

СОГЛАСОВАНО:
ГЛАВНЫЙ СПЕЦИАЛИСТ
ДЕТСКИЙ ГЕМАТОЛОГ
МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИИ
ПРОФЕССОР, АКАДЕМИК РАН
А.Г.РУМЯНЦЕВ



УТВЕРЖДАЮ:
ПРЕЗИДЕНТ НАЦИОНАЛЬНОГО
ОБЩЕСТВА ДЕТСКИХ
ГЕМАТОЛОГОВ
ОНКОЛОГОВ РОССИИ
ПРОФЕССОР



**ФЕДЕРАЛЬНЫЕ КЛИНИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИЮ РАННЕЙ АНЕМИИ
НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ**

Организации-разработчики:

ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева» МИНЗДРАВА РОССИИ
Национальное общество детских гематологов, онкологов РОССИИ

Коллектив авторов:

Румянцев Александр Григорьевич

Директор ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ имени
Дмитрия Рогачева» МИНЗДРАВА РОССИИ
профессор, академик РАН

Масчан Алексей Александрович

Директор Института гематологии
иммунологии и клеточных технологий
ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ имени Дмитрия
Рогачева» МИНЗДРАВА РОССИИ
профессор, д.м.н.

Ответственные исполнители:

- Володин Николай Николаевич — д-р мед. наук, проф., акад. РАН, директор ЛРНЦ «Русское поле» ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

- Панкратьева Людмила Леонидовна — канд. мед. наук, зав. отделением лечения и реабилитации пациентов раннего возраста онкологического и гематологического профиля ЛРНЦ «Русское поле» ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Рецензирование, обсуждение содержания рекомендации проводилось на сайте НОДГО, совещаниях, съездах педиатров, гематологов России

Диагностика и лечение ранней анемии недоношенных детей

МКБ-10: рубрикой P61.2

РАННЯЯ АНЕМИЯ НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ

Early cinema of prematurity, англ.

Нозологическая группа: Ранняя анемия недоношенных детей, ЭПО-дефицитная анемия.

Код по МКБ-10: P61.2

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Ранняя анемия недоношенных детей — состояние, характеризующееся снижением содержания гемоглобина, эритроцитов и гематокрита у недоношенных детей в первые 3 мес жизни. Анемия является нормоцитарной, нормохромной с низким уровнем ретикулоцитов и эригропозтина.

ОСНОВНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Одной из актуальных проблем выхаживания недоношенных детей являются профилактика и лечение анемии. Наиболее частый ее вариант — ранняя анемия недоношенных, развивающаяся в возрасте 4—6 нед у большинства детей с низкой и экстремально низкой массой тела при рождении. Частота ранней анемии недоношенных, по данным разных авторов, колеблется от 16,5 до 91,3% и имеет обратную зависимость от гестационного возраста и массы тела при рождении.

ЭТИОЛОГИЯ

Ранняя анемия недоношенных имеет полиэтиологический характер. Основные причины развития ранней анемии недоношенных:

- неадекватно низкая продукция эритропоэтина; и быстрое увеличение объема циркулирующей крови на фоне большей скорости прироста массы тела по сравнению с доношенными;
- укороченное время жизни эритроцитов;
- замедленное переключение синтеза с фетального гемоглобина на гемоглобин А;
- увеличение 2,3-дифосфоглицерата;
- быстрый зажим пуповины;
- потери крови при лабораторных исследованиях;
- неблагоприятные факторы ante- и постнатального периода, перинатальные кровопотери.

Особенно тяжелое течение ранняя анемия недоношенных принимает у детей с низкой и экстремально низкой массой тела с отягощенным течением перинатального периода. Это позволяет трактовать раннюю анемию недоношенных как патологическое состояние, требующее адекватной терапии.

ПАТОГЕНЕЗ РАННЕЙ АНЕМИИ НЕДОНОШЕННЫХ

Основные механизмы развития анемии недоношенных:

- укороченный период жизни эритроцитов (от 35 до 50 дней у недоношенных новорожденных детей по сравнению с 60—70 днями у доношенных);
- гемодилюция, связанная с быстрым увеличением массы тела;
- переключение синтеза с фетального гемоглобина на гемоглобин А;
- низкая продукция ЭПО, низкий эритропоэз;
- неблагоприятные факторы ante- и постнатального периода (например, инфекционные агенты, в частности грамотрицательная флора, для жизнедеятельности которой необходимо активное потребление железа);
- потери крови при лабораторных заборах (диагностические цели) и перинатальные кровопотери.

Показана зависимость между концентрацией гемоглобина и уровнем тиреоидных гормонов (Т3 и Т4). В условиях относительного дефицита Т3 и Т4, характерного для недоношенных детей, происходит нарушение тех этапов эритропоэза, которые требуют интенсивного синтеза специфических белков — ферментов, участвующих в образовании гемоглобина. В нарушении проницаемости мембран эритроцитов у недоношенных детей также играет роль низкий уровень витамина Е, который локализуется в мембранах и активно участвует в перекисном фосфорилировании. Дефицит витамина Е наблюдается у 86% недоношенных детей.

В генезе анемии недоношенных немаловажную роль играют и дефициты многих других, необходимых для кроветворения веществ, откладывающихся в депо только в последние 2 мес беременности: белка, витаминов С, группы В, меди, кобальта, обеспечивающих всасывание, транспорт, обмен и фиксацию железа в молекуле гема, а также стабильность оболочек и мембран эритроцитов.

КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ РАННЕЙ АНЕМИИ НЕДОНОШЕННЫХ

Ответной реакцией организма на снижение оксигенации тканей является появление клинических симптомов, наблюдающихся более чем у 50% детей с гестационным возрастом менее 34 нед, таких как:

- тахикардия, связанная с гиперфункцией сердечной деятельности; и бледность кожных покровов, объясняющаяся периферическим шунтированием с последующей централизацией кровообращения;
- тахипноэ как проявление повышенного газообмена в легких;
- снижение мышечного тонуса и двигательной активности; и задержка роста и плоская весовая кривая.

У детей с низкой и экстремально низкой массой тела, с отягощенным течением перинатального периода ранняя анемия недоношенных принимает особенно тяжелое течение и может привести к таким последствиям, как хроническая гипоксия, метаболический ацидоз, апноэ, бради- или тахикардия, длительное персистирование артериального протока, развитие гастроинтестинальных нарушений (некротический энтероколит, задержка эвакуации желудочного содержимого), брыжеечная гипоперфузия, бронхолегочная дисплазия.

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Концентрации гемоглобина в пупочной крови недоношенных не отличаются значительно от таковых у доношенных. Но дальнейшее снижение концентрации гемоглобина у недоношенных детей является более ранним, быстрым и значительным по величине и находится в обратной зависимости от гестационного возраста (рис. 1).

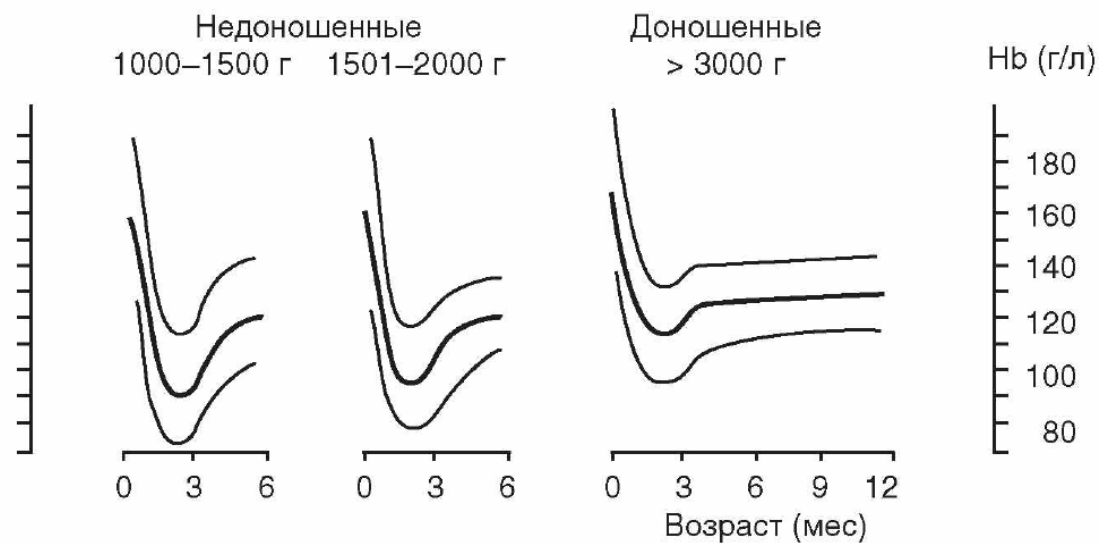


Рис 1. Концентрация гемоглобина у недоношенных и доношенных детей

Критерии ранней анемии недоношенных:

- концентрация гемоглобина менее 110 г/л; и гематокрит составляет менее 27%; и низкое число ретикулоцитов менее 20‰;
- нормохромная, нормоцитарная;
- низкая концентрация ЭПО в сыворотке, при этом содержание других гемопоэтических факторов роста нормальное (ИЛ-3 и ГМ-КСФ);
- эритроидные предшественники высокочувствительны к ЭПО.

В таблице 1 и 2 представлены постнатальные изменения показателей красной крови и содержания эритропоэтина у недоношенных детей,

ТАКТИКА ЛЕЧЕНИЯ РАННЕЙ АНЕМИИ НЕДОНОШЕННЫХ

Гемотрансфузии

Концентрация гемоглобина, при которой необходимо выполнить переливание крови, варьируется в различных странах. Было проведено небольшое число рандомизированных контролируемых исследований с целью определения оптимальных режимов переливания у новорожденных, и эти исследования часто трудно сравнить из-за различных подходов в методологии.

Заместительные гемотрансфузии, применяемые в качестве стандартного метода коррекции тяжёлых форм анемии, сопряжены с высоким риском различных трансфузионных осложнений. Кроме этого переливание донорских эритроцитов потенцирует угнетение продукции эндогенного эритропоэтина, что часто приводит к рецидивам анемии. Гемотрансфузии проводят при концентрации гемоглобина ниже 70 г/л и гематокрита менее 0,3 л/л или сопутствующих заболеваниях. Переливают 15 мл/кг на скорости 5 мл/кг/час. Чтобы сократить количество доноров, эритроциты необходимо заготавливать от одного донора в нескольких дозах, обычно 4 по 50 мл. При необходимости повторное переливание возможно проводить из той же донорской дозы, запечатанной в асептических условиях до 35-42 суток хранения. Объем гемотрансфузии должен обеспечить подъем гемоглобина до 90 г/л. Более массивные гемотрансфузии могут затянуть процесс спонтанного выздоровления за счет угнетения эритропоэза. При наличии у ребенка с анемией тахикардии более 170 в минуту, тахипноэ более 60 в минуту или кардиомегалии на рентгенограмме (при отсутствии других причин), гемотрансфузии показаны и при более высоких (чем 70 г/л) уровнях гемоглобина (но не выше, чем 90 г/л). Из-за ограниченного количества качественных исследований, невозможно сделать надежные рекомендации относительно оптимальных показаний к переливанию у новорожденных. Необходимы дальнейшие исследования с определением ограниченной политики трансфузий у недоношенных.

Эритропоэтин.

Патогенетически обоснованным современным методом лечения и профилактики ранней анемии недоношенных является применение рекомбинантного человеческого эритропоэтина в сочетании с препаратами железа. Используют позднюю (позже 8 дня жизни) стратегию введения рч-ЭПО. Раннее введение рчЭПО не показано в связи с имеющимися данными об увеличении ретинопатии недоношенных при ранней тактике введения рчЭПО, по сравнению с поздней.

В обзоре Кохрейновской базы данных приведены результаты МЕТА-исследования, включающего испытания эритропоэтина с целью стимуляции эритропоэза у недоношенных детей после 8 дня жизни. Отмечено существенное повышение уровня Ht и ретикулоцитов в лечебных группах и достигнуто значительное снижение количества трансфузий (<1 переливания на ребёнка) и сокращение объёма перелитых эритроцитов (<7 мл/кг). На фоне лечения препаратами рч-ЭПО не выявлено осложнений (таких как, например, ретинопатия, нейтропения, гипертония), либо отягощения течения перинатального периода. Никакие исследования не сообщают об ЭПО-ассоциированных опухолях новорожденных. Нет никаких категорических данных, что ретинопатия недоношенных может быть усилена применением рчЭПО.

Таблица 1. Постнатальные изменения показателей красной крови у доношенных детей.

Показатели	Возраст ребенка								
	сутки жизни			недели			месяцы		
	1	3	7	2	4	2	3	4	6
Hb, г/дл	19,4	18,6	18,7	17,6	13,9	11,2	11,4	12,0	12,1
MCV, фл	114 (101–128)	110 (104–116)	108 (102–114)	106 (88–125)	101 (90–112)	95 (83–107)	88 (78–98)	84 (74–95)	77 (67–87)
MCH, пг	36,6	36,7	36,2	33,6	32,5	30,4	30,4	28,1	26,4
MCHC, %	33,0	33,1	33,9	31,7	32,1	32,0	34,6	33,5	34,2

Таблица 2. Динамика содержания эритропоэтина и основные показатели красной крови у недоношенных детей.

Показатели	Постнатальный возраст детей (день жизни)				
	Пуповинная кровь	2–5	10–17	23–35	37–55
Hb, г/л	188,0+5,0	185,8+3,6	149,7+4,5	112,0+2,9	89,3+3,7
Эритроциты, $10^{12}/л$	6,3+0,13	5,25+0,1	4,32+0,08	3,4+0,18	2,7+0,15
Ht, %	65,0+0,7	52,5+0,9	42,3+0,89	31,07+1,2	26,25+1,2
ЭПО, мМЕ/мл	34,4+3,2	12,4+3,7	3,16+0,44	22,4+3,4	21,4+2,9
Ретикулоциты, ‰	21,0+4,2	12,7+1,4	5,6+0,4	11,8+2,78	14,3+2,7

Применение рекомбинантного человеческого эритропоэтина подкожно 500-1000 МЕ/кг однократно в неделю статистически значимо снижает частоту развития тяжёлых форм ранней анемии недоношенных у детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела при рождении. Более физиологично введение рчЭПО 150-200 МЕ/кг 3 раза в неделю. Использование препарата в дозе 500 МЕ/кг/нед снижает потребность в заместительных гемотрансфузиях на 75 %, в дозе 1000 МЕ/кг/нед – позволяет полностью их исключить. Применение рекомбинантного человеческого эритропоэтина не сопровождается местными и системными побочными эффектами. Лечение рчЭПО проводится в условиях специализированного стационара или дневного стационара, если позволяет общее состояние ребенка.

Большинство современных мировых исследований направлены на изучение и разработку таких критериев, как время начала проведения ЭПО-терапии, доза препарата, путь и кратность введения, длительность курса, а также изучение роли рчЭПО в снижении количества и объема трансфузии эритроцитарной массы. Применение высоких доз рчЭПО 1500 МЕ/кг/нед не уменьшает потребность в заместительных гемотрансфузиях по сравнению с низкими дозами 750 МЕ/кг/нед у детей с экстремально низкой массой тела при рождении. Выбор метода лечения РАН (рчЭПО или трансфузии) зависит от предпочтений и тактики клиники. Самой трудной является оценка психосоциологического бремени, наложенного на семью, связанного с потенциальным риском трансфузионной инфекции.

Ферротерапия.

Препараты железа, применяемые с профилактической целью, не предотвращают развитие анемии у недоношенных детей. Назначение препаратов железа недоношенным новорожденным в течение первого месяца жизни не обосновано, за исключением случаев, когда назначается эритропоэтин. У младенцев, получающих рчЭПО отмечаются низкая концентрация ферритина и гипохромия эритроцитов, поэтому препараты железа должны назначаться в лечебных дозах (5-6 мг/кг массы тела в сутки). И внутривенное, и пероральное железо одинаково восполняют дефицит ферритина и поддерживают эритропоэз. Поскольку всасывание железа в кишечнике снижено у новорожденных детей (доношенных и не доношенных), и незрелость пищеварительного тракта у недоношенных детей делает невозможным лечение

пероральными препаратами железа до 10-15 дня жизни, возможно введение железа (III)-гидроксид сахарозного комплекса внутривенно медленно в дозе 2 мг/кг/день или 6 мг/кг в неделю.

Субстратное обеспечение.

У младенцев, получающих рчЭПО, увеличивается потребность в белке и витамине Е. В связи с участием в синтезе эритроцитов фолиевой кислоты ее дефицит также играет определенную роль в патогенезе ранней анемии недоношенных.

В таблице 3 представлены клинические рекомендации по профилактике ранней анемии недоношенных согласно уровням доказательности.

Таблица 3. Рекомендации по терапии у детей с РАН.

Уровень 1++	Недоношенные дети менее 1000 г фактически всегда получают несколько переливаний эритроцитной массы. Использование рчЭПО у детей с РАН приводит к достоверному повышению концентрации гемоглобина и уменьшению потребности в гемотрансфузиях эритроцитной массы; нет фактически никакого эффекта на раннюю анемию у тяжелобольных детей на ИВЛ. Ранняя тактика введения рчЭПО не рекомендована, так как повышает риск развития ретинопатии. Сила рекомендаций А
Уровень 1+	Поздний зажим пуповины приводит к сокращению анемии и переливаний крови без дальнейших отрицательных последствий и у недоношенных, и у новорожденных полного срока. Сила рекомендаций А
Уровень 2	Ограничение ятрогенной потери крови приводит к сокращению анемии и переливаний крови у недоношенных младенцев. Сила рекомендаций А, В, С
Уровень 3	Не четких данных, лучше ли ограниченная политика переливания у недоношенных новорожденных или свободная политика переливания. Сила рекомендаций А, В

ПРОФИЛАКТИКА

Поздний зажим пуповины (по крайней мере через 30 секунд максимум ко 2 или 3 минуте после рождения) важен в уменьшении частоты анемии, как у недоношенных, так и у новорожденных полного срока гестации. В дополнение к сокращению анемии и потребности в переливаниях крови, поздний зажим также приводит к уменьшению внутричерепных кровоизлияний (RR: 1.74; 95% - CI 1.08 – 2.81) без увеличения полицитемии или гипербилирубинемии, которые потребовали бы лечения.

Потеря крови у недоношенных младенцев из-за лабораторных потерь крови изменяется от 1.1 до 3.5 мл/кг/день. Для сокращения потерь крови важны микрометоды для лабораторного исследования крови. Сокращение потерь крови приводит к сокращению числа переливаний крови.

Профилактические мероприятия включают своевременную санацию очагов инфекции и лечение гестозов беременных, соблюдение режима и правильности питания беременной.

Важны естественное вскармливание и профилактика сидеропении у матери, оптимальные условия выхаживания недоношенного ребенка и предупреждение охлаждения и заболеваний, рациональное энтеральное и парентеральное питание, коррекция респираторных нарушений, минимизация ятрогенных потерь крови.

С целью профилактики гиповитаминоза Е рекомендуют всем детям с массой тела менее 2000 г в первые 3 месяца жизни давать внутрь витамин Е в дозе 5-10 мг/сут. Для профилактики дефицита фолатов в последнем триместре беременности и недоношенным детям рекомендуют назначать фолиевую кислоту в дозе 1 мг в сутки курсами по 14 дней.

Все недоношенные дети, начиная с 28-го дня жизни до 12 месячного возраста, нуждаются в назначении препаратов железа с целью профилактики поздней анемии недоношенных (но не для лечения ранней анемии!) в дозе 2-4 мг/кг в сутки в расчете на элементарное железо:

- при массе менее 1000 г – 4 мг/кг/сут;
- при массе 1000–1500 г – 3 мг/кг/сут;
- при массе 1500–3000 г – 2 мг/кг/сут.

При развитии поздней анемии недоношенных препараты железа должны назначаться в лечебных дозах (5-8 мг/кг массы тела в сутки) с соблюдением всех принципов лечения железодефицитных состояний.

Диспансерное наблюдение

Недоношенные дети с анемией в период выраженности клинико-гематологических изменений должны наблюдаться врачом не реже 1 раза в неделю с контролем

клинического анализа крови каждые 10-14 дней на фоне лечения препаратами железа. При неэффективности терапии в случаях тяжелой анемии показана госпитализация.

ЛИТЕРАТУРА.

- 1.Ohls RK. The use of erythropoietin in neonates. Clin Perinatol 2000; 27:681.
- 2.Stockman JA 3rd, Graeber JE, Clark DA, et al. Anemia of prematurity: determinants of the erythropoietin response. J Pediatr 1984; 105:786.
- 3.Brown MS, Phibbs RH, Garcia JF, Dallman PR. Postnatal changes in erythropoietin levels in untransfused premature infants. J Pediatr 1983; 103:612.
- 4.Shannon KM, Naylor GS, Torkildson JC, et al. Circulating erythroid progenitors in the anemia of prematurity. N Engl J Med 1987; 317:728.
- 5.Rhondeau SM, Christensen RD, Ross MP, et al. Responsiveness to recombinant human erythropoietin of marrow erythroid progenitors from infants with the "anemia of prematurity". J Pediatr 1988; 112:935.
- 6.Ohls RK, Liechty KW, Turner MC, et al. Erythroid "burst promoting" activity in serum of patients with the anemia of prematurity. J Pediatr 1990; 116:786.
- 7.Malek A, Sager R, Eckardt KU, et al. Lack of transport of erythropoietin across the human placenta as studied by an in vitro perfusion system. Pflugers Arch 1994; 427:157.
- 8.Schneider H, Malek A. Lack of permeability of the human placenta for erythropoietin. J Perinat Med 1995; 23:71.
- 9.Widness JA, Schmidt RL, Sawyer ST. Erythropoietin transplacental passage--review of animal studies. J Perinat Med 1995; 23:61.
- 10.Palis J, Segel GB. Developmental biology of erythropoiesis. Blood Rev 1998; 12:106.
- 11.Brown MS, Garcia JF, Phibbs RH, Dallman PR. Decreased response of plasma immunoreactive erythropoietin to "available oxygen" in anemia of prematurity. J Pediatr 1984; 105:793.
- 12.Moritz KM, Lim GB, Wintour EM. Developmental regulation of erythropoietin and erythropoiesis. Am J Physiol 1997; 273:R1829.

- 13.Dame C, Fahnenstich H, Freitag P, et al. Erythropoietin mRNA expression in human fetal and neonatal tissue. *Blood* 1998; 92:3218.
- 14.Tan CC, Eckardt KU, Firth JD, Ratcliffe PJ. Feedback modulation of renal and hepatic erythropoietin mRNA in response to graded anemia and hypoxia. *Am J Physiol* 1992; 263:F474.
- 15.Flake AW, Harrison MR, Adzick NS, Zanjani ED. Erythropoietin production by the fetal liver in an adult environment. *Blood* 1987; 70:542.
- 16.Semenza GL. Regulation of mammalian O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor 1. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1999; 15:551.
- 17.Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92:5510.
- 18.Rajakumar A, Conrad KP. Expression, ontogeny, and regulation of hypoxia-inducible transcription factors in the human placenta. *Biol Reprod* 2000; 63:559.
- 19.Lin JC, Strauss RG, Kulhavy JC, et al. Phlebotomy overdraw in the neonatal intensive care nursery. *Pediatrics* 2000; 106:E19.
- 20.Ringer SA, Richardson DK, Sacher RA, et al. Variations in transfusion practice in neonatal intensive care. *Pediatrics* 1998; 101:194.
- 21.KAPLAN E, HSU KS. Determination of erythrocyte survival in newborn infants by means of Cr⁵¹-labelled erythrocytes. *Pediatrics* 1961; 27:354.
- 22.Shahal Y, Bauminger ER, Zmora E, et al. Oxidative stress in newborn erythrocytes. *Pediatr Res* 1991; 29:119.
- 23.Robles R, Palomino N, Robles A. Oxidative stress in the neonate. *Early Hum Dev* 2001; 65 Suppl:S75.
- 24.Haiden N, Schwindt J, Cardona F, et al. Effects of a combined therapy of erythropoietin, iron, folate, and vitamin B12 on the transfusion requirements of extremely low birth weight infants. *Pediatrics* 2006; 118:2004.

25. Bard H, Fouron JC, Chessex P, Widness JA. Myocardial, erythropoietic, and metabolic adaptations to anemia of prematurity in infants with bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr* 1998; 132:630.
26. Bard H. The postnatal decline of hemoglobin F synthesis in normal full-term infants. *J Clin Invest* 1975; 55:395.
27. Bard H, Prosmanne J. Postnatal fetal and adult hemoglobin synthesis in preterm infants whose birth weight was less than 1,000 grams. *J Clin Invest* 1982; 70:50.
28. Beuzard Y, Vainchenker W, Testa U, et al. Fetal to adult hemoglobin switch in cultures of early erythroid precursors from human fetuses and neonates. *Am J Hematol* 1979; 7:207.
30. Stockman JA 3rd, Garcia JF, Oski FA. The anemia of prematurity. Factors governing the erythropoietin response. *N Engl J Med* 1977; 296:647.
31. Stockman JA 3rd, Oski FA. RBC values in low-birth-weight infants during the first seven weeks of life. *Am J Dis Child* 1980; 134:945.
32. Lachance C, Chessex P, Fouron JC, et al. Myocardial, erythropoietic, and metabolic adaptations to anemia of prematurity. *J Pediatr* 1994; 125:278.
33. Böhler T, Janecke A, Linderkamp O. Blood transfusion in late anemia of prematurity: effect on oxygen consumption, heart rate, and weight gain in otherwise healthy infants. *Infusionsther Transfusionsmed* 1994; 21:376.
34. Zagol K, Lake DE, Vergales B, et al. Anemia, apnea of prematurity, and blood transfusions. *J Pediatr* 2012; 161:417.
35. Madsen LP, Rasmussen MK, Bjerregaard LL, et al. Impact of blood sampling in very preterm infants. *Scand J Clin Lab Invest* 2000; 60:125.
36. American Academy of Pediatrics. Nutritional needs of the preterm infant. In: *Pediatric Nutrition Handbook*, 7th ed, Kleinman RE, Greer FR (Eds), American Academy of Pediatrics, Elk Grove Village 2014. p.83.
37. Berseth CL, Van Aarde JE, Gross S, et al. Growth, efficacy, and safety of feeding an iron-fortified human milk fortifier. *Pediatrics* 2004; 114:e699.
38. Ohls RK. Why study erythropoietin in preterm infants? *Acta Paediatr* 2013; 102:567.

39. Birenbaum HJ, Pane MA, Helou SM, Starr KP. Comparison of a restricted transfusion schedule with erythropoietin therapy versus a restricted transfusion schedule alone in very low birth weight premature infants. *South Med J* 2006; 99:1059.
40. Ohlsson A, Aher SM. Early erythropoietin for preventing red blood cell transfusion in preterm and/or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; :CD004863.
41. Ohls RK, Ehrenkranz RA, Das A, et al. Neurodevelopmental outcome and growth at 18 to 22 months' corrected age in extremely low birth weight infants treated with early erythropoietin and iron. *Pediatrics* 2004; 114:1287.
42. Ohls RK, Christensen RD, Kamath-Rayne BD, et al. A randomized, masked, placebo-controlled study of darbepoetin alfa in preterm infants. *Pediatrics* 2013; 132:e119.
43. Aher S, Ohlsson A. Late erythropoietin for preventing red blood cell transfusion in preterm and/or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; :CD004868.
44. Aher SM, Ohlsson A. Early versus late erythropoietin for preventing red blood cell transfusion in preterm and/or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 10:CD004865.
45. Aher SM, Ohlsson A. Early versus late erythropoietin for preventing red blood cell transfusion in preterm and/or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; :CD004865.
46. Ohls RK, Christensen RD. Recombinant erythropoietin compared with erythrocyte transfusion in the treatment of anemia of prematurity. *J Pediatr* 1991; 119:781.
47. Halpérin DS. Use of recombinant erythropoietin in treatment of the anemia of prematurity. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1991; 13:351.
48. Carnielli VP, Da Riolo R, Montini G. Iron supplementation enhances response to high doses of recombinant human erythropoietin in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1998; 79:F44.
49. Bechensteen AG, Hågå P, Halvorsen S, et al. 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.

50. Calhoun DA, Christensen RD, Edstrom CS, et al. Consistent approaches to procedures and practices in neonatal hematology. *Clin Perinatol* 2000; 27:733.
51. Costa S, Romagnoli C, Zuppa AA, et al. How to administrate erythropoietin, intravenous or subcutaneous? *Acta Paediatr* 2013; 102:579.
52. Ohls RK, Veerman MW, Christensen RD. Pharmacokinetics and effectiveness of recombinant erythropoietin administered to preterm infants by continuous infusion in total parenteral nutrition solution. *J Pediatr* 1996; 128:518.
53. Ohls RK, Roohi M, Peceny HM, et al. A randomized, masked study of weekly erythropoietin dosing in preterm infants. *J Pediatr* 2012; 160:790.