

Universidad Autónoma de Baja California

**Utilidad de hierro y EPO en recién nacidos menores de
1300 grs.**

Trabajo terminal

Que para obtener la especialidad de:

Pediatría Médica

Presenta

Paola Blanco Ortiz

Director de Tesis

Eugenio Ocegueda López

Asesores de Tesis

Miguel Guerra Raphael

Paris Cerecer Callú

Mexicali, Baja California

Febrero 2007

Universidad Autónoma de Baja California

Facultad de Medicina Mexicali

Instituto de Servicios de Salud Pública del Estado de Baja California

Departamento de Enseñanza e Investigación



Utilidad de hierro y EPOhr en recién nacidos menores de 1300 grs.

Trabajo terminal para obtener la especialidad de:

Pediatría Médica

Presenta

Paola Hanco Ortiz

Director de tesis

Eugenio Oreguera López

Asesor de tesis

Miguel Guerra Raphael

Paris Cerecer Callú

Tijuana, Baja California

Febrero 2007

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida y no dejarme caer nunca

A mi esposo por su apoyo y amor incondicional

A mi hijo por su alegría y ser mi inspiración

A mis padres, quienes siempre han sido ejemplo en mi vida y por inculcarme el respeto, responsabilidad, dedicación y tenacidad para que siempre lograra mis objetivos

A mi hermano y Lupita por su cariño y formar parte de mí

A mis profesores por su apoyo y conocimientos durante mis estudios de postgrado

Hoja de Firmas

Dr. Cesar Romano Montalvo

Jefe de Servicio

Dr. Eugenio Ocegüera López

Director de tesis

Dr. Miguel Guerra Raphael

Asesor de tesis

Dr. Paris Cerecer Callú

Asesor de tesis

Dr. Eugenio Ocegüera López

Profesor titular del curso de Postgrado

Dr. Carlos E. Romero Gaitán

Jefatura de Enseñanza e Investigación

Tabla de contenido

Capítulo I.

Introducción	1
Anemia del prematuro	1
Eritropoiesis fetal	2
Etiopatogenia	4
Manifestaciones clínicas	6
Tratamiento	7

Capítulo II.

Diseño experimental y metodología	10
---	----

Capítulo III.

Análisis estadístico	16
----------------------------	----

Capítulo IV

Resultados	17
Variables cuantitativas	17
Variables cualitativas	23
Enfermedades concomitantes	27
Analítico	28

Capítulo V

Discusión	31
-----------------	----

Capítulo VI.

Conclusiones	33
--------------------	----

Capítulo VII.

Referencias bibliográficas	34
----------------------------------	----

Listado de tablas

Figura 1. Curva comparativa de hemoglobina	19
Figura 2. Curva comparativa de reticulocitos	20
Figura 3. Curva comparativa de hierro sérico	21

Variables cuantitativas

Tabla 1. Maternas	22
Tabla 2. Neonatales	22

Variables cualitativas

Tabla 3. Sexo	23
Tabla 4. Control prenatal	24
Tabla 5. Patologías maternas	25
Tabla 6. Vía de nacimiento	25
Tabla 7. Reanimación neonatal	25
Tabla 8. Fase de ventilación	26
Tabla 9. Destino de egreso	26
Tabla 10. Causa de defunción	27
Tabla 11. Enfermedades concomitantes	27

Analítico

Tabla 12. Comparación del desarrollo de anemia	28
Tabla 13. Comparación respuesta reticulocitaria	29
Tabla 14. Comparación pacientes no transfundidos	30

CAPITULO I. INTRODUCCION

La aplicación de importantes avances tecnológicos y el mayor entendimiento de la fisiopatología fetal y neonatal durante los dos últimos decenios, han ayudado a reducir la morbi mortalidad de estos pacientes, logrando mejorar la supervivencia de los recién nacidos con peso de nacimiento cada vez menor.

Concomitantemente, la anemia, una de las complicaciones más frecuentes que se presenta en los pacientes menores de 1300 gramos de peso al nacer, también se ha visto reducida principalmente en las unidades neonatales de más alta complejidad. Algunos informes demuestran tasas de reducción del número de transfusiones por paciente que van de 10 a 5 o inclusive 2 transfusiones por prematuro¹. A pesar de esto, en Estados Unidos, se estima que entre el 50 % y 80 % de los prematuros de muy bajo peso de nacimiento reciben por lo menos una transfusión de sangre durante su hospitalización^{1,2,3}.

La anemia del prematuro (AP) afecta principalmente a los menores de 32 semanas de gestación, es desarrollada entre la tercera y decimosegunda semana de vida y es la forma más frecuente de anemia que se ve en Neonatología^{4,5,6,7}. Sus características patogénicas la hacen especial y, por ende, su abordaje terapéutico es diferente al de otros tipos de anemia del recién nacido.

La importancia de la anemia del prematuro y de las numerosas transfusiones sanguíneas a que se exponen estos pacientes, hacen plantearse algunas interrogantes: ¿es posible reducir la incidencia de anemia del prematuro? ¿se podría reducir el número de transfusiones que recibe cada paciente, considerando los riesgos que esta terapia conlleva?

El uso de eritropoyetina humana recombinante ha sido estudiada desde el inicio de 1990, como una alternativa en la anemia tardía del prematuro así como la necesidad de hemotransfusiones. Los objetivos del presente trabajo son revisar la etiopatogenia de la anemia del prematuro así como investigar la eficacia de administración temprana (primeras 32 horas de vida) de eritropoyetina humana recombinante más suplemento de hierro parenteral, en comparación con el uso de eritropoyetina humana recombinante sin aporte parenteral de hierro, basados en los lineamientos estrictos de transfusión en neonatos; para evaluar cambios hematológicos en ambos grupos y establecer si puede disminuir o desaparecer las transfusiones de concentrado eritrocitario en recién nacidos pretérminos ≤ 1300 gramos tanto sanos como enfermos.

Eritropoiesis fetal

Durante toda la gestación los factores responsables de la eritropoiesis fetal son producidos sólo por el feto⁸ ya que la eritropoyetina materna no cruza la barrera placentaria^{7,9}.

En el embrión humano, los glóbulos rojos son visibles desde la segunda semana de gestación en el saco vitelino (donde sólo se producen glóbulos rojos y macrófagos), los que se caracterizan por ser de gran tamaño (VCM 200 FL), nucleados y de corta duración. Desde la sexta semana de gestación el hígado llega a ser el órgano hematopoiético principal, sobre todo de la serie eritroide^{10,11}. En esta etapa los glóbulos rojos ya no son nucleados y son de un menor tamaño que los producidos anteriormente. A partir del sexto mes de gestación es la médula ósea el órgano generador de las células sanguíneas por excelencia¹²

Los glóbulos rojos contienen principalmente hemoglobina (Hb) del tipo embrionaria y fetal durante la gestación, reflejando la expresión de diferentes genes ubicados en los cromosomas 11 y 16. Ambos tipos de hemoglobina se caracterizan por tener una alta afinidad por el oxígeno debido a la baja fijación al 2-3 difosfoglicerato intraeritrocitario ya que la saturación de oxígeno de la aorta fetal es del 45% y en consecuencia existen niveles elevados de eritropoyetina para crear una producción rápida de hematíes^{11,13}. En un recién nacido pretérmino puede encontrarse hasta un 97% de Hb fetal, a diferencia del nacido a término cuyo contenido de Hb fetal alcanza al 70% a 80%¹⁴. Por otra parte, la hemoglobina adulta, que comienza a generarse de manera importante después del nacimiento, posee una baja afinidad por el oxígeno. De esta manera se observa que sólo el 1% de los eritrocitos a los 6 meses de edad poseen Hb del tipo fetal. Como es de suponer, cada uno de estos distintos tipos de hemoglobina cumple un rol específico y diferente de acuerdo a la etapa del desarrollo.

La eritropoyetina (EPO) es el principal factor de crecimiento responsable de la eritropoiesis y se ha podido detectar desde las 19 semanas de gestación¹⁵. La EPO es una glucoproteína formada por 165 aminoácidos y se fija a receptores específicos situados en la superficie de los precursores eritroides y estimula la diferenciación y maduración clonal hasta la fase de hematíes maduros. La regulación de la expresión del gen de la EPO se efectúa por un mecanismo sensible al oxígeno, de modo que la hipoxia y la anemia estimulan la eritropoiesis favoreciendo la transcripción de ARNm y la consecuente traducción de EPO^{5,6,11}. El hígado es el sitio donde se produce de preferencia la EPO durante la vida fetal, aunque también se ha detectado mRNA de EPO a nivel renal sugiriendo que existe a ese nivel algún grado de síntesis

menor ¹⁰. De hecho, se han demostrado niveles de EPO suficientes para generar cantidades normales de glóbulos rojos en fetos anéfricos ¹⁶.

La hipoxia no es el único factor que influye sobre el gen regulador que controla la producción de la EPO, ya que si así fuera, los lactantes pretérminos se presentarían policitémicos, considerando el ambiente hipóxico uterino en que se desarrollan. Al parecer existen también factores contrareguladores como la interleucina 1 y el factor de necrosis tumoral ¹⁷. Al finalizar el tercer trimestre de gestación y tras el nacimiento, los riñones se constituyen en los generadores de EPO por excelencia, desconociéndose la causa que desencadena este cambio de funciones ¹².

Etiopatogenia de la Anemia del Prematuro

Considerando lo anteriormente expuesto, el recién nacido prematuro inicia su vida extrauterina con una Hb de alta afinidad por el oxígeno y en un ambiente rico en este elemento. En consecuencia, posterior al nacimiento la entrega de oxígeno excede su consumo tisular, conduciendo como respuesta a una caída del nivel de EPO y declinación de la eritropoiesis ¹⁸. Sin embargo, el promedio de descarga de oxígeno a los tejidos es más bajo en el prematuro que en el recién nacido de término ¹⁹.

Tras el nacimiento, los niveles de Hb del prematuro sufren un descenso fisiológico más marcado y precoz que el que presenta un recién nacido de término. De esa manera se alcanza a las 8 semanas un nadir promedio de 9,4 g/dl (rango 8,0 - 11,4 g/dl) en los pretérminos con peso entre 1500 y 2000 gramos y de 8,8 g/dl (rango 7,1 - 11,5 g/dl) en pretérminos nacidos con peso menor a 1500 gramos ^{20, 21}. Incluso se han descrito pacientes con valores de Hb tan bajos como

6 a 7 g/dl con buena tolerancia clínica y ausencia de sintomatología^{22, 23, 24, 25}, sin embargo al disminuir la entrega de oxígeno a los tejidos se estimula la producción de eritropoyetina y por ende, de hemáties. Durante este período de eritropoiesis activa se consumen rápidamente los depósitos de hierro debido a que el prematuro tiene menos depósitos de hierro que el neonato a término. La característica morfológica de la anemia del prematuro corresponde a una anemia normocítica - normocrómica con bajas concentraciones de eritropoyetina.

De tal manera, los neonatos con anemia del prematuro tiene poca habilidad para estimular la producción de eritropoyetina a pesar de tener disminuida la 'disponibilidad de oxígeno' a los tejidos y signos sugestivos de anemia. Sin embargo, estudios *in vitro* revelan que los progenitores eritroides en la médula y sangre periférica, son altamente sensibles a la eritropoyetina²⁶. Más aún, las concentraciones de otros factores de crecimiento eritropoyético, como la interleucina-3 y el factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos, parecen ser adecuados para estimular la eritropoiesis²⁷.

Es importante hacer mención de otros factores que influyen de manera importante en la generación de la anemia del prematuro, tales como: la vida media de los glóbulos rojos fetales es mas corta con promedios de 70 a 90 días^{28, 29}, una expansión del volumen extracelular dada por un rápido crecimiento corporal^{5, 28}, alteraciones nutricionales^{5, 30} y las elevadas pérdidas sanguíneas debido a la flebotomía para exámenes de laboratorio^{31, 32}. Se ha llegado a adjudicar a esta última como la causa más importante de anemia en los prematuros de muy bajo peso de nacimiento sobre todo en las primeras semanas de vida. Producto de la exagerada extracción de sangre, el 50% de todas las transfusiones sanguíneas las reciben estos prematuros durante las dos primeras semanas de vida¹.

Manifestaciones clínicas de la Anemia del Prematuro

Ante la ausencia de un marcador fidedigno de hipoxia tisular, habría que considerar que la aparición de síntomas atribuibles a una reducida entrega tisular de oxígeno no sólo dependen de la existencia de un bajo nivel de Hb, sino que pudieran deberse a otros importantes factores de tipo no hematológicos tales como el gasto cardíaco y la presión parcial de oxígeno, el porcentaje de Hb fetal y la actividad del 2-3 difosfoglicerato. Por lo tanto, considerar sólo el valor de Hb para decidir una transfusión parecería inadecuado ¹⁹.

Los síntomas como taquicardia y taquipnea, en ausencia de una enfermedad cardíaca o pulmonar, pueden reflejar una inadecuada liberación de oxígeno tisular. Sin embargo, no se ha establecido una relación entre el bajo nivel de hemoglobina y este tipo de manifestaciones clínicas. También se ha relacionado a la anemia del prematuro con el aumento del número de episodios de apnea y bradicardia, ganancia de peso insuficiente y elevación del nivel de lactato plasmático ¹⁹. Aunque existen trabajos que concluyen que el uso de las transfusiones de glóbulos rojos en prematuros anémicos revierten sus síntomas, otros difieren no encontrando esta asociación ²².

Está también comprobado que el nivel de hemoglobina es un pobre predictor de liberación de oxígeno tisular, y que las manifestaciones clínicas tales como taquicardia, taquipnea, apnea, dificultad en la alimentación y pobre ganancia de peso no pueden ser categóricamente atribuidas tan sólo a la anemia o a la inadecuada liberación de oxígeno tisular. Por lo tanto, se puede afirmar que aún no existe una respuesta a la pregunta ¿cuán bajo puede caer el hematocrito (o hemoglobina) en un prematuro sin que aparezcan signos clínicos? ¹⁹.

Tratamiento

A pesar de encontrarse niveles detectables de eritropoyetina en el suero de la mayoría de los recién nacidos pretérmino, es insuficiente para producir una adecuada eritropoiesis. De tal modo surge la iniciativa de suplemento con eritropoyetina recombinante humana, existen numerosos ensayos clínicos publicados desde hace 17 años que evalúan el uso de eritropoyetina humana recombinante para prevenir y tratar la anemia del prematuro. Se han publicado un gran rango de dosis para su administración desde el primer estudio piloto publicado por Halperin et al. en 1990³². De tal manera, hemos revisado diferentes estudios multicéntricos - aleatorizados en donde se reporta una disminución en el número de transfusiones en pacientes pretérmino quienes recibieron eritropoyetina humana recombinante en comparación con grupos controles que recibieron placebo, tanto neonatos sanos como enfermos, con dosis variantes entre 300 mg/kg/semana a 750 mg/kg/semana^{33, 34, 35, 36, 37, 38, 39}. Así mismo, surgió un impacto al iniciarse el estudio de los criterios estrictos de transfusión y observarse una disminución de hasta 50% en el número de transfusiones^{38, 40, 41}.

Sin embargo, a pesar que múltiples estudios han mostrado la eficacia con el uso de la eritropoyetina en la estimulación de la eritropoiesis, se ha observado disminución en la concentración de ferritina sérica como indicador de una deficiencia de hierro durante el tratamiento con la eritropoyetina si el suplemento exógeno de éste es bajo^{35, 42}. En un estudio realizado por Bechensteen y colaboradores se estudiaron recién nacidos pretérmino sanos en terapia con eritropoyetina humana recombinante y suplemento oral de hierro a razón de 18 a 36 mg/día en comparación con un grupo de solo recibió aporte de hierro oral, sin revelar deficiencia de hierro; sin embargo con incremento de eritrocitos hipocrómicos en ambos grupos, sugiriendo

la necesidad de mayor aporte de hierro para activar la eritropoiesis ⁴³. Así, se incrementó lentamente el estudio de la administración hierro parenteral. Una de las principales preocupaciones en relación a este punto ha sido el incremento de riesgo a infecciones. En estudios pasados se reportó un incremento en la incidencia de infecciones en pacientes que recibían hierro intramuscular con dosis mayores a 100 mg/día ^{44,45}. Por lo que se inició el estudio en relación a la adición de hierro a la nutrición parenteral total. Friel y colaboradores evaluaron la adición de hierro dextran en la NPT en prematuros que no recibían terapia con EPO humana recombinante a dosis de 200 a 400 microgramos/kg/día y encontraron que sus pacientes permanecían con un balance negativo de hierro. No se notaron efectos adversos durante dicha terapia y se recomendó incremento en la dosis a 1 mg/kg/día ⁴⁶.

Otro estudio realizado por Meyer y colaboradores comparó la administración de hierro oral (12 mg/kg/día) y hierro intravenoso (6 mg/kg/semana) en neonatos pretérmino que recibían terapia con EPO humana recombinante (600 U/kg/semana), sin encontrar diferencia respecto al hematocrito, reticulocitos y número de transfusiones, sin embargo en el grupo de pacientes con hierro intravenoso, mantuvieron valores normales de ferritina sérica durante el tratamiento ⁴⁷. En un estudio reciente de Pollak y colaboradores se comparó la terapia con hierro oral e intravenoso y se encontró que hubo un incremento de los marcadores de oxidación en el grupo de hierro intravenoso, pero no significativamente mayor en comparación al grupo opuesto, por lo que los autores sugirieron un mayor uso de la terapia con hierro intravenoso en conjunto con la eritropoyetina humana recombinante y ajustar la dosis de hierro para disminuir el riesgo de estrés oxidativo ⁴⁸. Todos los ensayos clínicos antes mencionados, dan soporte a la hipótesis que un

suplemento adecuado de hierro es importante en los pacientes pretérmino que se encuentran en terapia con EPO humana recombinante.

Es importante mencionar que los pacientes en terapia con EPO humana recombinante también son beneficiados con suplemento de vitamina E. La dosis óptima de vitamina E en este tipo de pacientes aún no está completamente determinada, sin embargo la dosis en estudios recientes varía en el rango de 15 a 25 U/día⁴⁹.

Otros suplementos importantes para la eritropoiesis son el folato, la vitamina B12, carnitina y cobre⁵⁰. Sin embargo no se han estudiado específicamente las recomendaciones en pacientes en terapia con EPO humana recombinante.

Dentro de los efectos adversos de la eritropoyetina humana recombinante en adultos se han reportado hipertensión, rash y dolor óseo, sin embargo ninguno de estos efectos adversos han sido reportado en recién nacidos pretérminos. En estudios previos se reportó neutropenia transitoria^{17, 32, 51} pero no se ha reportado en ensayos aleatorizados recientes, de hecho, Meister y colaboradores no reportan diferencia en el número circulante de progenitores de granulocitos en pacientes pretérmino que reciben terapia con eritropoyetina humana recombinante en comparación con grupos control⁵².

CAPITULO II. DISEÑO EXPERIMENTAL Y METODOLOGIA

a) Tipo de estudio: Estudio experimental, comparativo, prospectivo y longitudinal.

b) Universo del estudio: De todos los recién nacidos del Hospital General de Tijuana del periodo Junio 2005 a Abril 2006, se incluyeron pacientes prematuros de menos de 32 semanas de gestación con un peso menor a 1300 gramos al nacimiento.

c) Tamaño de la muestra: A conveniencia.

d) Forma de asignación de los sujetos: Aleatoria sistemática. Se formaron dos grupos:

1. Eritropoyetina humana recombinante mas hierro intravenoso en las primeras 32 horas de vida.

2. Eritropoyetina humana recombinante en las primeras 32 horas de vida sin hierro intravenoso.

e) Criterios de inclusión:

Lugar de nacimiento: Hospital General de Tijuana

Peso: Igual o menor a 1300 gramos

Edad gestacional: Igual o menor de 32 semanas evaluado por método de Ballard

Edad de vida: Desde el nacimiento hasta 36 horas de vida extrauterina

Nivel de hemoglobina al nacer: Menor de 20 g/dl

f) Criterios de exclusión:

Anomalías congénitas incompatibles con la vida

Cardiopatías congénitas cianógenas

Malformaciones renales

Crisis convulsivas

Poliglobulia

Enfermedad hemolítica

Enfermedad hemorrágica

Hipertensión sistémica (por arriba de percentila 90 de presión sistólica y diastólica)

Conteo de neutrófilos menor de 500 uL

Rechazo de los padres para entrar al protocolo

g) Eliminación:

Malformaciones renales

Hemoglobina mayor de 20 g/dl

Coagulopatía

h) Variables:

Cuantitativas: Edad materna, número de gesta, edad gestacional, Apgar 1 y 5 minutos, peso, TA sistólica y diastólica, hemoglobina, hematocrito, leucocitos, neutrófilos, plaquetas, reticulocitos, hierro sérico, mililitros de sangre extraída, número de transfusiones.

Cualitativas: Sexo, patologías maternas, control prenatal, tipo de nacimiento, reanimación neonatal avanzada, fase de ventilación, sitio de egreso, causas de defunción.

i) Estudios y procedimientos que se practicaron en cada sujeto

Mediante flebotomía convencional se extrajeron muestras sanguíneas de pacientes en estudio, enviándose a su procesamiento en el Laboratorio de Análisis Clínicos ‘‘HAI MA’’ para realización de biometría hemática completa y reticulocitos de manera semanal y cuantificación de hierro sérico al nacer y a las 4 semanas de haber iniciado el protocolo.

Las dosis usadas se especifican a continuación:

Eritropoyetina recombinante humana: 250 Unidades/kg administrada 3 veces a la semana subcutánea en el brazo (ajustando dosis a cambios de peso).

Hierro:

Grupo 1: 1 mg/kg/día de hierro dextran por vía intravenosa junto con la NPT para administrarse en 24 horas. Al momento de suspender la NPT se cambió la administración de hierro a vía oral a razón de 6 mg/kg/día.

Grupo 2: 6 mg/kg/día de sulfato ferroso por vía oral iniciándose una vez que la alimentación enteral alcanzó 50 ml/kg/día de fórmula.

El tratamiento se continuó hasta que el paciente se egreso del servicio o que cumplió una edad gestacional corregida de 35 semanas.

SEGUIMIENTO

Determinación semanal de hematimetría hemática y reticulocitos.

Determinación de concentración de hierro mensual.

Cuantificación de pérdidas sanguíneas en procedimientos tales como flebotomías y toma de gasometrías.

Número de hemotransfusiones.

Para indicar hemotransfusión se basó en los criterios estrictos de transfusión especificados a continuación.

CRITERIOS ESTRICTOS DE TRANSFUSION

- En neonatos que requieren ventilación mecánica en grado notable, definido por $MAP > 8$ Y $FiO_2 > 40\%$ y/o un soporte hemodinámico, si el hematocrito central es $\leq 40\%$ (hemoglobina ≤ 11 g/dl)
- En neonatos que requieren ventilación mecánica en grado mínimo, o CPAP > 6 cm H_2O con $FiO_2 \leq 40\%$ si el hematocrito central es $\leq 35\%$ (hemoglobina ≤ 10 g/dl)

- En neonatos con aporte suplementario de oxígeno que no requieren ventilación mecánica, si el hematocrito central es $\leq 25\%$ (hemoglobina ≤ 8 g/dl) y coexisten uno o más de los factores siguientes:
 - Presencia de ≥ 24 horas de taquicardia (frecuencia cardíaca > 180 lat/min) o taquipnea (frecuencia respiratoria > 80 por minuto)
 - Aumento de las necesidades de oxígeno durante las 48 horas anteriores, definido como un incremento ≥ 4 veces del flujo por las cánulas nasales (es decir, de 0.25 a 1 l/min) o a un aumento $\geq 20\%$ de CPAP nasal en relación con las 48 horas anteriores (es decir, de 5 a 6 cm H₂O)
 - Aumento de peso < 10 g/kg/día durante los 4 días anteriores mientras se administran ≥ 100 kcal/kg/día
 - Incremento de los episodios de apnea y bradicardia (en general, 10 o más episodios en un periodo de 24 horas, o ≥ 2 episodios que requieran ventilación con bolsa y mascarilla; sin embargo, el número absoluto queda a criterio individual) y ya se este dando manejo con metilxantinas.
 - Intervenciones quirúrgicas
- En neonatos asintomáticos, si el hematocrito central es $\leq 20\%$ (hemoglobina < 7 g/dl) y la cifra absoluta de reticulocitos es $< 100\,000$ cel/ μ l.
- En recién nacidos con pérdidas sanguíneas acumulativas de 10% de la volemia, o más, durante 72 horas, cuando el niño sufre una patología cardiorrespiratoria importante y es de prever que deban extraerse nuevas muestras de sangre. Los neonatos que se encuentran estables no se transfunden solamente por reemplazar la sangre perdida en las extracciones. Si no se realizan transfusiones de eritrocitos al llegar a una pérdida de

10-15 ml de sangre/kg de peso corporal, para evitar la hipovolemia debe reponerse la sangre por una cantidad equivalente de suero fisiológico. Además del suero fisiológico puede administrarse albúmina, plasma fresco congelado, plaquetas, leucocitos, según esté indicado clínicamente.

- Cuando esté indicado las transfusiones de hematíes serán de 15-20 ml/kg fraccionadas en 2 veces si es necesario

CAPITULO III. ANALISIS ESTADISTICO

Análisis descriptivo:

Variables cualitativas: Proporciones.

Variables cuantitativas: Medidas de tendencia central y de dispersión.

Se realizó cálculo de diferencia de proporciones y medias.

Analítico:

Cálculo de χ^2 y p

Significancia estadística a una p menor de 0.05

CAPITULO IV. RESULTADOS

A. Análisis descriptivo de la información

De los 24 pacientes incluidos inicialmente, 20 (83%) neonatos se incluyeron en el estudio, de los cuales 10 formaron parte del grupo 1 y 10 del grupo 2. La causa de eliminación de los 4 pacientes restantes fue la siguiente: 4 (16%) pacientes murieron en la primera semana de vida, 2 (8.3%) pacientes presentaron neutropenia severa, 1 (4.1%) paciente presentaba cifras tensionales 2 desviaciones estándar por arriba de lo normal y 1 (4.1%) paciente con malformaciones congénitas mayores (atresia de esófago).

Análisis variables cuantitativas.

Dentro de los dos grupos no se encontraron diferencias significativas en la relación a los antecedentes maternos, con una media general respecto a la edad de 22.4 años (DS 5.8, $p = 0.27$) y una media en el número de gestas de 1.9 (DS 1.29, $p = 0.31$). Tampoco se encontraron diferencias significativas respecto a la edad gestacional con media de ambos grupos de 30.2 semanas (DS 1.4, $p = 0.08$), peso al nacer con media de 1119 ($p = 0.08$), Apgar al primer minuto de vida con media de 6 (DS 1.2, $p = 0.08$); sin embargo se encontró diferencia significativa en relación al Apgar a los 5 minutos de vida con media de 6.6 para el grupo 1 y 7.8 para el grupo 2 ($p = 0.02$).

En relación a los valores hematológicos al nacer, no se encontró diferencia significativa respecto a la hemoglobina de ambos grupos con media general de 15.1 g/dl ($p = 1$), hematocrito con media general de 43.6% ($p = 0.29$), leucocitos con media general de 10,500 uL ($p = 0.8$), neutrófilos con media general 5,262 uL ($p = 0.6$), plaquetas con media general de 105,000 mm³ ($p = 0.5$); hierro sérico con media general de 137.1 ug/dl ($p = 0.18$); sin embargo en cuanto al valor de reticulocitos se encontró una media para el grupo 1 de 1.3% (DS 0.55) y para el grupo 2 de 2.4% (DS 1.5) con una p significativa ($p = 0.04$).

Durante el seguimiento de los pacientes en cada uno de los grupos se encontraron los siguientes hallazgos:

Cifras tensiionales

En el inicio del estudio se encontró una media general de 62/41 (DS 2.9/2.4 $p = 0.4$). Al finalizar la primera semana de estudio, se encontró una media general similar, sin embargo las cifras tensiionales diastólicas específicas para el grupo 1 una media de 40.1 (DS 2) y en el grupo 2 una media de 41.9 (DS 1.5) obteniéndose una $p = 0.03$. Durante las siguientes semanas se mantuvieron cifras tensiionales adecuadas en ambos grupos sin mostrar diferencias significativamente estadísticas.

Hemoglobina y hematocrito

No se encontraron diferencias significativas en ambos grupos. Al finalizar la primera semana de estudio, se encontró una media general de hemoglobina en 15.5 g/dl (DS 1.2, $p = 0.6$) y de hematocrito en 45% (DS 5.15, $p = 0.7$), en la segunda semana una media general de hemoglobina de 14.4 g/dl (DS 1.6, $p = 0.4$) y de hematocrito 41.9% (DS 1.6, $p = 0.4$), en la tercera semana una media general de hemoglobina de 13.4 g/dl (DS 1.6, $p = 0.6$) y de hematocrito 37.5% (DS 9.2, $p = 0.6$), en la cuarta semana una media general de hemoglobina de 12.5 g/dl (DS 1.2, $p = 0.3$) y de hematocrito 36.8% (DS 3.2, $p = 0.3$).

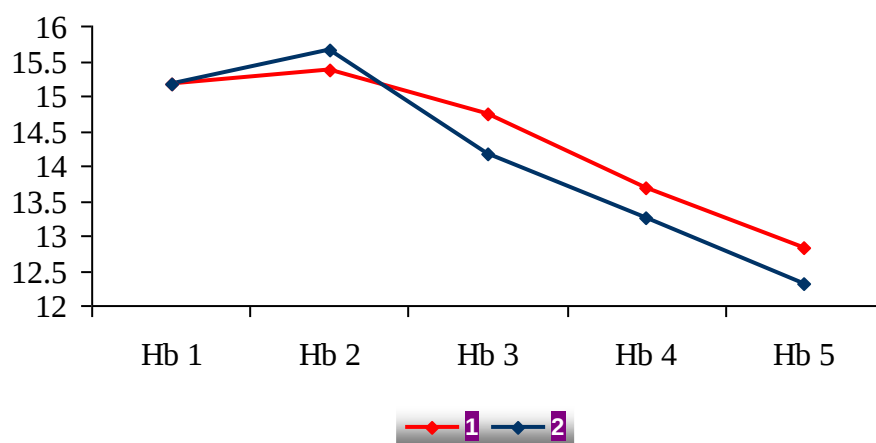


Fig 1. Curva comparativa de hemoglobina.

Reticulocitos

Los resultados encontrados al término de la primera semana sin diferencias significativas, con media general de 2.58% (DS 0.9), para el grupo 1 de 2.39 (DS 0.85) y para el grupo 2 de 2.77 (DS 1) con una $p = 0.3$, al finalizar la segunda semana se encontró una media general de 3.36 (DS 1), para el grupo 1 de 3.2 y para el grupo 2 de 3.4 (DS 1.1) con una $p = 0.6$, sin embargo al finalizar la tercera semana se obtuvo una media para el grupo 1 de 4.3 (DS 0.6) y para el grupo 2 de 3.5 (DS 0.8) obteniendo una p significativa de 0.03.

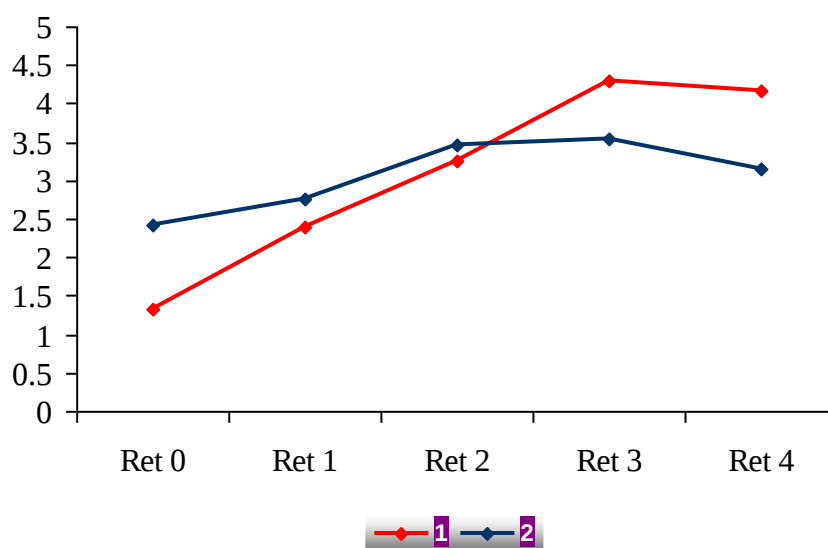


Fig 2 Curva comparativa de reticulocitos.

Hierro sérico

Los dos grupos presentaron valores similares de hierro sérico al nacer, con valor en el grupo 1 de 120.6 ug/dl y en el grupo 2 de 153.6 ug/dl, con una $p = 0.18$ y al finalizar el protocolo se encontró en el grupo 1 una media discretamente mayor de 113.8 ug/dl en comparación al grupo 2 con valor de 108.6 ug/dl, sin embargo sin valor estadístico ($p = 0.5$).

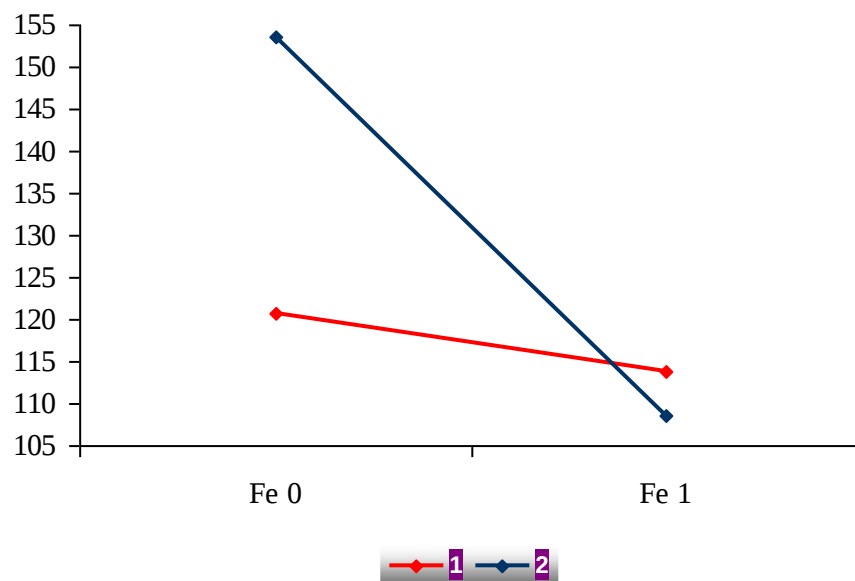


Fig 3 Curva comparativa de hierro sérico.

Número de transfusiones

El número de pacientes transfundidos en el grupo 1 fue de 3, con un total de 7 transfusiones (media 0.8, DS 1.1); en el grupo 2 se transfundieron 6 pacientes, con un total de 8 transfusiones (media 0.8, DS 0.7) obteniéndose una p sin valor significativo.

En relación al seguimiento de leucocitos totales, neutrófilos y plaquetas no se encontraron hallazgos significativos durante el estudio.

Tabla 1. Variables cuantitativas maternas.

Maternos	General X(DS)	Grupo 1 X(DS)	Grupo 2 X(DS)	P
Edad Materna	22.4 (5.8)	23.9 (6.4)	21 (5)	0.27
# de gesta	1.9 (1.29)	2.2 (1.6)	1.6 (0.69)	0.31

Tabla 2. Variables cualitativas neonatales.

Neonato	General X(DS)	Grupo 1 X(DS)	Grupo 2 X(DS)	P
Edad gestacional	30.2 (1.4)	29.7 (1.7)	30.8 (0.91)	0.08
Apgar 1'	6 (1.2)	5.5 (1.1)	6.5 (1.2)	0.08
Apgar 5'	7.2 (1.1)	6.6 (1.1)	7.8 (0.9)	0.02
Peso (grams)	1119 (0.155)	1060 (0.176)	1178 (0.109)	0.08
TA sistólica inicial	62 (2.9)	61.5 (2.6)	62.6 (3.3)	0.4
TA diastólica inicial	41.7 (2.4)	41.3 (2.7)	42.2 (2)	0.4
Sangre extraída (ml)	29.6 (8.3)	27.9 (8.3)	31.1 (8.5)	0.3
Hemoglobina inicial	15.1 (0.88)	15.1 (0.86)	15.1 (0.9)	NS
Hematocrito inicial	43.6 (3.5)	44.5 (2.7)	42.7 (4.1)	0.29
Leucocitos iniciales	10,500 (5.9)	10,200 (5)	10,800 (6.9)	0.8
Neutrófilos iniciales	5264 (4.4)	5701 (5.8)	4827 (2.6)	0.6
Plaquetas iniciales	10.5 (5.9)	9.7 (4.1)	11.3 (7.4)	0.5
Reticulocitos iniciales	1.8 (1.2)	1.3 (0.55)	2.4 (1.5)	0.04
Hemero sérico inicial	137.1 (54.8)	120.6 (17.7)	153.6 (73.6)	0.18
TA sistólica semana 1	62 (2.6)	61.2 (3.1)	62.9 (1.7)	0.15
TA diastólica semana 1	41 (1.9)	40.1 (2)	41.9 (1.5)	0.03
Hemoglobina semana 1	15.5 (1.2)	15.3 (1.2)	15.6 (1.3)	0.6
Hematocrito semana 1	45 (5.15)	44.7 (5.7)	45.4 (4.7)	0.7
Leucocitos semana 1	15,738 (7.1)	16,493 (9.2)	14,984 (4.7)	0.6
Neutrófilos semana 1	7735 (4.1)	8315 (4.8)	7155 (3.5)	0.5

Plaquetas semana 1	10.5 (5.9)	10 (6)	11 (6)	0.7
Reticulocitos semana 1	2.58 (0.9)	2.39 (0.85)	2.77 (1)	0.3
TA sistólica semana 2	62.5 (2.1)	62.2 (1.7)	62.9 (2.4)	0.4
TA diastólica semana 2	41.3 (0.9)	41.3 (0.8)	41.4 (1)	0.8
Hemoglobina semana 2	14.4 (1.6)	14.7 (2.1)	14.1 (1)	0.4
Hematocrito semana 2	41.9 (4.4)	42.7 (5.2)	41.1 (3.4)	0.4
Leucocitos semana 2	16,737 (8)	18,009 (10)	15,466 (12)	0.4
Neutrófilos semana 2	7842 (4.5)	8161 (6.2)	7523 (1.8)	0.7
Plaquetas semana 2	9.65 (5.6)	9.6 (5.9)	9.7 (5.7)	0.9
Reticulocitos semana 2	3.36 (1)	3.2 (0.89)	3.47 (1.1)	0.6
Hemoglobina semana 3	13.4 (1.6)	13.6 (2.2)	13.2 (1)	0.6
Hematocrito semana 3	37.4 (9.2)	36.4 (13.1)	38.2 (4.1)	0.6
Leucocitos semana 3	15,860 (8.4)	18,010 (11.4)	13,925 (4.2)	0.3
Neutrófilos semana 3	7755 (4.6)	8486 (6.5)	7097 (1.9)	0.5
Plaquetas semana 3	9.2 (5.3)	7.8 (4.7)	10.4 (5.7)	0.3
Reticulocitos semana 3	3.9 (0.8)	4.3 (0.6)	3.5 (0.8)	0.03
Hemoglobina semana 4	12.5 (1.2)	12.8 (1.2)	12.3 (1.3)	0.3
Hematocrito semana 4	36.8 (3.2)	37.5 (3.3)	36.2 (3.2)	0.3
Leucocitos semana 4	12,976 (5.9)	13,138 (7.1)	12,830 (5)	0.9
Neutrófilos semana 4	5092 (3.1)	4338 (3.4)	5770 (2.8)	0.3
Plaquetas semana 4	9.1 (5.4)	9.6 (3.6)	8.6 (6.8)	0.6
Hemoglobina mensual	111.2 (18)	113.8 (5.7)	108.6 (20.1)	0.5
# de transfusiones	0.8 (0.95)	0.8 (1.1)	0.8 (0.7)	NS
Peso al finalizar	1277.3 (157)	1236.6 (169)	1314 (143)	0.2

Análisis variables cualitativas.

Las características de los pacientes en cuanto a género no mostraron diferencia entre los dos grupos, encontrando 50 % de mujeres y 50 % de hombres.

Tabla 3 Sexo

Sexo	Grupo 1	Grupo 2	P
Masculino	4 (50 %)	4 (50 %)	NS
Femenino	6 (50 %)	6 (50 %)	NS

En relación al antecedente de control prenatal se encontró para el grupo 1 únicamente una madre (25%) que acudió a más de 5 consultas y en el grupo 2 con un total de 3 madres (75%). En cuanto a control con menos de 5 consultas fueron 6 (60%) pacientes en el grupo 1 y 4 (40%) para el grupo 2. De las madres que no tuvieron control prenatal se encontraron 3 para cada grupo, correspondiendo 50% respectivamente.

Tabla 4 Control prenatal

Control prenatal	Grupo 1	Grupo 2	P
Menos de 5 consultas	6 (60%)	4 (40%)	0.3
Más de 5 consultas	1 (25%)	3 (75%)	0.2
Ninguna consulta	3 (50%)	3 (50%)	NS

Respecto a los antecedentes patológicos maternos entre ambos grupos al ingresar al servicio de tococirugía de nuestra unidad, se encontró en el grupo 1 un total de 5 madres sin patología concomitante correspondiendo al 38.46% y en el grupo 2 un total de 8 pacientes correspondiendo al 61.54% restante. Mujeres con hipertensión arterial inducida por el embarazo se encontró en el grupo 1 un total de 2 (66.6%) y en el grupo 2 un total de 1 (33.3%). Dentro del grupo 1 se presentó 1 caso de desprendimiento prematuro de placenta no inserta y en cuanto a infección de vías urinarias se confirmaron 2 dentro del grupo 1 con un 66.6% y solo 1 en el grupo con un (33.3%).

Tabla 5. Patologías maternas

Patología materna	Grupo 1	Grupo 2	P
Ninguna	5 (38.46 %)	8 (61.54 %)	0.15
Hipertensión arterial	2 (66.67 %)	1 (33.33 %)	0.53
Desprendimiento de placenta prematura	1 (100 %)	0 (0 %)	0.3
Infección de vías urinarias	2 (66.67 %)	1 (33.33 %)	0.5

En cuanto al tipo de nacimiento, se encontró para el grupo 1 un total de 7 pacientes obtenidos por vía vaginal y 3 pacientes obtenidos por cesárea, correspondiendo a 53.8% y 42.8% respectivamente, y en el grupo 2 un total de 6 pacientes obtenidos por vía vaginal y 4 pacientes obtenidos por cesárea, correspondiendo a un 46.15% y 57.14% respectivamente.

Tabla 6. Vía de nacimiento

Tipo de resolución	Grupo 1	Grupo 2	P
Vaginal	7 (53.85 %)	6 (46.15 %)	0.6
Abdominal	3 (42.86 %)	4 (57.14 %)	0.6

Del total de pacientes, 5 pacientes (62.5%) del grupo 1 requirió reanimación neonatal avanzada en comparación con 3 pacientes (37.5%) del grupo 2 que ameritaron maniobras de reanimación.

Tabla 7. Reanimación neonatal

Reanimación neonatal	Grupo 1	Grupo 2	P
Si	5 (62.5 %)	3 (37.5 %)	0.3
No	5 (41.67 %)	7 (58.33 %)	0.3

Así mismo, se comparó la necesidad de ventilación mecánica asistida en la sala de UCI N entre ambos grupos, encontrándose para el grupo 1 un total de 6 pacientes (60 %) y para el grupo 2 un total de 4 pacientes (40 %).

Tabla 8 Fase de ventilación

Fase de ventilación	Grupo 1	Grupo 2	p
Casco cefálico	4 (40 %)	6 (60 %)	0.3
Ventilación mecánica	6 (60 %)	4 (40 %)	0.3

Finalmente, se comparó el sitio de egreso al concluir el protocolo, encontrándose para el grupo 1 un total de 5 pacientes (35.7 %) y para el grupo 2 un total de 9 pacientes (64.29 %) con destino a la sala de crecimiento y desarrollo ($p = 0.05$); de los pacientes restantes, 5 (83.3 %) pacientes del grupo 1 murieron y solo 1 (16.6 %) del grupo 2 murió ($p = 0.5$). Dentro de las causas de muerte se encontró comparativamente 1 paciente en cada grupo con diagnóstico de sepsis (50 % respectivamente), 1 paciente con diagnóstico de neumonía en el grupo 1 ($p = 0.3$) y 3 pacientes con diagnóstico de hemorragia intraventricular en el grupo 1 ($p = 0.06$).

Tabla 9 Destino de egreso

Destino final	Grupo 1	Grupo 2	p
Sala crecimiento y desarrollo	5 (35.7 %)	9 (64.29 %)	0.05
Defunción	5 (83.33 %)	1 (16.67 %)	0.05

Tabla 10. Causa de defunción

Diagnóstico de defunción	Grupo 1	Grupo 2	P
Neumonía	1 (100 %)	0 (0 %)	0.3
Sepsis	1 (50 %)	1 (50 %)	NS
Hemorragia intraventricular	3 (100 %)	0 (0 %)	0.06
No aplica	5 (35.71 %)	9 (64.29 %)	0.05

Análisis de enfermedades concomitantes en ambos grupos

Al realizar un análisis respecto al tipo de patología presentada en cada grupo no se observaron diferencias significativas como lo podemos observar en la siguiente tabla.

Tabla 11. Enfermedades concomitantes

	Grupo 1 n (%)	Grupo 2 n (%)	Chi 2	P
Enfermedad de membrana hialina	8 (80 %)	9 (90 %)	0.39	0.53
Sepsis neonatal	6 (60 %)	8 (80 %)	0.95	0.32
Ictericia	5 (50 %)	8 (80 %)	1.97	0.16
Apnea del prematuro	1 (10 %)	1 (10 %)	0	NS

Analítico

En el análisis de ambos grupos respecto al desarrollo de anemia durante el protocolo, a pesar de encontrarse al final del estudio un mayor número de pacientes con anemia en el grupo 2 (grupo 1 n=4 y grupo 2 n=8), no se encontró diferencia significativa en ambos grupos, como se puede observar en el cuadro siguiente.

	Grupo 1	Grupo 2	Chi 2	p
	n (%)	n (%)		
Anemia semana 0	0 (0%)	1 (10%)	1.05	0.3
Anemia semana 1	0 (0%)	1 (10%)	1.05	0.3
Anemia semana 2	1 (10%)	0 (0%)	0.95	0.3
Anemia semana 3	3 (33.3%)	5 (50%)	0.53	0.46
Anemia semana 4	4 (44.4%)	8 (80%)	2.57	0.1

Tabla 12 Comparación del desarrollo de anemia ($hb \leq 13$) en ambos grupos.

Respecto a la respuesta recuocitaria, a pesar de haber encontrado diferencias importantes de proporciones entre ambos grupos, no se encontró diferencia significativa al realizar chi cuadrada y calculo de p, pudiendo observar resultados en la siguiente tabla.

	Grupo 1 n (%)	Grupo 2 n (%)	Chi 2	p
Reticulocitos semana 0	0 (0%)	5 (50%)	6.6	0.010
Reticulocitos semana 1	3 (30%)	4 (40%)	0.21	0.639
Reticulocitos semana 2	7 (60%)	6 (70%)	0.21	0.639
Reticulocitos semana 3	9 (90%)	8 (80%)	2.01	0.156
Reticulocitos semana 4	9 (90%)	7 (70%)	1.25	0.264

Tabla 13. Respuesta reticulocitaria arriba de 3% en ambos grupos.

En cuanto al análisis del hierro sérico inicial encontrándose en el grupo 1 un 10% (n=1) de pacientes con niveles bajos de hierro y al finalizar el protocolo se encontró 30% (n=3) en el grupo 1 y 50% (n=5) en el grupo 2, sin embargo sin diferencias estadísticamente significativas de ambos grupos, pudiendo observarse los siguientes resultados en la tabla

	Grupo 1 n (%)	Grupo 2 n (%)	Chi 2	p
Hierro inicial	1 (10%)	0 (0%)	1.05	0.3
Hierro final	3 (30%)	5 (50%)	0.83	0.36

Tabla 13. Evaluación de hierro sérico bajo ($\leq 100 \mu\text{g/dl}$) en ambos grupos.

Final mente, al analizar si hubo disminuci3n en el numero de transfusiones en ambos grupos, se encontr3 un menor numero de pacientes transfundidos en el grupo 1 (n=6) en comparaci3n con el grupo 2 (n=4), sin embargo tampoco hubo diferencia significativa.

	Grupo 1	Grupo 2	Chi 2	P
	n (%)	n (%)		
Pacientes no transfundidos	6 (60 %)	4 (40 %)	0.8	0.37

Tabla 14. Comparaci3n de pacientes que no ameritaron transfusiones.

CAPITULO V DISCUSION

En el presente estudio se encontró una respuesta hematológica similar a la eritropoyetina humana recombinante tanto en el grupo de hierro parenteral administrado en las primeras horas de vida a 1 mg/kg/día, así como en el grupo en que recibió hierro oral a razón de 6 mg/kg/día al tolerar la vía oral a 50ml/kg/día. En ambos grupos se observó niveles de hemoglobina y hematocrito sin diferencias significativas, así como un número final de transfusiones similares, a pesar de observarse un incremento significativo de reticulocitos en el grupo de hierro parenteral al finalizar la tercer semana de tratamiento. En relación a los niveles de hierro sérico, al inicio del estudio, el grupo 1 mostraba niveles de hierro sérico discretamente menores que el grupo 2 y como hallazgo al finalizar el protocolo se encontró un discreto incremento de hierro sérico en el grupo 1 en comparación con el grupo 2, sin embargo sin diferencia significativa entre ambos grupos.

Los recién nacidos pretérmino están expuestos a desarrollar deficiencia de hierro debido a las bajas reservas de hierro secundarias a la interrupción de la gestación antes del término y al pobre aporte de éste de manera exógena en consecuencia de las patologías concomitantes durante su estancia en la unidad de cuidados intensivos neonatales, así como a las pérdidas de hierro durante la toma de muestras sanguíneas para exámenes de laboratorio⁶⁻⁸. El tratamiento con EPO humana recombinante también contribuye a la deficiencia de hierro funcional, lo cual ha sido demostrado por diferentes estudios en donde se ha observado descenso de los niveles séricos de ferritina durante la terapia con eritropoyetina humana recombinante a pesar del suplemento oral de hierro^{1,2,4,5}. Esta deficiencia funcional de hierro puede limitar la eficacia de la terapia con EPO humana recombinante, por lo que se han desarrollado diferentes ensayos clínicos con aporte

de hierro oral de 2 a 6 mg/kg/día¹⁻⁵ hasta dosis elevadas como 18 a 36 mg/kg/día^{9,10} sin aparentes efectos secundarios y sin cambios significativos en los niveles de hierro sérico y ferritina sérica, sin embargo se ha planteado la administración temprana de hierro para prevenir esta deficiencia de hierro durante la terapia con eritropoyetina humana recombinante. Se ha encontrado en algunos ensayos en donde se compara hierro intravenoso en comparación a la administración vía oral, concluyéndose es seguro, sin embargo los resultados hematológicos en respuesta a la eritropoyetina humana recombinante son similares en ambos grupos¹¹ así como los hallazgos encontrados en el presente estudio.

Nuestro estudio presenta varias limitantes, entre las cuales la primera de ellas es que se trata de una muestra pequeña, en segundo plano no se trata de un estudio doble ciego y en tercer lugar se trata de un estudio a corto plazo y enfocado al número de transfusiones.

CAPITULO VI. CONCLUSIONES

En el presente estudio se llego a la conclusión que la administración temprana de hierro parenteral en asociación a la terapia temprana con eritropoyetina humana recombinante, no muestra mayor beneficio respecto al desarrollo de anemia, respuesta reticulocitaria, niveles de hierro sérico y número de transfusiones que la terapia con hierro oral.

Sin embargo, se trata de un estudio piloto, en donde falta un mayor número de pacientes y crear un grupo control sin administración de eritropoyetina humana recombinante, por lo que es necesario realizar nuevos ensayos estrictamente controlados para ofrecer resultados certeros.

CAPITULO VI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Mai er RF, Sonntag J, Wal ka MM, Li u G, Metz e BC, Obladen M. Changing practices of red blood cell transfusions in infant with birth weights less than 1000 g. *J Pediatr* 2000; 136: 220-4.
2. John A. Wdness. Pathophysiology, diagnosis and prevention of neonatal anemia. *Neoreviews*. 2000 Apr; 1:e61-e80.
3. Franz AR, Pohl and F. Red blood cell transfusion in very and extremely low birth weight infants under restrictive transfusion guidelines: is exogenous erythropoietin necessary?. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2001; 84: F96-F100.
4. Ohls R. Management of the anemia of prematurity using Human Recombinant Erythropoietin. *Transfusion alternatives in transfusion Medicine*. 2000; 4: 14- 19.
5. Blanchette V, Zupursky A. Neonatal Hematology. In Avery S (ed). *Neonatology: Pathophysiology and Management of the newborn*. Philadelphia, JB Lippincott 1987; pp 638-686.
6. Rojas-Escalante E. Anemias del recién nacido. Guía para el uso de eritropoyetina. *Rev Hosp. Mat Inf Ramón Sarda*. 2001; 20(3): 133-139.
7. Ohls R. Human Recombinant Erythropoietin in the prevention and treatment of anemia of prematurity. Review article. *Pediatr Drug* 2002; 4(2): 111-121.
8. Zanjani ED, Pixley JS, Sliknick N, Mackintosh FR, Ekhterae D, Gemon G. Erythropoietin does not cross the placenta into the fetus. *Pathobiology* 1993; 61: 211-5.
9. Malek A, Sager R, Eckardt KU. Lack of transport of erythropoietin across the human placenta as studied by an in Vitro perfusion system. *Pflügers Arch* 1994; 427: 157-61.

10. Zanjan ED, Poster J, Burlington H, Mann Li, Wasserman LR. Liver as the primary site of erythropoietin formation in fetus. *J Lab Clin Med* 1977; 89: 640-4
11. Cloherty JP, Stark AR. Manual de neonatología. Editorial Medsi. 4ª edición. Rio de Janeiro. 2000.
12. Fanaroff, Martin. Neonatal-Perinatal Medicine Ed. The blood and hematopoietic system 1997
13. Riegel KP. Respiratory gas transport characteristics of blood and hemoglobin. In Stave U (ed) Physiology of the Neonatal Period. New York, Appleton-Century-Crafts, 1970
14. Pearson HA. Disorders of hemoglobin synthesis and metabolism. In Oski FA, Naiman N (eds): Hematologic Problems in the newborn, Philadelphia, WB Saunders, 1982, p253.
15. Thomas RM, Canning CE, Cotes PM, Lynch DC, Rodeck CH, Rossiter CE. Erythropoietin and cord blood haemoglobin in the regulation human fetal erythropoiesis. *Br J Obstet Gynecol* 1983; 90: 795-800.
16. Wdness JA, Phillips AF, Clemons GK. Erythropoietin levels and erythropoiesis at birth in infants with Potter's syndrome. *J Pediatr* 1990; 117: 155.
17. Ohls R. The use of erythropoietin in neonates. *Clin Perinatol* 2000 Sep; 27(3): 681-96.
18. Kling PJ, Schmidt RL, Roberts RA. Serum erythropoietin levels during infancy: associations with erythropoiesis. *J Pediatr* 1996; 128(6): 791-6
19. Cohen A, Manno C. Transfusion practices in infants receiving assisted ventilation. *Clinics in Perinatology* 1998; 25: 97-111.
20. Stockman JA, Oski FA. Red blood cell values in low birth-weight infants during the first seven weeks of life. *Am J Dis Child* 1980; 134: 945-6

21. Lundstrom U, Siimes MA, Dallman PR. At what age does iron supplementation become necessary in low birth weight infants?. *J Pediatr* 1997; 91: 878.
22. Keyes WG, Donohue PK, Spirak JL, Jones MD, Osko FA. Assessing the need for transfusion of premature infant and the role of hematocrit clinical signs and erythropoietin level. *Pediatrics* 1989; 84: 412-7.
23. Stockman JA, Garcia JF, Oski FA. The anemia of prematurity: factors governing the erythropoietin response. *N Engl J Med* 1977; 296: 647-50.
24. Stockman III JA, Graeber JE, Clark BA. Anemia of prematurity: determinants of the erythropoietin response. *J Pediatr* 1984; 105: 786-92.
25. Brown MB, Garcia JF, Phibbs RH. Decreased response of plasma immunoreactive erythropoietin to 'available oxygen' in anemia of prematurity. *J Pediatr* 1984; 105: 793-8.
26. Rhondeau SM, Christensen RD, Ross MP. Responsiveness to recombinant human erythropoietin of marrow erythroid progenitors from infants with the 'anemia of prematurity'. *J Pediatr* 1988; 112: 935-40.
27. Ohls RK, Liechty KW, Turner MC. Erythroid 'burst promoting activity' in the serum of patients with the anemia of prematurity. *J Pediatr* 1990; 116: 786-9.
28. Salvado A, Ramolfo P, Escobar M, Nunez A, Aguayo I, Standen J, et. al. Early erythropoietin use for the prevention of anemia in infant premature. *Rev Med Chil* 2000; 128 (12): 1313-7.
29. Meyer MP, Sharma E, Carsons M. Recombinant erythropoietin and blood transfusion in selected preterm infant. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2003; 88 (1): F41-5.

30. Ohls R, Ehrenkranz R, Wright L, Lemons J, Korones S, Stoll B, et. al. Effects of early erythropoietin therapy on the transfusion requirements of preterm infants below 1250 grams birth weight: a multicenter randomized, controlled trial. *PEDIATRICS* Octubre 2001; 108 (4):934-942
31. Donato H, Vain N, Rendo P, Mvas N, Prudent L, Larguia M et. al. Effect of early versus late administration of human recombinant erythropoietin on transfusion requirements in premature infants: results of a randomized, placebo-controlled, multicenter trial. *Pediatrics* 2000; 105(5):1066-72
32. Halperin DS, Wacker P, Lacourt G. Effects of recombinant human erythropoietin in infants with the anemia of prematurity: a pilot study. *J Pediatr* 1990; 116: 779-86
33. Maier RF, Obladen M, Scigalla P. The effect of epoetin beta (recombinant human erythropoietin) on the need for transfusion in very low birth weight infants. *N Engl J Med* 1994; 330:1173-8
34. Meyer MP, Meyer JH, Commnerford A. Recombinant human erythropoietin in the treatment of anemia of prematurity: results of a double-blind, placebo-controlled study. *Pediatrics* 1994; 93 (9):18-23
35. Shannon KM, Keith JF, Mentzer WC. Recombinant human erythropoietin stimulates erythropoiesis and reduces erythrocyte transfusions in very low birth weight preterm infants. *Pediatrics* 1995; 95:1-8
36. Ohls RK, Osborne KA, Christensen RD. Efficacy and cost analysis of treating very low birth weight infants with erythropoietin during their first two weeks of life: a randomized, placebo controlled trial. *J Pediatr* 1995; 126:421-6

37. Al-Kharfy T, Smyth JA, Wadsworth L. Erythropoietin therapy in neonates at risk of having bronchopulmonary dysplasia and requiring multiple transfusions. *J Pediatr* 1996; 129 (1): 89-96.
38. Ohls RK, Harcum J, Schibler KR. The effect of erythropoietin on the transfusion requirements of preterm infants <750 grams: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Pediatr* 1997; 131: 661-5.
39. Donato H, Vain N, Rendo P. Effect of early versus late recombinant human erythropoietin on transfusion requirements in premature infants: results of a randomized, placebo-controlled, multicenter trial. *Pediatrics* 2000; 105 (5): 1066-72.
40. Maier RF, Obladen M, Kattner E. High-versus low-dose erythropoietin in extremely low birth weight infants. *J Pediatr* 1998; 132: 866-70.
41. Carniello V, Montini G, Da Riol R. Effect of high doses of human recombinant erythropoietin on the need for blood transfusions in preterm infants. *J Pediatr* 1992; 121: 98-102.
42. Bifano EM, Curran TR. Minimizing donor blood exposure in the neonatal intensive care unit. Current trends and future prospects. *Clin Perinatol* 1995; 22(3): 657-69.
43. Bechensteen AG, Haga P, Halvorsen S. Effect of low and moderate doses of recombinant human erythropoietin on the haematological response in premature infants on a high protein and iron intake. *Eur J Pediatr* 1997; 156: 56-61.
44. Barry DMJ, Reeve AW. Increased incidence of gram-negative neonatal sepsis with intramuscular iron administration. *Pediatrics* 1977; 60: 908-12.
45. Becroft DMQ, Dix MR, Farmer K. Intramuscular iron-dextran and susceptibility of neonates to bacterial infections. *Arch Dis Child* 1977; 52: 778-81.

46. Friel AK, Andrews WL, Hall MS. Intravenous iron administration to very-low birth-weight newborns receiving total and partial parenteral nutrition. *J Parenter Enteral Nutr* 1995; 19: 114-8.
47. Meyer MP, Hawthorth C, Meyer JH. A comparison of oral and intravenous iron supplementation in preterm infants receiving recombinant erythropoietin. *J Pediatr* 1996; 129: 258-63.
48. Pollak A, Hayde M, Hayn M. Effect of intravenous iron supplementation on erythropoiesis in erythropoietin-treated premature infants. *Pediatrics* 2001; 107(1): 78-85.
49. Pathak A, Roth P, Piscitelli J, Jonson L. Effects of vitamin E supplementation during erythropoietin treatment of the anemia of prematurity. *Arch dis child fetal neonatal ed* 2003; 88(4): F324-F328.
50. Worthington-White DA, Behnke M, Gross S. Premature infants require additional folate and vitamin B-12 to reduce the severity of the anemia of prematurity. *Am J Clin Nutr* 1994; 60(6): 930-5.
51. Beck D, Misserey E, Meyer M. Weekly intravenous administration of recombinant human erythropoietin in infants with the anemia of prematurity. *Eur J Pediatr* 1991; 150: 767-72.
52. Meister B, Maurer H, Simma B. The effect of recombinant human erythropoietin in circulating hematopoietic progenitor cells in anemic premature infants. *Stem Cells* 1997; 15(5): 359-63.