

Aus der Klinik für Neonatologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Hämatologische Auswirkungen extremer Frühgeburtlichkeit –
Relevanz von Transfusionen und rekombinantem Erythropoietin

Hematologic effects of extreme prematurity –
Relevance of transfusions and recombinant erythropoietin

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Nora Johanna Reibel-Georgi, geb. Reibel

Datum der Promotion: 30. Juni 2024

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis	IV
Abbildungsverzeichnis	V
Abkürzungsverzeichnis	VI
Zusammenfassung.....	1
1 Einleitung	4
1.1 IUGR – Definition und Folgen.....	4
1.2 Erythropoietin (EPO) und Frühgeborenenämie (AOP)	4
1.3 Zielstellung.....	6
2 Methodik	7
2.1 Publikation 1: <i>“Aberrant Hematopoiesis and Morbidity in Extremely Preterm Infants with Intrauterine Growth Restriction”</i>	7
2.1.1 Einschlusskriterien	7
2.1.2 Datenerhebung	7
2.1.3 Statistische Auswertung.....	8
2.2 Publikationen 2 und 3: <i>“Prophylactic Early Erythropoietin for Neuroprotection in Preterm Infants: A Meta-analysis”</i> und <i>“Prophylactic Erythropoietin for Neuroprotection in Very Preterm Infants: A Meta-analysis Update”</i>	9
2.1.1 Einschlusskriterien und <i>Outcomes</i>	9
2.1.2 Suchstrategie und Bewertung der methodischen Qualität.....	10
2.1.3 Datenerhebung und -analyse.....	10
3. Ergebnisse	12
3.1 Publikation 1: <i>“Aberrant Hematopoiesis and Morbidity in Extremely Preterm Infants with Intrauterine Growth Restriction”</i>	12
3.1.1 Studienpopulation	12
3.1.2 Veränderte Hämatopoiese	13
3.1.3 Transfusionen	14
3.1.4 Neonatale Morbidität.....	17

3.1.5 Mortalität	18
3.2 Publikationen 2 und 3: <i>“Prophylactic Early Erythropoetin for Neuroprotection in Preterm Infants: A Meta-analysis”</i> und <i>“Prophylactic Erythropoetin for Neuroprotection in Very Preterm Infants: A Meta-analysis Update”</i>	20
3.2.1 Eingeschlossene Studien.....	20
3.2.2 Bewertung des Verzerrungsrisikos („ <i>Risk of Bias</i> “)	21
3.2.3 Statistische Auswertung.....	23
4. Diskussion.....	25
4.1 Kurze Zusammenfassung der Ergebnisse.....	25
4.1.1 Publikation 1: <i>“Aberrant Hematopoiesis and Morbidity in Extremely Preterm Infants with Intrauterine Growth Restriction”</i>	25
4.1.2 Publikationen 2 und 3: <i>“Prophylactic Early Erythropoetin for Neuroprotection in Preterm Infants: A Meta-analysis”</i> und <i>“Prophylactic Erythropoetin for Neuroprotection in Very Preterm Infants: A Meta-analysis Update”</i>	25
4.2 Interpretation und Einbettung der Ergebnisse in den bisherigen Forschungsstand	25
4.3 Stärken und Schwächen der Studie(n)	28
4.4.1 Publikation 1: <i>“Aberrant Hematopoiesis and Morbidity in Extremely Preterm Infants with Intrauterine Growth Restriction”</i>	28
4.4.2 Publikationen 2 und 3: <i>“Prophylactic Early Erythropoetin for Neuroprotection in Preterm Infants: A Meta-analysis”</i> und <i>“Prophylactic Erythropoetin for Neuroprotection in Very Preterm Infants: A Meta-analysis Update”</i>	29
5. Schlussfolgerungen	31
Literaturverzeichnis	32
Eidesstattliche Versicherung	37
Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen.....	38
Auszug aus der Journal Summary List	40
Druckexemplar der Publikation 1 <i>“Aberrant Hematopoiesis and Morbidity in Extremely Preterm Infants with Intrauterine Growth Restriction”</i>	42
Auszug aus der Journal Summary List	53

Druckexemplar der Publikation 2: <i>“Prophylactic Early Erythropoietin for Neuroprotection in Preterm Infants: A Meta-analysis”</i>	54
Auszug aus der Journal Summary List	65
Druckexemplar der Publikation 3: <i>“Prophylactic Erythropoietin for Neuroprotection in Very Preterm Infants: A Meta-Analysis Update”</i>	67
Lebenslauf.....	72
Komplette Publikationsliste	74
Danksagung	76

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Blutbild- und Gerinnungswerte bei Aufnahme.....	14
Tabelle 2: Morbidität und Mortalität.....	19
Tabelle 3: Charakteristika der eingeschlossenen RCTs	21

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Flussdiagramm zur Selektion der Studienpopulation.....	12
Abbildung 2: Transfusionshäufigkeit innerhalb der ersten Lebenswoche	16
Abbildung 3: Medianes Transfusionsvolumen und mediane EK-Anzahl vor (2008-2013) und nach (2014-2017) Einführung von Transfusionsgrenzwerten	17
Abbildung 4: Verzerrungsrisiko („ <i>risk of bias</i> “) der eingeschlossenen Studien	22
Abbildung 5: Effekt von rhEPO auf den primären Endpunkt	24

Abkürzungsverzeichnis

AOP	Frühgeborenenanämie (<i>anemia of prematurity</i>)
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit (<i>activated partial thromboplastin time</i>)
ANC	Absolute Neutrophilenzahl (<i>absolute neutrophil count</i>)
BPD	Bronchopulmonale Dysplasie (<i>bronchopulmonary dysplasia</i>)
BSID	<i>Bayley Scales of Infant Development</i>
CI	Konfidenzintervall (<i>confidence interval</i>)
CP	Infantile Zerebralparese (<i>cerebral palsy</i>)
EK	Erythrozytenkonzentrat
ELBW	Geburtsgewicht < 1000 Gramm (<i>extremely low birth weight</i>)
ELGAN	Neugeborenes mit einem Gestationsalter < 28 vollendete Schwangerschaftswochen (<i>extremely low gestational age neonate</i>)
EPO	Erythropoietin
FFP	Gefrorenes Frischplasma (<i>fresh frozen plasma</i>)
GA	Gestationsalter
GG	Geburtsgewicht
Hb	Hämoglobin
Hkt	Hämatokrit
ICTRP	<i>International Clinical Trials Registry Platform</i>
INR	<i>International Normalized Ratio</i>
IUGR	Intrauterine Wachstumsretardierung (<i>intrauterine growth restriction</i>)
IVH	Intraventrikuläre Hämorrhagie (<i>intraventricular hemorrhage</i>)
MDI	<i>Mental Developmental Index</i>
n	Anzahl
NEC	Nekrotisierende Enterokolitis (<i>necrotising enterocolitis</i>)
NNT	Anzahl der notwendigen Behandlungen (<i>number needed to treat</i>)
NRBC	Erythroblasten (<i>nucleated red blood cells</i>)
OR	<i>Odds Ratio</i>
p	p-Wert
PDI	<i>Psychomotor Developmental Index</i>
RBC	Erythrozyten (<i>red blood cells</i>)
RCT	Randomisierte kontrollierte Studie (<i>randomized controlled trial</i>)

rhEPO	rekombinantes humanes Erythropoietin (<i>recombinant human erythropoietin</i>)
ROP	Frühgeborenenretinopathie (<i>retinopathy of prematurity</i>)
SGA	Neugeborenes < 10. Perzentile (<i>small for gestational age</i>)
SSW	Schwangerschaftswochen
TK	Thrombozytenkonzentrat

Zusammenfassung

Bis zu 90% aller Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht < 1000 g (*extremely low birth weight infants*, ELBW) benötigen die Transfusion von mindestens einem Erythrozytenkonzentrat (EK) innerhalb der ersten Lebenswoche. Retrospektive Studien zeigten, dass EK-Transfusionen mit dem Risiko für Komplikationen assoziiert sind, dazu gehören das vermehrte Auftreten von bronchopulmonaler Dysplasie (BPD), nekrotisierender Enterokolitis (NEC) und Frühgeborenenretinopathie (ROP). Behandlungsstrategien, die zu einer restriktiveren Transfusionsstrategie beitragen, könnten daher für ein besseres entwicklungsneurologisches *Outcome* dieser Risikogruppe wichtig sein. Dazu gehört zum Beispiel die frühzeitige Therapie mit rekombinantem humanem Erythropoietin (rhEPO).

In dieser Arbeit werden drei Forschungsprojekte im Bereich der klinischen neonatalen Hämatologie in der Hochrisikogruppe von Frühgeborenen mit einem Gestationsalter (GA) von < 28 Schwangerschaftswochen (*extremely low gestational age neonate*, ELGAN) bzw. < 1000 g (ELBW) vorgestellt:

- 1) In einer Fall-Kontroll-Studie, in der ELGANs mit schwerer intrauteriner Wachstumsrestriktion (IUGR) mit einem Geburtsgewicht (GG) < 3 . Perzentile mit Kontrollpatient:innen mit einem GG > 10 . Perzentile verglichen wurden, konnte festgestellt werden, dass IUGR mit erhöhten Erythroblasten bei Geburt bei gleichzeitiger Thrombo- und Neutropenie assoziiert ist. Die Inzidenz für pulmonale Morbidität als auch die Mortalität, jedoch nicht das Risiko für abdominelle Komplikationen und Blutungen war in der IUGR-Gruppe signifikant höher. Zudem erhielten IUGR-ELGANs häufiger Transfusionen von EK, Thrombozytenkonzentrat (TK) und *Fresh Frozen Plasma* (FFP) als altersentsprechende normgewichtige Kontrollpatient:innen.
- 2) Die Gabe von rhEPO ging in experimentellen Studien bei hypoxisch-ischämischer Enzephalopathie mit einem neuroprotektiven Effekt einher. Eine Metaanalyse mit vier randomisierten, kontrollierten Studien (RCTs), die bei Frühgeborenen eine frühe, prophylaktische rhEPO Gabe mit einer Placebo-Gabe verglichen, zeigte, dass rhEPO das Auftreten eines *Mental Developmental Index* (MDI) < 70 bzw. eines kognitiven Scores < 85 signifikant reduzierte (OR 0.51, 95% CI 0.31-0.81).
- 3) Das Update (2021) dieser Metaanalyse mit sechs RCTs bestätigt den positiven Effekt der prophylaktischen rhEPO-Gabe, allerdings ist dieser Effekt– nach Ausschluss einer Studie mit hoher *Bias* – nicht signifikant. In der Subgruppenanalyse

der ELGANs konnte kein langfristiger Benefit für die psychomotorische Entwicklung im Alter von 18-26 Monaten durch die Behandlung mit rhEPO nachgewiesen werden.

Hinsichtlich der Entwicklung zu einer restriktiveren Transfusionsstrategie bei IUGR-Frühgeborenen könnte die Therapie mit rhEPO vorteilhaft sein und sollte – neben anderen Maßnahmen zur Prävention der Anämie – wieder mehr in den klinischen Fokus gerückt werden.

Abstract

Nearly 90% of all extremely low birth weight infants (ELBW) infants require at least one red blood cell (RBC) transfusion during the first week of life. Retrospective studies showed that RBC transfusions are associated with a higher risk of complications, including increased incidence of bronchopulmonary dysplasia (BPD), necrotizing enterocolitis (NEC) and retinopathy of prematurity (ROP). Treatment options, such as early administration of recombinant human erythropoietin (rhEPO), which may lead to a more restrictive transfusion strategy, may therefore be important for improving the neurodevelopmental outcome in this high-risk group of patients.

This thesis presents three research projects in the field of clinical neonatal hematology in the high-risk group of neonates with < 28 weeks of gestation (extremely low gestational age neonate, ELGAN) or with a birthweight < 1000 grams (ELBW):

- 1) In a case-control study, comparing ELGANs with severe intrauterine growth restriction (IUGR) with birth a weight < 3rd percentile to control newborns with a birth weight within normal range (> 10th and < 90th percentile), IUGR was found to be associated with increased numbers of nucleated red blood cells (NRBC) at birth and concomitant thrombo- and neutropenia. The incidence of pulmonary morbidity and mortality, but not the risk for abdominal complications and major bleeding disorders, was significantly higher in the IUGR group. In addition, IUGR ELGANs received transfusions of RBC, platelets, and fresh frozen plasma (FFP) more frequently than controls.
- 2) In experimental studies, the administration of rhEPO has been linked to neuroprotective effects after hypoxic-ischemic encephalopathy. A meta-analysis of four randomized controlled trials (RCTs) comparing early, prophylactic rhEPO administra-

tion in preterm infants with a placebo group showed that rhEPO significantly reduced the incidence of a Mental Developmental Index (MDI) < 70 or a cognitive score < 85 (OR 0.51, 95% CI 0.31-0.81).

- 3) An update (2021) of this meta-analysis with six RCTs confirms a benefit of prophylactic rhEPO administration, however, the effect - after exclusion of one study with high bias - is no longer significant. Analyzing the subgroup of ELGANs, no significant beneficial effect of treatment with rhEPO on neurodevelopment could be identified.

In addition to other transfusion-preventive measures, the use of rhEPO might be helpful to achieve more restrictive transfusion strategies in IUGR preterm infants and therefore it's clinical value should be reevaluated.

1 Einleitung

1.1 IUGR – Definition und Folgen

Die intrauterine Wachstumsretardierung (*intrauterine growth restriction*, IUGR) beschreibt einen pathologischen Zustand, in dem der Fetus nicht entsprechend seines biologisch determinierten Wachstumspotentials wächst. Die IUGR tritt in 5-10% aller Schwangerschaften auf und wird in eine frühe (*early-onset*; GA < 32 Wochen) und eine späte (*late-onset*; GA > 32 Wochen) Form unterteilt. Die IUGR ist meist durch eine uteroplazentare Insuffizienz begründet und mit erhöhter perinataler Morbidität und Mortalität, sowie einer schlechteren neurokognitiven und psychomotorischen Entwicklung assoziiert.^{1,2} Dies trifft insbesondere auf die früh einsetzende Form, die mit einer gestörten Plazentadurchblutung einher geht, zu.³ Die uteroplazentare Dysfunktion führt zu einer Mangelversorgung des Feten mit Sauerstoff und Nährstoffen.^{4,5} Intrauterin kommt es zu einer Umverteilung (sog. „*brain sparing effect*“) des Blutvolumens zum Schutz der (lebens)wichtigen Organe (vor allem Gehirn, Herz, Nebennieren), während andere Organe vermindert perfundiert werden. Pränatal wird dies in der Dopplersonographie an reduzierten oder pathologischen Dopplerwerten der A. umbilicalis, A. uterina oder A. cerebri media erkannt.⁶

In Abgrenzung zu Neugeborenen, die zwar zu klein für ihr GA geboren werden (*small for gestational age*, SGA), aber ein geringeres Risiko für nachteilige Auswirkungen in der Perinatalperiode haben, werden neben einem Geburtsgewicht (GG) < 10. Perzentile die pathologischen Dopplerwerte in die Definition der IUGR einbezogen.¹ Derzeit gibt es keine wirksame pränatale Therapie, daher ist bei schweren Formen der IUGR die frühzeitige Entbindung häufig die einzige Option das Überleben des Kindes zu sichern.³

1.2 Erythropoietin (EPO) und Frühgeborenenämie (AOP)

Das Glykoprotein-Hormon EPO spielt als primärer Regulator der Erythropoese eine herausragende Rolle, indem es erythroide Vorläuferzellen zur Reifung und Zellteilung anregt und deren Apoptose verhindert.^{7,8}

Die chronische Hypoxie im Rahmen einer Plazentainsuffizienz bei IUGR ist ein Stimulus für eine verstärkte Produktion von EPO, konsekutiv kommt es zu einer Überstimulation der Erythropoese und zur Steigerung der Sauerstofftransportkapazität.^{7,9}

Bei Frühgeborenen mit IUGR sind die EPO-Konzentrationen im Nabelschnurblut zwar durch die chronische Hypoxie erhöht,⁹ die EPO-Synthese fällt aber innerhalb der ersten Stunden nach Geburt durch den höheren Sauerstoffpartialdruck im Blut bei Lungenatmung rasch ab.¹⁰

Der Rückgang der Produktion der Erythrozyten führt zu einer physiologischen Anämie, die bei Reifgeborenen als Trimenonreduktion bezeichnet wird.¹¹ Bei ELBW-Frühgeborenen ist auf Grund der primären Blutbildung in der Leber, der Unreife des Knochenmarks und einer kürzeren Lebensdauer der Erythrozyten diese Anämie verstärkt, weshalb sie als *Anemia of Prematurity* (AOP) bezeichnet wird.¹² Zudem ist bei diesen Frühgeborenen die Stimulation der Erythropoietinproduktion selbst bei verminderter Sauerstoffversorgung eingeschränkt, was durch Umstellungsvorgänge beim Sauerstoffsensing begründet sein könnte.¹³ Die AOP wird durch iatrogene Blutverluste für Laboruntersuchungen insbesondere in der ersten Lebenswoche noch verstärkt.¹⁴ Bis zu 90% der ELBW-Frühgeborenen benötigen mindestens eine Transfusion von Erythrozyten in diesem Zeitraum.^{15,16} In klinischen Studien zeigte sich nach EK-Transfusion ein Rückgang der Bildung von Retikulozyten und Erythroblasten durch Suppression der endogenen EPO-Synthese, was als weiterer Faktor für die AOP anzusehen ist.¹⁷

Die Transfusion adulter Blutprodukte ist mit einem erhöhten Risiko für Komplikationen assoziiert. Diskutiert werden das vermehrte Auftreten von NEC, BPD, ROP, intraventrikulären Hämorrhagie (IVH) und resultierenden entwicklungsneurologischen Nachteile Störungen.¹⁸⁻²⁰

Um einerseits mögliche Komplikationen durch EK-Transfusionen und andererseits Symptome durch die AOP (Apnoen, Tachy- oder Bradykardie, schlechtere Oxygenierung) zu minimieren, ist ein geeigneter Transfusionstrigger Gegenstand der Forschung.²¹ In RCTs wurden deshalb ein früher, liberaler Transfusionsgrenzwert, das heißt bei „hohem“ Hämoglobin (Hb)- bzw. Hämatokritwert (Hkt-Wert), mit einem späteren, restriktiven verglichen.^{16,22,23}

Zwei große RCTs zeigten, dass ein liberaler Transfusionsgrenzwert im Vergleich zu einem restriktiven keine Vorteile bezüglich der neurologischen Entwicklung im Alter von 22-26 Monaten bietet.^{24,25}

Um die Anzahl früher EK-Transfusionen in dieser Risikogruppe zu reduzieren, gibt es verschiedene Ansätze: Das späte Abnabeln (*late cord clamping*)²⁶, die Reduktion iatrogener Blutverluste²⁷ und die Gabe von rekombinantem, humanem EPO (rhEPO).²⁸

RhEPO konnte in *in-vitro* und *in-vivo* Studien zusätzlich ein neuroprotektiver Effekt zugeschrieben werden, der sich durch Förderung der Angio- und Neurogenese, sowie antiapoptotische, antioxidative und antiinflammatorische Effekte zu erklären scheint.²⁹⁻³¹ Dieser wurde vor allem bei hoher Dosierung (≥ 1.000 IU/kg/Dosis) angenommen, da in experimentellen Studien ab dieser Dosis ein Übertritt von biotinyliertem EPO über die Blut-Hirn-Schranke nachgewiesen werden konnte.³² Seitdem gilt rhEPO als vielversprechendes neuroprotektives Arzneimittel. Dies ist von besonderem klinischem Interesse, da sich durch die moderne Intensivmedizin zwar Überlebensraten von Frühgeborenen deutlich gebessert haben, die neurologische Langzeitprognose jedoch häufig eingeschränkt ist.³³⁻³⁵

1.3 Zielstellung

Ziel der Fall-Kontroll-Studie war es zu untersuchen, in welchem Ausmaß hämatologische Veränderungen bei ELGANs mit schwerer IUGR mit einem höheren Risiko für Morbidität und Mortalität verbunden sind. Der Fokus sollte hierbei insbesondere auf den Einfluss der veränderten Hämatopoiese und dem damit eventuell assoziierten Transfusionsbedarf, sowie mögliche Komplikationen durch die Organminderperfusion gelegt werden.

In der zweiten und dritten Arbeit sollte ein möglicher positiver Einfluss einer früh (vor dem 8. Lebenstag) initiierten Behandlung mit rhEPO auf die neurokognitive und motorische Entwicklung bei sehr unreifen Frühgeborenen (GA < 32 Wochen, GG < 1500g) evaluiert werden.

Insgesamt sollen alle drei Teilprojekte dazu beitragen, hämatologische Veränderungen und damit verbundene Risiken und Komplikationen extrem unreifer Frühgeborener zu erkennen und deren neonatologische Intensivtherapie zu optimieren, um deren *Outcome* zu verbessern.

2 Methodik

2.1 Publikation 1: *“Aberrant Hematopoiesis and Morbidity in Extremely Preterm Infants with Intrauterine Growth Restriction”*

2.1.1 Einschlusskriterien

In diese retrospektive Fall-Kontroll-Studie wurden ELGANs, die im Zeitraum von Januar 2008 bis Dezember 2017 in der Klinik für Neonatologie der Charité Campus Virchow Klinikum und Campus Mitte stationär behandelt wurden, eingeschlossen. Folgende Einschlusskriterien mussten erfüllt sein: a) GG \leq 3. Perzentile, b) GA $<$ 28 + 0 Schwangerschaftswochen (SSW), c) Diagnose einer schweren IUGR infolge einer eingeschränkten Plazentadurchblutung.³⁶ Letztere wurde entweder mittels histopathologischer Untersuchung der Plazenta, dopplersonographisch mittels eines Pulsatilitätsindex $>$ 95. Perzentile der Arteria uterina oder mittels eines zerebro-plazentaren Index $<$ 1 (definiert als Verhältnis des Pulsatilitätsindex der Arteria cerebri media zu dem der Arteria umbilicalis) diagnostiziert.³⁷⁻³⁹ Daraus ergibt sich eine streng definierte Studienpopulation, die sich eindeutig von SGA-Neugeborenen ohne Anzeichen einer plazentaren Minderversorgung abgrenzt. Neonaten mit schwerer kongenitaler Fehlbildung, Chromosomenanomalie oder primärer Palliativversorgung wurden ausgeschlossen. Als Kontrollpatient:innen wurden Neugeborene mit einem GG $>$ 10. Perzentile, angepasst an Geschlecht, GA (\pm 6 Tage), Geburtsjahr (innerhalb des gleichen Jahres, um Effekte infolge Änderungen von Behandlungsstrategien zu reduzieren) eingeschlossen. Es fand eine 2:1 Allokation zu Gunsten der Kontrollgruppe statt, um die Studienpopulation zu vergrößern und die Aussagekraft der Ergebnisse zu erhöhen.

2.1.2 Datenerhebung

Eine Archivanfrage wurde für alle Fälle gestellt, da (1) zum Zeitpunkt der Aktenrecherche die Dokumentation von Bluttransfusionen nur in Papierform vermerkt war und (2) bei Patient:innen vor 2012 keine elektronische Patientenakte vorhanden war. Aus der Akte in Papierform und der elektronischen Fallakte wurden klinische Daten zu der prä- und perinatalen Versorgung, den neonatalen Morbiditäten, deren Behandlung und der Mortalität, sowie die Laborparameter ermittelt. Von diesen Parametern werden in diesem Manteltext nur die im Zusammenhang aller drei Publikationen relevanten vorgestellt. Die kompletten

Daten, als auch die Grenzwerte für Laborparameter und Definitionen der neonatalen Morbiditäten, finden sich in der Originalpublikation (s. Seite 43 des Originalmanuskriptes).³⁶

Als hämatologische Parameter wurden im Blutbild Hb- und Hämatokritwert (Hkt), NRBC, Thrombozyten, Leukozyten, neutrophile Granulozyten am ersten und dritten Lebenstag bzw. Hb- und Hkt-Werte über die erste Lebenswoche sowie Gerinnungsparameter (International Normalized Ratio (INR), aktivierte Thromboplastinzeit (aPTT) und Fibrinogen) am ersten Lebenstag vor der routinemäßigen parenteralen Vitamin K Verabreichung erhoben.

Für die NRBC wurde ein Grenzwert von ≥ 8 NRBC/nl, für die Thrombozytopenie eine Thrombozytenzahl <150 /nl und für die Neutropenie eine absolute Neutrophilenzahl (ANC) $<1.000/\mu\text{l}$ definiert. Thrombo- und Neutropenie wurden jeweils in eine schwere (0-50/nl bzw. 0-500/ μl) und eine mäßige Form (51-100/nl bzw. 501-999/ μl) unterteilt. Abnormale Gerinnungsparameter wurden in Abhängigkeit vom GA und der jeweiligen Labormethode definiert.

Zielvariablen waren Mortalität vor Entlassung und typische neonatale Krankheitsbilder: Blutungen (IVH und pulmonale Hämorrhagie (PH)), Darmkomplikationen (NEC und fokale intestinale Perforation (FIP)), ROP und BPD.

Erfasste Interventionen waren Transfusionen (EK, TK und FFP) innerhalb der ersten Lebenswoche, abdominelle Operationen, Behandlungsoptionen der ROP (*Vascular endothelial growth factor* (VEGF) Inhibitoren oder Laser-Behandlung) und Beatmungstage, sowie Sauerstoff-Supplementation über den gesamten stationären Aufenthalt. Eine Etablierung von EK-Transfusionsgrenzen erfolgte in der Klinik mit Teilnahme an der ETTNO (*„Effects on Transfusion Thresholds on Neurocognitive Outcome“ Study*) Studie ab dem Jahr 2014.²⁴ Daher werden die EK-Transfusionen für den Zeitraum vor bzw. nach Einführung der Transfusionsgrenzen betrachtet.

Alle Daten wurden pseudonymisiert in eine Excel-Datenbank eingepflegt. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Charité- Universitätsmedizin Berlin genehmigt (EA2/053/18).

2.1.3 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mittels SPSS 26.0 (SPSS, Inc., Chicago, Illinois). Für die Analyse numerischer Variablen wurde der Mann-Whitney-U-Test, für den Vergleich kategorischer Variablen der Exakte Fisher-Test verwendet. P-Werte $< 0,05$

wurden als statistisch signifikant angesehen. Als rechnerisches Maß für den Zusammenhang von IUGR und *Outcomes* wurde die Odds Ratio (OR) berechnet. Eine binäre logistische Regressionsanalyse wurde angewandt, um unabhängige Faktoren für die Mortalität, Blutungsereignisse und BPD zu untersuchen.

2.2 Publikationen 2 und 3: “*Prophylactic Early Erythropoetin for Neuroprotection in Preterm Infants: A Meta-analysis*” und “*Prophylactic Erythropoetin for Neuroprotection in Very Preterm Infants: A Meta-analysis Update*”

2.1.1 Einschlusskriterien und *Outcomes*

Es wurde eine Metaanalyse durchgeführt, um die Wirkung von rhEPO auf die neurologische Entwicklung bei Frühgeborenen zu untersuchen. Hierbei wurden ausschließlich *peer-reviewed* RCTs eingeschlossen, die eine rhEPO-Gruppe mit einer Kontrollgruppe (keine Behandlung oder Placebo) verglichen und die neurologische Entwicklung mit Hilfe der *Bayles Scales of Infants Development* (BSID) im korrigierten Alter von 18 bis 24 Monaten als *Outcome* berücksichtigten.⁴⁰

Die BSID verfügt über Skalen für die kognitive (MDI) und die psychomotorische Entwicklung (*Psychomotor Developmental Index*, PDI).⁴¹ Der MDI hat sich als Standard zur Bewertung der neurologischen Entwicklung etabliert.⁴² In der dritten Version aus dem Jahr 2006 wurde der MDI in separate kognitive und sprachliche Skalen und der PDI in fein- und grobmotorische Skalen aufgeteilt.⁴³ Studien zeigten, dass ein MDI < 70 in den BSID-II mit einem kognitiven Wert < 85 in den BSID-III vergleichbar und als Prädiktor für eine mittel- bis schwere Beeinträchtigung der geistigen Entwicklung geeignet ist.^{44,45}

Primärer Endpunkt war die Anzahl der Kinder mit einem MDI < 70 in den BSID-II oder zusammengesetzten kognitiven Wert < 85 in den BSID-III. Eine Subgruppenanalyse wurde für ELGANs durchgeführt. Als sekundäre *Outcomes* wurden die Anzahl der Patient:innen mit einem PDI < 70 (BSID-II) und das Auftreten einer Zerebralparese (CP) oder einer schweren Seh- oder Hörbehinderung analysiert. Nach der Literaturrecherche fügten wir den sekundären Endpunkt „jegliche Beeinträchtigung der neurologischen Entwicklung im korrigierten Alter von 18 bis 24 Monaten“ als kombinierten Endpunkt hinzu.⁴⁰

Nach Veröffentlichung eines großen multizentrischen RCTs von Juul et al.⁴⁶ aus dem Jahr 2020 mit n = 741 eingeschlossenen ELGANs und einer weiteren Studie von Pelttoniemi et al.⁴⁷ wurde die Analyse wiederholt, um die Verlässlichkeit der Ergebnisse zu prüfen und die Subgruppe der ELGANs speziell zu betrachten. Hierfür wurde das primäre

Outcome MDI < 70 in den BSID-II oder kognitiven Wert < 85 in den BSID-III auf ein korrigiertes Alter von 18 bis 26 Monaten ausgeweitet.⁴⁸

2.1.2 Suchstrategie und Bewertung der methodischen Qualität

Für die Literatursuchen wurde eine sensible Suchstrategie nach Vorgabe des „*Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*“ angewandt.⁴⁹ Die Datenbanken Medline, Embase und das Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL) wurden von zwei Autor:innen unabhängig voneinander durchsucht. Zusätzlich wurden Querverweise, Experteninformationen und laufende Studien über das Suchportal der *International Clinical Trials Registry Platform* (ICTRP) berücksichtigt. Die erste Literatursuche wurde am 31. Mai 2016 durchgeführt und am 18. Dezember 2016 aktualisiert, die Suche für das Update der Metaanalyse erfolgte am 11. Oktober 2020. Die detaillierte Suchstrategie ist jeweils im Supplement der Originalpublikationen aufgeführt (*Supplementary Information*⁴⁵ und *Supplementary Information Part A*⁴⁸).

Wir folgten der PRISMA-Erklärung („*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*“).⁵⁰

Die methodische Qualität der Studien wurde gemäß der Cochrane-Richtlinien bewertet und von zwei Studienautor:innen unabhängig voneinander geprüft und hinsichtlich geringem, hohem oder unklarem Risiko eingestuft.⁴⁹

2.1.3 Datenerhebung und -analyse

Die Auswahl von Studien und die Datenextraktion wurden unabhängig von zwei Autor:innen durchgeführt. Korrespondenzautor:innen der eingeschlossenen RCTs wurden bis zu dreimal per E-Mail kontaktiert, um stratifizierte Daten zu Frühgeborenen mit einem GA < 28+0 SSW oder zusätzliche Informationen zu erhalten. RevMan Version 5.3 (Cochrane Collaboration, Nordic Cochrane Centre, Kopenhagen) wurde für die Datenanalyse verwendet. Die Auswirkungen von rhEPO auf primäre und sekundäre Endpunkte wurden mit der Mantel-Haenszel-Methode für dichotome Endpunkte in einem Modell mit zufälligen Effekten berechnet. Die Ergebnisse für alle Studien und für die gepoolten Daten wurden OR und 95% Konfidenzintervall (CI) angegeben. Statistische Signifikanz wurde mit einem p-Wert <.05 definiert. Für gepoolte Ergebnisse mit signifikanten Effekten wurde eine *Number Needed to Treat* (NNT) berechnet. Um eine mögliche Heterogenität zwischen

den eingeschlossenen Studien zu identifizieren, wurden Heterogenitätstests, einschließlich des χ^2 -Tests und I²-Wert zur Quantifizierung des Ausmaßes, durchgeführt. Zur Beurteilung von Publikationsverzerrung (Publikationsbias) dienten Funnel Plots.

3. Ergebnisse

3.1 Publikation 1: *“Aberrant Hematopoiesis and Morbidity in Extremely Preterm Infants with Intrauterine Growth Restriction”*

3.1.1 Studienpopulation

Von 761 ELGAN-Frühgeborenen, die innerhalb des Studienzeitraums behandelt wurden, wurden 55 Frühgeborene mit schwerer IUGR (GG \leq 3. Perzentile) identifiziert, von denen $n = 8$ wegen primärer Palliativversorgung, schwerer kongenitaler Fehlbildungen oder Chromosomenanomalie ausgeschlossen wurden. Weitere sechs Kinder wurden aufgrund fehlender Zeichen einer eingeschränkten Plazentadurchblutung ausgeschlossen (Abbildung 1).

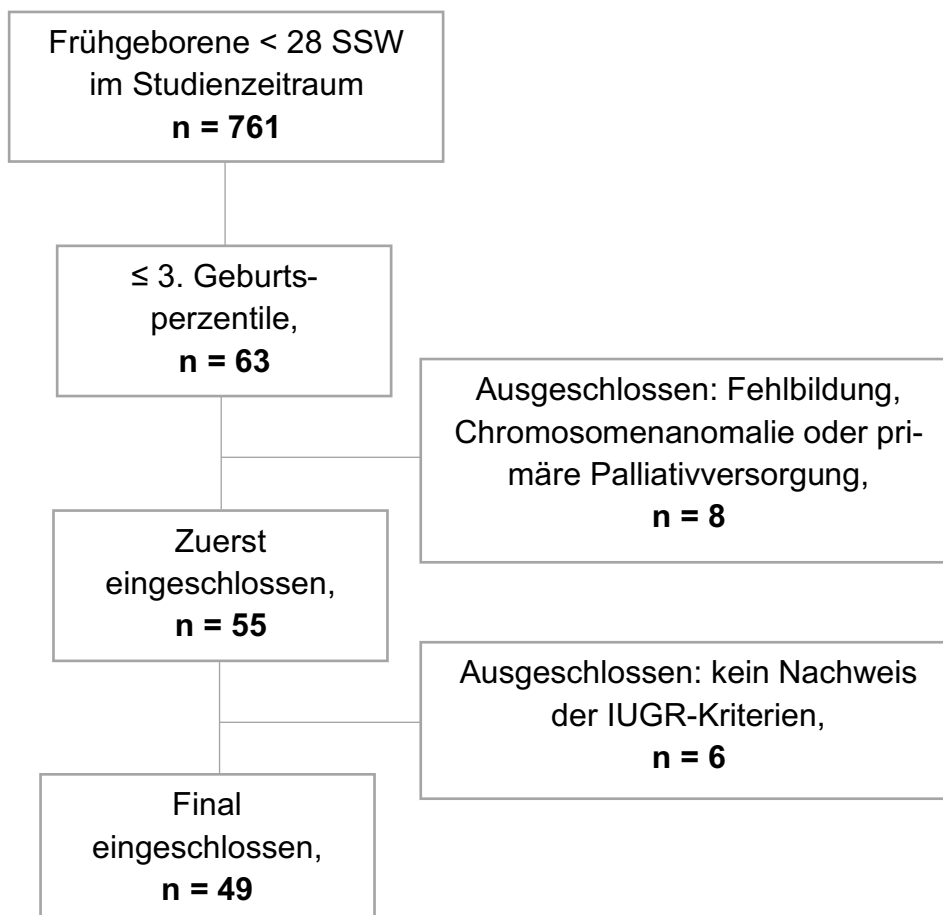


Abbildung 1: Flussdiagramm zur Auswahl der Studienpopulation. SSW = Schwangerschaftswochen, IUGR = intrauterine Wachstumsrestriktion, n = Anzahl der Patient:innen (%). (Abbildung übernommen aus Reibel NJ et al., 2021., s. Seite 44, Figure 1³⁹ und durch die Autorin übersetzt.)

Die in die Studie eingeschlossenen 49 IUGR-ELGANs wurden nach GA, Geschlecht und Geburtsjahr im Verhältnis von 1:2 gematcht und mit 98 Kontrollpatient:innen verglichen.

Die demographischen Daten beider Gruppen sind in *Table 1* des Originalmanuskriptes aufgeführt (s. Seite 44).³⁶

3.1.2 Veränderte Hämatopoiese

Bei Geburt wiesen Kinder aus der IUGR-Gruppe eine höhere Anzahl an NRBC auf, 30 von 47 Kindern dieser Gruppe hatten eine absolute Anzahl von NRBC $\geq 8/\text{nl}$ im Vergleich zu 19 von 94 in der Kontrollgruppe ($p < 0.001$). Hb- und Hkt-Werte beider Gruppen unterschieden sich bei Geburt nicht. Im Laufe der ersten Woche fielen die Hkt- und Hb-Werte sukzessive ab, einen signifikanten Unterschied beider Parameter zwischen IUGR- und Kontroll-Gruppe gab es nur an Tag 3 (13,9 g/dl vs 15,3 g/dl; $p = 0,02$), allerdings bei signifikant höheren Transfusionsanzahlen und –volumina an jedem Beobachtungstag während der ersten Lebenswoche.

Die Thrombozytenzahlen waren bei Kindern mit schwerer IUGR signifikant niedriger, die Inzidenz schwerer Thrombozytopenie (Thrombozyten $< 50/\text{nl}$) unterschied sich bei Geburt nicht zwischen beiden Gruppen (Tabelle 1, Seite 13). Am 3. Lebenstag fielen die Thrombozytenwerte bei IUGR deutlich ab, bei 8 von 49 Kindern bestand - im Vergleich zu keinem Kind der Kontrollgruppe - eine schwere Thrombozytopenie ($p < 0,001$; s. Seite 45; *Table 3* des Originalmanuskriptes).³⁶

Die Gesamtleukozyten (4,6 (1,7 -14,4 vs 9,4 (3,2 – 63,8); $p < 0,001$), der ANC (522 (46 – 3395) vs 2817 (103 – 40716); $p < 0,001$) und die Anzahl der unreifen Granulozyten (0 (0 – 521) vs 258 (0 – 15948); $p < 0,001$) waren am ersten Lebenstag bei IUGR-ELGANs signifikant niedriger (Tabelle 1, Seite 13), gleiches galt für den dritten Lebenstag (s. Seite. 45; *Table 3* der Originalpublikation).³⁶

Die Rate schwerer Neutropenien war am ersten (44,9% vs 7,5%; $p < 0,001$) und dritten (26,5% vs 0%; $p < 0,001$) Lebenstag signifikant höher.

Die Fibrinogenkonzentration im Plasma bei Geburt war bei IUGR-Kindern signifikant niedriger mit einem durchschnittlichen Wert < 100 mg/dl (98 (60–704) mg/dl vs. 143 (60–546) mg/dl; $p < 0,001$), ansonsten zeigten sich keine Unterschiede bei den Gerinnungsparametern (Tabelle 1, Seite 13).

Tabelle 1: Blutbild- und Gerinnungswerte bei Aufnahme (*modifiziert nach Reibel NJ et al., 2021³⁹, s. Seite 45 und übersetzt durch Autorin*).

	Schwere IUGR (n=49)	Kontrollen (n=98)	p-Wert
Erythrozyten			
Hämoglobin (g/dl)	14.6 (7,7 – 18)	15.1 (3,9 – 22,8)	0,46
NRBC (/nl)	11,2 (0,3 – 75,5)	2,4 (0,15 – 38,0)	< 0,001
≥ 8 NRBC (/nl)	30/47 (63,8)	19/94 (20,2)	< 0,001
Thrombozyten			
Thrombozyten (/nl)	115 (32 – 232)	220 (58 – 479)	< 0,001
< 150/nl	36/49 (73,5)	13/98 (13,3)	< 0,001
< 100/nl	17 (34,7)	4 (4,1)	< 0,001
< 50/nl	2 (4,1)	0 (0)	0,11
Leukozyten			
Leukozyten (/nl)	4,6 (1,7 – 14,4)	9,4 (3,2 – 63,8)	< 0,001
ANC (/ μ l)	522 (46 – 3.395)	2817 (103 – 40.716)	< 0,001
< 1000/ μ l	38/47 (80,9)	19/93 (20,4)	< 0,001
< 500/ μ l	22/47 (44,9)	7/93 (7,5)	< 0,001
Unreife Granulozyten (/ μ l)	0 (0 – 521)	258 (0 – 15.948)	< 0,001
Gerinnung			
INR	1,58 (1,09 – 6,51)	1,59 (1,07 – 5,27)	0,60
aPTT (s)	60 (42 – 130)	65 (19 – 240)	0,13
aPTT > 158s	0/45 (0)	2/81 (2,5)	0,54
Fibrinogen (mg/dl)	98 (60 – 704)	143 (60 – 546)	< 0,001
Fibrinogen < 70 mg/dl	6/44 (13,6)	4/83 (4,8)	0,09

Kategorische Daten als Anzahl, n, mit Prozentangaben in Klammern (%), kontinuierliche Daten als Median mit Range in Klammern (Range). IUGR = intrauterine Wachstumsrestriktion, g = Gramm, dl = Deziliter, NRBC = Erythroblasten, nl = Nanoliter, ANC = absolute Neutrophilenzahl, μ l = Mikroliter, INR = *International Normalized Ratio*, aPTT = aktivierte Thromboplastinzeit, mg = Milligramm.

3.1.3 Transfusionen

IUGR-ELGANs wurde innerhalb der ersten Lebenswoche eine höhere Anzahl und ein größeres Gesamtvolumen (pro Kilogramm (kg) Körpergewicht (KG)) von EK, TK und FFP transfundiert (s. Seite 46; *Table 4* des Originalmanuskriptes). Abbildung 2 (Seite 15) veranschaulicht den Zeitpunkt der Transfusion der jeweiligen Blutkomponenten in den ersten 7 Tagen. Hier fällt neben hohen Transfusionsraten an den ersten beiden Lebenstagen eine zweite Häufung von EK-Transfusionen an Tag 4 auf (Abbildung 2A, Seite 15). Insgesamt erhielten 83,7% (41 von 49) IUGR-ELGANs im Vergleich zu 52,0% (51 von 98) Kontrollen mindestens eine EK-Transfusion (OR = 4,53; p < 0,001).

Die Transfusionshäufigkeit von TK (Abbildung 2B, Seite 15) blieb bis zum Ende der ersten Woche eher konstant mit der geringsten Häufigkeit am dritten Lebenstag. Mindestens ein TK wurde bei 63,3% der IUGR-ELGANs im Vergleich zu 6,1% ($p < 0,001$) in der Kontrollgruppe transfundiert (OR = 26,41). Betrachtet man die Transfusionen von FFP (Abbildung 2C, Seite 15), so ist eine Häufung am ersten Lebenstag zu verzeichnen. 73,5% der IUGR-Frühgeborenen vs. 56,1% der Kontrollen (OR = 1,66; $p < 0,01$) erhielten mindestens einmal FFP. Wiederholte Transfusionen aller Blutprodukte waren häufiger bei IUGR-ELGANs.

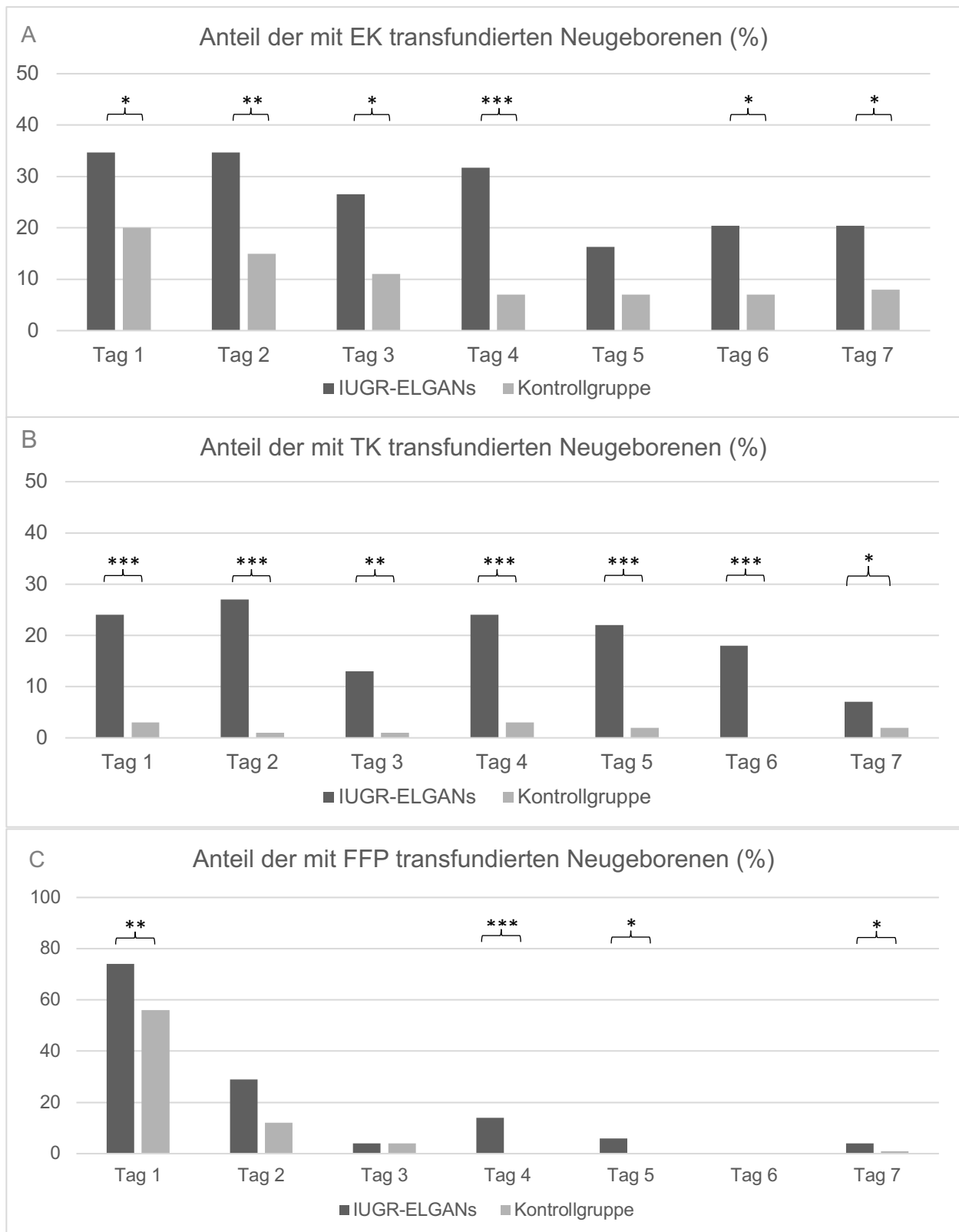


Abbildung 2: Transfusionshäufigkeit innerhalb der ersten Lebenswoche (aus Reibel NJ et al., 2021, s. Seite 46 des Originalmanuskriptes³⁹, übersetzt durch die Autorin).

Transfusionshäufigkeit (%) für Neugeborene der Studien- und Kontrollgruppe von A) EK = Erythrozytenkonzentrat, B) TK = Thrombozytenkonzentrat und C) FFP = *Fresh Frozen Plasma*. * p-Wert < 0,05; ** p-Wert < 0,01; *** p-Wert < 0,001. IUGR = intrauterine Wachstumsrestriktion, ELGANs = extremely low gestational age neonates.

Eine Etablierung von Transfusionsgrenzen für EK erfolgte in unserer Klinik mit Teilnahme an der „ETTNO Studie“ ab dem Jahr 2014.²⁴ Parallel hierzu wird ein deutlicher Rückgang der EK Transfusionen (Abbildung 3) bemerkbar.

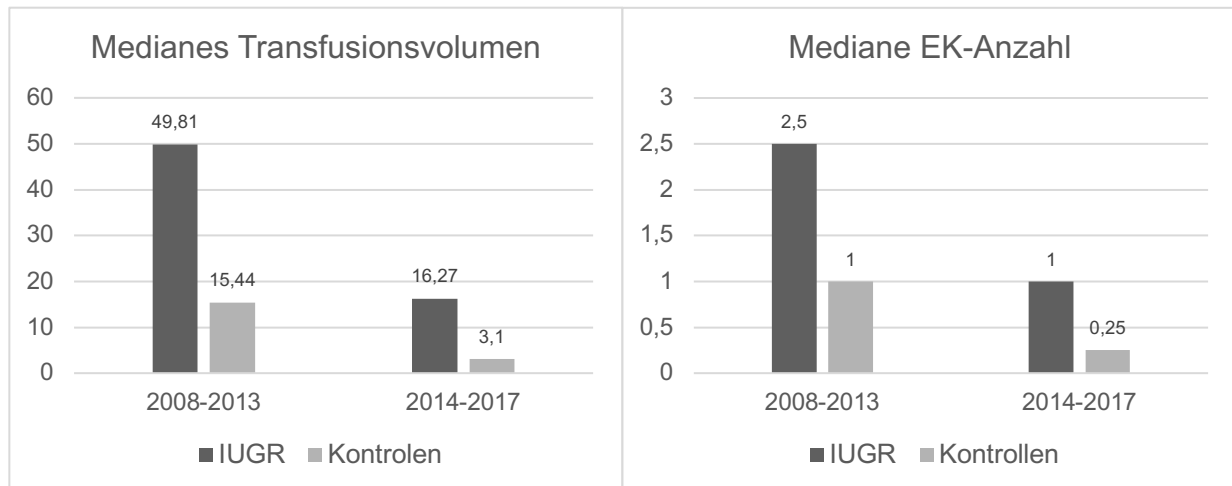


Abbildung 3: Medianes Transfusionsvolumen (ml/kgKG) und mediane EK-Anzahl vor (2008-2013) und nach (2014-2017) Einführung von Transfusionsgrenzwerten (*eigene Darstellung*).

EK = Erythrozytenkonzentrat, IUGR = intrauterine Wachstumsrestriktion, ml = Milliliter, kg = Kilogramm, KG = Körpergewicht.

3.1.4 Neonatale Morbidität

Blutungen

Als Maß für die Relevanz von Thrombozytopenie und Gerinnungsstörungen wurden die Inzidenzen von IVH (alle Stadien), schwerer IVH (> II°), PH und kombinierter schwerer Blutung (PH oder IVH > II°) ausgewertet. Diese unterschieden sich nicht zwischen IUGR-ELGANs und Kontrollen. In jeder Gruppe hatte jeweils ein Säugling sowohl eine schwere IVH als auch eine PH (Tabelle 2, Seite 19).

Pulmonale Morbidität

IUGR-ELGANs waren signifikant länger invasiv beatmet (30,4% vs. 6,8 % aller Tage des stationären Aufenthaltes; $p < 0,01$) und benötigten länger eine Sauerstoff-Supplementation. Die Inzidenz der mittel- bis schweren BPD im korrigierten Alter von 36 Wochen und des kombinierten *Outcomes* BPD oder Tod waren bei IUGR-ELGANs signifikant höher als bei den Kontrollen. In einer binären logistischen Regression (einschließlich GA, IUGR, Dauer der invasiven Beatmung und Volumen (ml/kgKG) der Transfusion von EK, TK oder

FFP) blieben das GA (OR 0,32; 95% CI 0,18 – 0,59; $p < 0,001$) und IUGR (OR 14,09; 95% CI, 1,55 – 128,1; $p = 0,02$) unabhängige Faktoren für das *Outcome* BPD oder Tod.

Schwere abdominelle Komplikationen

Die Häufigkeiten von NEC und FIP unterschieden sich statistisch nicht zwischen den beiden Gruppen. Insgesamt waren vier Kinder der IUGR-Gruppe von einer FIP und drei von einer NEC betroffen, im Vergleich zu zwei und vier Neugeborenen in der Kontrollgruppe ($p = 0,10$ und $p = 0,69$).

ROP

ROP (alle Stadien) trat bei IUGR-ELGANS häufiger auf als bei den Kontrollen (85,3 % vs 46,2%; $p < 0,01$), aber weder die Rate der ROP-Stadien ≥ 2 noch die Notwendigkeit einer Intervention waren signifikant höher.

3.1.5 Mortalität

Die Sterblichkeitsrate vor der Entlassung war bei IUGR-ELGANS mit einer OR von 7,55 (95% CI, 2,88-19,78) signifikant erhöht.

In der frühen Neonatalperiode (bis Tag 7) waren Infektionen und die persistierende pulmonale Hypertonie des Neugeborenen (PPHN) die Hauptursachen (Tabelle 6 und ergänzende Tabelle 1 der Originalpublikation⁴⁵) für das Versterben von IUGR-ELGANS, während schwere BPD mit pulmonal-arterieller Hypertonie der Hauptgrund für eine spätere Sterblichkeit (> Tag 7) war. In der Kontrollgruppe war die Sterblichkeit mit Infektionen und abdominellen Komplikationen assoziiert. In beiden Gruppen wurden die verstorbenen Patient:innen länger invasiv beatmet und benötigten häufiger und länger Sauerstoffzufuhr, eine antibiotische Behandlung (im Verhältnis zu den Tagen des Überlebens oder bis zur Entlassung) und mehr Transfusionen von EK und TK (ergänzende Tabelle 1 der Originalpublikation⁴⁵).

Die Morbiditäten (Blutungen, ROP, abdominelle Komplikationen, pulmonale Morbidität) und Mortalität sind in Tabelle 2 (s. Seite 19) aufgeführt.

Tabelle 2: Morbidität und Mortalität (modifiziert nach Reibel NJ et al., 2021, s. Seite 47 des Originalmanuscriptes³⁹).

	Schwere IUGR (n=49)	Kontrollen (n=98)	p-Wert
Blutungsereignisse			
IVH, alle Schweregrade	7 (14,3)	14 (14,3)	1,0
IVH, > II°	5 (10,2)	5 (5,1)	,30
PH	2 (4,1)	2 (2,0)	,60
ROP			
Alle Stadien	29/34 (85,3)	43/93 (46,2)	< ,001
≥ II°	9/34 (26,5)	15/93 (16,1)	,21
Intervention	7/34 (20,6)	8/93 (8,6)	,12
Abdominelle Komplikationen			
FIP	4 (8,2)	2 (2,0)	,10
NEC	3 (6,1)	4 (4,1)	,69
Pulmonale Morbidität			
BPD	34 / 49 (69,4)	61 / 98 (62,2)	0,47
BPD oder Tod	48 / 49 (98,0)	64 / 98 (65,3)	<,001
O ₂ Bedarf im korrigierten Alter von 36 Wochen	21/34 (61,8)	22/91 (24,2)	<,001
Tod	18 (36,7)	7 (7,1)	<,001

Variablen als Anzahl, n, Prozentsatz in Klammern (%) angegeben. IVH = intraventrikuläre Hämorrhagie, PH = pulmonale Hämorrhagie, ROP = Frühgeborenenretinopathie, FIP = fokale intestinale Perforation, NEC = nekrotisierende Enterokolitis, BPD = bronchopulmonale Dysplasie, O₂ = Sauerstoff.

3.2 Publikationen 2 und 3: “Prophylactic Early Erythropoetin for Neuroprotection in Preterm Infants: A Meta-analysis” und “Prophylactic Erythropoetin for Neuroprotection in Very Preterm Infants: A Meta-analysis Update”

3.2.1 Eingeschlossene Studien

Die Literaturrecherche ergab 576 Treffer, wovon nach Screening 114 Publikationen als geeignet für Volltextanalyse identifiziert wurden. Davon wurden 4 RCTs mit insgesamt n=1133 Patient:innen in die Meta-Analyse eingeschlossen.⁵¹⁻⁵⁴ Der Auswahlprozess ist in Abbildung 1 der Originalpublikation (s. Seite 57) dargestellt.⁴⁰

Alle Studien schlossen Frühgeborene mit einem GA \leq 32 0/7 Wochen SSW ein und unterschieden sich hinsichtlich Zeitpunkts, Dosierung und Dauer der rhEPO-Behandlung. In einem RCT wurde eine frühe hohe rhEPO Dosis (erste Anwendung innerhalb von 3 Stunden nach der Geburt, kumulative Dosis von 9.000 IU/kg innerhalb der ersten 42 Stunden) appliziert,⁵³ die anderen drei RCTs begannen später (innerhalb der ersten 48-96 Stunden) mit der rhEPO-Behandlung, verabreichten niedrigere Dosen (1.200-1.750 IU/kg pro Woche) und setzten die Behandlung über mehreren Wochen fort.^{51,52,54}

Im Update aus dem Jahr 2020 wurden – nach Volltextanalyse von 11 Studien - zwei weitere RCTs in die Analyse einbezogen. Die Gesamtzahl der eingeschlossenen Frühgeborenen erhöhte sich damit auf n=1796.⁴⁸ Beide begannen mit der Applikation von rhEPO am ersten Lebenstag. In der Studie von Juul („*Preterm Erythropoietin Neuroprotection Trial*“, PENUT) et al.⁴⁶ folgte auf eine initiale Hochdosistherapie von 1.000 IU/kg für insgesamt 6 Gaben eine Erhaltungstherapie (400 IU/kg s.c. 3 x / Woche) bis zum korrigierten Alter von 32 6/7 SSW. In der Studie von Peltoniemi et al.⁴⁷ wurde eine *low-dose* (1.500 IU/kg kumulative Dosis) Therapie für insgesamt 6 Tage durchgeführt. Die Anzahl der Kinder mit GA < 28 SSW erhöhte sich im Update der Metaanalyse auf n = 742.

Die wichtigsten Merkmale der eingeschlossenen Studien aus dem Update der Metaanalyse sind in Tabelle 3 (s. Seite 20) zusammengefasst:

Tabelle 3: Charakteristika der eingeschlossenen RCTs (aus Fischer et al., 2021⁴⁸, s. Seite 65 des Originalmanuskriptes und übersetzt durch die Autorin). Mit freundlicher Genehmigung der *American Academy of Pediatrics*.

Studie	n	Einschlusskriterien	Start	Intervention
Juul et al., 2020 ⁴⁶	628	24 ^{0/7} - 27 ^{6/7} SSW	≤ 24 h	rhEPO 1.000 IU/kg i.v. alle 48 h für 6 Dosen, dann 400 IU/kg s.c. 3 x / Woche bis 32 ^{6/7} SSW
Natalucci et al., 2016 ⁵³	365	26 ^{0/7} - 31 ^{6/7} SSW	< 3 h	rhEPO 3.000 IU/kg i.v. im Alter von < 3, 12–18, und 36–42 h
Ohls et al., 2004 ⁵¹	102	≤ 32 ^{0/7} SSW, ≤ 1.000 g	24 – 96 h	rhEPO 400 IU/kg i.v. / s.c., 3 x / Woche bis 35 ^{0/7} SSW
Ohls et al., 2014 ⁵²	53	500 - 1.250 g	≤ 48 h	rhEPO 400 IU/kg i.v./ s.c., 3 x / Woche bis 35 ^{0/7} SSW
Peltoniemi et al., 2017 ⁴⁷	35	24 ^{0/7} - 30 ^{0/7} SSW, 700 – 1.500 g	≤ 24 h	rhEPO 250 IU/kg i.v. täglich bis Tag 6
Song et al., 2016 ⁵⁴	613	≤ 32 ^{0/7} SSW	< 72 h	rhEPO 500 IU/kg i.v. jeden 2. Tag für 2 Wochen

RCT = randomisiert kontrollierte Studie, n = Anzahl, SSW = Schwangerschaftswochen, h = Stunde, rhEPO = rekombinantes humanes Erythropoietin, IU = International units, i.v. = intravenös, kg = Kilogramm, s.c. = subkutan, g = Gramm.

3.2.2 Bewertung des Verzerrungsrisikos („*Risk of Bias*“)

In allen Studien wurde eine Zufallssequenz erzeugt („*random sequence generation; selection bias*“), um die Studienzuteilung randomisieren. Lediglich eine Studie wurde in dieser Kategorie mit einem „unklaren Risiko“ beurteilt, weil eine „*simple randomization*“ erfolgte.⁶¹ Die Verschleierung der Zuteilung („*allocation concealment; selection bias*“) war in allen Studien angemessen (geringes Risiko).

In fünf der eingeschlossenen RCTs erfolgte eine Verblindung von Eltern und Personal („*performance bias*“),^{46,47,51-53} lediglich in der Studie von Song et al.⁵⁴ wurde keine Verblindung durchgeführt und diese deshalb mit einem „hohen Risiko“ in dieser Kategorie beurteilt (s. Abbildung 4, Seite 21). Das medizinische Personal das für die Beurteilung der Endpunkte („*detection bias*“) zuständig war, war in allen Studien hinsichtlich der Gruppenzuweisung der Patienten verblindet (geringes Risiko). Der Anteil der Studienpatient:innen, die die Nachbeobachtung abschlossen („*attrition bias*“), schwankte je nach Studie und Gruppe zwischen 71 % und 91 %; in einer Studie wurden zwar 95% (rhEPO-Gruppe) bzw. 100% (Kontrollgruppe) der Überlebenden nach zwei Jahren untersucht, ein

komplettes neurologisches Assessment wurde allerdings nur bei 53% durchgeführt (unklares Risiko).⁴⁷ Der maximale Unterschied in der prozentualen Anzahl der nachbeobachteten Patient:innen zwischen Interventions- und Kontrollgruppe betrug 91 % gegenüber 80 % in einer Studie (unklares Risiko).⁵²

Drei RCTs^{46,52,53} wurden erst vor oder kurz nach Beginn der Rekrutierung bei www.ClinicalTrials.gov registriert („*reporting bias*“), zwei RCTs^{47,51} wurden nicht registriert (unklares Risiko), und eine Studie⁵⁴ wurde erst 6 Monate nach Einschluss der Studienteilnehmer:innen registriert, wobei sich die bei der Registrierung genannten Einschlusskriterien und zu untersuchenden Ergebnisse von denen der Publikation unterschieden (hohes Risiko). Zwei RCTs wurden von Pharmaunternehmen mitfinanziert (geringes Risiko).^{51,53}

Die ausführliche Beurteilung des Verzerrungsrisikos sind in der ursprünglichen Metaanalyse (*Supplemental Tables, Supplemental Figure 4* der Originalpublikation), sowie im Update der Metaanalyse (*Supplementary Table 1* der Originalpublikation) zu finden.^{40,48}

	Generierung einer Zuteilungssequenz (<i>selection bias</i>)	Verbergen der Zuteilungssequenz (<i>selection bias</i>)	Verblindung von Teilnehmern und Personal (<i>performance bias</i>)	Verblindung der Ergebnismessung (<i>detection bias</i>)	Fehlende Ergebnisdaten (<i>attrition bias</i>)	Selektion des berichteten Ergebnisses (<i>reporting bias</i>)	Anderes Verzerrungsrisiko (<i>other risk of bias</i>)
Juul et al., 2020⁵¹	+	+	+	+	?	+	+
Natalucci et al., 2016⁵⁵	+	+	+	+	?	+	+
Ohls et al., 2004⁵⁶	+	+	+	+	?	?	+
Ohls et al., 2014⁵⁷	+	+	+	+	?	+	+
Peltoniemi et al., 2017⁶¹	?	+	+	+	?	?	+
Song et al., 2016⁵⁸	+	+	-	+	?	-	+

Abbildung 4: Verzerrungsrisiko („*risk of bias*“) der eingeschlossenen Studien (*eigene Darstellung*). Darstellung in Farb- und Zeichenkodierung zur besseren Veranschaulichung des Verzerrungsrisikos in den einzelnen Studien, grün hinterlegt / + = geringes Risiko, gelb hinterlegt / ? = unklares Risiko, rot hinterlegt / - = hohes Risiko.

3.2.3 Statistische Auswertung

In der initialen Metaanalyse aus dem Jahr 2017 konnte nach prophylaktischem rhEPO eine signifikante Reduktion der Inzidenz eines MDI < 70 im korrigierten Alter von 18 bis 24 Monaten gezeigt werden (OR (95% CI) von 0,51 (0,31-0,81); $p = .005$).⁵⁹ Die statistischen Maße wiesen nicht auf ein Heterogenitätsproblem hin ($\chi^2 = 4,01$, $P = .26$, $I^2 = 25\%$). Das absolute Risiko eines MDI < 70 wurde von 15,7 % auf 8,4 % gesenkt, entsprechend einer NNT von 14. Im Update der Metaanalyse zeigte sich bei Einschluss der fünf Studien, die einen MDI < 70 (BSID II) oder einen zusammengesetzten kognitiven Score < 85 (BSID-III) im korrigierten Alter von 18-26 Monaten angaben, eine Risikoreduktion von 14 - 20 % im Zusammenhang mit prophylaktischem rhEPO (OR 0,61; $p = 0,03$), entsprechend einer NNT von 17.

Nach Ausschluss der Studie von Song et al.⁵⁴, die mit einem hohen Risiko in den Punkten „*performance bias*“ und „*reporting bias*“ eingestuft wurde, verschwand der statistisch signifikante Effekt von rhEPO für das primäre Ergebnis MDI < 70 oder einen zusammengesetzten kognitiven Score < 85, ebenso wie alle Indikatoren für Heterogenität ($\tau^2 = 0$, $\chi^2 < df$, $I^2 = 0\%$; s. Abbildung 5B, Seite 23).

Es zeigte sich in beiden Metaanalysen kein signifikanter Effekt bei den sekundären *Outcomes* (Anzahl der Säuglinge mit einem PDI < 70 (BSID-II), CP, schwerer Seh- oder Hörbehinderung und jeglicher Beeinträchtigung der neurologischen Entwicklung).

In der Subgruppenanalyse der Kinder unter 28 SSW zeigte sich weder in der ursprünglichen Metaanalyse noch im Update (mit deutlich höherer Fallzahl durch den Einschluss der Studie von Juul et al.⁴⁶) ein positiver Effekt auf das primäre Endergebnis (MDI 70 bzw. zusammengesetzten kognitiven Score < 85).

Ein Benefit hinsichtlich der Anzahl der Kinder mit MDI < 70 bzw. mit einem zusammengesetzten kognitiven Score < 85 war nur bei denjenigen Patient:innen, die rhEPO in niedriger bis mittlerer Dosierung (< 1.000 IE/kg) erhielten, zu finden (*Data Sheet 5, Table A des Originalmanuskriptes*⁴⁸); gleiches galt für den Endpunkt jegliche Beeinträchtigung der neurologischen Entwicklung.

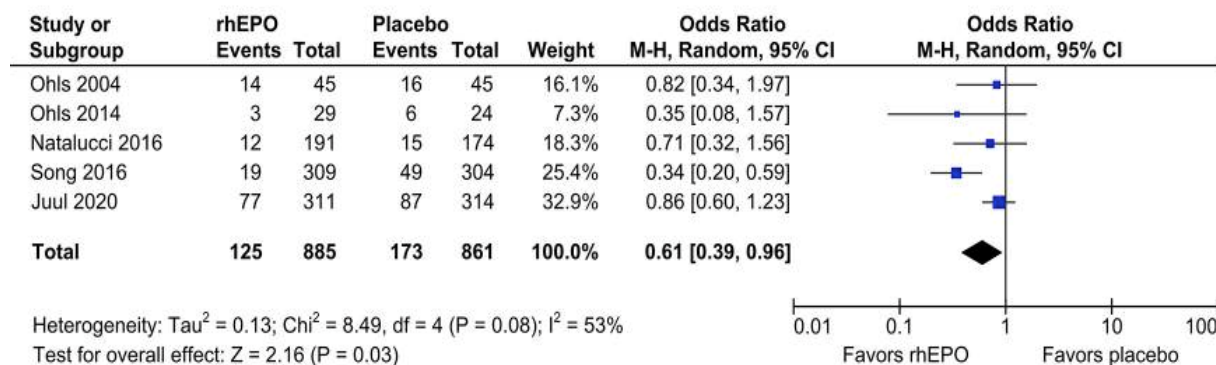
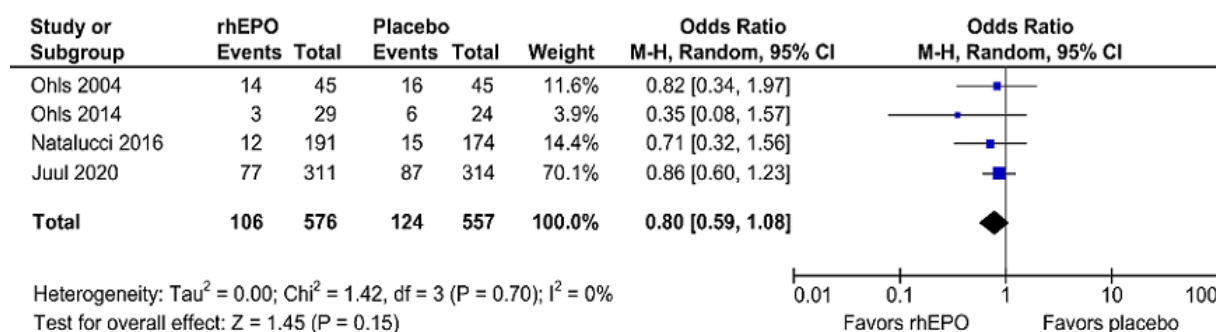
A MDI <70 (BSID II) or composite cognitive score <85 (BSID III)**B MDI <70 (BSID II) or composite cognitive score <85 (BSID III)**

Abbildung 5: Effekt von rhEPO auf den primären Endpunkt MDI < 70 oder zusammengesetzter kognitiver Score < 85 im korrigierten Alter von 18 – 26 Monaten (Abbildung aus Fischer HS et al., 2021⁴⁸, mit freundlicher Genehmigung der American Academy of Pediatrics).

Darstellung in *Forrest plots*, A) vor und B) nach Ausschluss der Studie von Song et al., 2016⁵⁴ (A = Abbildung 1A, Seite 57 des Originalmanuskriptes, B = Abbildung 2A des Supplements⁴⁸). Die einzelnen Studien werden jeweils durch eine Zeile veranschaulicht, die unterste Zeile fasst alle Studien zusammen. Hierbei gibt das Kästchen die Odds Ratio, also die Effektstärke der Behandlung mit Erythropoietin auf das primäre Endergebnis, und die horizontale Linie das jeweilige Konfidenzintervall der *Odds Ratio* an. Die Größe des Kästchens verbildlicht die statistische Aussagekraft („*Weight*“) durch Größe der Studienpopulation. Die vertikale Linie stellt die sog. „Kein-Effekt-Linie“, also einen ausbleibenden Effekt durch die Gabe von Erythropoietin dar. Liegen die Kästchen links der vertikalen Linie, so bedeutet dies, dass das primäre Endergebnis, also ein Mental Developmental Index < 70 bzw ein zusammengesetzter kognitiver Score <85 Interventionsgruppe weniger häufig auftrat als in der Kontrollgruppe (Verhältnis < 1). Dieses Ergebnis ist statistisch signifikant, wenn das Konfidenzintervall nicht die vertikale Linie schneidet.

MDI = Mental Developmental Index, BSID = Bayley Scales of Infants Development, rhEPO = rekombinantes humanes Erythropoietin, M-H = Mantel-Haenszel, CI = Konfidenzintervall.

4. Diskussion

4.1 Kurze Zusammenfassung der Ergebnisse

4.1.1 Publikation 1: *“Aberrant Hematopoiesis and Morbidity in Extremely Preterm Infants with Intrauterine Growth Restriction”*

Die Fallpopulation mit IUGR weist bei Geburt erhöhte Erythroblasten-Werte auf, während die Hb- und Hkt-Werte initial nicht niedriger als die der Kontrollen sind, aber innerhalb der ersten Lebenswoche rasch abfallen. Zeitgleich findet sich von Geburt an eine Thrombo- als auch Leukozytopenie, sowie ein signifikant niedrigerer Fibrinogenwert. IUGR-ELGANs erhielten infolge signifikant häufiger Transfusionen von EK, TK und FFP. Die Mortalität als auch pulmonale Morbidität waren bei IUGR-ELGANs erhöht im Vergleich zu altersentsprechenden Kontrollen, nicht jedoch abdominelle Komplikationen. Die Transfusion aller drei Komponenten stellte keinen unabhängigen Risikofaktor in der linearen Regressionsanalyse für das kombinierte *Outcome* schwere pulmonale Morbidität oder Tod dar.

4.1.2 Publikationen 2 und 3: *“Prophylactic Early Erythropoetin for Neuroprotection in Preterm Infants: A Meta-analysis”* und *“Prophylactic Erythropoetin for Neuroprotection in Very Preterm Infants: A Meta-analysis Update”*

Die Metaanalysen mit initial vier und im Update sechs eingeschlossenen RCTs zeigten eine Reduktion eines MDI < 70 bzw. eines kognitiven Scores < 85 nach rhEPO-Gabe. Dieser Effekt ist nach Ausschluss einer Studie mit hoher *Bias* nicht signifikant. In der Subgruppenanalyse der ELGANs konnte kein Benefit von rhEPO für die psychomotorische Entwicklung im Alter von 18-26 Monaten festgestellt werden.

4.2 Interpretation und Einbettung der Ergebnisse in den bisherigen Forschungsstand

Die hohen Erythroblastenzahlen bei Geburt innerhalb der IUGR-ELGAN Population spiegeln die chronische intrauterine Hypoxie und die infolgedessen massiv stimulierte Erythropoese wider. Hb- und Hkt-Werte der IUGR-ELGANs bei Geburt sind dennoch nicht höher im Vergleich zu den der Kontrollen. Vermutet wird, dass sowohl eine Funktionsstö-

zung des Knochenmarks durch Ischämie als auch eine verkürzte Lebensdauer der Erythrozyten aufgrund mikroangiopathischer Schädigungen innerhalb der abnormen placentaren Gefäße bei Plazentainsuffizienz ursächlich sein könnten.⁵⁵ Postnatal fallen Hb- und Hkt-Werte rasch ab, sodass am 3. Tag signifikant niedrigere Werte bestehen. IUGR-ELGANs erhielten innerhalb der ersten Lebenswoche signifikant häufiger EK-Transfusionen.

Zum Start-Zeitpunkt der Fall-Kontroll-Studie im Jahr 2008 gab es sowohl europaweit als auch klinikintern keine einheitlichen Transfusionsempfehlungen. Es existierten lediglich drei RCTs, die eine liberale, also eine Transfusion bei höheren Hb- bzw. Hkt-Grenzwerten und damit früherem Transfusionszeitpunkt, mit einer restriktiveren Transfusionsstrategie verglichen.^{16,22,23} Innerhalb der ersten Lebenswoche wurde je nach Studienprotokoll für intubierte Frühgeborene ein liberaler Grenzwert für den Hb-Wert im Range von 13,0 g/dl bis 15,6 g/dl und ein restriktiver Wert von 11,5 g/dl bis 11,9 g/dl und für nicht-intubierte Kinder mit Atemunterstützung ein liberaler Grenzwert von 12,9 g/dl bis 13,5 g/dl und ein restriktiver zwischen 9,6 g/dl bis 11,5 g/dl festgelegt. Gemessen an diesen Grenzwerten wurden in unserer Studie 29,4% aller IUGR- und 30,1% aller Kontrollkinder nach einer restriktiven Strategie transfundiert. Die hohe Anzahl nicht- transfundierter Patient:innen in der Kontrollgruppe lässt vermuten, dass die behandelnden Ärzt:innen für die kleineren, häufig kritisch kranken IUGR-Kinder höhere Ziel-Hb-Werte anstrebten, beispielsweise um die Kreislaufstabilität und Sauerstofftransportkapazität zu erhöhen.

Nach Publikation der Metaanalyse von Whyte und Kirpalani⁵⁶ gab es ab dem Jahr 2014 auch klinikintern mit Teilnahme an der „ETTNO Studie“ liberale oder restriktive Transfusionsgrenzen, die sich an Hkt-Werten orientierten.²⁵ In Folge ist ein signifikanter Rückgang der EK-Transfusionen pro Jahr in beiden Gruppen zu beobachten (Abbildung 3).

Die hohe Anzahl an EK-Transfusionen in unserer Studienpopulation wirft die Frage auf, ob die liberale Transfusionsstrategie mit einem erhöhten Risiko für NEC, therapiebedürftige ROP und BPD einher ging. In der Regressionsanalyse zeigte sich für keine der drei Erkrankungen eine erhöhte Assoziation. Insgesamt gab es in unserer Studie allerdings, bei kleiner Fallzahl, eine geringe Häufigkeit von NEC als auch behandlungsbedürftiger ROP. Diese Ergebnisse sind im Einklang mit den Ergebnissen zweier großer RCTs aus dem Jahr 2020, in denen jeweils kein erhöhtes Risiko für NEC, ROP oder BPD bei liberaler Transfusionsgrenze im Vergleich zu einer restriktiveren gefunden werden konnte.^{24,25}

Der raschere Hb-Abfall und die damit größeren Transfusionsvolumina können zum einen durch eine mindestens gleich hohe Anzahl an Blutentnahmen bei einem insgesamt niedrigeren Blutvolumen erklärt werden.¹⁴ Zum anderen spielt ein signifikant niedrigerer Plasma-Erythropoietinspiegel bei Frühgeborenen im Vergleich zu Reifgeborenen eine pathophysiologische Rolle.^{11,57} In diesem Sinne wurde die Gabe von rhEPO zur Behandlung der AOP als neue Therapieoption zu Beginn der 1990er Jahre Gegenstand der klinischen Forschung: Im Jahr 1991 wurden die ersten prospektiven klinischen Studien, die eine rhEPO-Gabe zur Reduktion von EK-Transfusionen bei AOP untersuchten, publiziert.⁵⁸⁻⁶⁰ Erste Ergebnisse zur Effektivität bezüglich der Reduktion der Anzahl an Transfusionen wurden mit der Metaanalyse von Vamvakas et al. 2002 mit 21 prospektiven klinischen Studien veröffentlicht: Hier konnte bei großer Varianz der Ergebnisse eine Reduktion des Transfusionsvolumen nach rhEPO-Gabe beobachtet werden.⁶¹ Es folgten mehrere Cochrane-Metaanalysen, die die Effektivität der frühen (Beginn < 8 Tage nach Geburt) als auch späten (> 7 Tage) Applikation von rhEPO untersuchten.^{28,62,63}

Durch den in-vitro und in-vivo nachgewiesenen, neuroprotektiven Effekt wurde rhEPO zusätzlich im Hinblick auf die neurokognitive Entwicklung von Frühgeborenen eine vielversprechende therapeutische Option.^{29,30}

Eine Unsicherheit hinsichtlich der Behandlung mit rhEPO entstand jedoch, als die Cochrane-Metaanalysen aus dem Jahr 2012 zur frühen Verwendung und aus dem Jahr 2014 (Einschluss aller verfügbaren Studien unabhängig vom Alter bei Initiierung der rhEPO-Gabe), ein erhöhtes Risiko für ROP-Stadium ≥ 3 berichteten. Dies veranlasste die beiden Autoren dazu, die rhEPO-Gabe nicht zu empfehlen.^{64,65} Infolgedessen kam es im Jahr 2015 zu einem Rote-Hand-Brief des „Paul-Ehrlich-Instituts“, als auch zu einem Warnhinweis der „European Medicines Agency (EMA)“ hinsichtlich der Anwendung von rhEPO und in Folge zum Rückgang klinischer Studien mit rhEPO in der Neonatologie.⁶⁶⁻⁶⁸ In Updates der o.g. Metaanalysen konnte bei hohem Evidenzgrad nach GRADE allerdings kein erhöhtes ROP-Risiko mehr festgestellt werden.^{28,62,63}

Unsere beiden Metaanalysen deuten auf einen vorteilhaften Einfluss der frühen prophylaktischen Gabe von rhEPO bei Frühgeborenen ≤ 32 SSW auf den MDI bzw. zusammengesetzten kognitiven Score im Alter von 22-26 Monaten hin. Ein signifikanter Effekt besteht jedoch – nach Ausschluss einer Studie mit hoher *Bias*⁵⁴ – nicht. Ein neurologischer Benefit konnte in der Gesamtgruppe der ELGANs nicht festgestellt werden, was möglicherweise durch eine zu geringe Fallzahl ($n = 742$) in dieser Untergruppe, die überwiegend aus der „PENUT“-Studie⁴⁶ stammt, begründet ist.

Betrachtet man die verschiedenen Studienprotokolle, zeigen sich Unterschiede hinsichtlich der Dosierung je nach Intention (primäre Neuroprotektion vs. Prävention der AOP bzw. kombinierter Einsatz). Interessanterweise konnte ein Nutzen hinsichtlich der Reduktion eines MDI < 70 oder eines kognitiven Scores < 85 bei denjenigen Kindern, die rhEPO in einer mittleren-niedrigen Dosis, wie sie normalerweise bei der Behandlung der AOP angewandt wird, gefunden werden. Diese Kinder erhielten rhEPO über einen Zeitraum von einer bis zu mehreren Wochen (bis zum korrigierten Alter von $35 \frac{0}{7}$ SSW)^{56,57,61}, während die Hochdosistherapie teils nur für drei Dosen appliziert wurde.⁵³ Diese Ergebnisse sind auf Grund einer geringen Fallzahl und einem Ungleichgewicht zwischen beiden Gruppen (weniger Studien mit Daten für eine Hochdosis-Applikation) limitiert. Ein positiver Effekt von rhEPO lässt sich möglicherweise auch erst zu einem späteren Zeitpunkt nachweisen. Dazu gibt es gegenläufige Ergebnisse: Das Follow-Up der Studie von Natalucci et al.⁶⁹ im Alter von 5 Jahren zeigte keinen positiven Effekt der rhEPO-Gabe, während im Follow-Up der RCT von Ohls et al.⁷⁰ die rhEPO-Therapie mit einem besseren kognitiven *Outcome* (beurteilt mit „*Full-scale Intelligence Quotient (FSIQ)*“ und „*Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence, Third Edition*“) einherging. Eine retrospektive Fall-Kontroll-Studie⁷¹ legt zudem nahe, dass sich ein vorteilhafter Effekt auf die neurologische Entwicklung möglicherweise vor allem bei Kindern mit Zustand nach IVH manifestiert. Diesbezüglich werden Nachbeobachtungsdaten der „EpoRepair-Studie“, in der Frühgeborene mit IVH für die rhEPO- oder Placebogabe randomisiert wurden, erwartet.⁷²

4.3 Stärken und Schwächen der Studie(n)

4.4.1 Publikation 1: „*Aberrant Hematopoiesis and Morbidity in Extremely Preterm Infants with Intrauterine Growth Restriction*“

Zum einen ist die Studienpopulation, was den strengen Einschlusskriterien und dem monozentrischen Studiendesign geschuldet ist, verhältnismäßig klein. Auf Grund dessen führten wir eine 2:1 Allokation zu Gunsten der Kontrollgruppe durch. Bei dieser wurden beim *Matching* nicht nur das GA (gleiche Ausgangspopulation < 28 SSW) und Geschlecht, sondern auch das Geburtsjahr einbezogen, um mögliche Änderungen von Standardprozeduren und Leitlinien zu berücksichtigen. Es herrschten die gleichen Ausschlusskriterien für Fall- und Kontrollpatient:innen. Dieses strenge *Matching* minimiert das Risiko einer Selektionsverzerrung. Auch die Kriterien für eine IUGR sind nach inter-

nationalem Konsens definiert², um das Risiko einer nicht diagnostizierten oder nicht manifestierten Erkrankung bei Kontrollen zu minimieren. Ein Risiko der *Recall-Bias* besteht bei der Population nicht.

Durch das retrospektive Studiendesign könnten mögliche Kausalzusammenhänge nicht endgültig nachgewiesen werden und mögliche weitere ein *Outcome* betreffende Faktoren unterschätzt bzw. nicht beachtet sein.

Laut Literaturangaben sind 5-10% der Schwangerschaften von IUGR betroffen¹. Die vorliegende Studie liefert wichtige qualitative Forschungsergebnisse für die Studienpopulation der IUGR-ELGANs.

An der Charité als universitäres Perinatalzentrum der höchsten Versorgungsstufe (Level 1) entbinden vermehrt Patientinnen mit Risikoschwangerschaften, ein teilweise unterschiedliches Behandlungsregime in anderen neonatologischen Abteilungen kann nicht ausgeschlossen werden. Allerdings ist vor allem von einer Behandlung in vergleichbar spezialisierten Zentren auszugehen, da die Entbindung von Patient:innen < 28 SSW, insbesondere bei Vorliegen von Komplikationen wie IUGR, regelhaft in diesen erfolgt. Die Häufigkeiten der eintretenden, wichtigsten Endpunkte (Mortalität, BPD mit definierten Schweregraden, NEC mit definierter Einteilung, Notwendigkeit von Transfusionen) werten wir als hinreichend repräsentativ, da sie vergleichbar mit internationalen Studien sind.^{16,73} Weiterhin sind viele *Outcomes*, insbesondere die Laborparameter bei Geburt, unabhängig von der sich anschließenden Behandlung auf der Intensivstation.

4.4.2 Publikationen 2 und 3: “*Prophylactic Early Erythropoetin for Neuroprotection in Preterm Infants: A Meta-analysis*” und “*Prophylactic Erythropoetin for Neuroprotection in Very Preterm Infants: A Meta-analysis Update*”

Viele RCTs, in denen rhEPO verwendet wurde, berichten nicht über die neurologische Entwicklung als *Follow-Up*, was zu einer Publikationsverzerrung („*publication bias*“) aber auch zu einer geringen Studienanzahl, die in der Metaanalyse berücksichtigt werden konnte, führt. Zudem gibt es große Unterschiede in den Studienprotokollen hinsichtlich Dosis, Applikationsform und Startzeitpunkt der rhEPO-Behandlung, aber auch hinsichtlich des medizinischen Umfeldes und der untersuchten Studienpopulation (GA). Zusätzlich wird die Ungewissheit in der Wirksamkeit von rhEPO durch die mäßige bis erhebliche Heterogenität der in unserer Meta-Analyse einbezogenen RCTs verstärkt ($I^2 = 53 \%$, s.

Seite 66, *Figure 1A* des Originalmanuskriptes). Diese verschwand jedoch nach Ausschluss einer Studie mit einem hohen Risiko in den Kategorien „*performance bias*“ und „*reporting bias*“.

Die Dokumentation der Auswahl der Studien erfolgte anhand eines standardisierten Verfahrens, dem PRISMA-Statement⁵⁰, die Prüfung der Qualität der eingeschlossenen Studien und die statistische Auswertung nach Vorgaben des *Cochrane Handbook for Systematic Reviews*.⁴⁹ Sowohl die Auswahl der Studien, als auch die Bewertung der *Bias* erfolgt unabhängig von zwei Autor:innen, um das Risiko einer Fehleinschätzung zu minimieren.

5. Schlussfolgerungen

Zusammenfassend können die Ergebnisse dieser drei Publikationen zu einer Verminderung möglicher Transfusions-assoziiertes Komplikationen in der Risikogruppe ELGANs beitragen.

Der Gebrauch von rhEPO konnte in verschiedenen RCTs als sicher nachgewiesen werden. Insofern könnte die frühe Gabe in zweierlei Hinsicht nützlich sein: Zum einen durch Einsparung von EK-Transfusionen und damit Etablierung einer restriktiveren Transfusionsstrategie, zum anderen durch einen möglichen positiven Effekt von rhEPO, auch wenn eine Therapieempfehlung mit primärer Indikation der Neuroprotektion aktuell nicht abgeleitet werden kann.

Literaturverzeichnis

1. Gordijn SJ, Beune IM, Thilaganathan B, Papageorghiou A, Baschat AA, Baker PN, Silver RM, Wynia K, Ganzevoort W. Consensus definition of fetal growth restriction: a Delphi procedure. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016;48(3):333-339.
2. Lees C, Marlow N, Arabin B, Bilardo CM, Brezinka C, Derks JB, Duvékot J, Frusca T, Diemert A, Ferrazzi E, Ganzevoort W, Hecher K, Martinelli P, Ostermayer E, Papageorghiou AT, Schlembach D, Schneider KT, Thilaganathan B, Todros T, van Wassenaer-Leemhuis A, Valcamonico A, Visser GH, Wolf H, Group T. Perinatal morbidity and mortality in early-onset fetal growth restriction: cohort outcomes of the trial of randomized umbilical and fetal flow in Europe (TRUFFLE). *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013;42(4):400-408.
3. Malhotra A, Allison BJ, Castillo-Melendez M, Jenkin G, Polglase GR, Miller SL. Neonatal Morbidities of Fetal Growth Restriction: Pathophysiology and Impact. *Front Endocrinol.* 2019;10:55.
4. Nardoza LM, Caetano AC, Zamarian AC, Mazzola JB, Silva CP, Marcal VM, Lobo TF, Peixoto AB, Araujo Junior E. Fetal growth restriction: current knowledge. *Arch Gynecol Obstet.* 2017;295(5):1061-1077.
5. Romo A, Carceller R, Tobajas J. Intrauterine growth retardation (IUGR): epidemiology and etiology. *Pediatr Endocrinol Rev.* 2009;6 Suppl 3:332-336.
6. Severi FM, Rizzo G, Bocchi C, D'Antona D, Verzuri MS, Arduini D. Intrauterine growth retardation and fetal cardiac function. *Fetal Diagn Ther.* 2000;15(1):8-19.
7. Koury MJ, Bondurant MC, Atkinson JB. Erythropoietin control of terminal erythroid differentiation: maintenance of cell viability, production of hemoglobin, and development of the erythrocyte membrane. *Blood Cells.* 1987;13(1-2):217-226.
8. Gregory CJ, Eaves AC. Three stages of erythropoietic progenitor cell differentiation distinguished by a number of physical and biologic properties. *Blood.* 1978;51(3):527-37.
9. Bahlmann F, Al Naimi A, Ossendorf M, Schmidt-Fittschen M, Willruth A. Hematological changes in severe early onset growth-restricted fetuses with absent and reversed end-diastolic flow in the umbilical artery. *J Perinat Med.* 2017;45(3):367-373.
10. Yamashita H, Kukita J, Ohga S, Nakayama H, Akazawa K, Ueda K. Serum erythropoietin levels in term and preterm infants during the first year of life. *Am J Pediatr Hematol Oncol.* 1994;16(3):213-218.
11. Dallman PR. Anemia of prematurity. *Annu Rev Med.* 1981;32:143-160.
12. Saito-Benz M, Flanagan P, Berry MJ. Management of anaemia in preterm infants. *Br J Haematol.* 2020;188(3):354-366.
13. 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(5):793-798.
14. Puia-Dumitrescu M, Tanaka DT, Spears TG, Daniel CJ, Kumar KR, Athavale K, Juul SE, Smith PB. Patterns of phlebotomy blood loss and transfusions in extremely low birth weight infants. *J Perinatol.* 2019;39(12):1670-1675.
15. 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. *J Pediatr.* 2000;136(2):220-224.
16. Kirpalani H, Whyte RK, Andersen C, Asztalos EV, Heddle N, Blajchman MA, Peliowski A, Rios A, LaCorte M, Connelly R, Barrington K, Roberts RS. The Premature Infants in Need of Transfusion (PINT) study: a randomized, controlled

- trial of a restrictive (low) versus liberal (high) transfusion threshold for extremely low birth weight infants. *J Pediatr.* 2006;149(3):301-307.
17. Frey B. Transfusion in premature infants impairs production and/or release of red blood cells, white blood cells and platelets. *J Paediatr Child Health.* 2002;38(3):265-267.
 18. Mohamed A, Shah PS. Transfusion associated necrotizing enterocolitis: a meta-analysis of observational data. *Pediatrics.* 2012;129(3):529-540.
 19. Englert JA, Saunders RA, Purohit D, Hulse TC, Ebeling M. The effect of anemia on retinopathy of prematurity in extremely low birth weight infants. *J Perinatol.* 2001;21(1):21-26.
 20. Baer VL, Lambert DK, Henry E, Snow GL, Christensen RD. Red blood cell transfusion of preterm neonates with a Grade 1 intraventricular hemorrhage is associated with extension to a Grade 3 or 4 hemorrhage. *Transfusion.* 2011;51(9):1933-1939.
 21. Ross MP, Christensen RD, Rothstein G, Koenig JM, Simmons MA, Noble NA, Kimura RE. A randomized trial to develop criteria for administering erythrocyte transfusions to anemic preterm infants 1 to 3 months of age. *J Perinatology.* 1989;9(3):246-253.
 22. Connelly RJ, Stone SH, Whyte RK. Early vs. Late Red Cell Transfusion in Low Birth Weight Infants 986. *Pediatr Res.* 1998;43(4):170-170.
 23. Bell EF, Strauss RG, Widness JA, Mahoney LT, Mock DM, Seward VJ, Cress GA, Johnson KJ, Kromer IJ, Zimmerman MB. Randomized trial of liberal versus restrictive guidelines for red blood cell transfusion in preterm infants. *Pediatrics.* 2005;115(6):1685-1691.
 24. Franz AR, Engel C, Bassler D, Rüdiger M, Thome UH, Maier RF, Krägeloh-Mann I, Kron M, Essers J, Bühner C, Rellensmann G, Rossi R, Bittrich H-J, Roll C, Höhn T, Ehrhardt H, Avenarius S, Körner HT, Stein A, Buxmann H, Vochem M, Poets CF, Investigators E. Effects of Liberal vs Restrictive Transfusion Thresholds on Survival and Neurocognitive Outcomes in Extremely Low-Birth-Weight Infants: The ETTNO Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2020;324(6):560-570.
 25. Kirpalani H, Bell EF, Hintz SR, Tan S, Schmidt B, Chaudhary AS, Johnson KJ, Crawford MM, Newman JE, Vohr BR, Carlo WA, D'Angio CT, Kennedy KA, Ohls RK, Poindexter BB, Schibler K, Whyte RK, Widness JA, Zupancic JAF, Wyckoff MH, Truog WE, Walsh MC, Chock VY, Lupton AR, Sokol GM, Yoder BA, Patel RM, Cotten CM, Carmen MF, Devaskar U, Chawla S, Seabrook R, Higgins RD, Das A, Eunice Kennedy Shriver NNRN. Higher or Lower Hemoglobin Transfusion Thresholds for Preterm Infants. *N Engl J Med.* 2020;383(27):2639-2651.
 26. Fogarty M, Osborn DA, Askie L, Seidler AL, Hunter K, Lui K, Simes J, Tarnow-Mordi W. Delayed vs early umbilical cord clamping for preterm infants: a systematic review and meta-analysis. *Am J Obst and Gynecol.* 2018;218(1):1-18.
 27. Madan A, Kumar R, Adams MM, Benitz WE, Geaghan SM, Widness JA. Reduction in red blood cell transfusions using a bedside analyzer in extremely low birth weight infants. *J Perinatol.* 2005;25(1):21-25.
 28. Ohlsson A, Aher SM. Early erythropoiesis-stimulating agents in preterm or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020;2:CD004863.
 29. Zhu C, Kang W, Xu F, Cheng X, Zhang Z, Jia L, Ji L, Guo X, Xiong H, Simbruner G, Blomgren K, Wang X. Erythropoietin improved neurologic outcomes in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics.* 2009;124(2):e218-226.

30. Iwai M, Cao G, Yin W, Stetler RA, Liu J, Chen J. Erythropoietin promotes neuronal replacement through revascularization and neurogenesis after neonatal hypoxia/ischemia in rats. *Stroke*. 2007;38(10):2795-2803.
31. Wang L, Zhang Z, Wang Y, Zhang R, Chopp M. Treatment of stroke with erythropoietin enhances neurogenesis and angiogenesis and improves neurological function in rats. *Stroke*. 2004;35(7):1732-1737.
32. Juul SE, McPherson RJ, Farrell FX, Jolliffe L, Ness DJ, Gleason CA. Erythropoietin concentrations in cerebrospinal fluid of nonhuman primates and fetal sheep following high-dose recombinant erythropoietin. *Biol Neonate*. 2004;85(2):138-144.
33. Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF, Shankaran S, Laptook AR, Walsh MC, Hale EC, Newman NS, Schibler K, Carlo WA, Kennedy KA, Poindexter BB, Finer NN, Ehrenkranz RA, Duara S, Sánchez PJ, O'Shea TM, Goldberg RN, Van Meurs KP, Faix RG, Phelps DL, Frantz ID, Watterberg KL, Saha S, Das A, Higgins RD, Network EKSNIoCHaHDNR. Neonatal outcomes of extremely preterm infants from the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics*. 2010;126(3):443-456.
34. Helderman JB, O'Shea TM, Kuban KCK, Allred EN, Hecht JL, Dammann O, Paneth N, McElrath TF, Onderdonk A, Leviton A, Investigators Es. Antenatal antecedents of cognitive impairment at 24 months in extremely low gestational age newborns. *Pediatrics*. 2012;129(3):494-502.
35. Patel RM, Kandeler S, Walsh MC, Bell EF, Carlo WA, Laptook AR, Sánchez PJ, Shankaran S, Van Meurs KP, Ball MB, Hale EC, Newman NS, Das A, Higgins RD, Stoll BJ, Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child H, Human Development Neonatal Research N. Causes and timing of death in extremely premature infants from 2000 through 2011. *N Engl J Med*. 2015;372(4):331-340.
36. Reibel NJ, Dame C, Bühler C, Mühlbacher T. Aberrant Hematopoiesis and Morbidity in Extremely Preterm Infants With Intrauterine Growth Restriction. *Front Pediatr*. 2021;9:728607.
37. Mifsud W, Sebire NJ. Placental pathology in early-onset and late-onset fetal growth restriction. *Fetal Diagn Ther*. 2014;36(2):117-128.
38. Gómez O, Figueras F, Fernández S, Bennasar M, Martínez JM, Puerto B, Gratacós E. Reference ranges for uterine artery mean pulsatility index at 11-41 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008;32(2):128-132.
39. Mureşan D, Rotar IC, Stamatian F. The usefulness of fetal Doppler evaluation in early versus late onset intrauterine growth restriction. Review of the literature. *Med Ultrason*. 2016;18(1):103-109.
40. Fischer HS, Reibel NJ, Bühler C, Dame C. Prophylactic Early Erythropoietin for Neuroprotection in Preterm Infants: A Meta-analysis. *Pediatrics*. 2017;139(5).
41. Bayley N. *Bayley Scales of Infant Development*. 2nd ed. San Antonio, TX: The Psychological Corporation (1993).
42. Johnson S, Marlow N. Developmental screen or developmental testing? *Early Hum Dev*. 2006;82(3):173-183.
43. Bayley N. *Bayley Scales of Infant and Toddler Development Screening Test*. 3rd ed. San Antonio, TX: Harcourt Assessment: PsychCorp, Pearson, 2006.
44. Luttikhuisen dos Santos ES, de Kieviet JF, Königs M, van Elburg RM, Oosterlaan J. Predictive value of the Bayley scales of infant development on development of very preterm/very low birth weight children: a meta-analysis. *Early Hum Dev*. 2013;89(7):487-496.
45. Johnson S, Moore T, Marlow N. Using the Bayley-III to assess neurodevelopmental delay: which cut-off should be used? *Pediatr Res*. 2014;75(5):670-674.

46. Juul SE, Comstock BA, Wadhawan R, Mayock DE, Courtney SE, Robinson T, Ahmad KA, Bendel-Stenzel E, Baserga M, LaGamma EF, Downey LC, Rao R, Fahim N, Lampland A, Frantz ID, Khan JY, Weiss M, Gilmore MM, Ohls RK, Srinivasan N, Perez JE, McKay V, Vu PT, Lowe J, Kuban K, O'Shea TM, Hartman AL, Heagerty PJ. A Randomized Trial of Erythropoietin for Neuroprotection in Preterm Infants. *N Engl J Med.* 2020;382(3):233-243.
47. Peltoniemi OM, Anttila E, Kaukola T, Buonocore G, Hallman M. Randomized trial of early erythropoietin supplementation after preterm birth: Iron metabolism and outcome. *Early Hum Dev.* 2017;109:44-49.
48. Fischer HS, Reibel NJ, Bühner C, Dame C. Prophylactic Erythropoietin for Neuroprotection in Very Preterm Infants: A Meta-Analysis Update. *Front Pediatr.* 2021;9:657228.
49. Higgins JPT, Savović J, Page MJ, Elbers RG, Sterne JAC. Chapter 8: Assessing risk of bias in a randomized trial. In: Higgins JPT, Thomas J, Chandler J, Cumpston M, Li T, Page MJ, Welch VA (editors). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions version 6.0 (updated July 2019)*. Cochrane, 2019. Available from www.training.cochrane.org/handbook. Accessed on August 1, 2019.
50. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, Group P. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med.* 2009;6(7):e1000097.
51. Ohls RK, Ehrenkranz RA, Das A, Dusick AM, Yolton K, Romano E, Delaney-Black V, Papile L-A, Simon NP, Steichen JJ, Lee KG, National Institute of Child H, Human Development Neonatal Research N. 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(5):1287-1291.
52. Ohls RK, Kamath-Rayne BD, Christensen RD, Wiedmeier SE, Rosenberg A, Fuller J, Lacy CB, Roohi M, Lambert DK, Burnett JJ, Pruckler B, Peceny H, Cannon DC, Lowe JR. Cognitive outcomes of preterm infants randomized to darbepoetin, erythropoietin, or placebo. *Pediatrics.* 2014;133(6):1023-1030.
53. Natalucci G, Latal B, Koller B, Rügger C, Sick B, Held L, Bucher HU, Fauchère J-C, Swiss EPONTG. Effect of Early Prophylactic High-Dose Recombinant Human Erythropoietin in Very Preterm Infants on Neurodevelopmental Outcome at 2 Years: A Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2016;315(19):2079-2085.
54. Song J, Sun H, Xu F, Kang W, Gao L, Guo J, Zhang Y, Xia L, Wang X, Zhu C. Recombinant human erythropoietin improves neurological outcomes in very preterm infants. *Ann Neurol.* 2016;80(1):24-34.
55. Kush ML, Gortner L, Harman CR, Baschat AA. Sustained hematological consequences in the first week of neonatal life secondary to placental dysfunction. *Early Hum Dev.* 2006;82(1):67-72.
56. Whyte R, Kirpalani H. Low versus high haemoglobin concentration threshold for blood transfusion for preventing morbidity and mortality in very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011(11):CD000512.
57. Stockman JA. Anemia of prematurity. Current concepts in the issue of when to transfuse. *Pediatr Clin North Am.* 1986;33(1):111-128.
58. Ohls RK, Christensen RD. Recombinant erythropoietin compared with erythrocyte transfusion in the treatment of anemia of prematurity. *J Pediatr.* 1991;119(5):781-788.
59. Obladen M, Maier R, Segerer H, Grauel EL, Holland BM, Stewart G, Jorch G, Rabe H, Linderkamp O, Hoffmann HG. Efficacy and safety of recombinant human erythropoietin to prevent the anaemias of prematurity. European Randomized Multicenter Trial. *Contrib Nephrol.* 1991;88:314-326.

60. Shannon KM, Mentzer WC, Abels RI, Freeman P, Newton N, Thompson D, Sniderman S, Ballard R, Phibbs RH. Recombinant human erythropoietin in the anemia of prematurity: results of a placebo-controlled pilot study. *J Pediatrics*. 1991;118(6):949-955.
61. Vamvakas EC, Strauss RG. Meta-analysis of controlled clinical trials studying the efficacy of rHuEPO in reducing blood transfusions in the anemia of prematurity. *Transfusion*. 2001;41(3):406-415.
62. Aher SM, Ohlsson A. Late erythropoiesis-stimulating agents to prevent red blood cell transfusion in preterm or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020;1:CD004868.
63. 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*. 2020;2:CD004865.
64. Ohlsson A, Aher SM. Early erythropoietin for preventing red blood cell transfusion in preterm and/or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012(9):CD004863.
65. Ohlsson A, Aher SM. Early erythropoietin for preventing red blood cell transfusion in preterm and/or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014(4):CD004863.
66. European Medicine Agency (EMA). NeoRecormon. Procedural steps taken and scientific information after the authorisation. Amendment 15/07/2016. Available from https://www.ema.europa.eu/en/documents/procedural-steps-after/neorecormon-epar-procedural-steps-taken-scientific-information-after-authorisation_en.pdf. Accessed on April 13, 2022.
67. Krappweis J, Schwabe D. Erythropoietin - zusätzliches Risiko einer Retinopathie bei Frühgeborenen nicht auszuschließen. *Bulletin für Arzneimittelsicherheit, Informationen aus BfArM und PEI*, 2015, 3:3-6.
68. Bolte K, Maier RF. Survey on clinical use and non-use of recombinant human erythropoietin in European neonatal units. *J Perinat Med*. 2020;48(7):744-750.
69. Natalucci G, Latal B, Koller B, Rügger C, Sick B, Held L, Fauchère J-C, Swiss EPONTG. Neurodevelopmental Outcomes at Age 5 Years After Prophylactic Early High-Dose Recombinant Human Erythropoietin for Neuroprotection in Very Preterm Infants. *JAMA*. 2020;324(22):2324-2327.
70. Ohls RK, Cannon DC, Phillips J, Caprihan A, Patel S, Winter S, Steffen M, Yeo RA, Campbell R, Wiedmeier S, Baker S, Gonzales S, Lowe J. Preschool Assessment of Preterm Infants Treated With Darbepoetin and Erythropoietin. *Pediatrics*. 2016;137(3):e20153859.
71. Neubauer A-P, Voss W, Wachtendorf M, Jungmann T. Erythropoietin improves neurodevelopmental outcome of extremely preterm infants. *Ann Neurol*. 2010;67(5):657-666.
72. Ruegger CM, Hagmann CF, Bühler C, Held L, Bucher HU, Wellmann S, EpoRepair I. Erythropoietin for the Repair of Cerebral Injury in Very Preterm Infants (EpoRepair). *Neonatology*. 2015;108(3):198-204.
73. Jensen EA, Foglia EE, Dysart KC, Simmons RA, Aghai ZH, Cook A, Greenspan JS, DeMauro SB. Adverse effects of small for gestational age differ by gestational week among very preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2019;104(2):F192-F198.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Nora Johanna Reibel, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Hämatologische Auswirkungen extremer Frühgeburtlichkeit – Relevanz von Transfusionen und rekombinantem Erythropoietin (Hematologic effects of extreme prematurity – Relevance of transfusions recombinant erythropoietin) selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen

Nora Johanna Reibel hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: **Reibel NJ**, Dame C, Bühler C, Mühlbacher T. Aberrant Hematopoiesis and Morbidity in Extremely Preterm Infants With Intrauterine Growth Restriction. *Frontiers in Pediatrics*. 2021;9:728607.

Beitrag im Einzelnen:

Erstautorenschaft. Gemeinsame Ausarbeitung des Studienprotokolls und -designs, eigenständige Datenerhebung aus den elektronischen Akten und aus den Patientenakten aus dem Archiv, sowie Datenauswertung inklusive statistischer Auswertung (Durchführung von Erst- und Letztautor:in unabhängig voneinander). Aus dieser statistischen Auswertung sind die Ergebnistabellen (alleiniges Erstellen der *Table 2*, s. Seite 44 und *Table 6*, s. Seite 48 des Originalmanuskriptes, gemeinsames Erstellen der übrigen Tabellen der Originalpublikation), das Flussdiagramm (*Figure 1*, Seite 44), die Transfusionsabbildungen (s. Seite 46; *Figure 2* der Originalpublikation) und die Kaplan-Meier-Kurve (s. Seite 48; *Figure 3* der Originalpublikation) entstanden. Gemeinsame Ausarbeitung und Verfassen der ersten, sowie der nach Revision angenommenen Version des Manuskriptes.

Publikation 2: Fischer HS, **Reibel NJ**, Bühler C, Dame C. Prophylactic Early Erythropoietin for Neuroprotection in Preterm Infants: A Meta-analysis. *Pediatrics*. 2017;139(5).

Beitrag im Einzelnen: Co-Autorenschaft. Gemeinsame Ausarbeitung des Studienprotokolls und -designs, Miterstellung der Datentabelle (Tabelle 3 des Originalmanuskriptes, Seite 20). Qualitätsprüfung der eingeschlossenen Studien und Erstellung der Tabellen zu den Charakteristika und Bewertung der *Bias* der eingeschlossenen Studien, diese sind als *Supplemental Tables 2 – 9* in der Originalpublikation dargestellt. Beteiligung an der Ausarbeitung des Manuskriptes.

Publikation 3: Fischer HS, **Reibel NJ**, Bühler C, Dame C. Prophylactic Erythropoietin for Neuroprotection in Very Preterm Infants: A Meta-Analysis Update. *Frontiers in Pediatrics*. 2021;9:657228.

Beitrag im Einzelnen: Co-Autorenschaft. Gemeinsame Ausarbeitung des Studienprotokolls und -designs. Eigenständige Registrierung der Studie bei PROSPERO. Mithilfe bei der Konzeptualisierung, sowie der Datenabfrage bei den Autoren, hierfür Erstellen der Tabelle für die Datenabfrage. Durchführung der Qualitätsprüfung der eingeschlossenen Studien, diese ist im Supplement (*Supplementary Table 1*) der Originalpublikation dargestellt. Beteiligung an der Ausarbeitung und an der Revision des Manuskriptes.

Unterschrift, Datum und Stempel des erstbetreuenden Hochschullehrers

Unterschrift der Doktorandin

Auszug aus der Journal Summary List

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2021** Selected Editions: SCIE, SSCI. Selected Categories: **"PEDIATRICS"** Selected Category Scheme: WoS. **Gesamtanzahl: 130 Journale**

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfaktor
1	Lancet Child & Adolescent Health	7,694	37.746	0.02238
2	JAMA Pediatrics	19,187	26.796	0.04498
3	JOURNAL OF THE AMERICAN ACADEMY OF CHILD AND ADOLESCENT PSYCHIATRY	25,754	13.113	0.01707
4	PEDIATRICS	101,828	9.703	0.08659
5	World Journal of Pediatrics	2,565	9.186	0.00395
6	JOURNAL OF ADOLESCENT HEALTH	23,158	7.830	0.02445
7	Child and Adolescent Psychiatry and Mental Health	2,294	7.494	0.00301
8	Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition	9,346	6.643	0.00805
9	JOURNAL OF PEDIATRICS	43,330	6.314	0.03843
10	Paediatric Respiratory Reviews	2,755	5.526	0.00290
11	PEDIATRIC ALLERGY AND IMMUNOLOGY	6,579	5.464	0.00637
12	EUROPEAN CHILD & ADOLESCENT PSYCHIATRY	9,448	5.349	0.01121
13	INDIAN JOURNAL OF PEDIATRICS	5,511	5.319	0.00495
14	Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society	2,794	5.235	0.00602
15	Neonatology	4,366	5.106	0.00584
16	ARCHIVES OF DISEASE IN CHILDHOOD	18,619	4.920	0.01201
17	DEVELOPMENTAL MEDICINE AND CHILD NEUROLOGY	17,461	4.864	0.01202
18	Hormone Research in Paediatrics	3,265	4.275	0.00412
19	PEDIATRIC NEUROLOGY	7,875	4.210	0.00711
20	Child and Adolescent Mental Health	1,723	4.111	0.00195
21	PEDIATRIC PULMONOLOGY	11,057	4.090	0.01110
22	ACTA PAEDIATRICA	17,876	4.056	0.01359
23	Translational Pediatrics	1,324	4.047	0.00225

24	Pediatric Critical Care Medicine	9,881	3.971	0.01096
25	PEDIATRIC RESEARCH	19,790	3.953	0.01565
26	PEDIATRIC DRUGS	1,846	3.930	0.00194
27	Pediatric Obesity	3,510	3.910	0.00506
28	EUROPEAN JOURNAL OF PEDIATRICS	11,435	3.860	0.00978
29	INDIAN PEDIATRICS	4,665	3.839	0.00387
30	PEDIATRIC BLOOD & CANCER	17,993	3.838	0.02159
31	PEDIATRIC INFECTIOUS DISEASE JOURNAL	14,914	3.806	0.01406
32	International Breastfeeding Journal	1,852	3.790	0.00222
33	Seminars in Fetal & Neonatal Medicine	3,819	3.726	0.00453
34	EUROPEAN JOURNAL OF PAEDIATRIC NEUROLOGY	4,458	3.692	0.00541
35	Maternal and Child Nutrition	5,563	3.660	0.00863
36	PEDIATRIC NEPHROLOGY	12,252	3.651	0.00939
37	PEDIATRIC CLINICS OF NORTH AMERICA	5,332	3.580	0.00424
38	Frontiers in Pediatrics	9,940	3.569	0.01864
39	Pediatric Rheumatology	2,574	3.413	0.00356
40	PEDIATRIC DIABETES	6,046	3.409	0.01044
41	SEMINARS IN PERINATOLOGY	4,937	3.311	0.00519
42	JOURNAL OF PEDIATRIC GASTROENTEROLOGY AND NUTRITION	15,773	3.288	0.01288
43	Italian Journal of Pediatrics	3,637	3.288	0.00451
44	International Journal of Paediatric Dentistry	3,599	3.264	0.00271
45	Journal of Perinatology	10,330	3.225	0.01059
46	PAEDIATRIC AND PERINATAL EPIDEMIOLOGY	4,097	3.103	0.00372
47	BIRTH-ISSUES IN PERINATAL CARE	2,998	3.081	0.00238
48	AMERICAN JOURNAL OF PERINATOLOGY	6,604	3.079	0.00969
49	Seminars in Pediatric Neurology	1,485	3.042	0.00125
50	JOURNAL OF CHILD AND ADOLESCENT PSYCHOPHARMACOLOGY	3,734	3.031	0.00447
51	PEDIATRIC RADIOLOGY	9,139	3.005	0.00644
52	Academic Pediatrics	4,708	2.993	0.00889
53	Jornal de Pediatria	3,242	2.990	0.00290
54	JOURNAL OF DEVELOPMENTAL AND BEHAVIORAL PEDIATRICS	5,389	2.988	0.00446

Druckexemplar der Publikation 1 “Aberrant Hematopoiesis and Morbidity in Extremely Preterm Infants with Intrauterine Growth Restriction”



ORIGINAL RESEARCH
published: 12 November 2021
doi: 10.3389/fped.2021.728607



Aberrant Hematopoiesis and Morbidity in Extremely Preterm Infants With Intrauterine Growth Restriction

Nora J. Reibel¹, Christof Dame^{1*}, Christoph Bühner¹ and Tobias Muehlbacher^{1,2}

¹ Department of Neonatology, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany, ² Department of Neonatology, University Hospital Zurich, Zurich, Switzerland

OPEN ACCESS

Edited by:

Giovanni Vento,
Catholic University of the Sacred
Heart, Italy

Reviewed by:

Drucilla Jane Roberts,
Massachusetts General Hospital and
Harvard Medical School,
United States
Luciana Teofilii,
Catholic University of the Sacred
Heart, Italy

*Correspondence:

Christof Dame
christof.dame@charite.de

Specialty section:

This article was submitted to
Neonatology,
a section of the journal
Frontiers in Pediatrics

Received: 21 June 2021

Accepted: 06 October 2021

Published: 12 November 2021

Citation:

Reibel NJ, Dame C, Bühner C and
Muehlbacher T (2021) Aberrant
Hematopoiesis and Morbidity in
Extremely Preterm Infants With
Intrauterine Growth Restriction.
Front. Pediatr. 9:728607.
doi: 10.3389/fped.2021.728607

Background and Objective: Intrauterine growth restriction (IUGR) poses additional challenges in extremely low gestational age newborns (ELGANs). We assessed disturbed hematopoiesis and morbidities associated with this disorder.

Methods: This single-center retrospective case-control study compared perinatal hematological profiles, major morbidities, and mortality of 49 infants (gestational age <28 weeks, birth weight \leq 3rd percentile, and compromised placental function) and 98 infants (birth weight >10th percentile) matched for gestational age, year, and sex.

Results: IUGR-ELGANs had significantly elevated nucleated red blood cells and lower neutrophil and platelet counts at birth and on the third day of life. During the first week of life, IUGR-ELGANs received more red blood cell, platelet, and plasma transfusions and were more intensively treated with antibiotics. Rates of infections acquired during the first week (59.2 vs. 17.3%, $p < 0.001$), severe bronchopulmonary dysplasia or death (42.9 vs. 17.3%, $p < 0.01$), and mortality (36.7 vs. 7.1%, $p < 0.001$) were markedly elevated in IUGR-ELGANs, but not of hemorrhages or other morbidities.

Conclusions: IUGR-ELGANs have high rates of acquired infections during the first week of life and display severe pulmonary morbidity leading to bronchopulmonary dysplasia or death. The high rate of transfusions observed in these infants warrants further scrutiny.

Keywords: anemia, coagulation disorder, neutropenia, sepsis, thrombocytopenia

INTRODUCTION

Approximately 5% of all pregnancies are associated with intrauterine growth restriction (IUGR), a condition in which the fetus is unable to reach its own biologically determined growth potential (1, 2). Higher incidences are observed in preterm infants (3, 4). IUGR is associated with increased fetal and neonatal morbidity and mortality (5). The most common underlying cause is a dysfunction of the utero-placental unit leading to the inadequate supply of oxygen and nutrients to the developing fetus (2). Chronic oxygen deprivation in the fetus triggers the synthesis of erythropoietin (EPO) resulting in the stimulation of erythropoiesis and an increased number of erythroid precursor cells (6). Subsequently to excessive erythropoiesis, neonates born with IUGR often suffer from early-onset thrombocytopenia and leucopenia (7, 8).

The exact mechanisms of the complex hematopoietic disorder are still unclear. One hypothesis is that the excessively stimulated erythropoiesis causes subsequent suppression of platelet (PLT) and white blood cell (WBC) production as pluripotent precursor cells are being shifted in the direction of erythropoiesis (7–9). The hematological disorders might increase susceptibility to early-onset infections (EOI) (10) and bleeding disorders, such as intraventricular hemorrhage (IVH) and pulmonary hemorrhage (PH), particularly in very preterm infants. Concerning major bleedings, it is discussed that plasmatic coagulation disorders could be a bigger issue than thrombocytopenia (11–13).

Transfusions in the non-bleeding patient as well as prophylactic antibiotic treatment are commonly given in order to prevent these complications, despite missing evidence. In addition, two recently published randomized clinical trials (RCTs) showed an association between the administration of platelet transfusions and major hemorrhage as well as death (14, 15).

The primary aim was to investigate to which extent hematologic disorders in IUGR-ELGANs (extremely low gestational age newborns) are associated with a higher risk of major morbidity as infection, hemorrhage, bronchopulmonary dysplasia (BPD), necrotizing enterocolitis (NEC), or retinopathy of prematurity (ROP). The secondary aim was to analyze underlying causes for mortality in these high-risk infants.

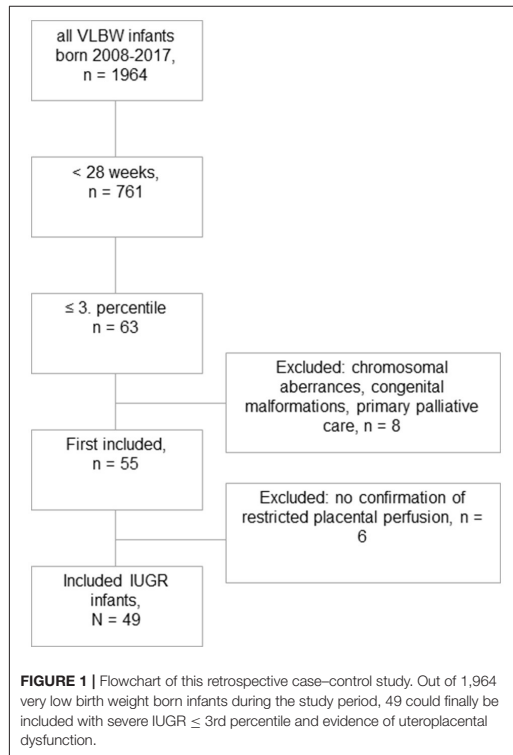
METHODS

This retrospective case-control study applied a very strict definition of the study population not just as small-for gestational age (GA), but also with confirmed compromised placental function to gain robust results on the hematologic disorders and the associated sequelae. Therefore, we identified all very low birth weight (VLBW) infants with IUGR at our tertiary neonatal intensive care unit between January 2008 and December 2017 via the electronic digital patient management system. Eligible patients fulfilled the following inclusion criteria: GA <28 weeks, severe IUGR with birth weight \leq 3rd percentile, and proof of restricted placental perfusion. The latter was defined as at least one of the following Doppler-sonographic or histopathologic criteria: Pulsatility index of the uterine artery >95th percentile (16), cerebro-placental index <1 (defined as ratio pulsatility index middle cerebral artery to pulsatility index of the umbilical artery) indicating the brain-sparing effect in infants with chronic intrauterine compromise (17), or histopathology of the placenta

with proof of utero-placental dysfunction (18). Infants with major congenital malformations or chromosomal abnormalities or receiving primary palliative care were excluded. The control group was carefully selected from infants with birth weight >10th percentile to match the IUGR group as precisely as possible by (a) sex, (b) GA (\pm 6 days), and (c) birth within \pm 1 year to exclude changes in treatment protocols during the study period. To strengthen the power of our analysis in a small cohort, we allocated two controls for each IUGR-ELGAN.

Data extracted from medical records and laboratory files included clinical data of pre- and perinatal care, blood parameters, mortality, neonatal morbidities, and treatment. Routinely, blood specimens were taken directly after birth from peripheral venous puncture or through an umbilical catheter to determine the values of the complete blood cell count (CBC), laboratory inflammatory parameters [interleukin-6 (IL-6) and C-reactive protein (CrP)], and, during the study period, a coagulation screen [international normalized ratio (INR), activated partial thromboplastin time (aPTT), and fibrinogen] prior to the standard parenteral administration of 0.5 mg vitamin K. CBC was determined by using fully automated cell counters Sysmex XE-2100 and subsequently Sysmex XN10-1 (TOA Medical Electronics). CrP and IL-6 were measured with the Cobas® analyzer series (Roche) and coagulation screen with the automated coagulation analyzer Sysmex® CS-2500 and subsequently CS-5100 System (Siemens). Disorders in hematopoiesis were assessed by hemoglobin levels, nucleated red blood cells (NRBC), PLT counts, and WBC at birth. We defined a cutoff of \geq 8 NRBC/nl according to the GA-adjusted percentiles by Christensen et al. (19). Thrombocytopenia in very preterm infants was defined by a PLT count <150/nl and classified into severe (0–50/nl) and moderate (51–100/nl) (20). Neutropenia was defined as an absolute neutrophil count (ANC) <1,000/ μ l and classified into severe (0–500/ μ l) or moderate (501–999/ μ l) (21). Abnormal coagulation screens were defined depending on both GA and the respective laboratory method (22). Neonatal infection was defined as elevated inflammatory parameters with IL-6 plasma concentrations >100 ng/L and/or CrP plasma concentrations >10 mg/L (23, 24). Chorioamnionitis was defined as elevated inflammatory parameters in the initial blood sample at primary care and proven by histopathology (25). Depending on the age at onset of infection, EOI (elevated inflammatory parameters within the first 72 hours of life), infections within the early neonatal period (I-ENP) of the first 7 days of life, and late-onset infections (LOI) (elevated inflammatory parameters after the first week) were distinguished (26). In addition, the rate of positive blood cultures was analyzed, considering that the rate is often false negative in very preterm infants due to a low blood volume transferred to the culture bottle or because of intrapartum antibiotic prophylaxis (27, 28). Rationale to distinguish between the two different periods for EOI and I-ENP was to analyze the effect of a diminished granulopoiesis on the incidence of infections. Furthermore, we analyzed antibiotic treatment until discharge, considering the duration and substance. Standard treatment protocol for chorioamnionitis and EOI were ampicillin plus gentamicin during the whole study period, while the treatment

Abbreviations: ANC, absolute neutrophil count; aPTT, activated partial thromboplastin time; BPD, bronchopulmonary dysplasia; CBC, complete blood count; CrP, C-reactive protein; ELGAN, extremely low gestational age newborn; EOI, early-onset infection; EPO, erythropoietin; FFP, fresh frozen plasma; GA, gestational age; I-ENP, infections within the early neonatal period; IL-6, interleukin-6; INR, international normalized ratio; IUGR, intrauterine growth restriction; IVH, intraventricular hemorrhage; LOI, late-onset infection; NEC, necrotizing enterocolitis; NICU, neonatal intensive care unit; NRBC, nucleated red blood cells; PAH, pulmonary arterial hypertension; PH, pulmonary hemorrhage; PLT, platelets; PPHN, persistent pulmonary hypertension; RCT, randomized controlled trial; ROP, retinopathy of prematurity; SIP, spontaneous intestinal perforation; VLBW, very low birthweight; WBC, white blood count.



protocol of I-ENP and LOI changed from piperacillin plus cefotaxime to ampicillin/sulbactam plus gentamicin in 2011. Suspected or proven catheter-associated infections were treated with ampicillin/sulbactam plus vancomycin, and suspected or proven meningitis was additionally treated with cefotaxime. In case of life-threatening infections, treatment was escalated to second-line antibiotics as vancomycin plus meropenem. Discontinuation of antibiotic treatment depended on negative results of inflammatory parameters and clinical improvement. In case of culture-positive sepsis or meningitis, treatment was continued for at least 7 days.

The following interventions were recorded: Transfusions of red blood cells (RBC), PLT, and fresh frozen plasma (FFP) during the first week (volume and day of any transfusion), administration of exogenous surfactant, duration of mechanical ventilation, oxygen (O₂) supplementation, and inhaled nitric oxide.

Outcome variables were mortality prior to discharge and major morbidities: IVH severity was graded as by Papile (29). PH was defined by the presence of frank blood from the trachea, which required prompt intervention as an increased respiratory support or RBC transfusions, as well as a multi-lobular

TABLE 1 | Demographic and clinical data of the ELGANs with severe IUGR (birth weight \leq 3rd percentile) and the age-matched control group.

	Severe IUGR (n = 49)	Controls (n = 98)	p-value
Birth weight (g)	430 (270–570)	820 (514–1245)	<0.001
Gestational age (weeks)	25.6 (23.4–27.6)	25.7 (22.9–27.7)	0.69
Female	22 (44.9)	44 (44.9)	1.0
Singletons	45 (91.8)	73 (74.5)	<0.05
Pulsatility index umbilical artery	1.92 (0.94–3.30)	1.09 (0.69–1.73)	<0.001
Cerebro-Placental-Ratio < 1	31/37 (83.8)	5/26 (19.0)	<0.001
histopathology: uteroplacental dysfunction	34/34 (100%)	2/69 (2.9%)	<0.001
Premature rupture of membranes	4 (8.2)	26/92 (26.5)	<0.01
Chorioamnionitis (histopathology and elevated inflammation parameter)	0/34	17/69 (24.6%)	<0.001
Antenatal steroids	39/47 (83.0)	90/97 (92.8)	0.09
Cesarean section	49/49 (100)	82/98 (83.7)	<0.01
Primary	26 (53.1)	13/94 (13.8)	<0.001
Umbilical cord artery pH	7.27 (7.01–7.37)	7.30 (6.88–7.46)	<0.01
Apgar score at 5 min	7 (1-9)	7 (1-9)	0.91
5-min Apgar score <5	7 (14.3)	8 (8.2)	0.26
Apgar score at 10 min	8 (5-9)	8 (1-9)	0.41
10-min Apgar score < 5	0 (0)	3 (3.1)	0.55
CRIB Score	8 (7-16)	5 (1-14)	<0.001

Categorical data are given as n (%), continuous data as median (range).

opacity on chest x-rays (30). Persistent pulmonary hypertension (PPHN) was diagnosed by transthoracic echocardiography with a flattening of the interventricular septum and right ventricular systolic pressure (measured by tricuspid regurgitation) at least equal systemic systolic pressure or right to left shunt *via* the ductus arteriosus (31). NEC was defined according to Bell et al. (32), while spontaneous intestinal perforation (SIP) was diagnosed by explorative laparotomy, which is standard care in our institution in case of radiologic evidence of intestinal perforation. The classification of ROP was done according to the international classification (33). BPD was rated according to the National Institute of Health classification (34).

The study was approved by the Institutional Review Board (EA2/053/18).

Statistical Analysis

Statistical comparisons were performed with SPSS for Windows 26.0 (SPSS, Inc., Chicago, Illinois). For analysis of continuous variables, we used Mann-Whitney *U*-test, and categorical variables were compared by two-sided Fisher's exact test.

p -values < 0.05 were regarded to be of statistical significance. Binary logistic regression analysis was performed to examine independent factors for mortality, EOI, I-ENP, LOI, prevalence of hemorrhagic events, and BPD. A Kaplan–Meier curve was used to illustrate mortality during the neonatal period.

RESULTS

Among a total number of 135 preterm infants with a GA < 28 weeks and a birth weight below the 10th percentile, we identified 63 infants with severe IUGR (birth weight ≤ 3 rd percentile), out of which eight received primary palliative care or were excluded due to major congenital malformations or chromosomal abnormalities. Another six infants were excluded due to missing signs of restricted placental perfusion (Figure 1). The remaining eligible 49 infants were matched by GA, sex, and year of birth in a 1:2 fashion to 98 controls. The groups of IUGR-ELGANs and controls significantly differed by birth weight, mode of delivery, and umbilical artery pH but not Apgar scores (Table 1).

Aberrant Hematopoiesis

CBC numbers taken at primary care indicated excessively stimulated erythropoiesis with significantly higher number of NRBC in IUGR-ELGANs, despite almost identical hemoglobin concentration. PLT count and fibrinogen concentration were lower in severe IUGR; however, the incidence of severe thrombocytopenia or abnormal coagulation screens did not differ between both groups. WBC, ANC, and count of immature granulocytes in IUGR-ELGANs were lower at birth and with higher rates of severe neutropenia. The complete data are shown in Table 2.

On the third day of life, PLT, ANC, and immature granulocytes decreased further with significantly higher rates of severe thrombocytopenia and severe neutropenia (Table 3).

Differences in Management and Interventions

During the first week of life, the percentage of infants who received transfusions of RBC, PLT, or FFP and the respective total volume per kilogram were higher in IUGR-ELGANs compared to controls (Table 4). Figure 2 illustrates the pattern of transfusion of the respective blood component during the first 7 days after birth, indicating a decreased frequency of RBC transfusion after day 4, rather constant transfusion rates of PLTs until the end of the first week, and a majority of FFP transfusions on day 1. Rates of repeated transfusions of all blood products were higher in IUGR-ELGANs (Table 4, Supplementary Figure 1). None of the infants in our study received intrauterine RBC transfusions or had an alloimmunization requiring exchange transfusions.

IUGR-ELGANs received longer antibiotic treatment, more often second-line antibiotics as vancomycin and/or meropenem, and an already initiated antibiotic treatment was more often escalated to second-line antibiotics (Table 4, Supplementary Figure 2).

TABLE 2 | Blood cell counts, coagulation screens, and inflammatory markers on admission.

	Severe IUGR (n = 49)	Controls (n = 98)	p-value
Red blood cells			
Hemoglobin (g/dl)	14.6 (7.7–18)	15.1 (3.9–22.8)	0.46
NRBC (/nl)	11.2 (0.3–75.5)	2.4 (0.15–38.0)	< 0.001
NRBC ≥ 8 /nl	30/47 (63.8)	19/94 (20.2)	< 0.001
Platelets			
PLT count (/nl)	115 (32–232)	220 (58–479)	< 0.001
< 150 /nl	36/49 (73.5)	13/98 (13.3)	< 0.001
< 100 /nl	17 (34.7)	4 (4.1)	< 0.001
< 50 /nl	2 (4.1)	0 (0)	0.11
Coagulation screen			
INR	1.58 (1.09–6.51)	1.59 (1.07–5.27)	0.60
aPTT (s)	60 (42–130)	65 (19–240)	0.13
aPTT > 158 s	0/45 (0)	2/81 (2.5)	0.54
Fibrinogen (mg/dl)	98 (60–704)	143 (60–546)	< 0.001
Fibrinogen < 70 mg/dl	6/44 (13.6)	4/83 (4.8)	0.09
White blood cells			
WBC count (/nl)	4.6 (1.7–14.4)	9.4 (3.2–63.8)	< 0.001
ANC (μ l)	522 (46–3,395)	2,817 (103–40,716)	< 0.001
< 1000 / μ l	38/47 (80.9)	19/93 (20.4)	< 0.001
< 500 / μ l	22/47 (44.9)	7/93 (7.5)	< 0.001
Immature granulocytes (μ l)	0 (0–521)	258 (0–15,948)	< 0.001
Inflammatory parameters			
IL-6 (ng/L)	27 (0–304)	65.2 (0–50,000)	< 0.01
CrP (mg/dl)	0.3 (0–3.3)	0.3 (0–19.4)	0.14

In addition to absolute numbers, standard cutoff values defining severity of cytopenias are considered. Categorical data are given as n (%), continuous data as median (range).

TABLE 3 | This table shows PLT and WBC counts on the third day of life.

	Severe IUGR (n = 49)	Controls (n = 98)	p-value
Platelets			
PLT count (/nl)	73 (29–200)	197 (83–498)	< 0.001
< 150 /nl	36 (73.5)	4 (4.1)	< 0.001
< 50 /nl	8 (16.3)	0 (0)	< 0.001
White blood cells			
WBC count (/nl)	4.6 (1.7–14.4)	9.4 (3.2–63.8)	< 0.001
ANC (μ l)	1,320 (136–5,222)	5,856 (904–62,437)	< 0.001
< 500 / μ l	9/34 (26.5)	0/54 (0.0)	< 0.001
Immature granulocytes (μ l)	131 (0–1,027)	345 (0–13,998)	< 0.001

In addition to absolute numbers, standard cutoff values defining severity of cytopenias are considered. Categorical data are given as n (%), continuous data as median (range).

IUGR-ELGAN needed more respiratory support with mechanical ventilation and longer oxygen supplementation relative to days of survival or until discharge from the hospital and received more doses of surfactant (Table 4).

TABLE 4 | Treatment of ELGANs.

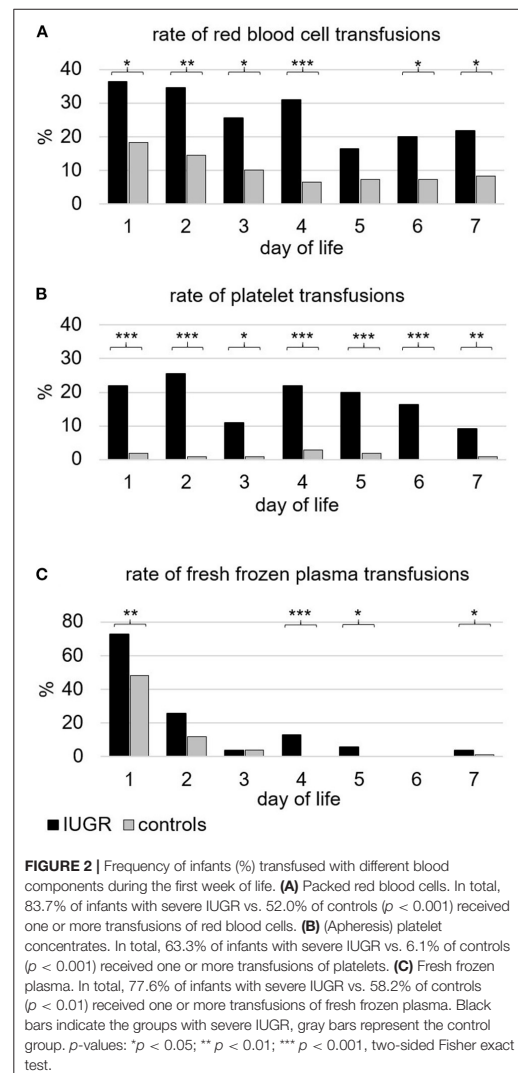
	Severe IUGR (n = 49)	Controls (n = 98)	p-value
Transfusions			
RBC (ml/kg)	33.7 (0–164.5)	12.2 (0–77.1)	<0.001
PLT (ml/kg)	21.3 (0–102.8)	0.0 (0–81.4)	<0.001
FFP (ml/kg)	20.3 (0–96.8)	14.7 (0–71.4)	<0.001
Rate of repeated RBC	27 (55.1)	15 (15.3)	<0.001
Rate of repeated PLT	19 (38.8)	1 (1.0)	<0.001
Rate of repeated FFP	18 (36.7)	2 (2.0)	<0.001
Antibiotic treatment			
Days of antibiotic treatment	15 (0–92)	8 (0–88)	<0.001
Antibiotic treatment on day 7 of life	23/43 (65.1)	24/98 (24.5)	<0.001
Relative duration of antibiotic treatment until day 7 of life	271/321 (84.4)	399/686 (58.2)	<0.001
Second-line antibiotics	32 (65.3)	22 (22.4)	<0.001
Escalation to second-line antibiotics or antibiotic reserve	22 (44.9)	13 (13.3)	<0.001
Ventilation			
Days on invasive ventilation	29/34 (85.3)	43/93 (46.2)	<0.001
Percent days on invasive ventilation/days until death or discharge	30.4 (0–100)	6.8 (0–100)	<0.001
Doses of surfactant	2 (0–3)	1 (0–3)	<0.01
Days on supplemental Oxygen	60 (1–263)	43.5 (0–160)	0.06
Percentage days on supplemental oxygen/days until death or discharge	100 (1.2–100)	59.1 (0–100)	<0.001

Transfusions of blood components during the first week of life, antibiotic treatment, and respiratory support are given as median and range. Rates of repeated transfusions during the first week are given as n, (%).

Neonatal Morbidities

Infections

In IUGR-ELGANs, chorioamnionitis occurred less often, whereas the rates of EOI as well as I-ENP and LOI were significantly higher. The odds ratio (OR) for EOI was 5.46 (95% CI, 2.34–12.73), the OR for I-ENP was 6.83 (95% CI, 3.14–14.89), and the OR for the occurrence of at least one LOI was 2.63 (95% CI, 1.29–5.41) in IUGR-ELGANs compared to controls (Table 5). During the first 72 h of life, 40.8% of IUGR-ELGANs had elevated inflammation parameters compared to 11.2% in the control group ($p < 0.001$). Although the rates of acquired infections subsequently decreased in both groups between days 4 and 7, IUGR-ELGANs still significantly more often suffered from infections (18.4 vs. 6.1%, $p < 0.05$) (Table 5). As shown



in **Supplementary Figure 2** in each group, 77.6% of infants received primary antibiotic treatment, although only 39.5% of infants with severe IUGR and 56.6% of the control group met the laboratory criteria of infection on the first day ($p < 0.05$). However, in both groups, all blood culture examinations taken during the first 3 days of life remained sterile after 5 days of incubation (Table 5). Within the first week of life, IUGR remained the only independent variable (OR 6.18; 95% CI, 2.49–15.33; $p < 0.001$) for increased inflammatory

TABLE 5 | Neonatal morbidities and mortality.

	Severe IUGR (n = 49)	Controls (n = 98)	p-value
Inflammation			
Elevated inflammatory parameter at birth	10 (20.4)	38 (38.7)	<0.05
EOI	20 (40.8)	11 (11.2)	<0.001
Acquired infection DOL 4 to 7	9 (18.4%)	6 (6.1%)	<0.05
I-ENP	29 (59.2)	17 (17.3)	<0.001
Positive blood culture	2/48 (4.2)	1/92 (1.1)	1.0
≥1 LOI	33 (67.3)	41 (41.8)	<0.01
Positive blood culture	18/108 (16.7)	22/102 (21.6)	0.39
Coagulase negative staphylococci	13/18 (72.2)	14/22 (63.6)	0.73
Pneumonia	2/49 (4.1)	6/98 (6.1)	0.72
Hemorrhagic events			
IVH, all grades	7 (14.3)	14 (14.3)	1.0
IVH, > grade 2	5 (10.2)	5 (5.1)	0.30
PH	2 (4.1)	2 (2.0)	0.60
ROP			
All stages	29/34 (85.3)	43/93 (46.2)	<0.001
≥stage 2	9/34 (26.5)	15/93 (16.1)	0.42
Intervention	7/34 (20.6)	8/93 (8.6)	0.12
Abdominal morbidity			
SIP	4 (8.2)	2 (2.0)	0.10
NEC	3 (6.1)	4 (4.1)	0.69
Pulmonary morbidity			
PPHN	11 (22.4)	3 (3.1)	<0.001
BPD ₃₆ or death	48 (98.0)	64 (65.3)	<0.001
Severe BPD or death	21 (42.9)	17 (17.3)	<0.01
O ₂ requirement at 36 weeks postmenstrual age	21/34 (61.8)	22/91 (24.2)	<0.001
Late PAH	10/35 (28.6)	8/91 (8.8)	<0.001
Severe pulmonary morbidity	20 (40.8)	15 (15.3)	<0.01
Death			
	18 (36.7)	7 (7.1)	<0.001

Severe pulmonary morbidity is defined as PH or PPHN or severe BPD or PAH. Variables are given as n (%). DOL = day of life, EOI = early-onset infection (<72 h), I-ENP = infection in the early neonatal period (first 7 days), LOI = late-onset infection (>1 week of life).

markers as analyzed by binary logistic regression (variables included GA, IUGR, WBC, and ANC at birth).

Hemorrhage

As measures for the implication of thrombocytopenia and coagulation disorders, the incidences of IVH (all grades), severe IVH (> grade 2), PH, and combined major hemorrhage (defined as severe IVH or PH) were evaluated but did not differ between IUGR-ELGANs and controls (Table 5). In each group, one infant had both IVH and PH (Table 5). Using binary regression analysis (including the following variables: IUGR, GA, PLT counts at birth and at third day of life and volume of PLT transfusions), the only

independent risk factor for hemorrhage remained GA (OR 0.58; 95% CI, 0.37–0.91; $p = 0.02$).

Pulmonary Morbidity

PPHN occurred more often in IUGR-ELGANs. The incidence of moderate to severe BPD at 36 weeks of postmenstrual age, the rate of the composite outcome BPD36 or death, and late pulmonary arterial hypertension (PAH) were significantly higher in IUGR-ELGANs than in controls (Table 5). A major pulmonary morbidity (defined as PH or PPHN or development of severe BPD or PAH) was associated with IUGR with an OR of 3.82 (95% CI, 1.73–8.42). In a binary logistic regression (including GA, IUGR, duration of mechanical ventilation, total number of infections, and frequency of transfusion of RBCs, PLTs, or FFP), only GA (OR 0.36; 95% CI, 0.18–0.72; $p < 0.05$), IUGR (OR 13.57; 95% CI, 0.138–133.77; $p < 0.05$), and duration of mechanical ventilation (OR 1.10; 95% CI, 1.00–1.22; $p < 0.05$) remained independent factors for BPD and BPD or death.

Major Abdominal Morbidities

NEC and SIP were not statistically different between both groups (Table 5).

ROP

ROP (all stages) occurred more often in IUGR-ELGANs than in controls, but neither the rate of ROP ≥ stage 2 nor the need for intervention were higher (Table 5).

Mortality

The mortality rate prior to discharge was significantly higher in IUGR-ELGANs (Figure 3) with an OR of 7.55 (95% CI, 2.88–19.78) and IUGR (OR 6.95; 95% CI, 1.98–24.42; $p = 0.002$) remained together with GA (OR 0.42; 95% CI, 0.24–0.73; $p = 0.002$) the only independent variable in a binary logistic regression (variables included GA, IUGR, severe pulmonary morbidity, severe abdominal complication, and I-ENP). Supplementary Table 1 summarizes hematologic profile, comorbidities, and interventions for deceased infants and survivors in both groups, respectively. In the early neonatal period, sepsis and PPHN were the main causes of death (Table 6 and Supplementary Table 1) in IUGR-ELGANs, yet without reaching significance level, while severe BPD with PAH caused late mortality ($p < 0.01$). In the control group, mortality was associated with LOI and major abdominal morbidity. In both groups, deceased infants were invasively ventilated longer and received more frequently and longer supplemental oxygen, antibiotic treatment (relative to days of survival or until discharge), and more RBC transfusions. Furthermore, deceased IUGR infants received more PLT transfusions (Supplementary Table 1).

Association of Disturbed Hematopoiesis and Major Morbidities in the Subgroup of IUGR-ELGANs

In binary logistic regression analysis of disturbed hematopoiesis (NRBC ≥ 8/nl, severe thrombocytopenia at birth or on the third day of life, ANC < 500/μl, GA, birth weight), only GA was an

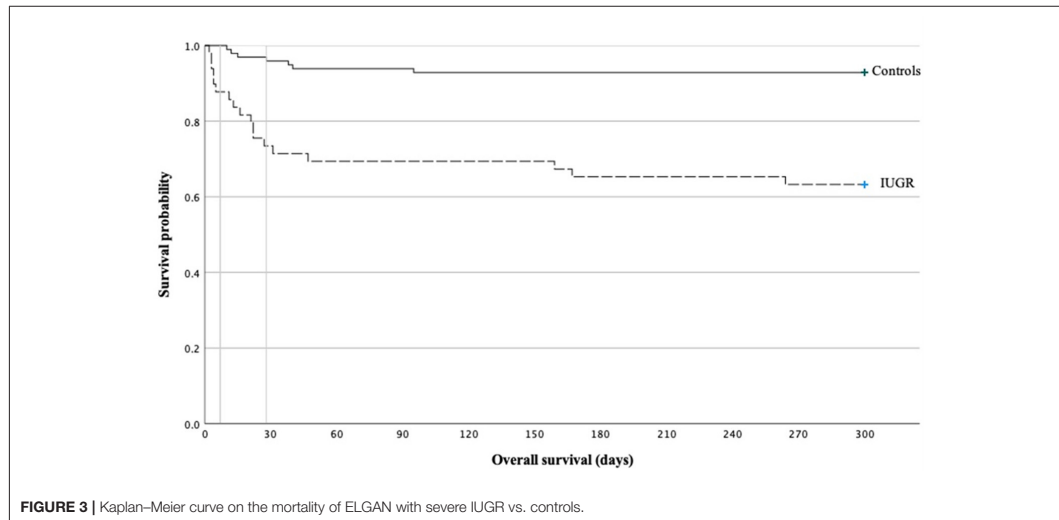


TABLE 6 | Causes of mortality in infants with severe IUGR and controls.

	Severe IUGR (n = 18)	Controls (n = 7)
Neonatal Infections, n (%)	4 (22.2)	2 (28.6)
Sepsis	4 (22.2)	1 (14.3)
Pneumonia	0	2 (28.6)
Abdominal Complications	4 (22.2)	3 (50.0)
NEC	1 (5.6)	1 (14.3)
SIP	1 (5.6)	0 (0.0)
Others	2 (11.1)	2 (28.6)
Lung Diseases/Complications	8 (44.4)	0 (0)
RDS	1 (5.6)	0 (0)
PPHN	2 (11.1)	0 (0)
BPD + PAH	5 (27.8)	0 (0)
Hemorrhagic events	1 (5.6)	0 (0)
IVH	1 (5.6)	0 (0)
Other	1 (5.6)	1 (14.3)

Categorical data are given as n (%).

independent variable for mortality in IUGR-ELGANS (OR 0.28; 95% CI, 0.09–0.933; $p < 0.05$).

DISCUSSION

Hematological Disorders

Our retrospective cohort study confirms the high incidence of early-onset thrombocytopenia (73.5%) and neutropenia (80.9%) in ELGANS with severe IUGR. Increased numbers of NRBC may indicate that chronic fetal hypoxia shifted hematopoiesis toward erythropoiesis at the expense of megakaryopoiesis and granulopoiesis (35, 36). Although both early-onset thrombocytopenia and neutropenia due to maternal or placental

factors are normally mild to moderate and self-limiting within the first week of life (36, 37), we aimed to analyze the consequences on the transfusions of donor blood components and antibiotics.

Anemia and Red Blood Cell Transfusions

Excessive stimulation of erythropoiesis was indicated by massively elevated absolute count of NRBCs. Immediately after birth, the number of NRBC directly correlates with the intrauterine distress and is known to be associated with poor neonatal outcomes (38, 39). Notably, initial hemoglobin concentrations were very similar in IUGR-ELGANS and controls (Table 2), suggesting a shortened life span of RBCs after stress erythropoiesis (40). The higher frequency and volume of RBC transfusion during the first week of life, however, might indicate a higher amount of iatrogenic blood loss in IUGR-ELGANS (Figures 2, 3) (41). Transfusion volumes of 15–20 ml/kg per transfusion were the recommended volumes at that time (42). Due to the lack of robust evidence especially in the beginning of the study period, no standard transfusion threshold was defined in our institution. With the participation in the ETTNO trial (43) from 2011 onwards, infants received RBC transfusions depending on the randomization or (if not included in the RCT) according to the restrictive thresholds of the ETTNO protocol due to the evidence of the systematic review of Whyte and Kirpalani (44). We cannot distinguish whether the higher transfusion rates reflect the same intensity of laboratory diagnostics in a situation of lower total blood volume due to lower birth weight or whether the often more critical conditions urged the attending physician to maintain higher Hb levels in order to optimize circulatory stability and oxygen carrier capacity. Standard procedures for blood examinations at admission and third day of life were the same for all ELGANS during the whole study period.

This raises the question on a higher incidence of NEC and severe ROP that previously have been associated with RBC transfusions in observational studies (45). However, there was no difference in our study for the incidence of NEC and severe ROP or the need for intervention in ROP, although an increased *a priori* risk for NEC or severe ROP has been reported in preterm infants with IUGR (46, 47). A Cochrane meta-analysis as well as two recent RCTs on RBC transfusion thresholds did not show any significant association of death, major morbidities (NEC, ROP, and BPD), or impaired neurodevelopmental outcome in infants transfused according to restrictive vs. liberal transfusion thresholds (43, 44, 48, 49). An attractive alternative approach to avoid RBC transfusions not only by late cord clamping, reduction of iatrogenic blood loss (e.g., no routine coagulation screening in non-bleeding infants), and iron supplementation could be the use of recombinant human erythropoietin (rhEPO), recently shown to be effective in reducing transfusion needs in extreme low birth weight infants (50).

Thrombocytopenia and Platelet Transfusions

In our study, IUGR-ELGANs had lower PLT at birth, but severe thrombocytopenia was rare. Besides the suppression of megakaryopoiesis by excessive erythropoiesis, abnormal villous vessels in placental dysfunction are discussed, causing microangiopathic sequestration and destruction of PLT (35). Notably, there was no difference in major hemorrhage when comparing IUGR-ELGANs with controls, and GA was the only independent risk factor in the regression analysis.

Infants with severe IUGR, however, received intriguingly more PLT transfusions during the first week of life (Figure 2B). As recently reviewed, thresholds for PLT transfusions in very low birth weight infants vary widely (51). During the study period, no clearly defined threshold for PLT transfusions existed in our neonatal intensive care unit (NICU). Depending on the general condition, transfusions of PLT were administered at PLT counts of 50 to 100/nl in a non-bleeding patient; therefore, most of them have been given in the intention to prevent major hemorrhage. We cannot conclude whether this contributed to the low incidence of major hemorrhage. The recent large RCT on PLT transfusions (PlaNeT2), however, showed a higher risk of death or major hemorrhage in the liberal threshold group <50/nl compared to a group receiving PLT transfusions at a restrictive threshold of <25/nl (14). In our study, a higher frequency and volume of PLT transfusions were associated with a higher mortality rate in IUGR-ELGANs, which is in line with the results of PlaNeT2 (14). To date, it remains to be elucidated whether ELGANs with severe IUGR may require individualized or personalized PLT transfusion thresholds if the coagulation screen (or PLT function) may suggest a higher bleeding risk as result of liver dysfunction due to highly stimulated erythropoiesis.

Neutropenia and Infection

The hematopoietic shift toward excessive erythropoiesis is likely to cause the severe neutropenia in IUGR-ELGANs. Besides, neutropenia could also result from a placenta-derived factor that causes in pregnancy-induced hypertension *per se* a reduced

production of neutrophils (52). Considering the high mortality rate and significant long-term morbidity (53), the question of the use of (initial) prophylactic antibiotic treatment or the implementation of antibiotic stewardship requires specific attention. In our study, 23/38 (60.5%) of all IUGR-ELGANs treated with antibiotics on the first day after birth did not exhibit elevated inflammatory parameters. However, 7 out of these 23 infants (30.4%) and further 8 out of 11 infants (72%) without initial antibiotic treatment after birth showed a secondary raise of inflammatory parameters. Due to the suppressed granulopoiesis, infection prevention control should eventually include antibiotic therapy in IUGR-ELGAN during the quantitative and functional recovery of granulopoiesis, despite the evidence that a prolonged initial empiric antibiotic treatment (≥ 5 days) may lead to a higher rate of LOI, NEC, BPD, ROP, and mortality (28, 54). However, whether IUGR-ELGANs exhibit a reduced cellular or humoral defense against bacterial infection during the recovery of granulopoiesis deserves further clinical and laboratory research.

The higher rate of chorioamnionitis in controls might reflect the cause of preterm birth in controls. Intriguingly, the postnatal risk for developing I-ENP was significantly elevated in IUGR-ELGANs (Table 5). In a binary logistic regression, IUGR remained the only independent variable for increased inflammatory markers during the first week of life. So far, it is unclear whether the inflammatory response is primarily associated with early-onset neutropenia (55, 56). It should be discussed whether the higher rate of I-ENP reflects not only initially impaired granulopoiesis, but also reduced cellular function in stress granulopoiesis in IUGR-ELGANs (Table 5) (57). Notably, on day 7, 62.7% of IUGR-ELGANs were treated with antibiotics compared to 24.5% of controls (Table 4, Supplementary Figure 2). However, there was also a significant association between severe IUGR and the incidence of at least one late inflammatory response. The German national surveillance system for nosocomial infection in very low birth-weight infants (NEO-KISS) clearly demonstrated correlation between the infants' birthweight and the incidence of infections (58). Furthermore, a subgroup analysis of a recent cohort study of the German Neonatal Network associated IUGR with early- and late-onset sepsis, as well as clinically suspected and culture-proven sepsis (59). Longer and repetitive antibiotic treatment was shown in previous studies (58) and our cohort. The implication on antibiotic stewardship and long-term morbidities is yet unclear.

Morbidities and Mortality

The well-known association of IUGR and BPD (60, 61) is also found in our analysis of IUGR-ELGANs. The development of BPD was independently associated with GA, IUGR, and days on mechanical ventilation, but the volume of transfusions did not reach significance for the blood components or frequency of infections in binary logistic regression analysis. However, our cohort is likely too small to show the effect of PLT transfusion compared to the much more important risk factors such as GA, birthweight, or invasive ventilation (47). The latter might be a contributing factor, as the secondary outcome of PlaNeT2 showed a higher incidence of BPD in the group with liberal transfusion threshold. PLTs have an immunologic function

and transfusions of adult PLT might cause a proinflammatory response in preterm infants (14). The pathophysiology could include the release of biological response modifiers from stored adult PLTs, claimed to worsen inflammatory injury and BPD (62, 63).

The population size in our subgroup of IUGR-ELGANs does not allow to associate the degree of aberrant hematopoietic findings (e.g., severe thrombocytopenia with a platelet number <50/nl) to the frequency of certain morbidities.

Our study showed a more than sevenfold higher mortality risk for IUGR ELGANs compared to controls comparable to former studies (60, 64). A subgroup analysis of the deceased IUGR infants did not show any association with infections or other life-threatening comorbidities such as severe abdominal complications (**Supplementary Table 1**). In line with a recent cohort study (65), we showed that a severe pulmonary morbidity occurred more often in IUGR-ELGANs and contributed to the early and late mortality in IUGR infants. Treatment of the later deceased infants in both groups was characterized by more intensive care with longer need of invasive ventilation and supplemental oxygen relative to days of survival, prolonged antibiotic treatment, and more RBC and PLT transfusions implicating the serious condition (**Supplementary Table 1**).

The retrospective character of this study bears the risk of uncertain causality, and the long study period can lead to bias due to changes in scientific knowledge and altered standard operating procedures. As this is a monocentric study, a further limitation is the low number of IUGR-ELGANs. However, our case group was carefully matched not only according to GA and sex, but also with regard to the year of neonatal care in order to consider eventual changes in clinical routine. Regarding the low number of cases, the 1:2 allocation strengthens the power of the statistical analysis and therefore provides substantial information on an especially vulnerable group of extreme preterm infants regarding the severe growth restriction.

REFERENCES

- Romo A, Carceller R, Tobajas J. Intrauterine growth retardation (IUGR): epidemiology and etiology. *Pediatr Endocrinol Rev PER*. (2009) 6:332–6.
- Nardoza LMM, Caetano ACR, Zamarian ACP, Mazzola JB, Silva CP, Marçal VMG, et al. Fetal growth restriction: current knowledge. *Arch Gynecol Obstet*. (2017) 295:1061–77. doi: 10.1007/s00404-017-4341-9
- Gilbert WM, Danielsen B. Pregnancy outcomes associated with intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol*. (2003) 188:1596–9. doi: 10.1067/mob.2003.384
- Ott WJ. Intrauterine growth retardation and preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol*. (1993) 168:1710–7. doi: 10.1016/0002-9378(93)90681-8
- Malhotra A, Allison BJ, Castillo-Melendez M, Jenkin G, Polglase GR, Miller SL. Neonatal morbidities of fetal growth restriction: pathophysiology and impact. *Front Endocrinol*. (2019) 10:55. doi: 10.3389/fendo.2019.00055
- Thilaganathan B, Athanasiou S, Ozmen S, Creighton S, Watson NR, Nicolaides KH. Umbilical cord blood erythroblast count as an index of intrauterine hypoxia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. (1994) 70:F192–4. doi: 10.1136/fn.70.3.F192

In summary, the disturbed hematopoiesis in IUGR-ELGAN deserves particular attention. Infection prevention control should eventually include antibiotic treatment during the recovery period of granulopoiesis. Although rather restrictive transfusion thresholds and policies appear to be beneficial, this very vulnerable group of infants is not adequately represented in current RCTs on neonatal transfusions.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

ETHICS STATEMENT

The studies involving human participants were reviewed and approved by Institution Review Board, Charité - University Medicine, Berlin, Protocol No. EA2/053/18. Written informed consent from the participants' legal guardian/next of kin was not required to participate in this study in accordance with the national legislation and the institutional requirements.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

CD and TM developed the study concept and design. NR and TM obtained, analyzed, interpreted the data, and wrote the first draft of the manuscript. CD contributed to interpretation of the results. CD and CB significantly contributed to the discussion and revised the first draft. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fped.2021.728607/full#supplementary-material>

- Sola-Visner M, Saxonhouse MA, Brown RE. Neonatal thrombocytopenia: what we do and don't know. *Early Hum Dev*. (2008) 84:499–506. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2008.06.004
- Christensen RD, Yoder BA, Baer VL, Snow GL, Butler A. Early-onset neutropenia in small-for-gestational-age infants. *Pediatrics*. (2015) 136:e1259–67. doi: 10.1542/peds.2015-1638
- Christensen RD, Baer VL, Henry E, Snow GL, Butler A, Sola-Visner MC. Thrombocytopenia in small-for-gestational-age infants. *Pediatrics*. (2015) 136:e361–70. doi: 10.1542/peds.2014-4182
- Longo S, Borghesi A, Tziella C, Stronati M. IUGR and infections. *Early Hum Dev*. (2014) 90:S42–4. doi: 10.1016/S0378-3782(14)70014-3
- Gunnink SF, Vlugg R, Fijnvandraat K, van der Bom JG, Stanworth SJ, Lopriore E. Neonatal thrombocytopenia: etiology, management and outcome. *Expert Rev Hematol*. (2014) 7:387–95. doi: 10.1586/17474086.2014.902301
- Vlugg RD, Lopriore E, Janssen M, Middeldorp JM, Rath MEA, Smits-Wintjens VEJ. Thrombocytopenia in neonates with polycythemia: incidence, risk factors and clinical outcome. *Expert Rev Hematol*. (2015) 8:123–9. doi: 10.1586/17474086.2015.997705

13. Resch E, Hinkas O, Urlesberger B, Resch B. Neonatal thrombocytopenia-causes and outcomes following platelet transfusions. *Eur J Pediatr.* (2018) 177:1045–52. doi: 10.1007/s00431-018-3153-7
14. Curley A, Stanworth SJ, Willoughby K, Fustolo-Gunnink SF, Venkatesh V, Hudson C, et al. Randomized trial of platelet-transfusion thresholds in neonates. *N Engl J Med.* (2019) 380:242–51. doi: 10.1056/NEJMoa1807320
15. Kumar J, Dutta S, Sundaram V, Saini SS, Sharma RR, Varma N. Platelet transfusion for PDA closure in preterm infants: a randomized controlled trial. *Pediatrics.* (2019) 143:e20182565. doi: 10.1542/peds.2018-2565
16. Gómez O, Figueras F, Fernández S, Bannasar M, Martínez JM, Puerto B, et al. Reference ranges for uterine artery mean pulsatility index at 11–41 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* (2008) 32:128–32. doi: 10.1002/uog.5315
17. Mureşan D, Rotar IC, Stamatian F. The usefulness of fetal Doppler evaluation in early versus late onset intrauterine growth restriction. *Rev Literat Med Ultrason.* (2016) 18:103–9. doi: 10.11152/mu.2013.2066.181.dop
18. Mifsud W, Sebire NJ. Placental pathology in early-onset and late-onset fetal growth restriction. *Fetal Diagn Ther.* (2014) 36:117–28. doi: 10.1159/000359969
19. Christensen RD, Henry E, Andres RL, Bennett ST. Reference ranges for blood concentrations of nucleated red blood cells in neonates. *Neonatology.* (2011) 99:289–94. doi: 10.1159/000320148
20. Wiedmeier SE, Henry E, Sola-Visner MC, Christensen RD. Platelet reference ranges for neonates, defined using data from over 47,000 patients in a multihospital healthcare system. *J Perinatol.* (2009) 29:130–6. doi: 10.1038/jp.2008.141
21. Schmutz N, Henry E, Jopling J, Christensen RD. Expected ranges for blood neutrophil concentrations of neonates: the Manroe and Mouzinho charts revisited. *J Perinatol.* (2008) 28:275–81. doi: 10.1038/sj.jp.7211916
22. Neary E, Okafor I, Al-Awaysheh F, Kirkham C, Sheehan K, Mooney C, et al. Laboratory coagulation parameters in extremely premature infants born earlier than 27 gestational weeks upon admission to a neonatal intensive care unit. *Neonatology.* (2013) 104:222–7. doi: 10.1159/000353366
23. Doellner H, Arntzen KJ, Haeroid PE, Aag S, Austgulen R. Interleukin-6 concentrations in neonates evaluated for sepsis. *J Pediatr.* (1998) 132:295–9. doi: 10.1016/S0022-3476(98)70448-2
24. Messer J, Eyer D, Donato L, Gallati H, Matis J, Simeoni U. Evaluation of interleukin-6 and soluble receptors of tumor necrosis factor for early diagnosis of neonatal infection. *J Pediatr.* (1996) 129:574–80. doi: 10.1016/S0022-3476(96)70123-3
25. Redline RW, Faye-Petersen O, Heller D, Qureshi F, Savell V, Vogler C. Society for Pediatric Pathology, Perinatal Section, Amniotic Fluid Infection Nosology Committee. Amniotic infection syndrome: nosology and reproducibility of placental reaction patterns. *Pediatr Dev Pathol.* (2003) 6:435–48. doi: 10.1007/s10024-003-7070-y
26. Kuzniewicz MW, Puopolo KM, Fischer A, Walsh EM Li S, Newman TB, Kipnis P, et al. Quantitative, risk-based approach to the management of neonatal early-onset sepsis. *JAMA Pediatr.* (2017) 171:365–71. doi: 10.1001/jamapediatrics.2016.4678
27. Wagstaff JS, Durrant RJ, Newman MG, Eason R, Ward RM, Sherwin CMT, Enioutina EY. Antibiotic treatment of suspected and confirmed neonatal sepsis within 28 days of birth: a retrospective analysis. *Front Pharmacol.* (2019) 10:1191. doi: 10.3389/fphar.2019.01191
28. Ting JY, Synnes A, Roberts A, Deshpandey A, Dow K, Yoon EW, et al. Association between antibiotic use and neonatal mortality and morbidities in very low-birth-weight infants without culture-proven sepsis or necrotizing enterocolitis. *JAMA Pediatr.* (2016) 170:1181–7. doi: 10.1001/jamapediatrics.2016.2132
29. Papile LA, Burstein J, Burstein R, Koffler H. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weights less than 1,500 gm. *J Pediatr.* (1978) 92:529–34. doi: 10.1016/S0022-3476(78)80282-0
30. Usemann J, Garten L, Bühner C, Dame C, Cremer M. Fresh frozen plasma transfusion - a risk factor for pulmonary hemorrhage in extremely low birth weight infants? *J Perinat Med.* (2017) 45:627–33. doi: 10.1515/jpm-2016-0309
31. Jain A, McNamara PJ. Persistent pulmonary hypertension of the newborn: advances in diagnosis and treatment. *Semin Fetal Neonatal Med.* (2015) 20:262–71. doi: 10.1016/j.siny.2015.03.001
32. Bell MJ, Ternberg JL, Feigin RD, Keating JP, Marshall R, Barton L, et al. Neonatal necrotizing enterocolitis. Therapeutic decisions based upon clinical staging. *Ann Surg.* (1978) 187:1–7. doi: 10.1097/0000658-197801000-00001
33. International Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity. The international classification of retinopathy of prematurity revisited. *Arch Ophthalmol Chic Ill.* (2005) 123:991–9. doi: 10.1001/archophth.123.7.991
34. Jobe AH, Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med.* (2001) 163:1723–9. doi: 10.1164/ajrccm.163.7.2011060
35. Black LV, Maheshwari A. Disorders of the fetomaternal unit: hematologic manifestations in the fetus and neonate. *Semin Perinatol.* (2009) 33:12–9. doi: 10.1053/j.semperi.2008.10.005
36. Cremer M, Sallmon H, Kling PJ, Bühner C, Dame C. Thrombocytopenia and platelet transfusion in the neonate. *Semin Fetal Neonatal Med.* (2016) 21:10–8. doi: 10.1016/j.siny.2015.11.001
37. Del Vecchio A, Christensen RD. Neonatal retinopathy: what diagnostic evaluation is needed and when is treatment recommended? *Early Hum Dev.* (2012) 88:S19–24. doi: 10.1016/S0378-3782(12)70007-5
38. Miniur VK, Levine B, Ferber A, Guller S, Divon MY. Nucleated red blood cells as a marker of acute and chronic fetal hypoxia in a rat model. *Rambam Maimonides Med J.* (2017) 8:e0025. doi: 10.5041/RMMJ.10302
39. Cremer M, Roll S, Gräf C, Weimann A, Bühner C, Dame C. Nucleated red blood cells as marker for an increased risk of unfavorable outcome and mortality in very low birth weight infants. *Early Hum Dev.* (2015) 91:559–63. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2015.06.004
40. Kuruvilla DJ, Widness JA, Nalbant D, Schmidt RL, Mock DM, Veng-Pedersen P, et al. Method to evaluate fetal erythropoiesis from postnatal survival of fetal RBCs. *AAPS J.* (2015) 17:1246–54. doi: 10.1208/s12248-015-9784-y
41. Howarth C, Banerjee J, Aladagandy N. Red blood cell transfusion in preterm infants: current evidence and controversies. *Neonatology.* (2018) 114:7–16. doi: 10.1159/000486584
42. Ärzteblatt Deutsches. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie): Neuformulierung 2003. *Dtsch Arztebl.* (2004) Available online at: [https://www.aerzteblatt.de/archiv/40348/Richtlinien-zur-Gewinnung-von-Blut-und-Blutbestandteilen-und-zur-Anwendung-von-Blutprodukten-\(Haemotherapie\)-Neuformulierung-2003](https://www.aerzteblatt.de/archiv/40348/Richtlinien-zur-Gewinnung-von-Blut-und-Blutbestandteilen-und-zur-Anwendung-von-Blutprodukten-(Haemotherapie)-Neuformulierung-2003). (accessed June 7, 2021)
43. Franz AR, Engel C, Bassler D, Rüdiger M, Thome UH, Maier RF, et al. Effects of liberal vs restrictive transfusion thresholds on survival and neurocognitive outcomes in extremely low-birth-weight infants: the ETTNO randomized clinical trial. *JAMA.* (2020) 324:560–70. doi: 10.1001/jama.2020.10690
44. Whyte R, Kirpalani H. Low versus high haemoglobin concentration threshold for blood transfusion for preventing morbidity and mortality in very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev.* (2011) 11:1–43. doi: 10.1002/14651858.CD000512.pub2
45. Mohamed A, Shah PS. Transfusion associated necrotizing enterocolitis: a meta-analysis of observational data. *Pediatrics.* (2012) 129:529–40. doi: 10.1542/peds.2011-2872
46. Samuels N, van de Graaf RA, de Jonge RCJ, Reiss IKM, Vermeulen MJ. Risk factors for necrotizing enterocolitis in neonates: a systematic review of prognostic studies. *BMC Pediatr.* (2017) 17:105. doi: 10.1186/s12887-017-0847-3
47. Bas AY, Demirel N, Koc E, Ulubas Isik D, Hirfanoglu IM, Tunc T. TR-ROP study group. Incidence, risk factors and severity of retinopathy of prematurity in Turkey (TR-ROP study): a prospective, multicentre study in 69 neonatal intensive care units. *Br J Ophthalmol.* (2018) 102:1711–6. doi: 10.1136/bjophthalmol-2017-311789
48. Kirpalani H, Bell EF, Hintz SR, Tan S, Schmidt B, Chaudhary AS, et al. Higher or lower hemoglobin transfusion thresholds for preterm infants. *N Engl J Med.* (2020) 383:2639–51. doi: 10.1056/NEJMoa2020248
49. Keir A, Pal S, Trivella M, Lieberman L, Callum J, Shehata N, et al. Adverse effects of red blood cell transfusions in neonates: a systematic review and meta-analysis. *Transfusion.* (2016) 56:2773–80. doi: 10.1111/trf.13785
50. Juul SE, Vu PT, Comstock BA, Wadhawan R, Mayock DE, Courtney SE, et al. Effect of high-dose erythropoietin on blood transfusions in extremely low gestational age neonates: post hoc analysis of a randomized clinical trial. *JAMA Pediatr.* (2020) 174:933–43. doi: 10.1001/jamapediatrics.2020.2271

51. Lopriore E. Updates in red blood cell and platelet transfusions in preterm neonates. *Am J Perinatol*. (2019) 36:S37–40. doi: 10.1055/s-0039-1691775
52. Koenig JM, Christensen RD. The mechanism responsible for diminished neutrophil production in neonates delivered of women with pregnancy-induced hypertension. *Am J Obstet Gynecol*. (1991) 165:467–73. doi: 10.1016/0002-9378(91)90118-B
53. Haller S, Deindl P, Cassini A, Suetens C, Zingg W, Abu Sin M, et al. Neurological sequelae of healthcare-associated sepsis in very-low-birthweight infants: umbrella review and evidence-based outcome tree. *Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull*. (2016) 21:30143. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.8.30143
54. Cotten CM, Taylor S, Stoll B, Goldberg RN, Hansen NI, Sánchez PJ, et al. NICHD neonatal research network. Prolonged duration of initial empirical antibiotic treatment is associated with increased rates of necrotizing enterocolitis and death for extremely low birth weight infants. *Pediatrics*. (2009) 123:58–66. doi: 10.1542/peds.2007-3423
55. Paul DA, Leef KH, Sciscione A, Tuttle DJ, Stefano JL. Preeclampsia does not increase the risk for culture proven sepsis in very low birth weight infants. *Am J Perinatol*. (1999) 16:365–72. doi: 10.1055/s-2007-993886
56. Doron MW, Makhoulf RA, Katz VL, Lawson EE, Stiles AD. Increased incidence of sepsis at birth in neutropenic infants of mothers with preeclampsia. *J Pediatr*. (1994) 125:452–8. doi: 10.1016/S0022-3476(05)83294-9
57. Marcos V, Nussbaum C, Vitkov L, Hector A, Wiedenbauer E-M, Roos D, et al. Delayed but functional neutrophil extracellular trap formation in neonates. *Blood*. (2009) 114:4908–11. doi: 10.1182/blood-2009-09-242388
58. Bartels DB, Schwab F, Geffers C, Poets CF, Gastmeier P. Nosocomial infection in small for gestational age newborns with birth weight <1500 g: a multicentre analysis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. (2007) 92:F449–53. doi: 10.1136/adc.2006.114504
59. Bossung V, Fortmann MI, Fusch C, Rausch T, Herting E, Swoboda I, et al. Neonatal outcome after preeclampsia and HELLP syndrome: a population-based cohort study in Germany. *Front Pediatr*. (2020) 8:579293. doi: 10.3389/fped.2020.579293
60. Jensen EA, Foglia EE, Dysart KC, Simmons RA, Aghai ZH, Cook A, et al. Adverse effects of small for gestational age differ by gestational week among very preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. (2019) 104:F192–8. doi: 10.1136/archdischild-2017-314171
61. Sharma P, McKay K, Rosenkrantz TS, Hussain N. Comparisons of mortality and pre-discharge respiratory outcomes in small-for-gestational-age and appropriate-for-gestational-age premature infants. *BMC Pediatr*. (2004) 4:9. doi: 10.1186/1471-2431-4-9
62. Waubert de Puiseau M, Sciesielski LK, Meyer O, Liu Z-J, Badur C-A, Schönfeld H, et al. Pooling, room temperature, and extended storage time increase the release of adult-specific biologic response modifiers in platelet concentrates: a hidden transfusion risk for neonates? *Transfusion*. (2020) 60:1828–36. doi: 10.1111/trf.15827
63. Stark A, Dammann C, Nielsen HC, Volpe MV. A pathogenic relationship of bronchopulmonary dysplasia and retinopathy of prematurity? A review of angiogenic mediators in both diseases. *Front Pediatr*. (2018) 6:125. doi: 10.3389/fped.2018.00125
64. Temming LA, Dicke JM, Stout MJ, Rampersad RM, Macones GA, Tuuli MG, et al. Early second-trimester fetal growth restriction and adverse perinatal outcomes. *Obstet Gynecol*. (2017) 130:865–9. doi: 10.1097/AOG.0000000000002209
65. Härkin P, Marttila R, Pokka T, Saarela T, Hallman M. Survival analysis of a cohort of extremely preterm infants born in Finland during 2005–2013. *J Matern Fetal Neonatal Med*. (2019) 34:2506–12. doi: 10.1080/14767058.2019.1668925

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's Note: All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

Copyright © 2021 Reibel, Dame, Bühler and Muehlbacher. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Auszug aus der Journal Summary List

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2017** Selected Editions: SCIE, SSCI. Selected Categories: **"PEDIATRICS"** Selected Category Scheme: WoS. **Gesamtanzahl: 124 Journale**

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfaktor
1	JAMA Pediatrics	5,870	10.769	0.033730
2	JOURNAL OF THE AMERICAN ACADEMY OF CHILD AND ADOLESCENT PSYCHIATRY	19,482	6.250	0.019260
3	PEDIATRICS	77,301	5.515	0.118620
4	PEDIATRIC ALLERGY AND IMMUNOLOGY	4,341	4.137	0.006970
5	JOURNAL OF ADOLESCENT HEALTH	14,174	4.098	0.026400
6	Pediatric Obesity	1,632	3.980	0.007020
7	Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition	3,893	3.953	0.009610
8	JOURNAL OF PEDIATRICS	31,289	3.667	0.047810
9	EUROPEAN CHILD & ADOLESCENT PSYCHIATRY	4,492	3.553	0.007980
10	Seminars in Fetal & Neonatal Medicine	2,246	3.435	0.005380
11	DEVELOPMENTAL MEDICINE AND CHILD NEUROLOGY	11,671	3.289	0.013680
12	ARCHIVES OF DISEASE IN CHILDHOOD	16,281	3.258	0.015810
13	Maternal and Child Nutrition	2,405	3.233	0.006190
14	PEDIATRIC DIABETES	3,033	3.161	0.007530
15	PEDIATRIC PULMONOLOGY	6,730	3.157	0.009940
16	PEDIATRIC RESEARCH	13,691	3.123	0.015050
17	Pediatric Critical Care Medicine	5,763	3.092	0.011600
18	CLINICS IN PERINATOLOGY	2,377	2.915	0.004200
19	JOURNAL OF CHILD AND ADOLESCENT PSYCHOPHARMACOLOGY	2,677	2.901	0.004860
20	SEMINARS IN PERINATOLOGY	3,088	2.885	0.005580
21	PEDIATRIC CLINICS OF NORTH AMERICA	3,177	2.808	0.004830
22	Academic Pediatrics	2,106	2.806	0.008100

Druckexemplar der Publikation 2: “*Prophylactic Early Erythropoietin for Neuroprotection in Preterm Infants: A Meta-analysis*”

Fischer HS, **Reibel NJ**, Bühner C, Dame C. Prophylactic Early Erythropoietin for Neuroprotection in Preterm Infants: A Meta-analysis. *Pediatrics*. 2017;139(5).

URL: <https://doi.org/10.1542/peds.2016-4317>

Auszug aus der Journal Summary List

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2021** Selected Editions: SCIE, SSCI. Selected Categories: **"PEDIATRICS"** Selected Category Scheme: WoS. **Gesamtanzahl: 130 Journale**

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfaktor
1	Lancet Child & Adolescent Health	7,694	37.746	0.02238
2	JAMA Pediatrics	19,187	26.796	0.04498
3	JOURNAL OF THE AMERICAN ACADEMY OF CHILD AND ADOLESCENT PSYCHIATRY	25,754	13.113	0.01707
4	PEDIATRICS	101,828	9.703	0.08659
5	World Journal of Pediatrics	2,565	9.186	0.00395
6	JOURNAL OF ADOLESCENT HEALTH	23,158	7.830	0.02445
7	Child and Adolescent Psychiatry and Mental Health	2,294	7.494	0.00301
8	Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition	9,346	6.643	0.00805
9	JOURNAL OF PEDIATRICS	43,330	6.314	0.03843
10	Paediatric Respiratory Reviews	2,755	5.526	0.00290
11	PEDIATRIC ALLERGY AND IMMUNOLOGY	6,579	5.464	0.00637
12	EUROPEAN CHILD & ADOLESCENT PSYCHIATRY	9,448	5.349	0.01121
13	INDIAN JOURNAL OF PEDIATRICS	5,511	5.319	0.00495
14	Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society	2,794	5.235	0.00602
15	Neonatology	4,366	5.106	0.00584
16	ARCHIVES OF DISEASE IN CHILDHOOD	18,619	4.920	0.01201
17	DEVELOPMENTAL MEDICINE AND CHILD NEUROLOGY	17,461	4.864	0.01202
18	Hormone Research in Paediatrics	3,265	4.275	0.00412
19	PEDIATRIC NEUROLOGY	7,875	4.210	0.00711
20	Child and Adolescent Mental Health	1,723	4.111	0.00195
21	PEDIATRIC PULMONOLOGY	11,057	4.090	0.01110
22	ACTA PAEDIATRICA	17,876	4.056	0.01359
23	Translational Pediatrics	1,324	4.047	0.00225

24	Pediatric Critical Care Medicine	9,881	3.971	0.01096
25	PEDIATRIC RESEARCH	19,790	3.953	0.01565
26	PEDIATRIC DRUGS	1,846	3.930	0.00194
27	Pediatric Obesity	3,510	3.910	0.00506
28	EUROPEAN JOURNAL OF PEDIATRICS	11,435	3.860	0.00978
29	INDIAN PEDIATRICS	4,665	3.839	0.00387
30	PEDIATRIC BLOOD & CANCER	17,993	3.838	0.02159
31	PEDIATRIC INFECTIOUS DISEASE JOURNAL	14,914	3.806	0.01406
32	International Breastfeeding Journal	1,852	3.790	0.00222
33	Seminars in Fetal & Neonatal Medicine	3,819	3.726	0.00453
34	EUROPEAN JOURNAL OF PAEDIATRIC NEUROLOGY	4,458	3.692	0.00541
35	Maternal and Child Nutrition	5,563	3.660	0.00863
36	PEDIATRIC NEPHROLOGY	12,252	3.651	0.00939
37	PEDIATRIC CLINICS OF NORTH AMERICA	5,332	3.580	0.00424
38	Frontiers in Pediatrics	9,940	3.569	0.01864
39	Pediatric Rheumatology	2,574	3.413	0.00356
40	PEDIATRIC DIABETES	6,046	3.409	0.01044
41	SEMINARS IN PERINATOLOGY	4,937	3.311	0.00519
42	JOURNAL OF PEDIATRIC GASTROENTEROLOGY AND NUTRITION	15,773	3.288	0.01288
43	Italian Journal of Pediatrics	3,637	3.288	0.00451
44	International Journal of Paediatric Dentistry	3,599	3.264	0.00271
45	Journal of Perinatology	10,330	3.225	0.01059
46	PAEDIATRIC AND PERINATAL EPIDEMIOLOGY	4,097	3.103	0.00372
47	BIRTH-ISSUES IN PERINATAL CARE	2,998	3.081	0.00238
48	AMERICAN JOURNAL OF PERINATOLOGY	6,604	3.079	0.00969
49	Seminars in Pediatric Neurology	1,485	3.042	0.00125
50	JOURNAL OF CHILD AND ADOLESCENT PSYCHOPHARMACOLOGY	3,734	3.031	0.00447
51	PEDIATRIC RADIOLOGY	9,139	3.005	0.00644
52	Academic Pediatrics	4,708	2.993	0.00889
53	Jornal de Pediatria	3,242	2.990	0.00290
54	JOURNAL OF DEVELOPMENTAL AND BEHAVIORAL PEDIATRICS	5,389	2.988	0.00446

Druckexemplar der Publikation 3: “Prophylactic Erythropoietin for Neuroprotection in Very Preterm Infants: A Meta-Analysis Update”



Prophylactic Erythropoietin for Neuroprotection in Very Preterm Infants: A Meta-Analysis Update

Hendrik S. Fischer, Nora J. Reibel, Christoph Bührer and Christof Dame*

Department of Neonatology, Charité—Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany

A meta-analysis update of randomized controlled trials investigating recombinant human erythropoietin suggests improved neurodevelopmental outcome in preterm infants. There was substantial heterogeneity, which could be ascribed to a single trial. Exclusion of this trial featuring a high risk of bias abolished heterogeneity and any effects of recombinant human erythropoietin treatment.

Keywords: erythropoietin, meta-analysis, neurodevelopment, neuroprotection, VLBW and ELBW infants

INTRODUCTION

Recombinant human erythropoietin (rhEPO) is considered a neuroprotective or neurorestorative drug for the premature brain, because it has been experimentally shown to prevent or to mitigate white matter injury. rhEPO reduces the need for red blood cell transfusions in preterm infants, but only few randomized controlled trials (RCTs) have addressed neurodevelopmental outcomes. Our previous meta-analysis (2017) showed a beneficial effect of prophylactic rhEPO on cognitive scores at 18–24 months' corrected age (1). The recent publication of a large multicenter RCT, *Preterm Erythropoietin Neuroprotection Trial* (PENUT), raises the question as to the robustness of this finding (2).

METHODS

Following the original methodology (1), we aimed to identify all RCTs investigating the effects of prophylactic rhEPO in preterm infants vs. no treatment or placebo and reporting neurodevelopmental outcomes. The literature search, study selection, and data extraction followed the standard search methods of the Cochrane Collaboration (3). The database search was updated on October 11, 2020 (see **Supplementary Information A** for details). Two authors (H.F. and C.D.) independently searched the databases MEDLINE, Embase, and CENTRAL and used additional information (cross-referencing of previous reviews and trials, expert information, information about ongoing trials of the International Clinical Trials Registry Platform (4) to identify and select studies and extracted the data). The included studies were independently assessed by two study authors (H.F. and N.R.) using the Cochrane risk-of-bias tool for RCTs. Any discrepancies were resolved by a third author (C.B. or C.D.). For all pre-specified outcomes, funnel plots were used to assess for publication bias (3).

The primary outcome was the number of infants with a Mental Development Index (MDI) <70 on the Bayley Scales of Infant Development, second edition (BSID-II), or a composite cognitive score <85 on BSID-III. Equivalence of these cognitive outcome measures was accepted, as a study showed that a composite cognitive score <85 (BSID-III) predicted an MDI <70 (BSID-II) with an overall agreement of 97.3% (5). Secondary outcomes included the number of infants with a Psychomotor Development Index <70 (BSID-II), cerebral palsy, any neurodevelopmental impairment, and a planned subgroup analysis of

OPEN ACCESS

Edited by:

Graeme R. Polglase,
Monash University, Australia

Reviewed by:

Helen G. Liley,
The University of Queensland, Australia
Robin Ohls,
The University of Utah, United States
Hans Ulrich Bucher,
University Hospital Zürich, Switzerland

*Correspondence:

Christof Dame
christof.dame@charite.de

Specialty section:

This article was submitted to
Neonatology,
a section of the journal
Frontiers in Pediatrics

Received: 22 January 2021

Accepted: 31 March 2021

Published: 20 May 2021

Citation:

Fischer HS, Reibel NJ, Bührer C and
Dame C (2021) Prophylactic
Erythropoietin for Neuroprotection in
Very Preterm Infants: A Meta-Analysis
Update. *Front. Pediatr.* 9:657228.
doi: 10.3389/fped.2021.657228

TABLE 1 | Characteristics of included studies.

References	Year	n	Gestational age, birth weight	Time point of intervention	Intervention	Recruitment
Ohls et al. (7)	2004	102	≤32 ^{0/7} , ≤1,000 g	24–96 h of age	rhEPO 400 IU/kg IV or SC, 3 times per week until 35 ^{0/7} weeks' postmenstrual age	1997–1998
Ohls et al. (8)	2014	53 ^a	any GA, ^b 500–1,250 g	≤48 h of age	rhEPO 400 IU/kg SC, 3 times per week until 35 ^{0/7} weeks' postmenstrual age	2006–2010
Natalucci et al. (9)	2016	365	26 ^{0/7} to 31 ^{6/7} , any BW	<3 h of age	rhEPO 3,000 IU/kg IV at <3, 12–18, and 36–42 h of age	2005–2012
Song et al. (10)	2016	613	≤32 ^{0/7} , any BW	<72 h of age	rhEPO 500 IU/kg IV every other day for 2 weeks	2009–2013
Peltoniemi et al. (6)	2017	35	24 ^{0/7} to 30 ^{0/7} , 700–1,500 g	1st day of life	rhEPO 250 IU/kg IV daily from days 1 to 6	1998–2000
Juul et al. (2)	2020	628	24 ^{0/7} to 27 ^{6/7} , any BW	≤24 h of age	rhEPO 1,000 IU/kg IV every 48 h for 6 doses, followed by 400 IU SC 3 times per week until 32 ^{6/7} weeks' postmenstrual age	2013–2016

BW, birth weight; GA, gestational age; rhEPO, recombinant human erythropoietin; IU, international units; IV, intravenously; SC, subcutaneously.

^aThis study had three groups: rhEPO (n = 29) vs. placebo (n = 24) vs. darbepoetin (n = 27). The darbepoetin group was not included in the meta-analysis.

^bMedian (interquartile range) GA of included infants: 28 (26–29) weeks; study entry criteria: preterm infants with a birth weight of 500–1,250 g.

MDI <70 (BSID-II) or composite cognitive score <85 (BSID-III) in infants of <28 weeks' gestational age.

To include *PENUT*, the timeframe was extended to 18–26 months' corrected age (previously 18–24 months). Moreover, we added (1) a sensitivity analysis that excluded the data from RCTs with a high risk of bias in one or more domains of the Cochrane risk-of-bias assessment tool; (2) exploratory analyses that investigated the effects of prophylactic rhEPO on mortality, on a combined outcome of death or MDI <70 or composite cognitive score <85 and on a combined outcome of death or any neurodevelopmental impairment; and (3) exploratory analyses that investigated the effects of high-dose rhEPO (≥1,000 IU/kg per dose) vs. low- to moderate-dose rhEPO (<1,000 IU/kg per dose) on neurodevelopmental outcome measures. A level of statistical significance of $p < 0.05$ was accepted when testing for subgroup differences.

RESULTS

The update identified 164 additional records, of which 11 were assessed as full text (**Supplementary Figure 1**): Six RCTs were excluded because they did not report neurodevelopmental outcomes, and three reported behavioral measures or results of imaging studies at 3.5–6 years (see **Supplementary Information B** for details). Two more RCTs (2, 6) were included (**Table 1**). Study details and the complete risk-of-bias assessment are available online (**Supplementary Table 1**).

Meta-analysis of the five trials that reported MDI <70 (BSID II) or composite cognitive score <85 (BSID-III) at 18–26 months' corrected age showed a risk reduction from 20 to 14% associated

with prophylactic rhEPO (odds ratio 0.61, $p = 0.03$, **Figure 1A**), corresponding to a number needed to treat of 17. rhEPO had no significant effect on any secondary outcome. Forest plots for outcomes with new data are shown in **Figures 1B–D**.

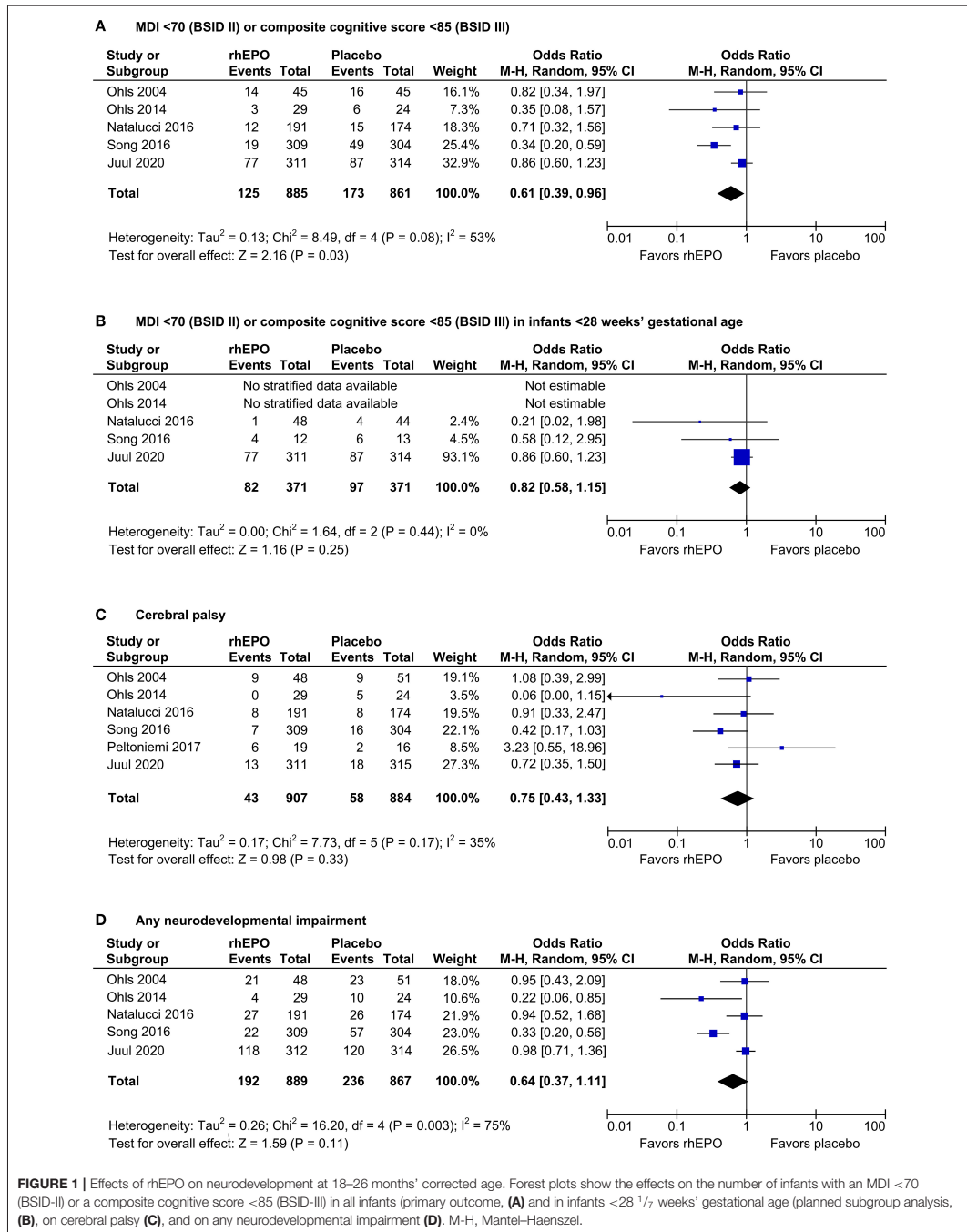
The methodological quality of the included RCTs was mostly high, with low or sometimes unclear risk of bias in most domains (**Supplementary Table 1**). Only one study (10) was categorized as “high risk of bias” in two domains (blinding of participants and personnel and selective reporting). After exclusion of this study, the statistically significant effect of rhEPO on the primary outcome of MDI <70 or a composite cognitive score <85 disappeared (**Supplementary Figure 2**), as did all indicators of heterogeneity in this analysis ($\tau^2 = 0$, $\chi^2 < df$, $I^2 = 0\%$).

Exploratory analyses showed no effect of rhEPO on mortality, on the combined outcome of death or MDI <70 or a composite cognitive score <85 or on the combined outcome of death or neurodevelopmental impairment (**Supplementary Figure 3**). The exploratory subgroup analyses showed a beneficial effect of rhEPO on MDI <70 or a composite cognitive score <85 and a borderline beneficial effect on any neurodevelopmental impairment, only in the subgroup of trials that applied low- to moderate-dose rhEPO (**Supplementary Figures 4A,D**). The tests for subgroup differences showed no differences in the effects of high-dose vs. low- to moderate-dose rhEPO on any neurodevelopmental outcome (**Supplementary Figure 4**). The assessment of the funnel plots did not reveal major asymmetries (**Supplementary Figure 5**).

DISCUSSION

This update continues to indicate a benefit of prophylactic rhEPO by lowering the number of very preterm infants with an MDI of <70 or composite cognitive score of <85 (**Figure 1A**). However, no effect on MDI <70 or a composite cognitive score <85 could be ascertained in the subgroup of infants born below 28 weeks' gestational age, possibly due to the small number of study

Abbreviations: BSD-II, Bayley Scales of Infant Development, second edition; BSD-III, Bayley Scales of Infant Development, third edition; MDI, Mental Development Index; *PENUT*, Preterm Erythropoietin Neuroprotection Trial; RBC, red blood cell; RCT, randomized controlled trial; rhEPO, recombinant human erythropoietin.



patients in this subgroup (Figure 1B). There were no beneficial effects on any secondary outcomes. While significantly improved neurodevelopment at the age of 3.5 to 4 years has been reported in one RCT (11), prophylactic high-dose rhEPO had no effect on cognitive scores at 5 years of age in a large Swiss RCT (12).

The results of the present meta-analysis may have been influenced by publication bias, because most rhEPO RCTs identified in the literature search did not report neurodevelopmental follow-up data. In this setting, the funnel plots were not conspicuous but had a low power to detect publication bias, because a maximum number of 6 RCTs were included in the meta-analysis update (Supplementary Figure 5). Moreover, the uncertainty as to the effects of rhEPO is fostered by the moderate to substantial heterogeneity of the RCTs included in our meta-analysis ($I^2 = 53\%$, Figure 1A; $I^2 = 75\%$, Figure 1D). Statistical heterogeneity and the presumed effect of rhEPO on MDI <70 or a composite cognitive score <85 disappeared after exclusion of a single study (10) featuring increased risk of bias (Supplementary Figure 2A). Discrepancies with the main analysis (Figure 1A) may not necessarily result from bias in the excluded RCT but could reside in differences in the study protocol, in the healthcare environment, or in the population studied.

Looking at the differences between the study protocols, it becomes obvious that quite different dosing regimens of rhEPO were applied (Table 1), depending upon the concept of using rhEPO with the primary intention of neuroprotection/neurorepair vs. prevention of anemia of prematurity or even a combined approach. Admittedly, a subgroup analysis on dosing effects remains very limited due to the heterogeneity of the study protocols. In an exploratory analysis, we compared neurodevelopmental outcomes in RCTs with early high-dose rhEPO ($\geq 1,000$ iU/kg per dose) intended for neuroprotection/neurorepair in accordance with experimental data on the transport of rhEPO across the blood-brain barrier (13) vs. low- to moderate-dose rhEPO (<1,000 iU/kg per dose) intended for the prevention of red blood cell (RBC) transfusions. Although the beneficial effect of rhEPO on MDI <70 or a composite cognitive score <85 was preserved in the subgroup meta-analysis of trials that applied low- to moderate-dose rhEPO, the tests for subgroup differences indicated no statistically significant subgroup effect for any outcome (Supplementary Figure 4). Alternatively, the power of this analysis to detect subgroup differences may have

been too small, because few trials were included and because less trials contributed data to the high-dose subgroup than to the low-dose subgroup (uneven covariate distribution). Considering the aforementioned uncertainties and the clinical context, we believe that the individual effect of RBC transfusion on neurodevelopment also deserves attention. Interestingly, the *post hoc* analysis of the PENUT trial indicated that each transfusion of RBCs was associated with a decrease in mean cognitive score, motor score, and language score (BSID-III). Moreover, significant negative associations between BSID-III scores, transfusion volume, and donor exposure were observed in the placebo group, but not in the rhEPO group (14). Since an early start of rhEPO therapy significantly reduced the number of RBC transfusions, as shown in the updated Cochrane Review and in the recent PENUT trial (15, 16), rhEPO may still reclaim its value in the patient blood management of very preterm infants.

Finally, a retrospective case-control study suggested that beneficial neurodevelopmental effects of rhEPO may not become apparent prior to preschool age and may be restricted to children who had suffered from intraventricular hemorrhage (17). Thus, we have to await the 5-years neurodevelopmental follow-up data (EpoRepair, NCT02076373) of infants with intraventricular hemorrhage randomized to rhEPO or placebo (18) to decide whether or not rhEPO may have a role in alleviating neurodevelopmental impairment due to a certain pathophysiology of white matter injury.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

HF designed the meta-analysis, searched for relevant studies, extracted, assessed, and analyzed the data, and drafted the manuscript. NR and CB contributed to data extraction and assessment and critically revised the manuscript. CD conceptualized the meta-analysis, searched for relevant studies, extracted and assessed the data, and drafted the manuscript. All authors critically reviewed and revised the manuscript, approved the final version as submitted, and agreed to be accountable for all aspects of the work.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fped.2021.657228/full#supplementary-material>

REFERENCES

- Fischer HS, Reibel NJ, Bühner C, Dame C. Prophylactic early erythropoietin for neuroprotection in preterm infants: a meta-analysis. *Pediatrics*. (2017) 139:e20164317. doi: 10.1542/peds.2016-4317
- Juul SE, Comstock BA, Wadhawan R, Mayock DE, Courtney SE, Robinson T, et al. A randomized trial of erythropoietin for neuroprotection in preterm infants. *N Engl J Med*. (2020) 382:233–43. doi: 10.1056/NEJMoa1907423
- Higgins JPT, Green S (eds.). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*. Version 5.1.0. The Cochrane Collaboration. (updated March 2011).
- World Health Organization. International Clinical Trial Registry Platform (ICTRP). Available online at: <https://www.who.int/clinical-trials-registry-platform> (accessed October 11, 2020).
- Johnson S, Moore T, Marlow N. Using the bayley-iii to assess neurodevelopmental delay: which cut-off should be used? *Pediatr Res*. (2014) 75:670–4. doi: 10.1038/pr.2014.10
- Peltoniemi OM, Anttila E, Kaukola T, Buonocore G, Hallman M. Randomized trial of early erythropoietin supplementation after preterm birth: iron metabolism and outcome. *Early Hum Dev*. (2017) 109:44–9. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2017.04.001
- Ohls RK, Ehrenkranz RA, Das A, Dusick AM, Yolton K, Romano E, 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) 114:1287–91. doi: 10.1542/peds.2003-1129-L
8. Ohls RK, Kamath-Rayne BD, Christensen RD, Wiedmeier SE, Rosenberg A, Fuller J, et al. Cognitive outcomes of preterm infants randomized to darbepoetin, erythropoietin, or placebo. *Pediatrics*. (2014) 133:1023–30. doi: 10.1542/peds.2013-4307
 9. Natalucci G, Latal B, Koller B, Rügger C, Sick B, Held L, et al. Effect of early prophylactic high-dose recombinant human erythropoietin in very preterm infants on neurodevelopmental outcome at 2 years: A randomized clinical trial. *JAMA*. (2016) 315:2079–85. doi: 10.1001/jama.2016.5504
 10. Song J, Sun H, Xu F, Kang W, Gao L, Guo J, et al. Recombinant human erythropoietin improves neurological outcomes in very preterm infants. *Ann Neurol*. (2016) 80:24–34. doi: 10.1002/ana.24677
 11. Ohls RK, Cannon DC, Phillips J, Caprihan A, Patel S, Winter S, et al. Preschool assessment of preterm infants treated with darbepoetin and erythropoietin. *Pediatrics*. (2016) 137:e20153859. doi: 10.1542/peds.2015-3859
 12. Natalucci G, Latal B, Koller B, Rügger C, Sick B, Held L, et al. Neurodevelopmental outcomes at age 5 years after prophylactic early high-dose recombinant human erythropoietin for neuroprotection in very preterm infants. *JAMA*. (2020) 324:2324–7. doi: 10.1001/jama.2020.19395
 13. Juul SE, McPherson RJ, Farrell FX, Jolliffe L, Ness DJ, Gleason CA. Erythropoietin concentrations in cerebrospinal fluid of nonhuman primates and fetal sheep following high-dose recombinant erythropoietin. *Biol Neonate*. (2004) 85:138–44. doi: 10.1159/000074970
 14. Vu PT, Ohls RK, Mayock DE, German KR, Comstock BA, Heagerty PJ, et al. Transfusions and neurodevelopmental outcomes in extremely low gestation neonates enrolled in the PENUT trial: a randomized clinical trial. *Pediatr Res*. (2021) 11:1–8. doi: 10.1038/s41390-020-01273-w
 15. Juul SE, Vu PT, Comstock BA, Wadhawan R, Mayock DE, Courtney SE, et al. Effect of high-dose erythropoietin on blood transfusions in extremely low gestational age neonates: post hoc analysis of a randomized clinical trial. *JAMA Pediatr*. (2020) 174:933–43. doi: 10.1001/jamapediatrics.2020.2271
 16. Ohlsson A, Aher SM. Early erythropoiesis-stimulating agents in preterm or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev*. (2020) 2: CD004863. doi: 10.1002/14651858.CD004863.pub6
 17. Neubauer AP, Voss W, Wachtendorf M, Jungmann T. Erythropoietin improves neurodevelopmental outcome of extremely preterm infants. *Ann Neurol*. (2010) 67:657–66. doi: 10.1002/ana.21977
 18. Rügger CM, Hagmann CF, Bühler C, Held L, Bucher HU, Wellmann S, et al. Erythropoietin for the repair of cerebral injury in very preterm infants (EpoRepair). *Neonatology*. (2015) 108:198–204. doi: 10.1159/000437248

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2021 Fischer, Reibel, Bühler and Dame. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Komplette Publikationsliste

- Originalarbeiten:** **Reibel NJ**, Dame C, Bühler C, Mühlbacher T. Aberrant Hematopoiesis and Morbidity in Extremely Preterm Infants With Intrauterine Growth Restriction. *Frontiers in Pediatrics*. 2021;9:728607. DOI: 10.3389/fped.2021.728607.
- Fischer HS, **Reibel NJ**, Bühler C, Dame C. Prophylactic Erythropoietin for Neuroprotection in Very Preterm Infants: A Meta-Analysis Update. *Frontiers in Pediatrics*. 2021;9:657228. DOI: 10.3389/fped.2021.657228.
- Braune K, Wäldchen M, Raile K, Hahn S, Ubben T, Römer S, Hoeber D, **Reibel NJ**, Launspach M, Blankenstein O, Bühler C. Open-Source Technology for Real-Time Continuous Glucose Monitoring in the Neonatal Intensive Care Unit: Case Study in a Neonate With Transient Congenital Hyperinsulinism. *Journal of Medical Internet Research*. 2020 Dec 4;22(12):e21770. DOI: 10.2196/21770.
- Fischer HS, **Reibel NJ**, Bühler C, Dame C. Prophylactic Early Erythropoietin for Neuroprotection in Preterm Infants: A Meta-analysis. *Pediatrics*. 2017;139(5). DOI: 10.1542/peds.2016-4317.
- Kongressbeiträge:** **Reibel NJ**, Scrivens A, Heeger L, Lopriore E, New H, Stanworth S, Roehr CC, Deschmann E, Fijnvandraat K, van der Staij H, Houben N, Fustolo-Gunnink S, Dame C. Survey of Practices on the Use of Iron and Erythropoietin in Preterm Infants in Europe. E-Poster-Beitrag für “*The 9th Congress of the European Academy of Pediatric Societies (EAPS)*”, October 7-11, 2022.

Mühlbacher T, **Reibel NJ***, Bühler C, Dame C. Hämatologische Veränderungen bei sehr unreifen Frühgeborenen mit schwerer intrauteriner Wachstumsretardierung. *Monatsschrift Kinderheilkunde*. 2019; 167 (Suppl 4):S197–S278. (*Vortragende)

Danksagung

Ich möchte mich herzlich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Christof Dame für die Vergabe des Themas und die Betreuung bedanken. Deine Erfahrung, dein Rat und die stets neuen Ideen und Anmerkungen waren eine wichtige Stütze während dieser Arbeit. Die Zusammenarbeit im Rahmen der Dissertation hat zudem meinen beruflichen Werdegang maßgeblich beeinflusst: Sie weckte meine Begeisterung für das Fach der Neonatologie und ermöglichte mir den Zugang zu neuen, spannenden Forschungsprojekten.

Ein weiterer besonderer Dank gilt Herrn Dr. Tobias Mühlbacher durch dessen Antrieb, Gespräche, und Geistesblitze die Erstautorenschaft erst fertiggestellt werden konnte. Du standest mir zu jedem Zeitpunkt mit Tat und Rat zu Seite, einen besseren Mentor hätte ich mir nicht vorstellen können.

Danken möchte ich auch Herrn PD Dr. Hendrik Fischer, der mit seinen fundierten Statistikkenntnissen, seinem analytischen Denken und seiner Struktur die beiden Metaanalysen maßgeblich vorangetrieben hat und Frau Dr. Lina Sciesielski für ihre tatkräftige Organisation und Hilfsbereitschaft – ohne sie würden die Akten wohl immer noch unberührt im Archiv stehen.

Von Herzen danke ich meinem Freund Sebastian, der mich während des Studiums, der gesamten Dissertation und den ersten Schritten in der weiten Arbeitswelt begleitet, motiviert (trotz Durststrecken bei der eigenen Promotion) und geerdet hat.

Meinen Freunden und Freundinnen, insbesondere Nora und Johanna, danke ich für all die „Du-schaffst-das-Momente“, das „Nebeneinander-Arbeiten“, das geduldige Zuhören (auch bei unverständlichen medizinischen Begriffen) und die willkommenen Pausen.

Meiner Familie möchte ich von ganzem Herzen danken für das beständige Nachfrage, Interesse und die Unterstützung während dieser Arbeit und in allen Lebenslagen. Eure bedingungslose Liebe und euer grenzenloses Vertrauen haben mir ermöglicht meinen eigenen Weg zu gehen und mich dabei doch Schritt für Schritt zu begleiten.