

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN CRAIOVA
ȘCOALA DOCTORALĂ**

**TEZĂ DE DOCTORAT
REZUMAT**

**ANEMIA DE PREMATURITATE–ERITPOIETINĂ VERSUS TRANSFUZIILE
DE MASĂ ERITROCITARĂ**

**CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:
Prof. Dr. FLORICA POPESCU**

**STUDENT DOCTORAND:
Dr. NICOLA C. MIRELA ANIȘOARA (SIMINEL)**

CRAIOVA

CUPRINS

1. STADIUL CUNOAȘTERII.....	1
2. CERCETĂRI PERSONALE.....	2
2.1 SCOPUL LUCRĂRII.....	3
2.2 MATERIAL ȘI METODE.....	3
2.3 REZULTATE ȘI DISCUȚII.....	4
2.4 CONCLUZII.....	6
3. BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ.....	6

LISTA DE ABREVIERI

EPO	- eritropoietina
VG	- vârsta de gestație
Hb F	- Hemoglobina fetală
Hb	- Hemoglobină
VLBW	- greutate foarte mică la naștere
ELBW	- greutate extrem de mică la naștere
Ht	-Hematocrit
Zn PP	- zinc protoporfirina
Zn PP/Hem	- raportul zinc protoporfirinape Hem
rHuEPO	- eritropoietină umană recombinată
ME	-masă eritrocitară
ETF	- ecografie transfontanelară

1.STADIUL CUNOAȘTERII

Anemia prematurului este o anemie multifactorială caracterizată prin nivele scăzute de eritropoietină (Epo), pierderi de sânge iatrogenic, volum mic de sânge circulant și eritropoieza insuficientă^[1].

Reprezintă o problemă datorată atât incidenței mari, simptomatologiei asociate cât și nevoilor transfuzionale crescute^[2]. Este o anemie normocromă normocitară hiporegenerativă ce apare între a 2-a și a 6-a săptămână de viață la prematurii cu vârsta gestațională (VG) sub 35 de săptămâni^[2, 3].

Este o “exagerare” a unei anemii fiziologice datorate scăderii masei eritrocitare după naștere, durata de viață scăzută a eritrocitelor cu hemoglobină fetală (Hb F) la prematur 50%, expansiunea rapidă a volumului de sânge (10-15% pe săptămână), deficitului de vitamina E^[2].

Limita inferioară a hemoglobinei(Hb) la un prematur este mult mai mică decât la un nou născut la termen și ajunge până la 6.5g/dl, asociată clinic cu scăderea activității, deficit de creștere, tahicardie și tahipnee sau uneori fără expresie clinică^[4].

Eritropoietina, glicoproteina ce stimulează diviziunea și maturarea liniilor celulare eritrocitare este produsă încă din perioada fetală și poate fi detectată în cordonul ombilical din săptămâna 19^[4].

Epo este sintetizată în special în rinichi stimulată de scăderea nivelului oxigenului din fluxul renal. În perioada fetală Epo se produce în ficat ajungând la naștere să se producă preponderent în rinichi^[5].

În perioada fetală, concentrațiile de Epo circulantă cresc de la 4mU/ml la 16 săptămâni la 40 mU/mL la termen^[6, 7, 8].

După naștere la nou născuții la termen concentrațiile de Epo scad între 15-40 mU/mL la naștere pentru a atinge minimum între săptămâna 4 și 6 de viață^[9, 10]. Între 10 și 12 săptămâni de viață se atinge valoarea concentrației de adult (aproximativ 15 mU/mL)^[11].

Hepatocitele care sintetizează Epo au sensibilitate scăzută la hipoxie astfel că prematurul este dependent de producția inefficientă de Epo din ficat corespunzătoare unui grad de anemie^[12, 13]. Multă vreme s-a considerat ca deficitele de vitamina E, fier, acid folic și proteine erau cele responsabile de apariția anemiei la prematur^[14].

Nașterea prematură deprivează fetusul de o acumulare semnificativă a fierului în depozite ce are loc dincolo de săptămâna 32. Astfel fierul total din organism și depozitele din țesuturi, Hb și feritina serică sunt scăzute la prematur^[15, 16, 17].

Fără suplimentare de fier prematurii foarte mici și extrem de mici pentru vârsta gestațională (VLBW, ELBW) pot fi cu balanța de fier negativă în prima lună de viață cu consecințe pe termen scurt și lung asupra dezvoltării ulterioare^[18].

Deficitul de fier perinatal afectează creșterea, maturarea și funcționarea unor multiple organe și sisteme incuzând inima, mușchii scheletici, tractul gastrointestinal și creierul^[18, 19, 20, 21].

Anemia la prematur era definită de anumite niveluri scăzute ale constantelor hematologice: hemoglobina(Hb), hematocrit (Ht), sideremia, numărul eritrocitelor, nivelul reticulocitelor [2,3,17].

Studii numeroase s-au făcut pentru determinarea indicilor eritropoiezei și stimulării ei, a depozitorilor de fier și a fierului din transportori în corelație cu clinica. [17, 18]

Astfel s-au studiat nivelul Hb și feritinei serice din cordonul ombilical corelat cu dezvoltarea neuromotorie a copilului în primul an de viață. Nivele scăzute ale Hb și feritinei serice din cordonul ombilical au valoare predictivă pentru anemia prematurului cu efecte neuropsihomotorii imediate și la distanță [20,21,22,23,24].

Alte studii arată că protoporfirina eritrocitară liberă, Zn protoporfirină (Zn PP) și raportul Zn PP/Hem sunt crescute în hipoxia perinatală sau dacă suplimentarea cu fier nu este suficientă pentru eritropoieza [25, 26, 27].

Sideremia și saturația transferinei serice nu reflectă cu acuratețe compartimentul de transport al fierului în perioada perinatală. Managementul anemiei prematurului vizează menținerea cât mai intactă a masei eritrocitare a prematurului și stimularea producerii adecvate a eritrocitelor [19, 20, 21].

Clamparea întârziată a cordonului ombilical și evitarea excesului de recoltări de sânge în scop diagnostic sunt metode de reducere a pierderilor de sânge [28].

După o recenzie Cochrane Central Library, tratamentul anemiei la prematurul foarte mic (VLBW) sub 1000g și extrem de mic (ELBW) între 1000-1500 g constă până în anii 1990 în multiple transfuzii de sânge [29, 30, 31].

Între anii 1990 și 2013 după The Register of Controlled Trials s-au efectuat 59 studii în 20 țări asupra tratamentului anemiei incluzând peste 2000 de prematuri [29, 30].

Aceste studii au relevat eficacitatea și siguranța inițierii terapiei precoce cu EPO concomitent cu suplimentarea adecvată cu fier, vitamina E și acid folic în prevenirea anemiei prematurului precum și reducerea numărului de transfuzii [31, 32,33,34,35,36].

2.CERCETĂRI PERSONALE

Teza de doctorat își propune să analizeze aspecte legate de tratamentul anemiei de prematuritate cu eritropoietina umană recombinată rHuEPO comparativ cu transfuziile de masă eritrocitară. Astfel s-au cercetat clinic și paraclinic (valorile în dinamică a parametrilor Hb, Ht, ASTRUP), două grupuri comparabile de prematuri cu greutate mică la naștere (sub 1500g).

Rezultatele statistice arată că pentru atingerea unor valori ale parametrilor hematologici similari, grupul tratat cu rEpo a avut o evoluție mai bună în sensul reducerii incidenței și gravității hemoragiilor intraventriculare, reducerii incidenței retinopatiei de prematuritate și a gravității, prelungirii timpului de apariție a nivelului minim de hemoglobină (nadir), reducerii necesității transfuziilor (număr scăzut semnificativ).

Originalitatea studiului constă în faptul că s-a observat o legătură temporală între transfuziile de ME și apariția hemoragiilor intraventriculare severe sau agravarea unora existente.

2.1.SCOPUL LUCRĂRII

Scopul acestei lucrări este de a analiza eficacitatea și siguranța tratamentului anemiei de prematuritate cu rEPO versus transfuziile de ME, a volumului transfuzat, managementul și corelațiile semnificativ statistice între patologia asociată cu prematuritatea la un număr de 127 prematuri internați în clinica de Neonatologie a Spitalului clinic Județean de Urgență Craiova, pe o perioadă de 3 ani (2007-2010)

2.2.MATERIAL ȘI METODE

Studiul a fost conceput ca unul comparativ prospectiv pe o perioadă de 3 ani 2007-2010 incluzând 127 de prematuri cu vârste cuprinse între: 24-31 săptămâni și greutate între 690 -1500g, divizați în două grupuri: unul tratat cu EPO și cele de-al doilea tratat cu transfuzii de ME, astfel:

Primul grup tratat cu EPO, compus din 2 subgrupuri: subgrupul E1 format din 6 prematuri cu greutate cu greutate extrem de mică la naștere, respectiv între 690-1000g(ELBW) și vârsta de gestație(VG) 24-26 săptămâni și subgrupul E2 format din 56 prematuri cu greutate foarte mică la naștere (VLBW) între 1000-1500g și vârsta de gestație(VG) 27-31 săptămâni.

Cel de-al doilea grup tratat cu transfuzii de masă eritrocitară (ME) format din din 2 subgrupuri: subgrupul T1 format din 7 prematuri cu greutate între 760-1000g și vârsta de gestație 25-27 săptămâni și subgrul T2 format din 55 prematuri cu greutate între 1000-1500g și vârsta de gestație(VG) 27-31 săptămâni.

Pentru fiecare prematur inclus în studiu a fost luat acordul informat al părinților, fiind respectate principiile etice pentru cercetarea medicală ce include subiecți umani.

Criterii de includere în studiu:

- Prematurii cu vârstă de gestație sub 32 săptămâni,
- Prematurii cu greutate sub 1500g.

Criterii de excludere din studiu:

- anemie hemolitică,
- boala hemoragică a nou născutului,
- anemie congenitală,
- malformație cardiacă cianogenă,
- malformații congenitale,
- hemoragie intraventriculară grad mai mare de 3,
- sepsis,
- Infecții din cadrul TORCH,
- enterocolita ulceronecrotică (EUN).

2.3.REZULTATE ȘI DISCUȚII

Teza de doctorat prin cercetarea efectuată își propune să analizeze aspecte legate de tratamentul anemiei de prematuritate cu rHuEPO comparativ cu transfuziile de masă eritrocitară, evoluția comparativă a patologiei asociate prematurității: sindromul de detresă respiratorie, bronhodisplazia pulmonară, retinopatia de prematuritate, hemoragiile intraventriculare, leucomalacii, enterocolita ulceronecrotică, precum și scăderea numărului de transfuzii și implicit a riscurilor și complicațiilor acestora. Astfel s-au cercetat clinic și paraclinic (valorile în dinamică a parametrilor Hb, Ht, ASTRUP), imagistic: ecografiile transfontanelare în dinamică, în ziua 1, 3, 7, 14, 30, și la externare, radiografic, două grupuri comparabile de prematuri cu greutate foarte mică la naștere (sub1500g), unul care primește tratament cu rHuEPO cel de-al doilea primește transfuzii de masă eritrocitară(ME).

Rezultatele statistice arată că pentru atingerea unor valori ale parametrilor hematologici similari, grupul tratat cu rEpo a avut o evoluție mai bună în sensul reducerii incidenței și gravității hemoragiilor intraventriculare, o reducere a incidenței retinopatiei de prematuritate și a gravității, prelungirea timpului de apariție a nivelului minim de hemoglobină(nadir), reducerea necesității transfuziilor (număr scăzut semnificativ).

În simptomatologia clinică a anemiei prematurului au fost asociate paloarea tegumentară (34%), apneea (14%), tahicardia, suflurile, scăderea în greutate (30%).

În ceea ce privește numărul de transfuzii de care au beneficiat nou-născuții prematuri din cele două loturi, se observă o diferență înalt semnificativă, ($p=9,39 \times 10^{-18} \approx 0 < 0,001$) între cele două loturi. În lotul tratat cu rEPO, la 38(61,29%) dintre prematuri nu s-a efectuat nicio transfuzie, după începerea tratamentului cu rHuEPO(dupa ziua a 8-a), În schimb, subiecții din celelălalt lot, un număr de 41(63,08%) au beneficiat de 2 transfuzii, restul 12(18,46%), beneficiind de o transfuzie, alții 12(18,46%) beneficiind de 3 sau mai multe transfuzii.

Dintre aceștia din urmă 2(3,07%) dintre prematuri au necesitat 5 transfuzii și 4 respectiv(6,15%) au necesitat 4 transfuzii și 6 (9,23%) prematuri au necesitat un număr de 3 transfuzii.

Protocolul de tratament cu eritropoietină a inclus administrarea tardivă, în a 8-a zi, în prima săptămână din subgrupul E1 (ELBW), respectiv 6 prematuri, 4 dintre ei(6,45%) au necesitat 2 transfuzii și 2 câte o transfuzie, din cei 56 prematuri din subgrupul E2 (VLBW), 18 (29%) au primit o transfuzie de masă eritrocitară.

Pe total, grupul tratat cu rHuEPO a primit transfuzii de ME 24 (38,71%) prematuri, restul nu au efectuat nici o transfuzie în prima săptămână.

O situație similară o regăsim și la grupul tratat cu transfuzii de ME, în prima săptămână, 23 (35,38%) de prematuri au primit o transfuzie și alți 4(6,15%) din subgrupul T1 (ELBW) au primit 2 transfuzii în prima săptămână.

După începerea studiului cei care primiseră una sau două transfuzii în prima săptămână au mai necesitat, una două sau chiar trei transfuzii.

Pe total din grupul transfuzat, 12(18,46%) prematuri au primit o transfuzie, 41(63,08%) au primit 2 transfuzii și 12(18,46%) au primit trei sau mai multe transfuzii, maxim 5.

Clinic la grupul transfuzat s-a observat scăderea numărului de crize de apnee după transfuzie^[37].

Ecografia transfontanelară(ETF) este o metodă de diagnostic accesibilă, portabilă, necostisitoare, non-invazivă, care poate descoperi modificările la care sunt predispuși prematurii: hemoragie intraventriculară sau leucomalacia.

La examenul ecografic s-au evidențiat modificări semnificativ mai mari la nou-născutii tratați doar prin transfuzii decât la cei tratați cu rHuEPO. Ecografiile efectuate în prima săptămână au arătat o proporție echilibrată între cele 2 grupuri, în grupul tratat cu rHuEPO, 22(35,48%) prematuri au prezentat hemoragie grad I și 16(25,80%) hemoragie grad II, față de grupul transfuzat la care s-au evidențiat la 25(38,46%) prematuri hemoragie grad I și 15(23,07%) hemoragie intraventriculară grad II.

La grupul tratat cu rHuEPO, ecografiile realizate în ziua a 14-a au arătat la 38(61,29%) de prematuri aspect de hemoragii: 27(43,55%) grad I și 11(17,74%) grad II, față de 52(80%) din ceilalți grupul transfuzat, la care se observă hemoragii intraventriculare în diferite grade: 29(46,77%) grad I, 12(35,48%) grad II, 9(14,51%) grad III și 3(4,83%) grad IV. Dintre aceștia cei 3 prematuri cu hemoragie grad IV au fost prematuri cu greutate extrem de mică la naștere(ELBW) și 4 din cei cu hemoragie grad III iar restul de 5 prematuri au fost cu greutate cuprinsă între 1000-1500g(VLBW).

La externare din lotul tratat doar cu transfuzii, 9(13,85%) din cazuri au prezentat ventriculomegalie, față de 3(4,84%) din lotul EPO iar hidrocefalia fost observată la 3(4,62%) din lotul cu transfuzii și în nici un caz în lotul EPO.

Cazurile cu ventriculomegalie au avut hemoragie intraventriculară grad III care a evoluat către ventriculomegalie iar cazurile cu hemoragie intraventriculară grad IV au evoluat către hidrocefalie.

Particularitatea studiului constă în faptul că s-a observat o legătură temporală între transfuziile de ME și apariția hemoragiilor intraventriculare severe sau agravarea unora existente. Pierderea de sânge prin flebotomie a rezultat a fi 7ml/prematur/săptămână.

Volumul de ME transfuzată a fost mic (10 ml/kg) și un număr de 12 prematuri din lotul transfuzat au primit mai mult de 3 transfuzii(toți prematurii cu greutate sub 1000g).

Deoarece hemoragiile intraventriculare apar imediat după transfuziile de ME acestea par a fi un factor de risc, la unii prematuri dezvoltând-se hemoragii intraventriculare severe. Rezultatele obținute sunt comparative cu ale altor studii din literatură care relevă importanța rHuEPO în ceea ce privește scăderea riscului apariției hemoragiilor^[38, 39].

Între cei 12 copii care au primit mai mult de 3 transfuzii de ME (în primele 14 zile) am găsit la ecografia din ziua 14 că 9 dintre ei au evoluat către hemoragie grad III și 3 dintre ei hemoragie grad IV.

O asociere semnificativă în timp a apariției hemoragiilor la <48ore după transfuzii sau apariția unor semne incipiente de enterocolită ulceronectrotică sugerează că variațiile oscilatorii ale fluxului cerebral sau supraîncărcarea în diverse teritorii circulatorii preponderent creier sau circulația mezenterică ar fi strâns legate de transfuziile de ME^[40, 41, 42].

Mai mult decât atât în lotul tratat cu rHuEPO ecografia nu a relevat elemente de gravitate în ceea ce privește hemoragiile, sugerând un efect protector al rHuEPO asupra creierului prematurilor. Din cei 62 de copii, 27(43,55%) au prezentat hemoragie intraventriculară grad I și 11(17,74%) hemoragie intraventriculară grad II dintre care în timp doar 3(4,84%) cazuri au evoluat și s-au agravat ajungând la grad III, restul resorbindu-se cu restitutio ad integrum.

Cantitatea de ME totală transfuzată a fost de 1995ml, cu un volum mediu per copil de 30,69 ml masă eritocitară.

Un volum mai mare transfuzat are efecte negative asupra prematurului de grad mare nu numai asupra creierului ci și în producerea bolii pulmonare cronice

2.4.CONCLUZII

1. Cele două loturi ajung la aceleași valori de Ht și Hb la externare, în condițiile eliminării necesității de a transfuza prematurii din lotul tratat cu rEPO.

2. S-a observat o legătură temporală între transfuziile de ME și apariția hemoragiilor intraventriculare severe sau agravarea unora existente.

3. Nu este clar dacă este o relație de cauzalitate sau covariabilă între transfuzii și hemoragii.

4. În același timp se observă un efect protector al rHuEPO fier (asociat cu acid folic, și vitaminaE), la prematurii la care ecografia transfontanelară nu a decelat imagini ale unor hemoragii cu grad înalt de severitate.

5. Multiplele transfuzii de ME la prematurii cu greutate mică prezintă un risc semnificativ pentru forme severe de hemoragie intraventriculară incluzând grad 3 și 4 cu evoluție către hidrocefalie și prognostic rezervat neurologic pe termen lung.

6. Se poate limita numărul de transfuzii prin limitarea flebotomiei folosind recoltarea și analiza prin micrometode sau microvacutainere.

7. Limitarea numărului transfuziilor de masă eritocitară conduce de la sine la limitarea riscurilor de transmitere prin transfuzie a umătoarelor agenți infecțioși: virusul imunodeficienței umane, virusul hepatitei B, virusul hepatitei C, lues, virusul T-limfotrofic (HTLV) I/II, citomegalovirusul.

Cuvinte cheie: anemie, prematur, eritropoietină, eritropoietină umană, transfuzii, hemoragii intraventriculare, retinopatie de prematuritate.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. De Pedro A. De Alarcon, Eric J Werner, Anemia of prematurity, Neonatal Hematology 2005 pag. 58-59
2. Spitzer A, Anemia of prematurity, Intensive Care of Fetus and Neonatal Second Edition 2005 pag. 1286
3. Cloherty, John P.; Eichenwald, Eric C.; Stark, Ann R. Manual of Neonatal Care, 6th Edition, 2008
4. H. William Taeusch, Roberta A. Ballard, Christine A. Gleason, Mary Ellen: Avery's Diseases of the Newborn 8-th ed, 2005
5. MesserJ, Donato L, Astruc D, Matis J., *Pediatrics* 1993, pag. 92 519-523

6. Widness J.A., Susa J.B., Garcia J.F., et al.: Increased erythropoiesis and elevated erythropoietin in infants born to diabetic mothers and in hyperinsulinemic rhesus fetuses. *J Clin Invest.* 67:637-642 1981
7. Ireland R, Abbas A, Thilaganathan B, *et al.*: Fetal and maternal erythropoietin levels in normal pregnancy. *Fetal Diagn Ther* 7: 21-25, 1992
8. Ruth V. Widness JA, Clermonts, Raivio, KO: Postnatal changes in serum immunoreactive erythropoietin in relation to hypoxia before and after birth, *J Pediatr* 116:950-944, 1990
9. Widness J.A., Susa J.B., Garcia J.F., et al: Increased immunoreactivity of erythropoietin in cord serum after labor, *Am J. Obstet Gynecol*, 148: 194-197, 1984
10. Brown MS, Phibbs RH, Garcia JF, Dallman PR. Postnatal changes in erythropoietin levels in untransfused premature infants. *J Pediatr.* 1983 Oct;103(4):612-617
11. Kling PJ, Schmidt, RL, Roberts RA, Widness JA: Serum erythropoietin levels during infancy associations with erythropoiesis, *J Pediatr* 1996; 128:791-6
12. Malcom L Chiswick, Protective effect of vitamin E(DI-alfa-tocopherol) against intraventricular haemorrhage in premature babies, *British Medical Journal*, Volume 287, 1993
13. Lackmann GM, Schnieder C, Bohner J. Gestational age-dependent reference values for iron and selected proteins of iron metabolism in serum of premature human neonates. *Biol Neonate.* 1998;74:208-13
14. Malcom L Chiswick: Protective effect of vitamin E(DI-alfa-tocopherol) against intraventricular haemorrhage in premature babies, *British Medical Journal*, Volume 287, 1993
15. Armony-Sivan R, Eidelman AI, Lanir A, Sredni D, Yehuda S: Iron status and neurobehavioral development of premature infants. *J Perinatol.* 2004;24:757-62
16. Singla PN, Gupta VK, Agarwal KN. :Storage iron in human foetal organs. *Acta Paediatr Scand.* 1985;74:701-6
17. Janet M Rennie, Rennie & Robertson's Textbook of Neonatology Fifth Edition, 2012
18. Genen LH, Klenoff H: Iron supplementation for erythropoietin-treated preterm infants (Protocol). In: *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, Issue 1, 2001
19. Deugnier Y, Brissot P, Loreal O: Iron and the liver: *Update 2008*
20. Siimes AS, Siimes MA: Changes in the concentration of ferritin in the serum during fetal life in singletons and twins. *Early Hum Dev.* 1986;13:47-52
21. Tamura T, Goldenberg RL, Hou J, Johnston KE, Cliver SP, Ramey SL, et al.: Cord serum ferritin concentrations and mental and psychomotor development of children at five years of age. *J Pediatr.* 2002;140:165-70
22. Georgieff MK, Wewerka SW, Nelson CA, Deregnier RA. Iron status at 9 months of infants with low iron stores at birth. *J Pediatr.* 2002;141:405-9
23. Beard J, De Regnier RA, Shaw M, et al. Diagnosis of iron deficiency in infancy. *Lab Med.* in press
24. Lozoff B, Beard J, Connor J, Barbara F, Georgieff M, Schallert T. Long-lasting neural and behavioral effects of iron deficiency in infancy. *Nutr Rev.* 2006;64:S34-91
25. Sheldon RA, Almli L, Ferriero DM (2002) Copper/zinc superoxide dismutase transgenic brain in neonatal hypoxia-ischemia. *Methods Enzymol* 353:389-397
26. Juul SE, Zerzan JC, Strandjord TP, Woodrum DE. Zinc protoporphyrin/heme as an indicator of iron status in NICU patients. *J Pediatr.* 2003;142:273-8
27. Lott DG, Zimmerman MB, Labbe RF, Kling PJ, Widness JA. Erythrocyte zinc protoporphyrin is elevated with prematurity and fetal hypoxemia. *Pediatrics.* 2005;116:414-22
28. Lainez Villabona B¹, Bergel Ayllon E, Cafferata Thompson ML, Belizán Chiesa JM.: Early or late umbilical cord clamping? A systematic review of the literature, *An Pediatr (Barc).* 2005 Jul;63(1):14-21

29. Arne Ohlsson, Sanjay M Aher: Early erythropoietin for preventing red blood cell transfusion in preterm and/or low birth weight infants, Cochrane Database of Systematic Reviews 2014, Issue 4. Art. No.: CD004863. DOI: 10.1002/14651858.CD004863.pub4
30. Aher S, Ohlsson A, Late erithropoietin for preventing red blood cell transfusion in preterm and/or low birth weith infants(Review), The Cochrane Library, 2014
31. Isabelle Von Kohorn, Richard A Ehrenkranz: Anemia in the preterm infant: Erythropoietin versuserithrocyte transfusion-It's not that simple, Clin Perinatol. 2009; 36(1):111-123.
32. Kotto-Kome AC, Garcia MG, Calhoun DA, Christensen RD. Effect of beginning recombinant erythropoietin treatment within the first week of life, among very-low-birth-weight neonates, on "early" and "late" erythrocyte transfusions: a meta-analysis. *Journal of Perinatology* 2004;24:24-9
33. Ohlsson A, Aher SM. Early erythropoietin for preventing red blood cell transfusion in preterm and/or low birth weight infants. Cochrane Database of Systematic Reviews 2006, Issue 3. Art. No.: CD004863. DOI: 10.1002/14651858.CD004863.pub2.
34. Ohlsson A, Aher SM. Early erythropoietin for preventing red blood cell transfusion in preterm and/or low birth weight infants. Cochrane Database of Systematic Reviews 2012, Issue 9. Art. No.: CD004863. DOI: 10.1002/14651858.CD004863.pub3.
35. Ohls RK. Erythropoietin treatment in extremely low birth weight infants: blood in versus blood out. *Journal of Pediatrics* 2002;141(1):3-6
36. Maier RF, Sonntag J, Walka MM, Liu G, Metze BC, Obladen M. Changing practices of red blood cell transfusions in infants with birth weights less than 1000 g. *Journal of Pediatrics* 2000;136(2):220-4.
37. Kelley Zagol, Douglas E. Lake, Brooke Vergales, Marion E. Moorman, Alix Paget-Brown, Hoshik Lee, Craig G. Rusin, John B. Delos, Matthew T. Clark, J. Randall Moorman, and John Kattwinkel: Anemia, Apnea of Prematurity, and Blood Transfusions, (*J Pediatr* 2012;161:417-21).
38. Baer VL, Lambert DK, Henry E, Snow GL, Christensen RD. Red blood cell transfusion of preterm neonates with grade 1 intraventricular hemorrhage is associated with extension to a grade 3 or 4 hemorrhage. *Transfusion* 2011;51(9):1933-9.
39. Juul S. Erythropoietin in the central nervous system, and its use to prevent hypoxic-ischemic brain damage. *Acta Paediatrica Supplement* 2002;91(438):36-42
40. Ledbetter DJ, Juul SE (2000) Erythropoietin and the incidence of necrotizing enterocolitis in infants with very low birth weight. *J Pediatr Surg* 35:178-181
41. Blau J, Calo JM, Dozor D, Sutton M, Alpan G, La Gamma EF. Transfusion-related acute gut injury: necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates after packed red blood cell transfusion. *Journal of Pediatrics* 2011;158(3):403-9.
42. Kirpalani H, Zupancic JA. Do transfusions cause necrotizing enterocolitis? The complementary role of randomized trials and observational studies. *Seminars in Perinatology* 2012;36(4):269-76.