

11237



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

121
26

Facultad de Medicina
División de Estudios de Postgrado
Instituto Mexicano del Seguro Social
Hospital General Centro Médico La Raza
División de Enseñanza e Investigación
Curso de Especialización en Pediatría

"ERITROPOYETINA RECOMBINANTE HUMANA EN LA
REDUCCION DE TRANSFUSIONES SANGUINEAS EN
PREMATUROS CON PESO MENOR DE 1500 GRAMOS
DESPUES DE LA SEGUNDA SEMANA DE EDAD"

TESIS DE POSTGRADO

Para obtener el título de Especialización en

PEDIATRIA MEDICA

p r e s e n t a

DR. JAIRO MOSQUERA MOSQUERA



IMSS

Asesor: Dr. José Vicente Estrada Flores

México, D. F.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

FACULTAD
DE MEDICINA
★ ABR. 24 1986 ★
SECRETARIA DE SERVICIOS
ESCOLARES
DEPARTAMENTO DE POSGRADO
AMG

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]
Dr. Xavier Cecilio Cosío
Prof. titular del curso
de Patología.

CENTRO MEDICO LA SAJA
HOSPITAL GENERAL



Secretaría de Enseñanza
e Investigación

INVESTIGADOR PRINCIPAL

Dr. José Vicente Estrada Flores

*Neonatólogo adscrito al Servicio de Neonatología del Hospital General Centro Médico
La Raza.*

INVESTIGADORES ASOCIADOS

Dr. Julio César Ballesteros del Olmo

*Neonatólogo adscrito al Servicio de Neonatología del Hospital General Centro Médico
La Raza.*

Dr. Juan Mammel Fernández Celis

*Neonatólogo adscrito al Servicio de Neonatología del Hospital General Centro Médico
La Raza.*

Dr. Francisco Javier Sierra Ramírez

*Neonatólogo adscrito al Servicio de Prematuros, Hospital de Ginecoobstetricia No. 3
Centro Médico Nacional La Raza.*

Dr. Jairo Mosquera Mosquera

*Residente de 3er. año de Pediatría Médica adscrito al Hospital General del Centro
Médico Nacional La Raza.*

Dra. Marla Norma González Cejudo

*Residente de 3er. año de Pediatría Médica adscrito al Hospital General del Centro
Médico Nacional La Raza.*

A Mis Padres José y Alicia

Por su comprensión y apoyo constante para mi superación.

A Mis Hijos Alan y Tatiana

Quienes han sido un estímulo para seguir adelante.

A Mis Hermanos

Por ayudarme en los momentos difíciles.

Al Doctor José Vicente Estrada Flores

Por su colaboración y apoyo.

A Mi Compañera Norma González Cejudo

Por su valiosa cooperación para la realización de esta tesis.

INDICE

<i>I. RESUMEN</i>	<i>1</i>
<i>II. ANTECEDENTES CIENTIFICOS</i>	<i>2</i>
<i>III. MATERIAL Y METODOS</i>	<i>7</i>
<i>IV. RESULTADOS</i>	<i>9</i>
<i>V. DISCUSION</i>	<i>11</i>
<i>VI. BIBLIOGRAFIA</i>	<i>26</i>

RESUMEN

En este estudio, se valoró la efectividad de la eritropoyetina para disminuir la frecuencia de las transfusiones sanguíneas, en pacientes pretermino con peso menor de 1500 gr.

De octubre a diciembre de 1995 se estudiaron 42 pacientes 20 del grupo experimental y 22 del grupo de control.

A los pacientes del grupo experimental, se les aplicó eritropoyetina recombinante humana a una dosis de 500 U/k/día; 2 veces por semana durante 4 semanas.

Se encontró en ambos grupos disminución de las cifras de hemoglobina y hematocrito, pero esta fue mas pronunciada en el grupo control, la hemoglobina corpuscular permaneció sin cambios.

No se encontraron diferencias notables en el número de leucocitos y neutrofilos entre ambos grupos.

El número de transfusiones disminuyó en forma considerable en el grupo experimental con relación a el grupo control, 3 y 21 respectivamente, se observó el beneficio de la administración de eritropoyetina disminuyendo la cantidad de transfusiones con todos los riesgos que ello implica.

ANTECEDENTES CIENTIFICOS.

Los recién nacidos prematuros desarrollan dos tipos de anemia. Durante la primera semana de edad se requieren múltiples muestras de sangre como ayuda en el manejo de gran variedad de alteraciones que ponen en peligro la vida. En esta etapa se requieren a menudo, transfusiones para reemplazar el volumen de sangre extraído para estos exámenes de laboratorio. La cantidad de sangre extraída es significativa y, en estudios de muestreo en unidades de cuidados intensivos neonatales, se han observado volúmenes de extracción de, aproximadamente, 38.9 ml. Sin embargo, estas pérdidas son inevitables e imposibles de evitar durante la etapa aguda de la mayoría de padecimientos que causan alteraciones en el período neonatal inmediato (1).

Posteriormente, en el curso de su estancia hospitalaria, los neonatos prematuros desarrollan un segundo tipo de anemia, que es llamada "anemia del prematuro". La anemia del prematuro está caracterizada por una caída progresiva de las concentraciones de hemoglobina, cuentas absolutas relativamente bajas de reticulocitos y presencia de hipoplasia eritroide en la médula ósea. Varios factores son importantes en el desarrollo de la anemia del prematuro. El primero es que las transfusiones administradas, en gran número, a los prematuros enfermos, reducen el porcentaje de hemoglobina fetal circulante. Dado que la hemoglobina del adulto es menos ávida por el oxígeno, el efecto neto del reemplazo es aumentar la entrega tisular de oxígeno y reducción del estímulo hematopoyético que corrige la anemia (1). Así, Stockman y colaboradores (2) mostraron que en prematuros con hematocritos similares, aquellos con mayor porcentaje de hemoglobina de tipo adulto tenían niveles menores de eritropoyetina circulante, en comparación con los prematuros con predominio de hemoglobina fetal.

Un segundo problema es que los prematuros en crecimiento deben mantener una tasa de producción inusualmente elevada de eritrocitos. Debido a que el volumen sanguíneo aumenta conforme estos neonatos crecen rápidamente, sus médulas óseas deben proveer nuevos eritrocitos a una velocidad en exceso a la requerida para reemplazar los eritrocitos senescentes. La vida media más corta de los eritrocitos neonatales, representa una carga hematopoyética adicional para la médula. Un aspecto final de la eritropoyesis en la anemia del prematuro es que la producción de eritrocitos está solo discretamente elevada a pesar del estímulo de la anemia progresiva (1).

La eritropoyesis está regulada, normalmente, por la eritropoyetina, una hormona glucoproteica producida en el riñón (3). La entrega tisular de oxígeno está en función del gasto cardíaco, la concentración de hemoglobina, el tipo de hemoglobina (A o F), la concentración de eritrocitos, 2, 3-difosfoglicerato y la presión parcial de oxígeno en sangre. Las células renales reconocen la cantidad de oxígeno que está siendo entregada, cuando esta disminuye, el riñón libera eritropoyetina hacia la circulación. La eritropoyetina actúa, en forma primaria, en inducir la proliferación y diferenciación terminal de los progenitores eritroides comprometidos (BFU-E y CFU-E). Esto, al final, resulta en reticulocitosis y corrección de la anemia (1).

**En 1974, Buchanan y Schwartz (4) reportaron que las concentraciones de eritropoyetina sérica eran indetectables en neonatos con anemia del prematuro, aunque su método de detección era poco sensible. Sin embargo, en 1977, Stockman y colaboradores encontraron que los niveles de eritropoyetina en la anemia del prematuro eran 10 a 100 veces menores a los esperados para el grado de anemia en estos pacientes (2).*

La capacidad del oxígeno para producir Eritropoyetina en los tejidos, juega un papel muy importante en la síntesis de esta hormona.

La asociación entre Oxígeno y Eritropoyetina se ha establecido desde el año 1.800, Los riñones son la mayor fuente de producción de la Eritropoyetina, aunque de un 5 a 15% es producida en otros órganos.

En el feto y el neonato, el hígado es el sitio primario de la producción de Eritropoyetina, las hormonas tiroideas también juegan un papel importante en la producción de Eritropoyetina en el feto.

El mecanismo por el cual la Eritropoyetina es liberada por las células renales, luego de un estímulo hipóxico no es claro, varias observaciones sugieren que la liberación de prostaglandinas secundaria a la hipoxia, conduce a un aumento del calcio transmembrana, previo a un aumento en el AMP cíclico y de esta manera aumenta la producción de Eritropoyetina por el riñón.

La Eritropoyetina estimula la proliferación, diferenciación y maduración de los precursores Eritroides, se ha observado que estos precursores producen colonias únicamente cuando son incubados con Eritropoyetina exógena, otros progenitores derivados de la médula ósea en pacientes con policitemia forman colonias independientemente de la necesidad de agregar Eritropoyetina. Se ha establecido por estudios de radioinmunoensayo, el ritmo circadiano de la Eritropoyetina, los niveles más bajos se encuentran en la mañana y el pico más elevado se presenta en la noche, hasta un 60% de sus niveles basales.

Se han encontrado niveles elevados de Eritropoyetina en el cordón umbilical de niños, cuyas madres padecieron Preeclampsia probablemente como resultado de la hipoxia fetal, también en niños con patología que condicionan Hipoxia Crónica; en niños sanos los niveles de Eritropoyetina disminuyen después de los 3 meses primeros, meses coincidiendo con la disminución de la hemoglobina, en niños prematuros anémicos, se ha observado que responden a la caída de la hemoglobina incrementando la producción de Eritropoyetina, en general la elevación de la Eritropoyetina ocurre en todos los pacientes con Eritrocitosis, excepto en aquellos con policitemia vera, en la insuficiencia cardiaca, el residir en altas latitudes y por la presencia de alta afinidad por la Hemoglobina, esto se asocia con la reducción en la liberación de Oxígeno por los tejidos.

En pacientes con insuficiencia renal, la toxicidad de la Eritropoyetina es mínima.

Se ha observado sensación de frío posterior a la administración de Eritropoyetina, elevación de la presión arterial y crisis convulsivas, además se ha encontrado elevación de la creatinina sérica y de los niveles de potasio y fosfato. (18).

El pediatra y el neonatólogo, encuentran con frecuencia prematuros que presentan palidez, taquipnea, episodios de apnea, acidosis metabólica y retraso en su ritmo de crecimiento conforme la hemoglobina disminuye. Wadrop ha llamado a esta situación anemia del prematuro "no fisiológica", o quizá con más propiedad, anemia del prematuro "descompensada" como la llamamos nosotros. Bajo cuya presencia la conducta terapéutica habitual es la transfusión de paquete globular, pese a los reportes conflictivos que han fallado en demostrar que el pronóstico de la anemia mejora con esta modalidad de tratamiento (5).

Los riesgos de las transfusiones no son mínimos. Además de los bien conocidos problemas de infección y alteraciones potenciales en el balance de líquidos, la transfusión de hemoglobina de tipo adulto induce una caída en los niveles de eritropoyetina sérica y esto bloquea la respuesta endógena a la anemia. (6)

Los beneficios potenciales de la administración de eritropoyetina recombinante humana exógena a prematuros con anemia han sido investigados en múltiples investigaciones (1, 7-14), con resultados aún no definitivos, pues aunque se ha logrado incrementar en forma significativa las cifras de hemoglobina y disminuir el número de transfusiones después de la segunda semana de edad, el pronóstico final de la anemia está aún en suspenso tras la administración combinada de eritropoyetina con otras citocinas en el tratamiento de la anemia del prematuro (16).

La intención de nuestro estudio es determinar si la administración temprana de eritropoyetina recombinante humana a partir de la primera semana de edad en prematuros con peso inferior a los 1500 gramos, reduce la necesidad de transfusiones en estos pacientes después de la segunda semana de edad.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Población. De octubre a diciembre de 1995, se estudiaron 50 recién nacidos prematuros en los Servicios de Prematuros del Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 3 y de Neonatología del Hospital General del Centro Médico la Raza. Los pacientes fueron incluidos en el estudio si su edad gestacional era \leq a 37 semanas con fecha última de menstruación de acuerdo a la calificación de Ballard (cita), con peso \geq 1500 g. de ambos sexos, con cualquier patología neonatal aguda y que contaran con autorización por escrito de los padres. No se incluyeron neonatos con alteraciones congénitas en la estructura y/o función eritrocitaria, con malformaciones incompatibles con la vida o con cardiopatías congénitas cianógenas. Se excluyeron del estudio aquellos pacientes que no completaran el protocolo de administración de eritropoyetina, pacientes con administración de concentrados eritrocitarios debido a sangrado activo y/o intervenciones quirúrgicas y los pacientes en quienes no se completaran los estudios paraclínicos para su evaluación.

Metodología. Una vez incluidos los pacientes fueron asignados en forma aleatoria a uno de 2 grupos. El grupo 1 comprendió aquellos pacientes a quienes se administró eritropoyetina recombinante humana (EPO) durante 4 semanas, a partir de la primera semana, dividida en dosis bisemanales los días lunes y jueves de 500 U_s/kg/día por vía subcutánea. El grupo 2 incluyó a los pacientes que sirvieron como controles. En todos los pacientes se tomaron muestras sanguíneas semanales de 1 ml. para determinación de hemoglobina (Hb), hematocrito (Hto), concentración media de hemoglobina corpuscular (CMHC), volumen corpuscular medio (VCM), leucocitos totales y diferencial y reticulocitos. En todos los pacientes se vigiló periódicamente la tensión arterial media y la presencia de procesos infecciosos agregados.

Estadística. El análisis estadístico se realizó mediante medidas de dispersión y de tendencia central para la estadística descriptiva. La estadística inferencial se realizó mediante la aplicación de las pruebas de análisis de varianza para mediciones repetidas, prueba t de Student, dentro del análisis de varianza, prueba U de Mann-Whitney, prueba de X^2 para tendencia y probabilidad exacta de Fisher cuando así fuera apropiado. En el análisis se utilizó el programa de estadística True Epistat (Tracy L. Gustafson M.D., 1987). Se consideraron significativas diferencias con una $p \leq 0.05$. El proyecto fue aprobado por los Comités Locales de Investigación del Hospital General del Centro Médico La Raza y del Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 3

RESULTADOS.

De los 50 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión se excluyeron del análisis final 8 pacientes, cinco de ellos por no completar el protocolo de administración de EPO y 3 pacientes por no contarse con el registro completo de los estudios paraclínicos durante las 4 semanas del estudio. Los restantes 42 pacientes fueron divididos en 2 grupos, quedando 20 pacientes en el grupo 1 y 22 pacientes en el grupo 2.

El grupo 1 comprendió 9 pacientes del sexo masculino (45%) y 11 pacientes del sexo femenino (65%). El grupo 2 incluyó 11 pacientes del sexo masculino (50%) y 11 del sexo femenino (59%). No hubo diferencias significativas entre los 2 grupos en la edad gestacional (31.25 ± 2.26 semanas en el grupo 1 vs 31.0 ± 2.3 semanas en el grupo 2; $p=ns$), peso al nacimiento (1320 ± 180 g para el grupo 1 vs 1289 ± 186 g. para el grupo 2; $p=ns$) y edad al momento de entrada al estudio (grupo 1 3.05 ± 2.01 días vs 2.77 ± 2.7 días en el grupo 2; $p= ns$). Las características generales de ambos grupos se muestran en la tabla 1.

Los hallazgos hematológicos en el grupo 1 mostraron disminución gradual en la concentración de hemoglobina y hematocrito a lo largo de las 4 semanas del estudio, con diferencias significativas entre la primera y segunda semanas, segunda y tercera semanas y tercera y cuarta semanas (tabla 2).

En el grupo 2 se apreció una disminución similar en la concentración plasmática de hemoglobina y hematocrito, aunque esta fue más marcada comparada con el grupo 1, aunque sin alcanzar diferencias significativas (tabla 3).

El volumen corpuscular medio (VCM) y la concentración media de hemoglobina corpuscular (CMHC) mostraron una discreta disminución durante las 4 semanas de observación, aunque sólo alcanzaron diferencias significativas entre la segunda y tercera semana en ambos grupos (tabla 4).

No encontramos diferencias en el número de leucocitos totales a lo largo de las 4 semanas de estudio entre ambos grupos. En cuanto a los neutrófilos, éstos mostraron una disminución gradual en el porcentaje relativo de su número en la cuenta diferencial sin alcanzar significancia estadística, ni tampoco disminuyendo a rango de neutropenia en ninguno de los pacientes de ambos grupos (tabla 5).

El número de transfusiones de concentrados eritrocitarios disminuyó significativamente en el grupo 1 en comparación al grupo 2, en forma global (3 vs 21; $p < 0.05$) en el análisis de varianza, realizando prueba de Tukey encontramos que esto estuvo determinado por diferencias significativas en la primera y segunda semanas del tratamiento. El análisis por semana mostró en la primera semana 10 episodios de transfusión en el grupo 2 en comparación a 1 ocasión en el grupo 1; durante la segunda semana hubo 4 transfusiones en el grupo 2 y una en el grupo 1; para la tercera semana ocurrieron 4 transfusiones en el grupo 2 y sólo 1 en el grupo 1 y, finalmente, en la cuarta semana se presentaron 3 transfusiones en el grupo 2 y ninguna en el grupo 1. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas.

El análisis de χ^2 para tendencia y obtención de razón de momios mostró que la posibilidad de ser transfundido durante la primera semana no variaba entre ambos grupos, pero para la segunda y tercera semanas esta probabilidad había disminuido al 34% y para la cuarta semana a sólo 17% en el grupo tratado con eritropoyetina, estas diferencias fueron estadísticamente significativas.

DISCUSIÓN.

La anemia del prematuro ha sido considerada una condición "fisiológica" que se presenta normalmente en todos los neonatos de pretérmino durante las primeras 6-8 semanas de edad posnatal y es conocido el hecho que la severidad de la anemia está inversamente relacionada a la edad gestacional (o. g a menor edad gestacional mayor grado de anemia). con base en esto decidimos estudiar los efectos de la eritropoyetina recombinante humana en la población de neonatos, pretérmino con mayor riesgo de desarrollar anemia del prematuro severa y, por tanto, con mayores posibilidades de ser transfundidos a consecuencia de ella.

Nuestros hallazgos muestran que la administración de dosis moderadas de eritropoyetina (1000 Us/kg/semana) no modifican el curso de la anemia del prematuro, pues en ambos grupos estudiados se observó una disminución gradual en las cifras de hemoglobina y hematocrito a lo largo de las 4 semanas del estudio, sin embargo, el grupo tratado mostró una disminución mucho menor que el grupo control lo que puede reflejar el efecto de la eritropoyetina sobre la cinética celular eritroide en médula ósea. Phibbs y colaboradores en forma parecida observaron reticulocitosis significativa tras la administración de eritropoyetina en prematuros pero sin elevación significativa de la concentración de hemoglobina, aunque la dosis empleada, fue menor y por tiempo más prolongado (7).

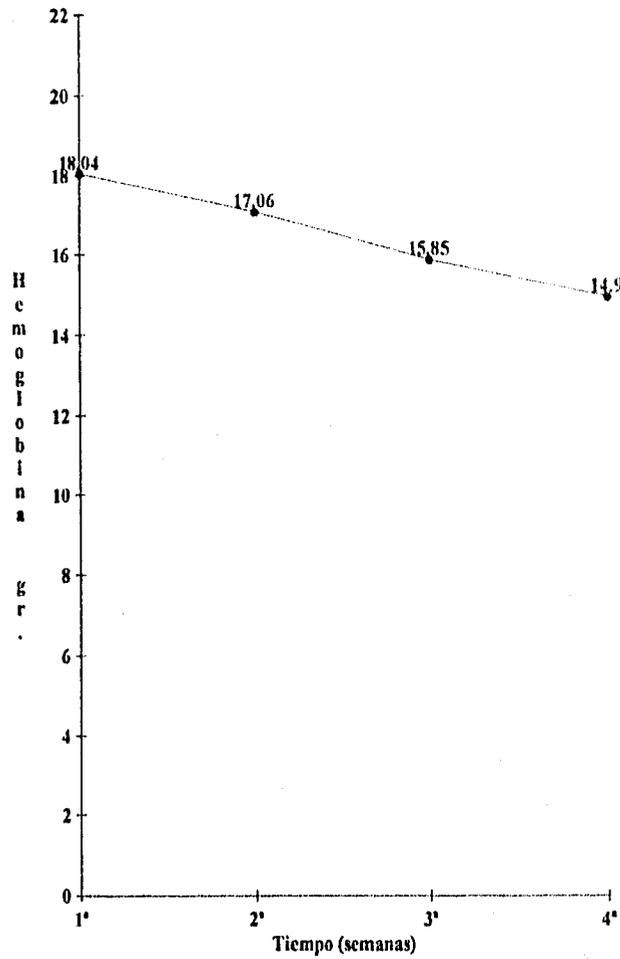
Messer y colaboradores (8) observaron que la administración de eritropoyetina en tres diferentes dosis por 6 semanas inducía reticulocitosis significativa y "atenuaba" la disminución en la hemoglobina y hematocrito en la anemia del prematuro, resultados similares a los encontrados por nosotros en el presente estudio.

En nuestro estudio observamos también una menor frecuencia de transfusiones en el grupo tratado con eritropoyetina (3 vs 21 transfusiones en el grupo 1 y 2, respectivamente), lo que es similar a lo reportado por otros autores (9-13), sin embargo, aunque se alcanzó significancia estadística en el análisis global de los pacientes en las 4 semanas en el ANOVA, no pudimos encontrar diferencias significativas en la comparación semanal entre los 2 grupos, quizá como consecuencia de una muestra insuficiente.

Estos hallazgos sugieren que la administración temprana de eritropoyetina a partir de la primera semana en prematuros de muy bajo peso al nacimiento, puede disminuir la severidad de la anemia del prematuro y disminuye significativamente el número de transfusiones en pacientes que reciben eritropoyetina recombinante humana. Sin embargo, creemos son necesarios estudios complementarios para determinar si todos los prematuros son candidatos a recibir esta suplementación o si sólo existe una población específica que se beneficiará de dicha administración.

GRAFICA No. 1

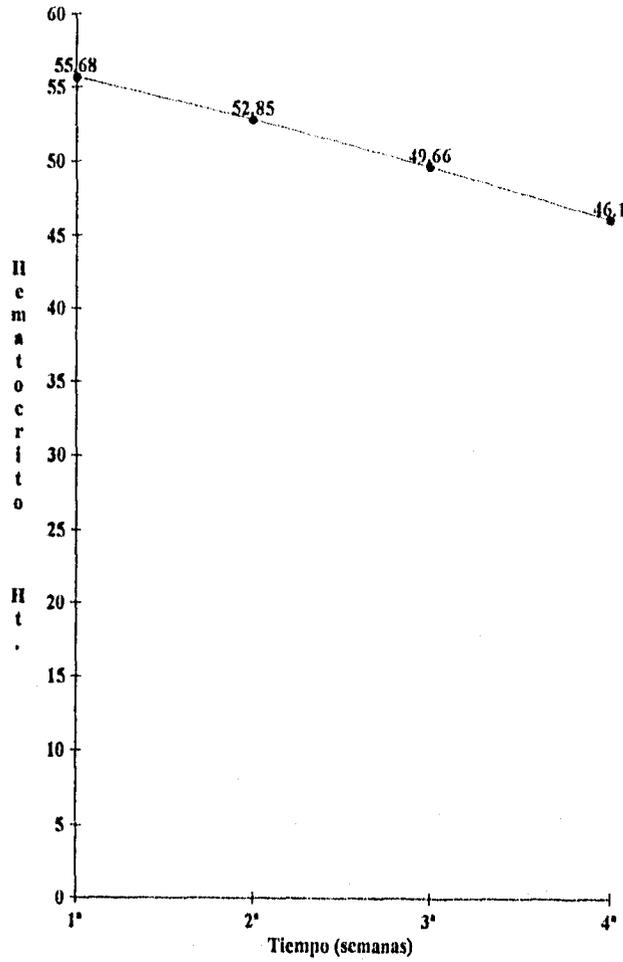
Grupo 1 (Casos)



1ª. 18.04 * 2ª. 17.06 * 3ª. 15.85 * 4ª. 14.93

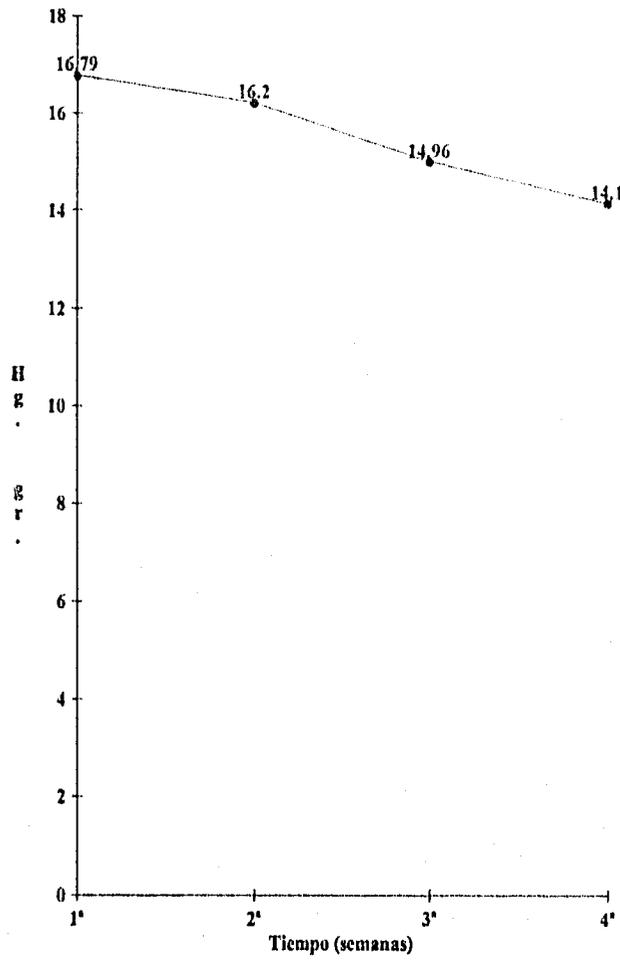
GRAFICA No. 2

Grupo 1 (Casos)



1°. 55.68 * 2°. 52.85 * 3°. 49.66 * 4°. 46.1

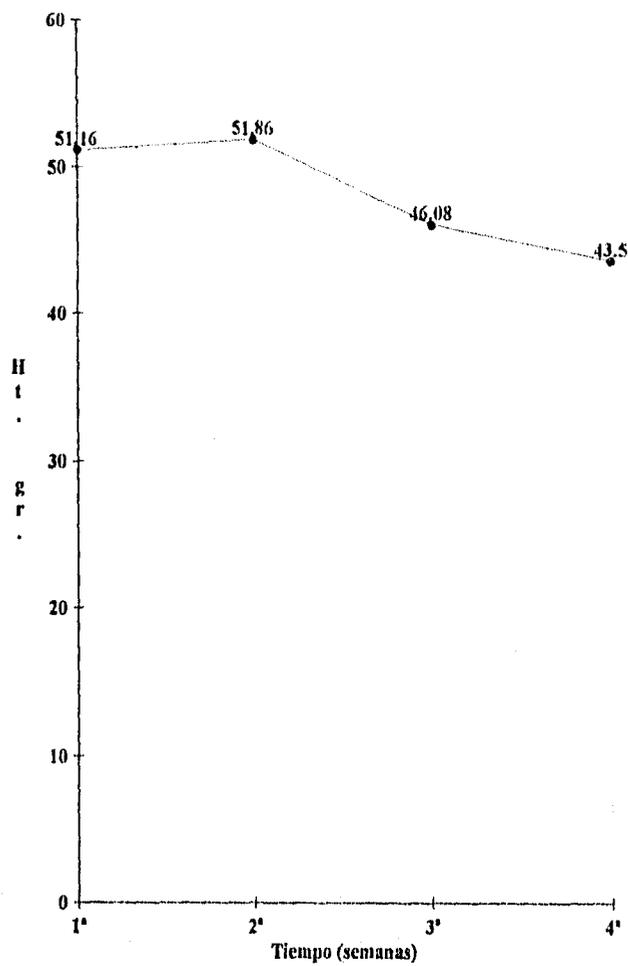
GRAFICA No. 3
Grupo 2 (Control)



1^a. 16.79 * 2^a. 16.20 * 3^a. 14.96 * 4^a. 14.11

GRAFICA No. 4

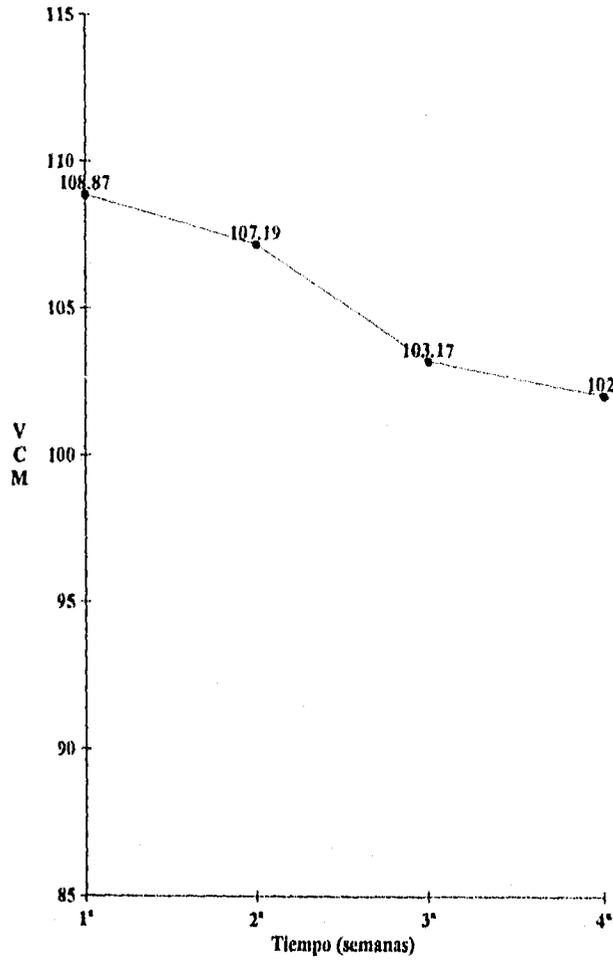
Grupo 2 (Control)



1°. 51.16 * 2°. 51.86 * 3°. 46.08 * 4°. 43.58

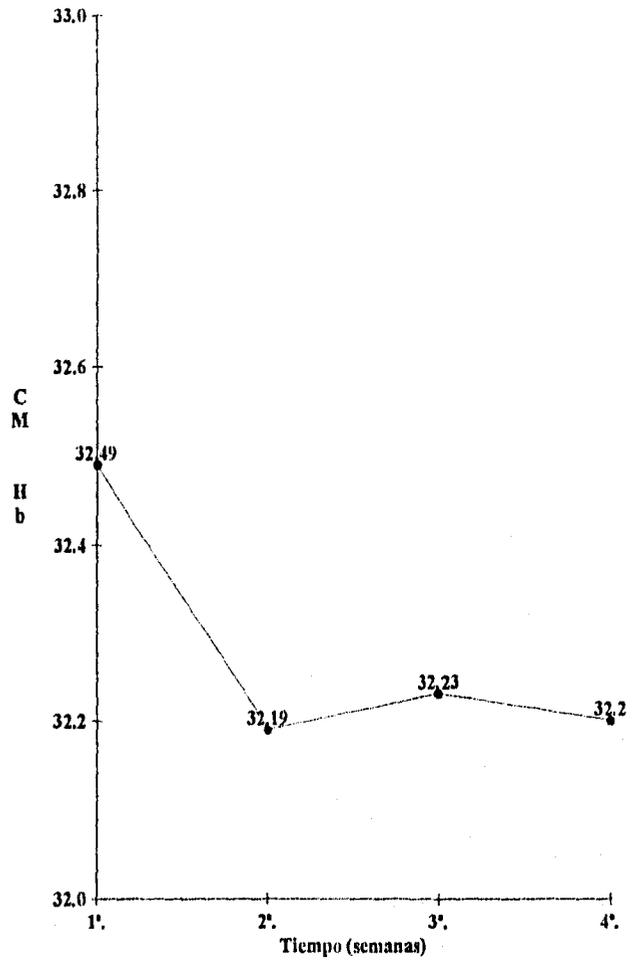
GRAFICA No. 5

Grupo I (Casos)



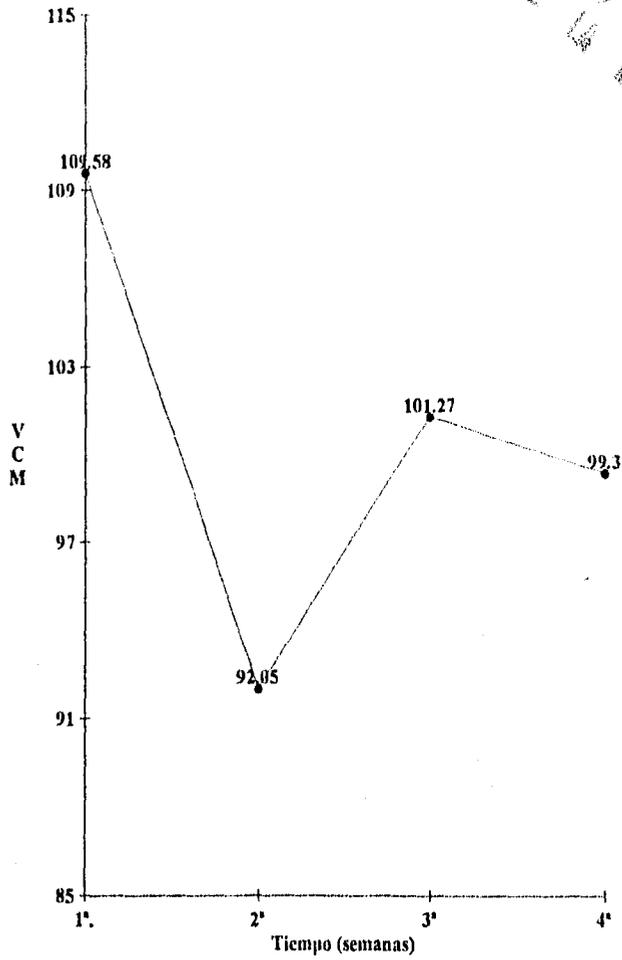
1°. 108.87 * 2°. 107.19 * 3°. 103.17 * 4°. 102.02

GRAFICA No. 6
Grupo 1 (casos)



1°. 32.49 * 2°. 32.19 * 3°. 32.23 * 4°. 32.20

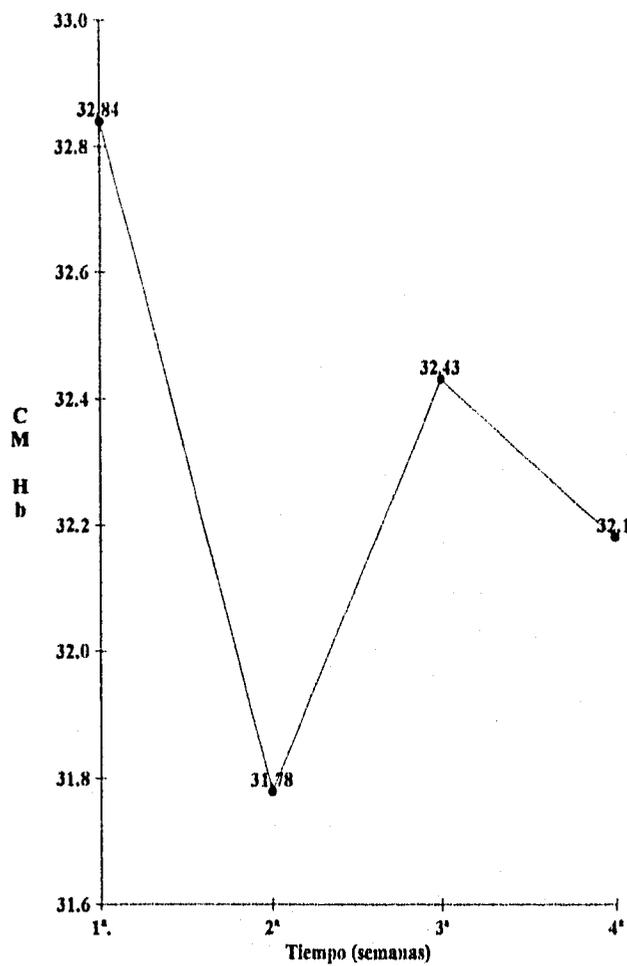
GRAFICA No. 7
Grupo 2 (casos)



1^a. 109.58 * 2^a. 92.05 * 3^a. 101.27 * 4^a. 99.34

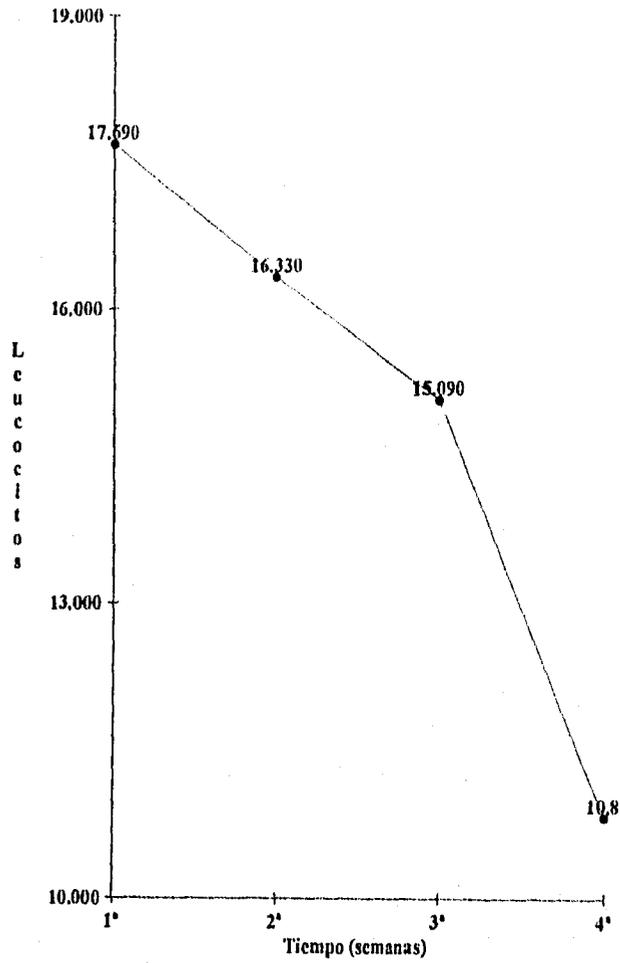
GRAFICA No. 8

Grupo 2 (control)



1^a. 32.84 * 2^a. 31.78 * 3^a. 32.43 * 4^a. 32.18

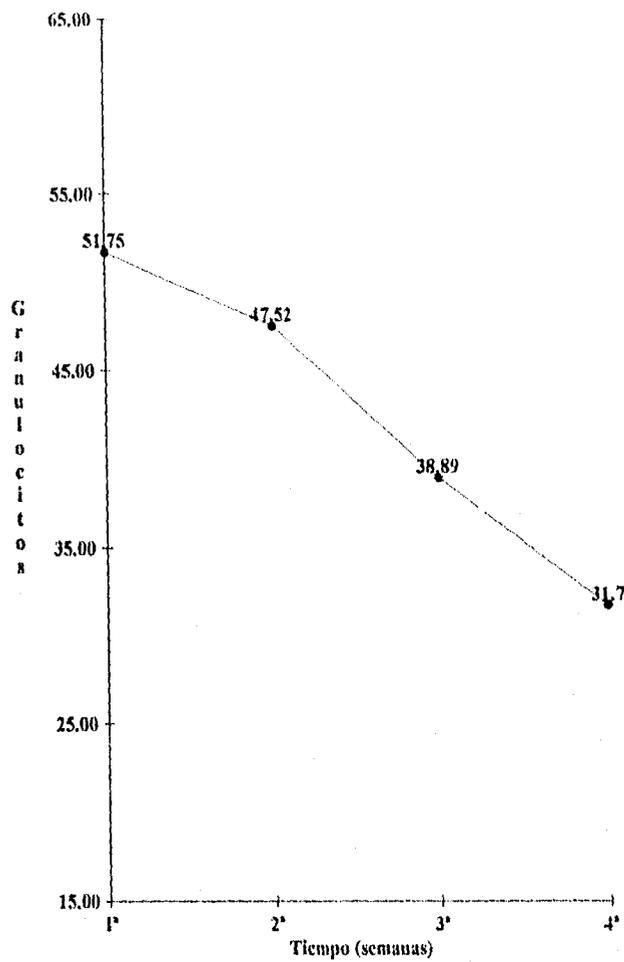
GRAFICA No. 9
Grupo 1 (casos)



1ª. 17,690 * 2ª. 16,33 * 3ª. 15,09 * 4ª. 10,83

GRAFICA No. 10

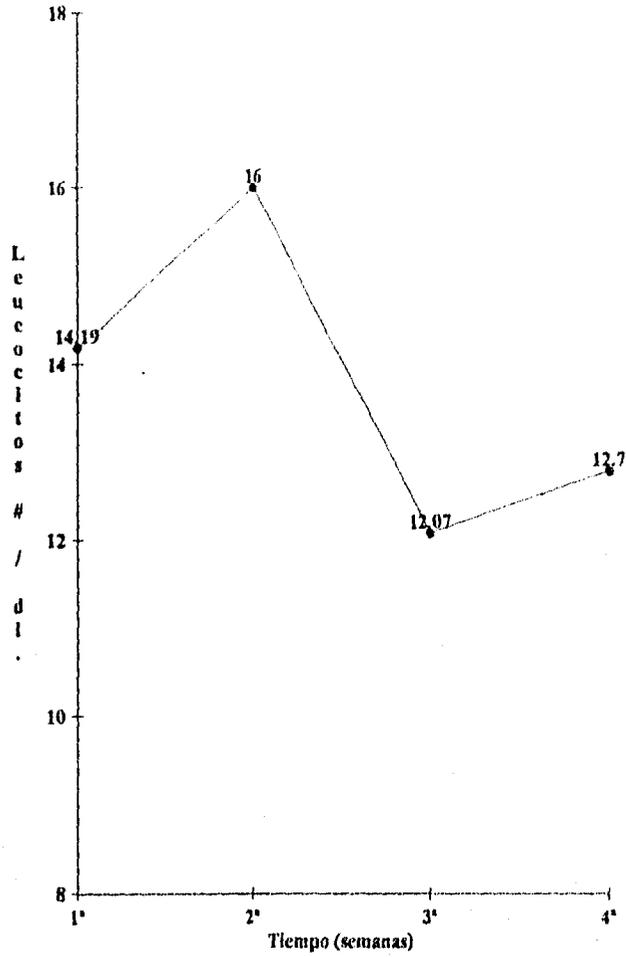
Grupo 1 (casos)



1^a. 51.75% * 2^a. 47.52% * 3^a. 38.89% * 4^a. 31.7%

GRAFICA No. 11

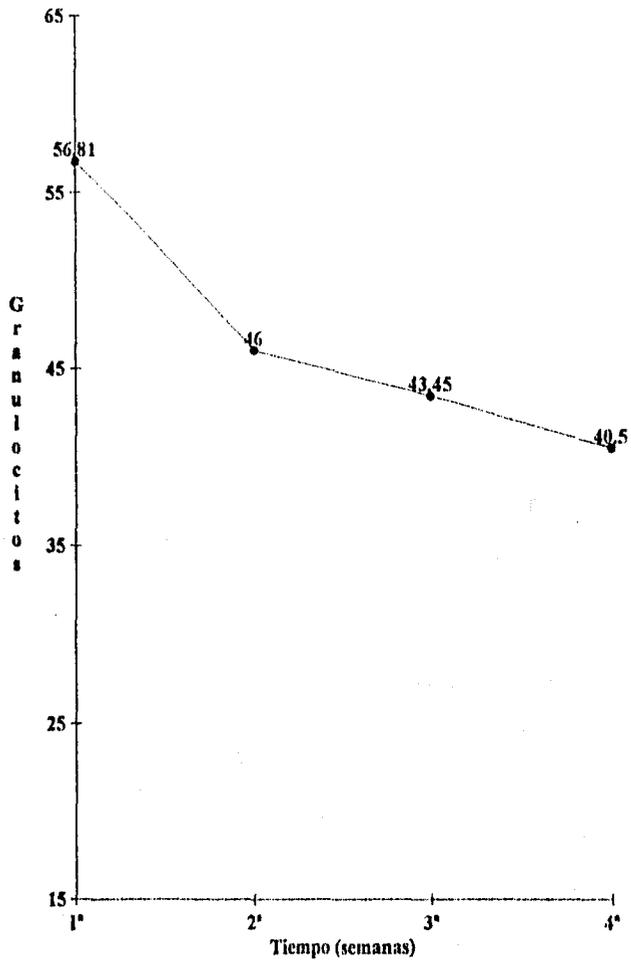
Grupo 2 (control)



1°. 14.19 * 2°. 16 * 3°. 12.07 * 4°. 12.77

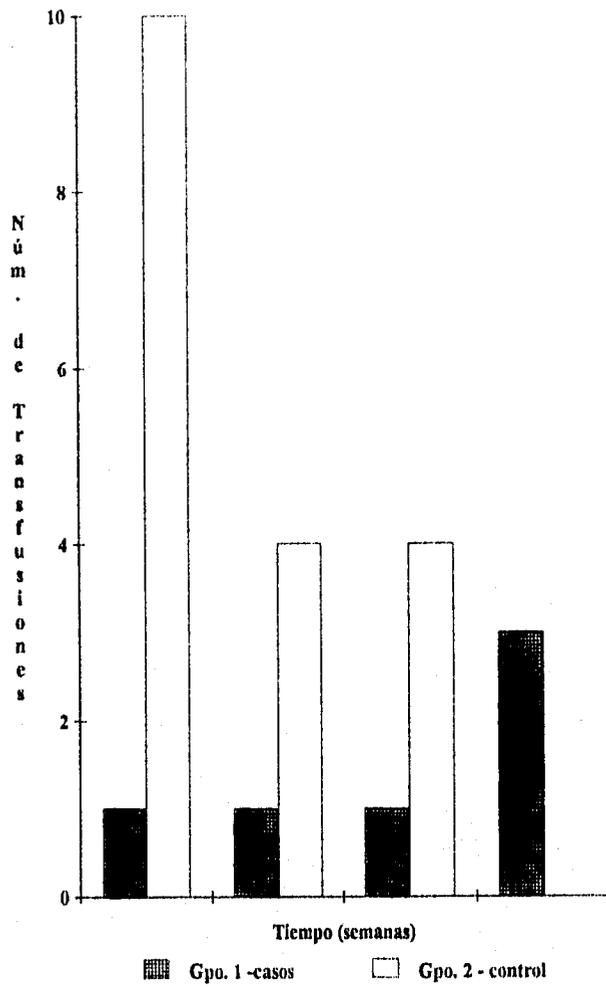
GRAFICA No. 12

Grupo 2 (control)



1^a. 56.81 * 2^a. 46 * 3^a. 43.45 * 4^a. 40.52

GRAFICA No. 13



BIBLIOGRAFIA.

1. Shannon KM *Anemia of prematurity: progress and prospects. Am J. Pediatr Hematol Oncol* 1990; 12: 14-20.
2. Stockman JA III, Garcia JF, Oski FA. *The anemia of prematurity: factors governing the erythropoietin response. N. Eng. J. Med* 1977; 296: 647-50.
3. Adamson JW. *The erythropoietin/hematocrit relationship in normal and polycythemic man; implications for marrow regulation. Blood* 1968; 32: 597-609.
4. Buchanan GR, Schwartz AD. *Impaired erythropoietin response in anemic premature infants. Blood* 1974; 44: 347-52.
5. Blank JP, Sheagren TG, Vajaria J. *The role of red blood cell transfusion in the premature infant. Am J. Dis Child* 1984; 138: 83-13.
6. Brown MS, Phibbs RH, Dallman PR. *Postnatal changes in fetal hemoglobin, oxygen affinity and 2,3-diphosphoglycerate in previously transfused preterm infants. Biol Neonate* 1985; 48: 70-6.
7. Phibbs RH, Shannon KM, Mentzer WC. *Potential for treatment of anaemia of prematurity with recombinant human erythropoietin: preliminary results. Acta Haematol* 1992; 87 (suppl 1): 28-33.
8. Messer J, Haddad J, Donato L, Astruc D, Matis UJ. *Early treatment of premature infants with recombinant human erythropoietin. Pediatrics* 1993; 92: 519-23.
9. Maier RF, Ohlraden M, Scigalla P, Linderkamp O. *The effect of epoietin beta (recombinant human erythropoietin) on the need for transfusion in very-low birth weight infants. N Eng J Med* 1994; 330: 1173-8.
10. Soubasi V, Kremenopoulos G, Diamandi E, Tsantall Ch, Tsakiris D. *In which neonates does early recombinant human erythropoietin treatment prevent anemia of prematurity? Results of a randomized, controlled study. Pediatr Res* 1993; 34: 675-9.

11. Halperin DS, Wacker P, Lacourt G, Babel ML, JF, Aapro M, Wyuss M. Effects of recombinant human erythropoietin in infants with the anemia of prematurity: a pilot study. *J Pediatr* 1990; 116: 779-86.
12. Ohls RK, Christensen RD. Recombinant human erythropoietin compared with erythrocyte transfusion in the treatment of anemia of prematurity. *J. Pediatr* 1991; 119: 781-8.
13. Carnielli V, Montini G, Da Riol R, Dall'Amico R, Cantarutti F. Effect of high doses of human recombinant erythropoietin on the need for blood transfusions in preterm infants. *J. Pediatr* 1992; 121: 98-102.
14. Shannon KM, Mentzer WC, Abels RI, Wertz M, Thayer-Moriyama J, Li WY, et al. Enhancement of erythropoiesis by recombinant human erythropoietin in low birth weight infants: a pilot study. *J. Pediatr* 1992; 120: 586-92.
15. Shannon KM. Recombinant erythropoietin in anemia of prematurity: five years later. *Pediatrics* 1993; 92: 614-7.
16. Christensen RD, Hunter DD, Ohls RK. Pilot study comparing recombinant erythropoietin alone with erythropoietin plus recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for treatment of the anemia of prematurity. *J Perinatol* 1994; 14: 110-3.
17. Ballesteros del Olmo JC, Estrada-Flores JV, Fernández-Celis JM. *Neonatología H.G. C.M.R. Manual de Procedimientos 1995. Servicio de Neonatología del Hospital General del Centro Médico Nacional "La Raza"; México, D.F. Pp 18-30.*
18. Ascensao JL, Bilgrami S, Zanjani E. Erythropoietin biology and clinical applications. *Am J. Pediatric Hematol Oncol* 1991; 13: 376-187.