



ugr

Universidad
de Granada

Escuela de Doctorado de Ciencias de la Salud

Programa de Doctorado en Medicina Clínica y Salud Pública

Tesis doctoral

**Estudio sobre la contribución de factores genéticos y
ambientales en la aparición de la retinopatía del
prematuro**

Doctorando:

José María Ortega Molina

Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario San Cecilio de Granada

Directores:

José Luis García Serrano

José Uberos Fernández

Granada, 2019

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: José María Ortega Molina
ISBN: 978-84-1306-479-6
URI: <http://hdl.handle.net/10481/62230>

Agradecimientos

Al Doctor García Serrano, por su encomiable dedicación a la enseñanza e investigación primero como residente y luego como doctorando, siendo pieza fundamental en la elaboración de este trabajo.

Al Doctor Uberos Fernández por su disponibilidad y ayuda a lo largo de todo este proyecto.

A Rocío González Ramírez por su ayuda con la metodología y estadística en este trabajo, así como a FIBAO (Fundación Pública Andaluza para la Investigación Biosanitaria de Andalucía Oriental-Alejandro Otero), por su colaboración en esta tesis.

A mi amigo y co-residente en Oftalmología Andrés Salgado, por servirme de guía e introducirme en el mundo de la investigación.

A Ana Solans por estar siempre a mi lado, tanto en la vida profesional como en la personal.

A Sara García "Sarita" por su ayuda como traductora y amiga.

Y a mis padres por animarme y aconsejarme.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	13
1.1. Definición de retinopatía del prematuro (ROP)	13
1.2. Resumen histórico	13
1.3. Epidemiología	14
1.4. Fisiopatología de la enfermedad	15
1.5 Etiología	17
1.5.1. Predisposición genética y epigenética	17
1.5.2 Factores de riesgo	20
1.5.2.1. Oxigenoterapia	20
1.5.2.2 Bajo peso al nacer	20
1.5.2.3 Prematuridad	21
1.5.2.4 Otros factores	22
1.6. Clasificación Internacional de la ROP	22
1.6.1. Localización	22
1.6.2. Extensión	24
1.6.3. Estadiaje	24
1.6.4. Enfermedad plus	27
1.6.5. Enfermedad pre-plus	28
1.6.6. ROP agresiva posterior	28
1.6.7. Regresión de la ROP	28
1.6.8. Clasificación según la necesidad de tratamiento	29
1.7. Diagnóstico	30
1.7.1 Programas de cribado	30

1.7.2. Cribado basado en técnicas de imagen	34
1.8. Tratamiento	34
1.8.1. Indicación de tratamiento	35
1.8.2. Crioterapia	37
1.8.2.1. Procedimiento	37
1.8.3. Fotocoagulación	38
1.8.3.1. Procedimiento	39
1.8.4. Fármacos antiangiogénicos	40
1.8.5. Cirugía	42
2. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	43
2.1. Justificación del estudio	43
2.2. Objetivos	44
3. MATERIAL Y MÉTODOS	45
3.1. Características del estudio	45
3.2 Material: sujetos a estudio	45
3.3 Metodología	46
3.3.1 Recogida de datos	46
3.3.2. Exploración oftalmológica	51
3.3.3. Análisis estadístico	51
3.3.3.1. Estadística descriptiva	51
3.3.3.2. Análisis bivariante	51
3.3.3.3. Análisis multivariante	52
3.3.4. Cálculo de la heredabilidad	52
4. RESULTADOS	55

4.1. Análisis descriptivo	55
4.1.1. Variables cuantitativas	55
4.1.2. Variables cualitativas	61
4.2 Análisis inferencial según presencia de ROP	77
4.2.1. Variables cuantitativas	77
4.2.2. Variables cualitativas	84
4.2.3. Análisis multivariante	93
4.3. Factores que explican la variabilidad de la ROP: Genotípicos, ambientales y aleatorios	94
4.3.1. Influencia de la herencia o heredabilidad (h)	95
4.3.2. Residuo aleatorio (ϵ)	95
4.3.3. Influencia ambiental compartida (a^1) y no compartida (a^2)	96
5. DISCUSIÓN	97
5.1. Limitaciones del estudio	97
5.2. Estudio de los factores que explican la variabilidad de la ROP: genotípicos, ambientales y aleatorios	97
5.3. Caracterización de la muestra y estudio de los factores de riesgo asociados con la ROP	99
6. CONCLUSIONES	103
7. BIBLIOGRAFÍA	105

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ADN Ácido desoxirribunocleico

ADP Adenosín difosfato

AP-ROP Retinopatía del prematuro agresiva posterior

APO Angiopoyetina

ATP Adenosín trifosfato

BEAT-ROP Bevacizumab para el tratamiento de la retinopatía del prematuro

BDD Base de datos

BDNF Factor neurotrófico cerebral

BOOST Objetivo en la saturación de oxígeno

Cols Colaboradores

CPAP Presión positiva continua en las vías aéreas

CRYO-ROP Crioterapia para la retinopatía del prematuro

DBP Displasia broncopulmonar.

DD Diámetro de disco

DAP Ductus arterioso persistente

e-ROP Evaluación fase aguda de la retinopatía del prematuro

EG Edad gestacional

ENOS Óxido nítrico sintasa endotelial

EPAS1 Proteína de dominio endotelial PAS 1

EPO Eritropoyetina

ET-ROP Tratamiento temprano de la retinopatía del prematuro

FEVR Vitreoretinopatía exudativa familiar

FZD4 Receptores de familia compactados 4

HIFs Factores inducibles de hipoxia

HMOX1 Heme oxigenasa-1

IC-ROP Clasificación internacional de la retinopatía del prematuro

ID Identificación

IGF-1 Factor de crecimiento insulinoide 1

IL-6 Interleucina 6

IL-8 Interleucina 8

LRP5 Receptores de proteínas de baja densidad

NDP Proteína de la enfermedad de Norrin

NeoProM Metanálisis prospectivo sobre el oxígeno neonatal

NNT Número de casos que son necesarios tratar

OIR Retinopatía inducida por oxígeno

RNBP Recién nacido bajo peso

RNEBP Recién nacido extremo bajo peso

RNMBP Recién nacido muy bajo peso

RNP Recien nacido prematuro

RNPT Recien nacido pretérmino

ROP Retinopatía del prematuro

SOD Superóxido dismutasa

STOP-ROP Terapia suplementaria de Oxígeno para retinopatía del prematuro

TAC Tomografía axial computerizada

TNF Factor de necrosis tumoral

VEGF Factor de crecimiento del endotelio vascular

VEGFR2 Receptores 2 del factor de crecimiento del endotelio vascular

VPCs Células precursoras vasculares

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Definición de retinopatía del prematuro (ROP)

La ROP se define como una vitreoretinopatía fibro y vasculoproliferativa que se produce como consecuencia de una vascularización retiniana anómala en niños prematuros (< 1500 gramos de peso o < 32 semanas de edad de gestación) y que puede producir pérdida de la agudeza visual o ceguera (1-3). El aumento de la supervivencia de niños prematuros con muy bajo peso al nacer, que se ha producido gracias a los avances en los cuidados neonatales, ha supuesto un aumento de la población de niños con riesgo de sufrir ROP. La ROP y la ceguera cortical constituyen las causas más importantes de ceguera en la infancia, representando más del 10% de los casos de ceguera durante este periodo en los países desarrollados (4).

1.2. Resumen histórico

La ROP fue descrita por primera vez por Terry en el año 1942 con el nombre de fibroplasia retrolental. Este autor afirmaba que se trataba de una forma especial de persistencia de la vasculatura fetal (persistencia e hiperplasia del vítreo primario) (5). Posteriormente, en el año 1952, Heath propuso el término de retinopatía del prematuro para denominar esta patología, el cual persiste en la actualidad. En esta década de los 50, se produjo la primera epidemia de ROP. Se relacionó por primera vez esta patología con el tratamiento con oxígeno en los niños prematuros gracias a Kinsey, quien propuso la restricción de la oxigenoterapia en los cuidados neonatales como medida preventiva (6, 7). En las décadas posteriores se consiguió disminuir la incidencia de ROP, pero la mejora de los cuidados intensivos neonatales que tuvo lugar en los años 80 y que permitió una mayor supervivencia de recién nacidos prematuros y con muy bajo peso, provocó una nueva epidemia de esta patología (8).

En el año 1984, se realizó la primera clasificación internacional del protocolo de prevención y seguimiento de la ROP, con el objetivo de unificar criterios diagnósticos y de tratamiento. En 1987, se publicó una segunda parte de esta clasificación que incluía el desprendimiento de retina y que permanece en la actualidad (9, 10).

El ensayo multicéntrico para el tratamiento con crioterapia de la ROP (CRYO-ROP), en 1984, demostró que el tratamiento con crioterapia sobre la retina avascular reducía a la mitad el riesgo de resultado estructural desfavorable. En la actualidad, la

crioterapia ha sido desplazada en los países desarrollados por el tratamiento con láser diodo y los fármacos inhibidores del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) intravítreos (11-13).

1.3. Epidemiología

Gracias al estudio CRYO-ROP, tenemos conocimiento de la incidencia de la enfermedad durante el periodo 1986-1987 en Estados Unidos. En él se observaron lesiones de la ROP en el 65,8% de los prematuros con un peso inferior a 1251 gramos, y en el 81,6% de los nacidos con un peso inferior a 1000 gramos. A comienzos del año 2000, en el estudio sobre el tratamiento temprano de la ROP (ET-ROP), se encontró una incidencia similar del 68%. Sin embargo, se observó una mayor incidencia de ROP grave o susceptible de tratamiento.

Por otro lado, mientras que en el estudio CRYO-ROP el 6% de los pacientes presentaban estadio umbral y por tanto necesitaban tratamiento, en el estudio ET-ROP que incluyó el estadio preumbral fueron tratados el 9% de los pacientes (14).

En 2004 se publicó un estudio sobre la incidencia de la ROP en la región de Murcia. En él, se tomaron como referencia para el cribado todos los niños nacidos con menos de 28 semanas o menos de 1500 gramos, encontrándose una incidencia de ROP del 32,1% y de ROP grave del 15,6%. Estas cifras son muy similares a otros estudios publicados en los que se utilizan valores similares para el despistaje de esta enfermedad (15, 16).

En el año 2010, Hoogerwerf et al. publicaron un estudio realizado en prematuros entre los años 2001-2005 en Holanda. Encontraron una disminución significativa de la incidencia de ROP en todos los grupos con respecto la década anterior (17).

En la actualidad, el aumento de la supervivencia de los niños de baja edad gestacional (EG) ha supuesto un aumento de casos de ROP susceptible de tratamiento en este grupo (23-28 semanas de EG). Esto es debido en parte a la gran comorbilidad (sepsis, ductus y apnea) y a la necesidad de un mayor tiempo de oxigenación. No obstante, a consecuencia de la mejora en los cuidados perinatales en los países desarrollados, se ha reducido de manera importante la incidencia de ROP (16, 18).

En Europa, los estudios publicados en diferentes países que informan sobre la incidencia de esta patología muestran una gran variabilidad debido a las variaciones en el

diseño de los estudios, la EG de los de los prematuros que se estudian y los tratamientos realizados (19-21).

1.4. Fisiopatología de la enfermedad

En el feto, durante las 13 primeras semanas de vida, la retina inmadura recibe los nutrientes exclusivamente a partir de la vasculatura fetal de vítreo y los vasos coroideos. Conforme la retina se desarrolla, el aporte de nutrientes a través de la circulación coroidea se hace insuficiente y es a partir de la semana 14 ó 15 de gestación, cuando comienza a desarrollarse la circulación retiniana (22).

Esta vascularización retiniana se inicia de forma centrífuga desde la papila hacia la periferia. La vascularización de la retina nasal tiende a completarse hacia la semana 32 de gestación y la temporal entre la semana 37 y 40 de gestación. Existen diferentes teorías acerca de la vascularización retiniana. La más aceptada es la de Ashton, la cual explica que los vasos retinianos se originan desde la papila óptica a partir de las células fusiformes de la adventicia de los vasos hialoideos. Desde aquí, crecen hacia la periferia en respuesta a estímulos parcialmente desconocidos, donde los factores angiogénicos y la hipoxia tienen un papel importante (23).

En estudios más recientes se ha demostrado que la vascularización de la retina se produce en 2 fases: una más temprana, que se denomina vasculogénesis, y otra más tardía, denominada angiogénesis. La vasculogénesis comienza en la semana 14 de gestación y finaliza hacia la semana 21. En ella, las células precursoras vasculares (VPC) de origen mesenquimal que salen desde el nervio óptico van a dar lugar al plexo central superficial, que incluye las 4 arcadas vasculares principales del polo posterior. Esta fase es independiente del VEGF y está mediada fundamentalmente por niveles de adenosín difosfato (ADP) y adenosín trifosfato (ATP). Tras esta da comienzo la angiogénesis, fase en la cual se produce un aumento de la densidad capilar de la retina central y se completa la formación de los vasos superficiales de la retina periférica, el plexo vascular profundo y los vasos capilares peripapilares radiales. La segunda fase de angiogénesis, al contrario que la anterior, sí es dependiente del VEGF. En esta fase, juega un papel muy importante en su regulación el factor de crecimiento insulinoide 1 (IGF-1). El VEGF es secretado en respuesta a la hipoxia por los astrocitos de la retina avascular, durante la vida intrauterina del feto. El IGF-1 es aportado por la placenta y el líquido amniótico y es independiente del oxígeno. Este cumple una función permisiva sobre el VEGF, de modo que si sus niveles

están disminuidos, no se producirá vascularización de la retina a pesar de que los niveles de VEGF estén dentro de parámetros normales (24-26).

En la actualidad, la ROP se considera una patología que consta de dos etapas. La primera se caracteriza por la vasoobliteración hiperóxica de los vasos retinianos en respuesta a un ambiente en el niño con mayores concentraciones de oxígeno que intraútero. Este hecho se acentúa en ciertas ocasiones debido al aporte adicional de oxígeno. Esto va a dar lugar a un descenso en los niveles de VEGF, provocando un cese del crecimiento vascular retiniano. Además, otros factores como el IGF-1, que actúa como un factor permisivo del VEGF según se ha mencionado anteriormente, van a jugar un papel importante en esta fase de la enfermedad. Niveles bajos de este factor favorecen la interrupción del crecimiento vascular retiniano normal. Se cree que esta fase vasoobliterativa da comienzo con el nacimiento y persiste hasta la semana 30-32 de EG (27).

Debido al cese de la vascularización retiniana se produce isquemia retiniana, que tiene como consecuencia la hiperproducción de VEGF, eritropoyetina (EPO) y otros factores de crecimiento. Esto da lugar a la fase vasoproliferativa de la enfermedad, que suele comenzar entre la semana 32 y 34 de EG. En esta segunda fase se va a producir la neovascularización retiniana anómala, que se caracteriza por el crecimiento anómalo de los vasos retinianos hacia el cuerpo vítreo. Debido a el papel tan importante que juega el VEGF en la fase proliferativa de la enfermedad, los anti-VEGF se han convertido en una opción de tratamiento de la ROP severa (12, 27). Aparte del VEGF, se han encontrado múltiples citoquinas involucradas en la fisiopatología de la ROP, aunque su acción en la génesis de la enfermedad parece ser de menor importancia (28).

Sin embargo, la hipótesis de que el VEGF es producido por la retina isquémica en respuesta a la hipoxia no explica por qué el crecimiento de los vasos se extiende hacia el vítreo más que hacia la retina. Varias líneas de investigación acerca de los efectos gliales o neurales sobre las células endoteliales han abordado esta cuestión. Los estudios aportan evidencias de que los factores inducidos sobre las células gliales o neurales conducen a una señalización hiperactiva del VEGF a partir de los receptores 2 del VEGF (VEGFR2) en las células endoteliales. La hiperactividad del VEGFR2 desencadena un descenso en los mecanismos de señalización que desorientan a las células endoteliales en división y permite que las células crezcan fuera del plano de la retina (29, 30).

En los últimos años, diferentes estudios están tratando de evaluar si los valores séricos de IGF-1 postnatales pueden utilizarse como predictor de la ROP (31).

1.5 Etiología

1.5.1. Predisposición genética y epigenética

Un gen es una secuencia lineal de ácido desoxirribunocleico (ADN) que regula la formación de una o más proteínas en la célula. El ADN permite la transmisión y el desarrollo del nuevo ser a través de los genes que se heredan de los progenitores. A su vez, esta herencia genética es modificada por el ambiente por medio del epigenoma. El término epigenética se introdujo para describir cómo las interacciones entre genética y ambiente daban lugar a los fenotipos durante el desarrollo. Hoy, la epigenética se define de forma más específica como aquellas modificaciones celulares que pueden ser heredables, no alteran la secuencia del ADN y pueden ser alteradas por estímulos ambientales. Los marcadores epigenéticos no están impresos en el ADN, sino que son añadidos químicos en la cadena de ADN. Estos marcadores actúan como interruptores que activan e inactivan los genes (32).

Por tanto, el genoma expresado y la parte del genoma que permanece silente, quedará modificado en última instancia por mecanismos epigenéticos. Dichos procesos modularán la estructura y la tasa de expresión del código genético sin alterar su secuencia (32, 33). El fenotipo será, por tanto, el resultado de la acción conjunta de genética, epigenética y factores ambientales, así como la interacción que se establezca entre los mismos. En relación con lo anterior, diversos estudios demuestran que organismos genéticamente idénticos (gemelos monocigóticos) pueden mostrar variaciones en sus fenotipos dependiendo de los factores y circunstancias ambientales a los que estén expuestos (34).

La ROP ha sido asociada con gestaciones múltiples y técnicas de reproducción asistida, ambas sugieren la existencia de un patrón de heredabilidad una causa genética. Los gemelos monocigóticos, sin embargo, no siempre desarrollan el mismo grado de severidad de ROP. Además, la ROP se ve afectada por factores externos como el estrés oxidativo, la nutrición y la exposición al oxígeno, pero esto no ocurre en todos los prematuros. Estos factores externos pueden afectar a la expresión genética mediante la acetilación y metilación del DNA, lo que ayuda a explicar los efectos no predecibles de los factores externos y genéticos sobre la ROP. De este modo, se apoya la hipótesis de que las

modificaciones epigenéticas por factores perinatales afectan a la expresión genética y pueden predisponer a un prematuro a sufrir ROP severa, o a un prematuro genéticamente predispuesto a no manifestar la enfermedad. (35).

Diversos factores podrían indicar la existencia de un componente hereditario de la ROP: a) las diferencias en la incidencia de la ROP entre diferentes grupos étnicos, b) desigual progresión de la ROP a pesar de la presencia de factores ambientales comunes, c) correlación entre la progresión de la vascularización retiniana y la EG. En los prematuros, el fenotipo de la ROP, además, es el resultado de la acción conjunta de factores genéticos y ambientales y su interacción (36-40).

Solo existe un trabajo realizado en gemelos sobre la ROP en el que se encontró una heredabilidad del 70,1%, lo que implicaba una significativa contribución de la varianza genética a la variabilidad total del fenotipo (41).

La evidencia de los efectos genéticos en la ROP también está respaldada por datos del fenotipo de retinopatía inducida por oxígeno (OIR) en modelos de roedores, en los que estudios de diferentes cepas de ratas han encontrado diferencias en el área avascular retiniana y en la expresión del VEGF entre cepas (42).

Se han realizado varios estudios sobre una serie de genes candidatos para evaluar las posibles variantes genéticas asociadas con la ROP. Sin embargo, las diferencias en las reservas genéticas, diagnóstico y tratamiento de los recién nacidos prematuros, hacen que sea difícil llegar a un consenso. Los distintos trabajos varían en la población estudiada, la EG, el peso al nacimiento, así como dependiendo de si la asociación con un determinado genotipo era con prematuros con ROP o con ROP que requerían tratamiento (29).

Se han descrito mutaciones en tres genes asociados a la ROP: proteína de la enfermedad de Norrin (NDP), receptores de familia compactados 4 (FZD4) y receptores de proteínas de baja densidad (LRP5). Estos genes están implicados en las vías de señalización WNT (grupo de vías de transducción de señales formadas por proteínas que transfieren señales del exterior de una célula a través de su superficie receptora hasta su interior). Estas vías son importantes en el desarrollo y la vitreorretinopatía exudativa familiar (FEVR). Las mutaciones de estos genes se han asociado con la restricción del crecimiento intrauterino y la ROP severa en prematuros de edades gestacionales más avanzadas. Esto sugiere que la presencia de mutaciones de la FEVR aumenta el riesgo de

parto prematuro y de ROP severa en los recién nacidos que no habrían podido desarrollar una ROP severa según el grado de prematuridad (43-45).

Existen otras vías de estudio, como es la hipoxia del prematuro. Esta determina una translocación o estabilización de genes de factores inducibles de hipoxia, que dan lugar a la transcripción de genes angiogénicos, como aquellos que codifican el VEGF (19).

Las variaciones genéticas en el VEGF, la proteína de dominio endotelial PAS 1 (EPAS1) (ambas asociados con la regulación de la hipoxia) y la enzima superóxido dismutasa (SOD) han sido asociadas con la ROP (46).

En un estudio de genes realizado sobre 1000 prematuros de peso extremadamente bajo al nacer, inscritos en la Red de Investigación Neonatal, se encontraron variantes en los genes que codifican el factor neurotrófico cerebral (BDNF) asociadas con la ROP severa. Esto apoya la existencia de un enlace entre las vías vascular y neural en la prematuridad extrema y la ROP (47).

Caben destacar además los estudios realizados sobre el gen que codifica el IGF-1. Se ha podido comprobar que niveles bajos de IGF-1 se asocian con el bajo peso para la EG y con la severidad de la ROP. Sin embargo, en las investigaciones realizadas sobre polimorfismos del gen IGF-1 no se ha encontrado una asociación significativa con la aparición de la ROP (48).

Otros genes candidatos sobre los que se han realizado diferentes estudios son: óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS), mediadores de la inflamación como interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8), factor de necrosis tumoral (TNF), sistema renina angiotensina, angiopoyetina (APO), EPO y la heme oxigenasa-1 (HMOX1). En todos ellos, los resultados han sido contradictorios, no pudiendo concluir la existencia de una asociación significativa con la ROP (42).

Encontrar variantes genéticas que afecten a la ROP es importante para poder crear modelos predictivos de desarrollo y progresión de la enfermedad. Esto permitirá definir un sistema de análisis de riesgo con factores de riesgo clínicos y genéticos que ayuden a los especialistas a identificar a prematuros con alto y bajo riesgo. Además, se podrá conocer mejor la fisiopatología de la enfermedad y ayudar así al desarrollo de nuevos tratamientos (42).

1.5.2 Factores de riesgo

1.5.2.1. Oxigenoterapia

Kinsey, en 1952, fue el que primero relacionó el oxígeno con la ROP y fue quién propuso la restricción del oxígeno como medida preventiva para tratar la ROP. El tratamiento con altas concentraciones de oxígeno se considera el principal factor de riesgo en el desarrollo de la ROP. Sin embargo, se han reportado casos de ROP en niños no tratados con oxígeno y no todos los niños que reciben tratamiento con oxígeno desarrollan ROP. Esto sugiere que existen otros factores, además del oxígeno, que juegan un papel importante en el desarrollo de esta patología (4, 6).

La meta de la oxigenación es prevenir el desarrollo de ROP sin incrementar la mortalidad ni otras complicaciones como la displasia broncopulmonar (DBP), la enterocolitis o las alteraciones en el neurodesarrollo. El estudio sobre terapia suplementaria de oxígeno para retinopatía del prematuro (STOP-ROP) y el estudio del objetivo en la saturación de oxígeno (BOOST) no evidenciaron diferencias significativas en cuanto al desarrollo de ROP en prematuros que recibieron oxigenación suplementaria a diferentes concentraciones (49).

En la actualidad, el estricto control en la saturación y suplementación de oxígeno ha permitido reducir la incidencia de ROP en los niños prematuros de un 15% a 30%. (16, 50). Sin embargo, todavía no se han establecido unos valores de oxigenación óptima en prematuros. Un estudio realizado recientemente, metanálisis prospectivo sobre el oxígeno neonatal (NeOProm), tampoco permitió definir una cifra de oxigenación ideal en prematuros. En sus conclusiones, priorizan la supervivencia y una menor incidencia de enterocolitis necrotizante, a pesar de que esto supone un mayor número de casos de ROP, que en la mayoría de ocasiones es tratable. Establecen como objetivo valores de oxigenación entre 90-94/95%, y establecen como límites de alarma 89% y 95%. En los prematuros menores de 28 semanas mantienen las mismas cifras, aunque realzan la importancia de evitar fluctuaciones en los 3 primeros días (49, 51).

1.5.2.2 Bajo peso al nacer

El bajo peso al nacer constituye uno de los principales factores de riesgo en el desarrollo de la ROP. La dificultad de conocer inequívocamente la EG, justificó el uso del peso al nacimiento como parámetro de referencia para clasificar al neonato como: recién

nacido de bajo peso (RNBP), si el peso es inferior a 2500 g; recién nacido de peso muy bajo (RNMBP), si es inferior a 1500 g y recién nacido de peso extremadamente bajo (RNEBP), si es menor de 1000 g. Según algunas series, los niños con peso extremadamente bajo al nacer presentan una incidencia de ROP del 55%, siendo del 29,3% en el caso de niños con peso bajo al nacer (52).

La baja ganancia de peso del día 7 al día 28 puede ser un predictor útil para el desarrollo de la ROP, pero depende de la EG y del peso al nacimiento (53).

El bajo peso al nacer presenta una alta correlación con la EG. Esto hace que en numerosos trabajos, cuando se comparan estos factores frente al riesgo de ROP, una de las variables desplaza a la otra como factor de riesgo (alta colinealidad) (54).

1.5.2.3 Prematuridad

Un recién nacido prematuro (RNP) es aquel que nace antes de completar la semana 37 de gestación, siendo la gestación una variable fisiológica, fijada entre 259 y 293 días (es decir, entre 37 y 41 semanas más 6 días). El término recién nacido pretérmino (RNPT) no implica valoración de madurez, como lo hace el de prematuro, aunque en la práctica ambos términos se usan indistintamente.

En función de la EG, podemos clasificar a los recién nacidos prematuros en: prematuro extremo (por debajo de 28 semanas de EG); muy prematuro (entre 28-32 semanas de EG); prematuro moderado (33-34 semanas de EG) y prematuro tardío (35-36 semanas de EG).

Al establecer la relación entre los parámetros de peso y EG, podemos subdividir a la población de pretérminos en: adecuados para la EG (el peso al nacimiento se encuentra entre los percentiles 10 y 90 de las curvas de crecimiento intrauterino); grandes para la EG, (el peso es superior al percentil 90) y pequeño para la EG (el peso se encuentra por debajo del percentil 10).

Dado que cada vez sobreviven más prematuros con menos de 1500 gramos, el número total de niños con problemas en relación a la prematuridad se ha incrementado (55).

La EG inferior a 31 semanas es uno de los criterios para descartar la ROP. Se considera un factor de riesgo para el desarrollo de esta enfermedad, siendo mayor el riesgo

de ROP a menor edad al nacimiento (56). En la práctica clínica se exploran a todos los prematuros <32 o <1500gramos o curso clínico inestable.

Tabla 1. ROP en recién nacidos con peso < 1500 g. SEN 1500, año 2009

Clasificación por categoría de peso en gramos (g)						
Patología	Total N: 2736	< 501g N: 31	501-750g N: 305	751-1000g N: 609	1001-1250 N: 731g	1251-1500 N: 1060g
ROP ^d grado 0	80,8	50,0	43,0	66,2	86,0	92,5
ROP grado 1	8,6	---	14,6	12,5	8,4	5,6
ROP grado 2	6,7	12,5	26,5	14,1	3,3	1,2
ROP grado 3	3,5	37,5	11,9	7,0	2,1	0,6
ROP grado 4	0,3	---	2,6	---	0,2	0,1
ROP grado 5	0,1	---	1,3	0,2	---	---
Supervivencia sin morbilidad	54,1	16,7	16,6	36,0	55,9	70,9

1.5.2.4 Otros factores

En la actualidad, se están estudiando múltiples factores que podrían actuar en la génesis de la ROP, como los siguientes, entre otros: DBP, ductus arterioso persistente (DAP), hemorragia cerebral, ganancia de peso, sepsis, días de intubación y apnea, muerte intrauterina fetal en un embarazo gemelar (57, 58).

1.6. Clasificación Internacional de la ROP

La Clasificación Internacional de la ROP fue publicada en dos partes, la primera en 1984 y la segunda en 1987, aplicada al desprendimiento de retina. Fue realizada por consenso en una reunión de expertos sobre dicha enfermedad. Esta clasificación ha facilitado la realización de múltiples ensayos clínicos multicéntricos y ha aumentado nuestro conocimiento sobre esta patología (9, 10).

Años más tarde, esta clasificación fue revisada y se realizaron pequeños cambios: se introdujo el concepto de ROP agresiva posterior, de enfermedad plus y pre-plus y una herramienta clínica práctica para estimar la extensión en la zona I (59).

En la clasificación de la ROP se valoran 3 factores: la localización, la extensión y el estadiaje, que vamos a describir de forma más detallada, así como los conceptos de enfermedad plus, enfermedad pre-plus y ROP agresiva posterior (59).

1.6.1. Localización

Se describen 3 zonas concéntricas retinianas centradas en la papila:

Zona I. Círculo en el que su radio es dos veces la distancia entre la papila y la fóvea. Se trata de la zona más interna. Ocupa una diagonal de 6 diámetros de disco (DD).

Zona II. Concéntrica a la anterior, abarca hasta la ora serrata nasal. Ocupa una diagonal de 12 DD.

Zona III. Es el creciente de retina temporal periférico a la zona II. Se extiende hasta 3DD temporal a la zona II (60).

Tomando como referencia la distancia desde el centro del nervio óptico hasta el área foveal, la distancia desde el centro del disco óptico hasta la ora serrata temporal, es alrededor de 5 veces la distancia del nervio óptico al área foveal para la retina temporal y 4 veces la distancia del nervio óptico al área foveal para el área nasal (61).

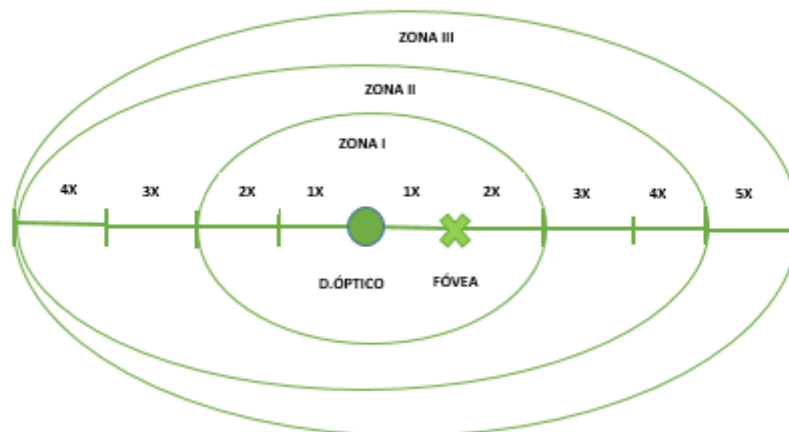


Figura 1. Correlación de la retina en zonas y diámetros de disco. La distancia desde el centro del nervio óptico a la fóvea (1X) equivale aproximadamente a 3DD.

Esto nos permite correlacionar el área avascular en zonas y en diámetros de disco. Tomando como referencia que la distancia del centro del disco óptico a la fóvea es de 3DD, podemos afirmar que cuando faltan por vascularizar de 0 a 3 DD del área temporal de la retina, estamos en la zona III. Si faltan por vascularizar más de 3DD hasta 9DD, estamos en la zona II. Finalmente, si faltan por vascularizar más de 9 DD, estamos en la zona I.

En trabajos futuros es deseable que se realice el estudio del área vascular de la

retina mediante métodos objetivos de imagen : RetCam o '3nethra Neo' (Neo) (62).

1.6.2. Extensión

La extensión se describe en sectores horarios de retina afecta o en grados de circunferencia. Cada sector horario corresponde a 30° (59).

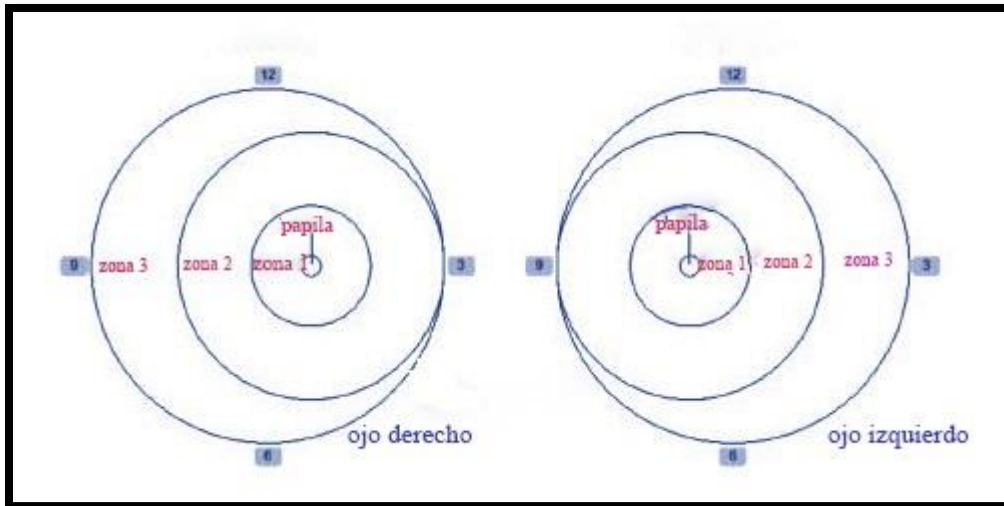


Figura 2. Representación de la retina en sectores horarios y zonas.

1.6.3. Estadiaje

Se definen 5 estadios. En un mismo ojo pueden presentarse varios estadios de ROP, por lo que siempre el estadio estará determinado por el de mayor gravedad que presente el ojo.

Estadio 1. Línea de demarcación. Se trata de una delgada línea blanca y plana, situada en el plano retiniano, que separa la retina avascular de la vascularizada. Esta línea está formada por una hiperplasia de células fusiforme ("spindle cells", angioblastos primitivos).

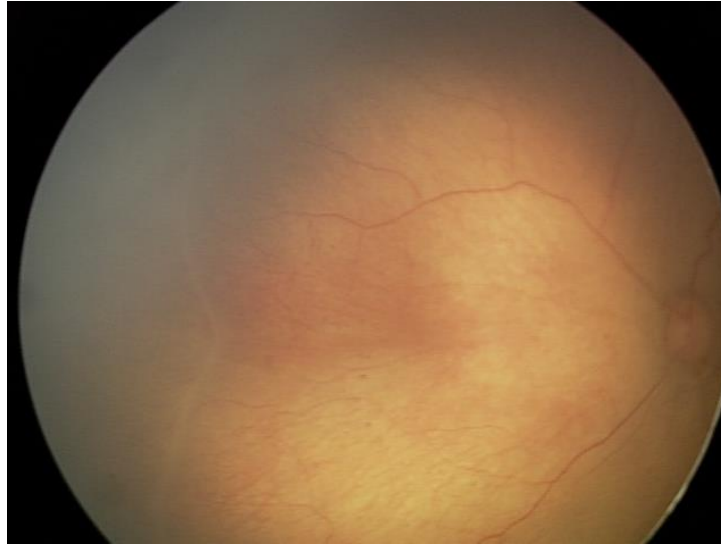


Figura 3. Estadio 1 de ROP. Se observa una línea de demarcación entre la retina vascularizada y no vascularizada.

Estadio 2. Cresta monticular. Esta se produce debido a un engrosamiento de la línea de demarcación, como consecuencia de una mayor hiperplasia de las células fusiformes. Se caracteriza por presentar una línea blanca posterior y otra brillante anterior donde antes aparecía la línea de demarcación, adquiriendo mayor altura y anchura y extendiéndose sobre el plano de la retina. En ocasiones, pueden observarse "shunts arteriovenosos" en esta zona.

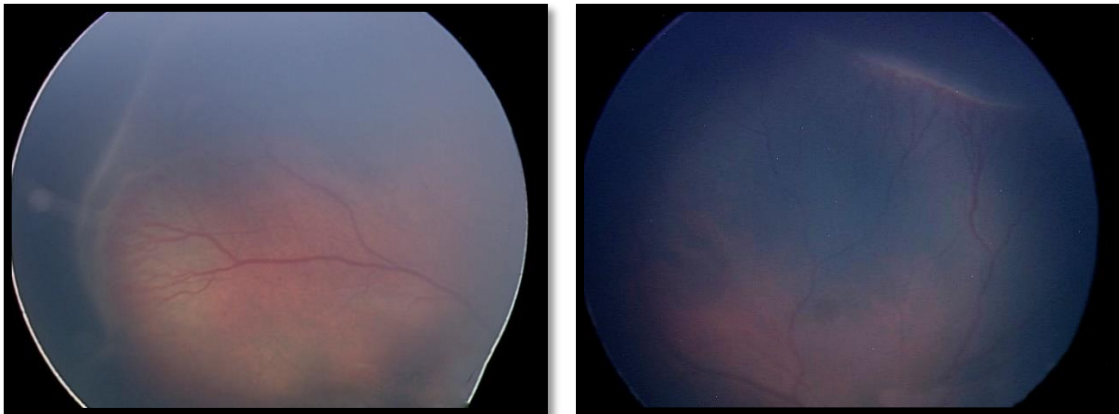


Figura 4. Estadio 2 de ROP. Muestra la cresta en la unión entre la retina vascularizada y no vascularizada.

Estadio 3. Proliferación extravascular extrarretiniana o neovascularización. Esta se extiende desde el borde posterior de la cresta hacia el vítreo. Dependiendo de la extensión del tejido extravascular extrarretiniano que infiltra el vítreo, puede clasificarse en leve, moderada o grave.

Estadio 4. Desprendimiento de retina subtotal. Este estadio se va a subdividir en: 4A si no existe afectación foveal y 4B si existe afectación foveal. El desprendimiento puede afectar a un pequeño sector de la retina, en cuyo caso hablamos de desprendimiento sectorial, o extenderse en los 360°, en cuyo caso hablamos de desprendimiento circunferencial. Generalmente, los desprendimientos de retina comienzan en el punto de anclaje del tejido fibrovascular a la retina y el mecanismo es traccional, aunque en algunos casos puede ser exudativo o presentar un componente mixto.

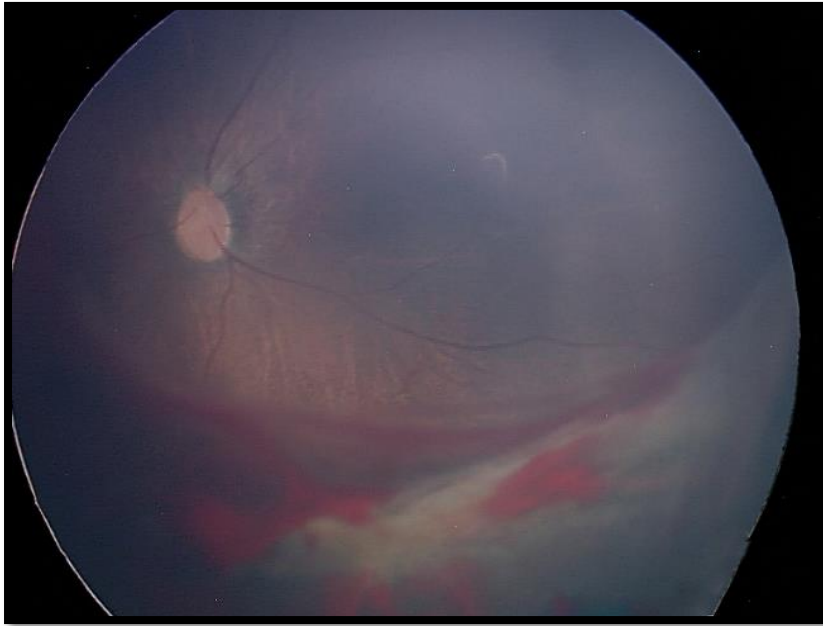


Figura 5. Estadio 4 ROP. Desprendimiento de retina traccional en retina temporal inferior con hemorragias en su superficie.

Estadio 5. Desprendimiento de retina total. Generalmente el desprendimiento de retina es completo, adoptando una forma en embudo. Podemos clasificarlos según su apertura en la zona anterior y posterior. Los embudos pueden ser cerrados por su zona anterior, posterior o bien a lo largo de toda su longitud. Lo más frecuente es encontrar el desprendimiento de retina en embudo abierto, tanto en su zona anterior como posterior (59).

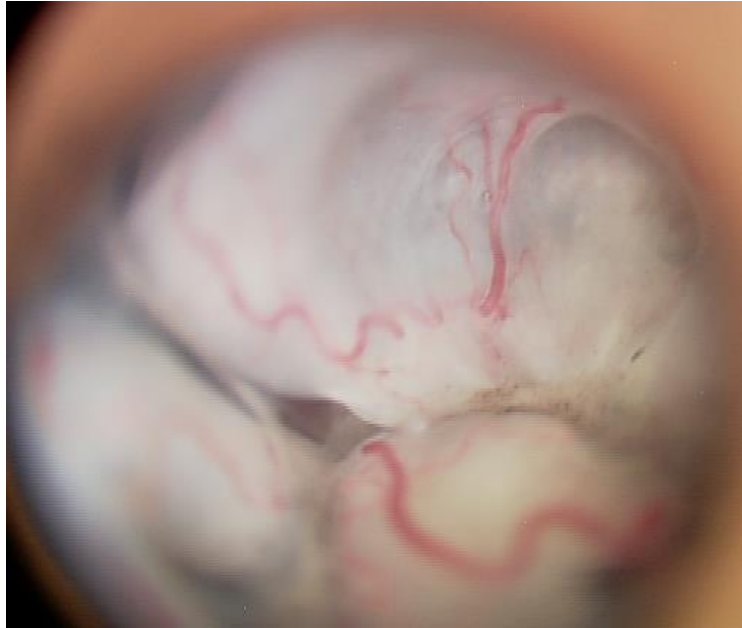


Figura 6. Estadio 5 de la ROP. Desprendimiento de retina total.

1.6.4. Enfermedad plus

El concepto de enfermedad plus fue definido por primera vez por Shaffer (63) y consiste en la dilatación y tortuosidad de los vasos del polo posterior en al menos dos cuadrantes retinianos. Se trata de un grado aparte que puede aparecer en cualquiera de los anteriores estadios descritos y confiere gravedad al cuadro, pues indica que la enfermedad está activa. Esta se produce como consecuencia de las conexiones arterio-venosas periféricas activas. El signo + es añadido al estadio de ROP para designar la presencia de enfermedad plus. Se trata de un signo de mal pronóstico.

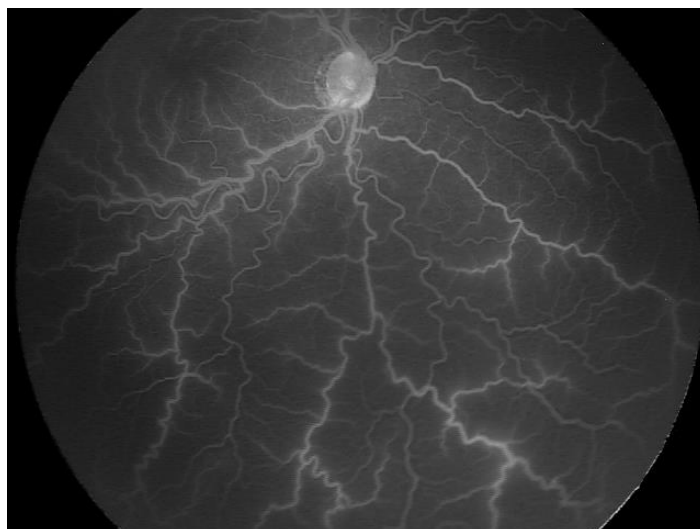


Figura 7. Enfermedad plus. Se observa dilatación y tortuosidad vascular en los 4 cuadrantes mediante Angiografía Fluoresceínica con RetCam.

1.6.5. Enfermedad pre-plus

Se caracteriza por la aparición de tortuosidad arterial y dilataciones venosas mayor de lo normal, pero que no cumple los criterios para clasificarlas como enfermedad plus. Estas alteraciones vasculares pueden progresar y convertirse en enfermedad plus. La presencia de enfermedad pre-plus se anota junto al estadio de la enfermedad (59).

1.6.6. ROP agresiva posterior

Se trata de una forma de ROP severa muy poco frecuente, que progresa muy rápidamente y que va a conducir a un estadio 5 de la enfermedad si no es tratada. Su característica fundamental es su localización posterior y la presencia de enfermedad plus prominente. Anteriormente fue definida como "ROP tipo 2" o "enfermedad de Rush", aunque no había sido incluida en la anterior clasificación internacional de la ROP.

Lo más frecuente es encontrarla en la zona I, aunque también es posible observarla en la zona II. De forma precoz, la ROP agresiva posterior muestra una dilatación arteriovenosa en los 4 cuadrantes de forma desproporcionada en comparación con el grado de retinopatía periférica. Estas dilataciones vasculares hacen que sea difícil distinguir entre arteriolas y venas. Aparecen conexiones vasculares en zonas centrales de la retina y no solo en la uniones de la retina avascular con la retina vascularizada.

Otra característica a destacar es que no progresa de la forma habitual de los estadios 1 a 3, sino que puede presentarse como una única red plana de neovascularización en la unión de la retina vascular con la avascular. Como norma general, se extiende circunferencialmente y se acompaña de vasos circulares. La observación con oftalmoscopia indirecta y lente de 20D es útil para distinguir de la neovascularización retiniana. Muestra una forma de presentación y pronóstico distinta a las formas clásicas. (64)

1.6.7. Regresión de la ROP

En la mayoría de los casos, la ROP regresa de forma espontánea por un proceso de involución. También puede ir desde una fase de vasoproliferación vascular a una fase de fibrosis. Una característica que indica una estabilización de la fase aguda de la enfermedad es cuando la retinopatía fracasa en su progresión hacia el siguiente estadio de ROP. La regresión se observa en la zona de unión de la retina vascular y avascular. En aquellos que presentaron algún estadio de ROP, la involución comienza a las 38-40 semanas. Empieza

al mismo tiempo en las diferentes zonas pero finaliza antes en la zona III que en la zona II. Se inicia de manera más temprana en estadios más leves de la enfermedad (estadio 1) que en estadios más avanzados (estadio 3) (65). En las exploraciones seriadas, la localización de la retinopatía puede cambiar de la zona I a la zona II o de la zona II a la zona III.

Como secuelas de este proceso de regresión, pueden producirse una gran variedad de cambios vasculares retinianos. La gravedad de estas está relacionada con la fase aguda de la retinopatía. Durante este proceso pueden aparecer alteraciones vasculares como telangiectasias, ramificaciones vasculares anormales e incluso grandes áreas de retina sin vascularizar. También son frecuentes los cambios pigmentarios, apareciendo zonas de hipo e hiperpigmentación, así como cambios en la interfase vítreoretiniana. En el polo posterior, como consecuencia de los fenómenos traccionales, pueden producirse distorsiones de la arquitectura foveal o de los vasos mayores, dando lugar a heterotropía o ectopía macular.

La ROP en estadios avanzados puede regresar pero la retina periférica queda adelgazada, existiendo áreas de tracción que años más tarde pueden facilitar la aparición de un desprendimiento de retina traccional o regmatógeno. (66)

1.6.8. Clasificación según la necesidad de tratamiento

En el estudio ET-ROP, los investigadores confirmaron la eficacia del tratamiento en ROP preumbral de alto riesgo (categorizado como ROP tipo 1). Además, volvieron a definir las indicaciones para el tratamiento y establecieron la clasificación de la ROP tipo 1 y 2:

ROP tipo 1: Cualquier estadio de ROP en la zona I con enfermedad plus, estadio 3 de ROP en la zona I sin enfermedad plus o estadio 2 y 3 de ROP en la zona II con enfermedad plus.

ROP tipo 2: estadio 1 o 2 de ROP en la zona I sin enfermedad plus o estadio 3 de ROP en la zona II sin enfermedad plus.

ROP avanzada: estadio 4A, 4B, 5A o 5B de ROP. Comprende el desprendimiento de retina en sus diversos estadios (67).

1.7. Diagnóstico

1.7.1 Programas de cribado

Los programas de cribado para la detección precoz de la ROP empezaron a cobrar importancia tras la publicación en 1988 del "Estudio multicéntrico de crioterapia para la ROP". En él se definió como resultado estructural desfavorable la presencia de al menos uno de los siguientes hallazgos:

- Pliegue retiniano afectando la mácula.
- Desprendimiento de retina que llega a la zona I en el polo posterior.
- Tejido retrolental o masa.

En este estudio se puso de manifiesto la efectividad del tratamiento con crioterapia, reduciendo casi a la mitad la incidencia de un resultado estructural desfavorable (25,7 % en tratados con crioterapia frente a 47,4% en los ojos controles) (68, 69).

Posteriormente en 2003, se publicó el "Ensayo clínico aleatorizado para el tratamiento precoz de la ROP", en el que volvió a incidirse en la necesidad de realizar exámenes de retina en niños con riesgo de presentar esta enfermedad para poder detectar la afección en fases precoces y recibir el tratamiento oportuno. El objetivo de estos programas es el de identificar a los prematuros que necesiten tratamiento para la ROP, o un mayor seguimiento tanto a corto como largo plazo (70).

Se recomienda que los neonatólogos informen a los padres de aquellos niños que van a ser incluidos en los programas de cribado sobre la patología que pueden presentar y sobre las exploraciones que se van a realizar. Además, en cada centro hospitalario deben establecer protocolos de actuación sobre cómo llevar a cabo esta detección precoz. Este programa se revisará periódicamente (71, 72).

En los distintos países se han elaborado guías clínicas para el cribado de la ROP. Se basan en la efectividad del tratamiento y en los resultados coste-efectivos logrados. La Academia Americana de Pediatría, conjuntamente con la Academia Americana de Oftalmología y la Asociación Americana de Oftalmología Pediátrica y Estrabismo, elaboraron un protocolo para la exploración de la ROP (73). Este fue publicado en 1997, siendo revisado posteriormente en 2001, 2006, 2013 y 2018 (74-77).

El protocolo propone que:

1. La primera exploración debe basarse en la edad postmenstrual del niño (el inicio de la ROP se correlaciona mejor con la edad postmenstrual que con la EG). Se ha comprobado en diversos estudios que cuanto más prematuro es el niño al nacer, más tiempo tardará en desarrollarse la ROP. De acuerdo con esto, se ha elaborado un cronograma de inicio de exploración de los prematuros:

Tabla 2. Semana de la primera exploración basada en la EG al nacimiento. Academia Americana de Pediatría, 2018.

EG	EDAD 1º EXPLORACION EN SEMANAS	
	POSTMENSTRUAL	CRONOLÓGICA
22	31	9
22	31	8
23	31	7
24	31	6
25	31	5
26	31	4
27	31	4
28	32	4
29	33	4
30	34	4
Mayor EG o Factores de riesgo	-	4

2. Deben ser explorados todos los niños con un peso ≤ 1500 gramos o con EG ≤ 30 semanas. Además, también deben explorarse los niños con peso entre 1500-2000 gramos o > 30 semanas de EG que presenten un curso clínico inestable (incluyendo aquellos que necesiten soporte cardiorrespiratorio) o los que por criterio pediátrico, sean considerados de alto riesgo de desarrollar ROP.

3. Las siguientes evaluaciones se realizarán según los hallazgos oftalmoscópicos encontrados, atendiendo a la localización (mayor riesgo cuanto más central) y su severidad (mayor riesgo cuanto mayor sea el grado de retinopatía). De este modo, se recomienda una revisión semanal ante la presencia de vascularización inmadura en la zona I, la ausencia de vascularización en la retina llegando los vasos únicamente hasta la zona II central o la zona I, estadio de ROP 1 y 2 en la zona I, estadio 3 de ROP en la zona II y ante la sospecha o presencia de ROP agresiva posterior. Las revisiones se realizarán cada 1-2 semanas ante la presencia de vascularización inmadura posterior a la zona II, estadio 2 de ROP en la zona II o regresión de la ROP en la zona I. En cambio, estas se llevarán a cabo cada 2 semanas ante la presencia de vascularización inmadura en la zona II, estadio 1 de ROP en la zona II o áreas de regresión de la ROP en la zona II. Por último, las exploraciones deberán realizarse cada 2-3 semanas ante los hallazgos de estadios 1 y 2 o signos de regresión de la ROP en la zona III.

Tabla 3. Resumen del protocolo de seguimiento semanal de la Academia Americana de Pediatría.

Valoración 1 semana o menos	Valoración 1-2 semanas	Valoración cada 2 semanas	Valoración cada 2-3 semanas
Vascularización inmadura en la zona I	Vascularización inmadura se extiende posterior a la zona II	Vascularización inmadura en la zona II	Estadios 1 y 2 en la zona III
Retina inmadura se extiende hasta la zona II central o la zona I	estadio 2 de ROP en la zona II	Estadio 1 de ROP en la zona II	Regresión de la ROP en la zona III.
Estadio de ROP 1 y 2 en la zona I y estadio 3 de ROP en la zona II	Regresión de la ROP en la zona I	Regresión de la ROP en la zona II.	
Sospecha o presencia de ROP agresiva posterior.			

4. El grado de retinopatía debe determinarse mediante examen fundoscópico indirecto con indentación y tras midriasis farmacológica. Debe establecerse una pauta de dilatación pupilar con midriáticos utilizando la dosis mínima eficaz para evitar efectos secundarios de los midriáticos.

Tabla 4. Metodología de exploración en la ROP. Sociedad Española de Oftalmología. (70)

Metodología para la correcta exploración oftalmoscópica del prematuro	
•	Midriasis: Asociar bloqueadores parasimpáticos (tropicamida al 1% o ciclopentolato] al 0,5 o 1%) con simpaticomiméticos (fenilefrina) al 2,5 o 1%). Repetir a los 10 minutos comenzando una hora antes de la exploración.
•	Indentación: Cuando se utilicen blefaróstatos, deben ser pediátricos y estériles para cada niño. Para indentar pueden utilizarse torundas de algodón, pinzas finas dentadas y indentadores del adulto
•	Anestésico: Se debe utilizar colirio anestésico (oxibuprocaina) antes del inicio de la exploración y de la colocación del blefarostato en caso de su uso.
•	Oftalmoscopia binocular indirecta: debe utilizarse la menor intensidad de luz posible que permita la exploración
•	Iluminación : disminuir la iluminación ambiental al máximo
•	Uso de antibiótico tópico tras la exploración, ya que pueden producirse laceraciones conjuntivales.
•	Anotación de los resultados: se recomienda el uso de impresos especiales preparados que pueden ayudar a cuantificar la gravedad del cuadro.

5. Las exploraciones deben llevarse a cabo por un oftalmólogo experto en la técnica, siguiendo la Clasificación Internacional para la ROP.

La última actualización de 2018 incluye como novedad las pautas de seguimiento en niños con ROP tratados con Anti-VEGF. Los prematuros tratados con bevacizumab deben ser vigilados de cerca hasta que se complete la vascularización de la retina o, si no se completa, hasta que el examinador pueda estar seguro de que no se producirá una reactivación de la ROP proliferativa, porque el tratamiento con Anti-VEGF altera la historia natural de la enfermedad. El estudio de bevacizumab para el tratamiento de la ROP (BEAT-ROP) reveló que el periodo de tiempo para la reactivación más alta de la enfermedad fue entre las 45 y 55 semanas de edad postmenstrual, con 1 caso de ROP agresiva posterior (AP-ROP) reactivado a las 64 semanas.

Debido a la propensión de la reactivación tardía de la enfermedad, no se puede confiar en los hallazgos de la regresión inicial de la ROP o en alcanzar la edad postmenstrual de 45 semanas. El examinador tendrá que basarse en la observación prolongada y en su juicio clínico para valorar la necesidad de tratamiento adicional (77).

En España, en el año 2013, un grupo de oftalmólogos expertos en la ROP procedentes de diferentes centros hospitalarios llevaron a cabo una revisión sobre el programa de cribado. El objetivo de este fue el de consensuar un programa común con el objetivo de mejorar la actuación frente a esta enfermedad y evitar así errores. No obstante, cada centro debería adaptar éste según sus propios recursos. (70)

1.7.2. Cribado basado en técnicas de imagen

Las nuevas tecnologías permiten obtener imágenes de campo amplio de la retina de niños prematuros. Varios estudios apoyan el papel del cribado de la ROP mediante imagen de contacto. El estudio PhotoRop puso de manifiesto una concordancia en el diagnóstico realizado mediante oftalmoscopia indirecta y el realizado a través de imágenes. Además, no mostró diferencias mayores en el momento de diagnóstico de la ROP clínicamente significativa (78).

En posteriores estudios del cribado mediante imágenes, se acuñó el término "Referall Warranted ROP" (ROP de remisión justificada), para hacer referencia a aquellos prematuros con ROP estadio 3, ROP en la zona I o aquellos con enfermedad plus, en los que era necesario su evaluación por un oftalmólogo experimentado para valorar el inicio de tratamiento (79).

El estudio en el que se evaluaba la fase aguda de la ROP (e-ROP) proporcionó un fuerte apoyo para la validez de la evaluación remota de "Referall Warranted ROP" y demostró que el uso de imágenes obtenidas por técnicos y su transmisión posterior a un centro de lectura era razonablemente fiable para detectar ROP graves. Además, determinó predictores para el desarrollo de "Referall Warranted ROP" mediante el control de EG, bajo peso al nacimiento, hemorragia retinianas, estadio 2 o necesidad de ventilación mecánica ya en la primera exploración (80).

1.8. Tratamiento.

La mayoría de los casos de ROP se resuelven espontáneamente y no necesitan ningún tratamiento, solo un adecuado control y seguimiento hasta completar la

vascularización retiniana ($\geq 90\%$ de los niños que entran en el programa de cribado). Sin embargo, los casos severos necesitan tratamiento para evitar la ceguera. El reconocimiento a tiempo de la enfermedad juega un papel importante, ya que la ventana de actuación durante la cual el tratamiento va a ser efectivo es reducida.

Las diferentes modalidades de tratamiento aplicadas a lo largo de los años en la ROP han ido cambiando gracias a la aparición de nuevas tecnologías y a un mayor conocimiento de la enfermedad.

El objetivo del tratamiento de la ROP no solo es evitar que la enfermedad progrese a estadios avanzados y que se produzca el desprendimiento de la retina, sino también favorecer, a ser posible, una vascularización adecuada. Para ello, se realiza una destrucción de la retina periférica inmadura, evitando así la producción de factores de crecimiento vasoproliferativos. Esta se puede realizar mediante láser o crioterapia, o bien mediante la inyección intravítrea de anti-VEGF, lo que va a permitir el desarrollo vascular hacia la retina periférica (81, 82).

1.8.1. Indicación de tratamiento.

En 1988, gracias a los resultados obtenidos en el estudio multicéntrico con crioterapia de la ROP, se estableció como criterio para el tratamiento, mediante la ablación de la retina periférica, la presencia de **retinopatía umbral**. Esta se definió como la existencia de 5 sectores retinianos de 30° contiguos u 8 acumulativos con un grado 3 plus en la zona I o la zona II. La presencia de retinopatía umbral suponía un riesgo de desprendimiento de retina de aproximadamente el 50% (11).

Estas indicaciones de tratamiento de ROP fueron cuestionadas principalmente en relación a aquellos pacientes que desarrollaban ROP en la zona I. Por tanto, se comenzó a pensar que el tratamiento de los pacientes con ROP debía ser realizado con anterioridad (83, 84). No obstante, la dificultad se encontraba en discernir entre los prematuros con ROP que debían tratarse, puesto que presentaban alto riesgo de desarrollar ROP severa, y aquellos con bajo riesgo, que evolucionarían bien sin requerir tratamiento alguno. Por esto, en 1999 se inició el ET-ROP, estudio para el tratamiento precoz de la ROP. En este estudio, se sometieron a terapia de ablación periférica a todos aquellos con **retinopatía preumbral**, que presentaban características de alto riesgo de acuerdo a un programa de análisis de riesgo (RM-ROP2). Para el cálculo, este programa se basaba en la historia natural de la enfermedad a partir de los datos aportados por el estudio multicéntrico con

crioterapia para la ROP. De este modo, se clasificaron como preumbrales de alto riesgo (ROP tipo 1), si el riesgo de progresión para un resultado desfavorable era superior al 15%. En estos estaba indicado el tratamiento precoz en las siguientes 48 horas. En cambio, los que presentaba un riesgo de progresión menor del 15% fueron clasificados como preumbrales de bajo riesgo. (ROP tipo 2). Estos eran controlados cada una o dos semanas hasta que desarrollaban una ROP de alto riesgo o regresaban de forma espontánea (85).

Los resultados de este estudio fueron publicados en 2003. En relación con la agudeza visual, se observó un beneficio del tratamiento en los ojos con retinopatía preumbral de alto riesgo (ROP tipo 1), reduciéndose los resultados funcionales desfavorables de un 19,5% a un 14,5%. Además, los resultados estructurales desfavorables se redujeron de un 15,6% a un 9,1% a los 9 meses. Por último, los ojos con retinopatía preumbral de bajo riesgo (ROP tipo 2) presentaron resultados anatómicos desfavorables únicamente en el 1,3% de los casos. En dicho estudio, la ablación de la retina se realizó con laser diodo a diferencia del estudio CRYO-ROP que se realizó con crioterapia (85).

En el estudio ET-ROP, se sugiere realizar tratamiento mediante ablación de la retina periférica, en aquellos pacientes clasificados como **ROP tipo 1**: ojos con ROP en la zona I en cualquier etapa asociada a enfermedad plus, ojos con ROP en la zona I etapa 3 sin plus, ojos con ROP en la zona II y etapa 2 o 3 con plus. Los que fueron clasificados como **ROP tipo 2** (zona I, etapa 1 o 2 sin plus y ROP en la zona II, estado 3 sin plus) debían revisarse periódicamente hasta que regresaran espontáneamente o progresaran a ROP tipo 1, en cuyo caso el tratamiento sí estaría indicado (85).

Al evaluar el beneficio del tratamiento en los niños que presentaban retinopatía preumbral de alto riesgo, es importante tomar en consideración los efectos adversos relacionados con el tratamiento temprano de la ROP. Se observó una mayor frecuencia de complicaciones sistémicas (bradicardia, apnea y reintubación) en los preumbrales de alto riesgo que en los casos de retinopatía umbral. Sin embargo, las complicaciones oftálmicas secundarias al tratamiento ablativo fueron similares en ambos casos. Esto demuestra que el beneficio absoluto fue escaso, mostrando un número de casos que son necesarios tratar para obtener beneficio (NNT) elevado. Por todo ello, se considera como una referencia importante en cuanto los datos obtenidos en el tratamiento precoz en la zona I, existiendo mayor controversia en lo que se refiere a el tratamiento precoz de la zona II (85, 86).

En España, en un intento de sistematizar el tratamiento de la ROP, se creó un grupo de trabajo en el que se unificaron criterios y se aportó una mayor evidencia científica (87).

Tabla 5. Indicaciones del tratamiento de la ROP según el estudio ET-ROP.

Recomendaciones de tratamiento con láser.
Tipo 1 ROP (estudio ET-ROP).
Zona I, Estadio 1,2,3 ROP+
Zona I, Estadio 3 ROP no +
Zona II, Estadio 2 o 3 +
ROP Agresiva posterior en cualquier zona.

1.8.2. Crioterapia

La crioterapia fue usada por primera vez en 1971 con buenos resultados en la prevención de las complicaciones de la ROP severa, con el fin de destruir la retina avascular (88),(89). Sin embargo, no fue hasta finales de 1980 cuando se estableció como tratamiento de elección en el tratamiento de la ROP umbral gracias a los resultados obtenidos en el estudio de crioterapia para la ROP. El estudio de crioterapia para la ROP demostró que el tratamiento con crioterapia lograba un 75% de resultados anatómicos favorables en la zona II, un 25% en la zona I (22) y un 44.4% de resultados funcionales favorables (90).

La crioterapia en la actualidad no es el tratamiento de elección. Su uso ha quedado relegado a aquellos casos con mala midriasis que imposibilitan la aplicación del láser, como tratamiento coadyuvante al tratamiento con láser en caso de persistencia de neovascularización. También se usa en aquellos casos de ROP agresiva en los que sea necesario un tratamiento urgente y no se disponga de láser (87).

1.8.2.1. Procedimiento

La crioterapia, al tratarse de un procedimiento bastante doloroso, se recomienda realizarla bajo anestesia general o sedación en aquellos niños que reciben ventilación

mecánica. Este se realiza en condiciones de esterilidad y bajo midriasis farmacológica. Se utiliza un blefarostato para mantener una adecuada apertura ocular y la posición de la indentación sobre la retina mediante la sonda de crioterapia se comprueba mediante su observación a través de un oftalmoscopio indirecto antes de comenzar el tratamiento (81).

La crioterapia se aplica con una sonda por vía transescleral. Se colocan 3 cadenas de puntos de frío a -80° C sobre la totalidad de la retina avascular anterior al puente fibrovascular. El frío es aplicado hasta observar un blanqueamiento de la retina, el cual suele producirse generalmente tras 3-6 segundos. En promedio, suelen ser necesarias al menos 20-50 aplicaciones de frío por ojo. Deben evitarse las aplicaciones de crioterapia prolongadas puesto que pueden provocar necrosis de la retina e incluso un desprendimiento de retina regmatógeno secundario (91, 92).

En los casos de ROP posterior, debe realizarse una peritomía con el objetivo de que la sonda alcance con mayor facilidad las zonas posteriores y se disminuya el riesgo de desgarros de la conjuntiva o que queden zonas sin tratar de retina avascular (92).

En la mayoría de los casos no producen complicaciones graves. Pueden producirse desgarros y quemosis conjuntivales, hemorragias subconjuntivales e intraoculares, siendo estas normalmente retinianas o prerretinianas y aconteciendo hasta en un 20% de los casos. También se han descrito hemorragias del puente vascular después del tratamiento y desprendimiento de retina tardío, además de un aumento en la frecuencia de miopía y astigmatismo (93).

1.8.3. Fotocoagulación

El tratamiento de la ROP mediante la fotocoagulación con láser Xenón fue descrito por primera vez por Nagata y col. en 1967. El objetivo del tratamiento era el de ocluir la neovascularización periférica. Debido en gran medida a las dificultades técnicas y a los resultados contradictorios publicados, el tratamiento con láser Xenón fue remplazado por la criocoagulación (94).

A principios de la década de los 90, volvió a renacer el interés por la fotocoagulación en la ROP. Se desarrollaron unidades de láser portátiles que, unidos a un oftalmoscopio binocular indirecto, permitían realizar una ablación de la retina periférica avascular. En primer lugar, se utilizó el láser argón, pero la gran versatilidad y el fácil

manejo del láser diodo hicieron que este se impusiera como el preferido por la mayoría de los oftalmólogos dedicados al tratamiento de esta patología.

Los buenos resultados obtenidos mediante la fotocoagulación con láser diodo hicieron que se empezara a comparar su eficacia con la crioterapia. Se observó que los resultados eran similares, pero con menores complicaciones (95, 96).

Hoy día la fotocoagulación con láser diodo es el tratamiento de elección. Comparándolo con la crioterapia los resultados con ésta son superponibles, pero es más fácil de aplicar el tratamiento, es una técnica mucho menos traumática e induce menos miopía (97-99).

1.8.3.1. Procedimiento

Se requiere de un sistema compuesto por un láser diodo 810nm unido a un oftalmoscopio binocular indirecto a través de una fibra óptica. Se induce midriasis en farmacológica y el láser se aplica a través de la pupila. En cuanto a la pauta de anestesia para el tratamiento mediante fotocoagulación láser no existe consenso. Puede realizarse bajo anestesia general, sedación o anestesia tópica. Algunos estudios sugieren que la mejor sedación/analgesia para realizar este procedimiento es mediante inhalación de oxígeno y xenofluorano. No obstante, reiteran adecuarla según las características del paciente a tratar (81, 100).

El láser es aplicado sobre la retina avascular de forma semiconfluente, dejando un espacio de $\frac{1}{2}$ o $\frac{1}{4}$ spot sin tratar entre uno y otro. Para el tratamiento se utiliza una lente de 20 y/o 28 dioptrías y se realiza indentación escleral para visualizar las zonas más periféricas. La potencia a aplicar será entre 100mW y 300mW. Se comenzará siempre con la mínima potencia con la que se obtenga efecto sobre la retina. Por norma general, suele ser necesaria una mayor potencia en las zonas cercanas a la cresta. Debe tenerse cuidado al utilizar grandes potencias, ya que pueden generarse rupturas de la membrana de Bruch y hemorragias. El número de spots necesarios en cada sesión es variable. Para aquellos casos con ROP en la zona I, se aplican aproximadamente 2000-2500 spots de láser por ojo y en aquellos casos en la zona II, entre 1500 y 1800 aproximadamente (101, 102). Autores como Jalali S. et al, utilizan potencias iniciales de 250 mW con duración de impacto entre 150-300ms. En una sesión, se aplican entre 3000 y 4000 impactos en cada ojo en casos de ROP en la zona I o ROP agresiva posterior. En los casos de ROP preumbral o ROP umbral en la zona II sin ROP agresiva posterior, se aplican entre 1000-2000 impactos (103).

Entre los días 3-7, debemos volver a explorar al prematuro con el objetivo de encontrar signos de regresión. Si esto no ocurre, debemos buscar área de retina avascular que no haya sido tratada y aplicar una nueva sesión de tratamiento láser. Los retratamientos suelen ser necesarios en prematuros con enfermedad plus persistente, estadio 3 con signos de actividad y desprendimiento traccional localizado (103, 104).

Tabla 6. Resumen esquema de tratamiento mediante fotocoagulación en la ROP.

- 1ª exploración entre días 20 y 30 de vida
- Fotocoagulación láser a las 24 horas del diagnóstico
- Aplicar tratamiento sobre retina avascular periférica e islotes de retina avascular
- Cada ojo recibe de 2000 a 4000 impactos. Confluentes, color gris-blanco o crema.
- Seguidos cada 3-7 días y tratados con láser adicional hasta regresión completa (no espera 2 semanas)

Algunos prematuros desarrollan desprendimientos de retina a pesar del tratamiento con fotocoagulación. Estos presentan un mal pronóstico anatómico y visual. El riesgo de progresión a estadio 4 de ROP puede predecirse por la presencia de turbidez vítrea persistente, cresta de 6 o más horas, 2 o más cuadrantes con enfermedad plus o estadio 3 severo (105).

Las complicaciones son menos frecuentes que con la crioterapia. Entre las complicaciones más frecuentes destacan quemaduras accidentales en cualquier zona de la retina, cataratas, glaucomas de ángulo cerrado e isquemia del segmento anterior (106, 107).

1.8.4. Fármacos antiangiogénicos

En los últimos años, el uso de anti-VEGF ha experimentado un auge significativo para el tratamiento de la patología vascular retiniana. La ROP se produce por un aumento de los niveles de VEGF en vítreo. El uso de anti-VEGF permite disminuir el pico de VEGF, evitando de este modo las complicaciones retinianas que produce. Sin embargo,

hay que tener en cuenta los posibles efectos sistémicos tras la inyección intravítrea de anti-VEGF (108). Tras una inyección intravítrea, el bevacizumab se detecta en el suero a partir del primer día y la disminución de los niveles de VEGF en el suero se mantiene durante al menos 8 a 12 semanas. Otros trabajos refieren que la disminución de los niveles de VEGF tras la inyección de ranibizumab es de 3 a 4 semanas (82, 109). No obstante, aún se desconocen los efectos sistémicos y del neurodesarrollo que pueda producir la disminución de los niveles plasmáticos de VEGF (110).

En el estudio BEAT-ROP, Mintz-Hittner et al. evaluaron mediante un estudio prospectivo aleatorizado la eficacia del bevacizumab intravítreo como monoterapia en el tratamiento de la ROP 3+ en la zona I y II. Concluyeron que este era más efectivo que el láser convencional cuando afectaba a la zona I, no existiendo diferencias en la zona II (111, 112). En las últimas revisiones de 2017, se reafirma lo mostrado en este estudio, quedando los anti-VEGF como indicación de primera línea en la ROP agresiva posterior y en la ROP 3+ en la zona I (110). Aunque existen algunos estudios del tratamiento con anti-VEGF en estadios tempranos, se descarta como opción de tratamiento debido al escaso riesgo de pérdida visual en los estadios 1 y 2 de la ROP y la necesidad de VEGF para el normal desarrollo de la vascularización retiniana. Por otro lado, en los estadios 4 y 5 el uso de anti-VEGF no está indicado puesto que favorece el desprendimiento de retina traccional (113).

Recientes trabajos compararan el desarrollo foveal de los prematuros tras el tratamiento con láser y con anti-VEGF. Vogel et al. , concluyen que el tratamiento mediante anti-VEGF da lugar a un engrosamiento más rápido de la retina externa en el área foveal central que tras el tratamiento con láser. Además, se evidencia un retraso de la capa de elipsoides en la mácula. (114). Sin embargo, es difícil determinar si el rápido engrosamiento de la retina externa es una ventaja o si el retraso en el desarrollo de la capa de elipsoides es una desventaja, ya que el patrón de desarrollo normal macular puede estar alterado (115).

Para el tratamiento de la ROP agresiva posterior, el que el tratamiento con láser es en muchos casos insuficiente por su rápida progresión. Por esta razón, se ha propuesto su tratamiento adecuado de láser junto a inyecciones intravítreas de anti-VEGF de rescate, consiguiéndose el éxito anatómico en todos los casos de ROP agresiva posterior en la zona 1 (64). Sin embargo, en la mayoría de casos con ROP agresiva posterior, el tratamiento de

inicio suele realizarse con anti-VEGF, realizando tratamiento láser en las reactivaciones (116).

1.8.5. Cirugía

La cirugía está indicada para el estadio 4A, estadio 4B y estadio 5 de ROP. La elección de la técnica depende de la etapa de ROP, extensión y ubicación de la tracción. Las modalidades quirúrgicas incluyen el cerclaje escleral o vitrectomía en el estadio 4, o vitrectomía con lensectomía o vitrectomía a cielo abierto en el estadio 5 de ROP. Los avances en las técnicas vitrectomías con microincisión (23, 25, 27 G) la han convertido en la técnica más utilizada para el tratamiento de la ROP en el estadio 4. La falta de tratamiento previo con láser, la presentación tardía o el desprendimiento de retina en embudo, son criterios de mal pronóstico tras la cirugía. El tratamiento con vitrectomía tiene una tasa de éxito anatómico de entre el 84-100% de los casos. En cambio, en los casos de ROP con estadio 5, este varía de 14,3% a 45,5% según diferentes estudios (117).

2. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

2.1. Justificación del estudio

Los estudios basados en gemelos proporcionan una herramienta poderosa a la hora de esclarecer la posible base genética de una determinada patología. El hallazgo de concordancias y correlaciones superiores en gemelos monocigóticos respecto a dicigóticos, se traduce en la existencia de una influencia genética sobre la entidad considerada (118).

Los gemelos monocigóticos derivan de un solo cigoto, formado por la unión de un único óvulo y un solo espermatozoide. Estos comparten el 100% de sus genes. Los gemelos dicigóticos se originan por fecundación separada, y más o menos simultánea, de dos óvulos por dos espermatozoides. Su grado de identidad genética no es mayor que en dos hermanos nacidos de gestaciones separadas, es decir, comparten estadísticamente el 50% de sus genes. A diferencia de estos, los gemelos dicigóticos comparten factores ambientales bastante comunes en el seno materno y su alumbramiento es consecutivo, lo que hace más fácil comparar los factores ambientales que influyen sobre ellos (119).

Los estudios de pares gemelares calculan la tasa de concordancia de la aparición de un rasgo fenotípico (ROP) entre gemelos monocigóticos, lo que ayuda a determinar cuánto de la enfermedad se debe a la carga genética y cuánto al ambiente. Dado que los gemelos monocigóticos tienen un ADN idéntico, deberían desarrollar las mismas enfermedades genéticas (120).

En nuestro estudio incluimos niños con un peso al nacer ≤ 1500 gramos y aquellos con ≤ 32 semanas EG y aquellos entre 1500 y 2000 gramos que requirieron oxígeno por un tiempo superior a las 72 horas o presentaron un curso clínico inestable. La ROP es un proceso rápido y limitado en el tiempo, puesto que ya a las 42 semanas la retina está vascularizada en el 90% de los prematuros.

Conocemos la cigosidad de los prematuros y durante los últimos 16 años hemos estado recopilando información sobre numerosos factores ambientales (recogidos en metodología). Con ellos hemos creado una base de datos de las que hemos extraído las variables que hemos utilizado en esta tesis.

La compleja interacción entre factores genéticos, factores ambientales y la susceptibilidad individual explicaría por qué prematuros con características clínicas muy similares, experimentan diferente evolución en lo que a retinopatía se refiere, a pesar de

medidas terapéuticas equivalentes. La mayoría de los estudios consideran que la heredabilidad la explicarían: la herencia, el ambiente y un residuo correspondiente al ambiente que no podemos detectar, denominado error aleatorio.

La aportación fundamental del presente estudio a la literatura científica, radica en que en el mismo pretendemos desglosar y establecer por primera vez, valores concretos para cada uno de los factores que median y determinan el total de la variabilidad atribuible a la retinopatía del prematuro: herencia genética o heredabilidad (**solo existe un trabajo**), influencia ambiental compartida, influencia ambiental no compartida y residuo aleatorio. No nos consta que hasta el momento, este análisis pormenorizado haya sido realizado en publicaciones previas.

2.2 Objetivos

Los objetivos de nuestro estudio podemos resumirlos en:

Objetivo principal:

- Determinar la tasa de heredabilidad (porción atribuible a un origen exclusivamente genético) de la ROP, estudiando para ello gemelos monocigóticos y dicigóticos.

Objetivos secundarios:

- Establecer la variabilidad de la heredabilidad explicada por factores ambientales compartidos, factores ambientales no compartidos y residuo aleatorio.
- Determinar los factores de riesgo que se relacionan con la aparición de retinopatía del prematuro.

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

3.1. Características del estudio

Estudio de casos y controles retrospectivo, no aleatorizado, de abril de 2014 a marzo de 2017 en el Hospital Clínico San Cecilio de Granada.

Se elaboró una base de datos anónima de los sujetos sometidos a estudio, a partir de un fichero creado entre los años 2000 y 2016, que contenía numerosas variables relacionadas con el desarrollo de la ROP. El estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética de Investigación Biomédica de Granada a fecha de 09/05/2017.

3.2 Material: sujetos a estudio

Se ha realizado el seguimiento de un total de 275 recién nacidos prematuros. Para el análisis descriptivo e inferencial, se utilizó el total de la muestra de 275 prematuros. Para el cálculo de la heredabilidad se utilizaron 257. Se excluyeron de la muestra 18 prematuros (gemelos dicoriónicos del mismo sexo en los que no se pudo confirmar la cigosidad mediante examen histológico). Del total de los 257 prematuros, 38 son gemelos univitelinos, 66 son gemelos bivitelinos y 153 nacidos de parto simple. Fueron incluidos en el protocolo de la ROP del Hospital Universitario San Cecilio de Granada entre los años 2000-2016. Los datos fueron recogidos desde la inclusión de los prematuros en el mencionado protocolo hasta completar el seguimiento oftalmológico (bien por alta médica o por fallecimiento), adecuándose para ello a criterios previamente establecidos.

Todos los datos han sido obtenidos siempre por el mismo oftalmólogo durante los 16 años consecutivos. Al alta de cada prematuro, los datos se guardaban en una ficha, para posteriormente crear una base de datos que permitiera su análisis.

Nosotros en nuestro centro seguimos las guías de cribado y tratamiento del grupo multicéntrico español para la retinopatía del prematuro. En estas guías hemos incorporado las actualizaciones para el tratamiento y seguimiento de los prematuros tratados con Anti-VEGF (70, 87, 108).

Como criterios de inclusión hemos seguido las recomendaciones de cribado de la ROP en España: incluimos a todos los niños con ≤ 32 semanas de EG o con un peso al nacer ≤ 1500 gramos y aquellos entre 1500 y 2000 gramos que requirieron oxígeno por un tiempo superior a las 72 horas o presentaron un curso clínico inestable (70).

Se determinó la corionicidad y cigosidad de los diferentes gemelos. La cigosidad de cada par de gemelos fue determinada por ecografía del feto o examen histopatológico de la placenta. Los gemelos fueron considerados monocigóticos si su placenta era monocoriónica, independientemente de si su placenta era monoamniótica o diamniótica.

Los gemelos dicoriónicos fueron considerados dicigóticos solo si diferían en grupo sanguíneo o género, de otro modo fueron excluidos del análisis. Los gemelos monocoriónicos fueron considerados monocigóticos por defecto, independientemente de si eran monoamnióticos o diamnióticos, porque es extremadamente raro la dicigosidad en tal caso. La monocigosidad fue corroborada posteriormente mediante concordancia de género y grupo sanguíneo. Los gemelos nacidos por fecundación in vitro fueron considerados dicigóticos (121).

Se excluyeron del estudio todos aquellos gemelos dicoriónicos que presentaban igual grupo sanguíneo o sexo, pues no era posible determinar si eran monocigóticos o dicigóticos (esto solo es posible mediante estudio de ADN, que no disponemos). Además, se excluyeron todos los niños prematuros en los que no pudo completarse el programa por éxitus (122).

3.3 Metodología

En el año 2000 se creó un fichero para recoger los datos referentes a cada uno de los sujetos que se incluían en el protocolo de la ROP del Hospital Universitario San Cecilio de Granada. Posteriormente, entre 2014-2016, a partir de cada una de ellas, se elaboró una base de datos para su posterior análisis estadístico.

3.3.1 Recogida de datos

Los datos de todos los sujetos que se incluyeron en el protocolo de la ROP del Hospital Universitario San Cecilio de Granada, desde enero del año 2000 a diciembre de 2016, fueron recogidos en un fichero. Dicho fichero contenía las siguientes variables:

- Número de identificación (ID), para preservar el anonimato de cada sujeto.
- Fecha de nacimiento.
- EG (en semanas).
- Sexo (varón o mujer).

- Peso al nacer (expresado en gramos).
- Días de intubación.
- Días de CPAP
- Sepsis: sí o no.
- Peso al nacimiento (gramos).
- Ganancia de peso (gramos/día).
- Edad maternal.
- Parto simple o múltiple.
- Presencia de patología sistémica relacionada con la prematuridad: presencia de ductus arterioso persistente hemodinámicamente significativo, grado de DBP, lesión ecográfica/tomografía axial computarizada (TAC), hemorragia cerebral, muerte intrauterina fetal, apnea y transfusión sanguínea.
- Grado de retinopatía según la Clasificación Internacional de la ROP (ICROP), dando un valor numérico de 0 (ausencia de retinopatía), 1 (estadio 1), 2 (estadio 2), 3 (estadio 3), 4 (estadio 4), 5 (estadio 5). Se utilizaron valores intermedios de 0,5 en los casos de enfermedad plus. La presencia de AP-ROP se codificó como un valor por separado.
- EG en la primera exploración.
- Estadio máximo de ROP.
- Presencia de ROP severa
- Área avascular medida en diámetros de disco (DD). El área vascular se definió como un número de diámetros papilares que aún no han sido vascularizados en el área temporal de la retina en la primera exploración oftalmológica.
- Tratamiento. Se ha realizado la siguiente clasificación:
 - No precisa tratamiento. En los casos en los que la retina es madura o cursa con grado de ROP leve.
 - Fotocoagulación con láser. Fue necesario tratamiento con láser argón.

- Anti-VEGF. Fue necesario tratamiento con bevacizumab.
- Cirugía. Casos muy avanzados (estadios 4 y 5 de ROP) fueron enviados al Centro de Referencia Nacional.

Se consideró la presencia de ROP severa ante la presencia de estadio 3 o superior.

La muerte fetal intrauterina se definió como la muerte intrauterina de un feto en un embarazo gemelar (se excluyeron las muertes asociadas con síndromes fetales). Esta situación aumenta el riesgo de morbilidad y mortalidad para el gemelo superviviente debido a la hipoperfusión y la isquemia tisular (123, 124).

La apnea se definió como una interrupción del flujo de aire respiratorio durante 20 segundos o más, independientemente de las consecuencias clínicas o de los episodios de interrupción de la respiración de menor duración que tengan repercusiones cardiocirculatorias (bradicardia y/o hipoxemia) (125). En nuestro trabajo, se incluyeron los prematuros que presentaron apneas de tal gravedad, que nos impedía explorarlos el día indicado según el protocolo de diagnóstico de la ROP. Su exploración era pospuesta generalmente una semana.

Este estudio solo incluyó a bebés prematuros con ductus arterioso persistente hemodinámicamente significativo, es decir, bebés prematuros con síntomas y/o derivación izquierda-derecha diagnosticados por ecocardiografía Doppler (relación de flujo pulmonar/sistémico $> 1.5 - 2$) (22-24). Los exámenes fueron realizados por el mismo cardiólogo pediátrico, utilizando el ultrasonido cardiovascular Acuson SC2000TM. Todos los pacientes fueron tratados con indometacina a una dosis habitual de 0,2 mg/Kg/24h durante 3 días o con ibuprofeno a una dosis inicial de 10 mg/Kg el primer día y de 5 mg/Kg el segundo y tercer día (126-128).

La exanguinotransfusión se utilizó como tratamiento para la hiperbilirrubinemia grave en recién nacidos prematuros, a pesar de la fototerapia intensiva y en todos los prematuros con síntomas de encefalopatía bilirrubínica.

La sepsis se definió como un cultivo sanguíneo fúngico o bacteriano positivo con el criterio adicional de la presencia de síntomas de infección generalizada y hallazgos hematológicos (129).

Se registró la presencia de cualquier grado de DBP. La DBP se define según lo propuesto por Ehrenkranz en 2005 y por Jobe y Bancalari en 2001, como una necesidad de oxígeno suplementario >21% a los 28 días de vida y/o una necesidad de oxígeno suplementario >21% o de presión positiva en las vías respiratorias a las 36 semanas de EG corregida (130, 131)

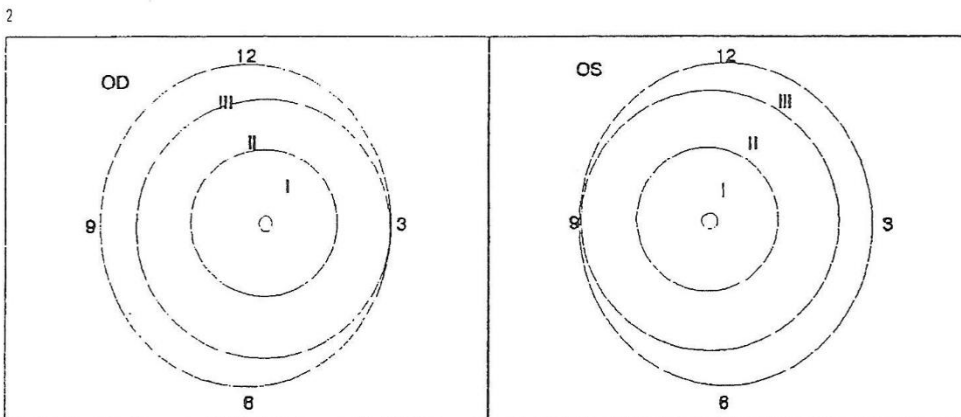
El diagnóstico de hemorragia cerebral intraventricular se basa en la clasificación de Papile. Todos los recién nacidos se someten a una ecografía transfrontal el tercer día de vida y cada semana a partir de entonces (132).

DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO DE LA FASE ACTIVA DE LA ROP

ID

FECHA DE NACIMIENTO PESO..... EG.....

SEMANA																	
OJO	D	I	D	I	D	I	D	I	D	I	D	I	D	I	D	I	D
I ¹																	
II																	
III																	
IV																	
V																	



SEMANA
OBSERVACIONES

- ¹Se pondrá en cada casillero el estadio más avanzado en cualquier zona. Se indicará ésta poniéndola entre paréntesis.
- ²Para los gráficos se usará el siguiente código de color (aportación propia):
- Vasos retinianos y neovasos: rojo oscuro.
 - Retina vascularizada: rojo claro.
 - Retina isquémica: azul claro.
 - Retina desprendida: azul oscuro.
 - Línea de demarcación: marrón claro.
 - Cresta: marrón oscuro.
 - Hemovitreo: verde.
 - Papila: amarillo.

Figura 8. Fichero de recogida de datos utilizado en todos los prematuros incluidos en protocolo diagnóstico de la ROP.

A partir de este fichero, se diseñó una Base de Datos (BDD) protegida con clave y dotada de diferentes mecanismos lógicos que impedían la introducción de datos erróneos. Se respetó la confidencialidad de los datos de acuerdo a la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, sobre la Protección de Datos de Carácter Personal, y la Ley 41/2002 de 14 de

noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica. El diseño de este estudio no modificó el seguimiento ni tratamiento de los prematuros a lo largo del periodo de estudio.

3.3.2. Exploración oftalmológica

El grado de retinopatía en cada ojo estudiado se determinó mediante oftalmoscopia indirecta con indentación tras midriasis farmacológica (tropicamida al 1% o ciclopentolato al 0,5%, junto con fenilefrina al 1%). Para esta técnica, se utilizó una lente de 20 dioptrías. Esta lente aporta una magnificación de 2,5, permitiendo una visión de 45° de la retina, lo que corresponde con 8 diámetros de papila. Se explora dentro de la incubadora en la UCI neonatal, bajo supervisión pediátrica y estando monitorizado (133).

3.3.3. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se realizó utilizando el programa IBM-SPSS V.21.0. Se aplicó el Test de Shapiro-Wilk o bien el test Omnibus de D'Agostino- Pearson indistintamente para comprobar la normalidad de los datos.

3.3.3.1 Estadística descriptiva

Se describió el perfil de la población de estudio. Se emplearon medidas de tendencia central y dispersión para las variables cuantitativas, media \pm desviación típica, incluyendo los intervalos de confianza (IC 95%) y el rango (valor mínimo y máximo). Los resultados de las variables categóricas se han expresado en porcentajes.

3.3.3.2. Análisis bivariante

Se utilizó el test de Chi-cuadrado para comparar proporciones entre grupos y cuando este no cumplía las condiciones de validez, se aplicó el test exacto de Fisher. Para analizar las diferencias entre los valores medios de las variables cuantitativas entre dos grupos, se realizó el test de la prueba "T" de Student para muestras independientes, (previo análisis de igualdad de varianzas mediante la prueba de Levene) o su equivalente no paramétrico, la prueba U de Mann-Whitney-Wilcoxon, también conocida como prueba de suma de rangos Wilcoxon. Cuando se realizaron comparaciones de valores medios entre tres o más grupos, se aplicó la prueba de ANOVA de un factor seguido de comparaciones múltiples post hoc, o su equivalente no paramétrica, test de Kruskal- Wallis La asociación entre variables continuas se analizó mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

3.3.3.3 Análisis multivariante

El análisis multivariante se realizó mediante el modelo de regresión logística, introduciendo en el mismo las variables independientes con un grado de significación inferior a 0,10. Se comprobaron las condiciones mediante análisis de residuales, de la heterocedasticidad y linealidad e identificación de la multicolinealidad mediante VIF. La fuerza de la asociación se describe mediante la OR.

El nivel de significación estadística para este estudio es $P < 0,05$.

3.3.4. Cálculo de la heredabilidad

De manera ideal, puede postularse que un carácter fenotípico medido por una variable t se conforma como la suma de tres componentes (Contasti, 2009)(134): el primero, la influencia de la variable herencia t (H), para simplificar señalado como (h); el segundo, la influencia de la variable ambiente t (A), para simplificar señalado como (a); y en tercer lugar el residuo aleatorio (ε) de manera que:

$$t = h + a + \varepsilon$$

En nuestro modelo, la ecuación que explicaría la variabilidad total en la retinopatía del prematuro sería la siguiente:

Retinopatía del prematuro: herencia + ambiente+ error aleatorio

- El ambiente se divide en variables ambientales:

a) Aquellas que presentan un ambiente común compartido en los gemelos: Fórmula de estudio según Falconer: $c^2 = r \text{MZ} - h^2$

Ambiente compartido: correlación monocigóticos – heredabilidad

a) Aquellas que presentan un ambiente común no compartido en los gemelos:

Fórmula de estudio según Falconer: $e^2 = 1 - h^2 + c^2$

Ambiente no compartido: 1 – heredabilidad + ambiente compartido

- El error aleatorio lo calcularemos por la diferencia de correlación en el grado de retinopatía en los ojos derechos e izquierdos de cada uno de los prematuros: $\epsilon = r_{OD} - r_{OI}$ (135)

Para el estudio de la heredabilidad, vamos a dar 3 cortes temporales:

- a) Diámetros que faltan por vascularizar en la retina (5 semanas posnatal)
- b) Presencia o ausencia de ROP (7-8 semanas posnatal)
- c) Grado máximo de ROP

4. RESULTADOS

Nuestros resultados recogen el estudio descriptivo de 275 prematuros que fueron estudiados en 4 grandes apartados: análisis descriptivo univariante (variables cuantitativas y cualitativas), análisis inferencial bivariante (variable cuantitativas y cualitativas), análisis multivariante (regresión logística binaria) y heredabilidad de la ROP.

4.1. Análisis descriptivo

4.1.1. Variables cuantitativas

EG

En nuestra muestra de estudio, la media de la EG al nacer es de 29,68 semanas, con una desviación típica de 1,99. La edad mínima es de 24,70 semanas y la máxima de 34. (tabla 7). El histograma representa la distribución de la EG de los sujetos de la muestra.

Tabla 7. Estadísticos descriptivos de la EG.

	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típica
EG	24,70	34,00	29,68	1,99

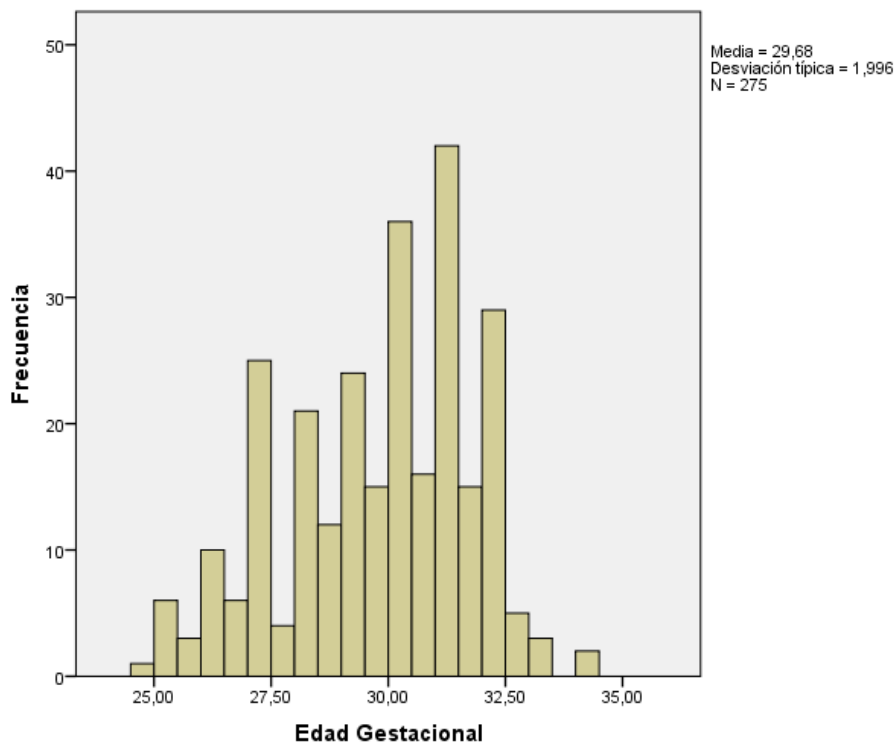


Figura 9. Histograma en el que se representa la EG de la muestra de estudio.

Peso al nacer

El peso mínimo al nacer fue de 600 gramos y el máximo de 2220. La media fue 1234,79 gramos y con una desviación típica de 312,94 (tabla 8).

Tabla 8. Estadísticos descriptivos del peso al nacer.

	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Típica
Peso al nacer	600	2220	1234,79	312,94

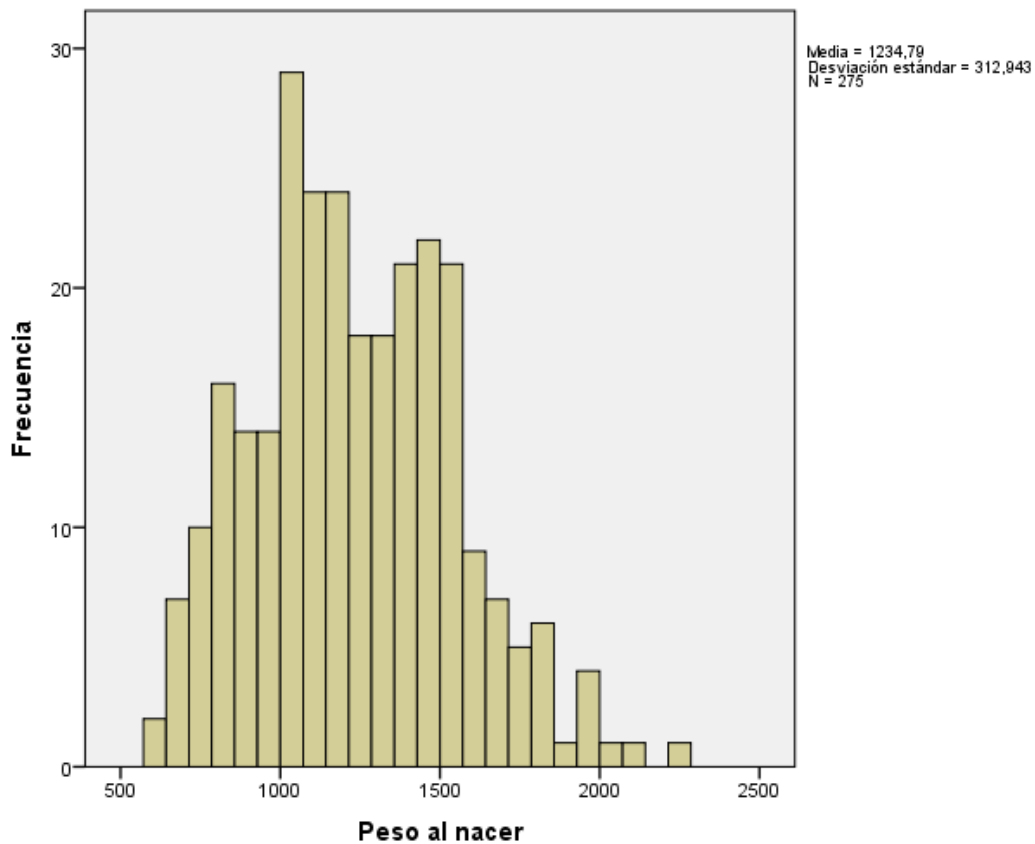


Figura 10. Histograma que representa como se distribuye el peso al nacer de los sujetos de nuestra muestra.

Área temporal sin vascularizar medida a las 4-6 semanas tras nacimiento

La media del área temporal sin vascularizar medida en DD a las 4-6 semanas tras el nacimiento fue de 2,38 DD, con una desviación típica de 2,06 DD. El área máxima sin vascularizar fue 8 DD y el mínimo 0 DD (tabla 9).

Tabla 9. Estadísticos descriptivos del área temporal sin vascularizar

	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Típica
Área temporal sin vascularizar	0	8	2,38	2,06

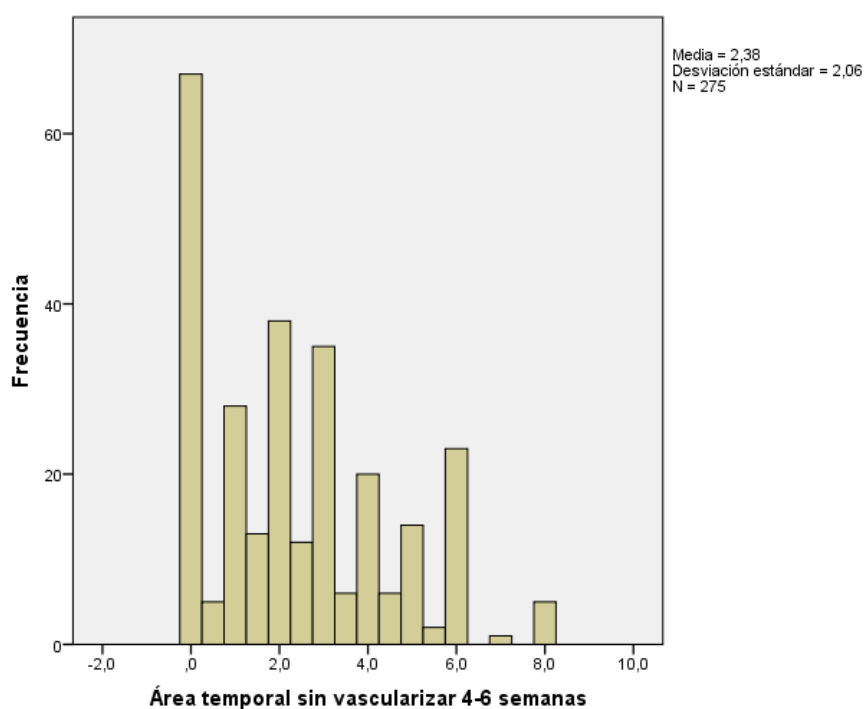


Figura 11. Histograma que representa el área temporal sin vascularizar a las 4-6 semanas tras el nacimiento.

EG en la primera exploración

La EG a la que se realizó la primera exploración oftalmológica presenta un valor mínimo de 29,30 semanas y uno máximo de 41, con una media de 34,32 semanas (tabla 10).

Tabla 10. Estadísticos descriptivos de la EG en la primera exploración.

	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Típica
EG 1ª exploración	29,30	41	34,32	2,10

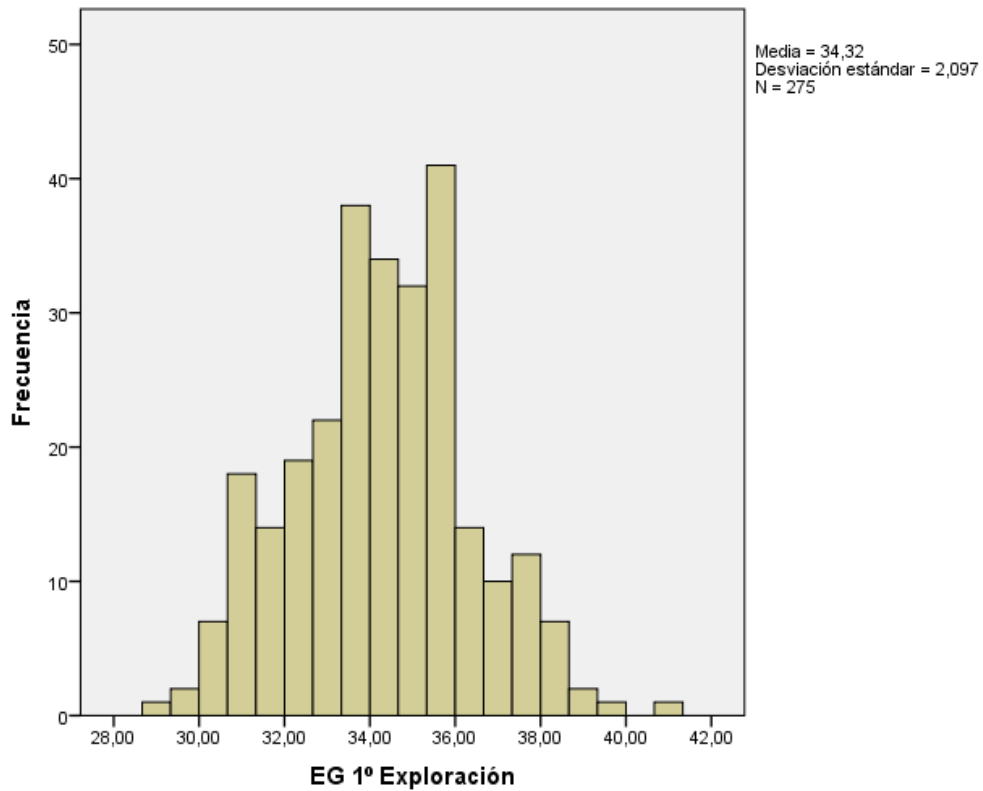


Figura 12. Histograma que representa la EG de los sujetos de la muestra en la primera exploración oftalmológica.

Días de oxigenación por presión positiva continua en las vías aéreas (CPAP)

La media de días de uso de CPAP fue de 5,41, con una desviación típica de 5,18. El máximo de días de uso de CPAP fue de 27 y el mínimo de 0 (tabla 11).

Tabla 11. Estadísticos descriptivos de los días de uso de CPAP.

	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típica
Días CPAP	0	27	5,41	5,18

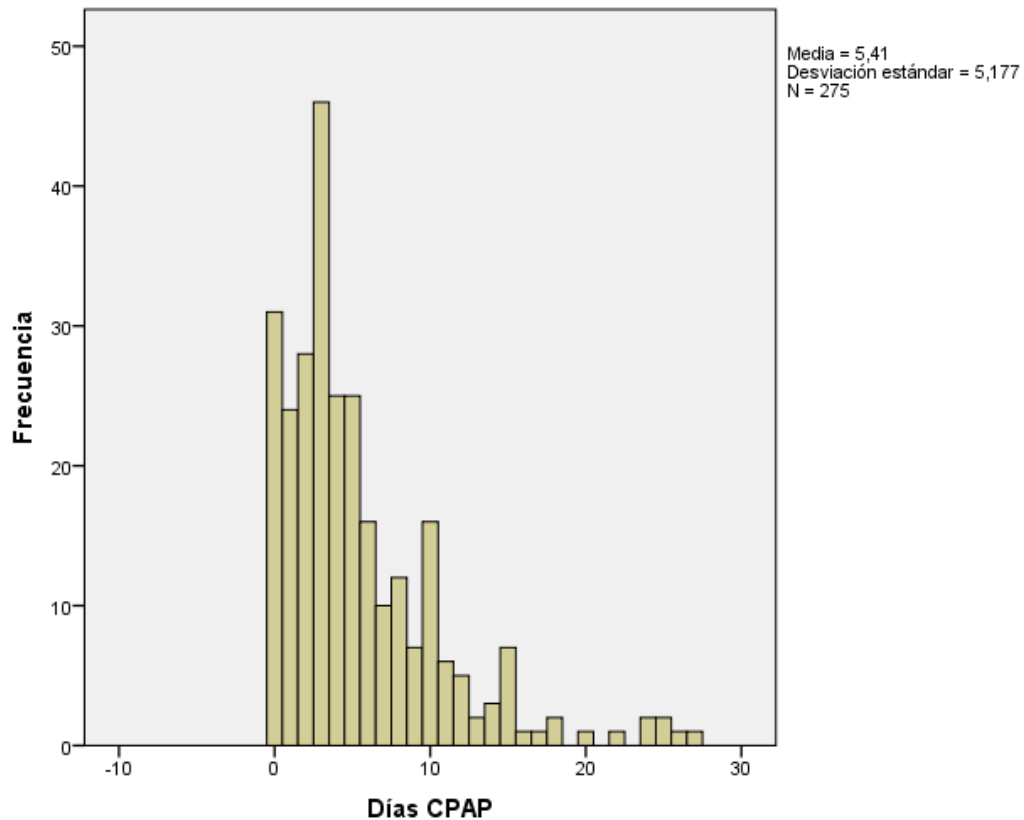


Figura 13. Histograma que muestra el número de días de uso de CPAP de los sujetos de la muestra.

Semana de máxima ROP

La media en semanas, en la que los sujetos de la muestra presentan el máximo estadio de ROP es de 36,33, con una desviación típica de 2,29. La semana máxima en la que presentaron el máximo estadio de ROP es de 43 y la mínima de 29,30 (tabla 12).

Tabla 12. Estadísticos descriptivos de la semana de máxima ROP.

	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típica
Semana máx. ROP	29,30	43	36,33	2,29

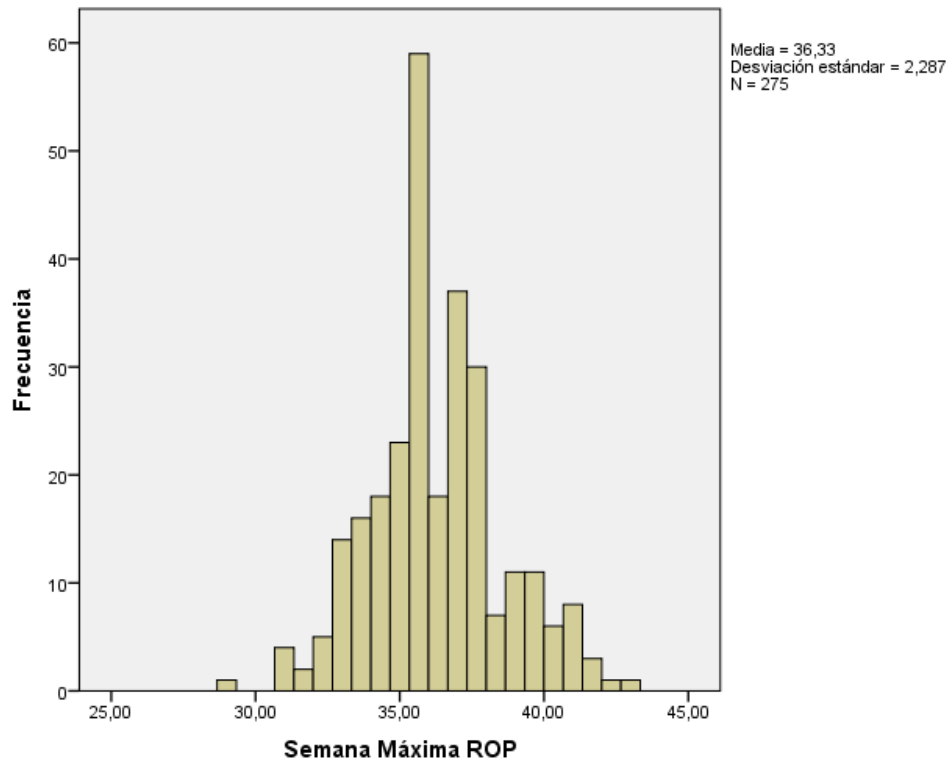


Figura 14. Histograma que representa la semana de gestación a la que los sujetos de la muestra presentan el máximo estadio de ROP.

Tiempo de seguimiento

El tiempo medio de seguimiento de los sujetos de la muestra es de 8,54 semanas, con una desviación típica de 4,94. El tiempo mínimo de seguimiento es de 2,85 semanas y el máximo de 27 (tabla 13).

Tabla 13. Estadísticos descriptivos del tiempo de seguimiento.

	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Típica
Tiempo Seguimiento	2,85	27	8,54	4,94

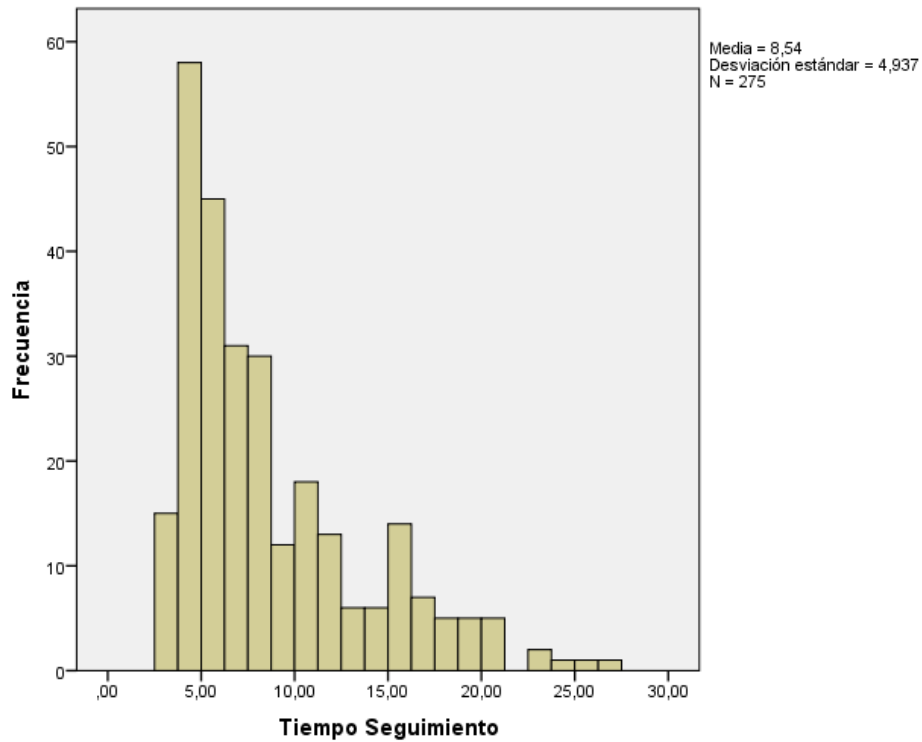


Figura 15. Histograma que representa el tiempo de seguimiento de los pacientes a estudio.

4.1.2. Variables cualitativas

Presencia de ROP

Del total de 275 sujetos de la muestra, el 65,5% (180) presentó ROP, mientras que el 34,5% (95) no presentó la enfermedad (tabla 14).

Tabla 14. Tabla de frecuencias de la variable ROP.

		Frecuencia	Porcentaje
Presencia de ROP	No	180	65,5%
	Si	95	34,5%
	Total	275	100%

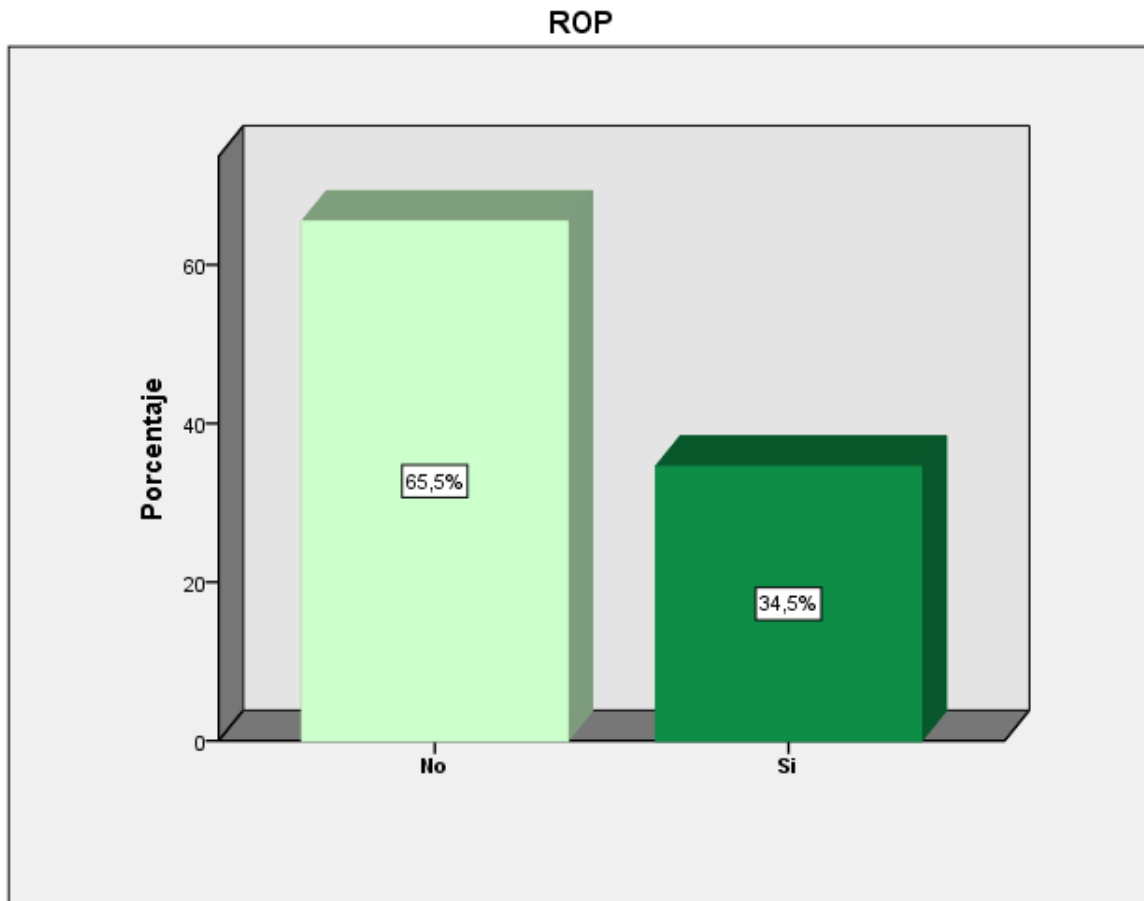


Figura 16. Diagrama de barras que representa la frecuencia expresada en porcentaje de sujetos con y sin ROP.

Días de intubación

Del total los de sujetos de la muestra, el 42,9 % (118) no requirió intubación. Un 36,4 % (100) necesitó intubación durante 1-9 días y el 20,7% (57) fueron intubados durante más de 9 días (tabla 15).

Tabla 15. Tabla de frecuencias de la variable días de intubación.

		Frecuencia	Porcentaje
Días de intubación	No intubación	118	42,9
	1-9 días	100	36,4
	>9 días	57	20,7
	Total	275	100

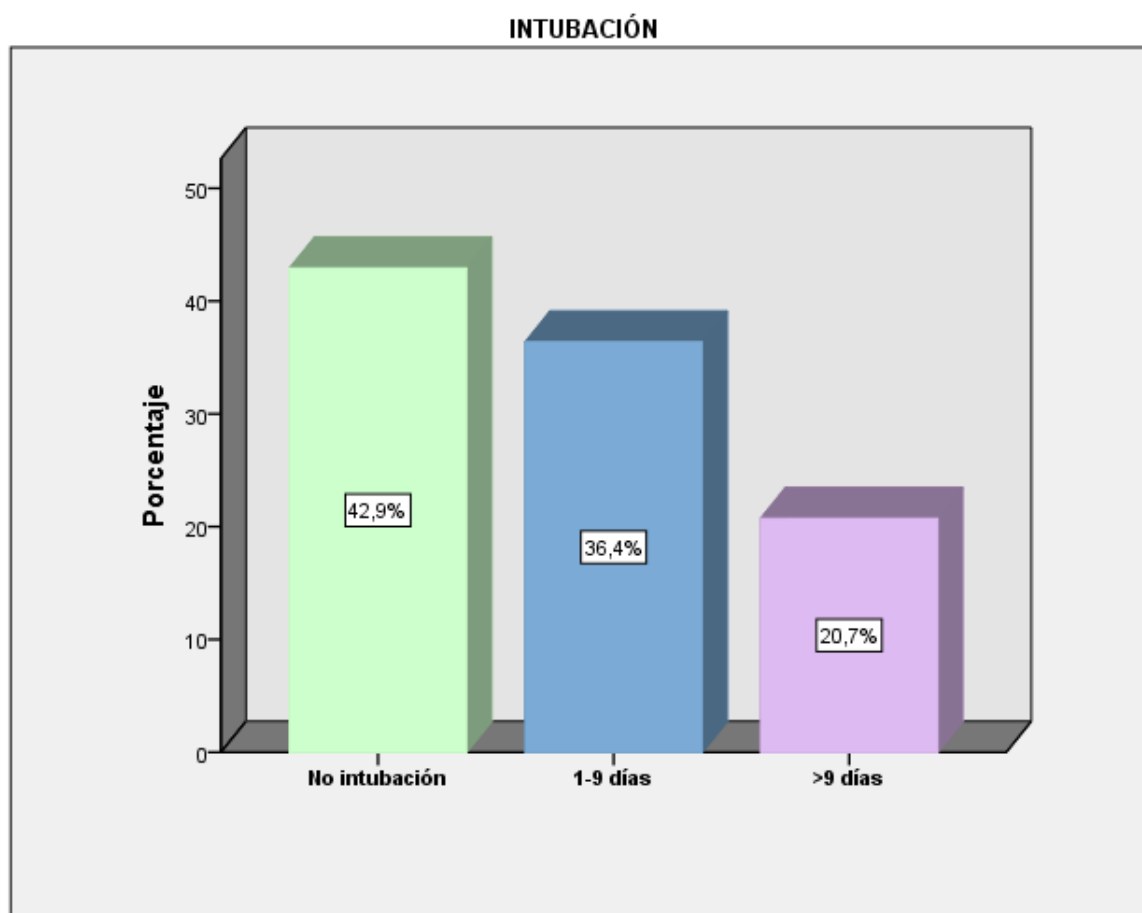


Figura 17. Diagrama de barras que representa la distribución de frecuencia expresada en porcentaje del número de días con intubación.

Transfusiones sanguíneas

Observamos que un 56,4% (155) no recibieron transfusiones, un 40% (110) recibió una transfusión y solo un 3,6% (10) recibió más de una transfusión (tabla 16).

Tabla 16. Tabla de frecuencias de la variable transfusiones sanguíneas.

		Frecuencia	Porcentaje
Transfusiones sanguíneas	No transfusión	155	56,4
	1 transfusión	110	40,0
	Más de 1 transfusión	10	3,6
Total		275	100

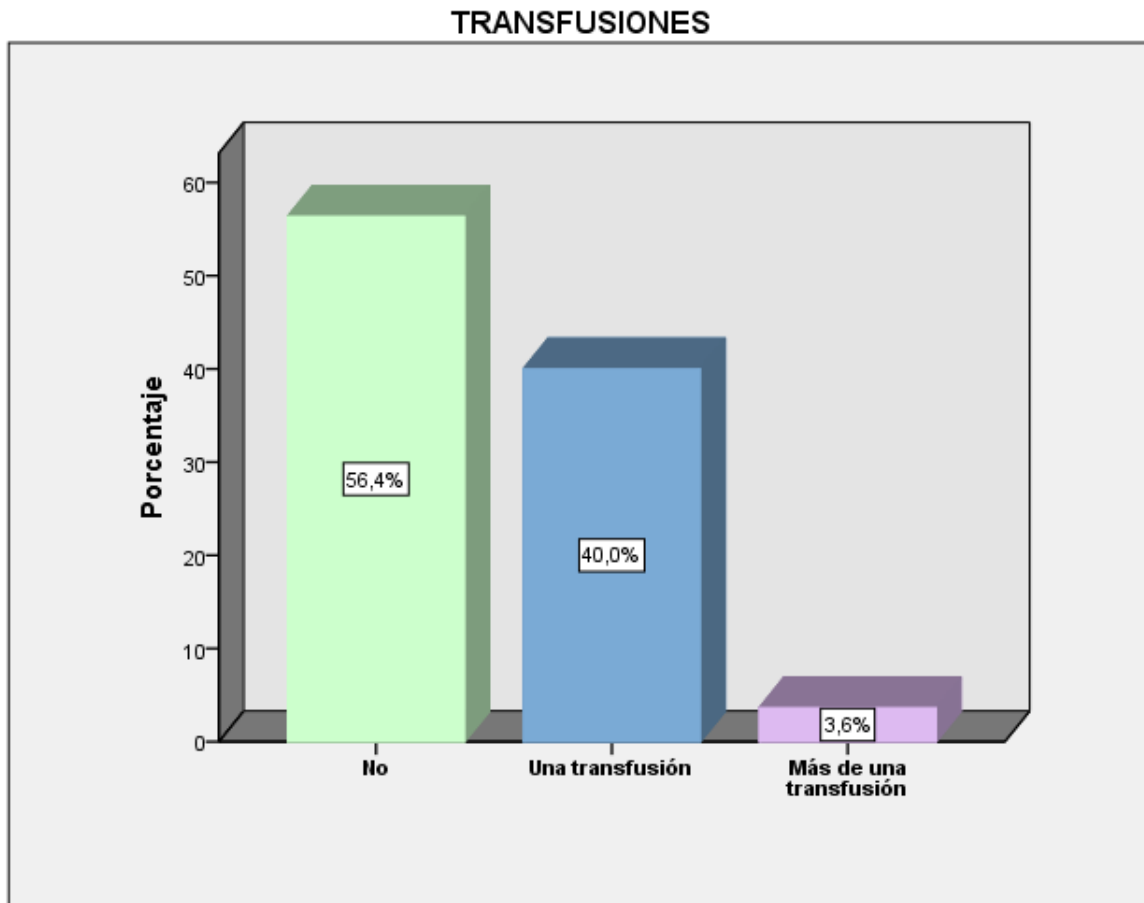


Figura 18. Diagrama de barras que representa la distribución de frecuencia de las transfusiones sanguíneas recibidas por los sujetos de la muestra.

Sepsis

Un 70,5% de los sujetos de la muestra (194) no presentó sepsis, mientras que el 29,5% (81) sí presentó sepsis en al menos una ocasión (tabla 17).

Tabla 17. Tabla de frecuencias de la variable sepsis.

		Frecuencia	Porcentaje
Sepsis	No	194	70,5
	Sí	81	29,5
	Total	275	100

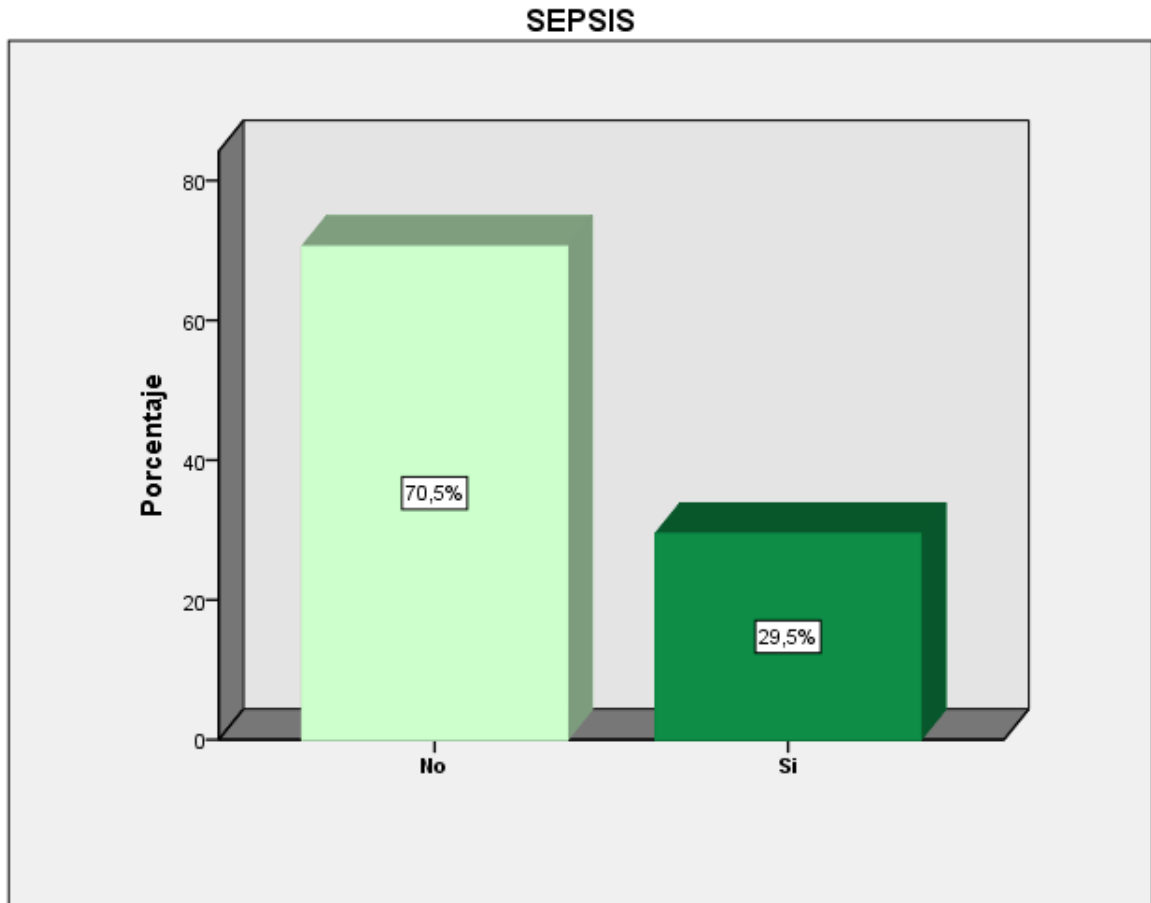


Figura 19. Diagrama de barras que representa la distribución de la frecuencia de eventos de sepsis en los sujetos de nuestro estudio.

Presencia de lesión en ecografía o TAC

Un 82,9% (228) no presentó lesión en la ecografía o TAC, mientras que el 17,1% (47) sí mostró la presencia de lesiones utilizando estos métodos diagnósticos (tabla 18).

Tabla 18. Tabla de frecuencias de la variable lesión en ecografía o TAC.

		Frecuencia	Porcentaje
Lesión Eco/TAC	No	228	82,9
	Sí	47	17,1
	Total	275	100

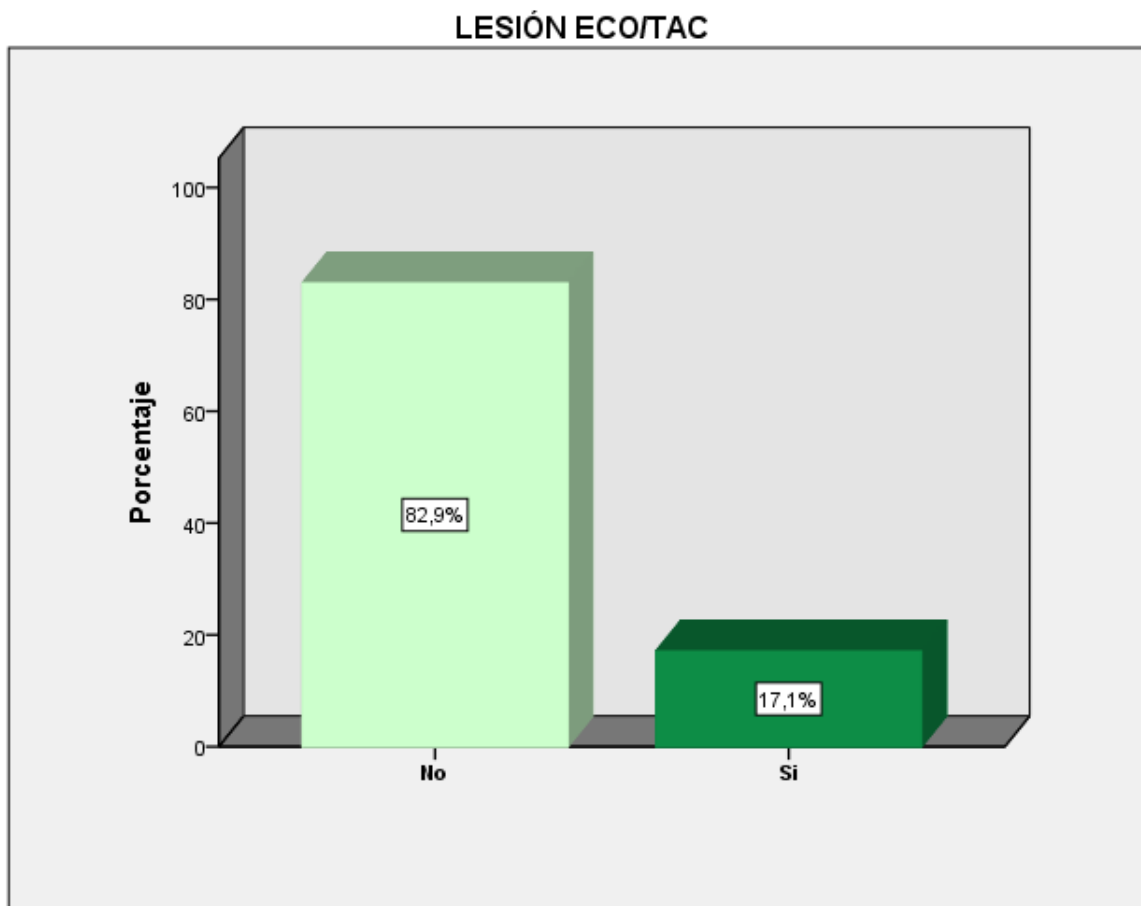


Figura 20. Diagrama de barras que representa la distribución de la frecuencia de presentación de lesiones en la ecografía o TAC en los sujetos de nuestro estudio.

Apnea

Un 90,2% (248) de los sujetos de la muestra no presentó apnea, mientras que el 9,8% (27) sí presentó la enfermedad (tabla 19).

Tabla 19. Tabla de frecuencias de la variable apnea.

		Frecuencia	Porcentaje
Apnea	No	248	90,2
	Sí	27	9,8
	Total	275	100

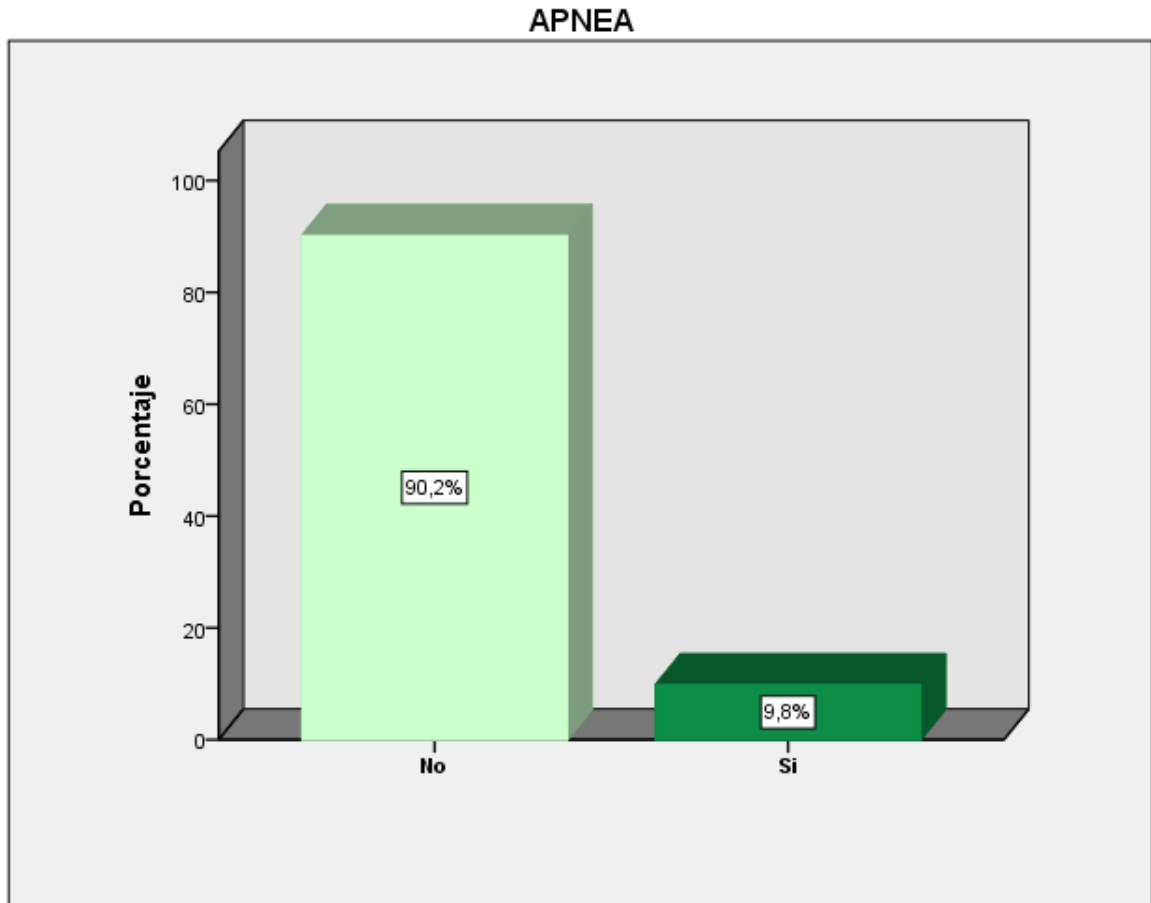


Figura 21. Diagrama de barras que representa la distribución de la frecuencia de apnea en los sujetos de nuestro estudio.

Grado de DBP

Del total de sujetos muestrados, observamos que la DBP grado III fue la presentación más frecuente, el 31,6% (87). El 30,2 % (83) presentó una DBP grado II, el 6,9 % (19) grado II, el 6,5 (18) grado IV y un 24,7 (68) de los sujetos no presentaron la enfermedad (tabla 20).

Tabla 20. Tabla de frecuencias de la variable grado de DBP.

		Frecuencia	Porcentaje
Grado de DBP	Normal	68	24,7
	Grado I	19	6,9
	Grado II	83	30,2
	Grado III	87	31,6
	Grado IV	18	6,5
	Total	275	100

DISPLASIA BRONCOPULMONAR

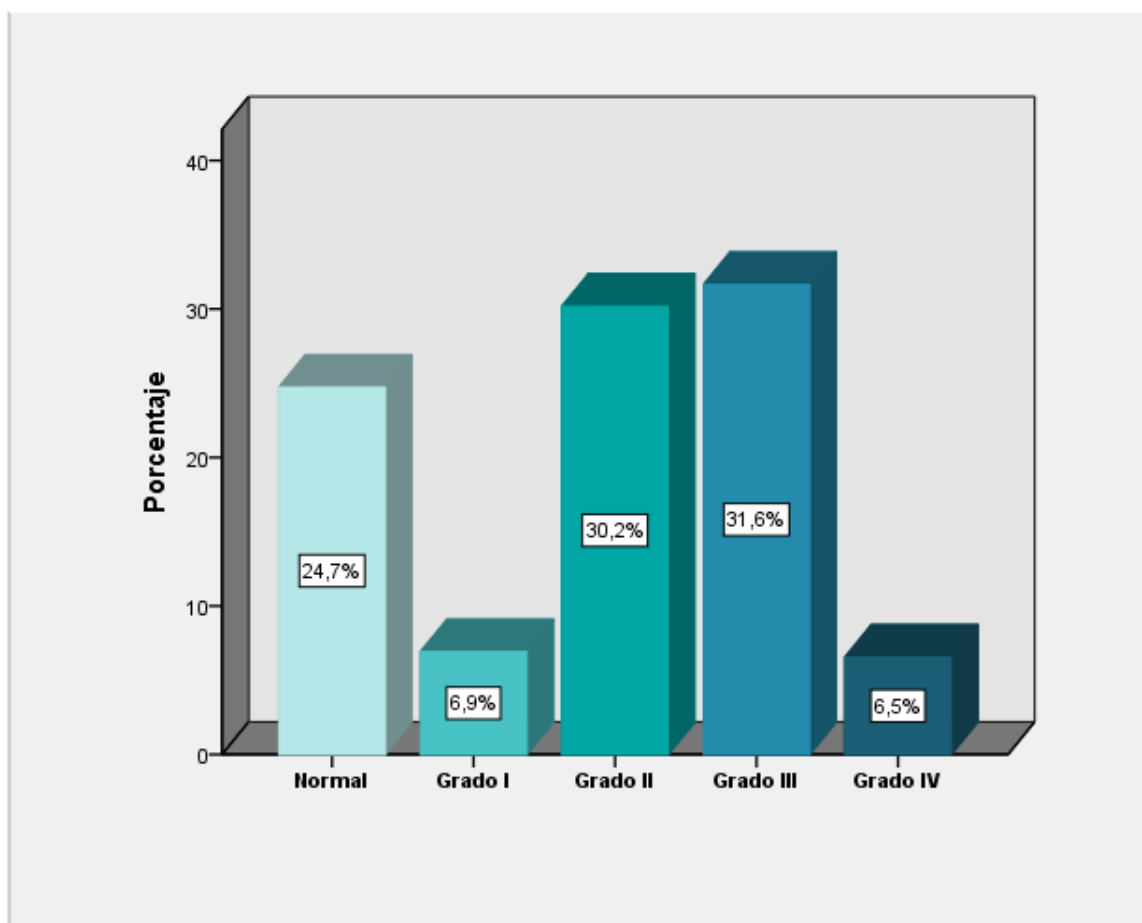


Figura 22. Diagrama de barras que representa la distribución de la frecuencia de presentación de DBP en los sujetos de la muestra.

Hemorragia cerebral

Un 88% (242) de los sujetos de la muestra no presentaron hemorragia cerebral. Solo el 12% (33) presentó esta patología (tabla 21).

Tabla 21. Tabla de frecuencias de la variable hemorragia cerebral.

		Frecuencia	Porcentaje
Hemorragia cerebral	No	242	88
	Sí	33	12
	Total	275	100

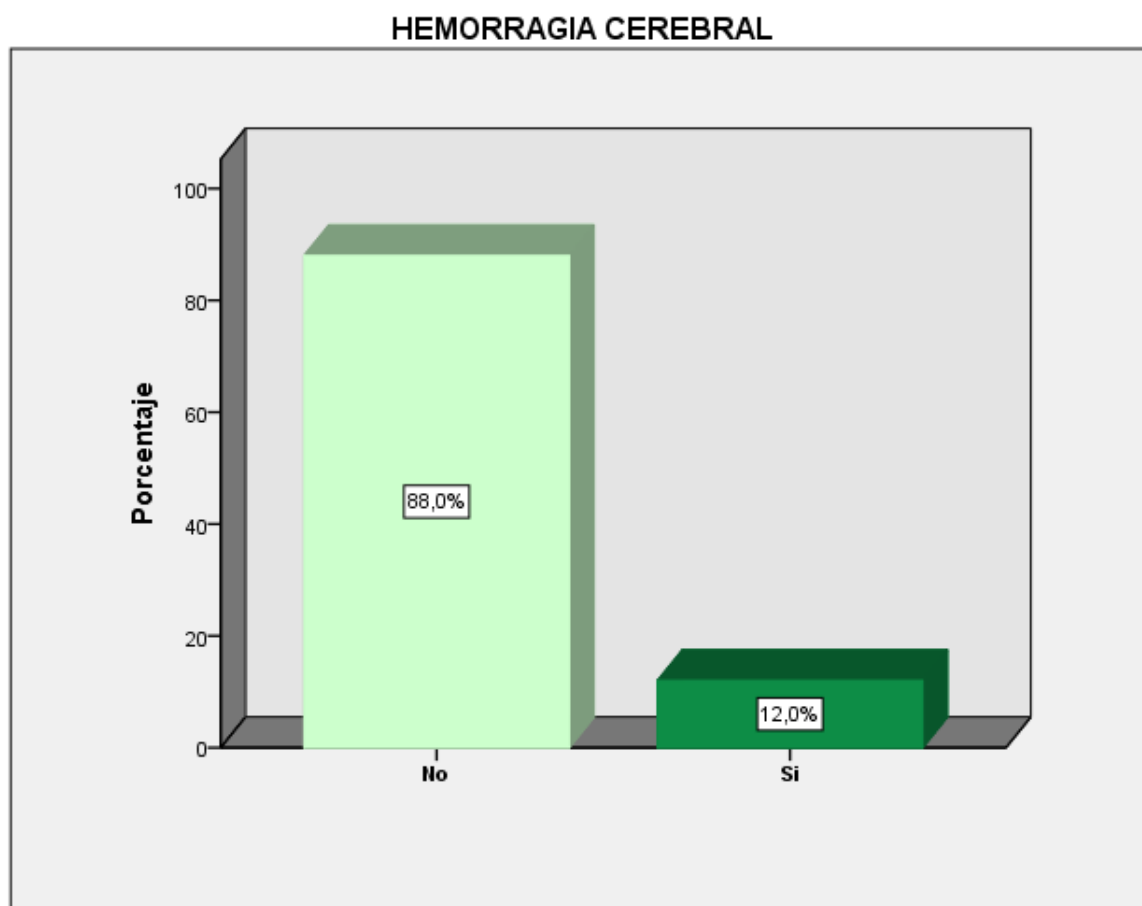


Figura 23. Diagrama de barras que representa la distribución de la frecuencia de hemorragia cerebral en los sujetos de nuestro estudio.

Tipo de gestación

Observamos que de las gestación gemelares, el 14,5% (40) fueron gemelos monocigóticos y el 26,2% (72) gemelos dicigóticos (tabla 22).

Tabla 22. Tabla de frecuencias de la variable tipo de gestación

		Frecuencia	Porcentaje
Tipo de gestación	Simple	163	59,3
	Gemelar monocigótica	40	14,5
	Gemelar dicigótica	72	26,2
	Total	275	100

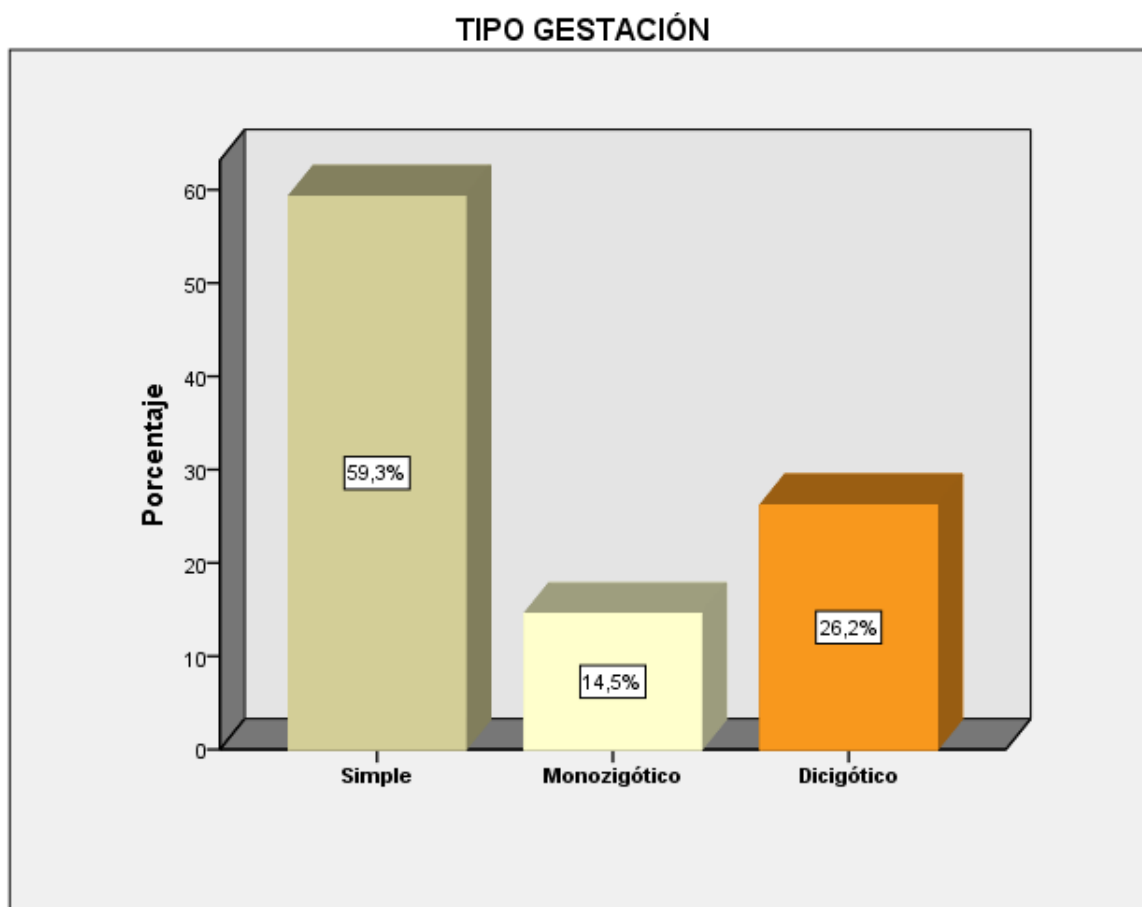


Figura 24. Diagrama de barras que representa la distribución de la frecuencia del tipo de gestación en los sujetos de nuestro estudio.

Presencia de DAP

Del total de sujetos muestrados, observamos que solo el 13,5% (37) presentó DAP. El 86,5% (238) no presentó la enfermedad (tabla 23).

Tabla 23. Tabla de frecuencias de la variable DAP

		Frecuencia	Porcentaje
DAP	No	238	86,5
	Sí	37	13,5
	Total	275	100

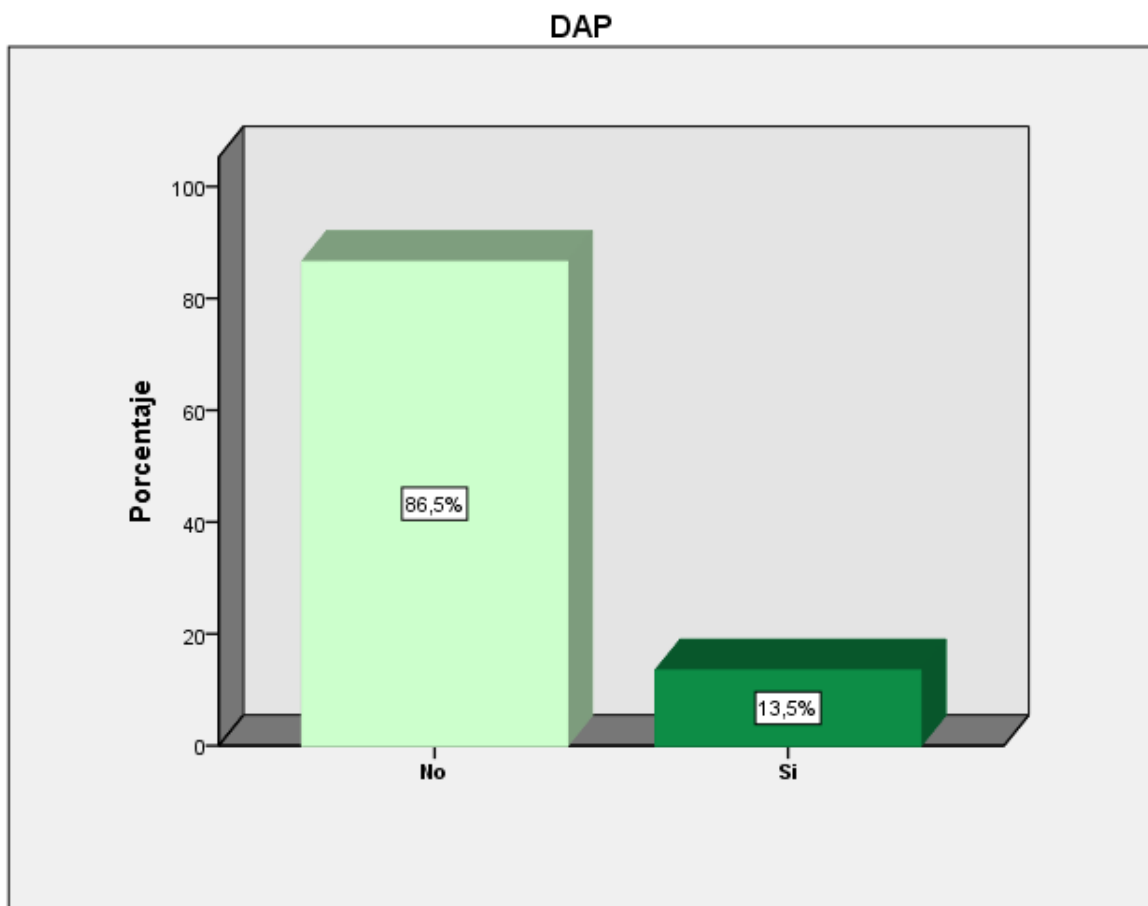


Figura 25. Diagrama de barras que representa la distribución de la frecuencia de presentación de DAP en los sujetos de nuestro estudio.

Género del prematuro

Observamos que la distribución fue muy homogénea: 50,5% (139) fueron niños y 49,5% (136) niñas (tabla 24).

Tabla 24. Tabla de frecuencias de la variable género del prematuro.

		Frecuencia	Porcentaje
Género del prematuro	Niño	139	50,5
	Niña	136	49,5
	Total	275	100

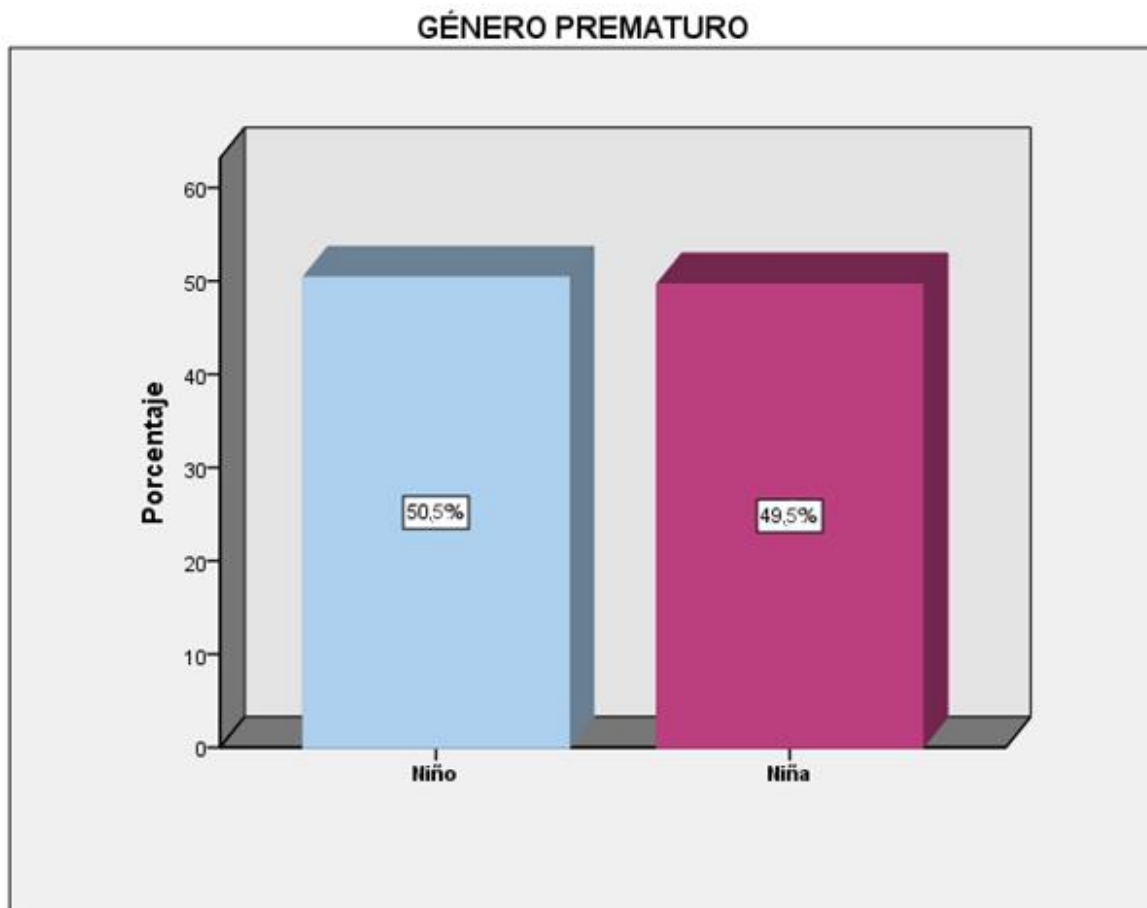


Figura 26. Diagrama de barras que representa la distribución de la frecuencia del género de los sujetos de nuestro estudio.

Uso de indometacina/ibuprofeno

Del total los de sujetos de la muestra, observamos que solo el 10,9% (30) de los prematuros requirió tratamiento con indometacina/ibuprofeno. El 89,1% (245) no precisó tratamiento con este fármaco (tabla 25).

Tabla 25. Tabla de frecuencias de la variable indometacina/ibuprofeno.

		Frecuencia	Porcentaje
Indometacina/ibuprofeno	No	245	89,1
	Sí	30	10,9
	Total	275	100

INDOMETACINA

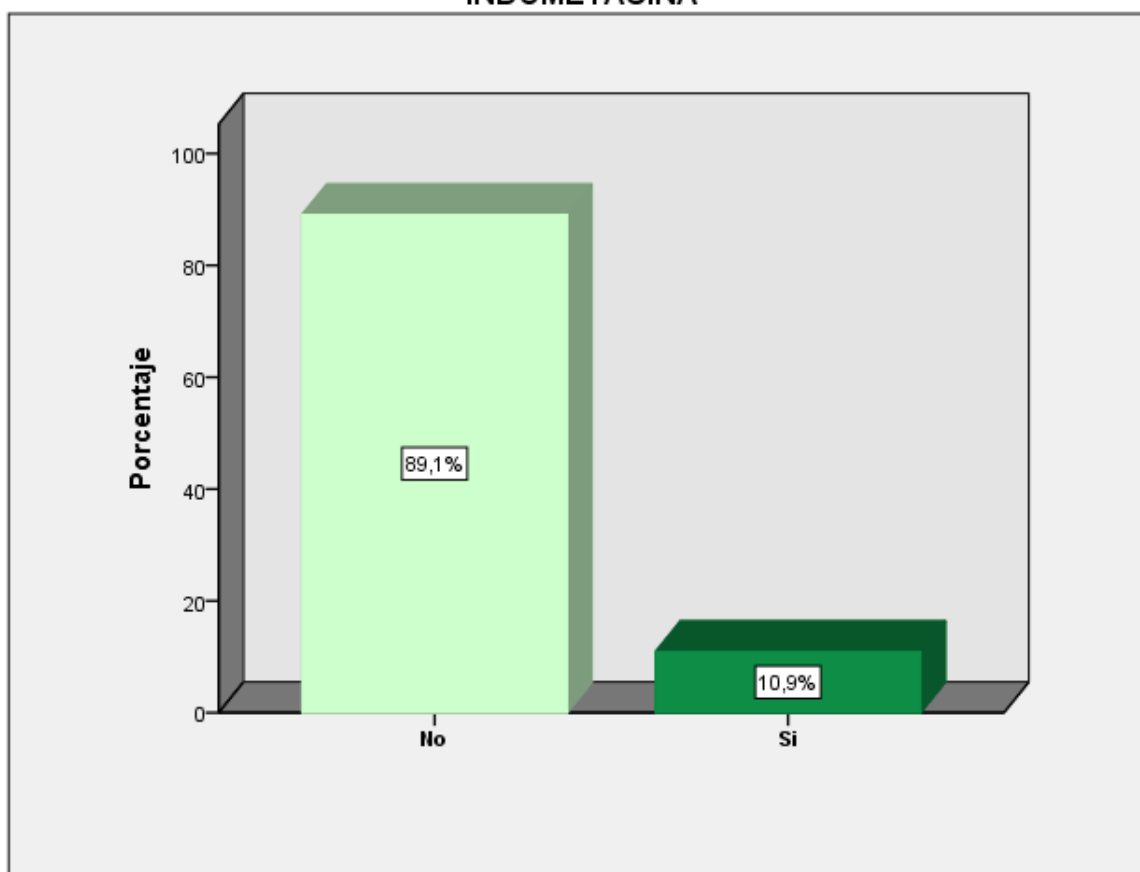


Figura 27. Diagrama de barras que representa la distribución de la frecuencia de uso de indometacina/ibuprofeno en los sujetos de nuestro estudio.

ROP severa

Del total de los sujetos de la muestra, el 16,4 % (45) de los prematuros presentó ROP severa (tabla 26).

Tabla 26. Tabla de frecuencias de la variable ROP severa.

		Frecuencia	Porcentaje
ROP Severa	No	230	83,6
	Sí	45	16,4
	Total	275	100

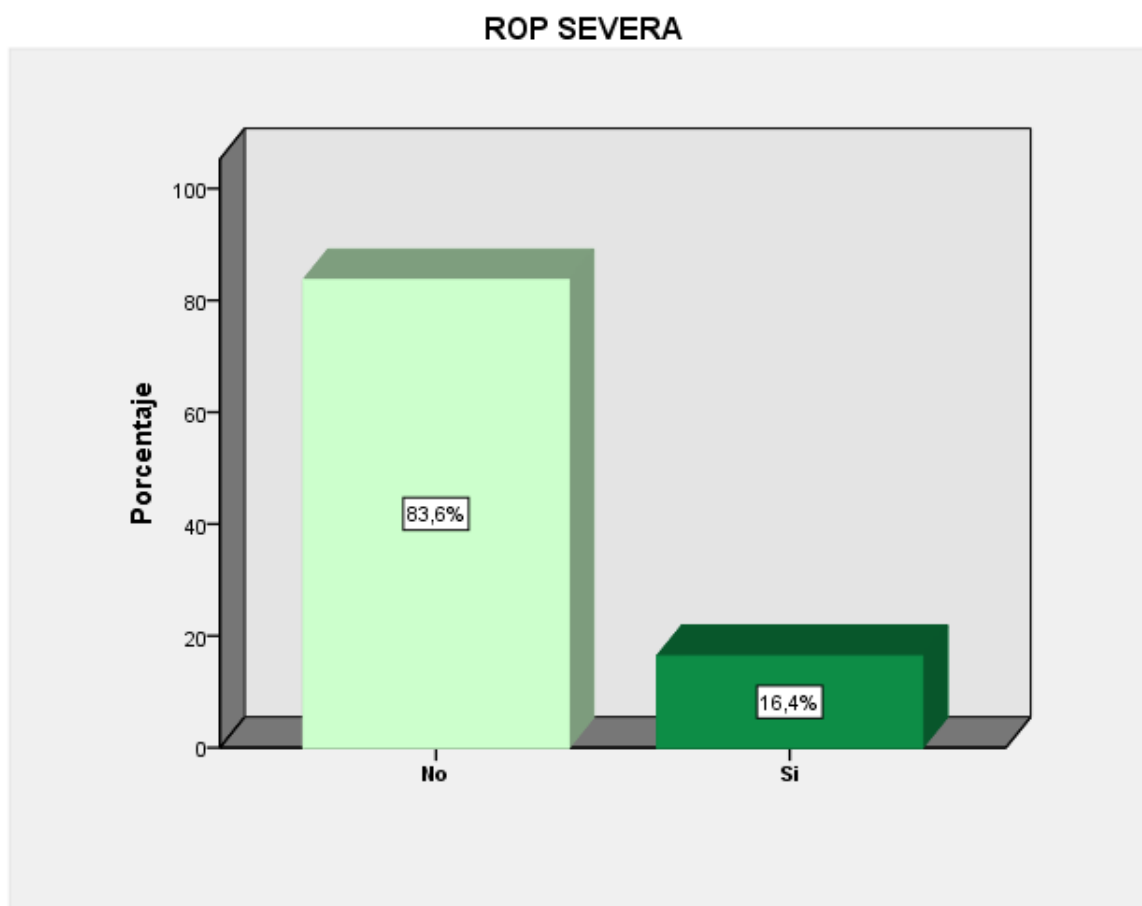


Figura 28. Diagrama de barras que representa la distribución de la frecuencia de la presencia de ROP severa en los sujetos de nuestro estudio.

Grado Plus

Observamos que el 11,6% (32) de los prematuros presentaron grado plus mientras que el 88,4% (243) no lo presentaron (tabla 27).

Tabla 27. Tabla de frecuencias de la variable grado plus.

		Frecuencia	Porcentaje
Grado Plus	No	243	88,4
	Sí	32	11,6
	Total	275	100

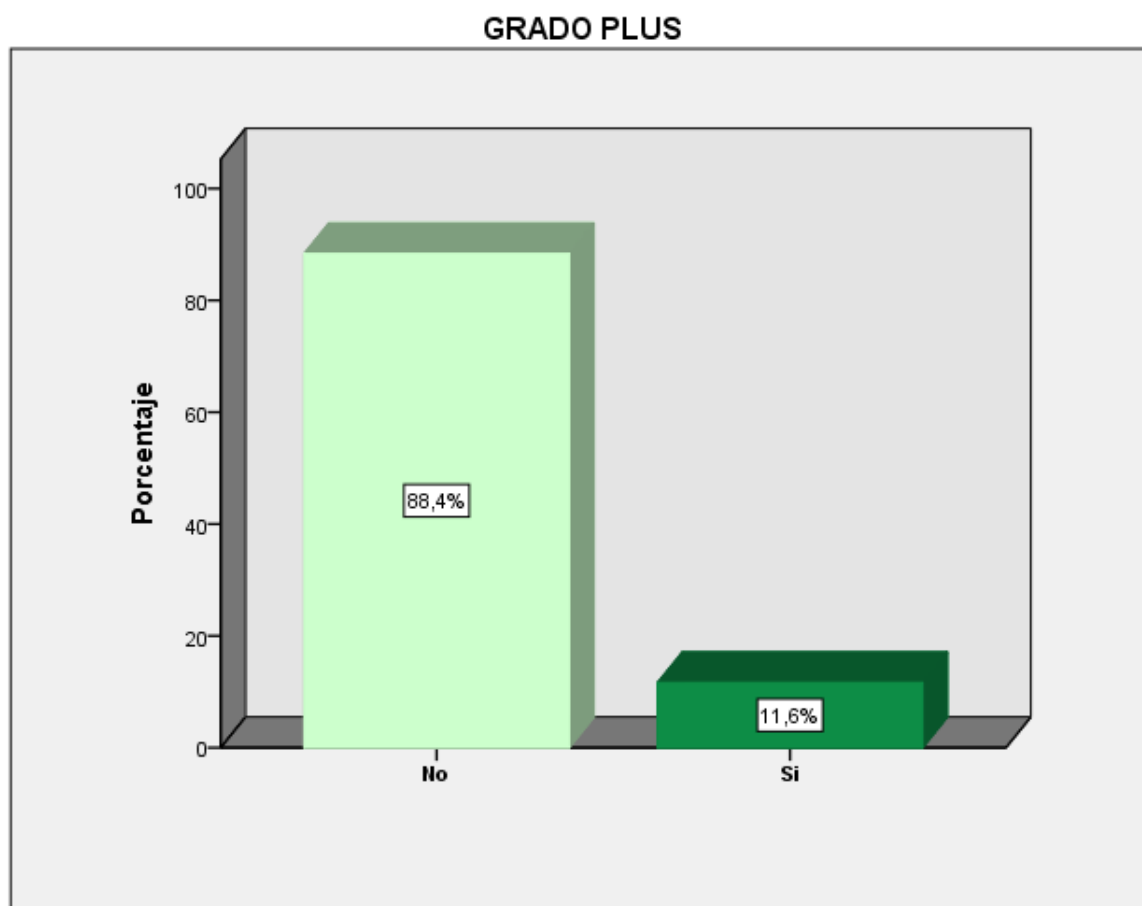


Figura 29. Diagrama de barras que representa la distribución de la frecuencia de la presencia de grado plus en los sujetos de nuestro estudio.

Muerte intrauterina fetal

Solo el 4% de los prematuros de nuestro estudio presentó muerte de su gemelo al nacimiento (tabla 28).

Tabla 28. Tabla de frecuencias de la variable muerte intrauterina fetal.

		Frecuencia	Porcentaje
Muerte intrauterina fetal	No	264	96
	Sí	11	4
	Total	275	100

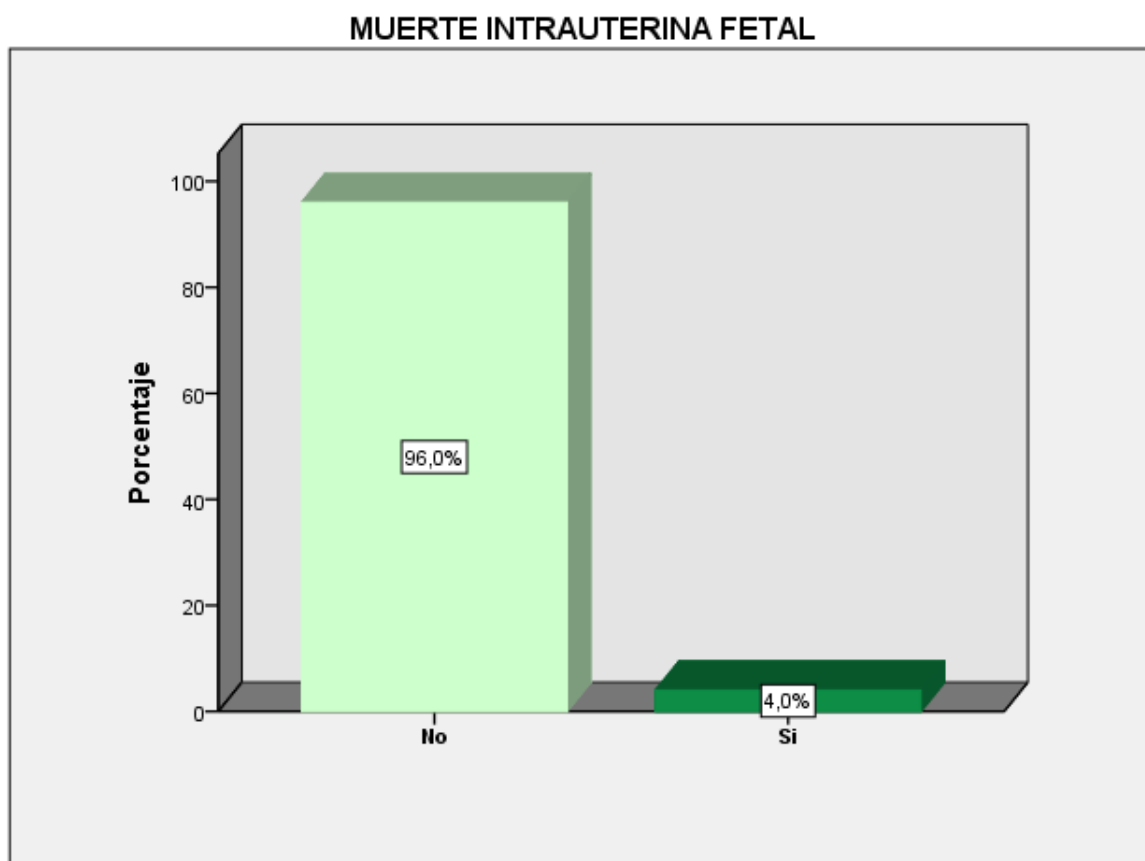


Figura 30. Diagrama de barras que representa la distribución de la frecuencia de la presencia de muerte intrauterina fetal en los sujetos de nuestro estudio

4.2 Análisis inferencial según presencia de ROP

4.2.1. Variables cuantitativas

EG

Hemos analizado la relación entre la EG y la presencia o ausencia de ROP, encontrando que a menor EG, mayor es la presencia de ROP. La relación es estadísticamente significativa con una $p < 0,0001$.

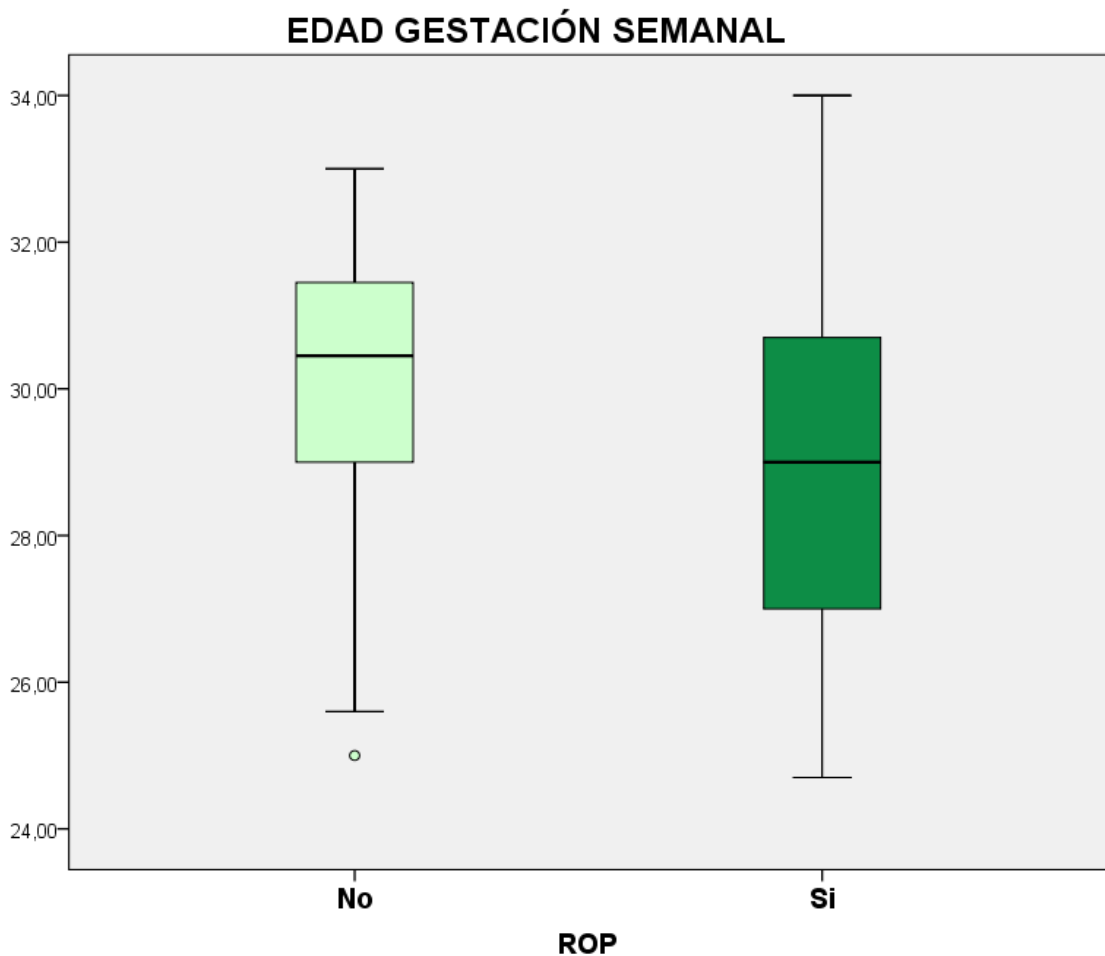


Figura 31. Diagrama de cajas que representa la relación entre EG y la ROP.

Tabla 29. Estadísticos de centralización y dispersión de la relación entre EG y la ROP.

			Media	Mediana	DS
EG	ROP	No	30,12	30,45	1,72
		Sí	28,84	29	2,20

EG de la primera exploración

Al analizar la relación entre la EG de la primera exploración y la ROP, encontramos que los niños con ROP son explorados a una EG menor que los que no presentan la enfermedad. La relación es estadísticamente significativa con una $p < 0,05$.

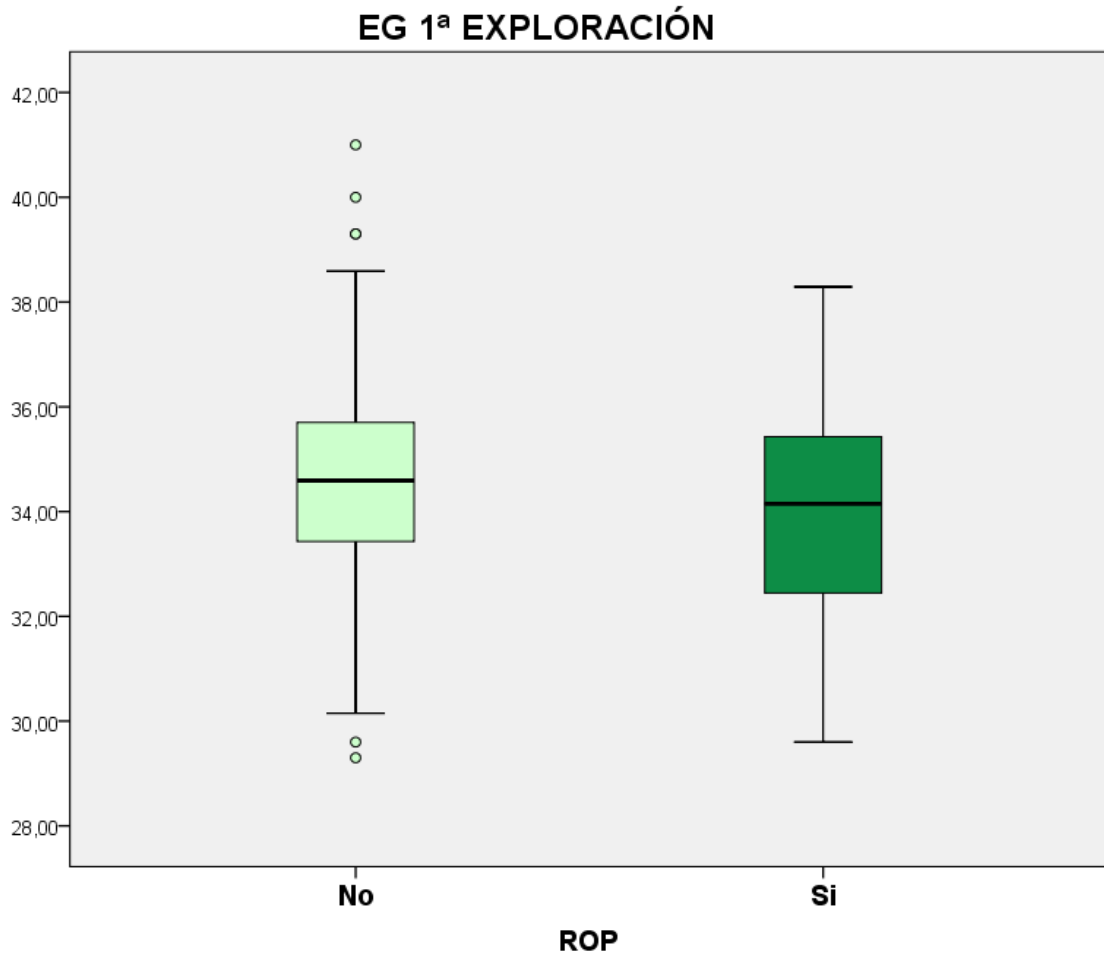


Figura 32. Diagrama de cajas que representa la relación entre la EG de la primera exploración y la ROP.

Tabla 30. Estadísticos de centralización y dispersión de la relación entre la EG de la primera exploración y la ROP.

			Media	Mediana	DS
EG 1°	ROP	No	34,51	34,59	2,08
Exploración		Sí	33,96	34,15	2,10

Peso al nacer

En cuanto a la relación entre el peso al nacer y la ROP, encontramos que cuanto menor es el peso, mayor es presencia de ROP. La relación es estadísticamente significativa con una $p < 0,0001$.

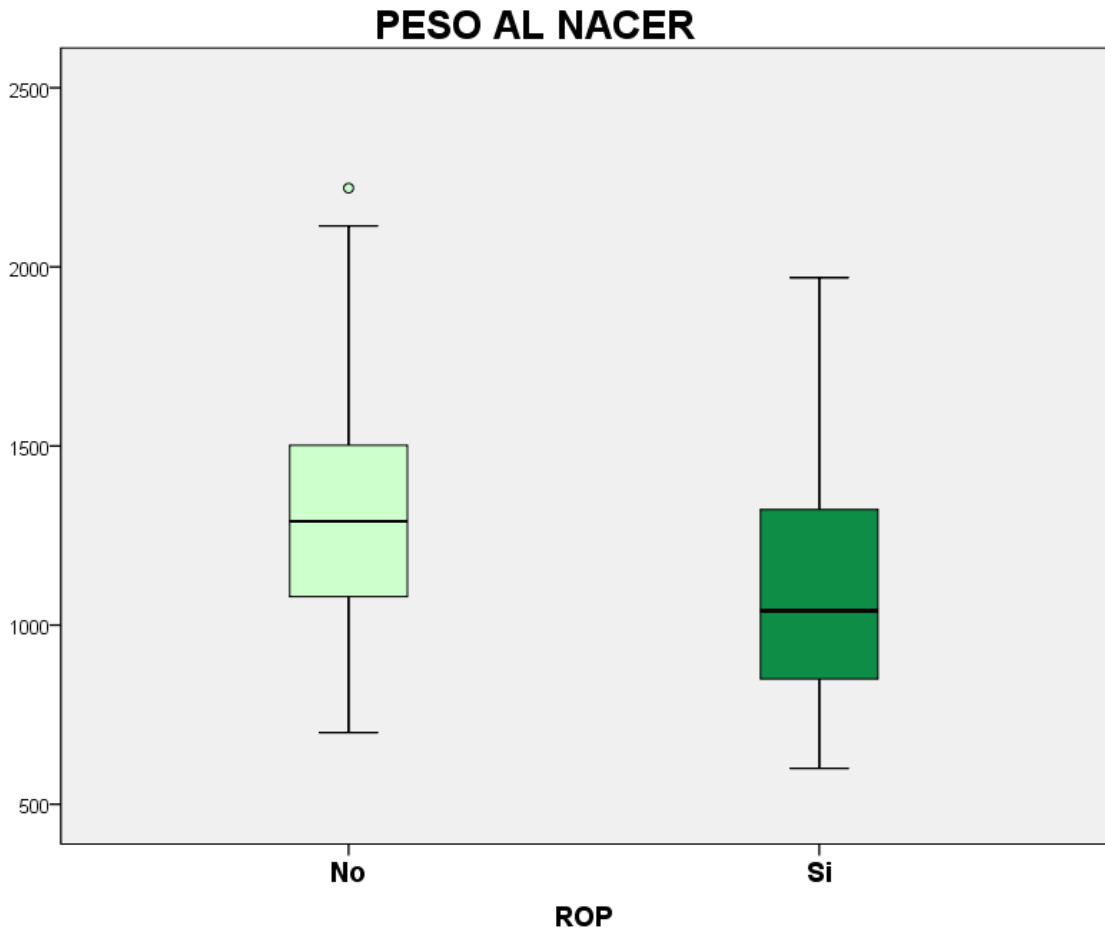


Figura 33. Diagrama de cajas que representa la relación entre el peso al nacer y la ROP.

Tabla 31. Estadísticos de centralización y dispersión de la relación entre peso al nacer y la ROP.

			Media	Mediana	DS
Peso al Nacer	ROP	No	1308,33	1289,50	293,29
		Sí	1095,44	1040	302,80

Área temporal sin vascularizar a las 4-6 semanas de vida

Respecto a la relación entre el área temporal sin vascularizar a las 4-6 semanas y la ROP, encontramos que el área temporal sin vascularizar es mayor cuanto mayor es la presencia de ROP. La relación es estadísticamente significativa con una $p < 0,0001$.

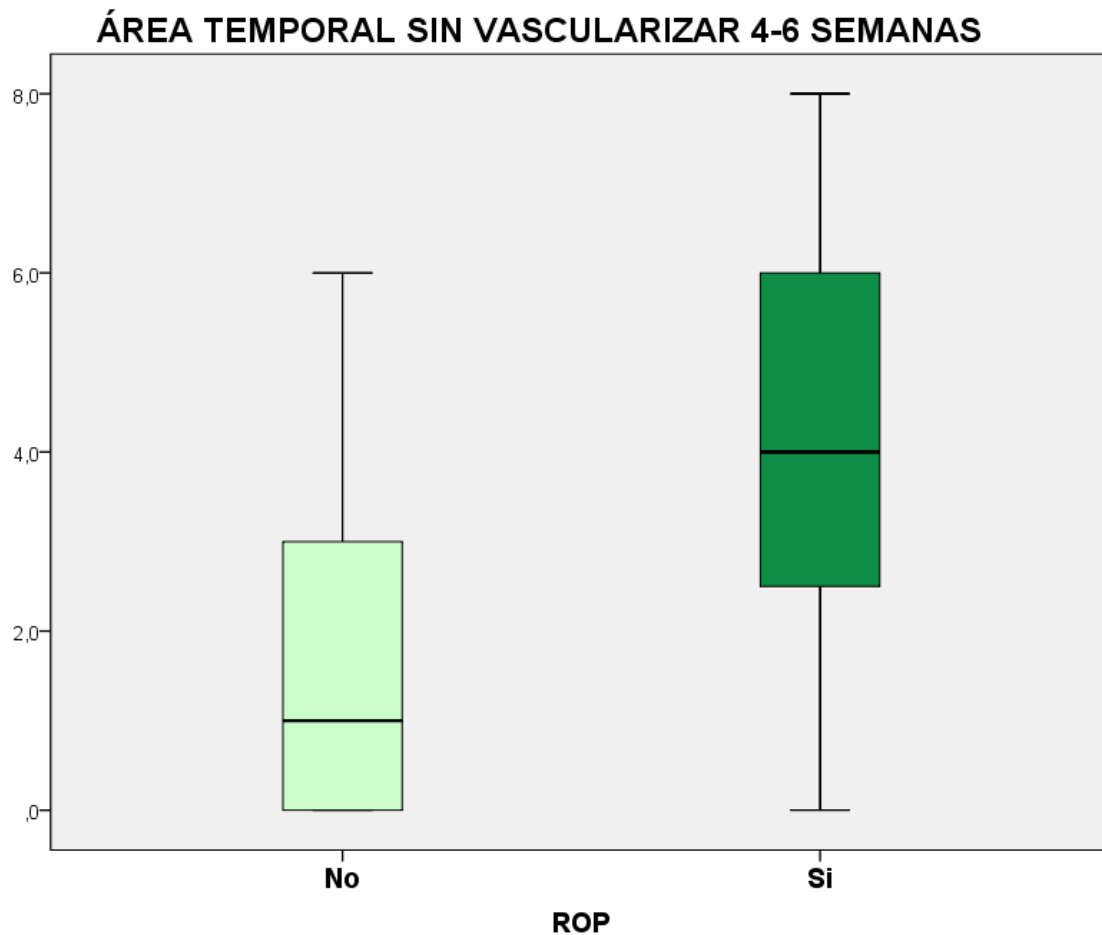


Figura 34. Diagrama de cajas que representa la relación entre el área temporal sin vascularizar y la ROP.

Tabla 32. Estadísticos de centralización y dispersión de la relación entre el área temporal sin vascularizar y la ROP.

			Media	Mediana	DS
Área temporal sin vascularizar	ROP	No	1,56	1	1,64
		Sí	3,94	4	1,86

Ganancia de peso a las 4-6 semanas de vida

Si analizamos la relación entre la ganancia de peso a las 4-6 semanas de vida y la ROP, encontramos que la ganancia de peso es menor cuanto mayor es la presencia de ROP. La relación es estadísticamente significativa con una $p < 0,0001$.

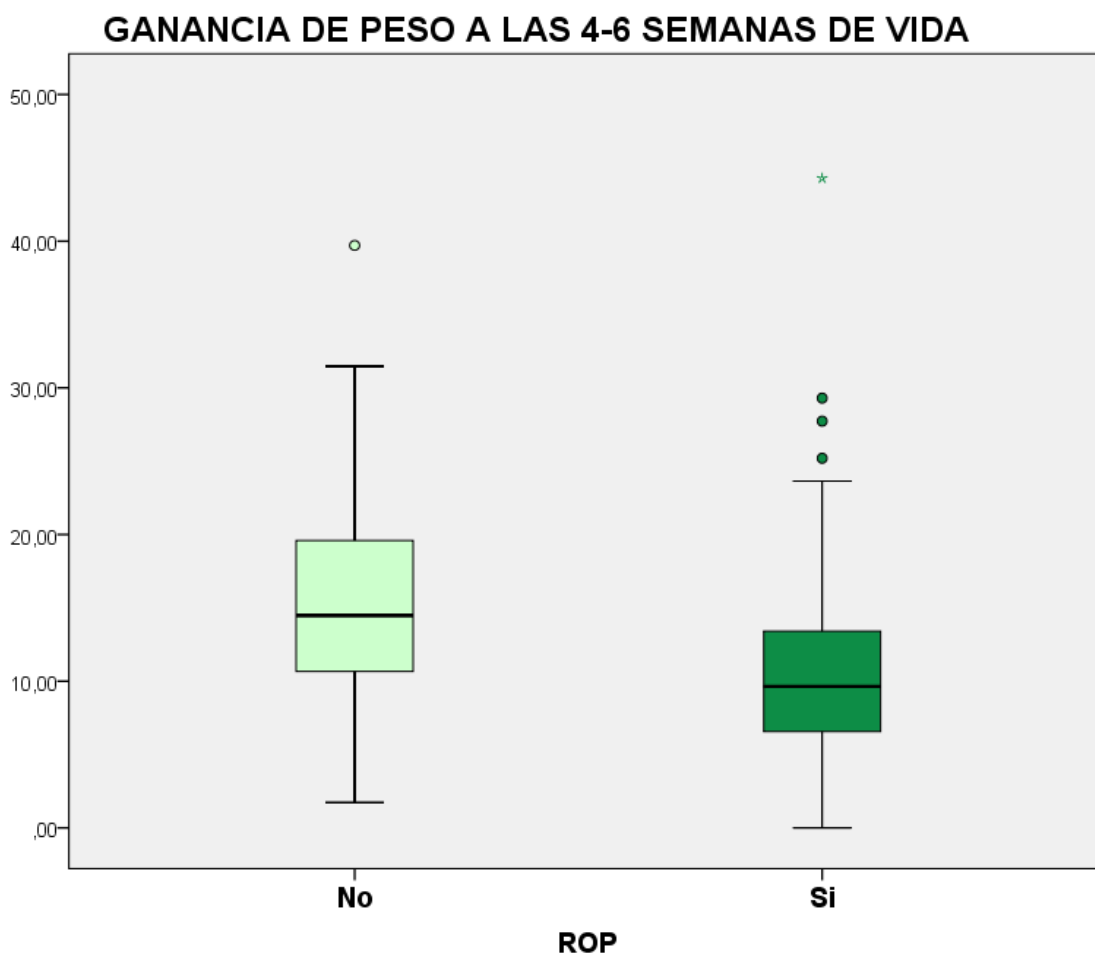


Figura 35. Diagrama de cajas que representa la relación entre la ganancia de peso a las 4-6 semanas y la ROP.

Tabla 33. Estadísticos de centralización y dispersión de la relación entre la ganancia de peso a las 4-6 semanas y la ROP.

			Media	Mediana	DS
Ganancia de	ROP	No	15,28	14,49	6,56
Peso		Sí	10,69	9,64	6,96

Días de CPAP

Al analizar la relación entre los tiempos de oxigenación por CPAP y la ROP, encontramos mayor tiempo de oxigenación por CPAP a mayor presencia de ROP. La relación es estadísticamente significativa con una $p < 0,05$.

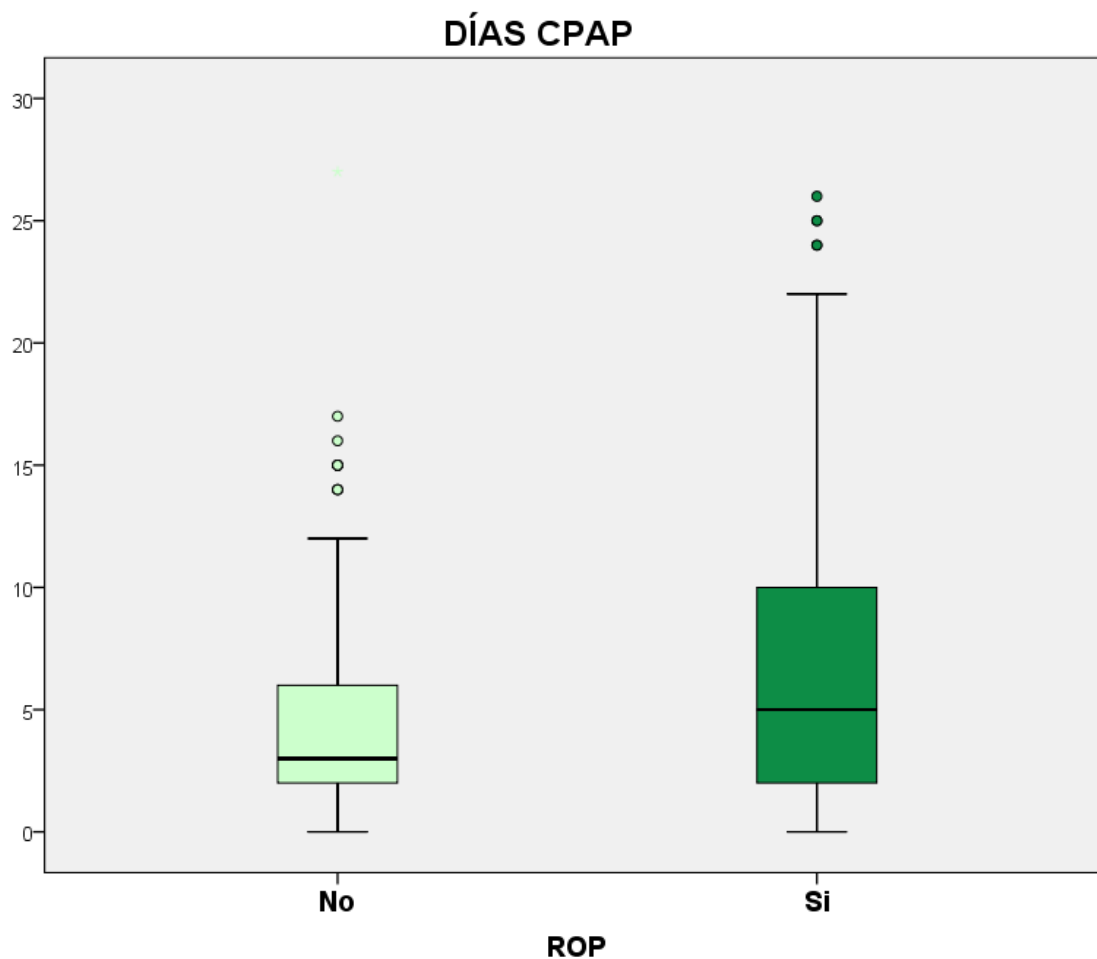


Figura 36. Diagrama de cajas que representa la relación entre el tiempo de oxigenación por CPAP y la ROP.

Tabla 34. Estadísticos de centralización y dispersión de la relación entre el tiempo de oxigenación por CPAP y la ROP

			Media	Mediana	DS
Días CPAP	ROP	No	4,65	3	4,13
		Sí	6,86	5	6,51

Tiempo de seguimiento

Al analizar la relación entre los tiempos de seguimiento y la ROP, encontramos que a mayor presencia de ROP el tiempo de seguimiento en semanas es mayor. La relación es estadísticamente significativa con una $p < 0,001$.

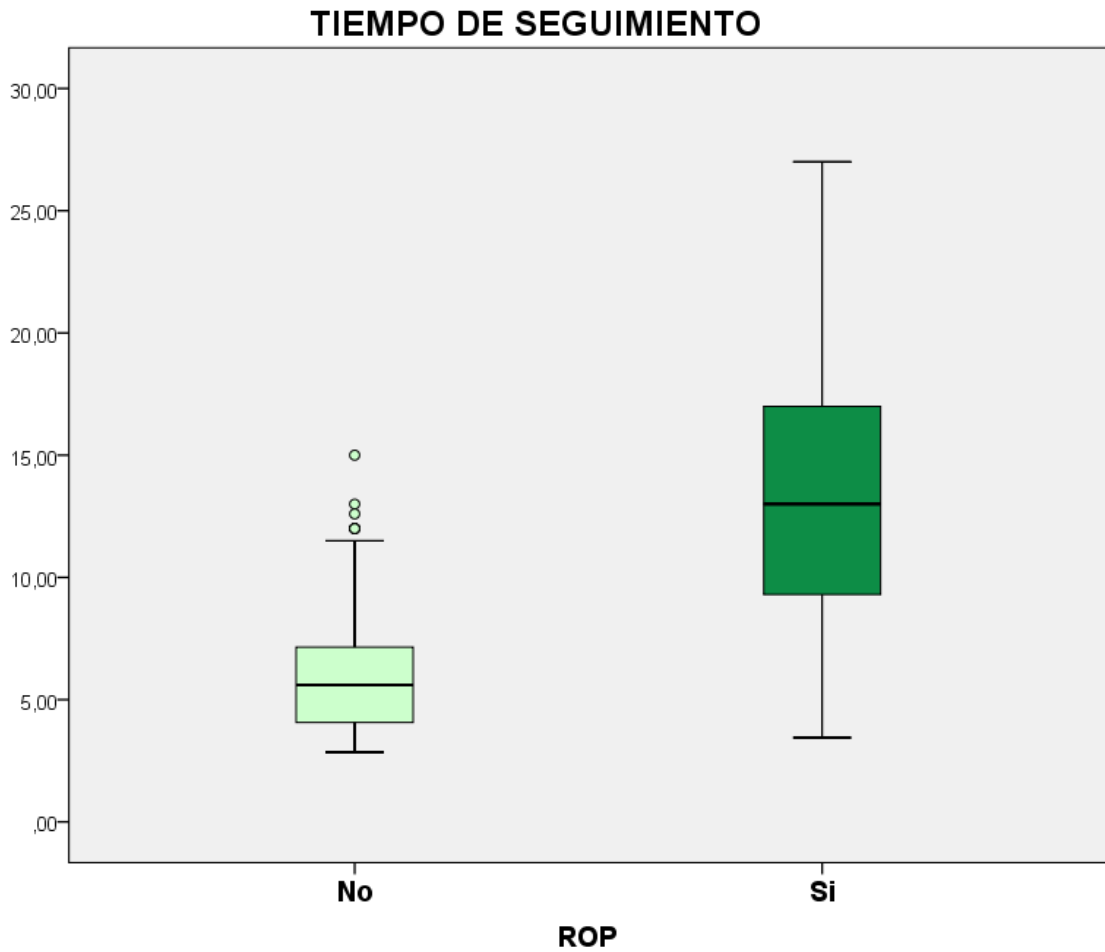


Figura 37. Diagrama de cajas que representa la relación entre tiempo de seguimiento y la ROP.

Tabla 35. Estadísticos de centralización y dispersión de la relación entre tiempo de seguimiento y la ROP.

			Media	Mediana	DS
Tiempo Seguimiento	ROP	No	6,05	5,60	2,31
		Si	13,28	13	5,12

4.2.2. Variables cualitativas

Días de intubación

Al analizar la relación entre la presencia o ausencia de ROP y la variable días de intubación (no intubación, entre 1-9 días de intubación y más de 9 días de intubación), se encontró una asociación estadísticamente significativa entre las dos variables $p = 0,0001$.

Para determinar dónde radiaba la asociación, se desglosó la tabla anterior en tablas de 2x2, encontrándose una asociación estadísticamente significativa ($p = 0,0001$) entre las variables días de intubación (no intubación; intubación más de 9 días). Observamos que de los prematuros que necesitaron más de 9 días de intubación, un 70,2% presentaban ROP frente a un 29,8% que no presentaban la enfermedad.

Tabla 36. Tabla de contingencia de la relación entre días de intubación y el desarrollo de ROP.

		ROP		Total	
		NO	SÍ		
Días de intubación	NO	Recuento	94	24	118
		% dentro de intubación	79,7%	20,3%	100,0%
	1-9 DÍAS	Recuento	69	31	100
		% dentro de intubación	69,0%	31,0%	100,0%
	>9 DÍAS	Recuento	17	40	57
		% dentro de intubación	29,8%	70,2%	100,0%
	Total	Recuento	180	95	275
		% dentro de intubación	65,5%	34,5%	100,0%

Transfusiones sanguíneas

Al analizar la relación entre la presencia o ausencia de ROP y la variable transfusiones sanguíneas (no transfusión, 1 transfusión y más de 1 transfusión), se encontró una asociación estadísticamente significativa entre las dos variables $p = 0,001$.

Procediendo del mismo modo, y para determinar dónde radiaba la asociación, se desglosó la tabla anterior en tablas de 2x2, encontrándose una asociación estadísticamente significativa ($p = 0,0001$) entre las variables transfusiones sanguíneas (no transfusión; más de 1 transfusión). Los prematuros que necesitaron más de 1 transfusión, un 90% presentaban ROP, frente a un 10% que no presentaba la enfermedad.

Tabla 37. Tabla de contingencia de la relación entre las transfusiones sanguíneas y el desarrollo de ROP.

			ROP		Total
			NO	SI	
Transfusiones sanguíneas	NO	Recuento	121	34	155
		% dentro de transfusión	78,1%	21,9%	100,0%
	1 transfusión	Recuento	58	52	110
		% dentro de transfusión	52,7%	47,3%	100,0%
	Más de 1 transfusión	Recuento	1	9	10
		% dentro de transfusión	10,0%	90,0%	100,0%
Total	Recuento	180	95	275	
	% dentro de transfusión	65,5%	34,5%	100,0%	

Lesión Ecografía/TAC

Al analizar la relación entre la presencia o ausencia de ROP y la variable lesión ECO/TAC (no lesión ECO/TAC; lesión ECO/TAC), se encontró una asociación estadísticamente significativa entre las dos variables $p = 0,001$.

De los prematuros que presentaron lesión ECO/TAC, un 63,8% presentaban ROP frente a un 36,2% que no presentaba la enfermedad.

Tabla 38. Tabla de contingencia entre la presencia la presencia de lesión en ecografía o TAC y el desarrollo de ROP

			ROP		Total
			NO	SI	
Lesión Ecografía /TAC	NO	Recuento	163	65	228
		% dentro de lesión ecografía /TAC	71,5%	28,5%	100,0%
	SI	Recuento	17	30	47
		% dentro de lesión ecografía /TAC	36,2%	63,8%	100,0%
Total		Recuento	180	95	275
		% dentro de lesión ecografía /TAC	65,5%	34,5%	100,0%

Apnea

Al analizar la relación entre la presencia o ausencia de ROP y la variable apnea (no apnea; sí apnea), se encontró una asociación estadísticamente significativa entre las dos variables $p = 0,001$.

De los prematuros que presentaron apnea, un 66,7% presentaron ROP, frente a un 33,3% que no presentaron la enfermedad.

Tabla 39. Tabla de contingencia de la relación entre la presencia de apnea y el desarrollo de ROP.

			ROP		Total
			NO	SI	
Apnea	NO	Recuento	171	77	248
		% dentro de apnea	69,0%	31,0%	100,0%
	SI	Recuento	9	18	27
		% dentro de apnea	33,3%	66,7%	100,0%
Total		Recuento	180	95	275
		% dentro de apnea	65,5%	34,5%	100,0%

Grado de DBP

Se analizó la relación entre la presencia o ausencia de ROP y la variable grado de DBP (no displasia, grado I, grado II, grado III, grado IV, grado V), y se encontró una asociación estadísticamente significativa entre las dos variables $p = 0,001$.

Con el objetivo de determinar dónde radiaba la asociación, se desglosó la tabla anterior en tablas de 2x2, encontrándose una asociación estadísticamente significativa ($p = 0,01$) entre las variables DBP (no displasia; DBP grado IV). De los prematuros que presentaron DBP grado IV, un 61,1% presentó ROP, frente a un 38,9% que no presentaba la enfermedad.

Tabla 40. Tabla de contingencia de la relación entre el grado de DBP y el desarrollo de ROP.

			ROP		Total
			NO	SI	
DBP	No displasia	Recuento	48	20	68
		% dentro de grado de DBP	70,6%	29,4%	100,0%
	Grado I	Recuento	15	4	19
		% dentro de grado de DBP	78,9%	21,1%	100,0%
	Grado II	Recuento	66	17	83
		% dentro de grado de DBP	79,5%	20,5%	100,0%
	Grado III	Recuento	44	43	87
		% dentro de grado de DBP	50,6%	49,4%	100,0%
	Grado IV	Recuento	7	11	18
		% dentro de grado de DBP	38,9%	61,1%	100,0%
Total		Recuento	180	95	275
		% dentro de grado de DBP	65,5%	34,5%	100,0%

Hemorragia cerebral

Al analizar la relación entre la presencia o ausencia de ROP y la variable hemorragia cerebral (no hemorragia cerebral; sí hemorragia cerebral), se encontró una asociación estadísticamente significativa entre las dos variables $p = 0,02$.

De los prematuros que presentaron hemorragia cerebral, un 51,5% presentaron ROP frente a un 48,50% que no presentó la enfermedad.

Tabla 41. Tabla de contingencia de la relación entre la presencia de hemorragia cerebral y el desarrollo de ROP.

			ROP		Total
			NO	SI	
Hemorragia cerebral	No	Recuento	164	78	242
		% dentro de hemorragia cerebral	67,8%	32,2%	100,0%
	Si	Recuento	16	17	33
		% dentro de hemorragia cerebral	48,5%	51,5%	100,0%
Total		Recuento	180	95	275
		% dentro de hemorragia cerebral	65,5%	34,5%	100,0%

DAP

Al analizar la relación entre la presencia o ausencia de ROP y la variable DAP (no DAP; sí DAP), se encontró una asociación estadísticamente significativa entre las dos variables $p = 0,0001$.

De los prematuros que presentaron hemorragia cerebral, un 62,2 % presentaron ROP frente a un 37,8% que no presentaron la enfermedad.

Tabla 42. Tabla de contingencia de la relación entre la presencia de DAP y el desarrollo de ROP.

			ROP		Total
			NO	SI	
DAP	NO	Recuento	166	72	238
		% dentro de DAP	69,7%	30,3%	100,0%
	SI	Recuento	14	23	37
		% dentro de DAP	37,8%	62,2%	100,0%
Total	Recuento		180	95	275
	% dentro de DAP		65,5%	34,5%	100,0%

Indometacina/ibuprofeno

Si analizamos la relación entre la presencia o ausencia de ROP y la variable uso de indometacina/ibuprofeno (no uso de indometacina/ibuprofeno; sí uso de indometacina/ibuprofeno), se encontró una asociación estadísticamente significativa entre las dos variables $p = 0,002$.

De los prematuros en los que se utilizó indometacina/ibuprofeno, un 60% presentaron ROP frente a un 40% que no presentaron la enfermedad.

Tabla 43. Tabla de contingencia de la relación entre el uso de indometacina/ibuprofeno y el desarrollo de ROP.

			ROP		Total
			NO	SI	
Indometacina/ ibuprofeno	NO	Recuento	168	77	245
		% dentro de indometacina/ibuprofeno	68,6%	31,4%	100,0%
	SI	Recuento	12	18	30
		% dentro de indometacina/ibuprofeno	40,0%	60,0%	100,0%
Total		Recuento	180	95	275
		% dentro de indometacina/ibuprofeno	65,5%	34,5%	100,0%

Muerte intrauterina fetal

Al estudiar la relación entre la presencia o ausencia de ROP y la variable muerte intrauterina fetal (no muerte intrauterina fetal; si muerte intrauterina fetal) se encontró una asociación estadísticamente significativa entre las dos variables $p = 0,0001$

De los prematuros que presentaron muerte intrauterina fetal de su gemelo, un 90 % presentaron ROP frente a un 10% que no presentaron la enfermedad.

Tabla 44. Tabla de contingencia de la relación entre la presencia de muerte intrauterina fetal y el desarrollo de ROP.

			ROP		Total
			NO	SI	
Muerte intrauterina fetal	no hermano o no fallece	Recuento	179	85	264
		% dentro de muerte intrauterina fetal	67,8%	32,2%	100,0%
	hermano fallece intraútero	Recuento	1	10	11
		% dentro de muerte intrauterina fetal	9,1%	90,9%	100,0%
Total		Recuento	180	95	275
		% dentro de muerte intrauterina fetal	65,5%	34,5%	100,0%

Tipo de gestación

Se analizó la relación entre la presencia o ausencia de ROP y la variable tipo de gestación (simple; monocigótico; dicigótico), y no se encontró una asociación estadísticamente significativa entre las dos variables $p = 0,19$.

Tabla 45. Tabla de contingencia de la relación entre el tipo de gestación y el desarrollo de ROP.

			ROP		Total
			NO	SI	
Tipo Gestación	Simple	Recuento	113	50	163
		% dentro de tipo de gestación	69,3%	30,7%	100,0%
	Monocigótico	Recuento	22	18	40
		% dentro de tipo de gestación	55,0%	45,0%	100,0%
	Dicigótico	Recuento	45	27	72
		% dentro de tipo de gestación	62,5%	37,5%	100,0%
Total	Recuento		180	95	275
	% dentro de tipo de gestación		65,5%	34,5%	100,0%

4.2.3. Análisis multivariante

La metodología seguida para hacer el análisis multivariante fue la siguiente:

Una vez hecho el análisis bivariante donde la variable de importancia es ROP, con las variables que dieron un resultado significativo en este análisis, se procedió a realizar regresiones logísticas bivariadas. Las variables que resultaron significativas fueron las que se incluyeron en el multivariante.

Tabla 46. Análisis de regresión logística de los factores de riesgo de la ROP.

	<i>B</i>	<i>Valor p</i>	<i>Exp (B)</i>	<i>Intervalo de confianza 95%</i>
<i>Días intubación</i>	1,4	0,01	4,18	1,77-9,89
<i>Ganancia de peso 4-6 semana</i>	-1,789	0,0001	0,17	0,07-0,41
<i>Transfusión</i>	3,01	0,01	20,20	1,85-221,09
<i>Sepsis</i>	0,75	0,03	2,12	1,07-4,20
<i>Peso al nacer</i>	0,02	0,003	0,99	0,98-1

El análisis de regresión logística múltiple reveló 5 factores de riesgo independientes para la ROP que se incluyeron en nuestro modelo: días de intubación (p 0,01), ganancia de peso (p 0,0001), transfusiones sanguíneas (p 0,01), sepsis (p 0,03) y peso al nacer (p 0,003). Este modelo clasifica correctamente en un 77,1% de los casos, con una especificidad del 89,4% (clasifica correctamente a los sanos como sanos) y una sensibilidad del 53,7% (clasifica correctamente a los enfermos como enfermos).

4.3. Factores que explican la variabilidad de la ROP: genotípicos, ambientales y aleatorios

La compleja interacción entre factores genéticos, factores ambientales y susceptibilidad individual explicaría por qué prematuros con características clínicas muy similares experimentan diferente evolución en lo que a retinopatía se refiere, a pesar de haber recibido medidas terapéuticas equivalentes. La mayoría de los estudios consideran que la heredabilidad la explicarían la herencia, el ambiente y un residuo correspondiente al ambiente que no podemos detectar, denominado error aleatorio.

En nuestro modelo, la ecuación que explicaría la variabilidad total en la ROP sería la siguiente:

Retinopatía del prematuro: herencia (h) + ambiente (a)+ error aleatorio (ε)

4.3.1. Influencia de la herencia o heredabilidad (h)

Contrastamos el grado de ROP entre los niños nacidos de parto gemelar monocigótico y los nacidos de parto gemelar dicigótico. Para ello, comparamos de forma consecutiva y apareada el ojo derecho de ambos gemelos. Se estudió la correlación del estadio de ROP en los 2 grupos descritos. Tras dicho análisis, obtuvimos una correlación (r) del grado de ROP en niños nacidos de parto múltiple (gemelos dicigóticos) de $r = 0.4184$, y una correlación del grado de ROP en nacidos de parto múltiple (gemelos monocigóticos) de $r = 0.8419$.

Una vez conocidos los valores de correlación para los grupos mencionados, y con objeto de determinar la proporción del grado de ROP achacable exclusivamente al factor herencia genética (heredabilidad), empleamos la fórmula matemática propuesta por Holzinger (136)

$$h = \frac{(r_{\text{monocigóticos}} - r_{\text{dicigóticos}})}{(1 - r_{\text{dicigóticos}})}$$

En dónde: h = heredabilidad; r = Coeficiente de correlación.

Al trasladar el valor de las correlaciones de los párrafos precedentes a la fórmula de Holzinger, hallamos que el grado de ROP es explicado en un 72.82% exclusivamente por la herencia genética que este recibió de sus progenitores.

4.3.2. Residuo aleatorio (ε)

Consideramos que el ojo derecho y el ojo izquierdo del prematuro deben tener el mismo grado de ROP, pues están determinados por el mismo patrón genético (100%) y sometidos a la influencia de los mismos factores ambientales.

Para determinar el porcentaje de variabilidad local en gemelos, o lo que es lo mismo, la diferencia esperable en el grado de ROP entre los ojos pertenecientes a un mismo gemelo, se realizó un análisis de la correlación para dicho grado entre el ojo derecho y el izquierdo (correlación intrapares). Así, se obtuvo una correlación del 95.88%

($r^2= 0.9588$, $t_{exp}= 50$, $1 g l$, $p < 0.0001$), por lo que la variabilidad local encontrada sería del 4.12% (100 % – 95.88%). Un 4.12% de los ojos presentaron un grado mayor o menor de retinopatía respecto al contralateral.

4.3.3. Influencia ambiental compartida (a1) y no compartida (a2)

De igual modo, podemos determinar la porción de variabilidad atribuible a la influencia ambiental (variante compartida y no compartida), conociendo que:

Influencia ambiental compartida (a 1) = $r_m - h$, de dónde $a1 = (0,8419 - 0,7282) = 0,1137$
x

100 = 11,37 %.

Influencia ambiental no compartida (a2) = $1 - h - a1 - \epsilon$; de dónde $a2 = 1 - 0,7282 - 0,1137 - 0,0412 = 0,1264$ x 100 = 11.69 %.

En nuestro caso y tras realizar los cálculos descritos, la ecuación que explicaría la variabilidad total en la retinopatía del prematuro, sería la siguiente (figura 1):

Retinopatía del prematuro (t) = 72,8 % (h) + 23.1 % (a) + 4,1 % (ϵ)

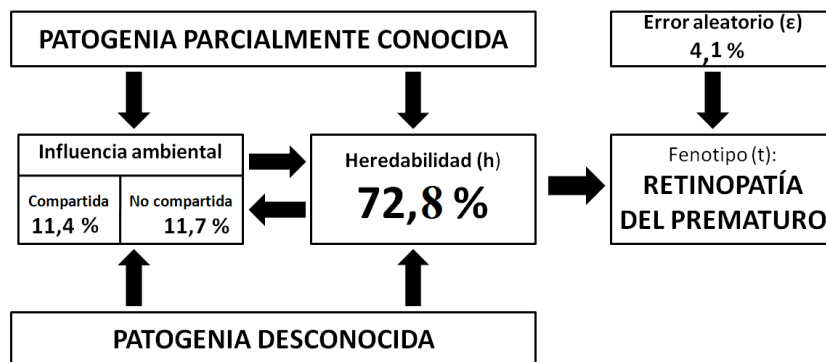


Figura 38. Influencia de los factores genéticos, ambientales y aleatorios en la fisiopatología de la ROP.

5. DISCUSIÓN

5.1. Limitaciones del estudio

La ROP es una vasoproliferación retiniana anómala que ocurre entre las 30 y 45 semanas de edad postgestacional. Su aparición y desarrollo están condicionados por la acción conjunta de caracteres hereditarios (137, 138) y factores ambientales, epigenéticos y aleatorios (32, 139).

El estudio de la heredabilidad de la ROP en gemelos es de gran dificultad. Requiere un análisis histológico de cada par gemelar y un periodo de seguimiento largo para conseguir una muestra suficiente que permita obtener unos resultados significativos.

Nosotros no pudimos realizar el estudio histológico, pero tal y como se describe en los apartados de material y métodos, utilizamos el estudio coriónico de la planta (monocoriónico y bicoriónico), el estudio hemático de la madre y los dos gemelos, el sexo de los prematuros y el tipo de fecundación (fecundación in vitro), lo que nos permitió clasificar a estos gemelos como monocigóticos o dicigóticos. No obstante, esto nos llevó a un número considerable de exclusiones (6%) en gemelos dicigóticos del mismo sexo y grupo sanguíneo, por carecer de estudio histológico o de ADN. Los estudios prospectivos futuros con pruebas genómicas que determinen la cigosidad, permitirán hacer comparaciones de grupos más grandes y del mismo sexo para corroborar nuestros hallazgos (121).

Otra limitación es el largo periodo de seguimiento de nuestro estudio (2000-2016), en los que se produjeron cambios en los cuidados postnatales. Los niveles de oxigenación en prematuros entre los años 2000-2009 eran alrededor del 95%. A partir del 2009, se redujeron estas cifras, manteniendo niveles entre el 85-93%. Además, a lo largo de la última década, se ha incrementado de forma significativa la supervivencia de los niños con muy baja EG (24-26 semanas).

5.2. Estudio de los factores que explican la variabilidad de la ROP: genotípicos, ambientales y aleatorios

Es conocido que el patrón de desarrollo vascular de la retina en los modelos de ROP realizado sobre camadas de ratones presenta una alta heredabilidad (67%), (140).

El desarrollo vascular de la retina viene medido por el ADN y transmitido por los genes a

su descendencia. Sin embargo, en el desarrollo vascular intervienen factores ambientales y aleatorios que lo modifican (38).

Los factores de riesgo actúan sobre el desarrollo vascular de la retina mediante cambios epigenéticos. Entendemos la epigenética como la ciencia que estudia aquellos cambios que no alteran la secuencia de ADN, pero que sí alteran su expresión y pueden ser heredables a la descendencia (141). El medio condiciona el grado de expresión de nuestros genes. Los cambios epigenéticos no son más que el resultado de la influencia del exterior y determinan nuestro fenotipo (142).

Las vías epigenéticas influyen la estructura y accesibilidad de la cromatina y por tanto, pueden inhibir, retrasar o acelerar el efecto transcripcional. En el sistema vascular, los mecanismos epigenéticos, actúan sobre la expresión génica endotelial con acciones de restricción celular (143, 144).

El diferente patrón genético podría explicar por qué en ausencia de factores de riesgo conocidos como la EG baja y los altos niveles de oxigenación, progresan hacia formas graves de la enfermedad (42).

En nuestra serie, los gemelos monocigóticos presentaban las mismas características y factores de riesgo que los gemelos dicigóticos. Sólo la edad de la madre era superior en el grupo de gemelos dicigóticos, hecho también encontrado en otras series (145). Por lo que las muestras pueden considerarse homogéneas.

El desarrollo adecuado de la retina y el cerebro fetales requiere de conexiones óptimas entre millones de neuronas. A pesar de la elevada complejidad de dicho proceso, las neuronas cerebrales establecen la conexión correcta con un bajo margen de error (3%)(146).

Los dos ojos del prematuro tienen la misma base genética, comparten los cambios epigenéticos generales y están sometidos a los mismos factores ambientales. Sin embargo, hallamos una diferencia del 4.1% en el estadio de ROP entre ambos ojos. Dicho valor, atribuido al error aleatorio, quizá podría ser explicado por la elevada complejidad del desarrollo neural y vascular de la retina. Este hallazgo es novedoso, no había sido publicado con anterioridad y conecta con la complejidad del sistema nervioso central, lo que creemos que es trasladable también al desarrollo vasculo-nervioso de la retina.

Consideramos heredabilidad a aquella porción de la variación fenotípica atribuible a la variación genética. Los estudios realizados en gemelos permiten obtener las tasas de heredabilidad. Para el caso concreto de la DBP, la heredabilidad estimada se encontraría entre el 79% y el 82% (122). Por su parte, el ductus arteriovenoso persistente tendría una heredabilidad del 76.1% (147) y la apnea del prematuro del 87% (140). La heredabilidad encontrada para la ROP en nuestro trabajo es del 72.8%, muy similar a la encontrada por Bizzarro 70.1% (41).

El desarrollo neurovascular de la retina está en gran parte condicionado genéticamente (148). Además, es modificado por un gran número de genes (28) y citoquinas (33). Estas citoquinas ejercen su acción en función de las condiciones ambientales locales y generales presentes. Actúan a modo de “interruptores”, activando o inactivando aquellos genes sobre los que ejercen su influencia, modulando en última instancia la estructura y la tasa de expresión del código genético (34, 149-152).

El genoma humano completo consta de 20.000 genes. En los pacientes con ROP, las mutaciones conocidas en 4 genes, NDP, BDNF, LRP5 y FZD4, confieren gravedad pero son poco frecuentes (20). Sin embargo, el estudio de los pacientes con ROP revela alteraciones del casi el 15% del genoma durante el primer mes de vida (153). Los fenómenos de hipoxia-reoxigenación determinan respuestas protectoras en los tejidos oculares, tales como glicolisis, vasodilatación, angiogénesis y transcripción inducida de eritropoyetina. Esto puede determinar respuestas transcripcionales oculares, afectando a la inflamación, la angiogénesis, el fracaso de energía y sistema RAS (16, 153).

La intensa unión neurovascular de la retina determina que las redes vasculares acompañen y se correlacionen con el desarrollo neural. En una primera fase de la ROP, ocurre la supresión de factores de desarrollo debido a la hiperoxia y la pérdida de la interacción materno-fetal. En una segunda fase, la hipoxia, isquemia e inflamación de la retina favorecen la proliferación vascular.

5.3. Caracterización de la muestra y estudio de los factores de riesgo asociados con la ROP

Hemos realizado un seguimiento de un total de 275 prematuros. De ellos, el 50,5% eran varones y el 49,5% pertenecían al sexo femenino. Atendiendo al tipo de gestación, el 59,3% nacieron de parto simple, el 14,5% fueron gemelos monocigóticos y el 26,2% restante se trataban de gemelos dicigóticos.

La media de peso al nacer en nuestro estudio fue de 1234,79 gramos y la media de la edad gestacional fue de 29,68 semanas. Resultados ligeramente superiores a los obtenidos en otros estudios relevantes como el estudio CRYO-ROP, en el que la media de peso al nacer fue de 954 gramos y la media de edad gestacional fue de 27,9 semanas (69).

En el estudio ET-ROP, en el que se incluyeron pacientes con estadios graves y que por tanto necesitaban tratamiento, los resultados fueron algo más inferiores 703 gramos y 25,3 semanas respectivamente (85).

Otro estudio llevado a cabo en España por Hernández y cols. y en el que se utilizaron mismos criterios de cribado (niños con ≤ 32 semanas de EG o con un peso al nacer ≤ 1500 gramos o >1500 gramos con curso clínico inestable) obtuvo resultados bastante similares a los nuestros con una media de peso al nacer de 1325 gramos y EG 29,67 semanas respectivamente.

Atendiendo a la incidencia de ROP en nuestra muestra de prematuros, esta fue del 34,5% (95 casos). Los casos de ROP severa (estadio 3+ o superior) representaron el 16,4% del total de la muestra. Al comparar nuestros resultados con los estudios multicentricos mencionados anteriormente, CRYO-ROP y ET-ROP, observamos una incidencia inferior en nuestra muestra. En el estudio CRYO-ROP la incidencia fue del 65,8% y en el ET-ROP del 68% (15).

Stoll BJ y cols., en otro estudio multicentrico en Estados Unidos en el que estudiaron niños prematuros con edad gestacional entre 22-28 semanas y peso comprendido entre 401-1500gramos, encontraron una incidencia de ROP del 59%. Los casos de ROP severa representaron el 16% del total de la muestra (154). La incidencia de ROP aumenta a medida que disminuye la EG y el peso al nacer (155).

En Europa existe una gran variabilidad en cuanto a las cifras de incidencia de ROP, debidas sobretudo a las variaciones en el diseño de los estudios y la EG de los prematuros que se estudian (156, 157).

En otros estudios llevados a cabo en nuestro país, encontramos una incidencia de ROP ligeramente inferior a la obtenida en nuestro estudio. Hernandez y cols. encontraron una incidencia de ROP del 32,5% y Gonzalez Viejo y cols. del 32,1% (15, 128).

Existen numerosas enfermedades como la ROP que se asocian a la prematuridad y que como sabemos, comparten algunos mecanismos fisiopatológicos con esta. Por tanto,

estas enfermedades, podrían actuar a su vez como factores de riesgo en el desarrollo de la ROP (158).

Al estudiar los diferentes factores de riesgo recogidos en nuestra muestra y su relación con el desarrollo de ROP, hemos encontrado una relación estadísticamente significativa con el número de días de intubación (indicador indirecto de hiperoxia), la baja ganancia de peso postnatal (indicador indirecto de insuficiente nutrición), el desarrollo de sepsis, las transfusiones sanguíneas y el peso al nacimiento.

Gantz y cols. y Ying y cols, en sus trabajos, estudiaron la relación entre los días de intubación y la presencia de ROP encontrando una relación estadísticamente significativa (80, 159).

La baja ganancia de peso postnatal es un factor de riesgo de desarrollo de la ROP ampliamente conocido y estudiado. De hecho, se ha propuesto que la ganancia de peso postnatal sea utilizada como medida de cribado para el diagnóstico de la ROP (53, 160-162).

La sepsis está muy relacionada con todas las patologías asociadas a la prematuridad. Se trata de un indicador indirecto de inflamación. Goldstein y cols. y Wu y colaboradores, también estudiaron la sepsis y su relación con el desarrollo de la ROP encontrando una relación estadísticamente significativa (163, 164).

La exanguinotransfusión utilizada como tratamiento de la hiperbilirrubinemia grave en recién nacidos prematuros, también ha sido estudiada en nuestro trabajo encontrando una relación estadísticamente significativa con el desarrollo de la ROP. Stutchfield y cols. también encontraron una relación significativa entre la realización de exanguinotransfusiones y el desarrollo de la ROP (164, 165).

El peso al nacimiento y la EG presentan una alta correlación. Por ello, cuando en los distintos trabajos se comparan estos factores frente al riesgo de desarrollar ROP, una de las variables desplaza a la otra como factor de riesgo (tienen alta colinealidad). Esto hace que ambos factores de riesgo no resulten significativos en el mismo análisis estadístico. En nuestra serie la relación entre bajo peso al nacer y la ROP resultó estadísticamente significativa (54, 166, 167).

6. CONCLUSIONES

1. El objetivo principal de nuestro estudio fue el de determinar la tasa de heredabilidad de la ROP (porción atribuible a un origen exclusivamente genético). Para ello hemos estudiado y comparado una muestra de gemelos monocigóticos y dicigóticos, encontrando que los factores genéticos explican el 72,8% de la variabilidad en el desarrollo de la ROP.

2. Dentro de los objetivos secundarios planteamos el de establecer la variabilidad de la heredabilidad explicada por factores ambientales compartidos, factores ambientales no compartidos y un residuo aleatorio. Hemos hallado que la influencia ambiental representa el 23,1% de la variabilidad en el desarrollo de la ROP. De dicha influencia desglosamos factores ambientales no compartidos por ambos gemelos, que constituyen el 11,7% de la variabilidad en el desarrollo de la ROP, y factores ambientales o de riesgo compartidos, que representan el 11,4%. El residuo aleatorio explica el 4,12% de la variabilidad en el desarrollo de la ROP.

3. Como último objetivo, propusimos determinar los factores de riesgo que se relacionan con la aparición de ROP. Los factores de riesgo que resultaron significativos en nuestro modelo fueron: el número de días de intubación, la ganancia de peso en las 4-6 semanas de vida, realización de transfusiones sanguíneas, el desarrollo de sepsis y un menor peso al nacer.

7. BIBLIOGRAFÍA.

1. Flynn JT. Retinopathy of prematurity. In Eichenbaum JW, Mamelock A, Mittle RN, Orellana J, eds. Treatment of retinopathy of prematurity. Chicago, Mosby-Year Book. 1990. pp. 81-117.
2. Peralta Calvo J. Retinopatía del prematuro: Factores etiológicos y tratamiento mediante crioterapia sectorial. [Universidad Autónoma de Madrid. Thesis doctoralis]. 1992: 175.
3. Recchia FM, Capone A. Contemporary understanding and management of retinopathy of prematurity. *Retina*. 2004; 24(2): 282-292.
4. Yang CY, Lien R, Yang PH, Chu SM, Hsu JF, Fu RH, et al. Analysis of Incidence and Risk Factors of Retinopathy of Prematurity among very-low-birth-weight infants in North Taiwan. *Paediatric Neonatol*. 2011. 52(6): 321-326.
5. Terry TL. Extreme prematurity and fibroplastic overgrowth of persistent vascular sheath behind each crystalline lens: I. Preliminary report. *Am J Ophthalmol*. 2018. 192: 28.
6. Kinsey VE, Hemphill FM. Etiology of retrolental fibroplasia and preliminary report of cooperative study of retrolental fibroplasia. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol*. 1955; 59(1): 15-24.
7. Kinsey VE. Retrolental fibroplasia; cooperative study of retrolental fibroplasia and the use of oxygen. *AMA Arch Ophthalmol* 1956; 56(4): 481-543.
8. Gibson DL, Sheps SB, Schechter MT, Wiggins S, McCormick AQ. Retinopathy of prematurity: a new epidemic?. *Pediatrics*. 1989; 83(4): 486-492.
9. The international Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity. An international classification of retinopathy of prematurity. *Arch Ophthalmol*. 1984; 102(8): 1130-1134.
10. The International Committee for the Classification of the Late Stages of Retinopathy of Prematurity: II. The classification of retinal detachment. *Arch Ophthalmol*. 1987; 105: 906-912.

11. Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Multicenter Trial of Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity: Snellen visual acuity and structural outcome at 5 1/2 years after randomization. *Arch Ophthalmol*. 1996; 114: 417-424.
12. Chen J, Stahl A, Ann Hellstrom A, Smith LE. Current update on retinopathy of prematurity: screening and treatment. *Curr Opin Pediatr*. 2011; 23(2): 173–178.
13. Menke MN, Framme C, Nelle M, Berger MR, Sturm V, Wolf S. Intravitreal ranibizumab monotherapy to treat retinopathy of prematurity zone II, stage 3 with plus disease. *BMC Ophthalmol*. 2015; 15: 20.
14. Vander JF, McNamara JA, Tasman W, Brown GC. Revised indications for early treatment of retinopathy of prematurity. *Arch Ophthalmol*. 2005; 123(3):406-410.
15. Hernandez M, Orduna C, Bosch V, Salinas R, Alcaraz JL, Marín JM. Retinopathy of Prematurity in the Murcia Region of Spain. Incidence and severity. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2008; 83: 423-428.
16. García-Serrano JL, Uberos Fernández J, Anaya-Alaminos R, Jerez-Calero A, Padilla-Torres JF, Ramírez-García MC, et al. "Oxygen with love" and diode laser treatment decreases comorbidity and avoidable blindness due to retinopathy of prematurity: results achieved in the past 12 years. *Pediatr Neonatol*. 2013; 54(6): 397-401.
17. Hoogerwerf A, Schalijs-Delfos NE, van Schooneveld MJ, Termote JU. Incidence of retinopathy of prematurity over the last decade in the Central Netherlands. *Neonatology*. 2010; 98(2): 137-142.
18. Chan H, Cougnard-Grégoire A, Korobluk JF, Delyfer MN, Touboul D, Coste V, et al. Screening of retinopathy of prematurity by telemedicine in a tertiary level neonatal intensive care unit in France: review of a six-year period. *J Fr Ophtalmol*. 2018; 41(10): 926-932.
19. Hartnett ME, Penn JS. Mechanisms and management of retinopathy of prematurity. *N Engl J Med*. 2012; 27: 367(26): 2515-2526.
20. Hellström A, Smith LE, Dammann O. Retinopathy of prematurity. *Lancet*. 2013; 382(9902): 1445-1457.

21. Quinn GE, Ying GS, Bell EF, Donohue PK, Morrison D, Tomlinson LA, Binenbaum G, et al. Incidence and Early Course of Retinopathy of Prematurity: Secondary Analysis of the Postnatal Growth and Retinopathy of Prematurity (G-ROP) Study. *JAMA Ophthalmol.* 2018; 136(12): 1383-1389.
22. Flynn JT, Bancalari E, Bawol R. "Retinopathy of prematurity: Diagnosis, severity and natural history". *Ophthalmology.* 1987; 94: 620-629.
23. Ashton N. Oxygen and the growth and development of retinal vessels. In vivo and in vitro studies. The XX Francis I. Proctor Lecture. *Am J Ophthalmol.* 1966; 62(3): 412-435.
24. Flynn JT, Chan-Ling T. Retinopathy of prematurity: two distinct mechanisms that underlie zone 1 and zone 2 disease. *Am J Ophthalmol.* 2006; 142(1): 46-59.
25. Lutty GA, Chan-Ling T, Phelps DL, Adamis AP, Berns KL, Chan CK, et al. Proceedings of the third international symposium on retinopathy of prematurity: an update on ROP from the lab to the nursery (November 2003, Anaheim California). *Mol Vis.* 2006; 12: 532-580.
26. Smith LE. IGF-1 and retinopathy of prematurity in the preterm infant. *Biol Neonate.* 2005; 88: 237-244.
27. Hutchenson KA. Retinopathy of prematurity. *Curr Opin Ophthalmol.* 2003; 14(5): 286-290.
28. Sato T, Kusaka S, Shimojo H, Fujikado T. Simultaneous analyses of vitreous levels of 27 cytokines in eyes with retinopathy of prematurity. *Ophthalmology.* 2009; 116(11): 2165-2169.
29. Hartnett ME. Advances in understanding and management of retinopathy of prematurity. *Surv Ophthalmol.* 2017; 62(3): 257-276.
30. Zeng G, Taylor SM, McColm JR, Kappas NC, Kearney JB, Williams LH, et al. Orientation of endothelial cell division is regulated by VEGF signaling during blood vessel formation. *Blood.* 2007; 109(4): 1345-1352.
31. Hellström A, Engstrom E, Hard AL, Albertsson-Wikland K, Carlsson B, Niklasson A, et al. Postnatal serum insulin-like growth factor I deficiency is associated with

- retinopathy of prematurity and other complications of premature birth. *Pediatrics*. 2003; 112(5): 1016-1020.
32. Jaenisch R, Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet*. 2003; 33: Suppl: 245 – 254.
33. Lippman Z, Gendrel AV, Black M, Vaughn MW, Dedhia N, McCombie WR, et al. Role of transposable elements in heterochromatin and epigenetic control. *Nature*. 2004; 430: 471–476.
34. Cedar H, Bergman Y. Linking DNA methylation and histone modification: patterns and paradigms. *Nat Rev Genet*. 2009; 10: 295–304.
35. Baserga M, Kaur R, Hale MA, et al. Fetal growth restriction alters transcription factor binding and epigenetic mechanisms of renal 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in a sex-specific manner. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2010; 299(1): R334-342.
36. Yanamandra K, Napper D, Pramanik A, Bocchini JA, Dhanireddy R. Endothelial nitric oxide synthase genotypes in the etiology of retinopathy of prematurity in premature infants. *Ophthalmic Genet*. 2010; 31(4): 173-177.
37. Shastry BS. Genetic susceptibility to advanced retinopathy of prematurity (ROP). *J Biomed Sci*. 2010; 17(1): 69.
38. O'Bryhim BE, Radcliff J, Macdonald SJ, Symons RC. The genetic control of avascular area in mouse oxygen-induced retinopathy. *Mol Vis*. 2012; 18: 377-389.
39. Hiraoka M, Takahashi H, Orimo H, Hiraoka M, Ogata T, Azuma N. Genetic screening of Wnt signaling factors in advanced retinopathy of prematurity. *Mol Vis*. 2010; 16: 2572-2577.
40. Mohamed S, Schaal K, Cooper ME, Ahrens E, Alvarado A, Colaizy T, et al. Genetic contributions to the development of retinopathy of prematurity. *Pediatr Res*. 2009; 65(2): 193-197.
41. Bizzarro MJ, Hussain N, Jonsson B, Feng R, Ment LR, Gruen JR, et al. Genetic susceptibility to retinopathy of prematurity. *Pediatrics*. 2006; 118(5): 1858-1863.

42. Swan R, Kim SJ, Campbell JP, Paul Chan RV, Sonmez K, Taylor KD, et al. The genetics of retinopathy of prematurity: a model for neovascular retinal disease. *Ophthalmol Retina*. 2018; 2(9): 949-962.
43. Dailey WA, Gryc W, Garg PG, Drenser KA. Frizzled-4 Variations Associated with Retinopathy and Intrauterine Growth Retardation: A Potential Marker for Prematurity and Retinopathy. *Ophthalmology*. 2015; 122(9): 1917-1923.
44. Ells A, Guernsey DL, Wallace K, Zheng B, Vincer M, Allen A, et al. Severe retinopathy of prematurity associated with FZD4 mutations. *Ophthalmic Genet*. 2010; 31(1): 37-43.
45. Kondo H, Kusaka S, Yoshinaga A, Uchio E, Tawara A, Tahira T. Genetic variants of FZD4 and LRP5 genes in patients with advanced retinopathy of prematurity. *Mol Vis*. 2013; 19: 476-485.
46. Hartnett ME, Morrison MA, Smith S, Yanovitch TL, Young TL, Colaizy T, et al. Genetic variants associated with severe retinopathy of prematurity in extremely low birth weight infants. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014; 55(10): 6194-6203.
47. Hartnett ME, Cotten CM. Genomics in the neonatal nursery: Focus on ROP. *Semin Perinatol*. 2015; 39(8): 604-610.
48. Hellström A, Ley D, Hansen-Pupp I, Hallberg B, Ramenghi LA, Löfqvist C, et al. IGF-I in the clinics: Use in retinopathy of prematurity. *Growth Horm IGF Res*. 2016; 31: 75-80.
49. Saugstad OD. Oxygenation of the Immature Infant: A Commentary and Recommendations for Oxygen Saturation Targets and Alarm Limits. *Neonatology*. 2018; 114(1): 69-75.
50. Sears JE, Pietz J, Sonnie C, Dolcini D, Hoppe G. A Change in Oxygen Supplementation can decrease the incidence of Retinopathy of Prematurity. *Ophthalmology*. 2009; 116(3): 513-518.
51. Darlow BA, Lui K, Kusuda S, Reichman B, Hakansson S, Bassler D, et al. International variations and trends in the treatment for retinopathy of prematurity. *Br J Ophthalmol*. 2017; 101(10): 1399-1404.

52. Shah VA, Yeo CL, Ling YL, Ho LY. Incidence, risk factors of retinopathy of prematurity among very low birth weight infants in Singapore. *Ann Acad Med Singapore*. 2005; 34(2): 169-178.
53. Li Y, Shah M, Miller MR, Lee DSC, Sharan S. Impact of Early Postnatal Weight Gain on Retinopathy of Prematurity in Very Preterm Infants in Southwestern Ontario. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*. 2019; 22: 56(3): 168-172.
54. González EL. Tratamiento de la colinealidad en regresión múltiple. *Psicothema*. 1998; 10(2):491-507.
55. Comisión de Mortalidad y grupos GEN de la SEN. SEN 1500: Análisis de resultados de los datos de morbimortalidad. 2019. Disponible en: <http://www.se-neonatal.es/>
56. Ali AA, Gomaa NAS, Awadein AR, AL-Hayouti HH, Hegazy AL. Retrospective cohort study shows that the risks for retinopathy of prematurity included birth age and weight, medical conditions and treatment. *Acta Paediatr*. 2017; 106(12): 1919-1927.
57. Anaya-Alaminos R, García-Serrano JL, Cantero-Hinojosa J. Prenatal and postnatal factors increase risk of severe ROP. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2014; 27(6): 635-636.
58. Ortega-Molina JM, Solans-Pérez de Larraya A, Salgado-Miranda A, Jerez-Calero A, Uberos-Fernández J, Gonzalez Ramirez AR, et al. Risk Factors of Retinopathy of Prematurity Associated with Delayed Retinal Vascular Development. *Iran J Pediatr*. 2017; 27(4): e7642.
59. International Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity. The International Classification of Retinopathy of Prematurity revisited. *Arch Ophthalmol*. 2005; 123(7): 991-999.
60. Chiang MF, Thyparampil PJ, Rabinowitz D. Interexpert agreement in the identification of macular location in infants at risk for retinopathy of prematurity. *Arch Ophthalmol*. 2010; 128(9): 1153-1159.
61. Lorenz B, Stieger K, Jäger M, Mais C, Stieger S, Andrassi-Darida M. Retinal Vascular Development with 0.312mg Intravitreal Bevacizumab to treat Severe

- Posterior Retinopathy of Prematurity: a longitudinal Fluorescein Angiographic Study. *Retina*. 2017; 37(1): 97-111.
62. Vinekar A, Rao SV, Murthy S, Jayadev C, Dogra MR, Verma A, et al. A Novel, Low-Cost, Wide-Field, Infant Retinal Camera, "Neo". Technical and Safety Report for the Use on Premature Infants. *Transl Vis Sci Technol*. 2019; 8(2): 2.
 63. Schaffer DB, Palmer EA, Plotsky DF, Metz HS, Flynn JT, Tung B, et al. Prognostic factors in the natural course of retinopathy of prematurity. The Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. *Ophthalmology*. 1993; 100(2): 230-237.
 64. Fukushima Y, Fujino T, Kusaka S, Hatsukawa Y, Nishida K. Favorable outcomes of adequate laser photocoagulation and salvage bevacizumab treatment for aggressive posterior retinopathy of prematurity. *Am J Ophthalmol Case Rep*. 2018; 11: 66-71.
 65. Ni YQ, Huang X, Xue K, Yu J, Ruan L, Shan HD, et al. Natural involution of acute retinopathy of prematurity not requiring treatment: factors associated with the time course of involution. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014; 24: 55(5): 3165-3170.
 66. Nilsson M, Hellström A, Jacobson L. Retinal Sequelae in Adults Treated with Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016; 57(9): 550-555.
 67. Acevedo-Castellón R, Ramírez-Nerja P, García-Franco R. Incidence of retinopathy of prematurity type 1 and type 2 in a regional Hospital of Social Security in the state of Queretaro, Mexico (2017-2018). *BMC Ophthalmol*. 2019; 19(1): 91.
 68. Cryotherapy for Retinopathy of prematurity Cooperative Group. Multicenter trial of cryotherapy for retinopathy of prematurity: preliminary results. *Pediatrics*. 1988; 81(5): 697-706.
 69. Palmer EA. Results of U.S. randomized clinical trial of cryotherapy for ROP (CRYO-ROP). *Doc Ophthalmol*. 1990; 74(3): 245-251.
 70. Ferrer-Novella C, González Viejo I, Pueyo Royo V, Martínez Fernández R, Galdós Iztueta M, Peralta Calvo J, et al. Screening program for retinopathy of prematurity in Spain. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2013; 88(5): 184-188.

71. Section on Ophthalmology American Academy of Pediatrics; American Academy of Ophthalmology; American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus. Screening examination of premature infants for retinopathy of prematurity. *Pediatrics*. 2006; 117(2): 572-576.
72. Wilkinson AR, Haines L, Head K, Fielder AR. UK Retinopathy of Prematurity Guideline. *Early Hum Dev*. 2008; 84(2): 71-74.
73. A Joint Statement of the American Academy of Pediatrics, the American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus, and the American Academy of Ophthalmology. Screening examination of premature infants for retinopathy of prematurity. *Ophthalmology*. 1997; 104: 888-889.
74. American Academy of Pediatrics. Section on Ophthalmology. Screening examination of premature infants for retinopathy of prematurity. *Pediatrics* 2001; 108(3): 809-811.
75. Section on Ophthalmology American Academy of Pediatrics; American Academy of Ophthalmology; American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus. Screening examination of premature infants for retinopathy of prematurity. *Pediatrics* 2006; 117(2): 572-576.
76. Fierson WM, American Academy of Pediatrics Section on Ophthalmology, American Academy of Ophthalmology, American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus; American Association of Certified Orthoptists. Screening examination of premature infants for retinopathy of prematurity. *Pediatrics*. 2013; 131(1): 189-195.
77. Fierson WM, American Academy of Pediatrics Section on Ophthalmology, American Academy of Ophthalmology, American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus; American Association of Certified Orthoptists. Screening examination of premature infants for retinopathy of prematurity. *Pediatrics*. 2018; 142(6): e20183061.
78. Balasubramanian M, Capone A, Hartnett ME, Pignatto S, Trese MT. The Photographic Screening for Retinopathy of Prematurity (Photo-ROP): study design and baseline characteristics of enrolled patients. *Retina*. 2006; 26(7): 4-10.

79. Ells AL, Holmes JM, Astle WF, Williams G, Leske DA, Fielden M, et al. Telemedicine approach to screening for severe retinopathy of prematurity: a pilot study. *Ophthalmology*. 2003; 110(11): 2113–2117.
80. Ying GS, Quinn GE, Wade KC, Repka MX, Baumritter A, Daniel E, et al. Predictors for the development of referral-warranted retinopathy of prematurity in the telemedicine approaches to evaluating acute-phase retinopathy of prematurity (e-ROP) study. *JAMA Ophthalmol*. 2015; 133(3): 304–11.
81. Clark D, Mandal K . Treatment of retinopathy of prematurity. *Early Hum Dev*. 2008; 84(2): 95-99.
82. VanderVeen DK, Cataltepe SU. Anti-vascular endothelial growth factor intravitreal therapy for retinopathy of prematurity. *Semin Perinatol*. 2019; 43(6): 375-380.
83. Kychenthal A, Dorta P, Katz X. Zone I retinopathy of prematurity: clinical characteristics and treatment outcomes. *Retina*. 2006; 26(7): 11-15.
84. Tasman W. Threshold Retinopathy of Prematurity Revisited. *Arch Ophthalmol*. 1992; 110(5): 623-627.
85. Early Treatment For Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Revised Indications for the treatment of retinopathy of prematurity. Results of the Early Treatment for retinopathy of prematurity Randomized Trial. *Arch Ophthalmol*. 2003; 121: 1684-1696.
86. Reynolds J, McNamara JA. Treating retinopathy of prematurity. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*. 2005; 42(1): 7-10.
87. Ferrer Novella C, González Viejo I, Pueyo Royo V, Martínez Fernández R, Galdós Iztueta M, Peralta Calvo J, et al. A protocol for the treatment of retinopathy of prematurity in Spain. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2013; 88(6): 231-236.
88. Schulemburg WE, Prendiville A. Natural history of retinopathy of prematurity. *Br J Ophthalmol*. 1987; 71: 837-843.
89. Tasman W, Brown GC. Cryotherapy for active retinopathy of prematurity. *Ophthalmol*. 1986; 93: 580-585.

90. Simpson JL, Melia M, Yang MB, Buffenn AN, Chiang MF, Lambert SR. Current role of cryotherapy in retinopathy of prematurity: a report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology*. 2012; 119(4): 873-877.
91. Allegaert K, Van de Velde M, Casteels I, Naulaers G, Vanhole C, Devlieger H. Cryotherapy for threshold retinopathy: perioperative management in a single center. *Am J Perinatol*. 2003; 20(5): 219-226.
92. Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Multicenter Trial of Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity: ophthalmological outcomes at 10 years. Multicenter Study. Randomized Controlled Trial] *Arch Ophthalmol*. 2001; 19(8): 1110-1118.
93. Ibarra MS, Capone A Jr. Retinopathy of prematurity and anterior segment complications. *Ophthalmol Clin North Am*. 2004; 17(4): 577-582.
94. Ng EY, Connolly BP, McNamara JA, Regillo CD, Vander JF, Tasman W. A comparison of laser photocoagulation with cryotherapy for threshold retinopathy of prematurity at 10 years: Part 1. Visual function and structural outcome. *Ophthalmology*. 2002; 109(5): 928-934.
95. Fleming TN, Runge PE, Charles ST. Diode laser photocoagulation for prethreshold, posterior retinopathy of prematurity. *Am J Ophthalmol*. 1992; 114(5): 589-592.
96. Noonan CP, Clark DI. Trends in the management of stage 3 retinopathy of prematurity. *Br J Ophthalmol*. 1996; 80(4): 278-281.
97. Pearce IA., Pennie FC, Gannon LM, Weindling AM, Clark DI. Three year visual outcome for treated stage 3 retinopathy of prematurity: cryotherapy versus laser. *Br J Ophthalmol* 1998; 82: 1254-1259.
98. Fleck BW. Therapy for retinopathy of prematurity. *Lancet*. 1999. 353(148): 166-167.
99. DeJonge MH FP, Trese MT. Diode laser ablation for threshold retinopathy of prematurity: short-term structural outcome. *Arch Ophthalmol*. 2000; 118(3): 365-367.
100. Sato Y, Oshiro M, Takemoto K, Hosono H, Saito A, Kondo T, et al. Multicenter observational study comparing sedation/analgesia protocols for laser

- photocoagulation treatment of retinopathy of prematurity. *J Perinatol.* 2015; 35(11): 965-969.
101. Banach MJ, Ferrone PJ, Trese MT. A comparison of dense versus less dense diode laser photocoagulation patterns for threshold retinopathy of prematurity. *Ophthalmology.* 2000; 107(2): 324-327.
 102. Rezai KA, Elliot D, Ferrone PJ, Kim RW. Near confluent laser photocoagulation for the treatment of threshold retinopathy of prematurity. *Arch Ophthalmol.* 2005; 123(5): 621-626.
 103. O'Keefe M, Burke J, Algawi K, Goggin M. Diode laser photocoagulation to the vascular retina for progressively advancing retinopathy of prematurity. *Br J Ophthalmol.* 1995; 79(11): 1012-1014.
 104. Jalali S, Azad R, Trehan HS, Dogra MR, Gopal L, Narendran V. Technical aspects of laser treatment for acute retinopathy of prematurity under topical anesthesia. *Indian J Ophthalmol.* 2010; 58(6): 509-515.
 105. Hartnett ME, McColm JR. Retinal features predictive of progressive stage 4 retinopathy of prematurity. *Retina.* 2004; 24(2): 237-241.
 106. Salgado CM, Celik Y, VanderVeen DK. Anterior segment complications after diode laser photocoagulation for prethreshold retinopathy of prematurity. *Am J Ophthalmol.* 2010. 150(1): 6-9.
 107. Kaiser RS, Trese MT. Iris atrophy, cataracts, and hypotony following peripheral ablation for threshold retinopathy of prematurity. *Arch Ophthalmol.* 2001; 119(4): 615-617.
 108. González Viejo I, Ferrer Novella C, Pueyo Royo V. Use of anti-VEGF (anti-Vascular endothelial growth factor) in Retinopathy of Prematurity (ROP). *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2015; 90(2): 81-86.
 109. Chen X, Zhou L, Zhang Q, Xu Y, Zhao P, Xia H. Serum Vascular Endothelial Growth Factor Levels before and after Intravitreal Ranibizumab Injection for Retinopathy of Prematurity. *J Ophthalmol.* 2019; 2019: e2985161.
 110. VanderVeen DK, Melia M, Yang MB, Hutchinson AK, Wilson LB, Lambert SR. Antivascular Endothelial Growth Factor Therapy for Primary Treatment of Type 1

- Retinopathy of Prematurity: A Report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology*. 2017; 124(5): 619-633.
111. Alba LE, Zaldua RA, Masini RA. (Off-label use of intravitreal Bevacizumab for severe retinopathy of prematurity). 2015 *Arch Soc Esp Oftalmol*; 90(2): 81-86.
112. Mintz-Hittner HA, Kennedy KA, Chuang AZ; BEAT-ROP Cooperative Group. Efficacy of intravitreal bevacizumab for stage 3+ retinopathy of prematurity. 2011; 364(7): 603-615.
113. Dorta P, Kychenthal A. Treatment of type 1 retinopathy of prematurity with intravitreal bevacizumab (Avastin). *Retina*. 2010; 30(4): 24-31.
114. Vogel RN, Strampe M, Fagbemi OE, Visotcky A, Tarima S, Carroll J, Costakos. Foveal Development in Infants Treated with Bevacizumab or Laser Photocoagulation for Retinopathy of Prematurity. *Ophthalmology*. 2018; 125(3): 444-452.
115. Pekel G, Pekel E. Re: Vogel et al.: Foveal development in infants treated with bevacizumab or laser photocoagulation for retinopathy of prematurity *Ophthalmology*. 2018; 125(8): 56-57.
116. Nicoară SD, Ștefănuț AC, Nascutzy C, Zaharie GC, Toader LE, Drugan TC. Regression Rates Following the Treatment of Aggressive Posterior Retinopathy of Prematurity with Bevacizumab Versus Laser: 8-Year. Retrospective Analysis. *Med Sci Monit*. 2016; 22: 1192-1209.
117. Dogra MR, Katoch D, Dogra M. An Update on Retinopathy of Prematurity (ROP). *Indian J Pediatr*. 2017; 84(12): 930-936.
118. Weber Ma, Sebire NJ. Genetics and developmental pathology of twinning. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2010; 15(6): 313-318.
119. Segan NL. Twin Studies. *Twin Res Hum Genet*. 2015; 18(2): 221-222.
120. Pallister T, Spector TD, Menni C. Twin studies advance the understanding of gene-environment interplay in human nutrigenomics. *Nutr Res Rev*. 2014; 27(2): 242-251.

121. Bloch-Salisbury E, Hall MH, Sharma P, Boyd T, Bednarek F, Paydarfar D. Heritability of apnea of prematurity: a retrospective twin. *Pediatrics*. 2010; 126(4): 779-787.
122. Lavoie PM, Pham C, Jang KL. Heritability of Bronchopulmonary dysplasia, defined according to the consensus statement of the national institutes of health. *Pediatrics*. 2008; 122(3): 479-485.
123. Hillman SC, Morris RK, Kilby MD. Single twin demise: consequence for survivors. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2010; 15(6): 319-326.
124. Barba S, Carvajal J. Pautas de manejo del embarazo múltiple complicado con la muerte fetal in útero de un gemelo. *Rev. Chil. Obstet. Ginecol*. 2012; 77(2): 159-168.
125. Eichenwald EC, Committee on fetus and newborn. American Academy of Pediatrics. Apnea of Prematurity. *Pediatrics*. 2016; 137(1).
126. Schneider DJ, Moore JW. Patent ductus arteriosus. *Circulation*. 2006; 114: 1873-1882.
127. Golombek SG, Sola A, Baquero H, Borbonet D, Cabañas F, Fajardo C, et al. First SIBEN clinical consensus: diagnostic and therapeutic approach to patent ductus arteriosus in premature newborns. *An Pediatr (Barc)*. 2008; 69(5): 454-481.
128. González Viejo I, Ferrer Novella C, Pueyo Royo V, García Martín E, Rite Gracia S, Caballero Pérez V, et al. Is patent ductus arteriosus a risk factor for retinopathy of prematurity? *An Pediatr (Barc)*. 2011; 74(1): 25-30.
129. Romagnoli C, De Carolis MP, Gallini F, Zecca E, Papacci P. Neonatal color Doppler US study: normal values of cerebral blood flow velocities in preterm infants in the first month of life. *Ultrasound Med Biol*. 2006; 32(3): 321-331.
130. Ehrenkranz RA, Walsh MC, Vohr BR, Jobe AH, Wright LL, Fanaroff AA, et al. Validation of the National Institutes of Health consensus definition of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics*. 2005; 116(6): 1353-1360.
131. Jobe AH, Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 163(7): 1723-1729.

132. Papile LA, Burstein J, Burstein R, Koffler H. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weights less than 1500gm. *J Pediatr.* 1978; 92(4): 529-534.
133. García-Serrano JL, Ramírez-García MC, Piñar –Molina R. Retinopathy of prematurity in multiple births: risk analysis for plus disease. *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2009; 84(4): 191-198.
134. Contasi M, Matheus E. Procedimientos y fórmulas estadísticas para medir la influencia herencia /ambiente sobre caracteres métricos en poblaciones humanas. *Interciencia.* 2009; 34(7): 457-462.
135. Rijdsdijk FV, Sham PC. Analytic approaches to twin data using structural equation models. *Brief Bioinform.* 2002; 3(2): 119-133.
136. Holzinger KJ. The relative effect of nurture and nature influences on twin differences. *J Educ Psychol.* 1929; 20(4): 241-248.
137. Chatterjee A, Morrison IA. Monozygotic twins: genes are not the destiny? *Bioinformatics.* 2011; 7(7): 369-370.
138. Braff D, Schork NJ, Gottesman II. Endophenotyping Schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 2007; 164(5): 705-707.
139. Bjornsson HT, Fallin MD, Feinberg AP. An integrated epigenetic and genetic approach to common human disease. *Trends Genet.* 2004; 20(8): 350-358.
140. Glenny R, Bernard S, Neradilek B, Polissar N. Quantifying the genetic influence on mammalian vascular tree structure. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007; 104(16): 6858-6863.
141. Gordon L, Joo JH, Andronikos R, Ollikainen M, Wallace EM, Umstad MP, et al. Expression discordance of monozygotic twins at birth: effect of intrauterine environment and a possible mechanism for fetal programming. *Epigenetics.* 2011; 6(5): 579-592.
142. Jordá M, Peinado MA. . La regulación génica del comportamiento social de las abejas. *Investig Cienc.* 2009; 395: 40-43.

143. Krause B, Sobrevia L, Casanello P. Epigenetics: new concepts of old phenomena in vascular physiology. *Curr Vasc Pharmacol*. 2009; 7(4): 513-520.
144. Matouk CC, Marsden PA. Epigenetic regulation of vascular endothelial gene expression. *Circ Res*. 2008; 102(8): 873-887.
145. Levit O, Jiang Y, Bizzarro MJ, Hussain N, Buhimschi CS, Gruen JR, et al. The genetic susceptibility to respiratory distress syndrome. *Pediatr Res*. 2009; 66(6): 693-697.
146. Pavlus J. Maquinas del infinito. Complejidad. *Investig Cienc*. 2012; 434: 50-55.
147. Bhandari V, Zhou G, Bizzarro MJ, Buhimschi C, Hussain N, Gruen JR, et al. Genetic contribution to patent ductus arteriosus in the premature newborn. *Pediatrics*. 2009; 123(2): 669-673.
148. Babbitt GA. Evolución de la cromatina. *Investig Cienc*. 2011; 416: 20-27.
149. Reik W. Stability and flexibility of epigenetic gene regulation in mammalian development. *Nature*. 2007; 447(7143): 425-432.
150. Weber M, Schübeler D. Genomic patterns of DNA methylation: targets and function of an epigenetic mark. *Curr Opin Cell Biol*. 2007; 19(3): 273-280.
151. Richards EJ. Inherited epigenetic variation-revisiting soft Inheritance. *Nat Rev Gene*. 2006; 7(5): 395-401.
152. Pietrzyk JJ, Kwinta P, Bik-Multanowski M, Madetko-Talowska A, Jagla M, Tomasik T, et al. New insight into the pathogenesis of retinopathy of prematurity: assessment of whole-genome expression. *Pediatr Res*. 2013; 73(4): 476-483.
153. Pietrzyk JJ, Kwinta P, Wollen EJ, Bik-Multanowski M, Madetko-Talwska A, Günther CC, et al. Gene expression profiling in preterm infants: new aspects of bronchopulmonary dysplasia development. *PLoS One*. 2013; 8(10): e78585.
154. Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF, Shankaran S, Laptook AR, Walsh MC, et al. Neonatal outcomes of extremely preterm infants from the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics*. 2010; 126(3): 446-456.
155. Zin A, Gole GA. Retinopathy of prematurity-incidence today. *Clin Perinatol*. 2013; 40(2): 185-200.

156. Prpić I, Mahulja-Stamenković V, Kovacević D, Skarpa-Prpić I. Prevalence of severe retinopathy of prematurity in a geographically defined population in Croatia. *Coll Antropol.* 2011; 35(2): 69-72.
157. Bas AY, Demirel N, Koc E, Ulubas Isik D, Hirfanoglu IM, Tunc T. Incidence, risk factors and severity of retinopathy of prematurity in Turkey (TR-ROP study): a prospective, multicentre study in 69 neonatal intensive care units. *Br J Ophthalmol.* 2018; 102(12): 1711-1716.
158. Ozsurekci Y, Aykac K. Oxidative Stress Related Diseases in Newborns. *Oxid Med Cell Longev.* 2016; 2016: 1-9.
159. Gantz MG, Carlo WA, Finer NN, Rich W, Faix RG, Yoder BA, et al. Achieved oxygen saturations and retinopathy of prematurity in extreme preterms. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2019; 0: 1-7.
160. Wongnophirun A, Khuwuthyakom V, Tantiprabha W, Wivatwongwana A. Association between severe retinopathy of prematurity and postnatal weight gain in very low-birth weight infants at Chiang Mai University Hospital, Thailand. *Paediatr Int Health.* 2019; 5: 1-7.
161. Lin L, Binenbaum G. Postnatal weight gain and retinopathy of prematurity. *Semin Perinatol.* 2019; 43(6): 352-359.
162. Jensen AK, Ying GS, Huang J, Quinn GE, Binenbaum G. Postnatal Serum Insulin-Like Growth Factor I and retinopathy of prematurity. *Retina.* 2017; 37(5): 867-872.
163. Goldstein GP, Leonard SA, Kan P, Koo EB, Lee HC, Carmichael SL. Prenatal and Postnatal inflammation-related risk factors for retinopathy of prematurity. *J Perinatol.* 2019; 39(7):964-973.
164. Wu T, Zhang L, Tong Y, Qu Y, Xia B, Mu D. Retinopathy of Prematurity Among Very Low-Birth Weight Infants in China: Incidence and Perinatal Risk Factors. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2018; 59(2): 757-763
165. Stutchfield CJ, Jain A, Odd D, Williams C, Markham R. Foetal haemoglobin, blood transfusion, and retinopathy of prematurity in very preterm infants: a pilot prospective cohort study. *Eye (Lond).* 2017; 31(10): 1451-1455.

166. Ying GS, Bell EF, Donohue P, Tomlinson LA, Binenbaum G, G-ROP Research Group. Perinatal Risk Factors for the Retinopathy of Prematurity in Postnatal Growth and Rop Study. *Ophthalmic Epidemiol.* 2019; 26(4): 270-278
167. Leng Y, Huang W, Ren G, Cai C, Tan Q, Liang Y, et al. The treatment and risk factors of retinopathy of prematurity in neonatal intensive care units. *BMC Ophthalmol.* 2018; 18(1): 301.