

**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONOR ORREGO  
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA  
SEGUNDA ESPECIALIDAD EN MEDICINA HUMANA**



**Proyecto de Investigación para obtener el Título de Segunda  
Especialidad Profesional de Médico Especialista en PEDIATRIA**

**Modalidad: Residentado Médico**

**“EFECTIVIDAD DE TRATAMIENTO COMBINADO: HIPOTERMIA  
TERAPÉUTICA (HT) Y ERITROPOYETINA RECOMBINANTE HUMANA  
(EPO), COMPARADO CON EL TRATAMIENTO SÓLO CON HIPOTERMIA  
COMO EFECTO NEURO PROTECTOR EN LA ENCEFALOPATÍA HIPÓXICO  
ISQUÉMICA MODERADA-SEVERA, EN NEONATOS DEL HOSPITAL  
BELEN DE TRUJILLO, JULIO DE 2020- DICIEMBRE 2021”**

**AUTOR**

**NORMA EDITH SHARON MARIN CORDOVA**

**ASESORES**

**DR. WILLIAM EDWARD YNGUIL AMAYA**

**DR. EDGAR FERMIN YAN QUIROZ**

**TRUJILLO– PERU**

**2020**

# PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

## I. GENERALIDADES.

**1. TITULO:** “Efectividad de tratamiento combinado: hipotermia terapéutica (HT) y eritropoyetina recombinante humana (EPO), comparado con el tratamiento sólo con hipotermia como efecto neuro protector en la encefalopatía hipóxico isquémica moderada-severa, en neonatos del Hospital Belén de Trujillo, julio de 2020- diciembre 2021”

### **2. EQUIPO INVESTIGADOR:**

**2.1 Autor:** Dra. Norma Edith Sharon Marin Cordova

Médico Residente de Pediatría

DNI: 70459340      CMP: 71075

#### **2.2 Asesor:**

Dr. William Edward Ynguil Amaya

Médico Pediatra

Dr. Edgar Fermín Yan Quiroz

Médico Cirujano Oncólogo

### **3. TIPO DE INVESTIGACION:**

3.1: De acuerdo a la orientación o finalidad: Aplicada

3.2 De acuerdo a la técnica de contrastación: analítico, observacional de cohortes prospectivas.

### **4. AREA Y LINEA DE INVESTIGACION:**

Neonatología - Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales

### **5. UNIDAD ACADEMICA:**

Escuela Profesional de Medicina Humana – Segunda Especialidad de Medicina

### **6. INSTITUCION Y LUGAR DONDE SE DESARROLLA EL PROYECTO:**

HOSPITAL BELEN DE TRUJILLO – Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales

### **7. DURACION TOTAL DEL PROYECTO:**

**7.1 Fecha de inicio** :01/07/2020.

**7.2 Fecha de término:** 31/12/2020

## II. PLAN DE INVESTIGACION

### RESUMEN

Este proyecto de investigación se centrará en la comparación de la eficacia del tratamiento combinado: hipotermia terapéutica (HT) más eritropoyetina (EPO) frente a manejo sólo con HT en recién nacidos con diagnóstico de encefalopatía hipóxica isquémica moderada – severa, nacidos en el Hospital Belén de Trujillo, patología que hasta el momento continúa siendo un tema controvertido para el pediatra y neonatólogo.

En el año 2006, la Academia Americana de Pediatría (AAP) determinó que esta patología era “una de las frustraciones clínicas aun no resueltas”. Perú, país en vías de desarrollo, asume esta problemática como un reto terapéutico, pues neonatos con EHI moderada y grave (EHI significativa) constituyen, elevada mortalidad y/o riesgo de secuelas neurológicas altamente discapacitantes a futuro.

La EHI es una causa importante de daño neurológico agudo en el RN a término y pretérmino tardío. Su incidencia en países desarrollados es aproximadamente, entre 1- 3 casos x 1000 RN vivos de edad gestacional  $\geq$  36 semanas. (3). En América Latina y el Caribe, las estadísticas difieren según los recursos de cada país, encontrándose que la Organización Panamericana de la Salud (OPS) reportó un promedio de mortalidad perinatal en la región de 52.8 muertes por cada 1000 nacidos vivos. Por ejemplo, en Colombia la tasa de fallecimientos es de 24 por cada 1000 nacidos vivos, en Perú es de 23 y en Brasil de 22,5. (4)

Nuestra hipótesis se basa en que el manejo combinado de hipotermia terapéutica y eritropoyetina es más efectivo en cuanto a neuroprotección que sólo el uso de hipotermia terapéutica. Se seleccionarán a los pacientes según su pertenencia a uno u otro grupo de estudio por medio de la técnica de muestro aleatorio simple. La valoración de compromiso neurológico se realizará a través de ecografías tranfontanelares durante los controles de 1, 3, 6,12 meses; asimismo el deterioro del neurodesarrollo (NDI) se definirá como la presencia de cualquiera de los

siguientes hallazgos: hipertonía o espasticidad, incidencia y frecuencia de convulsiones, hitos retrasados según Test Peruano de Evaluación del Desarrollo del Niño (TPED) y parálisis cerebral. El procesamiento de la información se hará utilizando el paquete estadístico SPSS V 23.0, la información será presentada en cuadros de entrada doble con número de casos en cifras absolutas y relativas porcentuales. Para las variables cuantitativas se obtendrán su promedio con su correspondiente desviación estándar, para la comparación del compromiso neurológico según los valores obtenidos por Test Peruano de Evaluación del Desarrollo del Niño (TPED) se empleará la prueba T de Student (t).

## **1. INTRODUCCION:**

Se han logrado progresos significativos a nivel mundial en la reducción de la mortalidad en niños menores de cinco años, de conformidad a los objetivos de desarrollo del Milenio (ODM) 4 y 5, planteados en el año 2000(5) Sin embargo hay una disminución mucho más lenta en la mortalidad neonatal, que constituye aproximadamente el 45% de todas las muertes infantiles. El plan de acción diseñado para los objetivos de desarrollo sostenible tiene como objetivo reducir la mortalidad neonatal a 12/1000 y la mortalidad de niños menores de cinco años a 25/1000 nacidos vivos para el año 2030 (6). El contribuyente más común a la mortalidad neonatal temprana es la asfixia al nacer, es por ello la importancia de los avances en el manejo para la encefalopatía isquémica hipóxica (HIE) a escala mundial, pues contribuirán significativamente a alcanzar los objetivos de desarrollo sostenible para 2030.

Cómo prevenir el daño cerebral debido a la encefalopatía hipóxico-isquémica (HIE) sigue siendo una pregunta que necesita una respuesta debido a sus graves secuelas de muerte neonatal o discapacidad intelectual, cognitiva y motora grave. (2).

El estándar actual de atención para HIE moderada a severa en entornos ricos en recursos es aplicar hipotermia (HT; una disminución de la temperatura de 2–5 °C) que mantiene una temperatura corporal central de 33.5 °C durante 72 h, dentro de las primeras 6 h de vida, pues ha demostrado ser una intervención eficaz y segura para reducir la mortalidad y la discapacidad mayor en los supervivientes. (4)(5)(6)

La hipotermia terapéutica ha mejorado dramáticamente los resultados de los bebés con EHI. Sin embargo, un número considerable de bebés aún muere o sufre una lesión cerebral grave. Por lo tanto, continuamente se buscan estrategias neuro protectoras adicionales.

Si bien es sabido que la hipotermia terapéutica es uno de los tratamientos estándar estudiados en EHI moderada-severa, es especialmente en HIE grave, en que la TH por sí sola no es suficiente para reducir la mortalidad ni evitar discapacidades importantes del neurodesarrollo (14). El análisis Ameta mostró que el 40% de los recién nacidos con HIE que fueron tratados con HT murieron o sufrieron discapacidades moderadas a severas (12). Los autores de una revisión reciente en 2017 concluyeron que la TH ha sido la innovación reciente más importante en el tratamiento de HIE a término, sin embargo aún hay una gran cantidad de bebés para quienes esta terapia es inefectiva (11)

En consecuencia, la combinación de otros agentes neuro activos con HT para proteger o restaurar el daño cerebral secundario a HIE es vital y es el foco de la investigación actual para HIE. Actualmente, dos de las terapias complementarias más atractivas son el xenón y la eritropoyetina (EPO) (19). Esto se debe a sus propiedades biológicas y su seguridad en bebés enfermos; existe evidencia de que algunos recién nacidos prematuros tratados con EPO han alcanzado resultados favorables en cuanto a desarrollo neurológico.

Actualmente en el Perú, la Encefalopatía Hipóxica Isquémica moderada-severa; luego de evidenciar un evento centinela de asfixia perinatal; es manejado únicamente con Hipotermia pasiva, mediante el descenso de la temperatura corporal que se logra al suspender todas las medidas de calentamiento al RN (incubadora, cuna de calor radiante y cualquier otra fuente externa de calor); con

posterior manejo de complicaciones propias de la patología. Hasta la actualidad el manejo es aun controvertido, siendo considerada una de las patologías huérfanas de intervenciones terapéuticas específicas dirigidas a prevenir o aminorar el daño cerebral asociado a esta agresión perinatal. La literatura actual, nos da alcances de terapias coadyuvantes como Eritropoyetina (EPO) , con resultados favorables en diferentes Ensayos clínicos realizados , disminución de mortalidad y secuelas neurológicas a largo plazo.

En el Hospital Belén de Trujillo se atienden un promedio de 3 mil nacimientos por año, aproximadamente 13.5% corresponde a prematuros , y un porcentaje menor pero importante con antecedentes de asfixia perinatal ,teniendo en cuenta que dicho nosocomio es un hospital de referencia, la población de recién nacidos que recibe son de lugares alejados , muchos partos no son institucionales , gestantes sin controles previos , muchas de ellas quienes debieron culminar gestación mediante cesárea por distocias de presentación y comorbilidades asociadas ; por su cultura optan por vía vaginal en condiciones no optimas , exponiendo a eventos de hipoxia perinatal ; llegando al nosocomio con Recién nacidos con signos que concuerdan con una injuria cerebral ya establecida , compatible con Encefalopatía Hipóxico isquémica; siendo de gran responsabilidad la atención precoz y minimizar los eventos adversos como la prevención de secuelas incapacitantes en el que podría verse inmerso el recién Nacido; el Hospital Belén cuenta con la casuística y medicamento en interés Eritropoyetina Recombinante Humana (ya empleado también en neonatos para otra patología) , que nos permitirá realizar el presente trabajo de investigación., por lo cual nos proponemos el siguiente problema:

## **2. ENUNCIADO DEL PROBLEMA**

¿Es el tratamiento combinado de hipotermia terapéutica y Eritropoyetina Recombinante Humana (EPO) más eficaz que el tratamiento sólo con hipotermia como efecto neuro protector en pacientes con Diagnóstico de Encefalopatía Hipóxico Isquémica moderada severa nacidos en el Hospital Belén de Trujillo?

### **2.1 ANTECEDENTES DEL PROBLEMA**

A nivel mundial, los eventos relacionados con el parto son la tercera causa de muerte en niños menores de 5 años, y representan aproximadamente 690,000 muertes en todo el mundo cada año (1,2). A pesar del avance en la atención obstétrica, perinatal y neonatal, los eventos relacionados con el parto, son la segunda causa más común de muertes neonatales (24%, después de la prematuridad) con una incidencia de 3.94-5.12 por 1000 nacimientos vivo. En nuestro medio existen múltiples factores que conllevan a un parto de riesgo aumentando la probabilidad de Asfixia perinatal, con la consecuencia Encefalopatía Hipóxico Isquémica que genera, contribuyendo de forma importante al porcentaje de mortalidad neonatal.

La lesión hipóxico-isquémica de órganos como la piel, los riñones, el hígado y el corazón a menudo es reversible. Sin embargo, la lesión cerebral puede conducir a un deterioro neurológico permanente. Se han investigado múltiples enfoques para limitar la mortalidad y las alteraciones del desarrollo neurológico a largo plazo asociadas con la EHI. Sin embargo, para desarrollar tales estrategias neuro protectoras, necesitamos comprender los mecanismos bioquímicos que causan daño cerebral a través de la necrosis y la apoptosis de las células en el sistema nervioso central. Un ataque hipóxico puede causar la muerte inmediata (necrosis) y la muerte tardía (apoptosis) de las células neuronales, esta última responsable de una cantidad sustancial del daño cerebral permanente después de la asfixia perinatal. Actualmente, ningún tratamiento establecido previene la necrosis. Sin embargo, la muerte celular tardía por apoptosis puede reducirse mediante intervenciones terapéuticas.

Si bien es cierto el manejo estandarizado de HIE, se atribuye a la Hipotermia Terapéutica, pues distintos estudios concluyen en sus múltiples beneficios entre ellos.

**Martínez Claudia, et al 2011;** Recopilo un conjunto de datos de 1320 neonatos de 10 ensayos controlados aleatorios para los que se disponía de datos de mortalidad mínima. El metaanálisis de los ensayos CoolCap, NICHD y TOBY mostró que el tratamiento con hipotermia se asoció consistentemente con una mayor tasa de supervivencia normal, definida como la supervivencia sin parálisis cerebral y con una puntuación del índice de desarrollo mental de más de 84, una puntuación del índice de desarrollo psicomotor de más de 84, y visión y audición normales (riesgo relativo 1.53, IC 95% 1.22 a 1.93). Entre los bebés que sobrevivieron hasta los 18 meses de edad, los tratados con hipotermia tuvieron tasas significativamente más bajas de discapacidad severa ( $P = 0.006$ ), parálisis cerebral ( $P = 0.004$ ), retraso neuromotor severo (puntaje del índice de desarrollo psicomotor puntaje del índice de desarrollo. (1)

Se realizó una búsqueda bibliográfica para identificar estudios desde el inicio hasta el 30 de junio de 2018 en las siguientes bases de datos: PubMed, EMBASE, CINAHL Plus, AMED y el Registro Cochrane Central de Ensayos Controlados sin restricción de idioma, ClinicalTrials.gov. Un metaanálisis por pares mostró que la hipotermia de todo el cuerpo fue efectiva para reducir el riesgo de mortalidad (OR: 0,71; 0,52-0,92,  $yo\ 2 = 0\%$ ) en comparación con la atención habitual. análisis agrupado de los estudios) El análisis agrupado de los estudios sugiere que tanto la eritropoyetina (OR: 0,57; 0,36-0,91,  $yo\ 2 = 0\%$ ) e hipotermia de cuerpo entero (0,74; 0,59–0,92,  $yo\ 2 = 0\%$ ) fueron efectivos para reducir el riesgo de mortalidad y el retraso del desarrollo neurológico a los 18 meses.

Una vez identificada las fases que conducen al daño cerebral; surgen nuevas propuestas terapéuticas. En la fase aguda de isquemia / hipoxia y reperfusión / reoxigenación, los resultados de los lactantes asfixiados se pueden mejorar optimizando la estabilización inicial en sala de partos. Las intervenciones incluyen

limitar la exposición al oxígeno y acortar el tiempo de retorno de la circulación espontánea a través de métodos mejorados para apoyar la hemodinámica y la ventilación. Existen tratamientos destinados a la fase aguda de la lesión como alopurinol, la melatonina, los gases nobles como el xenón y el argón y la administración de magnesio. La hipotermia terapéutica, N-acetilcisteína2, doxiciclina. apuntan a la fase subaguda. La eritropoyetina (EPO), las células madre mesenquimales, el topiramato podrían limitar la lesión en la fase de reparación después de la asfixia . En esta investigación detallaremos los prometedoros beneficios de EPO empleado en de 15 ensayos clínicos, algunos aun en desarrollo; cuya supervivencia y mejora motora ha sido evidente con su inserción en la terapia conjunta a HT y/o como único tratamiento.

Recientemente, se ha descubierto que algunos medicamentos, como la eritropoyetina (EPO), poseen efectos neuro protectores, neuro-regenerativos y antiinflamatorios positivos en los recién nacidos asfixiados (13,31) EPO, hasta ahora ampliamente utilizado para la anemia del prematuro, logra sus efectos neuro protectores a través de sus efectos antiescitotóxicos, antioxidantes y anti apoptóticos en las neuronas y los oligodendrocitos (13,15,32) También tiene efectos antiinflamatorios sobre los astrocitos y las células microgliales (13, 28,31) EPO previene la muerte celular inducida por NO, protege a las neuronas de la toxicidad del glutamato, (33) y tiene efectos demostrables sobre la neurogénesis, diferenciación y reparación después de la lesión (29,15,34,35) Varios estudios en modelos humanos y animales demostraron una mejora en los resultados del desarrollo neurológico a corto y largo plazo entre los bebés asfixiados que fueron expuestos a EPO (33) Incluso cuando se inició EPO tan tarde como 1 semana después de un ataque de asfixia en roedores, todavía hubo efectos beneficiosos en el resultado conductual, la protección neuronal y la regeneración.

La importancia de EPO es evidente al otorgar en el 2019, el “Premio Nobel de Fisiología o Medicina” a los tres médicos científicos, William G. Kaelin Jr., Sir Peter J. Ratcliffe y Gregg L. Semenza, quienes descubrieron los tres elementos moleculares clave del proceso de señalización de hipoxia de EPO. (14)

En el cerebro, la investigación de las funciones de EPO se realizó inicialmente utilizando células cultivadas antes de los estudios in vivo. La EPO es producida principalmente por astrocitos cultivados como un factor de crecimiento neuronal altamente específico que está regulado por la hipoxia. Los oligodendrocitos, las células endoteliales, las neuronas y las microglías también pueden producir EPO que está regulada por la hipoxia (16), la regulación de EPO está controlada por el factor de transcripción inducible por hipoxia (HIF) -1  $\alpha$ . Las células cultivadas pueden expresar este factor dentro de los 30 minutos posteriores a la exposición a la hipoxia, que fue detectado por el premio Nobel Gregg Semenza (43)

La EPO intrínseca liberada secundaria a la hipoxia, o EPO extrínseca administrada para tratar la hipoxia en ratones, conduce a la expresión neuronal de la hemoglobina que mejora el consumo de oxígeno y el almacenamiento en el cerebro hipóxico (18). Dado que el cerebro neonatal tiene alta concentración de ácidos grasos insaturados en las membranas neuronales, una baja concentración de antioxidantes y un alto consumo de oxígeno, es muy vulnerable al daño oxidativo que ocurre en HIE. (52) Además, EPO puede promover la neurogénesis (19) y oligodendrogénesis (20) mejorar la revascularización del cerebro isquémico, es proangiogénico, es probable que se produzcan efectos de EPO a través de su interacción con el factor de crecimiento endotelial vascular y su capacidad para inducir la mitosis y la migración de células endoteliales.

En resumen, dentro del cerebro, la EPO tiene funciones anti-óxido nítrico, antioxidante, anti apoptótico, antiescitotóxicos y antiinflamatorio que pueden proteger las neuronas y las células gliales. La EPO también puede tener propiedades neurogénicas y oligodendrogénicas, y puede mejorar el flujo sanguíneo dentro del cerebro lesionado. Por lo tanto, EPO puede ser neuro protector y neurorestorativo (21)

Con respecto a la lesión cerebral hipóxico-isquémica, en términos de fisiopatología, la falla de energía primaria ocurre en el momento del insulto hipóxico-isquémico, y la falla de energía secundaria ocurre a las 24-48 h (23), esta anuncia la aparición de

necrosis neuronal tardía. Por lo tanto, el tratamiento con EPO iniciado incluso dentro de las 24 h posteriores al insulto podría ser potencialmente efectivo.

La eritropoyetina (EPO) parece conferir neuroprotección al cerebro lesionado. Los ensayos clínicos aleatorizados (ECA) han demostrado su seguridad en recién nacidos con encefalopatía hipóxico-isquémica (HIE); En una revisión sistemática y un metaanálisis. Publicado en el 2019 sobre el uso de Eritropoyetina en la encefalopatía hipóxico-isquémica perinatal: Seis ECA (EPO = 5 y darbepoetina  $\alpha$ -1 se incluyeron 454 neonatos, se identificó una tendencia hacia un menor riesgo de muerte en los lactantes tratados con EPO [EPO con o sin hipotermia: cinco ECA, 368 participantes, riesgo relativo (RR) 0,74, intervalo de confianza (IC) del 95% 0,47– 1.19, LOE - bajo; EPO sin hipotermia: cuatro ECA, 318 participantes, RR 0,89, IC del 95%: 0,49 a 1,32, LOE - bajo.

El tratamiento con EPO sin hipotermia en comparación con placebo resultó en un riesgo reducido de parálisis cerebral (dos ECA, 230 participantes, RR 0,47, IC del 95%: 0,27 a 0,80, LOE - moderado) y deterioro cognitivo moderado a grave (dos ECA, 226 participantes, RR 0,49; IC del 95%: 0,28 a 0,85, LOE: moderado). Se identificó un riesgo reducido de lesión cerebral en Recién nacidos tratados con EPO (EPO con o sin hipotermia, dos ECA, 148 participantes, RR 0,70, IC 95% 0,53– 0,92, LOE - moderado). La administración de EPO en neonatos con HIE perinatal reduce el riesgo de lesión cerebral, parálisis cerebral y deterioro cognitivo. (26)

La mayoría de los estudios evaluaron la gravedad de la encefalopatía mediante evaluación clínica utilizando los criterios de Sarnat (Sarnat y Sarnat, 1976), que clasifica el grado de encefalopatía en las etapas I, II o III, correlacionando con encefalopatía leve, moderada o grave. El análisis agrupado sugiere que las probabilidades relativas de mortalidad o discapacidad del desarrollo neurológico fueron menores entre los lactantes con encefalopatía moderada cuando se trataron con eritropoyetina (0,27; 0,11-0,63,  $yo\ 2 = 0\%$ ) o hipotermia de cuerpo entero (0,63; 0,44–0,89,  $yo\ 2 = 0\%$ )

Para la dosificación de EPO, hay diversos estudios que postulan que tanto dosis mínimas como máximas tienen efecto neuroprotectores;

**Juul SE, McPherson RJ, Bauer LA, et al** evaluaron estudios de farmacocinética y seguridad de EPO, los cuales demostraron que la dosis de Epo de 500 a 3000 U / kg es segura en recién nacidos prematuros y a término. Dos estudios de fase I / II que evalúan la seguridad (35) y farmacocinética (34) de Epo, utilizando dosis crecientes en recién nacidos prematuros y recién nacidos a término con EHI (37) El tratamiento con hipotermia mostró que una dosis de 1000 U/kg produjo concentraciones plasmáticas similares a las que se encontraron en animales como efecto neuro protector (38,39)

El seguimiento de los pacientes tratados con Epo en estos ensayos de fase I / II permite el optimismo de que la Epo puede ser beneficioso, 94,95, Ohls y colegas 86 mostraron que Epo tenía efectos neuro protectores (mejora del rendimiento cognitivo evaluado por Escala Bayley III en comparación con el placebo en los recién nacidos prematuros seguidos a los 18 a 22 meses con un beneficio preservado a los 4 años (Robin Ohls, comunicación personal, 2015). Un hallazgo preliminar de un estudio de fase III de neuroprotección de Epo en recién nacidos prematuros ha demostrado una mejor integridad de la sustancia blanca a una edad equivalente a término. (36)

**Wu et al. 2016** (39), Como parte del estudio NEATO Fase II estudió los 50 recién nacidos tratados con HT para HIE moderada / severa. Los recién nacidos que recibieron HT como una medida de rutina estándar para HIE fueron asignados al azar a EPO adicional o placebo. El estudio mostró que 24 bebés que recibieron una dosis alta de r-hu-EPO en los días 1, 2, 3, 5 y 7, más TH, tuvieron una lesión cerebral significativamente menor a los 5 días de edad (en la RM) y mejores resultados motores a los 12 meses en comparación con los 26 bebés que recibieron placebo.

La fase I del estudio se llevó a cabo antes en recién nacidos con HIE y demostró que la neuroprotección óptima más la seguridad de los efectos secundarios mínimos; podrían lograrse mediante cinco dosis intravenosas de r-Hu-EPO 1000 U / kg / dosis administradas entre los días 1 y 9 de edad (46)

**Rogers y col. 2014** (37), evaluaron a 24 pacientes con HIE neonatal y quienes fueron tratados con EPO e hipotermia moderada; dosis de 250 U / kg EPO ( n = 3), 500 ( n = 6), 1000 U/Kg ( n = 7), 2500 U/Kg ( n = 8) ; la dosis oscilaron entre 250 a 2500 U / kg r-Hu-EPO EPO a las 24 h después del nacimiento, y luego cada 48 h; La hipotermia comenzó dentro de las 6 h del nacimiento y se administró durante 72 h; la evaluación osciló entre los 8 y 34 meses de edad, se determinó que el retraso del desarrollo neurológico fue menor en el grupo de EPO más HT , en comparación con el tratamiento con hipotermia sola. Sin embargo, el estudio estadísticamente insuficiente para detectar una diferencia estadística; por baja muestra.

**Mulkey y col. 2017** (43 ) , Se reclutaron 44 pacientes HIE neonatal ; quienes además de recibir tratamiento con hipotermia moderada, tratado con EPO ( n = 20) o solución salina ( n = 24) a dosis de 1000 U / kg r-Hu-EPO EPO en el día posnatal 1,2,3,5,7 ; hipotermia comenzó dentro de las 6 h del nacimiento y se administró durante 72 h , Volumen inferior estadísticamente significativo de lesión cerebral aguda en el grupo tratado con EPO-hipotermia en comparación con el grupo de solución salina-hipotermia.

**Wu y col. 2016** (39) Se reclutaron 50 pacientes con HIE neonatal ;quienes además de recibir tratamiento con hipotermia moderada, fueron tratado con EPO ( n = 24) o solución salina ( n = 26) a dosis 1000 U / kg r-Hu-EPO en el día posnatal 1 2, 3, 5 y 7; La hipotermia comenzó dentro de las 6 h del nacimiento y se administró durante 72 h; Significativamente se demostró menos lesión cerebral a los 5 días de edad, y mejores resultados motores a los 12 meses, en el grupo con tratamiento combinado de EPO-hipotermia en comparación con el grupo de hipotermia salina.

**Juul y col. 2018** (41) Reclutaron a 500 pacientes con HIE neonatal, quienes recibieron además del tratamiento con hipotermia moderada, fueron tratados con EPO o solución salina a dosis de 1000 U / kg r-Hu-EPO en el día posnatal 1 2, 3, 5 y

7; la hipotermia comenzó dentro de las 6 h del nacimiento y se administró durante 72 h. El seguimiento hasta 24 meses de edad, concluye que EPO en combinación con hipotermia reduce la mortalidad y la discapacidad del desarrollo neurológico.

**Patkai y col. 2014** (40) Reclutaron a 120 pacientes con HIE neonatal; además del tratamiento con hipotermia moderada, fueron tratados con EPO o solución salina dosis de 1000–1500 U / kg beta r-Hu-EPO en el día posnatal 1 (<12hrs) , 2 y 3 (cada 24 h después de la dosis previa); La hipotermia comenzó dentro de las 6 h del nacimiento y se administró durante 72 h La evaluación hasta 24 meses de edad, se concluye que EPO incluso administrándose por menor tiempo en comparación a estudios previos , en combinación con hipotermia ; aumenta la supervivencia y reduce las secuelas neurológicas.

**Elmadhy y col. 2010** (40) reclutó a 45 recién nacidos y los dividió en tres grupos: (a) 15 niños normales, (b) 15 niños afectados con HIE y recibiendo solo tratamiento convencional (control) , (c) 15 bebés afectados por HIE que fueron tratados con tratamiento convencional más cinco dosis diarias de r-Hu-EPO subcutáneo, con la primera dosis administrada dentro de las 4–6 h después del nacimiento seguida de cuatro dosis diarias (40) El estudio comparó la concentración sérica de óxido nítrico, electroencefalogramas (EEG), imágenes de resonancia magnética (IRM) del cerebro, los resultados neurológicos y de desarrollo de los tres grupos. Los dos grupos de HIE tuvieron una concentración de óxido nítrico significativamente mayor en el momento de la inscripción en comparación con los recién nacidos sanos. Esta concentración se redujo significativamente en el grupo r-Hu- EPO después de 2 semanas en comparación con el grupo control HIE. Sin embargo, los cambios en la resonancia magnética después de 3 semanas fueron similares en ambos grupos. Para la evaluación del desarrollo neurológico, se utilizó la prueba de detección Denver II. Esta evaluación a los 6 meses encontró significativamente menos anomalías neurológicas y del desarrollo en el grupo EPO en comparación con los controles (40).

**Garg et al.** (32) En la revisión sistemática que realizó, indicó que EPO confiere protección del desarrollo neurológico a largo plazo a los recién nacidos con HIE moderada / grave. Ninguno de los ensayos realizados en EPO entre recién nacidos ha mostrado ningún efecto secundario significativo a pesar de las altas dosis empleadas para la asfixia ( 33 , 29 , 35) Aunque EPO se puede usar sinérgicamente con HT, (35) los estudios han demostrado efectos buenos y beneficiosos cuando se utiliza como agente único en el tratamiento de HIE (33 , 42) Esto es especialmente importante en entornos donde la TH no existe o cuando la intervención se retrasa debido a una presentación tardía. Esto sería de gran beneficio en nuestra realidad, al existir población que, por difícil acceso, reciben atención hospitalaria pasado el periodo de ventana terapéutica para HT.

**Malla et al; (38), 2017** realizó un estudio: en el cual reclutaron 100 neonatos con HIE moderada o grave para un estudio aleatorizado que investiga la efectividad y resultados a largo plazo de dosis repetidas de EPO solo, cuando HT no está disponible (por ejemplo, en entornos de escasos recursos). Los recién nacidos fueron asignados al azar al tratamiento o placebo (50 por grupo). Los recién nacidos recibieron un total de cinco dosis de r-Hu-EPO, o 2 ml de solución salina (grupo placebo), administradas en días alternos. El tratamiento (EPO o inyecciones de solución salina) se inició dentro de las 6 h posteriores al nacimiento. Los neonatos fueron monitoreados hasta la muerte o hasta aproximadamente los 19 meses de edad. La muerte ocurrió en el 16% de los recién nacidos en ambos grupos a los 19 meses de edad. La diferencia en cada uno de los siguientes resultados fue estadísticamente significativa. La muerte o discapacidad ocurrió en el 70% de los recién nacidos en el grupo de placebo en comparación con el 40% de los recién nacidos en el grupo tratado con EPO a los 19 meses de edad. El grupo tratado con EPO tuvo un menor riesgo de parálisis cerebral y mostró menos anomalías neurológicas con la resonancia magnética. El estudio concluyó que las dosis repetidas de r-Hu-EPO, iniciadas dentro de las primeras 6 h después del nacimiento, mejoraron los resultados (es decir, redujeron la muerte y la discapacidad) en los recién nacidos. Por lo tanto, la monoterapia con dosis repetidas de EPO, comenzando dentro de las 6 h, es efectivo en situaciones de pocos recursos donde HT no está disponible (38)

En un estudio de larga data en EE. UU, se realizó investigación inicialmente para evaluar la utilización de EPO en neonatos EBPN, por su amplio y conocido uso; sin embargo, ante la incidencia de paciente con EHI, es que tomó nueva investigación, debido a los datos emergentes sobre neuroprotección. Y se sumó su empleo (EPO) con buenos resultados. El objetivo del estudio fue describir las tendencias de 10 años en la utilización de Epo en una gran cohorte de UCIN de EE. UU

Para los recién nacidos a término con HIE, encontraron un aumento de cuatro veces en el uso de Epo en bebés con HIE de 2014 a 2017, aunque este aumento se limitó a una minoría de UCIN. A diferencia de los EBPN, los bebés HIE tuvieron iniciación Epo extremadamente temprano en su curso, con iniciación media al día del nacimiento (día 0). Este uso de Epo temprano sería consistente con la literatura reciente sobre neuroprotección y los protocolos de ensayos clínicos en curso.

El ensayo clínico describió el uso de Epo como una terapia complementaria con hipotermia terapéutica para HIE, con efecto benéfico; Desde entonces, se han publicado varios estudios de fase 1 y 2, los ensayos de fase 3 ahora están en progreso. (19), reportando efectos beneficiosos a corto y largo plazo. El aumento de datos de los distintos ensayos clínicos en el que reportan exposición temprana a Epo no tiene una asociación con el desarrollo de ROP. (29)

**Rogers y col. 2014** (44) reclutó a 24 recién nacidos con HIE y administró hasta seis dosis de r-Hu-EPO (Procrit o epoetina alfa, basado en el número de ensayo clínico NCT 00719407). El tratamiento con EPO se inició 24 h después de HIE y luego se administró cada 48 h, y se combinó con HT estándar (33.5 ° C por 72 h dentro de las 6 h de HI) (44). Los resultados estaban disponibles para 22 de los 24 recién nacidos. Los autores encontraron que la discapacidad significativa del neurodesarrollo se produjo en solo el 12.5% de los bebés con cambios moderados a severos en la resonancia magnética que recibieron HT más EPO, en comparación con el 70% – 80% de discapacidad significativa o muerte que ocurre en los bebés tratados con HT solo. Sin embargo, estos resultados no fueron estadísticamente significativos ya que el número de recién nacidos era demasiado pequeño.

**Mulkey et al. 2017** (45) detalla un estudio de fase II sobre los resultados de la eritropoyetina neonatal y la hipotermia terapéutica (NEATO) se llevó a cabo en siete centros de EE. UU; en 50 recién nacidos con HIE moderada a grave. Los recién nacidos fueron asignados al azar para recibir (a) cinco dosis de EPO, o (b) un volumen igual de solución salina normal (placebo). Las dosis se administraron los días 1, 2, 3, 5 y 7 de edad. Ambos grupos fueron tratados con HT de todo el cuerpo o con enfriamiento de la cabeza a las 6 h después del nacimiento al estándar universalmente aceptado de 33.5 ° C por 72 h. La primera dosis de r-Hu-EPO basada en el número de ensayo clínico NCT 01913340) se administró menos de 24 h después del nacimiento. El uso de MRI para detectar la lesión cerebral isquémica en 44 niños mostró que, entre los 20 niños con lesión cerebral aguda detectada antes de los 7 días de edad, aquellos que recibieron HT más EPO tuvieron un volumen menor estadísticamente significativo de lesión cerebral aguda en comparación con HT lactantes tratados con solución salina (45)

**Tao Xiong Xiaoyan Yang a, b, Yi Qu a, b, Hongju Chen Hongju Yan Yue 2019** (36) concluyeron que la disfunción de la memoria es uno de los resultados desastrosos para la isquemia de hipoxia perinatal. La eritropoyetina (EPO) se ha demostrado como un agente neuroprotector con múltiples efectos en una serie de enfermedades neurológicas. Determinaron en un estudio, utilizando un modelo de rata isquémica de hipoxia neonatal, que la interrupción de la red neuronal, incluidas las sinapsis y las neuritas, contribuiría a la disfunción de la memoria inducida por la isquemia de hipoxia.

El objetivo del estudio fue dilucidar la participación de EPO en la sinaptogénesis y la reparación de neuritas después de la isquemia de hipoxia perinatal., pues EPO rescató la disminución inducida por la isquemia de hipoxia de las proteínas sinápticas, incluidas Synapsin1 y PSD95 en lugar de GluR1 en la corteza y el hipocampo. Además, EPO redujo la expresión de APP (un marcador de lesión axonal), indujo la expresión de la proteína asociada a microtúbulos MAP-2 (un marcador dendrítico) y restableció la densidad axonal después de la hipoxia

isquémica. Estos cambios contribuyeron a mejorar Propiedades electrofisiológicas de las sinapsis y el rendimiento de la memoria espacial.

En resumen, los datos revelaron un papel importante de la EPO en la sinaptogénesis y la reparación de neuritas, proporcionando una nueva visión de los mecanismos celulares subyacentes a la disfunción cognitiva y de memoria asociada con la isquemia de hipoxia perinatal. (36)

## **2.2 JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO**

Considerando que la encefalopatía Hipóxico Isquémica es una patología importante por sus complicaciones en el neonato, y teniendo en cuenta que una proporción significativa de estos neonatos mueren o sobreviven con secuelas graves a largo plazo entre ellas la más frecuente y demandante es la parálisis cerebral pues un 6-23% se atribuye a asfixia intraparto. Siendo hasta el momento la hipotermia la única medida implementada en el paciente, sin embargo, al no ser indicada dentro de las 6 hrs de vida, no tendría beneficio alguno. En nuestra realidad muchos neonatos con esta patología llegan referidos de centros de salud alejados (transporte de más de 6 hrs ) , por lo que no tenemos nada que ofrecerles para mejorar o disminuir las complicaciones, tanto en términos de morbilidad neonatal como discapacidad neurológica a largo plazo.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio nos permitirán valorar de manera prospectiva la eficacia obtenida con cada una de ellas, expresada a través del resultado funcional y las complicaciones asociadas , y realizar la comparación entre ellas con la finalidad de verificar si existe superioridad de alguna en los desenlaces a corto y a mediano plazo; de ser así, posibilitara formular protocolos y/o guías de manejo terapéutica más conveniente en nuestra realidad sanitaria; tomando en cuenta además la escasez de estudios similares en nuestro medio es que nos planteamos la interrogante antes expuesta

## 2.3 MARCO TEORICO

La asfixia al nacer contribuye a una carga significativamente mayor de mortalidad y morbilidad neonatal a nivel mundial, más aún en los países en desarrollo. La Encefalopatía Hipóxico Isquémica neonatal (HIE), además del aumento de la mortalidad, tiene consecuencias neurológicas devastadoras, como parálisis cerebral, epilepsia y retraso mental. Con el arribo y el uso clínico generalizado de Hipotermia Terapéutica (TH) en la última década, el pronóstico de HIE moderada – grave ha mejorado significativamente. Sin embargo, el TH requiere de recursos muchas veces carentes en nuestro medio, un equipo multidisciplinario y no es accesible en muchos países en desarrollo; por lo que se asume que su empleo es de manera parcial y está aún más limitado por una estrecha ventana terapéutica para su empleo. Con los problemas de acceso a la atención médica y la carga de asfixia al nacer que se traslada a las naciones en desarrollo y menos desarrolladas; existe la necesidad de agentes neuro protectores alternativos y complementarios. En el presente estudio, se eligió a la Eritropoyetina Recombinante Humana (r-Hu-EPO) por bajo costo y fácil acceso, con el respaldo de estudios previos que garantizan su aplicabilidad global.

Conocimientos sobre la fisiopatología en la asfixia perinatal, nos hace comprender el complejo proceso que se desencadena a nivel celular y tisular. Muchos de estos mecanismos lesivos son agrupados describiéndose 4 fases principales: de hipoxia-isquemia (HI), latente, secundaria y terciaria. Inicialmente la injuria ocasionada producto de hipoxia celular y tisular, genera insuficiencia energética primaria. Consecuentemente, los niveles de fosfatos de alta energía parecen recuperados, constituyendo la fase latente. Sin embargo, esta mejoría es transitoria, seguida de una fase secundaria, activando múltiples mecanismos fisiopatológicos implicados en el desarrollo del daño cerebral neonatal, enfatizando: la reacción inflamatoria excitotoxicidad, estrés oxidativo, entrada masiva de  $Ca^{2+}$  en la célula, y, en la mayoría de los casos, muerte celular por necrosis o apoptosis. Finalmente, la tercera fase se caracteriza por daño cerebral semanas, meses e incluso años después de la injuria hipóxico-isquémica.

Este conocimiento de la fisiopatología ha permitido describir potenciales dianas terapéuticas con el objetivo de reducir el daño cerebral derivado de la asfixia, con el consiguiente desarrollo de numerosas estrategias terapéuticas. Algunos de estos tratamientos, actualmente en ensayos, buscan actuar de forma sinérgica con la HT, la única terapia frente a la EHI que se ha incorporado a las unidades de cuidados intensivos neonatales. Además, basándose en la demanda económica que genera esta patología, deben fomentarse medidas que no solo reduzcan la mortalidad, sino que también mejoren la calidad de vida de los sobrevivientes de HIE (60).

El objetivo de este trabajo es presentar los esfuerzos realizados de las diferentes investigaciones para limitar el estrés oxidativo asociado a la encefalopatía hipóxico-isquémica, la identificación temprana, de aquellos pacientes con alto riesgo dentro de las 2–6 h posteriores al nacimiento. Es probable que exista un alto riesgo de HIE en bebés con antecedente de bradicardia fetal (< 100 LPM), una puntuación de Apgar de cinco o menos a los 5 minutos, un pH de la sangre del cordón umbilical de 7 o menos, y / o un déficit de base de 16 o más. La puntuación de Apgar a los 10 minutos se correlaciona con malos resultados después de HIE (10)

El HIE neonatal puede subdividirse en leve, moderado y severo utilizando la estadificación Sarnat modificada (56) La escala Sarnat se introdujo en 1976, Se puntuaron nueve síntomas, incluido el estado mental, la función del nervio craneal (p. Ej., La capacidad de succionar), la capacidad motora y la actividad convulsiva. El resultado del tratamiento puede depender de si un bebé experimentó HIE leve, moderada o severa. Esta investigación se centra en aquellos neonatos con HIE moderado-severa; en quienes podemos emplear el manejo estandarizado con HT y el manejo combinado de EPO más HT.

Actualmente, la hipotermia se realiza siguiendo un proceso estandarizado en las unidades de cuidados intensivos neonatales, iniciando con la disminución de temperatura corporal, seguida de una fase de recalentamiento lenta y progresiva. Se pretende alcanzar en la primera fase una temperatura en la hipotermia corporal global de 33-34 °C y en la hipotermia selectiva de la cabeza en 34-35 °C, enfriamiento

realizado en 30-40 minutos. El objetivo en la fase de mantenimiento, es lograr una temperatura idónea con la menor variación posible, en un período de 48-72 horas. La fase final es mediante el lento recalentamiento, a una velocidad de 0,2-0,5 °C/h, en un plazo de 6-12 horas, permitiendo que se mantengan los efectos beneficiosos del enfriamiento. Sin embargo, en nuestro medio se realiza la hipotermia pasiva, la cual consiste en la disminución de la temperatura corporal al suspender las fuentes que brinden calor al neonato (cuna de calor radiante, incubadora, sobre abrigo, diferentes fuentes de calor externa).

El efecto neuro protector en el que interviene la hipotermia se fundamenta en la disminución del metabolismo cerebral, que conlleva a un descenso en las tasas de consumo de oxígeno, supresión de diferentes vías de inflamación, reducción de muerte celular programada, formación de radicales libres y el volumen del infarto cerebral; siempre que se realice durante las 6 primeras horas de vida. (59).

A pesar de que la hipotermia constituye una mejora en el manejo del neonato asfixiado y que actualmente parecen óptimos los protocolos empleados (6) su capacidad neuro protectora es restringida, observando un 45% de paciente con EHI grave, sin beneficio clínico (34,59). De tal manera investigaciones científicas continúan trabajando en la posible modulación de la respuesta neurogénica con la implementación de terapias coadyuvantes, cuya implicancia sea la proliferación celular y neurogénesis, logrando así la reparación de áreas cerebrales comprometidas.

Una revisión sistemática basada en la Biblioteca Cochrane en 2007 concluyó que 72 horas de hipotermia moderada iniciada dentro de las 6 horas de nacimiento reduce la tasa de muerte y discapacidad a los 18 meses de edad. Se han publicado nuevos estudios desde que se realizó la revisión Cochrane, incluido el ensayo de hipotermia corporal total (TOBY), el ensayo controlado aleatorio más grande de hipotermia para la encefalopatía perinatal. El ensayo TOBY informa el resultado neurológico de 325 bebés a los 18 meses de edad, definen la confianza con la que la hipotermia terapéutica podría usarse para reducir la muerte y la discapacidad después de la

hipoxia-isquemia, determina su efecto sobre los resultados neurológicos en los bebés que sobreviven a la encefalopatía hipóxico-isquémica perinatal, y considera si el efecto terapéutico está restringido a los lactantes con encefalopatía moderada. El presente análisis respaldó firmemente el uso de hipotermia terapéutica en recién nacidos con HIE para reducir el riesgo de muerte, basándose en que la diana terapéutica es en la fase inicial de la injuria cerebral.

Sin embargo, en los últimos 20 años, más de 1500 bebés se han inscrito en ensayos clínicos que mostraron beneficios de la hipotermia terapéutica (58) evidenciando que la tasa de muerte o discapacidad en los bebés enfriados sigue siendo alta: el 50% de los recién nacidos con HIE moderada a severa aún mueren o sufren discapacidades a largo plazo, como parálisis cerebral. Por lo tanto, para optimizar aún más la neuroprotección en bebés que reciben hipotermia terapéutica, se necesitan enfoques complementarios que intervengan tempranamente en las distintas vías que conlleva a la lesión cerebral. Entre ellos la EPO, por su accesibilidad en nuestro medio y empleado previamente en el ambiente neonatal con seguridad, en otras patologías ya estandarizadas, con efectos secundarios mínimos reportados.

Adquirir un manejo acertado y oportuno para la EHI constituye un gran reto para la actualidad. Por ello, durante los últimos tiempos, se han empleado gigantescos esfuerzos en determinar los mecanismos de daño neuronal generados tras el evento hipóxico-isquémico logrando así desarrollar terapias efectivas que actúen a diferentes niveles de la cascada patológica generada. La eritropoyetina (EPO) es una citocina de 30,4 kDa, sintetizada en el hígado durante el periodo fetal; posteriormente al nacimiento se sintetiza en el riñón y cerebro en desarrollo, actuando como factor de crecimiento y agente neuroprotector (52)

El efecto beneficioso de la hipotermia tras la hipoxia cerebral comprende la supresión de diferentes vías inflamatorias, reducción de radicales libres y apoptosis, sin embargo, actualmente no existe evidencia de su intervención a nivel de procesos de neuro reparación. Además, tener en cuenta las limitaciones que presenta, como el

requerimiento de personal de salud capacitado muchas veces carente en hospitales en países en desarrollo, el tiempo idóneo de instaurarse el tratamiento es reducido, por lo que su efectividad se ve limitada.

La EPO tiene múltiples acciones como agente neuro protector, incluida, la mejora de la neurogénesis después de la lesión, la supervivencia neuronal después del evento centinela (42), la disminución de los oxidantes radicales libres de tóxicos, la disminución de las citocinas proinflamatorias, y reclutamiento y toxicidad mediados por microglías (51), participando en varios niveles una vez ya desencadenada la injuria cerebral, favoreciendo así el gran aporte que sumaría a la terapia convencional con hipotermia para el manejo la EHI neonatal .

Se cree que Epo tiene efectos neuro protectores a través de múltiples vías en la que actúa; a corto plazo los efectos de Epo son anti apoptóticos, antiinflamatorio, neurotrófico y antioxidante. Los efectos a largo plazo que pueden promover el desarrollo y el restablecimiento cerebral, incluyen angiogénesis, neurogénesis y oligodendrogénesis. Epo también aumenta la eritropoyesis, que a su vez aumenta la utilización de hierro. Este aumento tiene el efecto de disminuir el hierro circulante, potencialmente no unido, que puede producir radicales libres dañinos. (52)

Como se discutió anteriormente, el cerebro neonatal tiene un contenido significativo de hierro y, por lo tanto, está predispuesto a lesiones inducidas por el estrés oxidativo. Los efectos neuroprotectores de la quelación de hierro y la EPO se han sugerido en modelos neonatales de roedores de HIE.

HIE es frecuente en los países de pobres en recursos. La ausencia de instalaciones para la hipotermia terapéutica reduce las posibilidades de supervivencia y aumenta el riesgo de morbilidad. Varios ensayos realizados en recién nacidos con HIE han demostrado que el uso de EPO es beneficioso para reducir la morbilidad y mejorar el resultado del desarrollo neurológico, incluso en los lactantes que no recibieron hipotermia terapéutica (31) Los estudios anteriores no documentaron reacciones

adversas significativas con el uso de fármaco. La revisión sistemática de Garg et al (63) concluyeron que EPO mejora el resultado del desarrollo neurológico y es bastante seguro en recién nacidos con encefalopatía hipóxico-isquémica. Más evidencia para fortalecer estos hallazgos mejorará su uso continuo. Se espera que este estudio proporcione más evidencia para apoyar o refutar la utilidad de la eritropoyetina como agente coadyuvante en el tratamiento de la EHI.

En cuanto a la ventana terapéutica que nos ofrece EPO, los ensayos clínicos indican que es de 6 a 24 horas, incluso más (137) Se han realizado un total de 22 ensayos clínicos con EPO durante HIE y varios otros están en curso. Desafortunadamente, la mayoría de los ensayos utilizaron diferentes conceptos y diseños con o sin hipotermia terapéutica, sin embargo, la mayoría atribuye efectos benéficos al uso de EPO, incluso empleado dentro de las 48 hrs de vida.

La eritropoyetina humana recombinante (Epo) ha sido uno de los medicamentos más estudiados en el área neonatal. Los ensayos clínicos se han centrado en el uso de Epo para la prevención o el tratamiento de la anemia de la prematuridad en los recién nacidos pretérmino, especialmente prematuros extremo y EBPN. También se infiere un papel alentador de Epo por sus posibles efectos neuroprotectores en ambos grupos Edad Gestacional Extremadamente Baja (46-47) y bebés con hipóxica encefalopatía isquémica (HIE).

El efecto neuroprotector de la EPO como anti apoptótico y antiinflamatorio. El efecto antiinflamatorio ha sido descrito a través de diferentes mecanismos. Además, la EPO mejora la angiogénesis y la neurogénesis en el cerebro. Se han estudiado los efectos neuroprotectores de la EPO tanto en recién nacidos prematuros como en recién nacidos a término con encefalopatía isquémica hipóxica (HIE); con resultados prometedores. (48).

En cuanto a dosificación, actualmente se encuentran en desarrollo ensayos clínicos en diversas fases, cuyos avances preliminares concluyen que hay pruebas suficientes

de que la EPO humana recombinante puede aumentar los efectos neuro protectores de la hipotermia terapéutica. Sin embargo, el ensayo NEAT de seguridad / farmacocinética fue seguido por el ensayo multicéntrico NEATO fase II que combinó 1000 U / kg de EPO humana recombinante en los días 1, 2, 3, 5 y 7 con hipotermia. Este estudio piloto mostró que a una edad media de 12.7 (DE, 0.9) meses, los niños tratados con EPO (n = 21) habían mejorado el rendimiento en la Escala motora infantil de Alberta (53.2 vs. 42.8, p = 0.03) y la Evaluación de desarrollo inicial de Warner (28,6 frente a 23,8, p = 0.05) en comparación con los niños tratados con placebo (n = 20).

Diferentes investigaciones reportan acerca de vía de administración, dosificación y ventana terapéutica; es evidente que la ruta utilizada para administrar r-Hu-EPO para HIE en los neonatos humanos son subcutáneos o intravenosos. También existe una variabilidad en la dosis (desde 300 U / kg hasta 2500 U / kg), el punto de partida (a las 4–6 h después de la HIE o retrasado hasta 48 horas después del nacimiento), así como la frecuencia de las inyecciones (diario, días alternos) y duración del tratamiento (cuatro dosis o hasta 12 dosis). En los distintos escenarios, se ha reportado eficacia, sin embargo aún no se ha estandarizado la mayoría de las dosis, el punto de partida, la frecuencia y la duración del tratamiento.

Un ensayo de fase I que evalúa la dosis efectiva y la seguridad, demostró que una dosis moderadamente alta de 1000 U / kg alcanzó niveles (basados en estudios en animales) que protegerían la neuroprotección máxima y minimizarían los riesgos de Epo excesiva. En un ensayo de fase II, doble ciego, controlado con placebo en bebés que se sometieron a TH para HIE, las dosis múltiples de Epo (1000 U / kg) resultaron en menos daño cerebral y potencial para mejores resultados motores a corto plazo.

Las funciones estudiadas hasta el momento de la Eritropoyetina son múltiples: citocina glucoproteína, implicada en la generación de eritrocitos, se ha identificado la existencia del receptor de eritropoyetina en progenitores neuroepiteliales del cerebro de fetos y embriones, estimulando a dichos progenitores y previniendo su muerte (67). Promueve la oligodendrogliosis y neurogénesis; participa tanto en la fase temprana y tardía tras un evento isquémico neonatal (62). Las funciones también

incluyen reducir el daño tisular, incrementar la regeneración axonal, inducir la recuperación y la conectividad de la sustancia blanca (68), permitir la revascularización, siendo componentes básicos para una recuperación óptima tras la fase tardía de la EHI (24,68-71).

La eritropoyetina exógena genera un incremento en la regeneración del área subventricular (67). Investigaciones en ratas posnatales con administración eritropoyetina intraperitoneal tras 48 horas de hipoxia cerebral, se demostró un aumento en la elaboración de progenitores de oligodendrocitos, neuroblastos y astrocitos; así como incremento en su maduración (25,33).

La valoración de los ingresantes al estudio será mediante ecografía transfontanelares, la cual se someterá cada ingresante al estudio dentro de las primeras 24 hrs de vida y control posterior a las 72 h de vida; con la finalidad de evaluar el tamaño y la configuración de los ventrículos, la ecogenicidad del parénquima cerebral y la presencia de encefalomalacia quística. Cualquier ecogenicidad dentro del parénquima cerebral, dilatación ventricular o la presencia de encefalomalacia se consideran anormales. La ecografía craneal fue elegida debido a la asequibilidad relativa y la disponibilidad inmediata en nuestro entorno. Sin embargo, es importante tener en cuenta que puede no ser la mejor herramienta para evaluar las anomalías intracraneales en los recién nacidos a término, ya que las estructuras extra axiales pueden no ser bien apreciadas. (65)

La evolución neurológica durante los controles de 1 ,2,3 ,6, 12 meses. será valorada mediante el empleo del Test Peruano de Evaluación del Desarrollo del Niño (TPED) utilizado en niños y niñas entre 0 a 30 meses de edad. (9) Una vez obtenido el diagnóstico de este tamizaje, determinaremos a. Normal Desarrollo: no se evidencia desviación. b. Adelanto del desarrollo psicomotor: desviación a la derecha de la edad cronológica c. Trastorno del desarrollo: desviación a la izquierda de la edad cronológica. d. Riesgo para trastorno del desarrollo: no existe desviación hacia la izquierda, sin embargo, existe el antecedente un factor de riesgo.

En cuanto a la dosificación , este estudio se basa en dos ensayos clínicos anteriormente detallados de Zhu C, Kang W, Xu F, Cheng X, Zhang Z, Jia L et al (China)( 8) y de , Elmahdy H, Et al ,( también tomados como referencia en la elaboración de petitorios de Hospitales europeos , para implementación de EPO en las UCI-NEO ); La pauta de tratamiento previsto es 400 UI SC días alternos durante 2 semanas, comenzando a las 24h tras el daño isquémico.

### **3. OBJETIVOS**

#### **OBJETIVO GENERAL**

- Demostrar la efectividad de la hipotermia terapéutica (HT) y eritropoyetina recombinante humana (EPO) , comparado con hipotermia sola en el tratamiento en la encefalopatía hipóxico isquémica moderada-severa, en neonatos del Hospital Belén de Trujillo, Julio de 2020-diciembre 2021

#### **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Estimar la frecuencia de convulsiones (número de crisis) durante el tiempo de hospitalización en neonatos tratados con hipotermia terapéutica más eritropoyetina recombinante humana (EPO)
- Registrar la frecuencia de convulsiones (número de crisis) durante el tiempo de hospitalización en neonatos tratados con hipotermia sola
- Comparar la efectividad neuro protectora tras el tratamiento combinado de hipotermia terapéutica más eritropoyetina recombinante humana (EPO) frente a solo el manejo con hipotermia, en pacientes con diagnóstico de encefalopatía hipóxico isquémica.
- Describir y registrar la evolución y retraso en el desarrollo psicomotor mediante el empleo del Test Peruano de Evaluación del Desarrollo del Niño (TPED) utilizado en niños y niñas entre 0 a 30 meses de edad; durante los controles de 1 ,3 ,6,12 meses.

- Comparar hallazgos mediante ecografía transfontanelares durante los controles de 1, 3, 6, 12 meses.

#### 4. HIPOTESIS:

El tratamiento combinado con hipotermia terapéutica y Eritropoyetina Recombinante Humana (EPO) es más eficaz que el tratamiento sólo con hipotermia como efecto neuro protector en pacientes con Diagnóstico de Encefalopatía Hipóxico Isquémica moderada-severa nacidos en el Hospital Belén de Trujillo.

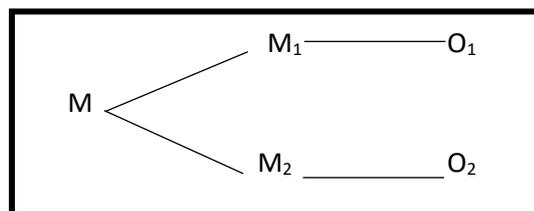
#### 5. MATERIAL Y METODO:

##### 5.1 DISEÑO DE ESTUDIO

5.1.1 Tipo de Estudio: Este estudio corresponde a un diseño analítico, observacional de cohortes prospectivas.

5.1.2 Diseño de estudio

Es de dos grupos comparativos, prospectivo, analítico, de corte transversal.



**Cohorte 1:** Pacientes con diagnóstico de EHI moderada-severo con tratamiento combinado hipotermia terapéutica + eritropoyetina recombinante Humana (EPO)

**Cohorte 2:** Pacientes con diagnóstico de EHI moderada-severo solo con tratamiento hipotermia terapéutica.

## **5.2 POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO:**

### **a) POBLACIÓN - MUESTRAL**

La población muestral estará conformada por 60 pacientes con diagnóstico de Encefalopatía Hipóxico Isquémica moderada- severa hospitalizados en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales, del hospital Belén de Trujillo Julio de 2020 - diciembre 2021.

### **b) CRITERIOS DE INCLUSIÓN:**

- Pacientes con antecedente de asfixia perinatal
- Paciente recién nacido con < 6hrs de vida al ingreso al servicio de Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN), con antecedente de asfixia perinatal y Diagnóstico de EHI
- Paciente con Diagnóstico de Encefalopatía Hipóxico Isquémica moderada- severa.

### **c) CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:**

- Paciente recién nacido con > 6hrs de vida al ingreso al servicio de Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN), con antecedente de asfixia perinatal y Diagnóstico de EHI
- Paciente recién nacido con edad gestacional <37 semanas.
- Paciente con Diagnóstico de Encefalopatía Hipóxico Isquémica Leve.
- Paciente con diagnóstico al nacer y/o pre natal de Malformación Congénita.
- Pacientes que no tuvieran el seguimiento clínico y ecográfico transfontanelar completo mínimo de 6 meses.
- Pacientes cuyas historias clínicas no estén consignados datos para establecer diagnóstico

### **Unidad de análisis**

Cada paciente que ingrese al Servicio de Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales con < de 6hrs de vida, con antecedente de asfixia perinatal y diagnóstico de Encefalopatía Hipóxico Isquémica moderada- severa tributarios de manejo con hipotermia terapéutica + eritropoyetina o solo hipotermia terapéutica, en Hospital Belén de Trujillo, entre Julio de 2020- diciembre 2021.

### **Unidad de muestreo**

La historia clínica de cada paciente que ingrese al Servicio de Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales con < de 6hrs de vida, con antecedente de asfixia perinatal y diagnóstico de Encefalopatía Hipóxico Isquémica moderada- severa tributarios de manejo con hipotermia terapéutica + eritropoyetina o solo hipotermia terapéutica, en Hospital Belén de Trujillo, entre Julio de 2020- diciembre 2021, y que cumpla los criterios de selección correspondientes.

### 5.3 DEFINICION OPERACIONAL DE VARIABLE

<b>VARIABLE</b>	<b>TIPO</b>	<b>ESCALA</b>	<b>INDICADORES</b>	<b>INDICES</b>
<b>DEPENDIENTE:</b> <b>Eficacia:</b> <b>Crisis Convulsivas</b>	Cuantitativa	Ordinal	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Movimientos tonico -clónicos</li> <li>- Movimientos oculares, bucolinguales</li> </ul>	Numero de crisis
<b>Compromiso cerebral mediante ecografía trasfontanelar</b>	Dicotómica	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Edema cerebral</li> <li>- Hemorragia Intraventricular</li> <li>- Ventriculomegalia</li> </ul>	Si - No
<b>Perfil del desarrollo Psicomotor</b>	Cualitativa	Nominal	1m: succión y deglución 2m: sonrisa social 3m: control cefálico 6m: se mantiene sentado 12m: bipedestación	-Desarrollo normal -Adelanto del desarrollo psicomotor -Trastorno del desarrollo -Riesgo para trastorno del desarrollo
<b>INDEPENDIENTE:</b> <b>Encefalopatía Hipóxica Isquémica</b>	Cualitativa	Nominal	Según Clasificación Sarnat para EHI	Moderada Severa

### 5.3.1 DEFINICIONES OPERACIONALES:

- Convulsiones neonatales: Crisis convulsivas que aparecen en el periodo de tiempo comprendido entre el nacimiento y las 44 semanas de edad concepciones y que constituyen la expresión clínica por excelencia de la disfunción del sistema nervioso central
- Retraso psicomotor: Se define como la lenta o anormal adquisición de los hitos del desarrollo iniciales. (5-7)
- Ecografía transfontanelar: es una técnica diagnóstica ampliamente utilizada en el estudio de la neuroanatomía y patología propia del encéfalo neonatal gracias a sus múltiples ventajas, como ausencia de radiaciones, disponibilidad y bajo coste.
- Encefalopatía hipóxico isquémica: lesión de nacimiento causada por privación de oxígeno y un limitado flujo de sangre al cerebro del bebé durante o cerca del momento del nacimiento. Puede resultar en parálisis cerebral y otros trastornos cognitivos y de desarrollo.
- Asfixia Perinatal: Evento de hipoxia – isquemia lo suficientemente grave para desarrollar encefalopatía hipóxica-isquémica si se cumple con: pH <7 en sangre de cordón umbilical, Apgar 0-3 después de los 5 minutos, alteraciones neurológicas y/o disfunción multiorgánica.
- Hipotermia terapéutica: Disminución de temperatura corporal a 33,5 oC si es total y, si es selectiva en 34 o C-35 o C. Instalada dentro de las seis primeras horas de vida, durante tres días.
- Eritropoyetina Recombinante Humana: Factor estimulante de la eritropoyesis. La eritropoyetina estimula la proliferación y maduración de los progenitores eritropoyéticos (CFU-E) aumentando la masa de glóbulos rojos y como consecuencia, el hematocrito.

#### **5.4 PROCEDIMIENTO Y TECNICAS:**

Ingresarán al estudio los pacientes admitidos al Servicio de Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales con < de 6hrs de vida, con antecedente de asfixia perinatal y diagnóstico de Encefalopatía Hipóxico Isquémica moderada- severa tributarios de manejo con hipotermia terapéutica + eritropoyetina o solo hipotermia terapéutica, en Hospital Belén de Trujillo, entre Julio de 2020- diciembre 2021 y que cumpla los criterios de selección correspondientes.

Se seleccionarán a los pacientes según su pertenencia a uno u otro grupo de estudio por medio de la técnica de muestro aleatorio simple. Previo consentimiento informado firmado por padre de familia (mama o papa). (Anexo Luego se completará la ficha de recolección de datos epidemiológicos (Anexo 2). Seguidamente se realizará:

- La evaluación a través de ecografía tranfontanelar durante los controles de 1,2, 3, 6 ,12 meses.
- La incidencia y frecuencia de convulsiones (número de crisis) durante el tiempo de hospitalización
- La evolución neurológica durante los controles de 1,2,3 ,6,12 meses. Mediante el empleo de Test Peruano de Evaluación del Desarrollo del Niño (TPED)
- Para realizar el análisis, se elaborará una base de datos, la cual se obtendrá a partir de la hoja de datos de recolección elaborada.

## 5.5 PLAN DE ANÁLISIS DE DATOS

Se utilizará el paquete estadístico SPSS V 23.0, para procesar la información.

### Estadística descriptiva.

Los resultados serán presentados para las variables numéricas continuas, se utilizará cálculo de la media, varianza y desviación estándar

La información será presentada en cuadros de simple y doble entrada, así como en garras o gráficos de ser necesario.

Para facilitar la comprensión de resultados relevantes se adjuntará gráficos de barras o de líneas.

Estadística analítica. La prueba T de Student(t), será empleada para comparar la funcionalidad dependiendo del abordaje, los promedios calculados según el puntaje alcanzado en el Test Peruano de hitos del desarrollo, en cada uno de los grupos.

La prueba Chi Cuadrado ( $\chi^2$ ) será utilizada para comparar la morbilidad y proporciones. Para la comparación de la morbilidad se hará uso para comparación de proporciones. Se confirmaría las hipótesis formuladas si  $p < 0.05$ , las diferencias serán significativas.

## 5.6 ASPECTOS ÉTICOS

El estudio cuenta con la autorización del comité de Investigación y Ética del Hospital Belén de Trujillo y de la Universidad Privada Antenor Orrego.

Se recolecto información de historia clínica, teniendo en cuenta la declaración de Helsinki II (Numerales: 11, 12, 14, 15,22 y 23) y la ley general de salud (Titulo cuarto: artículos 117 y 120).

## 6.- PRESUPUESTO

### Recursos Humanos

PARTICIPANTE	ACTIVIDADES DE PARTICIPACIÓN	HORAS TOTAL	HORAS SEMANA
Investigador	(1) (2) (3) (4) (5)	1248	12H
Asesor	(1) (3)	100	4.3H
Estadístico	(4)	20	2.5 H

Insumos	Unidad	Cantidad	Costo (S/.)
Hojas bond A4	Millas	1	20
Papel bulky	Millar	2	34
Lapiceros	Docena	2	14
Lápices	Docena	3	18
Engrapador	Unidad	1	8
Clips	Ciento	2	10
Folders	Docena	2	12
Resaltadores	Unidades	2	4
Tinta para impresora canon G2100	Unidades	4	115
USB	Unidades	1	20
CD	Unidades	5	5
<b>SUBTOTAL 1 :</b>			<b>315</b>

<b>Servicios</b>	<b>Unidades</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Costo</b>
<b>Asesoría estadística</b>	<b>Horas</b>	<b>20</b>	<b>400</b>
<b>Transporte y viáticos</b>	<b>Día</b>	<b>210</b>	<b>315</b>
<b>Internet</b>	<b>Horas</b>	<b>20</b>	<b>20</b>
<b>Fotocopiado</b>	<b>Paginas</b>	<b>200</b>	<b>20</b>
<b>Impresiones</b>	<b>paginas</b>	<b>200</b>	<b>20</b>
<b>SUBTOTAL 2:</b>			<b>775</b>
<b>SUBTOTAL 1 +2 : TOTAL :996</b>			

#### **6.1.1 FINANCIAMIENTO:**

El autor asume el costo total del proyecto.

## 7.- CRONOGRAMA

	Personas responsables	Tiempo en meses																							
		JULIO 2020												2021						2022					
		M	J	J	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	E	F		
1	Planificación y elaboración del proyecto	INVESTIGADOR	X																						
2	Presentación y aprobación del proyecto	INVESTIGADOR ASESOR		X																					
3	Recolección de Datos	INVESTIGADOR ASESOR			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X				
4	Procesamiento y análisis	INVESTIGADOR																						X	
5	Elaboración del Informe Final	INVESTIGADOR ASESOR																							X
<b>DURACIÓN DEL PROYECTO</b>			<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>27</b>	<b>28</b>	<b>29</b>	<b>30</b>	

## 8.- LIMITACIONES:

Por la presente pandemia del COVID-19, estará limitado el tiempo para la recolección de los datos para el presente estudio.

## 9.- REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

- 1.- Claudia Martínez , Carlos Pouso , Daniel Borbonet , Margarita Bidegain , Ronald Goldberg. Neuroprotección mediante hipotermia moderada en recién nacidos con encefalopatía hipóxico-isquémica. Arch. Pediatr. Urug. vol.82 no.3 Montevideo 2011
- 2.-García-Alix A, Martínez-Biarge M, Diez J, Gayá F, Quero J. Encefalopatía neonatal hipóxico-isquémica: Incidencia y prevalencia en la primera década del siglo XXI. An Pediatr (Barc) 2009;71:319-26
3. Tan S,Wu Y.Etiology and pathogenesis of neonatal encephalopathy.UpToDate.2016;1-21.
4. Ministerio de salud y protección social de Colombia. Guía de práctica clínica del recién nacido con asfixia perinatal. Colciencias. 2013;(05):1–12.
- 5.- Fernández-Jaén A, Roche MC, Pascual-Castroviejo I. Exploración clínica del niño. En: Grau Veciana JM, Escartín Siquier AE, eds. Manual del residente de neurología. Madrid: Sociedad Española de Neurología; 2000: p. 17-26.
- 6.- Alonso-Alconada D, Broad KD, Bainbridge A, Chandrasekaran M, Faulkner SD, Kerényi A, et al. Brain cell death is reduced with cooling by 3.5 degrees C to 5 degrees C but increased with cooling by 8.5 degrees C in a piglet asphyxia model. Stroke 2015; 46: 275-8.
- 7.- Borbujo JS. Desarrollo psicomotor hasta los 2 años; retraso en el desarrollo psicomotor. En: Aparicio-Meix JM, Artigas J, Campistol J, et al, eds. Neurología pediátrica. Madrid: Ergon; 2000.
- 8.- Zhu C, Kang W, Xu F, Cheng X, Zhang Z, Jia L et al. Erythropoietin improved neurologic outcomes in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. Pediatrics 2009; 124: e218-e225

- 9.- Norma Técnica de Salud para el Control del Crecimiento y Desarrollo de la Niña y el Niño menor de cinco años: Ministerio de Salud. Dirección de Intervenciones Estratégicas en Salud Pública - Lima: Ministerio de Salud; 2017.
- 10.- 10. Natarajan, G .; Shankaran, S .; Lupton, AR; Pappas, A .; Bann, CM; McDonald, SA; Das, A .; Higgins, RD; Hintz, SR; Vohr, BR Apgar puntúa a los 10 minutos y resultados a los 6-7 años después de la encefalopatía. Arco. Dis. Niño. Fetal Neonatal Ed. Arco. Dis. Niño. Fetal Neonatal Ed.
11. Martinello, K .; Hart, AR; Yap, S .; Mitra, S .; Robertson, NJ Manejo e investigación de la encefalopatía neonatal; Actualización 2017. Arco. Dis. Niño. Fetal Neonatal Ed. 2017, 102, F346 – F358 CrossRef ] [ PubMed ]
12. Tagin, MA; Woolcott, CG; Vincer, MJ; Whyte, RK; Stinson, DA Hipotermia para la encefalopatía isquémica hipóxica neonatal: una revisión sistemática actualizada y un metanálisis. Arco. Pediatra Adolesc. Medicina. 2012, 166, 558-566
13. Nagai A, Nakagawa E, Choi HB, y col. Receptores de eritropoyetina y eritropoyetina en neuronas, astrocitos, microglia y oligodendrocitos del SNC humanos cultivados en cultivo. J Neuropathol Exp Neurol. 2011; 60 (4): 386 - 92)
- 14.- Kurtz, A. Premio Nobel 2019 rinde homenaje a la fisiología traslacional en la detección de oxígeno. Pflügers Arch. — Eur. J. Physiol 2019, 471, 1341-1342
- 15.-Wang L, Zhang Z, Wang Y, Zhang R, Chopp M. El tratamiento del accidente cerebrovascular con eritropoyetina mejora la neurogénesis y la angiogénesis y mejora la función neurológica en ratas. Carrera. 2004; 35 (7): 1732 - 7) 31) Ferriero DM. Lesión cerebral neonatal. N Engl J Med. 2004; 351 (19): 1985 - 95)
- 16.- Ostrowski, D .; Heinrich, R. Receptores alternativos de eritropoyetina en el sistema nervioso. J. Clin. Medicina. 2018, 7, 24
- 18.- Schelshorn, DW; Schneider, A .; Kuschinsky, W .; Weber, D .; Kruger, C .; Dittgen, T .; Hamburguesas, HF; Sabouri, F .; Gassler, N .; Bach, A .; et al. Expresión de hemoglobina en neuronas de roedores. J. Cereb. Metabol de flujo sanguíneo. 2009, 29, 585–595
- 19 Xiong, T .; Qu, Y .; Mu, D .; Ferriero, D. Eritropoyetina para la lesión cerebral neonatal: oportunidad y desafío. En t. J. Dev. Neurosci. 2011, 29, 583–591-
- 20.- Juul, SE; Pet, GC Eritropoyetina y neuroprotección neonatal. Clin. Perinatol 2015, 42, 469–481

- 21.-Van der Kooij, MA; Groenendaal, F .; Kavelaars, A .; Heijnen, CJ; van Bel, F. Propiedades neuroprotectoras y mecanismos de la eritropoyetina en modelos experimentales in vitro e in vivo para hipoxia / isquemia. *Brain ResRdo.* 2008, 59, 22-33
- 23.- Vannucci, RC; Tow fi ghi, J .; Vannucci, SJ Fallo de energía secundaria después de hipoxia-isquemia cerebral en la rata inmadura. *J. Cereb. Metabol de flujo sanguíneo. flujo sanguíneo. flujo sanguíneo. flujo sanguíneo. flujo sanguíneo.* 2004, 24, 1090-1097
24. Wu Q, Chen W, Sinha B, Tu Y, Manning S, Thomas N, et al. Neuroprotective agents for neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Drug Discov Today* 2015; 20: 1372-81
- 25.- Kako E, Kaneko N, Aoyama M, Hida H, Takebayashi H, Ikenaka K, et al. Subventricular zone-derived oligodendrogenesis in injured neonatal white matter in mice enhanced by a non-erythropoietic erythropoietin derivative. *Stem Cells* 2012; 30: 2234-47
- 26.- Abdul Razak \* y Asif Hussain Eritropoyetina en la encefalopatía hipóxico-isquémica perinatal: una revisión sistemática y un metanálisis <https://doi.org/10.1515/jpm-2018-0360> Recibido el 27 de octubre de 2018; aceptado el 28 de enero de 2019
- 27.- . Wu YW, Bauer LA, Ballard RA, Ferriero DM, Glidden DV, Maylock DE, et al. Eritropoyetina para la neuroprotección en la encefalopatía neonatal: seguridad y farmacocinética. *Pediatría* 2012; 130: 683–91.
- 28.-. Baserga MC, Beachy JC, Roberts JK, Ward RM, Digeronimo RJ, Walsh WF, et al. Administración de darbepoetina a neonatos que se someten a enfriamiento por encefalopatía: un ensayo de seguridad y farmacocinético. *Pediatr Res* 2015; 78: 315
- 29.- Juul SE, Beyer RP, Bammler TK, McPherson RJ, Wilkerson J, Farin FM. Microarray analysis of high-dose recombinant erythro-poietin treatment of unilateral brain injury in neonatal mouse hippocampus. *Pediatr Res.* 2009;65:485
- 30.- Lv, H.-Y .; Wu, S.-J .; Wang, Q.-L .; Yang, L.-H .; Ren, P.-S .; Qiao, B.-J .; ff Efecto de la eritropoyetina combinada con hipotermia en los niveles de proteína tau sérica y el resultado del desarrollo neurológico en neonatos con encefalopatía hipóxico-isquémica.. *Regeneración neuronal.* 2017, 12, 1655-1663 [ PubMed ]
- 31.- Zhu C, Kang W, Xu F, et al. Erythropoietin improved neurologic outcomes in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics.* 2009;124(2): 218-e226.

32. Garg B, Deepak Sharma D, Bansal A. Revisión sistemática que busca el papel de la eritropoyetina para la neuroprotección en neonatos con encefalopatía isquémica hipóxica: actualmente, ¿dónde estamos? *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018; 31 (23): 3214 - 24) <https://doi.org/10.1080/14767058.2017.1366982>
33. Iwai M, Stetler RA, Xing J, Hu X, Gao Y, Zhang W, et al. Enhanced oligodendrogenesis and recovery of neurological function by erythropoietin after neonatal hypoxic/ischemic brain injury. *Stroke* 2010; 41: 1032-7.
34. Núñez A, Benavente I, Blanco D, Boix H, Cabanas F, Chaffanel M, et al. Oxidative stress in perinatal asphyxia and hypoxic-ischaemic encephalopathy. *An Pediatr (Barc)* 2018; 88: 228.e1-9.
35. Wu YW, Bauer LA, Ballard RA, Ferriero DM, et al. Eritropoyetina para la neuroprotección en la encefalopatía neonatal: seguridad y farmacocinética. *Pediatría.* 2012; 130: 683 - 91)
36. Tao Xiong Xiaoyan Yang a, b, Yi Qu a, b, Hongju Chen Hongju Yan Yue La eritropoyetina induce sinaptogénesis y reparación de neuritas después de una lesión cerebral mediada por isquemia por hipoxia en ratas neonatales, *NeuroReport* 2019, 30: 783–789 .
- 37.-. Rogers, EE; Bonifacio, SL; Vidrio, HC; Juul, SE; Chang, T .; Mayock, DE; Durand, DJ; Canción, D .; Barkovich, AJ; Ballard, RA; et al. Eritropoyetina e hipotermia para la encefalopatía hipóxico-isquémica. *Pediatra Neurol* 2014, 51, 657–66
- 38.Malla, RR; Asimi, R .; Teli, MA; Shaheen, F .; Bhat, MA Monoterapia con eritropoyetina en la asfixia perinatal con encefalopatía moderada a grave: un ensayo aleatorizado controlado con placebo. *J. Perinatol.* 2017, 37, 596–601
39. Wu, YW; Mathir, AM; Chang, T .; McKinstry, RC; Mulkey, SB; Mayock, DE; VanMeurs, KP; Rogers, EE; González, FF; Comstock, BA; et al. Dosis altas de eritropoyetina e hipotermia para la encefalopatía hipóxico-isquémica: un ensayo de fase II. de eritropoyetina e hipotermia para la encefalopatía hipóxico-isquémica: II. *Pediatría* 2016, 13
- 40.-. Rangarajan, VR; Juul, SE Eritropoyetina: papel emergente de la eritropoyetina en la neuroprotección neonatal. *Pediatra Neurol* 2014, 51, 481–488
- 41.-. Juul, SE; Comstock, BA; Heagerty, PJ; Mayock, DE; Goodman, AM; Hauge, S .; González, F .; Wu, YW Dosis altas de eritropoyetina para la asfixia y la encefalopatía

(HEAL): un ensayo controlado aleatorio: antecedentes, objetivos y protocolo de estudio. *Neonatología* 2018, 113, 331–338.

42.- Yamada M, Burke C, Colditz P, Johnson DW, Gobe GC. La eritropoyetina protege contra la apoptosis y aumenta la expresión de marcadores celulares no neuronales en el cerebro en desarrollo lesionado por hipoxia. *J Pathol* 2011; 224: 101–9.

43.- Mulkey, SB; Ramakrishnaiah, RH; Mckinstry, RC; Chang, T .; Mathur, AM; Mayock, DE; VanMeurs, KP; Schaefer, GB; Luo, C .; Bai, S .; et al. Resultados de la resonancia magnética de la eritropoyetina y la resonancia magnética cerebral en la encefalopatía hipóxico-isquémica: volumen de lesión cerebral aguda y resultado del desarrollo neurológico a 1 año. *J. Pediatr. .* 2017, 196-199.-

44.. Rogers, EE; Bonifacio, SL; Vidrio, HC; Juul, SE; Chang, T .; Mayock, DE; Durand, DJ; Canción, D .; Barkovich, AJ; Ballard, RA; et al. Eritropoyetina e hipotermia para la encefalopatía hipóxico-isquémica. *Neurol Pediatra* 2014, 51, 657–662

45. El Shimi, MS; Awad, HA; Hassanein, SM; Gad, GI; Imán, SS; Shaaban, H .; El Maraghy, O. Dosis única de eritropoyetina recombinante versus hipotermia moderada para la encefalopatía isquémica hipóxica neonatal en entornos de bajos recursos. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2014

46. Statler, PA; McPherson, RJ; Bauer, LA; Kellert, BA; Juul, SE Farmacocinética de altas dosis de eritropoyetina recombinante en plasma y cerebro de ratas neonatales, *Pediatra Res.* 2007, 61, 671–675

47.- Wu YW, Bauer LA, Ballard RA, et al. Eritropoyetina para neuroprotección en encefalopatía neonatal: seguridad y farmacocinética. *Pediatría* 2012; 130 (04): 683 – 691

4852222.- Juul, SE & Pet, GC Eritropoyetina y neuroprotección neonatal. *Clin. Perinatol* 42, 469 - 481 (2015).

49.- Sola A., Wen T.-C., Hamrick SEG, Ferriero DM Potencial de protección y reparación después de una lesión en el cerebro en desarrollo: ¿un papel para la eritropoyetina? *Pediatra Res.* 2005; 57 :110-117.

50.-. Marti HH Eritropoyetina y el cerebro hipóxico. *J. Exp. Biol.* 2004; 207 : 3233–3242.

51. Liu W, Shen Y, Plane JM, Pleasure DE, Deng W. Potencial neuroprotector de la eritropoyetina y su derivada eritropoyetina carbamylada en la leucomalacia per ventricular. *Exp Neurol* 2011; 230: 227–39.
- 52) Juul SE, Ferriero DM. Estrategias neuroprotectoras farmacológicas en el cerebro neonatal. lesión. *Clin Perinatol* 2014; 41 (1): 119–31
53. Elmahdy H., El-Mashad A.-R., El-Bahrawy H., El-Gohary T., El-Barbary A., Aly H. Eritropoyetina recombinante humana en asfixia neonatal: ensayo piloto. *Pediatría*. 2010; 125 : e1135 – e1142.
- 54.- Van der Kooij MA, Groenendaal F., Kavelaars A., Heijnen CJ, van Bel F. Propiedades neuroprotectoras y mecanismos de eritropoyetina en modelos experimentales in vitro e in vivo para hipoxia / isquemia. *Brain Res. Rev.* 2008; 59 : 22-33.
55. Núñez A, Benavente I, Blanco D, Boix H, Cabanas F, Chaffanel M, et al. Oxidative stress in perinatal asphyxia and hypoxic-ischaemic encephalopathy. *An Pediatr (Barc)* 2018; 88: 228.e1-9.
56. *Sarnat HB, Sarnat Ms*: Neonatal encephalopathy following fetal distress. A clinical and electroencephalographic study. *Arch neurol* 1976; 33: 696-705.
57. Roka A, Azzopardi D. Therapeutic hypothermia for neonatal hypoxic ischaemic encephalopathy. *Early Hum Dev* 2010; 86: 361-7.
- 58.- González FF, Larphaveesarp A, McQuillen P, Derugin N, Wendland M, Spadafora R, et al. Erythropoietin increases neurogenesis and oligodendroglial precursor cells after neonatal stroke. *Stroke* 2013; 44: 753-8.
- 59.- Roka A, Azzopardi D. Therapeutic hypothermia for neonatal hypoxic ischaemic encephalopathy. *Early Hum Dev* 2010; 86: 361-7.
- 60.- María Cánovas-Ahedo, Daniel Alonso-Alconada [Combined therapy in neonatal hypoxic-ischaemic encephalopathy](#) *Anales de Pediatría (English Edition)*, Volume 91, Issue 1, July 2019, Pages 59-59.e6

61. Baserga M.C., Beachy J.C., Roberts J.K., Ward R.M., DiGeronimo R.J., Walsh W.F., Ohls R.K., Anderson J., Mayock D.E., Juul S.E., et al. Darbepoetin administration to neonates undergoing cooling for encephalopathy: A safety and pharmacokinetic trial. *Pediatr. Res.* 2015;78:315–322. doi: 10.1038/pr.2015.101
62. Iwai M, Stetler RA, Xing J, Hu X, Gao Y, Zhang W, et al. Enhanced oligodendrogenesis and recovery of neurological function by erythropoietin after neonatal hypoxic/ischemic brain injury. *Stroke* 2010; 41: 1032-7.
- 63.- Garg B, Deepak Sharma D, Bansal A. Systematic review seeking erythropoietin role for neuroprotection in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy: presently where do we stand. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018;31(23):3214–24.
64. Rogers E.E., Bonifacio S.L., Glass H.C., Juul S.E., Chang T., Mayock D.E., Durand D.J., Song D., Barkovich A.J., Ballard R.A., et al. Erythropoietin and hypothermia for hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatr. Neurol.* 2014;51:657–662.
- 65.- Gupta P, Sodhi KS, Saxena AK, Khandelwal N, Singhi P. Ecografía craneal neonatal: una revisión concisa para los médicos. *J Pediatr Neurosci.* 2016; 11 (1): 7 - 13)
- 66.- Alonso-Alconada D, Broad KD, Bainbridge A, Chandrasekaran M, Faulkner SD, Kerenyi A, et al. Brain cell death is reduced with cooling by 3.5 degrees C to 5 degrees C but increased with cooling by 8.5 degrees C in a piglet asphyxia model. *Stroke* 2015; 46: 275-8
- 67.-Tsai PT, Ohab JJ, Kertesz N, Groszer M, Matter C, Gao J, et al. A critical role of erythropoietin receptor in neurogenesis and post-stroke recovery. *J Neurosci* 2006; 26: 1269-74.
68. Fan X, Heijnen CJ, Van der Kooij MA, Groenendaal F, Van Bel F. Beneficial effect of erythropoietin on sensorimotor function and white matter after hypoxia-ischemia in neonatal mice. *Pediatr Res* 2011; 69: 56-61.
69. Niimi Y, Levison SW. Pediatric brain repair from endogenous neural stem cells of the subventricular zone. *Pediatr Res* 2018; 83: 385-96.

70 . Nonomura M., Harada S., Asada Y., Matsumura H., Iwami H., Tanaka Y., Ichiba H. Combination therapy with erythropoietin, magnesium sulfate and hypothermia for hypoxic-ischemic encephalopathy: An open-label pilot study to assess the safety and feasibility. *BMC Pediatr.* 2019;19:13.

71 .Jantzie LL, Miller RH, Robinson S. Erythropoietin signaling promotes oligodendrocyte development following prenatal systemic hypoxic-ischemic brain injury. *Pediatr Res* 2013; 74: 658-67

## 10. ANEXOS

### ANEXO 1

#### FORMATO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del estudio: Eficacia de la terapia neuroprotectora combinada con eritropoyetina recombinante humana (EPO) más hipotermia terapéutica (HT), frente a sólo hipotermia, como tratamiento en la EHI moderada-severa, en pacientes recién nacidos del Hospital Belén de Trujillo.

Yo (nombre y apellidos del padre de familia) .....  
con DNI .....; (madre/padre) del paciente ..... de .....  
horas de vida. Quien se encuentra hospitalizado en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales con Diagnostico de Encefalopatía Hipóxico Isquémica moderada- severa. Cuya terapia neuroprotectora combinada es con eritropoyetina recombinante humana (EPO) más hipotermia terapéutica (HT), siendo la EPO empleada dentro de las 48 hrs de vida. Con el tratamiento estandarizado, con hipotermia terapéutica (que en nuestro medio por escasos recursos utilizamos la hipotermia pasiva) se indicara dentro de las 6 horas de vidas.

Por lo antes expuesto, he decidido voluntariamente y en pleno uso de mis facultades mentales aceptar el tratamiento propuesto el cual es .....

He hablado con .....(nombre del investigador).

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio en las siguientes situaciones:

1. Cuando quiera
2. Sin tener que dar explicaciones
3. Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio

Fecha y Hora .....

Nombre en imprenta del participante .....

Firma del participante..... DNI:.....

Huella digital.....

En el caso de una persona analfabeta, puede poner su huella digital en el consentimiento informado. Le he explicado este proyecto al participante y he contestado todas sus preguntas. Creo que él comprende la información descrita en este documento y accede a participar en forma voluntaria.

Fecha y hora (la misma fecha cuando firma el participante).....

Firma del investigador.....

Nombre del investigador.....



