL. En sangre venosa extraída a los 2 o 4 días de vida la mediana de DD se sitúa en 4494 ng/mL (IC 95% 3580-5000 ng/mL), con una media de 5158ng/mL. Estos resultados coinciden con la mayoría de estudios publicados, a pesar de las diferencias metodológicas existentes entre ellos (6;49;98;249;252-254), Tabla 6.1, 6.2 y 6.3.

*Hudson I.* encuentra niveles de DD obtenidos de sangre venosa periférica de 60 RN (15 RNPT) por encima del valor de corte establecido para adultos (<2.50 mg/L) en el 48% de su población (249). *Schneider DM.* en una población de 59 recién nacidos (6 RNPT) también encuentra elevados los niveles de DD respecto a sus madres (1514 ± 953 ng/mL vs 744,45 ± 138,23 ng/mL), aunque no encuentran diferencias según el modo de parto (254). *Nako Y.* aunque en una población seleccionada, prematuros menores de 1500g., encuentra valores de DD elevados respecto al control de RNT (49). Llama la atención que respecto al punto de corte considerado para adultos por la mayoría de trabajos (0,5 mg/L) los valores de RNT también estarían elevados, coincidiendo así con nuestro estudio. *Murtha A,* encuentra niveles de DD más elevados en sangre de cordón tras alumbramientos con trabajo de parto, respecto a cesáreas sin él (423 ng/mL y 773 ng/mL vs 87 ng/mL) y también en relación al valor de corte establecido para adultos (120 ng/mL) (98). *Tay S.,* determina entre otros, concentraciones plasmáticas de DD en cordón umbilical de RNT en comparación con adultos, y encuentra valores significativamente elevados (924 ± 733 ng/mL vs 45 ± 17 ng/mL p < 0.001) (253). *Monagle P.* determina concentraciones de DD el primer y tercer día de vida, al igual que en nuestro estudio encuentra niveles DD aumentados respecto a los valores encontrados en niños mayores y adultos [1,47 µg/mL (0.41-2.47 µg/mL), 1,34

$\mu\text{g/mL}$  (0.58-2.74  $\mu\text{g/mL}$  vs 0.18  $\mu\text{g/mL}$  (0.05-0.42  $\mu\text{g/mL}$ )] (6). Christesen R., aunque en una población diferente, RNPT menores de 34 semanas de gestación también encuentra valores de DD elevados (menores de 28SG: 325-1775 ngFEU/mL, 28-34SG: 225-3100 ngFEU/mL) (252).

Tabla 6.1 Estudios que determinan las concentraciones plasmáticas de DD en neonatos, para establecer valores de referencia.

ESTUDIO (año)	MUESTRA (día)	VALOR REFERENCIA	N (total ; subgrupos)	VALORES D-D	HIPÓTESIS
Hudson (1990)	Cordón RNPT 1ºd Vena 1º-5ºd	< 250 mg/L	45 RNT, 15 RNPT	48% RN: >250 mg/L (21 RNT 8 RNPT)	Ajustes circulatorios. Aclaramiento renal disminuido
Schneider(1997)	Cordón, 1ºd	20-400 ng/mL	59 RN, 59 madres	RN: 1514± 953 ng/mL Madres: 744±138,23 ng/mL	Activación sistema C/F en el parto. Aclaramiento renal disminuido. No diferencias según el modo de parto
Nako (1997)	Arterial 1h, 1ºd	---	44 MBPN (asfíxia 14) 49 RN sano	MBPN 6.2 mg/L (0.0-43,8) RNT 1.8 mg/L (0.3-29.0)	Daño endotelial
Murtha (1998)	Cordón, 1ºd	120 ng/mL	59 (20, 12, 18) vaginal, CST, RNPT 9 CST sin trabajo de parto	Trabajo 427, 773, 326 ng/mL Sin trabajo 87 ng/mL (CST)	Activación sistema C/F en el parto.
Tay (2003)	Cordón, 1ºd	39-130 ng/mL	50 RN, 50 adultos	RN 924 ± 733 ng/mL Adultos 45 ± 17 ng/mL	Ajustes circulatorios. Aclaramiento renal Permeabilidad vascular
Monagle (2006)	Venosa 1º-3ºd	0,05-0,4 µg/mL	RN 1d...20, 3d...23 32 Adultos	RN 1,47µg/mL; 1,34 µg/mL Adultos 0,18 µg/mL	"Developmental hemostasis"
Christensen(2014)	Cordón, 1ºd	---	175 RNPT	<28: 325-1775 ngFEU/mL >28: 225-3100 ngFEU/mL	Mejorar práctica trasfusional PFC

Cardiopatía congénita (CC), Sistema C/F (coagulación/ fibrinólisis), TM (trombomodulina), RNMBP (bajo peso al nacimiento) PE (pre-eclampsia). Monómero fibrina soluble (SFMN), plasma fresco congelado (PFC). Ao (Aorta)

**Tabla 6.2 Estudios que determinan niveles de DD en neonatos dentro de la investigación sobre marcadores de activación de la coagulación y fibrinólisis**

ESTUDIO (año)	MUESTRA (día)	VALOR REFERENCIA	N (total ; subgrupos)	VALORES D-D	HIPÓTESIS
Knöfler (1998)	Venosa <12ºd	----	79 RN, 38 niños, 17 adultos	RN .420µg/L Niños, adultos 22,5, 23 µg/L	Estrés del parto. Ajustes circulatorios Leve hipoxia
Higgins (2000)	Cordón, 1ºd	-----	17 sin PE, 16 con PE	RN sin PE 150 ng/mL RN con PE 225 ng/mL	Circ fetal protegida de los cambios en la circulación materna
Catarino (2008)	Cordón, 1d	---	40 RN, 44 RN PE	RN sin PE 200,4 ng/mL RN con PE 190,7 ng/mL	Efecto protector de alteraciones de PE en circ. fetal.

**Tabla 6.3 Estudios que determinan las concentraciones plasmáticas de DD en neonatos en el contexto de enfermedades neonatales**

ESTUDIO (año)	MUESTRA (día)	VALOR REFERENCIA	N (total ; subgrupos)	VALORES D-D	HIPÓTESIS
Gursoy (2002,2007)	Vena umbilical 1d	----	29 SDR, 18 RNsano	SDR 2,6µg/mL , RN 1,6 µg/mL	Activación sistema C/F SDR hipofibrinólisis
Corrigan (1992)	Cordón RN 1d Vena (CC)1º- 29ºd	20-270 ng/mL	15 CC, 42 RNT	CC 632 ± 436 ng/mL RN 84 ± 58 ng/mL	Hipercogagulabilidad y trombosis CC
Mautone (1997)	Venosa 1º-7ºd	----	63 RN (16 SDR, 7 asfisia, 25 sepsis ,15 RN sano)	SDR 1242 ± 206 ng/mL Asfx 1027 ± 379 ng/mL Sepsis 767 ±341 ng/mL RN 777 ±406 ng/mL	Activación sistema C/F en el RN enfermo
Suzuki (1998)	Cordón 1d	-----	93 RN (58 asfisia)	Elevados, no consta valor	Activación sistema C/F en asfisia
Shirahata (1998)	Al diagnóstico CID	200 ng/mL	52 RN MBPN (18 CID)	34 MBPN sin CID <200ng/mL 12 MBPN con CID >200ng/mL	Criterios dx CID en <1500g
Takahashi (2013)	Venosa	---	216 RN (CID ± Hipercogagulabilidad)	< 1500g 6,7± 6,9 µg/mL > 1500g 15,8± 40 µg/mL	Correlación SFMN-DD Hipercogagulabilidad CID axfisia
Ciccone (2013)	Cordón	---	70 RNT	332± 648 µg/mL	Correlación DD Aorta. Riesgo vascular.

También autores como *Ries M., Dati F., Knöffler R. (75;76;84)*, en sus investigaciones sobre marcadores de activación de la coagulación y fibrinólisis durante el embarazo y el parto encuentran concentraciones de DD por encima del valor referido para adultos (Tabla 6.2). *Ries M.* analiza tres poblaciones de RN, con ó sin trabajo de parto y con infección y los compara con controles de adultos sanos. Encuentra niveles elevados de estos marcadores en las primeras 24 horas de vida, independientemente del trabajo de parto, pero sí en relación a la infección. *Dati F.* hace referencia a lo publicado por *Ries M. Knöffler R.*, también encuentra valores de DD elevados en sus 79 RNT respecto a población infantil y adultos ( $420.2 \pm 326.8\mu\text{g/L}$  vs  $22.5 \pm 15.8\mu\text{g/L}$  y  $23.2 \pm 9.8\mu\text{g/L}$ ).

Por el contrario, *Higgins J. y Catarino C. (255;259)* no evidencian diferencias estadísticamente significativas en los niveles de DD de sangre de cordón umbilical de RN de mujeres normotensas respecto a mujeres con pre-eclampsia, encontrándose ambos dentro de límites normales. Es importante resaltar que, en el trabajo de *Higgins J.* la variable trabajo de parto es eliminada, (todos los pacientes nacen de cesáreas electivas) en un intento de evitar el factor de confusión que puede suponer dicha variable. Este hecho podría ser el responsable de las diferencias encontradas respecto a nuestros hallazgos y los de otros autores, ya que, al igual que la mayoría de autores nosotros no hemos hecho tal distinción. Los autores consideran fisiológica una activación de la hemostasia en el parto vaginal normal. Además como hemos mencionado anteriormente, en estudios donde se divide a los pacientes según el trabajo de parto se encuentran diferencias en las concentraciones de DD, siendo más elevados en estos (98).

Otros autores evalúan las concentraciones de DD en el contexto de determinadas enfermedades neonatales (síndrome de distrés respiratorio, cardiopatías, asfíxia, infección, sepsis, CID, hipoxia) y demuestran una activación del sistema de coagulación y fibrinólisis en estas patologías evidenciada por niveles de DD marcadamente

elevados (68;69;256-258) (Tabla 6.3). No es comparable en nuestro caso ya que nuestra población incluye al recién nacido sano.

Al igual que en el estudio de *Tay SP.* nuestros valores no siguieron una distribución normal incluso después de la transformación logarítmica. Ellos encuentran además dos picos en la distribución de los niveles plasmáticos de DD que nosotros no hemos encontrado, y lo atribuyen pequeños traumas que pueden ocurrir al nacimiento como la circular de cordón o a una manipulación excesiva del mismo durante el parto (253).

Es destacable que los valores notablemente elevados en recién nacidos están ampliamente distribuidos lo que implica un amplio rango de distribución, lo cual también está referido en el estudio de *Knöfler R. y cols* (76) .

Tras comparar los niveles observados en el recién nacido sano con los valores del adulto, hemos observado que tanto en sangre de cordón como en sangre venosa existen niveles significativamente elevados en el RN sano respecto al adulto. Como hemos mencionado con anterioridad este hecho coincide con lo referido por otros autores como *Monagle P. y cols.* (6).

El encontrar valores de DD elevados al nacimiento está considerado por la gran mayoría de autores como parte de la fisiología fetal y neonatal.

El embarazo y puerperio están considerados estados de hipercoagulabilidad fisiológica que preparan a la mujer para el parto (disminuyendo las complicaciones hemorrágicas del mismo) y están asociados a un mayor riesgo de complicaciones tromboembólicas tanto en circulación materna como fetal. Está ampliamente reconocido que en el momento del parto existe una activación fisiológica (y equilibrada) del sistema de coagulación así como del sistema

fibrinolítico. Trabajos en mujeres embarazadas han corroborado que esta activación está presente del mismo modo en la sangre del cordón umbilical. Los DD al igual que otros factores de coagulación no atraviesan la barrera placentaria por lo que los niveles encontrados en cordón umbilical son considerados por los autores como correspondientes al RN y reflejan la fibrinólisis fetal (71;75;98;255;259;277).

Aunque el factor inicial más importante para detener la hemorragia aguda en el parto son las contracciones del músculo uterino que interrumpen el flujo sanguíneo, está aceptado que durante el embarazo normal hay un incremento de la actividad procoagulante en sangre materna (aumento de factores de coagulación y fibrinógeno, disminución de anticoagulantes naturales) y disminución de la actividad fibrinolítica (debido al aumento de los inhibidores PAI-1 y PAI-2). Múltiples estudios que determinan marcadores de activación de la coagulación y fibrinólisis, demuestran que, durante el embarazo existe un aumento de los mismos que traduce una activación de la coagulación y fibrinólisis sin signos de disfunción multiorgánica (75;278).

Durante el parto existe un consumo de factores de coagulación y plaquetas incluyendo el fibrinógeno. La fibrinólisis mejora y aumenta rápidamente tras el parto y expulsión de la placenta lo que resulta en un aumento de los DD. Estos cambios son fisiológicos y autolimitados en el parto normal y tienden a normalizarse en 4-6 semanas.

Estudios en población neonatal demuestran también que los marcadores de activación de la coagulación y fibrinólisis están elevados al nacimiento en sangre del recién nacido incluso después de partos no complicados (75;279;280).

Estudios en este sentido en mujeres embarazadas reflejan los mismos cambios en sangre de cordón umbilical del RN.

Por otra parte, sustancias derivadas del endotelio pueden tener un papel en el proceso de adaptación fisiológico del nacimiento. Existen trabajos en la literatura donde se evidencia que el daño o simplemente cambios en el endotelio vascular activan la coagulación y fibrinólisis y, describen que este hecho tiene lugar en el momento del parto. *Knöfler R. y cols* investigan concentraciones plasmáticas de marcadores de activación del endotelio (endotelinas, trombomodulina, vWF) y del sistema de coagulación y fibrinólisis (trombina antitrombina III, complejo plasmina-antiplasmina y DD) durante los primeros días de vida. Encuentran concentraciones elevadas de estos marcadores en los primeros 12 días de vida (incluyendo los DD) y concluyen por tanto, que el endotelio y el sistema de coagulación y fibrinólisis está activado en el momento del parto debido al estrés mecánico que supone, la adaptación circulatoria, el estado leve de hipoxia que se produce al nacimiento y a la activación del sistema de coagulación intrauterina propia del embarazo normal (76). En su trabajo *Tay SP. y cols* encuentran concentraciones elevadas de factor tisular y DD, y bajas de TFPI en RNT sanos en comparación con adultos, reflejo de la activación del sistema de coagulación y fibrinólisis al nacimiento responsable del mantenimiento de la permeabilidad vascular en presencia de la injuria que supone el proceso del parto (253).

Además el sistema fibrinolítico está implicado en una amplia variedad de procesos biológicos. Aparte de su ya conocida participación en el sistema hemostático, juega un papel importante en la remodelación tisular, angiogénesis, embriogénesis e implantación embrionaria y metástasis entre otras.

Según *Manco Johnson M.*, esto explicaría su activación en procesos que forman parte de la fisiología de adaptación neonatal como el cierre del ductus arterioso y el cierre del conducto venoso, y por tanto que elevarían los niveles de DD por encima del rango de adulto (5).

Aunque el principal mecanismo del cierre del ductus arterioso es la vasoconstricción secundaria al aumento de oxígeno y disminución de

las prostaglandinas (PGE1 y PGE2) al nacimiento, existen trabajos de publicación reciente donde se sugiere la formación de un trombo como mecanismo de cierre, en algunos recién nacidos que presentan una dilatación aneurismática del ductus arterioso como una variante normal de una protuberancia alargada ductal y que formaría parte del proceso normal de cierre ductal espontáneo (281;282).

Así, los DD pueden aumentar en situaciones que supongan aumento de formación de fibrinógeno y/o fibrina como la activación de la hemostasia (que se produce durante el parto), la trombosis y/o reparación y remodelación tisular. Pero también en situaciones donde exista una disminución de su aclaramiento renal que es su principal mecanismo de eliminación o donde el recambio del fibrinógeno esté aumentado.

Numerosos trabajos han demostrado que existe una relación entre la activación hemostasia-coagulación con la inflamación pero este mecanismo no parece justificar nuestros hallazgos (valores de DD obtenidos de una población neonatal sana).

De acuerdo con la mayoría de estudios previos, no encontramos diferencia significativa en el RNT sano, dependiente de la edad gestacional, peso al nacimiento, ni del género. Estos datos sugieren que dichas variables fisiológicas no tienen influencia en los niveles de DD (255).

### **c) Relación entre días de vida y niveles de D-dímeros.**

La obtención de la muestra se realizó al nacimiento (en sangre de cordón) y a los 2 o 4 días de vida en sangre venosa. Este punto difiere respecto a lo descrito por la mayor parte de autores.

Excepto *Monagle P. y cols* que determina concentraciones de proteínas hemostáticas, al primer y tercer día de vida postnatal, *Mautone A.* que evalúa las variaciones del sistema de coagulación y

fibrinólisis en RN enfermos en el primer y séptimo días de vida, y *Knöfler R.* que los valora los primeros doce días de vida, la mayor parte de estudios sólo determinan niveles de DD en sangre de cordón umbilical en las primeras horas tras el nacimiento. Esto puede ser motivo de diferencias en los resultados de valores absolutos, debido a que las concentraciones de proteínas hemostáticas cambian según el proceso de maduración normal postnatal, y este hecho es más acusado en los primeros días de vida.

Al igual que en el estudio de *Knöfler R. y cols* los niveles de DD están aumentados al nacimiento respecto a los valores de niños mayores y adultos pero a diferencia de ellos, la tendencia que refleja su estudio es de mantener los mismos niveles a lo largo de los 12 primeros días de vida mientras que nosotros observamos que la mediana en sangre de cordón es menor que la obtenida a los 2 o 4 días de vida (730 ng/mL en sangre de cordón frente a 4499 ng/mL en sangre venosa extraída a los 2 o 4 días de vida). Los valores en sangre de cordón se aproximan más a los valores de adultos mientras que los obtenidos en sangre venosa son muy superiores. Este hecho puede explicarse porque es en estos primeros días (2-4 días de vida) cuando tienen lugar los procesos de adaptación circulatoria (como cierre del ductus, del conducto venoso...) y cambios en la microcirculación que suponen la activación del sistema de coagulación neonatal y por ello aumento de D- dímeros.

Así, muchos estudios (98;277) justifican la obtención de muestra de sangre de vena de cordón umbilical como más adecuada, por ser menos traumática (mayor diámetro del vaso), poder obtener mayor cantidad de muestra y, estar menos influida por los eventos extrauterinos. Refieren que su determinación supone un fiel reflejo de la concentración de DD en el RN dado que el tamaño de estos impide su paso trasplacentario. Ello podría ser una posible explicación a las diferencias encontradas en este estudio (menos trauma en sangre de cordón supone niveles menores de DD, menos eventos extrauterinos menos DD).

**d)** Además de los DD se obtuvieron muestras de **otras variables analíticas** (fibrinógeno, TTPa, índice de Quick y hematocrito) cuyos valores se encontraron dentro del rango normal para la edad, tanto en sangre de cordón como en venosa a los 2 o 4 días de vida. Ahora bien, la comparación entre ambos tipos de muestra evidenció diferencias estadísticamente significativas en todas las variables (sangre de cordón versus sangre venosa) en relación probablemente a la maduración fisiológica postnatal de las proteínas hemostáticas referida por la mayoría de autores y a la pérdida de líquidos que se produce en los RN en los primeros días de vida responsable de la hemoconcentración y aumento de valores medios de hematocrito que nos encontramos.

Observamos que la media de fibrinógeno en sangre de cordón fue de 170 mg/dl (IC 95% 164-176), a los 2 o 4 días de vida encontramos valores medios de 326 mg/dl (IC 95% 304-344). Estos resultados coinciden con los referidos por *Andrew M. y colaboradores*, que encuentran valores dentro del rango normal para adultos al nacimiento (aunque estructuralmente diferente), y que aumentan al 5º día de vida como parte de la fisiología postnatal (1). También con los referidos por *Schneider DM.* (254) (valores en sangre de cordón de  $157,38 \pm 85,19$  mg/dl), *Reverdiau-Moalic P., Manco Johnson M. y Monagle P.* [2,8g/l (1.92-3,74) el primer día, 3,30 g/L (2,83-4,01) el tercer día] (4-6). El fibrinógeno es una proteína de síntesis hepática, sustrato final para formar un coágulo insoluble, y también reactante de fase aguda. Sus niveles se han relacionado con una gran número de variables fisiológicas como la edad, condiciones inflamatorias, inclusive con la estación del año (mayor en invierno). Además existen trabajos en la literatura que asocian un polimorfismo individual del promotor del gen beta del fibrinógeno (G-455A) con un aumento de los niveles de fibrinógeno en seres humanos (283;284).

Todos los estudios en los que se valora la evolución fisiológica de las proteínas del sistema de coagulación y fibrinólisis fetal y neonatal han demostrado su naturaleza dinámica, con niveles disminuidos de la mayor

parte de factores de coagulación, anticoagulantes y proteínas implicadas en la fibrinólisis al nacimiento, permitiendo un sistema hemostático fisiológicamente equilibrado, y que se refleja en un tiempo de tromboplastina parcial activado prolongado y un reducido tiempo de protrombina (1;4-6;254;285).

El TTPa valora la vía intrínseca (activación del factor X por los factores XII, XI, IX y VIII) factores VIII, IX, XI y XII, así como la vía final de la coagulación (factores V, II y fibrinógeno). Encontramos una prolongación del mismo respecto al adulto, tanto en sangre de cordón al nacimiento como en sangre venosa (46 segundos en sangre de cordón y 39 segundos en sangre venosa) resultado de una disminución fisiológica de la síntesis de factores de coagulación en el RN, y que coincide con lo referido por la mayoría de autores. Al comparar ambas muestras sangre de cordón frente a venosa encontramos un acortamiento del TTPa en sangre venosa a los 2 y 4 días de vida estadísticamente significativo que también coincide con lo reflejado por los autores, y que podría explicarse por la maduración postnatal de síntesis de factores de coagulación, si bien en la cohorte de *Monagle* el alargamiento del TTPa se mantiene durante toda la infancia comparado con los valores de adultos (6).

El tiempo de protrombina, indica el tiempo en que la protrombina se convierte en trombina, mide la vía extrínseca, factores V, VII, X, II (protrombina) y I (fibrinógeno). Encontramos valores disminuidos respecto a valores de adultos en sangre de cordón obtenida el primer día de vida con valores que alcanzan el rango de adulto normal a los 2 o 4 días de vida. También estos hallazgos coinciden con los publicados en la literatura referidos anteriormente y son reflejo de los bajos niveles de factores de coagulación vitamina K dependientes presentes en el recién nacido y que contribuyen a una disminución de la generación fisiológica de trombina (1;2;6;32;33).

### e) Relación entre variables obstétricas y niveles de DD.

En nuestra investigación se recogieron las variables obstétricas que pudieran tener influencia sobre los niveles de DD. Recogimos el tipo de parto (espontáneo o inducido), la duración del parto (tanto del período de dilatación como del período expulsivo), y la finalización del mismo, bien vía vaginal, por cesárea o instrumentado (fórceps o vacuum) sin distinguir entre partos con o sin trabajo de parto (definido como contracciones uterinas regulares asociadas a dilatación cervical progresiva).

En el análisis bivalente de DD respecto a estas variables obstétricas observamos diferencias significativas asociadas a la duración del periodo de dilatación y la instrumentación del parto (fórceps o vacuum) en sangre de cordón umbilical ( $p < 0,0045$  y  $p < 0,0310$  respectivamente), mientras que en sangre venosa la asociación sólo se encontró en relación a una dilatación más prolongada ( $p < 0,0398$ ).

Los niveles de D-dímeros son mayores tras partos instrumentados (vacuum, fórceps) respecto a partos vaginales o por cesárea. Probablemente la explicación resida en el mayor estrés mecánico que supone este tipo de partos, que actuaría como factor activador de la coagulación y por ende de la fibrinólisis. No ocurre lo mismo en la muestra extraída de sangre venosa donde no evidenciamos diferencia significativa respecto a la finalización del parto. Esta, al ser una muestra extraída entre el segundo y cuarto día de vida pierde el factor inmediato o agudo de este tipo de estrés mecánico que ya no queda reflejado en la elevación de D-dímeros. También muestran este resultado *Knofler R. y cols.*, que observan una relación entre mayores niveles de D-dímeros y partos instrumentados y con menor pH arterial al nacimiento, y menores niveles de D-dímeros en partos por cesárea, hecho que atribuyen al importante estrés mecánico que supone la instrumentación (76).

Aunque no hemos hecho distinción entre alumbramientos con o sin trabajo de parto como tal, si se refleja entre las variables recogidas la duración del mismo, tanto del periodo de dilatación como del periodo expulsivo. Está descrito por algunos autores como *Murtha A. y cols*, que la activación del sistema fibrinolítico es mayor en RN con trabajo de parto que sin él (ellos encuentran niveles de DD más elevados en esta población) resultado del trauma que supone el nacimiento, la asfixia, la acidosis o la infección, y postulan que esta activación puede equilibrar de forma fisiológica el sistema de coagulación iniciado en la madre y RN en el parto, como hemos descrito anteriormente (98).

Otros autores no encuentran relación entre duración del trabajo de parto y nivel de marcadores de activación de hemostasia (83;84;259).

*Franzoni M.* evalúa la influencia que la modalidad de parto (espontáneo vaginal vs cesárea electiva) tiene en la inhibición fisiológica del sistema de coagulación y fibrinólisis del RN (Prot C, S AT, plasminógeno y fibrinógeno) y concluye que el trabajo de parto puede jugar un papel influyendo en los niveles de determinados factores del sistema de inhibición fisiológica de la coagulación (277).

En nuestro trabajo encontramos diferencias significativas en los valores de DD respecto a la duración del periodo de dilatación. Tanto en sangre venosa como en sangre de cordón, encontramos valores más altos de DD en los pacientes con dilataciones más prolongadas, y por tanto con mayor duración del trabajo de parto. Este hecho coincide con lo publicado por otros autores como *Murtha A.* (98).

Por el contrario *Ries M. y colaboradores* en su estudio de marcadores de coagulación, encuentran niveles de DD elevados al nacimiento, confirmando la activación del sistema de coagulación y fibrinólisis fetal en el momento del parto, pero refiere que no existe influencia del trabajo de parto, ya que no encuentra diferencias entre sus grupos de paciente nacidos por cesárea sin trabajo de parto respecto al grupo de RN por cesárea con trabajo de parto. Tampoco *Schneider DM. y colaboradores* (84;254).

## f) Relación Apgar y niveles de D-dímeros

Encontramos diferencias estadísticamente significativas en los valores de DD de sangre de cordón asociadas al índice de Apgar al minuto, siendo los niveles de DD significativamente mayores en las muestras procedentes de partos con puntuación de Apgar menor o igual a 7 ( $P < 0,0107$ ).

El sistema de puntuación de Apgar valora a través de signos clínicos (respiración, frecuencia cardíaca, tono muscular, respuesta a estímulos y coloración) la gravedad de la depresión respiratoria y/o neurológica en el momento del nacimiento.

Una puntuación baja de Apgar puede estar causada tanto por asfixia perinatal como por depresión neurológica debida al paso transplacentario de anestésicos administrados a la madre. Aunque el pH en sangre del cordón umbilical menor que 7,20 es una medida más objetiva de la asfixia perinatal.

Existen en la literatura trabajos que relacionan valores de Apgar bajo al minuto con eventos que producen una hipoxia transitoria como son compresiones de la cabeza fetal, compresiones y circulares del cordón umbilical y que se recuperan alcanzando valores de Apgar mayor de 7 a los 5 minutos en el 80% de los casos (286;287).

Como ya he mencionado con anterioridad *Knöfler R. y cols* encuentran relación entre niveles de DD y pH al nacimiento, de forma que valores de pH arteriales menores al nacimiento se relacionan con mayores niveles de D-dímeros. Nosotros aunque no evaluamos el pH al nacimiento, encontramos valores de DD significativamente más elevados en sangre de cordón asociados a puntuaciones de Apgar al minuto más bajas (menor o igual que 7) reflejo de una probable hipoxia fetal transitoria (76).

La hipoxemia y acidosis desencadenan la liberación de factor tisular y tPA por células endoteliales activadas, y de este modo activan la coagulación vía extrínseca y el sistema fibrinolítico en el microambiente vascular, responsable de la elevación de DD en estas situaciones.

*Nako Y. y cols* en su trabajo determinan niveles de trombomodulina y DD en RNPT de muy bajo peso al nacimiento (<1500g.) con y sin asfixia (definida según criterios (al menos 2) de: 1. Distres fetal como bradicardia mantenida, 2. Apgar a los 5 minutos menor de 6, 3. Requerimiento de presión positiva en el primer minuto). Lo comparan con un grupo de RNT control sin complicaciones. Encuentran que los valores de DD son más altos en RNPT respecto al grupo control con diferencia estadísticamente significativa (1,8 mg/L vs 6,2 mg/L  $p < 0,0001$ ), y además dentro del grupo de los RNPT estos se encuentran aun más elevados en aquellos que han sufrido asfixia (4,6 mg/L vs 8,35 mg/L  $p < 0,02$ ). Llama la atención que no establece el valor de corte de DD para considerarlo anormal. Considerando el valor de corte de adultos (0,5 mg/L) encontramos niveles de DD por encima de dicho rango incluso en RNT [1,8 mg/L (0,3-29,0)], lo que estaría en consonancia con nuestro trabajo (49).

#### **g) Relación entre variables clínicas y analíticas con niveles de DD.**

La concentración plasmática de DD al nacimiento y a los 2 o 4 días de vida mostró una relación significativa con el Apgar al minuto, duración del periodo de dilatación, tasa de fibrinógeno y TTPa en el análisis bivalente. Para intentar clarificar cual de estas variables podría contribuir a la concentración de los niveles de DD plasmáticos, se realizó un análisis multivariante mediante regresión múltiple. Sólo el índice de Apgar, fibrinógeno y TTPa se asociaron significativamente a la concentración plasmática de DD en sangre de cordón, y los dos últimos en sangre venosa. Así valores de Apgar más bajo (menores de 7 al minuto) se relacionan con niveles más elevados de DD, posiblemente explicados por la hipoxia que supone. A mayor nivel de DD encontramos menores niveles de fibrinógeno, que tendría su

justificación en la activación de la coagulación que conlleva un consumo de fibrinógeno. De la misma forma, la activación del sistema de coagulación conlleva un TTPa más corto (hasta que comienza a haber consumo de factores), que se asocia con mayores niveles de DD.

Nuestro estudio, de carácter observacional, permite conocer los valores de DD en recién nacidos sanos y concluir que son diferentes a los del adulto. No obstante quedan por determinar los valores diferenciados por grupos de diversa edad gestacional y realizar estudios más amplios que permitan hallar el punto de corte óptimo para emplearlo como herramienta en el diagnóstico diferencial.

## **CONCLUSIONES**



## **7 CONCLUSIONES**

1. Los niveles plasmáticos de D-dímeros en recién nacidos sanos al nacimiento y al segundo o cuarto día de vida están elevados respecto a los valores referidos como normales de adultos en la literatura médica.
2. Los niveles plasmáticos de D-dímeros al segundo o cuarto día de vida están más elevados que al nacimiento.
3. Los niveles de D-dímeros en recién nacidos sanos no siguen una distribución normal.
4. Existe una relación significativa de los valores de D-dímeros con la puntuación de Apgar al minuto en sangre de cordón. De forma que, puntuaciones de Apgar más bajas (menores de 7 al minuto) se relacionan con niveles más elevados de D-dímeros.
5. Existe una relación de los niveles plasmáticos de D-Dímeros con fibrinógeno, tanto en sangre de cordón como en sangre venosa periférica al segundo o cuarto día de vida. Así, mayores concentraciones de D-dímeros se asocian a menores niveles de fibrinógeno.
6. Existe una relación de los niveles plasmáticos de D-Dímeros con el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) tanto en sangre de cordón como en sangre venosa periférica. Mayores niveles de D-dímeros se asocian a un TTPa más corto.



## **BIBLIOGRAFÍA**



**8 BIBLIOGRAFÍA**

- (1) Andrew M, Paes B, Milner R, Johnston M, Mitchell L, Tollefsen DM, et al. Development of the human coagulation system in the full-term infant. *Blood* 1987 Jul;70(1):165-72.
- (2) Andrew M, Paes B, Milner R, Johnston M, Mitchell L, Tollefsen DM, et al. Development of the human coagulation system in the healthy premature infant. *Blood* 1988 Nov;72(5):1651-7.
- (3) Andrew M, Paes B, Johnston M. Development of the hemostatic system in the neonate and young infant. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1990;12(1):95-104.
- (4) Reverdiau-Moalic P, Delahousse B, Body G, Bardos P, Leroy J, Gruel Y. Evolution of blood coagulation activators and inhibitors in the healthy human fetus. *Blood* 1996 Aug 1;88(3):900-6.
- (5) Manco-Johnson MJ. Development of hemostasis in the fetus. *Thromb Res* 2005 Feb;115 Suppl 1:55-63.
- (6) Monagle P, Barnes C, Ignjatovic V, Furmedge J, Newall F, Chan A, et al. Developmental haemostasis. Impact for clinical haemostasis laboratories. *Thromb Haemost* 2006 Feb;95(2):362-72.
- (7) Millar DS, Davis LR, Rodeck CH, Nicolaidis KH, Mibashan RS. Normal blood cell values in the early mid-trimester fetus. *Prenat Diagn* 1985 Nov;5(6):367-73.
- (8) Lopez A.M., Perez A. Plaquetas y su sensibilidad a la inactivación por antiinflamatorios no esteroideos. *Revista Cubana de Reumatología* 2012;XI(13,14).
- (9) Corby DG, Zuck TF. Newborn platelet dysfunction: a storage pool and release defect. *Thromb Haemost* 1976 Aug 31;36(1):200-7.
- (10) Andrew M, Kelton J. Neonatal thrombocytopenia. *Clin Perinatol* 1984 Jun;11(2):359-91.

- (11) Michelson AD. Platelet function in the newborn. *Semin Thromb Hemost* 1998;24(6):507-12.
- (12) Israels SJ, Cheang T, Roberston C, Millan-Ward EM, McNicol A. Impaired signal transduction in neonatal platelets. *Pediatr Res* 1999 May;45(5 Pt 1):687-91.
- (13) Andrew M, Paes B, Bowker J, Vegh P. Evaluation of an automated bleeding time device in the newborn. *Am J Hematol* 1990 Dec;35(4):275-7.
- (14) Andrew M, Castle V, Mitchell L, Paes B. Modified bleeding time in the infant. *Am J Hematol* 1989 Mar;30(3):190-1.
- (15) Travis PA, Bovill EG, Hamill B, Tindle BH. Detection of factor VIII von Willebrand factor in endothelial cells in first-trimester fetuses. *Arch Pathol Lab Med* 1988 Jan;112(1):40-2.
- (16) Schmugge M, Dunn MS, Amankwah KS, Blanchette VS, Freedman J, Rand ML. The activity of the von Willebrand factor cleaving protease ADAMTS-13 in newborn infants. *J Thromb Haemost* 2004 Feb;2(2):228-33.
- (17) Shenkman B, Linder N, Savion N, Tamarin I, Dardik R, Kennet G, et al. Increased neonatal platelet deposition on subendothelium under flow conditions: the role of plasma von Willebrand factor. *Pediatr Res* 1999 Feb;45(2):270-5.
- (18) Moake JL, Turner NA, Stathopoulos NA, Nolasco LH, Hellums JD. Involvement of large plasma von Willebrand factor (vWF) multimers and unusually large vWF forms derived from endothelial cells in shear stress-induced platelet aggregation. *J Clin Invest* 1986 Dec;78(6):1456-61.
- (19) Sporn LA, Marder VJ, Wagner DD. von Willebrand factor released from Weibel-Palade bodies binds more avidly to extracellular matrix than that secreted constitutively. *Blood* 1987 May;69(5):1531-4.
- (20) Katz JA, Moake JL, McPherson PD, Weinstein MJ, Moise KJ, Carpenter RJ, et al. Relationship between human development and disappearance of

- unusually large von Willebrand factor multimers from plasma. *Blood* 1989 May 15;73(7):1851-8.
- (21) Alan B.Cantor. Developmental Hemostasis: Relevance to Newborns and Infants. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood 7<sup>a</sup> edition. 7<sup>a</sup> ed. 2009. p. 147-86.
- (22) Forestier F, Daffos F, Rainaut M, Sole Y, Amiral J. Vitamin K dependent proteins in fetal hemostasis at mid trimester of pregnancy. *Thromb Haemost* 1985 Jun 24;53(3):401-3.
- (23) Forestier F, Daffos F, Galacteros F, Bardakjian J, Rainaut M, Beuzard Y. Hematological values of 163 normal fetuses between 18 and 30 weeks of gestation. *Pediatr Res* 1986 Apr;20(4):342-6.
- (24) Hassan HJ, Leonardi A, Chelucci C, Mattia G, Macioce G, Guerriero R, et al. Blood coagulation factors in human embryonic-fetal development: preferential expression of the FVII/tissue factor pathway. *Blood* 1990 Sep 15;76(6):1158-64.
- (25) Salonvaara M, Riikonen P, Kekomaki R, Vahtera E, Mahlamaki E, Halonen P, et al. Effects of gestational age and prenatal and perinatal events on the coagulation status in premature infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2003 Jul;88(4):F319-F323.
- (26) Furie B, Bouchard BA, Furie BC. Vitamin K-dependent biosynthesis of gamma-carboxyglutamic acid. *Blood* 1999 Mar 15;93(6):1798-808.
- (27) Mandelbrot L, Guillaumont M, Leclercq M, Lefrere JJ, Gozin D, Daffos F, et al. Placental transfer of vitamin K1 and its implications in fetal hemostasis. *Thromb Haemost* 1988 Aug 30;60(1):39-43.
- (28) Israels LG, Israels ED. Observations on vitamin K deficiency in the fetus and newborn: has nature made a mistake? *Semin Thromb Hemost* 1995;21(4):357-63.
- (29) Bovill EG, Soll RF, Lynch M, Bhushan F, Landesman M, Freije M, et al. Vitamin K1 metabolism and the production of des-carboxy prothrombin and protein C in the term and premature neonate. *Blood* 1993 Jan 1;81(1):77-83.

- (30) Luther T, Flossel C, Mackman N, Bierhaus A, Kasper M, Albrecht S, et al. Tissue factor expression during human and mouse development. *Am J Pathol* 1996 Jul;149(1):101-13.
- (31) Carmeliet P, Mackman N, Moons L, Luther T, Gressens P, Van V, I, et al. Role of tissue factor in embryonic blood vessel development. *Nature* 1996 Sep 5;383(6595):73-5.
- (32) Andrew M, Schmidt B, Mitchell L, Paes B, Ofosu F. Thrombin generation in newborn plasma is critically dependent on the concentration of prothrombin. *Thromb Haemost* 1990 Feb 19;63(1):27-30.
- (33) Muntean W, Leschnik B, Baier K, Cvirn G, Gallistl S. In vivo thrombin generation in neonates. *J Thromb Haemost* 2004 Nov;2(11):2071-2.
- (34) Greffe BS, Marlar RA, Manco-Johnson MJ. Neonatal protein C: molecular composition and distribution in normal term infants. *Thromb Res* 1989 Oct 1;56(1):91-8.
- (35) Schwarz HP, Muntean W, Watzke H, Richter B, Griffin JH. Low total protein S antigen but high protein S activity due to decreased C4b-binding protein in neonates. *Blood* 1988 Mar;71(3):562-5.
- (36) Williams MD, Chalmers EA, Gibson BE. The investigation and management of neonatal haemostasis and thrombosis. *Br J Haematol* 2002 Nov;119(2):295-309.
- (37) Cvirn G, Gallistl S, Koestenberger M, Kutschera J, Leschnik B, Muntean W. Alpha 2-macroglobulin enhances prothrombin activation and thrombin potential by inhibiting the anticoagulant protein C/protein S system in cord and adult plasma. *Thromb Res* 2002 Mar 1;105(5):433-9.
- (38) Schmidt B, Mitchell L, Ofosu FA, Andrew M. Alpha-2-macroglobulin is an important progressive inhibitor of thrombin in neonatal and infant plasma. *Thromb Haemost* 1989 Dec 29;62(4):1074-7.
- (39) Toulon P, Rainaut M, Aiach M, Roncato M, Daffos F, Forestier F. Antithrombin III (ATIII) and heparin cofactor II (HCII) in normal human fetuses (21st-27th week). *Thromb Haemost* 1986 Oct 21;56(2):237.

- (40) Manco-Johnson MJ. Neonatal antithrombin III deficiency. *Am J Med* 1989 Sep 11;87(3B):49S-52S.
- (41) Peters M, ten Cate JW, Breederveld C, De LR, Emeis J, Koppe J. Low antithrombin III levels in neonates with idiopathic respiratory distress syndrome: poor prognosis. *Pediatr Res* 1984 Mar;18(3):273-6.
- (42) Peters M, Jansen E, ten Cate JW, Kahle LH, Ockelford P, Breederveld C. Neonatal antithrombin III. *Br J Haematol* 1984 Dec;58(4):579-87.
- (43) Andrew M, Massicotte-Nolan P, Mitchell L, Cassidy K. Dysfunctional antithrombin III in sick premature infants. *Pediatr Res* 1985 Feb;19(2):237-9.
- (44) Andersson TR, Bangstad H, Larsen ML. Heparin cofactor II, antithrombin and protein C in plasma from term and preterm infants. *Acta Paediatr Scand* 1988 Jul;77(4):485-8.
- (45) Delorme MA, Xu L, ., Berry L, Mitchell L, Andrew M. Anticoagulant dermatan sulfate proteoglycan (decorin) in the term human placenta. *Thromb Res* 1998 May 15;90(4):147-53.
- (46) Esmon CT. The roles of protein C and thrombomodulin in the regulation of blood coagulation. *J Biol Chem* 1989 Mar 25;264(9):4743-6.
- (47) Menashi S, Arousseau MH, Gozin D, Daffos F, D'Angelo A, Forestier F, et al. High levels of circulating thrombomodulin in human fetuses and children. *Thromb Haemost* 1999 Jun;81(6):906-9.
- (48) Nako Y, Ohki Y, Harigaya A, Tomomasa T, Morikawa A. Plasma thrombomodulin level in very low birthweight infants at birth. *Acta Paediatr* 1997 Oct;86(10):1105-9.
- (49) Nako Y, Tomomasa T, Morikawa A. Plasma thrombomodulin level in newborn infants with and without perinatal asphyxia. *Acta Paediatr* 1997 Jan;86(1):91-5.
- (50) Edstrom CS, Calhoun DA, Christensen RD. Expression of tissue factor pathway inhibitor in human fetal and placental tissues. *Early Hum Dev* 2000 Aug;59(2):77-84.

- (51) Cvirn G, Gallistl S, Leschnik B, Muntean W. Low tissue factor pathway inhibitor (TFPI) together with low antithrombin allows sufficient thrombin generation in neonates. *J Thromb Haemost* 2003 Feb;1(2):263-8.
- (52) Martinez J, MacDonald KA, Palascak JE. The role of sialic acid in the dysfibrinogenemia associated with liver disease: distribution of sialic acid on the constituent chains. *Blood* 1983 Jun;61(6):1196-202.
- (53) Dang CV, Shin CK, Bell WR, Nagaswami C, Weisel JW. Fibrinogen sialic acid residues are low affinity calcium-binding sites that influence fibrin assembly. *J Biol Chem* 1989 Sep 5;264(25):15104-8.
- (54) Muller M, Burchard W. Fibrinogen - fibrin transformation. Part III. Particularities for foetal fibrinogen. *Thromb Res* 1981 Nov 15;24(4):339-46.
- (55) Witt I, Muller H. Phosphorus and hexose content of human foetal fibrinogen. *Biochim Biophys Acta* 1970 Nov 17;221(2):402-4.
- (56) Parmar N, Albisetti M, Berry LR, Chan AK. The fibrinolytic system in newborns and children. *Clin Lab* 2006;52(3-4):115-24.
- (57) Andrew M, Brooker L, Leaker M, Paes B, Weitz J. Fibrin clot lysis by thrombolytic agents is impaired in newborns due to a low plasminogen concentration. *Thromb Haemost* 1992 Sep 7;68(3):325-30.
- (58) Reverdiau-Moalic P, Gruel Y, Delahousse B, Rupin A, Huart MC, Body G, et al. Comparative study of the fibrinolytic system in human fetuses and in pregnant women. *Thromb Res* 1991 Mar;61(5-6):489-99.
- (59) Estelles A, Aznar J, Gilabert J, Parrilla JJ. Dysfunctional plasminogen in full-term newborn. *Pediatr Res* 1980 Nov;14(11):1180-5.
- (60) Corrigan JJ, Jr., Sleeth JJ, Jeter M, Lox CD. Newborn's fibrinolytic mechanism: components and plasmin generation. *Am J Hematol* 1989 Dec;32(4):273-8.
- (61) Ambrus CM, Ambrus JL, Choi TS, Jung O, Mirand EA, Bartfay-Szabo A. The fibrinolysin system and its relationship to disease in the newborn. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1979;1(3):251-60.

- (62) Ries M. Molecular and functional properties of fetal plasminogen and its possible influence on clot lysis in the neonatal period. *Semin Thromb Hemost* 1997;23(3):247-52.
- (63) Sabovic M, Lijnen HR, Keber D, Collen D. Correlation between progressive adsorption of plasminogen to blood clots and their sensitivity to lysis. *Thromb Haemost* 1990 Nov 30;64(3):450-4.
- (64) Benavent A, Estelles A, Aznar J, Martinez-Sales V, Gilabert J, Fornas E. Dysfunctional plasminogen in full term newborn--study of active site of plasmin. *Thromb Haemost* 1984 Feb 28;51(1):67-70.
- (65) Hilali MM, Gilliver BE. Physiological activation of plasminogen in full term newborn infants. *J Clin Pathol* 1984 Nov;37(11):1264-7.
- (66) Saleh AA, Stowers MA, Eldridge DM, Dorey LG, Hirokawa S, Dombrowski MP, et al. Maternal and neonatal hemostatic correlation. *Thromb Res* 1992 Dec 1;68(4-5):425-8.
- (67) Astedt B, Lindoff C. Plasminogen activators and plasminogen activator inhibitors in plasma of premature and term newborns. *Acta Paediatr* 1997 Jan;86(1):111-3.
- (68) Corrigan JJ, Jr., Jeter MA. Tissue-type plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor, and histidine-rich glycoproteins in stressed human newborns. *Pediatrics* 1992 Jan;89(1):43-6.
- (69) Mautone A, Giordano P, Montagna O, Quercia M, Altomare M, De MD. Coagulation and fibrinolytic systems in the ill preterm newborn. *Acta Paediatr* 1997 Oct;86(10):1100-4.
- (70) Ries M, Zenker M, Klinge J, Keuper H, Harms D. Age-related differences in a clot lysis assay after adding different plasminogen activators in a plasma milieu in vitro. *J Pediatr Hematol Oncol* 1995 Aug;17(3):260-4.
- (71) Suarez CR, Walenga J, Mangogna LC, Fareed J. Neonatal and maternal fibrinolysis: activation at time of birth. *Am J Hematol* 1985 Aug;19(4):365-72.

- (72) Smith AA, Jacobson LJ, Miller BI, Hathaway WE, Manco-Johnson MJ. A new euglobulin clot lysis assay for global fibrinolysis. *Thromb Res* 2003;112(5-6):329-37.
- (73) Ries M, Zenker M, Gaffney PJ. Differences between neonates and adults in the urokinase-plasminogen activator (u-PA) pathway of the fibrinolytic system. *Thromb Res* 2000 Nov 15;100(4):341-51.
- (74) Ries M, Klinge J, Rauch R, Trusen B, Zenker M, Keuper H, et al. In vitro fibrinolysis after adding low doses of plasminogen activators and plasmin generation with and without oxidative inactivation of plasmin inhibitors in newborns and adults. *J Pediatr Hematol Oncol* 1996 Nov;18(4):346-51.
- (75) Dati F, Pelzer H, Wagner C. Relevance of markers of hemostasis activation in obstetrics/gynecology and pediatrics. *Semin Thromb Hemost* 1998;24(5):443-8.
- (76) Knofler R, Hofmann S, Weissbach G, Kuhlisch E, Neef B, Otte M, et al. Molecular markers of the endothelium, the coagulation and the fibrinolytic systems in healthy newborns. *Semin Thromb Hemost* 1998;24(5):453-61.
- (77) Tripodi A, Mannucci PM. Markers of activated coagulation and their usefulness in the clinical laboratory. *Clin Chem* 1996 May;42(5):664-9.
- (78) Lippi G, Cervellin G, Franchini M, Favaloro EJ. Biochemical markers for the diagnosis of venous thromboembolism: the past, present and future. *J Thromb Thrombolysis* 2010 Nov;30(4):459-71.
- (79) Markers of hemostatic system activation in acute deep venous thrombosis-evolution during the first days of heparin treatment. The DVTENOX Study Group. *Thromb Haemost* 1993 Dec 20;70(6):909-14.
- (80) Bauer KA, Rosenberg RD. Activation markers of coagulation. *Baillieres Clin Haematol* 1994 Sep;7(3):523-40.
- (81) Gabazza EC, Taguchi O, Yamakami T, Machishi M, Ibata H, Suzuki S. Evaluating prethrombotic state in lung cancer using molecular markers. *Chest* 1993 Jan;103(1):196-200.

- (82) Cadroy Y, Grandjean H, Pichon J, Desprats R, Berrebi A, Fournie A, et al. Evaluation of six markers of haemostatic system in normal pregnancy and pregnancy complicated by hypertension or pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1993 May;100(5):416-20.
- (83) Brus F, van OW, Okken A, Oetomo SB. Activation of the plasma clotting, fibrinolytic, and kinin-kallikrein system in preterm infants with severe idiopathic respiratory distress syndrome. *Pediatr Res* 1994 Nov;36(5):647-53.
- (84) Ries M, Klinge J, Rauch R, Zenker M, Aydin I, Harms D. [Changes in the activation markers of blood coagulation and fibrinolysis in the neonatal period]. *Klin Padiatr* 1996 Nov;208(6):350-4.
- (85) Schmidt B, Vegh P, Weitz J, Johnston M, Caco C, Roberts R. Thrombin/antithrombin III complex formation in the neonatal respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1992 Apr;145(4 Pt 1):767-70.
- (86) Gaffney PJ. Fibrin degradation products. A review of structures found in vitro and in vivo. *Ann N Y Acad Sci* 2001;936:594-610.
- (87) Mosesson MW. Fibrinogen and fibrin structure and functions. *J Thromb Haemost* 2005 Aug;3(8):1894-904.
- (88) Siebenlist KR, Meh DA, Mosesson MW. Protransglutaminase (factor XIII) mediated crosslinking of fibrinogen and fibrin. *Thromb Haemost* 2001 Nov;86(5):1221-8.
- (89) Mosesson MW, Siebenlist KR, Hernandez I, Wall JS, Hainfeld JF. Fibrinogen assembly and crosslinking on a fibrin fragment E template. *Thromb Haemost* 2002 Apr;87(4):651-8.
- (90) Gaffney PJ. Distinction between fibrinogen and fibrin degradation products in plasma. *Clin Chim Acta* 1975 Nov 15;65(1):109-15.
- (91) Kornberg A, Francis CW, Marder VJ. Plasma crosslinked fibrin polymers: quantitation based on tissue plasminogen activator conversion to D-dimer and measurement in normal and patients with acute thrombotic disorders. *Blood* 1992 Aug 1;80(3):709-17.

- (92) Aguilar C, Lecumberri R, Paloma MJ, Reverter C. Manual práctico para el empleo del Dímero D. Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia (SETH). 2010.
- (93) Adam SS, Key NS, Greenberg CS. D-dimer antigen: current concepts and future prospects. *Blood* 2009 Mar 26;113(13):2878-87.
- (94) Eisenberg PR, Sherman LA, Tiefenbrunn AJ, Ludbrook PA, Sobel BE, Jaffe AS. Sustained fibrinolysis after administration of t-PA despite its short half-life in the circulation. *Thromb Haemost* 1987 Feb 3;57(1):35-40.
- (95) Eisenberg PR, Sherman LA, Perez J, Jaffe AS. Relationship between elevated plasma levels of crosslinked fibrin degradation products (XL-FDP) and the clinical presentation of patients with myocardial infarction. *Thromb Res* 1987 Apr 1;46(1):109-20.
- (96) D'Angelo A, D'Alessandro G, Tomassini L, Pittet JL, Dupuy G, Crippa L. Evaluation of a new rapid quantitative D-dimer assay in patients with clinically suspected deep vein thrombosis. *Thromb Haemost* 1996 Mar;75(3):412-6.
- (97) Fraser DG, Moody AR, MA, Morgan P. Determinants of D-dimer level in patients presenting with deep venous thrombosis: assessment using magnetic resonance thrombus imaging. Abstract from the European Haematology Association 5th Congress 2000;(June 2000):132-3.
- (98) Murtha AP, Boggess KA, Jimmerson CE, Greig PC, Herbert WN. Umbilical venous D-dimer concentrations with and without labor. *Obstet Gynecol* 1998 Aug;92(2):184-6.
- (99) Hager K, Platt D. Fibrin degeneration product concentrations (D-dimers) in the course of ageing. *Gerontology* 1995;41(3):159-65.
- (100) Wilde JT, Kitchen S, Kinsey S, Greaves M, Preston FE. Plasma D-dimer levels and their relationship to serum fibrinogen/fibrin degradation products in hypercoagulable states. *Br J Haematol* 1989 Jan;71(1):65-70.
- (101) Pizzo SV, Pasqua JJ. The clearance of human fibrinogen fragments D1, D2, D3 and fibrin fragment D1 dimer in mice. *Biochim Biophys Acta* 1982 Oct 8;718(2):177-84.

- (102) Kelly J, Rudd A, Lewis RR, Hunt BJ. Plasma D-Dimers in the Diagnosis of Venous Thromboembolism. *Arch Intern Med* 2002 Apr 8;162(7):747-56.
- (103) Bach-Gansmo ET, Godal HC, Skjonsberg OH. Degradation of fibrinogen and cross-linked fibrin by human neutrophil elastase generates D-like fragments detected by ELISA but not latex D-dimer test. *Thromb Res* 1998 Nov 1;92(3):125-34.
- (104) Dempfle CE. D-dimer testing and venous thromboembolism: four view points. *J Thromb Haemost* 2005 Feb;3(2):377-9.
- (105) Koopman J, Haverkate F, Koppert P, Nieuwenhuizen W, Brommer EJ, Van der Werf WG. New enzyme immunoassay of fibrin-fibrinogen degradation products in plasma using a monoclonal antibody. *J Lab Clin Med* 1987 Jan;109(1):75-84.
- (106) Reber G, de MP. D-dimer assays for the exclusion of venous thromboembolism. *Semin Thromb Hemost* 2000;26(6):619-24.
- (107) Dempfle CE. Validation, calibration, and specificity of quantitative D-dimer assays. *Semin Vasc Med* 2005 Nov;5(4):315-20.
- (108) Gaffney PJ, Edgell T, Creighton-Kempsford LJ, Wheeler S, Tarelli E. Fibrin degradation product (FnDP) assays: analysis of standardization issues and target antigens in plasma. *Br J Haematol* 1995 May;90(1):187-94.
- (109) Brill-Edwards P, Lee A. D-dimer testing in the diagnosis of acute venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 1999 Aug;82(2):688-94.
- (110) Dempfle CE. D-dimer: standardization versus harmonization. *Thromb Haemost* 2006 Mar;95(3):399-400.
- (111) Gaffney PJ. Standards in fibrinolysis--current status and future challenges. *Thromb Haemost* 1995 Dec;74(6):1389-97.
- (112) Meijer P, Haverkate F, Kluft C, de MP, Verbruggen B, Spannagl M. A model for the harmonisation of test results of different quantitative D-dimer methods. *Thromb Haemost* 2006 Mar;95(3):567-72.
- (113) Raimondi P, Bongard O, de MP, Reber G, Waldvogel F, Bounameaux H. D-dimer plasma concentration in various clinical conditions: implication for

- the use of this test in the diagnostic approach of venous thromboembolism. *Thromb Res* 1993 Jan 1;69(1):125-30.
- (114) Lowe GD. Fibrin D-dimer and cardiovascular risk. *Semin Vasc Med* 2005 Nov;5(4):387-98.
- (115) Camet CN, Yee DL. Focus on diagnosis: a primer on D-dimer. *Pediatr Rev* 2011 Jan;32(1):31-3.
- (116) Tripodi A. D-dimer testing in laboratory practice. *Clin Chem* 2011 Sep;57(9):1256-62.
- (117) Bounameaux H, de MP, Perrier A, Reber G. Plasma measurement of D-dimer as diagnostic aid in suspected venous thromboembolism: an overview. *Thromb Haemost* 1994 Jan;71(1):1-6.
- (118) Scarano L, Bernardi E, Prandoni P, Sardella C, Rossi L, Carraro P, et al. Accuracy of two newly described D-dimer tests in patients with suspected deep venous thrombosis. *Thromb Res* 1997 Apr 15;86(2):93-9.
- (119) Dale S, Gogstad GO, Brosstad F, Godal HC, Holtlund J, Mork E, et al. Comparison of three D-dimer assays for the diagnosis of DVT:ELISA, latex and an immunofiltration assay (NycoCard D-Dimer). *Thromb Haemost* 1994 Mar;71(3):270-4.
- (120) de MP, Desmarais S, Bounameaux H, Reber G, Perrier A, Dupuy G, et al. Contribution of a new, rapid, individual and quantitative automated D-dimer ELISA to exclude pulmonary embolism. *Thromb Haemost* 1996 Jan;75(1):11-3.
- (121) Elias A, Aptel I, Huc B, Chale JJ, Nguyen F, Cambus JP, et al. D-dimer test and diagnosis of deep vein thrombosis: a comparative study of 7 assays. *Thromb Haemost* 1996 Oct;76(4):518-22.
- (122) Pittet JL, de MP, Reber G, Durand C, Villard C, Piga N, et al. VIDAS D-dimer: fast quantitative ELISA for measuring D-dimer in plasma. *Clin Chem* 1996 Mar;42(3):410-5.
- (123) Elias-Hernandez T, Otero-Candelera R, Fernandez-Jimenez D, Jara-Palomares L, Jimenez-Castro V, Barrot-Cortes E. [Clinical usefulness of

- three quantitative D-dimers tests in outpatients with suspected deep vein thrombosis]. *Rev Clin Esp* 2012 May;212(5):235-41.
- (124) Freyburger G, Trillaud H, Labrousse S, Gauthier P, Javorschi S, Bernard P, et al. D-dimer strategy in thrombosis exclusion--a gold standard study in 100 patients suspected of deep venous thrombosis or pulmonary embolism: 8 DD methods compared. *Thromb Haemost* 1998 Jan;79(1):32-7.
- (125) Janssen MC, Heebels AE, de MM, Verbruggen H, Wollersheim H, Janssen S, et al. Reliability of five rapid D-dimer assays compared to ELISA in the exclusion of deep venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1997 Feb;77(2):262-6.
- (126) van der GF, van den BH, van der KM, de Wild PJ, Janssen GW, van Uum SH. Exclusion of deep venous thrombosis with D-dimer testing--comparison of 13 D-dimer methods in 99 outpatients suspected of deep venous thrombosis using venography as reference standard. *Thromb Haemost* 2000 Feb;83(2):191-8.
- (127) Di NM, Squizzato A, Rutjes AW, Buller HR, Zwinderman AH, Bossuyt PM. Diagnostic accuracy of D-dimer test for exclusion of venous thromboembolism: a systematic review. *J Thromb Haemost* 2007 Feb;5(2):296-304.
- (128) Lippi G, Franchini M, Targher G, Favaloro EJ. Help me, Doctor! My D-dimer is raised. *Ann Med* 2008;40(8):594-605.
- (129) Rocha E, Panizo C. Thromboembolic disease. D dimer: yes or not? *Med Clin (Barc)* 2002 Sep 14;119(8):296-7.
- (130) Palareti G, Cosmi B, Legnani C. Diagnosis of deep vein thrombosis. *Semin Thromb Hemost* 2006 Oct;32(7):659-72.
- (131) Turkstra F, van Beek EJ, Buller HR. Observer and biological variation of a rapid whole blood D-dimer test. *Thromb Haemost* 1998 Jan;79(1):91-3.
- (132) Brown MD, Lau J, Nelson RD, Kline JA. Turbidimetric D-dimer test in the diagnosis of pulmonary embolism: a metaanalysis. *Clin Chem* 2003 Nov;49(11):1846-53.

- (133) Waser G, Kathriner S, Wuillemin WA. Performance of the automated and rapid STA Liatest D-dimer on the STA-R analyzer. *Thromb Res* 2005;116(2):165-70.
- (134) Ghanima W, Abdelnoor M, Mowinckel MC, Sandset PM. The performance of STA-Liatest D-dimer assay in out-patients with suspected pulmonary embolism. *Br J Haematol* 2006 Jan;132(2):210-5.
- (135) Froehling DA, Daniels PR, Swensen SJ, Heit JA, Mandrekar JN, Ryu JH, et al. Evaluation of a quantitative D-dimer latex immunoassay for acute pulmonary embolism diagnosed by computed tomographic angiography. *Mayo Clin Proc* 2007 May;82(5):556-60.
- (136) John MA, Elms MJ, O'Reilly EJ, Rylatt DB, Bundesen PG, Hillyard CJ. The simpliRED D dimer test: a novel assay for the detection of crosslinked fibrin degradation products in whole blood. *Thromb Res* 1990 May 1;58(3):273-81.
- (137) Mauron T, Baumgartner I, Z'Brun A, Demarmels BF, Redondo M, Do DD, et al. SimpliRED D-dimer assay: comparability of capillary and citrated venous whole blood, between-assay variability, and performance of the test for exclusion of deep vein thrombosis in symptomatic outpatients. *Thromb Haemost* 1998 Jun;79(6):1217-9.
- (138) Gerometta M, Rowbury D, Cooper B. Exclusion of deep venous thrombosis with D-dimer testing: a rebuttal--modified simpliRED methodology is not validated for clinical use. *Thromb Haemost* 2000 Dec;84(6):1134-5.
- (139) De MW, Huisman MV, Pattynama PM. Observer dependency of the SimpliRed D-dimer assay in 81 consecutive patients with suspected pulmonary embolism. *Thromb Res* 1999 Nov 15;96(4):293-8.
- (140) Cini M, Legnani C, Cavallaroni K, Bettini F, Palareti G. A new rapid bedside assay for D-dimer measurement (Simplify D-dimer) in the diagnostic work-up for deep vein thrombosis. *J Thromb Haemost* 2003 Dec;1(12):2681-3.
- (141) Sie P. The value of laboratory tests in the diagnosis of venous thromboembolism. *Haematologica* 1995 Mar;80(2 Suppl):57-60.

- (142) Bounameaux H. Review: ELISA D-dimer is sensitive but not specific in diagnosing pulmonary embolism in an ambulatory clinical setting. *ACP J Club* 2003 Jan;138(1):24.
- (143) Mountain D, Jacobs I, Haig A. The VIDAS D-dimer test for venous thromboembolism: a prospective surveillance study shows maintenance of sensitivity and specificity when used in normal clinical practice. *Am J Emerg Med* 2007 May;25(4):464-71.
- (144) Carrier M, Righini M, Djurabi RK, Huisman MV, Perrier A, Wells PS, et al. VIDAS D-dimer in combination with clinical pre-test probability to rule out pulmonary embolism. A systematic review of management outcome studies. *Thromb Haemost* 2009 May;101(5):886-92.
- (145) van BA, Buller HR, Huisman MV, Huisman PM, Kaasjager K, Kamphuisen PW, et al. Effectiveness of managing suspected pulmonary embolism using an algorithm combining clinical probability, D-dimer testing, and computed tomography. *JAMA* 2006 Jan 11;295(2):172-9.
- (146) Dempfle CE, Suvajac N, Elmas E, Borggreffe M. Performance evaluation of a new rapid quantitative assay system for measurement of D-dimer in plasma and whole blood: PATHFAST D-dimer. *Thromb Res* 2007;120(4):591-6.
- (147) Lippi G, Salvagno GL, Rossi L, Montagnana M, Franchini M, Guidi GC. Analytical performances of the D-dimer assay for the Immulite 2000 automated immunoassay analyser. *Int J Lab Hematol* 2007 Dec;29(6):415-20.
- (148) Killick SB, Pentek PG, Mercieca JE, Clarke MF, Bevan DH. Comparison of immunofiltration assay of plasma D-dimer with diagnostic imaging in deep vein thrombosis. *Br J Haematol* 1997 Mar;96(4):846-9.
- (149) Sukhu K, Beavis J, Baker PM, Keeling DM. Comparison of an immunoturbidometric method (STalia D-DI) with an established enzyme linked fluorescent assay (VIDAS) D-dimer for the exclusion of venous thromboembolism. *Int J Lab Hematol* 2008 Jun;30(3):200-4.

- (150) Veitl M, Hamwi A, Kurtaran A, Virgolini I, Vukovich T. Comparison of four rapid D-Dimer tests for diagnosis of pulmonary embolism. *Thromb Res* 1996 Jun 1;82(5):399-407.
- (151) Legnani C, Pancani C, Palareti G, Guazzaloca G, Fortunato G, Grauso F, et al. Comparison of new rapid methods for D-dimer measurement to exclude deep vein thrombosis in symptomatic outpatients. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1997 Jul;8(5):296-302.
- (152) de Groot MR, van Marwijk KM, Pouwels JG, Engelage AH, Kuipers BF, Buller HR. The use of a rapid D-dimer blood test in the diagnostic work-up for pulmonary embolism: a management study. *Thromb Haemost* 1999 Dec;82(6):1588-92.
- (153) Toulon P, Lecourvoisier C, Meyniard O. Evaluation of a rapid qualitative immuno-chromatography D-dimer assay (Simplify D-dimer) for the exclusion of pulmonary embolism in symptomatic outpatients with a low and intermediate pretest probability. Comparison with two automated quantitative assays. *Thromb Res* 2009;123(3):543-9.
- (154) Neale D, Tovey C, Vali A, Davies S, Myers K, Obiako M, et al. Evaluation of the Simplify D-dimer assay as a screening test for the diagnosis of deep vein thrombosis in an emergency department. *Emerg Med J* 2004 Nov;21(6):663-6.
- (155) Curtin N, Highe G, Harris M, Braunstein A, Demattia F, Coss L. Extensive evaluation of the instrumentation laboratory IL test D-Dimer immunoturbidimetric assay on the ACL 9000 determines the D-Dimer cutoff value for reliable exclusion of venous thromboembolism. *Lab Hematol* 2004;10(2):88-94.
- (156) Freyburger G, Labrousche S. Comparability of D-dimer assays in clinical samples. *Semin Vasc Med* 2005 Nov;5(4):328-39.
- (157) Righini M, Perrier A, de MP, Bounameaux H. D-Dimer for venous thromboembolism diagnosis: 20 years later. *J Thromb Haemost* 2008 Jul;6(7):1059-71.
- (158) Dempfle CE. D-dimer assays: the current status and new assay technologies. *Thromb Res* 2006;118(5):569-71.

- (159) Schouten HJ, Geersing GJ, Koek HL, Zuithoff NP, Janssen KJ, Douma RA, et al. Diagnostic accuracy of conventional or age adjusted D-dimer cut-off values in older patients with suspected venous thromboembolism: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2013;346:f2492.
- (160) Lippi G, Plebani M, Favalaro EJ. Interference in coagulation testing: focus on spurious hemolysis, icterus, and lipemia. *Semin Thromb Hemost* 2013 Apr;39(3):258-66.
- (161) Becker DM, Philbrick JT, Bachhuber TL, Humphries JE. D-dimer testing and acute venous thromboembolism. A shortcut to accurate diagnosis? *Arch Intern Med* 1996 May 13;156(9):939-46.
- (162) Brotman DJ, Segal JB, Jani JT, Petty BG, Kickler TS. Limitations of D-dimer testing in unselected inpatients with suspected venous thromboembolism. *Am J Med* 2003 Mar;114(4):276-82.
- (163) Jennersjo CM, Fagerberg IH, Karlander SG, Lindahl TL. Normal D-dimer concentration is a common finding in symptomatic outpatients with distal deep vein thrombosis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2005 Oct;16(7):517-23.
- (164) De MW, Sanson BJ, Mac Gillavry MR, Pattynama PM, Buller HR, van den Berg-Huysmans AA, et al. Embolus location affects the sensitivity of a rapid quantitative D-dimer assay in the diagnosis of pulmonary embolism. *Am J Respir Crit Care Med* 2002 Feb 1;165(3):345-8.
- (165) Sie P, Cadroy Y, Elias A, Boccalon H, Boneu B. D-dimer levels in patients with long-term antecedents of deep venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1994 Jul;72(1):161-2.
- (166) Janssen MC, Verbruggen H, Wollersheim H, Hoogkamer B, van LH, Novakova IR. D-dimer determination to assess regression of deep venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1997 Aug;78(2):799-802.
- (167) Speiser W, Mallek R, Koppensteiner R, Stumpflen A, Kapiotis S, Minar E, et al. D-dimer and TAT measurement in patients with deep venous thrombosis: utility in diagnosis and judgement of anticoagulant treatment effectiveness. *Thromb Haemost* 1990 Oct 22;64(2):196-201.

- (168) Couturaud F, Kearon C, Bates SM, Ginsberg JS. Decrease in sensitivity of D-dimer for acute venous thromboembolism after starting anticoagulant therapy. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2002 Apr;13(3):241-6.
- (169) Schrecengost JE, LeGallo RD, Boyd JC, Moons KG, Gonias SL, Rose CE, Jr., et al. Comparison of diagnostic accuracies in outpatients and hospitalized patients of D-dimer testing for the evaluation of suspected pulmonary embolism. *Clin Chem* 2003 Sep;49(9):1483-90.
- (170) Tardy B, Tardy-Poncet B, Viallon A, Lafond P, Page Y, Venet C, et al. Evaluation of D-dimer ELISA test in elderly patients with suspected pulmonary embolism. *Thromb Haemost* 1998 Jan;79(1):38-41.
- (171) Perrier A, Desmarais S, Goehring C, de MP, Morabia A, Unger PF, et al. D-dimer testing for suspected pulmonary embolism in outpatients. *Am J Respir Crit Care Med* 1997 Aug;156(2 Pt 1):492-6.
- (172) Masotti L, Ceccarelli E, Cappelli R, Forconi S. Plasma D-dimer levels in elderly patients with suspected pulmonary embolism. *Thromb Res* 2000 Jun 15;98(6):577-9.
- (173) Harper PL, Theakston E, Ahmed J, Ockelford P. D-dimer concentration increases with age reducing the clinical value of the D-dimer assay in the elderly. *Intern Med J* 2007 Sep;37(9):607-13.
- (174) Eichinger S. D-dimer testing in pregnancy. *Semin Vasc Med* 2005 Nov;5(4):375-8.
- (175) Sitbon L. Papel de los Dímeros D en la Enfermedad Venosa-Tromboembólica (EVT). *Acta Bioquim Clin Latinoam* 2010;44(1):101-8.
- (176) Wakai A, Gleeson A, Winter D. Role of fibrin D-dimer testing in emergency medicine. *Emerg Med J* 2003 Jul;20(4):m319omo dx-325.
- (177) Wells PS, Anderson DR, Rodger M, Forgie M, Kearon C, Dreyer J, et al. Evaluation of D-dimer in the diagnosis of suspected deep-vein thrombosis. *N Engl J Med* 2003 Sep 25;349(13):1227-35.

- (178) de MP. D-dimer assays for the exclusion of venous thromboembolism: which test for which diagnostic strategy? *Thromb Haemost* 2000 Feb;83(2):180-1.
- (179) Stein PD, Hull RD, Patel KC, Olson RE, Ghali WA, Brant R, et al. D-dimer for the exclusion of acute venous thrombosis and pulmonary embolism: a systematic review. *Ann Intern Med* 2004 Apr 20;140(8):589-602.
- (180) Chunilal SD, Ginsberg JS. Strategies for the diagnosis of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. *Thromb Res* 2000 Jan 1;97(1):V33-V48.
- (181) Wells PS. Integrated strategies for the diagnosis of venous thromboembolism. *J Thromb Haemost* 2007 Jul;5 Suppl 1:41-50.
- (182) Brenner B, Francis CW, Totterman S, Kessler CM, Rao AK, Rubin R, et al. Quantitation of venous clot lysis with the D-dimer immunoassay during fibrinolytic therapy requires correction for soluble fibrin degradation. *Circulation* 1990 Jun 1;81(6):1818-25.
- (183) Iba T, Gando S, Murata A, Kushimoto S, Saitoh D, Eguchi Y, et al. Predicting the severity of systemic inflammatory response syndrome (SIRS)-associated coagulopathy with hemostatic molecular markers and vascular endothelial injury markers. *J Trauma* 2007 Nov;63(5):1093-8.
- (184) Kruip MJ, Slob MJ, Schijen JH, van der HC, Buller HR. Use of a clinical decision rule in combination with D-dimer concentration in diagnostic workup of patients with suspected pulmonary embolism: a prospective management study. *Arch Intern Med* 2002 Jul 22;162(14):1631-5.
- (185) Wells PS, Anderson DR, Rodger M, Stiell I, Dreyer JF, Barnes D, et al. Excluding pulmonary embolism at the bedside without diagnostic imaging: management of patients with suspected pulmonary embolism presenting to the emergency department by using a simple clinical model and d-dimer. *Ann Intern Med* 2001 Jul 17;135(2):98-107.
- (186) Soderberg M, Brohult J, Jorfeldt L, Larfars G. The use of D-dimer testing and Wells score in patients with high probability for acute pulmonary embolism. *J Eval Clin Pract* 2009 Feb;15(1):129-33.

- (187) Tick LW, Nijkeuter M, Kramer MH, Hovens MM, Buller HR, Leebeek FW, et al. High D-dimer levels increase the likelihood of pulmonary embolism. *J Intern Med* 2008 Aug;264(2):195-200.
- (188) Andreescu AC, Cushman M, Rosendaal FR. D-dimer as a risk factor for deep vein thrombosis: the Leiden Thrombophilia Study. *Thromb Haemost* 2002 Jan;87(1):47-51.
- (189) Eichinger S, Minar E, Bialonczyk C, Hirschl M, Quehenberger P, Schneider B, et al. D-dimer levels and risk of recurrent venous thromboembolism. *JAMA* 2003 Aug 27;290(8):1071-4.
- (190) Palareti G, Legnani C, Cosmi B, Guazzaloca G, Pancani C, Coccheri S. Risk of venous thromboembolism recurrence: high negative predictive value of D-dimer performed after oral anticoagulation is stopped. *Thromb Haemost* 2002 Jan;87(1):7-12.
- (191) Meijer K, Schulman S. The absence of 'minor' risk factors for recurrent venous thromboembolism: a systematic review of negative predictive values and negative likelihood ratios. *J Thromb Haemost* 2009 Oct;7(10):1619-28.
- (192) Palareti G, Cosmi B, Legnani C, Tosetto A, Brusi C, Iorio A, et al. D-dimer testing to determine the duration of anticoagulation therapy. *N Engl J Med* 2006 Oct 26;355(17):1780-9.
- (193) Verhovsek M, Douketis JD, Yi Q, Shrivastava S, Tait RC, Baglin T, et al. Systematic Review: D-Dimer to Predict Recurrent Disease after Stopping Anticoagulant Therapy for Unprovoked Venous Thromboembolism. *Ann Intern Med* 2008 Oct 7;149(7):481-90.
- (194) Cushman M, Folsom AR, Wang L, Aleksic N, Rosamond WD, Tracy RP, et al. Fibrin fragment D-dimer and the risk of future venous thrombosis. *Blood* 2003 Feb 15;101(4):1243-8.
- (195) Lowe GD. Can haematological tests predict cardiovascular risk? The 2005 Kettle Lecture. *Br J Haematol* 2006 May;133(3):232-50.
- (196) Lee AY, Julian JA, Levine MN, Weitz JI, Kearon C, Wells PS, et al. Clinical utility of a rapid whole-blood D-dimer assay in patients with cancer who

- present with suspected acute deep venous thrombosis. *Ann Intern Med* 1999 Sep 21;131(6):417-23.
- (197) Carrier M, Lee AY, Bates SM, Anderson DR, Wells PS. Accuracy and usefulness of a clinical prediction rule and D-dimer testing in excluding deep vein thrombosis in cancer patients. *Thromb Res* 2008;123(1):177-83.
- (198) King V, Vaze AA, Moskowitz CS, Smith LJ, Ginsberg MS. D-dimer assay to exclude pulmonary embolism in high-risk oncologic population: correlation with CT pulmonary angiography in an urgent care setting. *Radiology* 2008 Jun;247(3):854-61.
- (199) Cosmi B, Legnani C, Iorio A, Pengo V, Ghirarduzzi A, Testa S, et al. Residual venous obstruction, alone and in combination with D-dimer, as a risk factor for recurrence after anticoagulation withdrawal following a first idiopathic deep vein thrombosis in the prolong study. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2010 Mar;39(3):356-65.
- (200) Cosmi B, Legnani C, Toso A, Pengo V, Ghirarduzzi A, Alatri A, et al. Use of D-dimer testing to determine duration of anticoagulation, risk of cardiovascular events and occult cancer after a first episode of idiopathic venous thromboembolism: the extended follow-up of the PROLONG study. *J Thromb Thrombolysis* 2009 Nov;28(4):381-8.
- (201) Di NM, Klerk CP, Meijers JC, Buller HR. The prognostic value of the D-dimer test in cancer patients treated with and without low-molecular-weight heparin. *J Thromb Haemost* 2005 Jul;3(7):1531-3.
- (202) Chan WS, Chuniyal S, Lee A, Crowther M, Rodger M, Ginsberg JS. A red blood cell agglutination D-dimer test to exclude deep venous thrombosis in pregnancy. *Ann Intern Med* 2007 Aug 7;147(3):165-70.
- (203) Taylor FB, Jr., Toh CH, Hoots WK, Wada H, Levi M, Scientific Subcommittee on Disseminated Intravascular Coagulation (DIC) of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH). Towards definition, clinical and laboratory criteria, and a scoring system for disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost* 2001 Nov;86(5):1327-30.

- (204) Toh CH, Hoots WK. The scoring system of the Scientific and Standardisation Committee on Disseminated Intravascular Coagulation of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: a 5-year overview. *J Thromb Haemost* 2007 Mar;5(3):604-6.
- (205) Crassard I, Soria C, Tzourio C, Woimant F, Drouet L, Ducros A, et al. A negative D-dimer assay does not rule out cerebral venous thrombosis: a series of seventy-three patients. *Stroke* 2005 Aug;36(8):1716-9.
- (206) Dentali F, Poli D, Scoditti U, Di Minno MN, De S, V, Siragusa S, et al. Long-term outcomes of patients with cerebral vein thrombosis: a multicenter study. *J Thromb Haemost* 2012 Jul;10(7):1297-302.
- (207) Haapaniemi E, Tatlisumak T. Is D-dimer helpful in evaluating stroke patients? A systematic review. *Acta Neurol Scand* 2009 Mar;119(3):141-50.
- (208) Kruskal JB, Commerford PJ, Franks JJ, Kirsch RE. Fibrin and fibrinogen-related antigens in patients with stable and unstable coronary artery disease. *N Engl J Med* 1987 Nov 26;317(22):1361-5.
- (209) Kleinegris MC, Ten CH, ten Cate-Hoek AJ. D-dimer as a marker for cardiovascular and arterial thrombotic events in patients with peripheral arterial disease. A systematic review. *Thromb Haemost* 2013 Aug;110(2):233-43.
- (210) Mahe I, Bergmann JF, Chassany O, dit-Sollier CB, Simoneau G, Drouet L. A multicentric prospective study in usual care: D-dimer and cardiovascular events in patients with atrial fibrillation. *Thromb Res* 2012 Jun;129(6):693-9.
- (211) Suzuki T, Distanto A, Zizza A, Trimarchi S, Villani M, Salerno Uriarte JA, et al. Diagnosis of acute aortic dissection by D-dimer: the International Registry of Acute Aortic Dissection Substudy on Biomarkers (IRAD-Bio) experience. *Circulation* 2009 May 26;119(20):2702-7.
- (212) Takagi H, Manabe H, Kawai N, Goto S, Umemoto T. Plasma fibrinogen and D-dimer concentrations are associated with the presence of abdominal aortic aneurysm: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2009 Sep;38(3):273-7.

- (213) Canales MA, Arrieta R, Gomez-Rioja R, Diez J, Jimenez-Yuste V, Hernandez-Navarro F. Induction of a hypercoagulability state and endothelial cell activation by granulocyte colony-stimulating factor in peripheral blood stem cell donors. *J Hematother Stem Cell Res* 2002 Aug;11(4):675-81.
- (214) Matsumoto T, Wada H, Nishiyama H, Hirano T, Sakakura M, Nishii K, et al. Hemostatic abnormalities and changes following bone marrow transplantation. *Clin Appl Thromb Hemost* 2004 Oct;10(4):341-50.
- (215) Ataga KI, Brittain JE, Desai P, May R, Jones S, Delaney J, et al. Association of coagulation activation with clinical complications in sickle cell disease. *PLoS One* 2012;7(1):e29786.
- (216) Cappellini MD, Robbiolo L, Bottasso BM, Coppola R, Fiorelli G, Mannucci AP. Venous thromboembolism and hypercoagulability in splenectomized patients with thalassaemia intermedia. *Br J Haematol* 2000 Nov;111(2):467-73.
- (217) Barber M, Langhorne P, Rumley A, Lowe GD, Stott DJ. Hemostatic function and progressing ischemic stroke: D-dimer predicts early clinical progression. *Stroke* 2004 Jun;35(6):1421-5.
- (218) Altinyollar H, Boyabatli M, Berberoglu U. D-dimer as a marker for early diagnosis of acute mesenteric ischemia. *Thromb Res* 2006;117(4):463-7.
- (219) Raffini L, Huang YS, Witmer C, Feudtner C. Dramatic increase in venous thromboembolism in children's hospitals in the United States from 2001 to 2007. *Pediatrics* 2009 Oct;124(4):1001-8.
- (220) Andrew M, David M, Adams M, Ali K, Anderson R, Barnard D, et al. Venous thromboembolic complications (VTE) in children: first analyses of the Canadian Registry of VTE. *Blood* 1994 Mar 1;83(5):1251-7.
- (221) Monagle P, Adams M, Mahoney M, Ali K, Barnard D, Bernstein M, et al. Outcome of pediatric thromboembolic disease: a report from the Canadian Childhood Thrombophilia Registry. *Pediatr Res* 2000 Jun;47(6):763-6.

- (222) Nowak-Gottl U, von Kries R, Gobel U. Neonatal symptomatic thromboembolism in Germany: two year survey. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1997 May 1;76(3):F163-F167.
- (223) Andrew M. Developmental hemostasis: relevance to thromboembolic complications in pediatric patients. *Thromb Haemost* 1995 Jul;74(1):415-25.
- (224) van Ommen CH, Heijboer H, Buller HR, Hirasing RA, Heijmans HS, Peters M. Venous thromboembolism in childhood: a prospective two-year registry in The Netherlands. *J Pediatr* 2001 Nov;139(5):676-81.
- (225) Schmidt B. The etiology, diagnosis and treatment of thrombotic disorders in newborn infants: a call for international and multi-institutional studies. *Semin Perinatol* 1997 Feb;21(1):86-9.
- (226) Schmidt B, Andrew M. Neonatal thrombosis: report of a prospective Canadian and international registry. *Pediatrics* 1995 Nov;96(5 Pt 1):939-43.
- (227) David M, Andrew M. Venous thromboembolic complications in children. *J Pediatr* 1993 Sep;123(3):337-46.
- (228) Monteagudo Montesinos E. Trombosis . In: Madero López L, Lassaleta Atienza A, Sevilla Navarro J, editors. *Hematología y Oncología Pediátricas*. 3ª ed. Ergon Creación; 2015. p. 108-13.
- (229) Goldenberg NA, Donadini MP, Kahn SR, Crowther M, Kenet G, Nowak-Gottl U, et al. Post-thrombotic syndrome in children: a systematic review of frequency of occurrence, validity of outcome measures, and prognostic factors. *Haematologica* 2010 Nov;95(11):1952-9.
- (230) Nowak-Gottl U, Junker R, Kreuz W, von EA, Kosch A, Nohe N, et al. Risk of recurrent venous thrombosis in children with combined prothrombotic risk factors. *Blood* 2001 Feb 15;97(4):858-62.
- (231) Goldenberg NA, Knapp-Clevenger R, Manco-Johnson MJ. Elevated plasma factor VIII and D-dimer levels as predictors of poor outcomes of thrombosis in children. *N Engl J Med* 2004 Sep 9;351(11):1081-8.

- (232) Andrew M, David M, deVeber G, Brooker LA. Arterial thromboembolic complications in paediatric patients. *Thromb Haemost* 1997 Jul;78(1):715-25.
- (233) Seibert JJ, Northington FJ, Miers JF, Taylor BJ. Aortic thrombosis after umbilical artery catheterization in neonates: prevalence of complications on long-term follow-up. *AJR Am J Roentgenol* 1991 Mar;156(3):567-9.
- (234) Kuhle S, Koloshuk B, Marzinotto V, Bauman M, Massicotte P, Andrew M, et al. A cross-sectional study evaluating post-thrombotic syndrome in children. *Thromb Res* 2003;111(4-5):227-33.
- (235) Manco-Johnson MJ, Grabowski EF, Hellgreen M, Kemahli AS, Massicotte MP, Muntean W, et al. Laboratory testing for thrombophilia in pediatric patients. On behalf of the Subcommittee for Perinatal and Pediatric Thrombosis of the Scientific and Standardization Committee of the International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH). *Thromb Haemost* 2002 Jul;88(1):155-6.
- (236) Rajpurkar M, Warriar I, Chitlur M, Sabo C, Frey MJ, Hollon W, et al. Pulmonary embolism-experience at a single children's hospital. *Thromb Res* 2007;119(6):699-703.
- (237) Biss TT, Brandao LR, Kahr WH, Chan AK, Williams S. Clinical probability score and D-dimer estimation lack utility in the diagnosis of childhood pulmonary embolism. *J Thromb Haemost* 2009 Oct;7(10):1633-8.
- (238) Bloom BJ, Alario AJ, Miller LC. Persistent elevation of fibrin D-dimer predicts longterm outcome in systemic juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2009 Feb;36(2):422-6.
- (239) Imamura T, Yoshihara T, Yokoi K, Nakai N, Ishida H, Kasubuchi Y. Impact of increased D-dimer concentrations in Kawasaki disease. *Eur J Pediatr* 2005 Aug;164(8):526-7.
- (240) Hong J, Yang HR. Laboratory markers indicating gastrointestinal involvement of henoch-schonlein purpura in children. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr* 2015 Mar;18(1):39-47.

- (241) Yilmaz D, Kavakli K, Ozkayin N. The elevated markers of hypercoagulability in children with Henoch-Schonlein purpura. *Pediatr Hematol Oncol* 2005 Jan;22(1):41-8.
- (242) Michelin E, Snijders D, Conte S, Dalla VP, Tagliaferro T, Da DL, et al. Procoagulant activity in children with community acquired pneumonia, pleural effusion and empyema. *Pediatr Pulmonol* 2008 May;43(5):472-5.
- (243) Bernard TJ, Fenton LZ, Apkon SD, Boada R, Wilkening GN, Wilkinson CC, et al. Biomarkers of hypercoagulability and inflammation in childhood-onset arterial ischemic stroke. *J Pediatr* 2010 Apr;156(4):651-6.
- (244) Goldenberg NA, Jenkins S, Jack J, Armstrong-Wells J, Fenton LZ, Stence NV, et al. Arteriopathy, D-dimer, and risk of poor neurologic outcome in childhood-onset arterial ischemic stroke. *J Pediatr* 2013 May;162(5):1041-6.
- (245) Karagol BS, Erdevé O, Fitoz S, Uysal Z, Atasay B, Arsan S. Does D-dimer predict cerebral sinovenous thrombosis in the newborn? *Pediatr Hematol Oncol* 2007 Jul;24(5):355-9.
- (246) Hundalani SG, Nguyen KT, Soundar E, Kostousov V, Bomgaars L, Moise A, et al. Age-based difference in activation markers of coagulation and fibrinolysis in extracorporeal membrane oxygenation. *Pediatr Crit Care Med* 2014 Jun;15(5):e198-e205.
- (247) Qi YZ, Muzhaper D. [Levels and prognostic significance of serum procalcitonin and D-dimer in children with systemic inflammatory response syndrome]. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi* 2014 Apr;16(4):384-8.
- (248) Nso Roca A.P., Riesco Riesco, Benito Gutiérrez, García Aparicio. Utilidad del dímero D como marcador analítico en urgencias pediátricas. *Emergencias* 2009;21:28-31.
- (249) Hudson IR, Gibson BE, Brownlie J, Holland BM, Turner TL, Webber RG. Increased concentrations of D-dimers in newborn infants. *Arch Dis Child* 1990 Apr;65(4 Spec No):383-4.
- (250) Young G. Diagnosis and treatment of thrombosis in children: general principles. *Pediatr Blood Cancer* 2006 May 1;46(5):540-6.

- (251) Manco-Johnson MJ. How I treat venous thrombosis in children. *Blood* 2006 Jan 1;107(1):21-9.
- (252) Christensen RD, Baer VL, Lambert DK, Henry E, Ilstrup SJ, Bennett ST. Reference intervals for common coagulation tests of preterm infants (CME). *Transfusion* 2014 Mar;54(3):627-32.
- (253) Tay SP, Cheong SK, Boo NY. Circulating tissue factor, tissue factor pathway inhibitor and D-dimer in umbilical cord blood of normal term neonates and adult plasma. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2003 Feb;14(2):125-9.
- (254) Schneider DM, von Tempelhoff GF, Herrle B, Heilmann L. Maternal and cord blood hemostasis at delivery. *J Perinat Med* 1997;25(1):55-61.
- (255) Higgins JR, Bonnar J, Norris LA, Darling MR, Walshe JJ. The effect of pre-eclampsia on coagulation and fibrinolytic activation in the neonate. *Thromb Res* 2000 Sep 15;99(6):567-70.
- (256) Suzuki S, Morishita S. Hypercoagulability and DIC in high-risk infants. *Semin Thromb Hemost* 1998;24(5):463-6.
- (257) Shirahata A, Shirakawa Y, Murakami C. Diagnosis of DIC in very low birth weight infants. *Semin Thromb Hemost* 1998;24(5):467-71.
- (258) Gursoy T, Tekinalp G, Yurdakok M, Ozcebe O, Korkmaz A, Gurgey A. Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor activity, thrombin-antithrombin complex and D-dimer levels in preterm neonates with early respiratory distress syndrome. *Am J Hematol* 2008 Jan;83(1):50-3.
- (259) Catarino C, Rebelo I, Belo L, Rocha S, Castro EB, Patricio B, et al. Relationship between maternal and cord blood hemostatic disturbances in preeclamptic pregnancies. *Thromb Res* 2008;123(2):219-24.
- (260) Takahashi D, Takahashi Y, Matsui M, Araki S, Kubo K, Sato H, et al. Evaluation of hypercoagulability using soluble fibrin monomer complex in sick newborns. *Pediatr Int* 2013 Apr;55(2):151-6.

- (261) Ciccone MM, Scicchitano P, Salerno C, Gesualdo M, Fornarelli F, Zito A, et al. Aorta structural alterations in term neonates: the role of birth and maternal characteristics. *Biomed Res Int* 2013;2013:459168.
- (262) CLSI Document EP7-A2 . Interference testing in clinical chemistry; approved guideline. 2005. Report No.: Second Edition.
- (263) Shah V, Ohlsson A. Venepuncture versus heel lance for blood sampling in term neonates. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;(4):CD001452.
- (264) Correcher Medina P, Pedrón Marzal G, Rey Simón R, Calvo Rigual F. Venopunción en el dorso de la mano. ¿Una alternativa a la punción de talón?. *Anales de Pediatría* 2012;77:381-5.
- (265) Attard C, van der Straaten T, Karlaftis V, Monagle P, Ignjatovic V. Developmental hemostasis: age-specific differences in the levels of hemostatic proteins. *J Thromb Haemost* 2013 Oct;11(10):1850-4.
- (266) Clauss A. [Rapid physiological coagulation method in determination of fibrinogen]. *Acta Haematol* 1957 Apr;17(4):237-46.
- (267) Lippi G, Franchini M, Montagnana M, Guidi GC. Coagulation testing in pediatric patients: the young are not just miniature adults. *Semin Thromb Hemost* 2007 Nov;33(8):816-20.
- (268) Male C, Johnston M, Sparling C, Brooker L, Andrew M, Massicotte P. The influence of developmental haemostasis on the laboratory diagnosis and management of haemostatic disorders during infancy and childhood. *Clin Lab Med* 1999 Mar;19(1):39-69.
- (269) Ignjatovic V, Mertyn E, Monagle P. The coagulation system in children: developmental and pathophysiological considerations. *Semin Thromb Hemost* 2011 Oct;37(7):723-9.
- (270) Andrew M. Developmental hemostasis: relevance to hemostatic problems during childhood. *Semin Thromb Hemost* 1995;21(4):341-56.
- (271) Appel IM, Grimminck B, Geerts J, Stigter R, Cnossen MH, Beishuizen A. Age dependency of coagulation parameters during childhood and puberty. *J Thromb Haemost* 2012 Nov;10(11):2254-63.

- (272) Monagle P, Massicotte P. Developmental haemostasis: secondary haemostasis. *Semin Fetal Neonatal Med* 2011 Dec;16(6):294-300.
- (273) Andrew M, Vegh P, Johnston M, Bowker J, Ofosu F, Mitchell L. Maturation of the hemostatic system during childhood. *Blood* 1992 Oct 15;80(8):1998-2005.
- (274) Sosothikul D, Seksarn P, Lusher JM. Pediatric reference values for molecular markers in hemostasis. *J Pediatr Hematol Oncol* 2007 Jan;29(1):19-22.
- (275) Lippi G, Salvagno GL, Rugolotto S, Chiaffoni GP, Padovani EM, Franchini M, et al. Routine coagulation tests in newborn and young infants. *J Thromb Thrombolysis* 2007 Oct;24(2):153-5.
- (276) Collen D. The plasminogen (fibrinolytic) system. *Thromb Haemost* 1999 Aug;82(2):259-70.
- (277) Franzoi M, Simioni P, Luni S, Zerbinati P, Girolami A, Zanardo V. Effect of delivery modalities on the physiologic inhibition system of coagulation of the neonate. *Thromb Res* 2002 Jan 1;105(1):15-8.
- (278) Hellgren M. Hemostasis during normal pregnancy and puerperium. *Semin Thromb Hemost* 2003 Apr;29(2):125-30.
- (279) Knofler R, Weissbach G, Kuhlisch E. Platelet function tests in childhood. Measuring aggregation and release reaction in whole blood. *Semin Thromb Hemost* 1998;24(6):513-21.
- (280) Muntean W, Danda M. Thrombin - antithrombin III complex and D-dimer in neonates: signs of thrombin generation during birth. In: Suzuki S, Hathaway WE, Bonnar J, Sutor AH, editors. *Perinatal Thrombosis and Haemostasis*. Tokyo: Springer; 1989. p. 57-64.
- (281) Jan SL, Hwang B, Fu YC, Chai JW, Chi CS. Isolated neonatal ductus arteriosus aneurysm. *J Am Coll Cardiol* 2002 Jan 16;39(2):342-7.
- (282) Gomes Pereira A, Teixeira A, Maymone F. Spontaneous thrombosis of the ductus arteriosus. *Rev Port Cardiol* ; 2011;30(5):537-41.

- (283) Humphries SE, Luong LA, Montgomery HE, Day IN, Mohamed-Ali V, Yudkin JS. Gene-environment interaction in the determination of levels of plasma fibrinogen. *Thromb Haemost* 1999 Aug;82(2):818-25.
- (284) van der Bom JG, de Maat MP, Bots ML, Hofman A, Kluit C, Grobbee DE. Seasonal variation in fibrinogen in the Rotterdam Study. *Thromb Haemost* 1997 Sep;78(3):1059-62.
- (285) Mitsiakos G, Papaioannou G, Papadakis E, Chatziioannidis E, Giougi E, Karagianni P, et al. Haemostatic profile of full-term, healthy, small for gestational age neonates. *Thromb Res* 2009 Jul;124(3):288-91.
- (286) Sneyder E.L., Cloherty J.P. *Manual of Neonatal Care*. 1998. p. 515-33.
- (287) APGAR V. A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. *Curr Res Anesth Analg* 1953 Jul;32(4):260-7.

## **ANEXOS**



## 9 ANEXOS

### ANEXO 1. Dictamen del Comité Ético y de Investigación Clínica



**Comité Ético de Investigación Clínica - Hospital Lluís Alcanyís.**

Carretera de Xàtiva-Silla, Km 2

46800 XÀTIVA 46800

Tfno: 96 228 95 23

Vercher\_vic@gva.es

#### DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Don **José María Tenías Burillo**, presidente del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Lluís Alcanyís de Xàtiva

#### *CERTIFICA*

Que este Comité ha evaluado en reunión mantenida el **30 de Septiembre de 2004** la propuesta para la realización del estudio observacional titulado **Valor de la determinación de D-Dímeros en recién nacidos (versión del 30 de Junio de 2004)**.

y considera que:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto, teniendo en cuenta los beneficios esperados.
- El procedimiento para obtener el consentimiento informado, incluyendo *la hoja de información al paciente y de consentimiento informado* son adecuados.
- La capacidad del investigador y sus colaboradores y las instalaciones y medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Por tanto, este Comité acepta que dicho estudio sea realizado en el centro *Hospital Lluís Alcanyís de Xàtiva* por *Dña Patricia Correcher Medina* como investigadora principal

Lo que firmo en Xàtiva a 1 de Octubre de 2004



## **ANEXO 2. SANGRE DE CORDÓN**

<b>INFORMACIÓN PARA PADRES O TUTORES</b>
--

El Servicio de pediatría del Hospital Lluís Alcanyís está llevando a cabo un estudio para obtener valores normales de D-dímeros en recién nacidos y poder detectar precozmente problemas de la coagulación sanguínea.

Para ello, coincidiendo con la extracción de sangre de cordón que se realiza a su hijo para la determinación del grupo sanguíneo y PH, se tomará una muestra equivalente a 2,5 ml de sangre.

En ningún caso, supondrá una extracción adicional al niño.

Si desea que su hijo participe deberá comunicarlo al Dr. /a....., y firmar la hoja de consentimiento informado.

La participación de su hijo es voluntaria, y si no quiere participar, su hijo será tratado de acuerdo a su patología, según la práctica habitual.

Si interviene, debe saber que en cualquier momento puede decidir que su hijo abandone el estudio, comunicándose al Dr.....

Los datos del estudio serán utilizados exclusivamente para extraer conclusiones científicas. Sin embargo, la identidad de su hijo es confidencial y solo será conocida por el médico y sus colaboradores.

Si después de leer este documento desea realizar cualquier pregunta sobre el estudio, diríjase a la Dra. Correcher.



### **ANEXO 3. SANGRE VENOSA**

INFORMACIÓN PARA PADRES O TUTORES
-----------------------------------

El Servicio de pediatría del Hospital Lluís Alcanyís está llevando a cabo un estudio para obtener valores normales de D-dímeros en recién nacidos y poder detectar precozmente problemas de la coagulación sanguínea.

Para ello, coincidiendo con la extracción de sangre que deba realizarse a su hijo para determinación de pruebas metabólicas en sangre venosa, se tomará una muestra equivalente a 2.5 ml de sangre.

Los efectos adversos que pueden aparecer son los propios de la extracción.

En ningún caso, supondrá una extracción adicional al niño.

Si desea que su hijo participe deberá comunicarlo al Dr. /a....., y firmar la hoja de consentimiento informado.

La participación de su hijo es voluntaria. Si usted no desea que participe en el estudio se le realizará la rutina habitual: misma punción venosa y extracción exclusiva de sangre (0.2 ml) para las pruebas metabólicas.

Si interviene, debe saber que en cualquier momento puede decidir que su hijo abandone el estudio, comunicándose al Dr.....

Los datos del estudio serán utilizados exclusivamente para extraer conclusiones científicas. Sin embargo, la identidad de su hijo es confidencial y solo será conocida por el médico y sus colaboradores.

Si después de leer este documento desea realizar cualquier pregunta sobre el estudio, diríjase a la Dra. Correcher.

CONSENTIMIENTO DEL REPRESENTANTE

**TÍTULO: D-DÍMEROS EN RN SANO**

Yo (nombre y apellidos)

.....

En calidad de (relación con el paciente)

.....

He leído la hoja de información que se me ha entregado, he podido hacer preguntas sobre el estudio, he recibido respuestas satisfactorias a mis preguntas, he recibido suficiente información, comprendo que la participación es voluntaria, y presto mi conformidad con que (nombre del participante)..... participe en el estudio.

Fecha

**Firma del representante**

**ANEXO 4. HOJA DE RECOGIDA DE DATOS D-DIMEROS.**

NOMBRE	Sexo: V/M	PN(g)
Nº HC	EG:	PEG/AEG/ GEG
Puntuación Apgar	E postnatal:	FN

PARAMETROS	RN ( S. CORDON )	2º día ( S. VENOSA)	4º día ( S. VENOSA)
D-dímeros (ng/ml)			
Hto (%)			
Plq (x1000)			
Leucos (mm <sup>3</sup> )			
IQ (%)			
TTPA (seg)			
Fibrinógeno (mg/dl)			

**VARIABLES OBSTETRICAS**

- **Tipo de parto:** CST / vaginal; Eutócico / distócico; Espontáneo / Inducido
- **Tipo de Anestesia:** general, epidural (locorregional), local, ninguna
- **Finalización del parto:** Instrumentado / no Instrumentado ( vacuum, espátulas, fórceps)
- **Duración del parto**
  - o **Periodo de dilatación** en minutos:
  - o **Periodo de expulsivo** en minutos

**VARIABLES MATERNAS**

- **Patología Gestacional:** SI/NO Cual: Eclampsia, Pre-eclampsia, Sdr Antifosfolípídico
- **Medicación materna:** SI/NO Cual:
- **Complicaciones maternas:** P hemorrágica, trombosis Eclampsia, Embolia LA

**PATOLOGÍA NEONATAL**

	SI	NO
Enfermedad por déficit de surfactante (EDS)		
Sepsis		
Cardiopatía congénita (CC)		
Persistencia del ductus arterioso (PDA)		
Hipertensión pulmonar primaria (HTPP)		
Asfixia perinatal grave/moderada		
Onfalitis		
Malformación vascular placentaria		
Poliglobulia		
Shock		
Deshidratación		
Hijo de madre diabética (HMD)		
Coagulación intravascular diseminada (CID)		