



T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

ASFİKTİK YENİDOĞANLARDA HİPOKSİ İLE
ERİTROPOİETİN DÜZEYLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ VE
ÖNEMİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. GÜLDANE AYLİN İNAL

Danışman

Prof. Dr. MEHMET AKİF ÖZDEMİR

KAYSERİ – 2006

TEŞEKKÜR

Pediatri uzmanlık eğitimimde bilgileri ve desteklerini esirgemeyen tüm E.Ü.T.F. Pediatri A.B.D. öğretim üyelerine, tezimin her basamağında bilimsel ve manevi desteğini esirgemeyen tez danışmanım Sn. Prof. Dr. Mehmet Akif Özdemir'e, değerli katkılarından dolayı Uzm. Dr. Yasemin Altuner Torun'a, tezimin gerçekleşmesi için laboratuvar olanaklarının sağlanmasındaki katkılarından dolayı Mikrobiyoloji A.B.D. öğretim üyesi Prof. Dr. Nedret Koç'a, sevgi ve özverilerini eksik etmeyen sevgili eşime ve canım kızıma teşekkür ederim.

Dr. Güldane Aylin İnal

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	III
TABLolar LİSTESİ.....	V
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	V
ÖZET.....	VI
SUMMARY.....	VIII
GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
Perinatal Asfikside Fizyopatolojik ve Klinik Değişiklikler.....	6
Perinatal Asfikside Nörolojik Bulgular.....	8
Perinatal Asfikside Tedavi Yöntemleri.....	11
Eritropoietin.....	12
Eritropoietinin Nöron Koruyucu Etkileri ve Fizyopatolojisi.....	16
Eritropoietinin Merkezi Sinir Sistemi Hastalıklarında Klinik Uygulamaları.....	22
HASTALAR ve YÖNTEM.....	25
BULGULAR.....	28
TARTIŞMA.....	35
SONUÇLAR.....	42
KAYNAKLAR.....	44
TEZ ONAY SAYFASI.....	53

KISALTMALAR

EPO	: Eritropoietin
EPO-R	: Eritropoietin reseptörü
MSS	: Merkezi sinir sistemi
HİE	: Hipoksik iskemik ensefalopati
DIC	: Dissemine intravasküler koagülasyon
IL	: İnterlökin
NO	: Nitrik oksit
EEG	: Elektroensefalogram
NMDA	: N-metil-D-aspartat
AMPA	: Amino-3-Hidroksi-5-Metil-4-İsoksazol Propionat
GABA	: Gamma amino bütirik asit
ADH	: Anti diüretik hormon
SPSS	: Sosyal bilimler için istatistik paket program
JAK	: Janus tirozin kinaz
HİF-1	: Hypoxia-inducible factor-1
HİF-2	: Hypoxia-inducible factor-2
FOXO	: Forkhead transcription faktör
GSK	: Glikojen sentetaz kinaz
PI3K	: Fosfoinozitol 3-fosfat
NF- κB	: Nükleer faktör κB
APAF-1	: Apoptotik proteazı aktive eden faktör-1
IGF-1	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
FDA	: Food and drug administration
PCR	: Polimerase change reaction

VEGF	: Vasküler endotelyal growth faktör
PHD	: Prolyl hidroksylase domain
FIH	: Factor inhibiting HIF- α
MPTP	: 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin
TNF	: Tümör nekroz faktör
BDNF	: Brain-derived neurotropic faktör
BOS	: Beyin omurilik sıvısı

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1	: Apgar skorlama.....	4
Tablo 2	: Hipoksik İskemik ensefalopati klinik evrelemesi (Sarnat ve Sarnat' ın sınıflaması)	10
Tablo 3	: Grupların cinsiyetlere göre dağılımı.....	28
Tablo 4	: Cinsiyetler ile EPO düzeyleri arasındaki ilişki.....	29
Tablo 5	: Belirli saatlerde alınan ortanca (min-mak) EPO düzeylerinin gruplar. arası karşılaştırılması	32
Tablo 6	: Grupların Belirli saatlerde alınan ortanca (min-mak)EPO düzeyleri... karşılaştırılması	33
Tablo 7	: Hematokrit ile EPO düzeyleri karşılaştırılması (n: 28).....	33
Tablo 8	: Santral sinir sisteminde EPO ve EPO reseptörlerinin eksprese edildiği hücreler	35
Ek Tablo 9	: Hastaların EPO düzeyleri, cinsiyetleri ve hematokrit düzeyleri.....	51
Ek Tablo 10	: Kontrol hastaların EPO düzeyleri ve cinsiyetleri.....	51

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil 1	: EPO ve EPO reseptörünün hücre sel mekanizması.....	13
Şekil 2	: Eritropoietinin ile oksijen ve eritrosit üretimi arasındaki ilişkinin..... mekanizması	14
Şekil 3	: Hipoksida ve normal oksijen seviyelerinde HIF regülasyonu.....	18
Şekil 4	: Grup 1' in saatleri içindeki ortalama EPO düzeylei dağılımı (n: 11).....	29
Şekil 5	: Grup 2' nin saatler içindeki ortalama EPO düzeyleri dağılımı (n: 9).....	30
Şekil 6	: Grup 3' ün saatler içindeki ortalama EPO düzeyleri dağılımı (n: 8).....	31
Şekil 7	: Grup 4' ün saatler içindeki ortalama EPO düzeyleri dağılımı (n: 10).....	31
Şekil 8	: Grupların ortalama EPO düzeyleri karşılaştırılması.....	33

ASFİKTİK YENİDOĞANLARDA HİPOKSİ İLE ERİTROPOİETİN ARASINDAKİ İLİŞKİ VE ÖNEMİ

ÖZET

Amaç: Perinatal asfiksi, yenidoğan döneminde sık karşılaşılan önemli bir problemdir. Özellikle hipoksi ile beynin etkilenmesi sonucunda ortaya çıkan hipoksik iskemik ensefalopati, ölümlere veya hayat boyu sürebilecek sakatlıklara sebep olabilmektedir. Santral sinir sistemi hasarına karşı günümüzde etkin bir tedavi şekli yoktur. Son yıllarda, iskemi sonrası beyin hücrelerinin iyileşmesini sağlayan mekanizmalardan yola çıkılarak EPO sistemi keşfedilmiş, çeşitli çalışmalarda da etkisi ve önemi gösterilmiştir. Bu çalışmada amacımız asfiksiye maruz kalmış bebeklerde, hipoksinin şiddeti ve seyri sırasında kandaki eritropoietin düzeylerinin değişimini belirlemek ve ilerde klinik uygulamalar açısından önemini belirtmektir.

Hastalar ve Yöntem: Bu çalışmaya, Kasım 2005-Temmuz 2006 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Yenidoğan Ünitesinde takib edilen hastalar alınmıştır. Hastalar 37 hafta ve üzeri matür, klinik ve laboratuvar olarak asfikside kalmış olduğu belirlenmiş olan yenidoğanlardan oluşmaktadır. 28 asfiktik hasta ve 10 sağlıklı kontrol bebek çalışmaya alınmış ve asfiktik hastalar Sarnat ve Sarnat' ın hipoksik iskemik ensefalopati evreleme sistemi öncülüğünde üç gruba ayrılmıştır. Sağlıklı kontrol grubundaki bebekler ise perinatal asfiksi ile karışan durumları ve EPO düzeylerini etkileyecek bulguları olmayan, indirek hiperbilirubinemi nedeniyle fototerapi uygulanan bebeklerden oluşmaktadır. Takiplerinde, bebeklerin 12 saat ara ile nörolojik değerlendirmeleri yapılarak eritropoietin düzeyleri ölçümü için toplam beş

defa kan numuneleri alındı ve beraberinde hematokrit düzeyleride kaydedildi. EPO düzeyleri ELİSA yöntemi ile çalışıldı. Sonuçlar mU /ml olarak ifade edildi. İstatistiksel sonuçlarda, nonparametrik olarak ortanca (minimum-maksimum) şeklinde değerler verildi. Cinsiyetler ile EPO düzeyleri arasındaki dağılımı göstermek için, bağımsız iki grup arasındaki farkı belirten Mann-Whitney U testi, Hematokrit ile eritropoietin düzeyleri arasındaki ilişki için Spearman's korelasyon testi, asfiksi ve eritropoietin düzeyleri arasındaki ilişki içinde Sigmastat 3,1 programından Kruskal Wallis One Way testi ve bu testin çoklu karşılaştırma analizini yapan Dunn metodu, Friedman analiz testleri ile Tukey testi uygulandı.

Bulgular: Çalışmada, Asfiktik hastalar Sarnat ve Sarnat' ın hipoksik iskemik ensefalopati evreleme sistemine göre Evre 1, Evre 2 ve Evre 3 olmak üzere 3 asfiktik grub, bir sağlıklı kontrol grubu ile beraber toplam 4 grup oluşturuldu. Bebeklerin cinsiyetleri ile EPO düzeyleri arasındaki ilişki incelendiğinde erkekler ile kızlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). Hematokrit ile EPO düzeyleri arasında herhangi bir korelasyon olmadığı ve ilişkinin zayıf olduğu görüldü. Asfiktik hastaların EPO düzeyleri, kontrol grubunun düzeylerine göre yüksek olarak ölçüldü. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). Grup 1' den grup 3' e doğru EPO değerlerinin giderek yükselmekte olduğu tespit edildi. Hipoksinin şiddeti ile artan bu değerler istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Hastaların hipoksiye maruz kaldıkları erken dönemde EPO düzeyleri belirgin yüksekti ve bu yükseklik hipoksik olayın ortadan kalktığı ilerleyen saatlerde düşme eğilimindeydi. İlk saatler ile ilerleyen saatlerdeki EPO düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

Sonuç: Perinatal asfiksili hastaların, kontrol grubundaki bebeklere göre hipoksinin şiddeti ile orantılı giderek artan EPO düzeyleri olduğu ve özellikle hipoksiye maruz kalınan saatlere yakın alınan değerlerin daha yüksek olduğu görüldü. Hipoksik stres karşısında yükselerek hücreleri korumaya çalışan eritropoietin, belkide nöron koruma tedavileri için gelecekteki başarılı yaklaşımların anahtarı olacaktır.

Anahtar Kelimeler : Perinatal asfiksi, hipoksi, eritropoietin

IN NEWBORN, THE RELATIONSHIP BETWEEN HYPOXIA AND ERYTHROPOEITIN AND ITS IMPORTANCE

ABSTRACT

Aim: Perinatal asphyxia is an important problem that is commonly seen in newborn period. Especially, hypoxic ischaemic encephalopathy that is caused by hypoxic injury can lead to death or some disabilities in whole life. There is no efficient treatment against to central nervous system injuries. In the last years, Epo system was found by the studies that were done on the mechanism of brain cell impairment after the ischaemia. Further studies show the effects and importance of the Epo system. In this study, our aim was to compare the severity of hypoxia and serum Erythropoietin level in the asphyctic newborns and evaluate of importance this relationship in the manner of clinical use.

Patients and methods: In this study, the examination was done on the patients who were followed up by newborn units in the medical department of the Erciyes University in the time period between November 2005-July 2006. Patients were 37 weeks and above mature infants who were determined as having asphyxia by laboratory analysis and clinical tests. 28 asphyctic patients and 10 healthy control babies were examined in this study and by the use of Sarnat and Sarnat's hypoxic ischaemic encephalopathy scale system, asphyctic patients divided into 3 asphyctic groups. The infants in the healthy control group were consist of babies that have no asphyctic clinic outcome but treated by phototherapy because of indirect hyperbilirubinemia. The cases that can be confused with perinatal asphyxia and the babies who has a conditions

changing their Epo levels were excluded from this study. In the following up of patients, babies were evaluated neurologically in every 12 hours and for the Epo level measurement blood samples were taken 5 times in total. Hematokrit levels of babies also measured. In this study ELISA method was used. Results are in mU / ml. The statistical results are shown as nonparametric means. Mann-Whitney U tests that shows the relationship 2 independent groups was used to show relationship between EPO level and gender. Spearman's correlation test was used for the relationship between Hematokrit and EPO levels. For the relationship between asficsy and EPO levels Kruskal Wallis One Way test form the Sigmastat 3,1 program was used. For the multiple comparence of the result of this test, Dunn's method and the analysing test of Friedman and Tukey test was used.

Result: 4 groups were formed in this study. One is from healthy control babies, 3 groups were formed from the asfictic newborns according to Sarnat and Sarnat's hypoxic ischaemic encepholopathy scale system. In the comparance of the gender of infant with their EPO levels, no statistically important difference observed between females and males ($p>0,05$). In this study Hematokrit level changes by EPO levels or EPO level changes by Hematokrit level were not observed. It was seen that there was no corelation between Hematokrit and EPO levels and the relationship between them was weak. EPO levels of asfictic patients were measured higher than the control group's values. This difference was statistically significant ($p<0,05$). In the asfictic patient groups, from group 1 to group 3, EPO levels increased by severity of the hypoxia and this result was also statistically significant ($p<0,05$) The EPO level values measured in the first hours after the hypoxia was significantly higher and this high values decrease by hours. The values measured just after the hypoxia and later different from each other were statistically significant ($p<0,05$). EPO that try to protect cells by increasing in the hypoxic stres can be the key of neuron protection treatment studies in the future.

Key Words : Perinatal asphixia, hypoxia, erythropoietin.

GİRİŞ ve AMAÇ

Asfiksiye maruz kalan bebeklerin morbidite ve mortalitesini en fazla etkileyen, en önemli olay hipoksik iskemik ensefalopatidir ve günümüzde etkin bir tedavisi yoktur (1). Son yıllarda yapılan araştırmalarda, oksijen bağımlı bir sistemle yönetilen ve esas olarak böbreklerden salınan eritropoietinin beyinde de üretilebildiğı tespit edilmiştir (2). Bu tespit, EPO'nun hipoksik beyinlerde önemini ve etkinliğini araştıran bir çok çalışmaya ışık tutmuştur.

Vucuttaki hipoksik adaptasyon işlemlerinin çoğı HIF-1(Hypoxia-inducible factor-1) ve HIF-2(Hypoxia-inducible factor-2) tarafından düzenlenmektedir. EPO ekspresyonu ise esas olarak HIF-1 tarafından kontrol edilmektedir. Hipoksi ile HIF aktive olmakta ve EPO genini uyararak EPO'nun ekspresyonunu arttırmaktadır. EPO ise reseptörü aracılığıyla hücrelerin çoğalmasını, farklılaşmasını sağlamaktadır. İşlevlerini daha çok apoptozu engelleyerek yapmaktadır (2).

Hayvan deneylerinde, iskemi sonrasında beyin hücrelerinde EPO reseptörlerinin arttığı gözlenmiş ve dışardan EPO verilerek yapılan invitro ve invivo deneylerde ise bir çok mekanizma ile nöronları koruduğı tespit edilmiştir. Çalışmalarda EPO'nun hücre düzeyde, özellikle programlı hücre ölümünü azaltarak hücrelerin hayatta kalma sinyallerini arttırdığı, kapiller oluşumları sağladığı, dopamin gibi hücreleri koruyan nörotransmitterlerin salınımını uyardığı, serbest oksijen radikallerinin, nitrik oksit ve inflamatuvar mediatörlerinin salınımını azalttığı, hücre içi kalsiyumu düzenlediğı, kainik asit toksisitesini önlediğı gösterilmiştir (2,6).

Sonuç olarak araştırmalarda, EPO ve EPO reseptör sistemi, beyin hücrelerini hipoksik dönemlerin oluşturduğu hasardan koruyan endojen bir sistem olarak görev yapmakta olduğu tespit edilmiştir. Bu düşünceden yola çıkılarak amacımız, asfiktik yenidoğanlarda endojen EPO düzeylerinin asfiksiniň şiddeti ile seyri sırasındaki değişimleri belirlemek ve EPO'nun santral sinir sisteminde yerini, önemini belirten bir çalışma yapmaktır.

GENEL BİLGİLER

Asfiksi latince nabızsızlık anlamına gelip, şiddetli hipoksiye bağlı kalp yetmezliği olarak ifade edilmektedir ve John Scott Haldane 1922 yılında, “Asfiksi yalnız makinenin durması değil, makinenin kırılmasıdır” şeklinde asfiksiyi tanımlamıştır (1).

Perinatal asfiksi, neonatal morbidite, mortalite ve yaşayanlarda nörolojik sekellerin yaygın nedenlerinden birisidir. Dünyada her yıl tahmin edilen 140 milyon yeni doğanın %3-5'i, doğumda resüsitasyona ihtiyaç duymakta, dört milyon bebek ise asfiksiye maruz kalmaktadır. Sonuçta bu bebeklerin yaklaşık 1 milyonu ölmekte ve buna yakın sayıdaki bebekte ise sekel kalmaktadır (3). Gelişmiş ülkelerde bile uygun olanaklara rağmen 1000 doğumda 2-4 bebeğin asfiksiye maruz kaldığı görülmektedir (4). Ülkemizde yapılan çalışmalarda da, asfiksinin perinatal ölüm nedenleri içerisinde yüksek oranlarda olduğu belirlenmiştir (5).

Asfiksi doğum öncesi, sırası veya sonrasında fetoplasental gaz değişiminin yetersiz kalması sonucunda oluşmaktadır. Bir takım klinik ve laboratuvar bulgularla tanısı konulmaktadır. Bu bulgular ;

1. İlk solunumun başlamasında gecikme olması,
2. Apgar skorunun beş dakikadan daha uzun süre 0-3 puan arasında olması,
3. Umbilikal kord kan örneğinde derin metabolik veya miks asidemi olması (pH ≤ 7.0),
4. Multisistemik disfonksiyon bulgularının ortaya çıkması,

5. Erken neonatal dönemde nörolojik bulguların oluşması şeklinde görülmektedir (6).

Virginia Apgar 1953 yılında yenidoğanlarda intrapartum stresi ve nörolojik depresyonu belirlemek için basit, sistematik bir değerlendirme geliştirmiştir. Bu değerlendirmeye göre kalp hızı, solunum çabası, kas tonusu, refleks irritabilite ve deri rengi gibi beş değişken doğumda 1., 5. gerekirse 10. ve 20. dakikalarda değerlendirilir. Her biri 0'dan 2'ye kadar puanlandırılır (Tablo 1). Toplam 10 puan bebeğin çok iyi olduğunun göstergesidir (7).

Tablo 1 . Apgar Skorlama

DEĞİŞKEN	SKOR		
	0	1	2
Kalp Hızı	Yok	<100 / dk	>100 / dk
Solunum Çabası	Yok	Yavaş düzensiz	İyi, ağlama
Kas Tonusu	Gevşek	Ekstremitelerde hafif fleksiyon	Aktif hareketli
Refleks İrritabilite	Yok	Hafif	Öksürme, hapşırma
Renk	Mavi, Soluk	Gövde pembe, ekstermiteler mavi	Pembe

Sonuç değerlendirmesi : 0-4 puan çok düşük skor (ağır asfiksi), 4-6 puan düşük skor (orta şiddette asfiksi), 7-10 puan normal olarak kabul edilmektedir.

Apgar skoru doğumda, bebeğin akut durumunu değerlendirmede yararlıdır. Birinci dakika apgar skoru, gerektiğinde uygun resüsitasyon yapabilmek amacıyla solunum fonksiyonlarını değerlendirmek için faydalıdır. Beşinci dakika apgar skoru ise bebeğin uzun süreli takibinde önemlidir. Beşinci dakika skoru 6'dan düşük olan miadında yeni doğanların, nörolojik sekel ve ölüm riski daha fazladır (8).

Apgar skorunda özellikle birinci dakika değerlendirilmesinin, asfiksünün diagnostik bir göstergesi olup olmadığı yıllardır tartışma konusu olmuştur. Asfiksi dışında bazı durumlarda da düşük skorlama olabilmekte ve asfiksi tablosu ile karışabilmektedir. Örneğin anneye verilen anestezipler, sedatifler, bebeğin kas

hastalığının olması, fetal sepsis, prematürelilik, konjenital malformasyonlar gibi nedenlerden dolayı yenidoğanlar asfiksi tanısı alabilmektedir. Ancak günümüzde çeşitli araştırmacıların da görüşleri perinatal durum değerlendirilmesinde, geleneksel bir yöntem olan apgar skoru kullanımı yönünde olmaktadır. A.B.D.'de apgar skoru ile nörolojik gelişim arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmada, çocuklar 7 yaşına kadar takip edilmiş, apgar skoru beşinci dakikada 3 ve altında olan çocukların %3.9'unda mental retardasyon, %5.1 'inde serebral palsi saptanmıştır (9,10).

Belirgin asfiksiye rağmen çocukların büyük bir kısmının normal gelişime sahip olduğu görüldüğünden "American Academy of Committee on Fetus and Newborn" 1986 yılında, birinci ve beşinci dakika apgar skorlarının nörolojik gelişimle zayıf bir ilişkisi olduğunu, bu amaçla kullanılacaksa 10., 15., 20. dakikalardaki değerlendirmenin daha uygun olacağını belirtmişlerdir (11).

Perinatal asfiksidede hipoksik olay %90 doğum öncesi veya doğum sırasında, %10' da doğum sonrası dönemde olmaktadır. Hipoksidede rol alan mekanizmalar;

1. Umbilikal kord dolaşımının bozulması (kordon basısı, kordon sarkması, kordon dolanması),
2. Plasental gaz değişiminin bozulması (plasental yetmezlik, plasenta previa, ablasyo plasenta),
3. Maternal hipotansiyon, hipertansiyon,
4. Maternal oksijenlenmenin bozulması (kardiopulmoner hastalık, anemi vs.),
5. Doğum sonrası yenidoğanın yeterli kardiopulmoner sirkülasyonun sağlanmasında yetersizlik ve solunum yetmezliği (4,6,12).

Bu mekanizmaların oluşmasında bir takım risk faktörleri bulunmaktadır. Bu faktörler (12,13) ;

Maternal nedenler : Anne yaşının çok küçük veya ileri olması, iskelet anomalilerinin bulunması, annede diabet, hipertansiyon, eklampsi, kardiovasküler, nörolojik, tiroid hastalıklarının ve TORCH enfeksiyonlarının varlığı, annenin ilaç (magnezyum, beta adrenerjik, lityum vs.) ve zararlı maddeler (uyuşturucu, sigara, alkol, transklizan ilaç) kullanıyor olması ve anemik olması.

Fetal nedenler : Çoğul gebelik, anemi (hidrops fetalis, eritroblastosis fetalis), fetal anomaliler, iri fetus, intrauterin büyüme geriliği, fetal enfeksiyonlar.

İntrapartum nedenler : Plasental anomaliler (kordon sarkması, kordon dolanması, plasenta. previa, ablasyo plasenta vs), vakum veya forseps uygulamak, uzamış veya hızlı doğum, fetal membranların erken rüptürü.

PERİNATAL ASFİKSİDE FİZYOPATOLOJİK VE KLİNİK DEĞİŞİKLİKLER

Hipoksi, uteroplasental kan akımının durması veya göbek kordonunun ani basısı sırasında plasental perfüzyon bozulduğunda ortaya çıkmaktadır. Hipoksi sırasında fetus kalp, beyin, adrenaller gibi hayati organları korumak ve aşırı oksijen tüketimini azaltmak için bir takım adaptasyon mekanizmaları geliştirmiştir. İlk önce adrenerjik sistem faaliyeti arttırılmak suretiyle özellikle beyin, kalp gibi önemli organlara giden kan akımı arttırılırken, böbreklere, gastrointestinal sisteme, karaciğere, kasa, deriye gidecek kan miktarı azaltılır. Hipoksi ile vagal uyarı sonucunda bradikardi ve sistemik hipotansiyon da gelişir ancak, sistemik hipotansiyona rağmen beyin kendi dolaşımını belli bir düzeyde tutmaya çalışır. Erken dönemde GABA, glisin gibi inhibitör mediatörler salınarak, uyarılmış hücreler ve elektrikselsel aktivite baskılanıp, oksijen tüketimi ve metabolizma azaltılmaya çalışılır (1,14,15). Özellikle hipoksiden sonraki ilk 6-24 saat çok önemlidir ve bundan sonra, ilerleyen serebral hasar safhasına geçilir. Hipoksinin devam etmesi sonucunda oksijen miktarının da yetersiz kalmasıyla anaerobik metabolizma çalışır. Laktat yapımı artar, metabolik asidoz gelişir. Yüksek enerjili fosfat depoları, ATP tükenmeye başlar, iyon pompalarının fonksiyonu bozulur, kalsiyumun hücreye giriş çıkışı bozulur ve hücre içinde sodyum, kalsiyum ve beraberinde su birikerek sitotoksik ödem gelişir. Akson terminallerinden eksitator nörotransmitterler salgılanmaya başlar. Uyarıcı nörotransmitter olan glutamat ve aspartat ile postsinaptik nöronlara kalsiyum ve sodyum girişi giderek artar. Bu iki esansiyel aminoasit beraberinde subtipleri olan reseptörleride uyararak iyon kanallarının daha çok açılmasına katkıda bulunup, hücre ölümünü kolaylaştırmaktadır. Subtip reseptörleri kainik asit, N-methyl-D-aspartat (NMDA), amino-3-hidroksi-5-methyl-4 isoksazol propionat'tır (AMPA) tır. Asfiksi sırasında uyarıcı bu aminoasitlerin, özellikle beynin korteks ve bazal ganglionlarında daha fazla serbest kaldıkları gözlenmiştir (15,16,17).

Sitoplazma içinde membran fosfolipid döngüsünün artmasına bağlı olarak hücrede serbest yağ asitleri birikir. Biriken bu yağ asitleri, prostaglandinler, ksantin ve ürik asit sentezinden açığa çıkan ve mitokondri kökenli serbest oksijen radikalleri ile oksidasyona uğramaktadır. Benzer şekilde hücre içindeki kalsiyum da toksik etki ile bazı nöronlarda nitrik oksit salınımına neden olmaktadır. Böylece hücrenel enerji azalması, asidoz, glutamat salınımı, intrasellüler kalsiyum birikimi, lipid peroksidasyonu ve nitrik oksit toksisitesi ile hücre ölümü meydana gelir. Bu olaylar daha çok kronik hipoksi durumlarında ortaya çıkmaktadır. Hipoksik durum ortadan çabuk kalkarsa olay geriye dönüşümlüdür. Hipoksi devam ettikçe belirgin mitokondrial hasar oluşmaktadır. Bu hasar ile apoptozu uyaran proteinler salınarak sitokrom C' nin translokasyonu ve kaspazların aktivasyonu meydana gelmektedir. Sonuç olarak sitoplazmada proteolitik enzimler açığa çıkarak nükleer parçalanma meydana gelmektedir. Hipoksiden yaklaşık 1-4 saat sonra etkilenen bölgelere inflamatuvar mediatörler gelmeye başlayacaktır. Bunlar IL-1 β , IL-6, TNF- α gibi mediatörlerdir. Bu sitokinler doğrudan toksik etkileri yanında nitrik oksit yapımına ve serbest oksijen radikallerin salınımına da neden olmaktadır. Ancak bu sitokinlerin hücre yıkıcı etkilerinin yanında koruyucu etkileride bulunmaktadır. Hipoksi ve iskemiden sonraki hücre ölümü ya nekroz ya da apoptoz şeklinde olmaktadır. Başlangıçtaki hipoksik olayın şiddeti fazla ise hücreler nekroza gitmekte, şiddeti daha az ise hücreler de apoptozis görülmektedir (1, 15, 17, 18, 19).

Perinatal asfikside morbidite ve mortaliteyi etkileyen en önemli olay beynin etkilenmesidir. Bu durum karşımıza klinik olarak, hipoksik iskemik ensefalopati olarak çıkmaktadır. Hastalarda santral sinir sistemi dışında başka organ fonksiyonlarında da bozukluklar ortaya çıkmaktadır. Etkilenen organlar ve hastalıkları (1);

1. **Kalp** : Kalp yetmezliği, myokardial iskemi, hipotansiyon, hipoksik myopati,
2. **Akciğerler** : Persistan pulmoner hipertansiyon, pulmoner kanama, respiratuvar distres sendromu, aspirasyon pnömonisi,
3. **Böbrekler** : Akut tübüler ve kortikal nekroz, myoglobüri, hematüri, sıvı elektrolit imbalansı,
4. **Gastrointestinal sistem** : Hepatik disfonksiyon, beslenme intoleransı nekrotizan enterokolit,

5. Adrenaller : Kanama,

6. Hematolojik : DIC,

7. Endokrin ve metabolizma : Uygunuz ADH salgılanması, asidoz, hiperpotasemi, hipokalsemi, hiponatremi, hipoglisemi, hipotermidir.

Hastaların yaklaşık %30-40'ında en az iki organ tutulumu olmaktadır. Yapılan birçok çalışmada perinatal asfiksiye maruz kalan vakalarda beyin hasarının yanında %40 böbreklerde, %25 gastrointestinal sistemde, %20 kardiovasküler sistemde, %30 pulmoner sistemde hasar olduğu ortaya çıkmıştır (1).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada, yenidoğan ünitesine gelen hastalarının %11'i perinatal asfiksi tanısı almış olup etyolojilerinde en fazla gebelik toksemisi (%26.7), antepartum kanama (%25.3), mekonyumlu amnion mayi (%14.6) olduğu tespit edilmiştir. Bu olguların %25.2'sinde pulmoner, %24.8'inde renal, %10.8' inde de kardiovasküler sistem tutulumu bulguları görülmüştür. Perinatal asfiksilili term bebeklerin %42.6'sı Sarnat ve Sarnat kriterlerine göre Evre 1, %41.8 'si Evre 2, %16' sı Evre 3 olarak değerlendirilmiştir (20).

PERİNATAL ASFİKSİDE NÖROLOJİK BULGULAR

Asfiksinin en korkulan sonucu, hipoksik iskemik ensefalopatidir (HİE). Metabolizma için gerekli olan substratın ve bunu metabolize edilecek oksijenin yokluğu, laktik asit birikimi, toksik nörotransmitterlerin salınımı, iskemi ve sonuçta nörolojik etkilenme meydana gelmektedir (1).

Perinatal asfiksi kronik-kısmi veya akut-tam asfiksi şeklinde iki ayrı tablo halinde ortaya çıkmaktadır. Bu iki durum birbirinden klinik ve patolojik özellikler ile ayırd edilmektedir (1). Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, hipoksik olay bir saat veya daha fazla sürüyorsa kronik kısmi asfikside söz edilmektedir. Fetus, kalp ve beyin gibi hayati organları korumak ve oksijen kullanımını azaltmak için bir dizi adaptasyon mekanizması geliştirmiştir. Olayın ilerlemesiyle progresif asidoz gelişir ve bu mekanizmaların yetersiz kalmasıyla beyne giden kan akımı giderek bozulur. Kronik kısmi asfikside serebral hemisferlere giden kan akımında belirgin azalma olurken, bazal metabolizmanın en fazla olduğu talamus, beyin sapı ve serebellum korunmaya çalışılmaktadır (intra serebral şant). Bu durumda serebral hemisferler ve özellikle

perfüzyonun en uç noktaları olan parasagittal korteks ve bunun altındaki beyaz cevher hipoksemiden etkilenmeye başlar, küçük enfarktlar ve lokal konvulziyon odakları gelişir. Olayın daha da ilerlemesiyle bütün serebral hemisferleri etkileyen infarkt alanları ortaya çıkmaktadır (1,17).

Akut tam-asfiksi 10 dakika gibi kısa bir süre içinde plasental akımın bozulmasıdır. Olay hızlı geliştiği için intraserebral kan dolaşımının yeniden düzenlenmesi, yani şantların oluşması yetersizdir. Buna bağlı olarak hipoksik zedelenme bulguları metabolik aktivitenin fazla, enerji depolarının az olduğu yerlerde daha fazla görülür. Talamus ve beyin sapı nükleusları belirgin derecede etkilenirken, serebral hemisferler daha iyi korunur ve beyin ödemi görülmez. Asfiksi on dakikadan daha kısa sürerse beyin zedelenmesi bulguları tamamen düzelebilir ve asfiksi bulguları geri dönebilir. On-yirmibeş dakika kadar uzun sürerse talamus ve beyin sapı nükleuslarında ağır zedelenme görülebilir, yirmibeş dakikadan uzun süren durumlarda ise ağır kardiyak zedelenme bulguları da olduğundan geri dönüşümsüz vasküler kollaps gelişebilir. Bu iki tablo hayvanlar üzerindeki çalışmalarda gösterilmiştir. İnsanlarda bu iki tablo değişik oranlarda birlikte bulunmaktadır (1,17).

Nörolojik bulgular hipoksik iskemik zedelenmenin derecesine, süresine ve etkilenme yerine bağlıdır. Belirgin etkilenmiş bebekler doğduklarında resüsitasyon gerektirecek kadar deprese ve bradikardiktirler. İlk 12 saatlik sessiz dönemden sonra konvulziyonlar ortaya çıkar. 24-48. saatlerinde beyin ödemi görülür. Beyin sapı disfonksiyon bulguları 24 saatten sonra ortaya çıkar. Sabit pupiller, okülosefalik refleksini ve kornea refleksinin yokluğu (pons zedelenmesi), dilde fasikülasyonlar (medulla spinalis zedelenmesi) görülebilir. Beslenme ve yutma bozuklukları, sekresyonlar büyük sorun teşkil etmektedir. Hatta sekresyonlardan dolayı entübasyon bile gerekebilir (21).

Hipoksik iskemik ensefalopatide Sarnat ve Sarnat'ın önerdiği evreleme 1976 yılında bütün dünyada kullanılmaya başlanmıştır (22) (Tablo 2).

Tablo 2 : HİE klinik evrelemesi (Sarnat ve Sarnat'ın sınıflandırması)(22)

	EVRE 1	EVRE 2	EVRE 3
Şuur durumu	Hiperalert	Letarjik	Stupor,koma
Nöromusküler kontrol	Aşırı hassas	Spontan harekette bozulma	Spontan hareket yokluğu
Kas tonusu	Normal	Hipertonik	Flask
Postür	Normal	Fleksiyon	Deserebre
Derin tendon refleksleri	Belirgin	Belirgin	Azalmış
Yakalama refleksi	Canlı	Canlı	Azalmış
Segmental myokloni	Var	Var	Yok
Emme refleksi	Zayıf	Zayıf,yok	Yok
Moro refleksi	Güçlü	Zayıf	Yok
Okülovestibüler refleks	Normal	Hiperaktif	Zayıf,yok
Tonik boyun refleksi	Yüzeyel	Güçlü	Yok
Otonomik fonksiyon	Sempatik	Parasempatik	Deprese
Pupiller	Midriatik	Miyotik	Değişken
Kalp hızı	Taşikardi	Bradikardi	Değişken
Sekresyon	Artmış	Azalmış	Değişken
Gastrik motilite	Normal, az	Artmış	Değişken
Konvulziyon	Yok	Sık	Nadir
EEG bulguları	Normal	Erken düşük voltaj, epileptik aktivite	Erken periyodik, burst supresyon
Devam süresi	24 Saatten kısa	2-4 Gün	Günler, haftalar

HİE' den sonra oluşabilecek komplikasyonların şiddetini önceden belirlemek zordur. Ancak doğumdan sonra ilk 20-30 dakika içinde solunumun olmaması mortalite ile ilişkilidir. Konvulziyonların varlığı endişe verici bir bulgudur. Anormal klinik ve

nörolojik bulgular 7-10 günden daha fazla devam ediyorsa prognozun kötü, sekel ihtimalinin yüksek olacağını göstermektedir (1).

PERİNATAL ASFİKSİDE TEDAVİ YÖNTEMLERİ

Fetusun intrauterin ve ekstrauterin hipoksiden korunması esas ve en önemli yaklaşım olmalıdır. Asfiksi geliştikden sonra, destek tedavisi ve özellikle beyin fonksiyonlarına yönelik koruyucu tedaviler uygulanmaktadır (1,16).

Tedavi yöntemleri ;

1. Yeterli ve zamanında yapılan resüsitasyon.
2. Yoğun bakım izlemi (hipotansiyon, hipoglisemi, hipokarbinin önlenmesi, uygun sıvı ve solunum desteği, konvülziyonların, elektrolit imbalansının, hiperterminin önlenmesi, beyin ödeminin tedavisi).
3. Nöroprotektif tedaviler bulunmaktadır. Nöroprotektif tedavi seçeneklerinden bir çoğu günümüz şartlarında deney aşamasındadır.

Bunlar (1,9);

- NMDA (N-metil-D-aspartat) reseptör antagonistleri (dizocilpine, tensiklidin, dekstrametorfan, ketamin, selfosel, cerestat),
- NO antagonistleri,
- Magnezyum ,
- Antioksidanlar (allopurinol),
- Apoptozu önleyici tedaviler (minosiklin),
- Büyüme faktörleri eritropoietin (EPO), Vasküler Endotelial Growth Faktör (VEGF), Nerve Growth Faktör (NGF), Heparin- Binding Epidermal Growth Faktör (HB-EGF), Brain-Derived Neurotropic Faktör (BDNF)
- Hipotermi,
- Kalsiyum kanal inhibitörleri (flunarizin, nicardipin),
- Adenozin,
- α 2 adrenoreseptör agonistleri (klonidin, deksmedetomidin),
- Topiramet,
- Agmantine,

- Glutamat reseptör antagonistleridir.

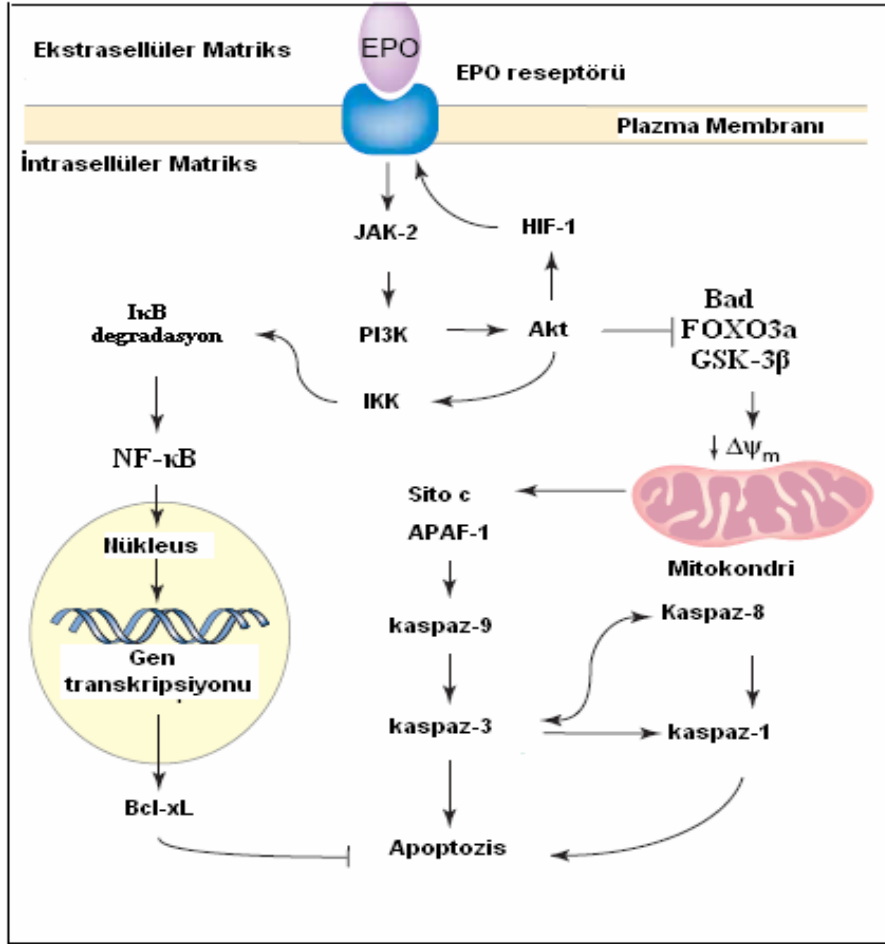
Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de büyük bir problem olan perinatal asfiksi tedavisindeki yeni yöntemler dikkatle incelenmekte ve kullanımı açısından çeşitli araştırmalarla değerlendirilmektedir.

ERİTROPOİETİN

İlk kez 1906 yılında Carnot ve Deflandre (23) arteryel hipoksinin bir hümorale faktörle kırmızı hücre üretimini arttırdığını bildirmişler ve adını hematopoietin olarak belirlemişlerdir. 1952 yılında, Stohlman ve arkadaşları (24) vücudun siyanotik alanlarındaki kemik iliğinden yapılan örneklemelerinde, normal bölgelerle karşılaştırıldığında eritroid hiperplazi gözlemlemişlerdir. 1953 yılında da bu hormonun ismi eritropoietin (EPO) olarak değiştirilmiştir. 1957 yılında EPO üretiminin böbreklerde olduğu, bilateral nefrektomili deney hayvanlarında anemi gelişmesiyle saptanmıştır. Fetal eritropoezisinde EPO aracılığıyla düzenlendiği ilk olarak 1963 yılında tanımlanmıştır. 1977 yılında saf EPO insan idrarından izole edilerek aminoasit yapısı kısmen tespit edilmiş, 1985 yılında da EPO geninin izolasyonu ve klonlanması gerçekleştirilmiştir (rhEPO). En son 2005 yılında Fisher tarafından yapısı incelenmiştir (24,25).

EPO, esas olarak erişkin böbreklerindeki interstisiyel fibroblastlarda fetusta ise hepatositlerde üretilen bir glikoproteindir. Yapısı ısıya dayanıklı alfa globulindir. Yedinci kromozomda bulunan tek kopya gen olan insan EPO geni beş ekzon ve dört introndan oluşmaktadır. Son ürünü yaklaşık 30 kDal molekül ağırlığında, 165 aminoasitli bir peptiddir ve yaklaşık % 40'lık bölümü karbonhidrattan meydana gelmektedir. Dört tane glikolize olmuş zincire sahiptir, bunlardan 3 tanesi N-bağlı, bir tanesi de O-bağlı asidik oligosakkarit yan zincirlerdir. Glikolize bu zincirler EPO'nun biyolojik aktivitesi açısından önemlidir ve EPO'nun protein yapısını oksijen radikallerinden korumaktadır. Ayrıca, N ve O bağli zincirler olgun EPO üretimi ve salgılanması için gereklidir. EPO'nun biyolojik aktivitesi, pozisyon 7 ve 160 ile pozisyon 29 ve 33'de bulunan sistein bağli arasında kurulan iki disülfid bağli bağıdır. EPO Neuraminidaz tarafından da yıkılmaktadır ve sağlıklı insanlarda ortalama serum değeri 8.1 mIU/ml (3.7-15.2) olarak ölçülmektedir (25,27,28).

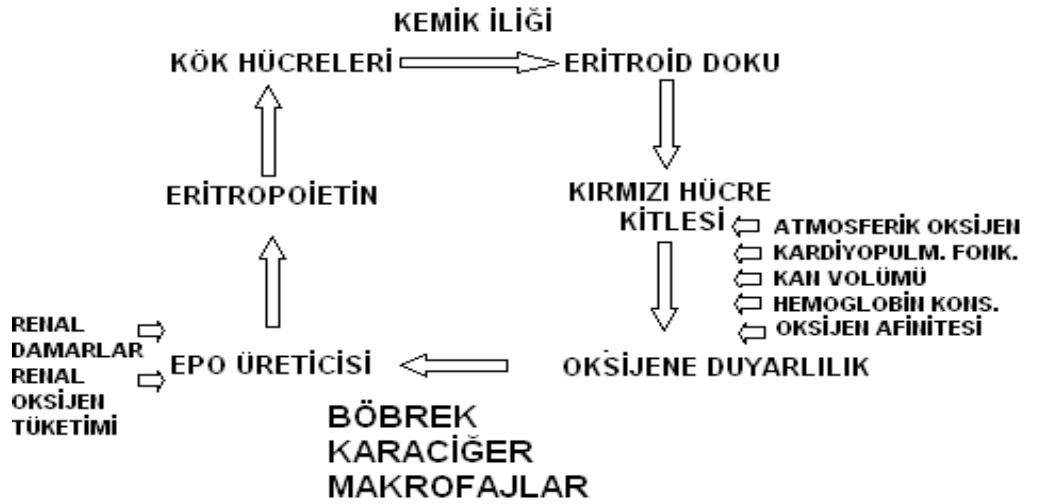
Temel işlevini gerçekleştirmek için EPO hücrelerdeki bir yüzey reseptörüne (EPO reseptör) bağlanır ve reseptöre EPO nun bağlanması ile reseptör homodimerize olarak aktifleşir. EPO-R ile ilişkili Janus tirozin kinaz -2 (JAK-2) otofosforile olur. JAK-2, protein kinaz B (Akt) ve diğer alt basamaklarını aktive etmektedir. Bu alt basamaklar, FOXO3a, GSK-3 β (glikojen sentetaz kinaz), Bad, PI3K (Fosfoinozitol 3-fosfat), Bcl-xL, NF- κ B (Nükleer faktör κ B), APAF-1 (Apopitotik proteazı aktive eden faktör-1), mitokondrial membran geçirgenliği ve kaspazlardır. Sonuçta hedef dokudaki EPO-R uyarımının net etkisi; proliferasyon, apoptozun inhibisyonu ve hücrelerin farklılaşmasıdır (28) (Şekil 1).



Şekil 1: EPO ve EPO reseptörünün hücresel mekanizması (28).

EPO reseptörü aracılığıyla, apoptozu sağlayan bad, bcl, kaspazlar gibi moleküllerin aktivitesini azaltarak ve Bcl-2, NF-κB gibi antiapoptotik moleküllerin aktivitesini artırarak apoptozu önlemeye çalışır (28)(Şekil 1).

Oksijen taşıma kapasitesi veya oksijen saturasyonunda azalma, doku hipoksisine neden olmakta ve EPO gen ekspresyonu meydana gelmektedir. Kandaki EPO konsantrasyonunun artması, kemik iliğindeki eritropoezi uyarır ve sonunda oksijen temininde artış meydana gelir. Oksijen düzeyindeki artışın sonucunda, negatif bir etki ile aktif olan EPO geninin aktivasyonu azalmaktadır. EPO oksijen bağımlı yolla düzenlenen genlere önemli bir örnek olmaktadır. Çevre dokularda oksijen gereksinimine göre eritrosit üretimini dengede tutan feedback mekanizma Şekil 2’de açıklanmaktadır (26,27).



Şekil 2: Eritropoietin ile oksijen ve eritrosit üretimi arasındaki ilişkinin mekanizması (27).

Derin anemi ve hipokside EPO'nun plazma düzeyi, normalin 10000 katına kadar yükselebilir. Düzeyinin azalmasının en önemli nedeni kronik böbrek yetmezliğidir. Ayrıca kemik iliğinin toksinlerle inhibisyonu, kanama, eritrosit ömrünün kısalması ve malnütrisyonda da EPO düzeyinin azaldığı görülmektedir. Adrenerjik agonistler, IGF-1,

tiroid hormonları, androjenler henüz tam açıklanamamış mekanizmalarla EPO salınımını arttırlar. Hipokside ve bazı tümörlerde(böbrek tümörü, karaciğer tümörü, serebellar hemanjioblastom)de arttığı gözlemlenmiştir (27).

İnsan fetal plazma EPO düzeyleri doğumda kordosentez ile alınan umbilikal kord kanında ve amniotik sıvıda ölçülebilir. Eritropoietin, insan fetusunda 19.gebelik haftasından itibaren saptanmaktadır. Bazı araştırmacılar 18-37. gebelik haftaları arasındaki sağlıklı fetuslardan kordosentez ile EPO düzeylerini ölçmüşler ve değerlerin gebelik boyunca düşük düzeylerde olduğunu tesbit etmişlerdir. Ancak zıt olarak bazı araştırmacılar 19. haftadan itibaren doğuma kadar düzeylerin, 2-4 katına kadar arttığını bulmuşlardır. Son çalışmalarda EPO'nun transplental geçişinin olmadığı ve gebelik boyunca, fetal gelişim sırasında majör olarak böbrek dışı organlarda üretilmekte olduğu tespit edilmiştir. Hepatik yoğunluklu olan EPO üretimi, doğum sonrası dönemde hemen azalmaktadır (29,30,31).

Umbilikal kordonda saptanan EPO düzeylerinin fetusun doğum eylemi esnasında, oksijenasyonunu yansıttığı tesbit edilmiştir (31)

İnsan eritropoietini ilk defa 1985'de Lin ve arkadaşları (38) tarafından klonlanmış ve üretilmiştir. Kullanım için FDA (Food and Drug Administration) tarafından konulan ilk endikasyon, son dönem böbrek yetmezliği hastalarında transfüzyon ihtiyacını azaltmak için verilmiştir. FDA'nin önerdiği mevcut endikasyonlar ise ;

- 1-Kronik böbrek yetmezliğine bağlı anemi,
- 2-AİDS hastalarındaki zidovudin kullanımına bağlı gelişen anemi,
- 3-Non-myeloid lösemili hastalarda kemoterapiye bağlı gelişen anemi,

4-Kan transfüzyonu ihtiyacını azaltmak için kardiak nedenler dışında elektif cerrahiye alınan ve perioperatif ciddi kan kaybı beklenen hastaların tedavisinde kullanılmasıdır (32).

Eritropoietin bu sayılan klinik durumların dışında kanserle veya kemoterapi ile ilişkili anemide, kemik iliği transplantasyonunda, kronik hastalık anemisi, orak hücre anemisi gibi durumlarda da kullanım alanı bulmuştur (32).

EPO aneminin düzeltilmesinde etkili ve iyi tolere edilebilir bir ilaç olsada bazı yan etkilere neden olmaktadır. Klinik olarak anlamlı en yaygın yan etki hipertansiyondur. Özellikle son dönem böbrek hastalarında hipertansif ensefalopati,

epileptik nöbetler ve tromboembolik hadiseler nadirde olsa bildirilmiştir (32). Olumlu birçok etkilerinden dolayı yeni kullanım alanları açısından çalışmalar devam etmektedir.

ERİTROPOİETİNİN NÖRON KORUYUCU ETKİLERİ VE FİZYOPATOLOJİSİ

Son yıllarda EPO ekspresyonunun böbrek ve karaciğerde sınırlı olmadığı, EPO mRNA'sının kas dokularında, akciğer, beyin ve kemiricilerin barsak ve de kemik iliklerinde önemli seviyelerde olduğu gösterilmiştir (2). Özellikle de beyinde tespit edilmesi araştırmacılarda birden bire geniş çapta ilgi uyandırmıştır.

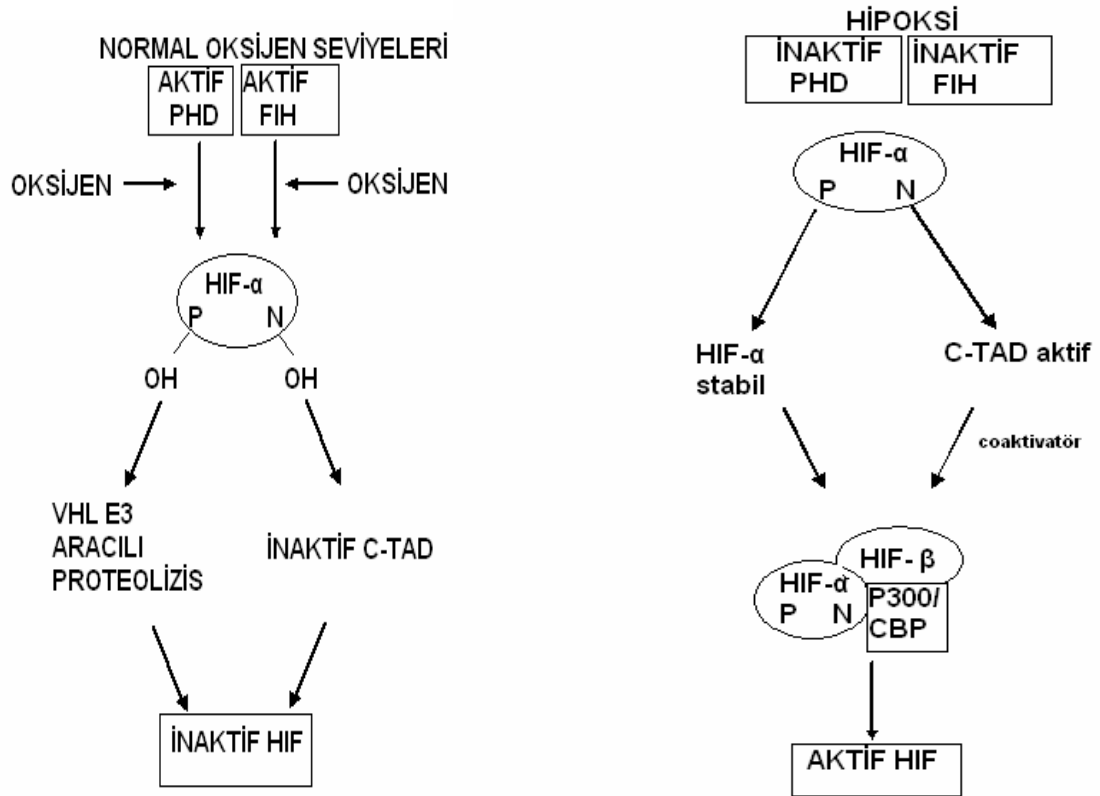
Çalışmalarda EPO mRNA'sının farelerin, maymunların ve insan beyinlerinin korteksinde, temporal lobda, hipokampusda, amigdalada eksprese edildiği bulunmuştur. Hücresel seviyede ise, astrositlerin, nöronların EPO'nun kaynağı olduğu in vivo ve in vitro deneylerde saptanmıştır. PCR ve immünohistokimyasal analizler nöronların ve astrositlerin EPO reseptörü taşıdığını, özellikle de kapillerleri çevreleyen astrositik oluşumlarının reseptörleri güçlü bir şekilde eksprese ettiğini göstermiştir. Son çalışmalarda, reseptörün büyük oranda endotelial hücrelerde, mikroglial hücrelerde, astrositlerin serebral hücre tiplerinde ve periferik sinir kılıflarında bulunduğu belirtilmektedir (2,33).

Memelilerde normal doku işlevleri, kan damarlarına yeterli oksijen teminine dayanmaktadır. Oksijen temini ve tüketimi arasındaki bir değişiklik hücresel, lokal ve sistemik seviyede çeşitli özel adaptasyon mekanizmalarını harekete geçirir. Bu mekanizmalar kısmen hipoksinin tetiklediği transkripsiyon faktörleri olan Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) ve Hypoxia-inducible factor-2 (HIF-2)'nin aktivasyonu ile yönetilmektedir. HIF-1 ve HIF-2 sırasıyla VEGF ve EPO gibi hipoksi ile kodlanan genlerin ekspresyonunu sağlamaktadır (2).

Vücuttaki hipoksik adaptasyon işlemlerinin çoğu HIF-1 ve HIF-2 tarafından yapılan transkripsiyonel regülasyona dayanmaktadır. HIF-1'in hedefleri eritropoezde olduğu kadar anjiogenez, vazomotor kontrol, enerji metabolizması ve apoptozda yer alan genlerden oluşmaktadır. Oksijen bağımlı EPO ekspresyonu daha çok HIF-1 tarafından kontrol edilmektedir. HIF-1 fizyolojik olarak uygun oksijen seviyelerinde aktive olur ve hipoksik strese hızlı ve yeterli cevabı sağlar. HIF-1 bir α ve bir β alt

birimleri olan heterodimerdir. HIF-1 β aril hidrokarbon reseptör nükleer translokator benzer bir proteindir. HIF-1 α ise hipoksik şartlar altında çok hızlı bir şekilde aktive olan kararsız oksijen proteindir. Aktivasyon üzerine HIF-1 heterodimer EPO ve VEGF gibi oksijen tarafından ayarlanan genler ile ilişkili hipoksiye cevap elementlerinden oluşan lokalize özel DNA bölgelerine bağlanır. VEGF endotelial hücre gelişimi ve farklılaşmasının en önemli düzenleyicisidir ve aynı zamanda endotelial hücreler için yaşamsal bir etkidir. Normal oksijen seviyelerinde HIF- α üzerindeki prolin bölgesi prolin dehidrogenaz (PHD) ile hidroksilasyona uğramaktadır. Bu prolin hidroksilasyonu, HIF- α alt biriminin proteolizine yol açan von Hippel Lindau proteininin bağlanmasına imkan tanır. Diğer taraftan HIF inhibe eden faktör (FIH) ile HIF- α üzerindeki asparajinil bölgesi hidroksilasyona uğramakta ve HIF-1 α üzerindeki C-terminal transaktivasyon bölgesinde inaktif olmaktadır. Bu reaksiyonlarda hidroksilazların normal oksijen seviyelerindeyken aktif, fakat hipoksideyken inaktif olduğu görülmektedir. Sonuçta HIF inhibe olmakta ve EPO geninin ekspresyonu oluşmamaktadır (Şekil 3). Hipokside ise PHD ile FIH inhibe olmakta ve bu hidroksilazların inhibe olmasıyla aktif ve kararlı HIF- α meydana gelmektedir. Kararlı HIF- α , HIF- β ile beraber bir DNA bağlayan heterodimer oluşturma yeteneğine sahiptir. Oluşan heterodimer, transaktivasyon yerinde koaktivatörler ile transkripsiyonel aktiviteyi sağlar. Bu şekilde hipokside HIF aktivasyonu oluşarak EPO gen ekspresyonu meydana gelmektedir (2,35,41,42,47,48,50,51,52) (Şekil 3).

EPO ise reseptörü aracılığıyla JAK-2 aktivasyonunu ve protein kinaz B (Akt) ile beraber diğer moleküllerin fosforilasyonunda düzenleyerek, moleküllerin antiapoptotik etki oluşturacak tarafa doğru kaydırılmasını sağlamaktadır. Ayrıca hipoksi ile mitokondrial geçirgenlik artacağı ve apoptoz uyarılacağı için, EPO protein kinaz B' yi kullanarak kaspaz aracılıklı mekanizmalarla mitokondrial membranı korur ve antiapoptotik etkiye bu yollarda katkıda bulunur (28)(Şekil 1).



VHL E3: Von Hippel-Lindau E3

PHD: Prolyl Hidroksylase Domain

FIH: Factor İnhibiting HIF- α

HIF- α : Hypoxia-İnducible Factor

C-TAD: C-Terminal Transactivation Domain

P: Proline

N: Asparagine

HIF- β : Hypoxia-İnducible Factor- β

CBP: CREB Binding Protein

Şekil 3 : Hipoksizde ve normal oksijen seviyelerinde HIF regülasyonu(2) .

Hipoksinin şiddetine bağlı olarak böbrekteki 200 kata kadar olan indüksiyona karşı, EPO mRNA seviyelerinin beyinde 3 ile 20 katlık bir artış gösterdiği gözlenmektedir. Sonuçta beyindeki hipoksik EPO gen aktivasyonunun indüksiyon seviyeleri daha düşük olsa da, böbreklerdeki ile çok benzer bir şekilde EPO uyarımı meydana gelmektedir. Hüresel seviyede in vitro çalışmalarda, EPO ekspresyonunun hipoksiye cevap olarak 100 kat arttığı belirlenmiştir. Ayrıca stres koşullarında nöronal hücrelerin EPO duyarlılıklarının arttığı da gözlenmiştir (2,34).

EPO'nun beyindeki fizyolojik etkileri, çeşitli araştırmalarla gösterilmeye çalışılmıştır. İlk çalışmalarda EPO'nun trofik etkiye sahip olduğu öne sürülmüştür. Fare septal nöron kültüründe kolin asetil transferaz aktivitesini arttırdığı ve yetişkin ratlarda septal kolinerjik nöronların rejenerasyonunu desteklediği belirtilmiştir. Son zamanlarda da EPO'nun invitro santral sinir sistemi prekürsör hücrelerinin dopaminerjik farklılaşmasını sağlayarak, canlılığı artırıcı etkisinin olduğunu gösterilmiştir. Hipoksinin indüklediği EPO, ön beyin nöral kök hücreleri üzerine de direkt etki etmektedir. Nöronal progenitör hücrelerin üretimine katkıda bulunması EPO'nun hipoksiden sonraki nöronal yapılanmada yer aldığını düşündürmektedir. Bu sonuçlara göre EPO nöronlar üzerinde nörotropik bir faktör olarak etki etmektedir (31,36,43,45,53)

Beyindeki EPO'nun diğer bir hedefide damar yapıları ve endotelial fonksiyonlardır. Endotelial ve hematopoetik hücreler hemanjioblast olarak adlandırılan aynı mezenşimal prekürsörden köken almaktadır. Bu da endotelial hücrelerin neden EPO reseptörü taşıdığını ve EPO tarafından uyarılabildiğini açıklayabilmektedir. Başlangıç çalışmaları da insan umbilikal ven ve sıgırların adrenal kapillerlerinden köken alan endotelial hücreler üzerinde EPO'nun mitojenik ve kemotaktik bir etkisi olduğunu gösterilmiştir. Son yapılan çalışmalarda ise EPO'nun endotelial progenitör hücre mobilizasyonu için etkin bir fizyolojik uyarıcı olduğu ve doğum sonrası yeni damar oluşumlarını uyardığı gösterilmiştir (31). Yine farelerin uterus kavitesine EPO enjeksiyonu sonrasında endometriyumda damar yapıları gözlenmiştir. Beyinde de yapılan benzer çalışmalarda da EPO'nun beyin kapiller endotelial hücreleri üzerinde doz bağımlı mitojenik bir aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Sonuçta yeni damarların gelişimi ile, daha fazla eritrosit taşınmasına olanak sağlanabilir ve böylece hipoksik dokuya taşınan oksijen miktarı artabilmektedir (38,39,40,41). EPO'nun VEGF/ VEGF reseptör sistemi aktivasyonu aracılığı ile, endotel hücrelerini dolaylı olarak etkilediği in vivo ve invitro yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Sıgırlarda yapılan bir çalışmada EPO'nun tetiklediği aortik ve glomerüler endotelial hücre proliferasyonu, spesifik bir anti VEGF antikoruyla önlediği gösterilmiştir. Bunun yanı sıra aortik hücrelerdeki VEGF-1 ve VEGF-2'nin her ikisi için mRNA ekspresyonu EPO ön tedavisi sonucunda artmıştır. Bir çalışmada da glomerüler endotelial hücrelerin EPO ile inkübasyonu doz bağımlı bir VEGF salınımı ile sonuçlanmıştır. Son yıllarda yapılan bir araştırmada da in vivo olarak

EPO uygulanmasıyla, endotelial hücrelerin önemli miktarlarda VEGF üretmediği ortaya çıkmış ve çelişkilerden dolayı bu konunun klinik öneminin yeterince anlaşılmasına yol açmıştır. Bunun için VEGF/ VEGF reseptör sisteminin, EPO'nun aracılık ettiği anjiogenezdeki yerini anlayabilmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Yinede insanlarda olduğu gibi farelerdeki serebral iskemi esnasında kan damarlardaki EPO ve reseptörlerinin artan ekspresyonunun, hipoksik dokudaki yeni damar oluşumu ile ilişkili olması muhtemeldir (38,49,57,58).

Hücresele seviyede EPO'nun invitro nöronlarda kalsiyum akışının regülasyonunda rol aldığı tesbit edilmiştir. İnsan nöroblastom hücre serilerine dışardan uygulanan EPO, plazma membran T-tipi voltaj bağımlı kalsiyum kanalları yolu ile kalsiyumun hücre içine akışında artışa sebep olmuştur. Ayrıca feokrositoma hücre serisinde, kalsiyumun geri emilimini arttırdığı gösterilmiştir (54). Böylece hücre içi monoaminlerin konsantrasyonlarını, tirozin hidroksilaz aktivitesini ve dopamin salınımını da arttırmaktadır. Ratların strial kesitlerinde, potasyumun indüklediği asetilkolin salınımında uyardığı gösterilmiştir. Yine ratların hipokampal kesitlerindeki deneylerinde, oksijen ve glikoz yoksunluğu sırasında EPO'nun sinaptik transmisyonunun arttığı gösterilmiştir. Nitekim EPO'nun, nöronların fonksiyonlarını ve yaşamsal işlevlerini, kalsiyum kanallarının aktivasyonu ve de nörotransmitterlerin salınımı yoluyla da yaptığı tespit edilmiştir (2,54,55).

EPO ve EPO reseptör sistemi, beyin hücrelerini hipoksik dönemlerin oluşturduğu hasardan koruyan endojen bir sistem olarak görev yapmaktadır. Bu bağlamda, EPO iskemik tolerans ve önkoşullandırma mekanizmalarında yer almaktadır. Önkoşullandırma, bir dokuda hasar oluşturabilecek herhangi bir uyarının, hasarın eşik değerinin altında uygulandığında, endojen koruyucu mekanizmaları aktive etmesi ve böylelikle müteakip daha ağır etkilerin azaltılması demektir. Invitro ve invivo iskemik önkoşullandırma modellerinin her ikisinde de astrositlerden hipoksinin indüklediği EPO salınımının, nöronlardaki hipoksinin tetiklediği apoptozu önleyebildiği ve böylelikle inme toleransı sağladığı gösterilmiştir. Sonuç olarak EPO, beynin hipoksi ve iskemisinin zararlı etkilerine karşı koymasına olanak sağlayan endojen defans sisteminin bir parçası olarak gözükmektedir (43,58,59).

EPO'nun glutamat reseptör agonistleri tarafından oluşturulan eksitotoksik nöronal ölümü engellediği de çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir. Nöronlara EPO

verilmesiyle NMDA ve AMPA ile birlikte kainik asit tarafından oluşturulan toksisitenin engellendiği gösterilmiştir. Üstelik EPO, invitro kimyasal iskemi oluşturulan serebellar granül nöronları üzerinde, kalsiyumun neden olduğu glutamat salınımını bloke etmektedir. Böylece EPO, ilgili reseptörlerdeki glutamat aktivitesini engelleyerek iskemik hücre ölümünü baskılayabilmektedir. Ayrıca glutamatın nöronlar üzerindeki aşırı etkisi sonucu, belirgin NO üretimi meydana gelmekte, NO' de süperoksitlerle reaksiyona girerek peroksinitrit oluşturmakta, sonuçta da hücrelerde hasar artmaktadır. Yapılan çalışmalarda EPO'nun NO seviyelerini direkt etkileyememesine karşın oluşturduğu hasarı azalttığı öne sürülmektedir (2,34,37,44,60).

İnvitro deneyler EPO'nun astrositlerin proliferasyonunu, oligodendrositlerin farklılaşmasını ve olgunlaşmasını teşvik ettiğini, mikroglial hücrelerde ve diğer hücrelerde antiapoptotik etkiler ortaya koyduğunu göstermektedir. Bu antiapoptotik etkileri, bcl-2 ve bcl-xL genlerinin ekspresyonunu sağlayarak gösterdiği tespit edilmiştir. Son yıllarda yapılan bir çalışmada EPO ile preinkübasyon sonrasında serebrokortikal hücrelerde, apoptoz inhibitör genlerinden olan XIAP ve cIAP2' nin ekspresyonunun arttığını gözlemlemişlerdir. Bu çalışmaların sonuçları bize, EPO'nun antiapoptotik molekülleri arttırmak suretiyle merkezi sinir sisteminde çok yönlü koruyucu etkilerinin olduğunu göstermektedir (38,61).

Sonuç olarak değişik nöronal hasar modellerinde elde edilen veriler EPO' nun nöron koruyucu etkilerini, apoptozu, kainat toksisitesini, nitrik oksit salınımını, inflamatuvar sitokinleri azaltarak, anjiogenik ve antioksidan etkiyi arttırarak gösterdiği tespit edilmiştir. Beraberinde bu çalışmalarda, EPO ile strok sonrası öğrenme güçlüğüne ve nörolojik fonksiyon kaybının azaldığı, infarkt alanının küçüldüğünde gözlenmiştir.

Ayrıca son zamanlardaki hayvan modellerinde, EPO'nun miyokardı iskemik reperfüzyon hasarına karşı koruduğu da gösterilmiştir. Bu durum EPO'nun farklı dokularda hipoksik hasara karşı genel bir koruyucu rolünün olduğunu düşündürmektedir (2).

EPO’NUN MERKEZİ SİNİR SİSTEMİN’ DEKİ KLİNİK UYGULAMALARI

Deneysel serebral iskemi, kafa yaralanması, nöbetler ve deneysel otoimmün ensefalomyelit gibi çeşitli sorunlardan sonra EPO’nun nöron koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. Çeşitli global iskemi modellerinde, orta serebral arter tıkanıklığı olan fare ve ratlardaki focal serebral iskemi modellerinde EPO uygulamasının nöronları iskemik hasardan koruduğu, sinaps sayısını arttırdığı, iskemik nöronal hasarı direkt veya dolaylı olarak azalttığı görülmektedir (2).

EPO’nun iskemi sırasında nöron koruyucu etkisi ve EPO’nun kolinergic nöronların yaşamı ve dopamin salınımına olan etkileri, EPO’nun Parkinson hastalığına yararlı olabileceği hipotezini doğrulamıştır. Farelerdeki deneysel Parkinsonizm modelinde, fareye yapılan intraperitoneal MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin) enjeksiyonu selektif dopaminerjik hücre ölümüne yol açtığı, eş zamanlı olarak beyin parankimine bilateral EPO veya salin enjeksiyonu yapıldığında, EPO ile tedavi edilen farelerde kontrol hayvanlarına kıyasla belirgin bir lokomotor aktivite artışı olduğu gözlenmiştir. Ayrıca MPTP’nin yol açtığı dopaminerjik nöron kaybının EPO tarafından engellendiği gözlenmiştir (62). Bir epilepsi modelinde de glutamat analogu kainik asitin farelere uygulanmasıyla nöbet oluşturulmuş, kainik asit uygulanmasından önce EPO ön tedavisi alanlarda, kontrollerle kıyaslandığında status epileptikus başlangıcını belirgin olarak geciktirdiği ve mortalitenin önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. Aynı zamanda sistemik EPO uygulanmasının ardından, deneysel otoimmün ensefalomyelit klinik seyri bir iyileşme görülmüştür. Burada EPO proinflatuar sitokinlerin (TNF,IL-6 gibi) artışını geciktirerek MSS üzerinde bir antiinflatuar etki sergilemektedir. Deneysel otoimmün ensefalomyelitin multiple skleroz için uygun bir hayvan modeli olduğu düşünüldüğüne göre, EPO MSS’nin bu inflammatuar patolojisinde koruyucu bir faktör olarak rol oynayabilir. Böylelikle EPO immünmodülatör olarak görev yapabilmektedir. Bir diğer etkisinde beyin yaralanmalarında kanıtlanmıştır. Künt beyin travması modelinde, ister 24 saat öncesinden bir ön tedavi olarak verilsin, isterse sonrasındaki 6. saatte veya 4 gün boyunca sürekli verilsin sistemik EPO uygulanması inflammatuar infiltratı azaltarak kayda değer bir koruma sağlamıştır (2,63).

İnsanlarda sadece intravenöz ve subkutan ilaç uygulaması mümkün olduğundan MSS hastalıklarında uygulanan EPO'nun faydalı olabilmesi için kan beyin bariyerini geçmesi gerekmektedir. Yine de farklı çalışmalardan elde edilen bulgular, böbrek kaynaklı endojen EPO'nun yalnızca kan beyin bariyeri bozulduktan sonra beyine geçtiğine işaret etmektedir. Ancak immünohistokimyasal çalışmalar göstermiştir ki, EPO reseptörleri beyin kapillerinin etrafında özellikle astrositlerin ayaksı çıkıntıları ve kapiller endotel hücrelerinin luminal yüzeylerinde yoğun olarak bulunmaktadır. Bu nedenle dolaşımdaki EPO'nun bu reseptörlere bağlanabildiği ve transsitoz ile kan beyin bariyerinden taşınabildiğini düşündürmektedir. Gerçekten de yüksek dozlarda sistemik olarak EPO uygulandığında, MSS'de uygulanan dozun %1 kadarı görülmektedir. Yinede bu bulgular sistemik olarak uygulanan EPO'nun BOS' a geçebildiğini, MSS' de zamana ve doza bağımlı bir şekilde birikebildiğini göstererek, beyinde hastalığı olanlarda basit bir intravenöz EPO uygulamasına olanak sağlamaktadır. Bu yaklaşım serebral iskemi gibi pek çok beyin hastalığında kan beyin bariyerinde bir açılma olduğundan, sistemik intravenöz EPO uygulaması uygun olabilmektedir. Bununla birlikte intravenöz uygulanan EPO'nun kan beyin bariyerinden MSS'e sınırlı girişini önlemek ve böylelikle MSS' de koruyucu EPO seviyelerini sağlamak için, yüksek doz EPO'ya duyulan ihtiyacı azaltan alternatif tedavi stratejileri düşünülmelidir (2).

Yenidoğan yoğun bakımlarındaki son gelişmelere rağmen matür bebeklerin %2' si halen hipoksik iskemik beyin hasarından veya intrakranial kanamadan etkilenmektedir. Hipoksinin neden olduğu beyin hasarı, birkaç saat içinde gelişir ve müdahalelerle beyin olumlu etkilenebilir. Şu anda, iskemik beyin hasarını etkin bir şekilde önleyen veya hipoksinin olumsuz etkilerini geri döndürebilecek bir ilaç bulunmamaktadır. EPO ve EPO reseptör sisteminin nöron koruyucu etkilerinin keşfi, araştırmacıları bu alanda da kullanımı açısından ümit vermiş ve kanalize etmiştir (46).

Son onbeş yıl boyunca sistemik olarak verilen EPO, başarılı bir şekilde nörolojik problemleri olan yetişkin hastalara uygulanmış ve oldukça güvenilir, tolere edilebilir bir profil sergilemiştir. Özellikle akut felç tedavisinde enfarktüs büyüklüğünde azalmayı göstermek ve fonksiyonel nörolojik problemler üzerindeki faydalı etkisini belirtmek için yapılan EPO'nun ilk güvenilirlik ve etkinlik değerlendirme denemesinde, kayda değer bir yan etkisi olmadığı rapor edilmiştir. Yüksek ve tekrarlayan dozlarda EPO uygulamasından doğabilecek yan etkiler olan hematokrit düzeylerindeki artış ve

tansiyonun yükselmesi, tedavilerde dikkat edilmesi gereken durumlardır. Çünkü yüksek hematokrit düzeylerinin neden olduğu artan kan viskozitesi, beyinde perfüzyon açığına yol açmaktadır. Hematokrit seviyesi % 80 üzerinde ve sistemik EPO aşırı ekspresyonu olan farelerde, kontrol eşdeğerlerine kıyasla belirgin olarak daha fazla serebral infarktlar görülmektedir (63, 64,65).

Araştırmaların sonucunda beyinde EPO ve EPO reseptör sisteminin bulunduğu, iskemik bir uyarı ile aktive olarak beyni korumaya çalıştığı tespit edilmiş ve endojen bir koruma faktörü olarak kabul edilmiştir. Günümüzde, terapötik olarak yetersiz kalınan birçok hastalığın tedavisinde bu ajanın dışardan kullanımına yönelik birçok çalışma yapılmaktadır.

HASTALAR VE YÖNTEM

Bu çalışmaya, Kasım 2005-Temmuz 2006 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Yenidoğan Ünitesinde takip edilen bebekler alınmıştır. Belirlenen kriterlere uygun 28 asfiktik hasta ve 10 sağlıklı kontrol bebek çalışmaya kabul edilmiştir. Asfiktik hastalar 37 hafta ve üzeri matür, klinik ve laboratuvar olarak hipoksidede kalmış olduğu belirlenmiş yenidoğanlardı. Çalışmaya alınan hastalar, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesinde ve çevre sağlık kuruluşlarında doğmuş bebeklerdi. Asfiktik hasta grubunun, çalışmaya alınma kriterleri ;

- 1-Doğumdan sonra ilk 6 saat içinde kabul edilip takibe alınmış olması,
- 2-Gestasyonel yaşı 37 hafta ve üzerinde, doğum ağırlığı gestasyonel yaşına uygun olması,
- 3-Doğum öncesinde, sırasında veya sonrasında hipoksiye maruz kalması,
- 4- Birinci ve beşinci dakikadan sonraki apgar skoru değerlerinin 0-3 puan arasında olması,
- 5-Klinik ve laboratuvar olarak asfiksi bulgularını göstermiş olması,
- 6-Doğum sonrasında canlandırma ve pozitif basınçlı ventilasyon gerektirmiş olması,
- 7-Perinatal asfiksi tablosu ile karışan klinik durumların bulunmaması (bunlar bebeğin kas hastalığının, sepsis kliniği ile kültürde üremesinin ve polisitemisinin olmaması, annenin sedatif ilaç kullanımı öyküsünün ve doğumda uygulanan anesteziklerin etkisinin olmaması gibi,)

8-Kemik iliği hastalığı, aşırı kan kaybı, hemolitik anemi ve intrauterin büyüme geriliği gibi EPO düzeylerini etkileyecek hallerin olmaması.

Hastalar, bu kriterler ve asfiksi kliniği bulgularına göre Sarnat ve Sarnat' ın hipoksik iskemik ensefalopati evreleme sistemi öncülüğünde üç asfiktik grup ve bir sağlıklı kontrol grubu ile beraber dört grup olarak sınıflandırıldı. Sağlıklı kontrol grubu, asfiksi kliniğinde olmayan, indirek hiperbilirubinemi nedeniyle fototerapi uygulanan bebeklerden oluşmaktaydı. Ayrıca bu bebeklerde EPO düzeyini etkileyecek bulgular (Kemik iliği hastalığı, aşırı kan kaybı, hemolitik anemi ve intrauterin büyüme geriliği) ve durumlar bulunmamaktaydı.

Asfiktik yenidoğanların doğum öncesi durumları, annelerinin kullandığı ilaçlar ve hastalıkları, geçirilmiş enfeksiyonları dikkatlice sorgulandı ve perinatal asfiksi ile karışabilecek tablodaki bebekler çalışmaya alınmadı. Yenidoğan bebeklerin ayrıntılı doğum hikayesi, doğum şekilleri, hipoksiye maruz kalma şiddetleri ve süreleri, apgar skorları, hemen ağlayıp ağlamadıkları, bebeğe yapılan müdahaleler, erken membran rüptürü olup olmadığı, mekonyumlu doğup doğmadıkları kaydedildi. Belirlenen kriterlere uygun hipoksik yenidoğanların, geldikleri saatlerinde detaylı fizik muayeneleri yapılarak, kan numuneleri alındı. Numunelerden böbrek fonksiyonları, karaciğer fonksiyonları, kas enzimleri, kan gazları çalışılarak asfiksinin şiddeti ve bebeğin etkilenme derecesi hakkında ön bilgi edinildi. Nörolojik muayene bulguları ve laboratuvar değerleri ile hastalar Sarnat ve Sarnat'ın hipoksik iskemik ensefalopati evreleme sistemine göre sınıflandırıldı. Takiplerinde 12 saat ara ile nörolojik değerlendirmeleri yapılarak eritropoietin düzeyleri ölçümü için kan numuneleri alındı. Her hastadan ve kontrol grubundan toplam beş kez kan örneği alındı. Polisitemik durumlarda da hastaların, özellikle santral sinir sistemi etkilenebileceği ve perinatal asfiksi ile karışabileceği için bebeklerin hematokrit değerleri ayrıca incelendi ve polisitemik hastalar çalışmaya alınmadı.

Hastalardan alınan kan numunelerinin serumları, çalışma kitlerine uygun olarak -20° de bekletildi. Serumlar, ELİSA (BİOMERİCA,USA) kitleri ile ELİSA yöntemi ile çalışıldı. Sonuçlar mU /ml olarak ifade edildi.

İstatistiksel sonuçlar için Statistical Package for Social Sciences (SPSS) paket programı kullanıldı ve sonuçlarda, nonparametrik olarak ortanca (minimum-maksimum)

şeklinde değerler verildi. Cinsiyetler ile EPO düzeyleri arasındaki dağılımı göstermek için, bağımsız iki grup arasındaki farkı belirten Mann-Whitney U testi, Hematokrit ile eritropoietin düzeyleri arasındaki ilişki için Spearman's korelasyon testi, asfiksi ve eritropoietin düzeyleri arasındaki ilişki içinde Sigmastat 3,1 programından Kruskal Wallis One Way testi ve bu testin çoklu karşılaştırma analizini yapan Dunn metodu, Friedman analiz testleri ile Tukey testi uygulandı. Tüm bu testlerde $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Bu çalışma, perinatal asfiksi tanısı almış 28 bebek ve 10 sağlıklı yenidoğan alınarak yapıldı. Bu bebeklerin 20'si erkek (%52.6), 18'i (%47.4) kız olup hepsi gestasyon yaşları ve ağırlıklarına göre matür yenidoğanlardan oluşmaktaydı. Asfiktik hastalar Sarnat ve Sarnat'ın hipoksik iskemik ensefalopati evreleme sistemine göre 3 gruba ayrıldı, çalışmada sağlıklı kontrol grubu ile beraber toplam 4 grup oluşturuldu. Grup 1 (Evre1) 11, grup 2 (Evre2) 9, grup 3 (Evre 3) 8, sağlıklı kontrol grubu olan grup 4'de 10 yenidoğan bulunmaktaydı.

Tablo 3 : Grupların cinsiyetlere göre dağılımı

Gruplar	erkek	%	kız	%	toplam
Grup 1	5	25	6	33	11
Grup 2	6	30	3	16,7	9
Grup 3	3	15	5	27,8	8
Grup 4	6	30	4	22,5	10
Toplam	20	100	18	100	38

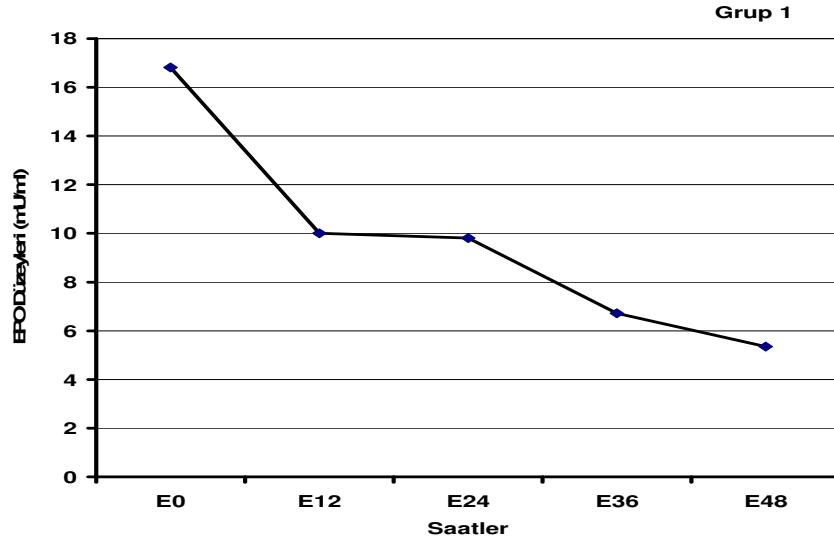
Çalışmaya alınan hastalar, doğumu takiben ilk saatlerinden itibaren hastaneye kabul edilen hastalardan oluşmaktaydı. Geliş saatlerinde, 12., 24., 36. ve 48. saatlerinde EPO düzeyleri için toplam beş defa kan numuneleri alındı ve sonuç değerlendirmesinde, bu saatlerdeki EPO düzeyleri EO, E12, E24, E36, E48 olarak isimlendirildi.

Bebeklerin cinsiyetleri ile EPO düzeyleri arasındaki ilişki incelendiğinde erkekler ile kızlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). (Tablo 4).

Tablo 4 : Cinsiyetler ile EPO düzeyleri arasındaki ilişki

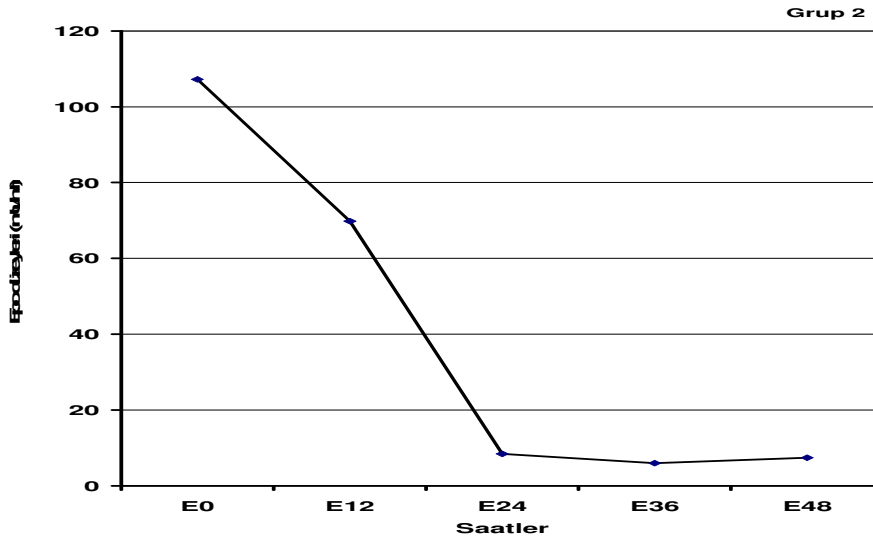
Saatler	Cinsiyet	EPO Düzeyleri (mU/ml)	
		Ortanca (min-mak)	P
E0	Erkek	20(0-510)	0,512
	Kız	21(2-510)	0,536
E12	Erkek	7(1-510)	0,512
	Kız	19(2-510)	0,536
E24	Erkek	5(0-275)	0,512
	Kız	6(2-449)	0,536
E36	Erkek	6,5(1-60)	0,512
	Kız	5,5(1-420)	0,536
E48	Erkek	5,5(1-22)	0,512
	Kız	5(1-510)	0,536

Grup 1’deki hastaların EPO düzeyleri 2-50 mU /ml arasında değişmekteydi. Bu EPO düzeyleri, kontrol grubunun EPO düzeylerine yakın değerlerde ve klinik olarak asfiksinin daha şiddetli olduğu diğer gruplara göre düşük değerlerdeydi. Grup 1’in ortalama EPO düzeyleri dağılımı Grafik 1’de görülmektedir.



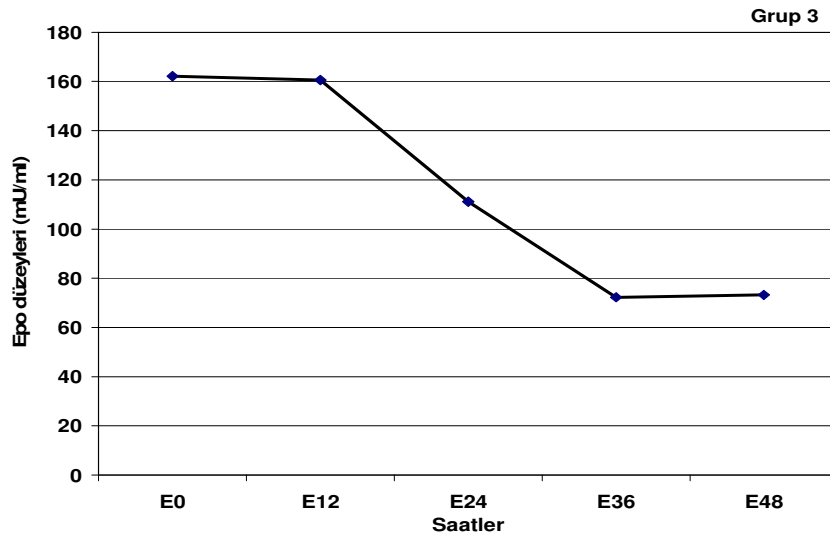
Şekil 4 : Grup 1’ in Saatler içindeki Ortalama EPO Düzeyleri Dağılımı

Grup 2’de Grup 1’e benzer bulgular vardı, ancak hipoksinin şiddetli ve asfiksi klinik bulgularının belirgin olmasından dolayı, EPO değerleri kontrol grubundaki ve Grup 1’deki düzeylere göre daha yüksek olarak ölçüldü. Bu gruptaki hastaların değerleri ise 2-510 mU/ml arasında değişmekteydi. Yüksek EPO değerleri ilk saatlerde tespit edildi. Grup 2’nin EPO düzeyleri dağılımı Grafik 2’de görülmektedir.



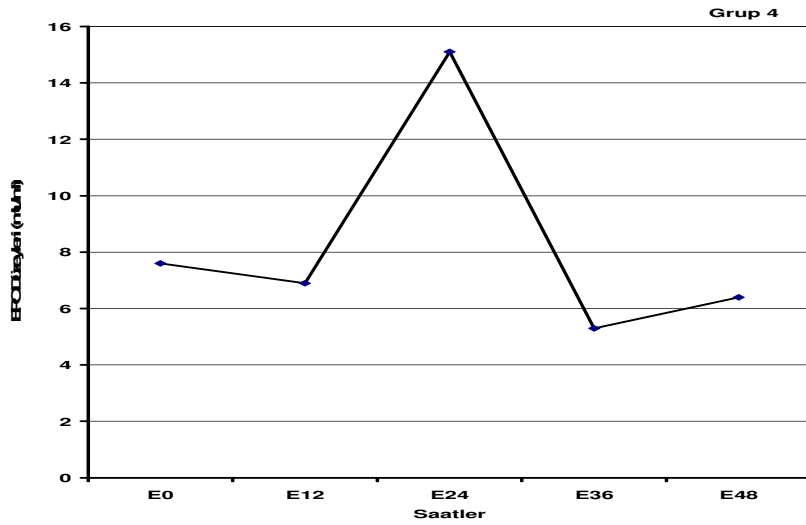
Şekil 5: Grup 2’in Saatler içindeki Ortalama EPO Düzeyleri Dağılımı

Grup 3’de, Grup 2’dekine benzer yüksek EPO değerleri bulunmaktaydı ve bu gruptaki hastaların düzeyleri de 2-510 mU/ml arasında değişmekteydi. Diğer asfiktik gruplara benzer şekilde EPO değerlerinin, ilk saatlerde alınan dönemlerde belirgin yüksek olduğu, ilerleyen saatlerde azaldığı ancak kontrol grubuna ve asfiktik diğer gruplara göre yüksekliğin halen devam ettiğini gördük. Grup 3’deki EPO düzeyleri dağılımı Grafik 3’ de görülmektedir.



Şekil 6: Grup 3'ün Saatler içindeki Ortalama EPO Düzeyleri Dağılımı

Grup 4'de yani çalışmanın kontrol grubunda, düşük ve değişken sonuçlar elde edildi. Grafik 4'de grup 4'ün EPO düzeyleri dağılımı görülmektedir.



Şekil 7: Grup 4'ün Saatler içindeki Ortalama EPO Düzeyleri Dağılımı

Hipoksinin şiddetli etkilerinin orantılı olarak daha fazla görüldüğü Grup 1'den Grup 3'e doğru EPO düzeylerinin giderek artmakta olduğu tespit edildi. Bu yükseklik ilk saatlerde daha belirgindi ve ilerleyen saatlerde azalmaktaydı. Grupların belirli

saatlerde alınan EPO düzeyleri, kendi aralarında karşılaştırıldığında 0. saatte alınan EPO düzeyi (E0) Grup 1 ve 2, Grup 2 ve 4, Grup 1 ve 3, Grup 3 ve 4 arasında, 12. saatte alınan EPO düzeyi (E12) Grup 1 ve 3, Grup 1 ve 4 arasında, 24. saatte alınan EPO düzeyi (E24) Grup1 ve 3, Grup 3 ve 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 5). 36. ve 48. saatlerde alınan EPO düzeyleri (EPO36, EPO48) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 5).

Tablo 5: Belirli saatlerde alınan ortanca (min-mak) EPO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Değişkenler	EPO Ölçülen Ortanca (min-mak)(mU/ml) Gruplar			Kontrol Grup4 (n:10)
	Grup1 (n:11)	Grup2 (n:9)	Grup3(n:10)	
E0	6 (2-50)	43 a (20-510)	41,5 a (18-510)	6 c, b (0-20)
E12	3 (2-30)	21 (6-450)	33 a (7-510)	6 a (1-16)
E24	3 (0-35)	5 (2-18)	34 a (6-449)	4 c (1-117)
E36	3 (1-30)	4 (2-15)	19,5 (2-420)	5,5 (1-9)
E48	2 (1-20)	4 (2-22)	14 (3-510)	6 (1-12)

a $p<0.05$; Grup 1 ile kıyaslandığında c $p<0.05$; Grup 3 ile kıyaslandığında
b $p<0.05$; Grup 2 ile kıyaslandığında

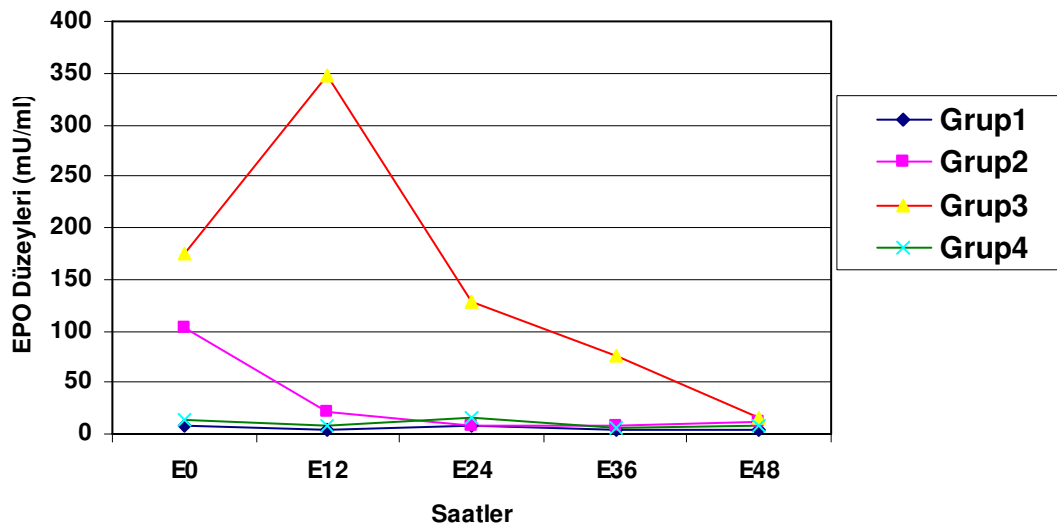
Grup 1'deki EPO düzeyleri kontrol grubu düzeylerine yakındı ve ilk saatlerdeki EPO düzeyleri ilerleyen saatlerde giderek azaldı. Grup 1'de 0. saatte alınan EPO (E0) ile 48. saatte alınan EPO (E48) düzeyleri arası istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$) ancak diğer saatler birbirleri ile kıyaslandığında, istatistiki olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). Grup 2'de EPO düzeyleri, Grup 1'deki EPO düzeylerine göre yüksekti ve bu yükseklik ilerleyen saatlerde giderek azaldı. Grup 2' de 0. saatte alınan (E0) EPO ile 24., 36., 48. saatlerde alınan EPO düzeyleri birbirleri ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu (E0-E24,E0-36,E0-48)($p<0.05$). Diğer saatler arasındaki EPO düzeylerinin kıyaslanması istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Grup 3'de de EPO düzeyleri Grup 2'deki gibi ilk saatlerde belirgin yüksekti ve giderek

saatler içinde azaldı, ancak diğer gruplara göre yüksek seyretmekteydi. Grup 3’de 0. saatte alınan EPO (E0) düzeyleri ile 36. ve 48. saatlerdeki EPO (E36,E48)düzeyleri kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p<0.05$), diğer saatlerin birbirleri ile kıyaslanması istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p>0.05$). Grup 4’deki değişken EPO düzeyleri birbirleri ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 6: Grupların belirli saatlerde alınan ortanca (min-mak) EPO düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar	EPO Düzeyleri Ortanca(min-mak)(mU/ml)				
	E0	E12	E24	E36	E48
Grup 1 (n:11)	6 (2-50)	3 (2-30)	3 (0-35)	3 (1-30)	2 a (1-20)
Grup 2 (n:9)	43 (20-510)	21 (6-450)	5 a (2-18)	4 a (2-15)	4 a (2-22)
Grup 3 (n:8)	41,5 (18-510)	33 (7-510)	34 (6-449)	19,5 a (2-420)	14 a (3-510)
Grup 4 (n:10)	6 (0-20)	6 (1-16)	4 (1-117)	5,5 (1-9)	6 (1-12)

a $p<0.05$; E0 ile kıyaslandığında



Şekil 8 : Grupların ortalama EPO düzeyleri karşılaştırılması

Hematokrit ile EPO düzeyleri arasındaki ilişki incelendiğinde, birbirlerinden bağımsız değerlerin olduğu görüldü. Bu çalışmada, EPO düzeyleri ile hematokrit düzeyleri arasında korelasyon bulunmadı (Tablo 7).

Tablo 7 : Hematokrit ile EPO düzeylerinin karşılaştırılması

Saatler	Hematokrit	
	r	P
E0	-0,161	0,671
E12	0,204	0,256
E24	0,264	0,312
E36	0,008	0,567
E48	0,156	0,781

TARTIŞMA

Asfiksi, perinatal mortalite ve morbiditenin önemli nedenlerinden birisidir. Vucudun tüm sistemlerinin asfiksiden zarar gördüğü bilinmekle beraber, en fazla etkilenme santral sinir sisteminde meydana gelmektedir ve tedaviler daha çok beyni korumaya yönelik olmaktadır. Son yıllarda bu amaca yönelik birçok çalışma yapılmaktadır.

Eritropoietinin keşfinden 60 yılı aşkın bir süreden sonra, Romanyalı grup Baciu ve arkadaşları (86) bir dizi deneylerle, EPO'nun beyinden üretilebileceğine dair kanıtlar bulmuşlar. Daha sonra çeşitli hayvan ve postmortem insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda beynin, temporal, frontal ve oksipital korteksleri, serebellum, hipotalamus, kaudat çekirdekler dahil olmak üzere incelenen bütün alanlarında ve hücresele seviyelerde eritropoietin ve reseptörünün bulunduğu gösterilmiştir. Tablo 8'de merkezi sinir sistemindeki EPO ve EPO reseptörlerinin bulunduğu hücreler ve çalışmaları sıralanmıştır (2).

Tablo 8 : Santal Sinir Sisteminde EPO ve EPO reseptörlerinin eksprese edildiği hücreler (2).

Hücre Tipleri	EPO				EPO Reseptör				Referanslar
	Kemiriciler		İnsanlar		Kemiriciler		İnsanlar		
	İnvitr	İnvivo	İnvitr	İnvivo	İnvitr	İnvivo	İnvitr	İnvivo	
Nöronlar	+	+	-	+	+	+	+	+	Bernaudin (1999) Siren (2001), Nagai (2001) Morishita(1997)
Astrositler	+	+	+	+	+	+	+	+	Masuda(1994,1997) Marti (1996), Siren (2001) Bernaudin(1999)
Mikroglialar	T	T	-	T	T	T	+	T	Nagai (2001)
Oligodendrositler	+	T	-	T	+	T	-	T	Nagai (2001), Sigawa (2002)
Endotelial Hücreler	-	T	T	T	+	+	+	+	Anagnostou (1994) Yamaji (1996), Brines(2000)

T : Tanımlanmamış

Fetusda plasentayı geçemeyen EPO ile yapılan ilk çalışmalarda, EPO' nun 19. gebelik haftasından itibaren üretildiği saptanmıştır. Ancak son yapılan çalışmalarda, gebeliğin daha erken dönemlerinde EPO'nun beyinde bulunduğu tespit edilmiştir. Juul ve arkadaşları (70), abortus fetusların beyinlerini incelemişler, 5-6 haftalıkken EPO ve EPO reseptörlerini periventriküler germinal zonda, 10 haftalık iken de kortikal duvar ve ventriküllerin etrafı boyunca bol miktarda bulunduğunu tespit etmişlerdir. Sonuçta EPO'nun santral sinir sistemi hücrelerinin gelişimi ve farklılaşması için önemli bir faktör olduğunu gözlemlemişlerdir. Fetusta hepatositlerden üretilen EPO'nun beyindeki önemini gösteren bir çalışmayı da Dame ve arkadaşları (46) yapmışlardır. Postmortem çalışmalarında, gestasyon yaşı 23 ile 37 hafta arasındaki 4 fetusun santral sinir sisteminden, böbrek ve karaciğerinden doku örneklemeleri alarak, EPO mRNA miktarlarını ölçmüşlerdir. Bebeklerin beyinlerinden alınan bütün alanlarda değişik oranlarda, EPO mRNA'sına rastlamışlardır. Bu çalışmada santral sinir sisteminde tespit

edilen EPO mRNA'sı, en fazla serebral kortekste belirlenmiş ve düzeyleri, böbrek ile karaciğerden alınan örneklerle yakın ölçülmüştür. Ayrıca bu çalışmada, EPO mRNA düzeylerinin, bebeklerin gestasyonel yaşıyla çok fazla değişkenlik göstermediği de belirtilmiştir.

Yu ve arkadaşları (78) EPO genini delesyona uğrattıkları farelerin beyin gelişimlerini incelediklerinde, EPO reseptörleri yetersiz olan farelerin, 4. ventrikül bölgesinde hipoplazi ile beraber yüksek bir apoptoz hızının olduğunu ortaya çıkarmışlardır. Kertesz ve arkadaşlarının (71) benzer çalışmalarında EPO ve EPO reseptör geni delesyona uğratılan farelerde vasküler bozukluklarla karşılaşmışlar. Çalışmalarının sonucunda, EPO'nun embriyonun vasküler gelişiminde önemli bir faktör olduğunu belirtmişlerdir.

Oksijen bağımlı bir sistemle yönetilen EPO'nun, umbilikal kordondaki miktarının, doğum eyleminde fetusun oksijenizasyonunu yansıttığı tespit edilmiştir. Kakuya ve arkadaşları (67) apgar skoru düşük, hipoksidede kalmış 14 bebeğin, sağlıklı doğan 99 bebeğe göre hem amnion sıvısındaki, hemde kord kanındaki EPO düzeylerinin belirgin yüksek olduğunu gösterdi. Heinze ve arkadaşları da (68) benzer bir çalışma ile en yüksek EPO düzeylerini, apgar skoru düşük, asidozu olan asfikside kalmış bebeklerde ölçmüşlerdir. Sonuç olarak bu çalışmalarda, EPO yüksekliğinin fetal stres göstergesi olabileceği belirtilmiştir.

Yapılan çeşitli deneysel çalışmalarda hayvanlarda oluşturulan iskemi örneklerinde, beyin dokusunun EPO ile ilişkisi gösterilmeye çalışılmıştır. Wen ve arkadaşları (85) ratları hipoksidede bırakmışlar ve EPO reseptörünün, iskemi bölgesinde 6. saatten itibaren önemli derecede artmakta olduğunu tespit etmişlerdir. Spandou ve arkadaşları (66) yavru ratların tek taraflı karotid arterlerini bağlayarak, beyinlerini bir saat kadar hipoksidede bırakmışlar. Hipoksiden 4 gün sonra beyinlerini incelemişler ve kortikal infarkt ile bazı alanlarda nöron kaybıyla karşılaşmışlar. Bu hasarlı serebral korteks sınırlarında ve astrositlerde EPO artışını tespit etmişler. Melendez ve arkadaşları (72) gebe koyunlardan matür yavrular doğarken, umbilikal kordonlarını 10 dakika kadar klempe ederek hipoksidede bırakmışlar beyinlerini incelemişler. Asfiktik kuzuların beyinlerinde, sağlıklı doğan kuzuların beyin dokularına göre, en fazla korteks ile ventrikül çevresinde EPO ve EPO reseptör artışıyla karşılaşmışlardır. Umbilikal kord iki defa 10'ar dakikalık klempe edildiğinde ise beynin incelenen tüm alanlarında EPO

artışını tespit etmişlerdir. Beynin adaptasyon mekanizması ile EPO'nun ekspresyonunu arttırdığını, hücreleri korumaya çalıştığını öne sürmüşlerdir. Bernaudin ve arkadaşları (73) farelerde kalıcı fokal serebral iskemi oluşturdukları çalışmalarında, iskemiden sonraki birinci günde endotelial hücrelerde, 3. günde mikroglia ve makrofaj benzeri hücrelerde, 4. ve 7. günlerde ise astrositlerde EPO ekspresyonunda artış olduğunu saptamışlardır. Çalışmalarda, hipoksik iskemik uyarı ile EPO ve EPO reseptör sisteminin aktive olduğu ve nöronları korumaya çalıştıkları öne sürülmektedir.

İnsanlarda hipoksi ile EPO arasındaki ilişkiyi incelemek için Fahnenstich ve arkadaşları (88), akut ve kronik streste kalmış matür bebekten, prematür bebekten ve sağlıklı matür bebekten alınan kan örneklerinden EPO düzeylerini çalışmışlar. Bebeklerin stresinin akut veya kronik olduğunu umbilikal kord pH ölçümü ile ve apgar skoruyla belirlemişler. EPO düzeyleri en yüksek akut streste kalmış bebeklerde ölçülmüştür. Juul ve arkadaşları(87) ise santral sinir sistemi hasarı ile giden çeşitli hastalıklara sahip, gestasyonel yaşları 24 haftalık prematürden 16 yaşa kadar değişen hastaların ve sağlıklı çocukların kanlarından ve beyin omurilik sıvılarından EPO düzeylerini çalışmışlar. Asfiktik hastaların numuneleri, hipoksiden sonraki ilk iki gün içinde alınmış ve kan ile BOS EPO düzeyleri, kontrol ve diğer hasta gruplarındaki değerlere göre belirgin yüksek olarak ölçülmüştür. Bizim çalışmamıza benzer şekilde asfiktik bebeklerin, özellikle doğuma yakın alınan EPO düzeylerinin daha yüksek olduğunu belirlemişler ve asfiksi ile santral sinir sisteminde EPO üretiminin arttığını gözlemlemişlerdir. Alternatif bir düşünce olarak bu çalışmada sistemik olarak üretilen EPO'nun, asfiksi ile kan beyin bariyerinin açılıp santral sinir sistemine geçmiş olabileceği belirtilmektedir. Oksijen eksikliğine karşı adaptif bir cevap olarak EPO üretimi ve salınımının artması, reseptörünün güçlenmesi, beyin hasarı ile giden durumlarda EPO' nun potansiyel bir koruyucu olduğunu düşündürmektedir.

EPO'nun santral sinir sistemi hücrelerini koruyucu etkileri birçok *invivo*, *invitro* deneylerde belirlenmiş ve özellikle hipoksik stres sonrasında arttığı da çeşitli insan ve hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. Bu bulgulardan yola çıkılarak ilk önce iskemi modeli oluşturulan hayvanlara sistemik EPO uygulanmış ve EPO'nun koruyucu etkinliği gösterilmeye çalışılmıştır. Olsen ile Grasso (74,75) farklı zamanlarda yaptıkları çalışmalarında tavşanlara ve ratlara, subaraknoid kanama sonrasında sistemik EPO uygulamışlar ve deneylerinde, EPO'nun beyin kan akımını etkin bir şekilde

düzenlediğini, baziller arterin daralmasını geri çevirerek, iskeminin zararlı etkilerini azalttığını ve hayvanlarda nörolojik fonksiyonel geri kazanımları kuvvetlendirdiğini tespit etmişlerdir. Cerami ve arkadaşlarının (79) iskemik strok modellerinde ise sistemik EPO ratlara, stroktan 24 saat önce ve 6 saat sonra uygulanmış ve sonuçta 24 saat önce verilen EPO'nun beyni hipoksik doku hasarından önemli miktarda korumuş olduğunu, 6 saat sonra verildiğinde ise hasarın etkisini azaltmaya çalıştığını tespit etmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar deneylerinde EPO'nun, travmadan sonra verildiğinde beyin hasarını, bir nörotoksin olan kainattan sonra uygulandığında ise oluşan epileptik krizlerin şiddetini ve deneysel otoimmün ensefalomyelit modellerinde sistemik uygulandığında ise semptomların şiddetini azalttığını da gözlemlemişlerdir. Kumral ve arkadaşları (80), hipoksizde bıraktıkları yavru ratlara 1000 Ü/kg dozunda EPO'yu sistemik olarak uygulamışlar ve EPO verilmemiş hipoksik ratlarla beraber tüm ratların beyinlerini incelemişler; EPO alan grubun infarkt alanının, almayan gruba göre önemli miktarda küçük olduğunu tespit etmişler. Ayrıca EPO alan ratların beyinlerindeki iskemik bölgede apoptozisin diğer gruba göre azalmış olduğunu da gözlemlemişlerdir.

Sun ve arkadaşları (81) EPO'nun uygulanma dönemleri ile ilgili bir çalışma yapmışlar ve ilk önce yavru ratların bir kısmına hipoksi öncesinde ve sonrasında 5 Ü/gr dozunda EPO'yu sistemik olarak infüze etmişler. EPO alan ratların kan IL-1 β ve TNF α düzeyleri, almayanlara göre düşük değerlerde ölçülmüş ve sonuç olarak çalışmalarında, hipoksiden 24 saat sonra verilse bile EPO'nun, beyni koruduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca bu ratların beyinlerini de incelemişler ve EPO alanlarda lökosit infiltrasyonunun daha az olduğunu gözlemlemişler. Lei Wang (82) ve arkadaşları farelerin orta serebral arterlerini bağlayıp hipoksizde bıraktıktan 24 saat sonra, bir kısmına 5000 Ü/ kg' dan 7 gün boyunca her gün EPO'yu sistemik olarak infüze etmişler. EPO alan hipoksik ratların VEGF ile BDNF düzeylerinin, almayan hipoksik ratlara göre belirgin yüksek, infarkt alanının da daha küçük olduğunu ve infarkt sınırlarındaki hücrelerin ise çoğalma eğiliminde olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmalarında EPO'nun VEGF ile BDNF'yi arttırarak, nöronların çoğalmasını ve kapiller oluşumları desteklediğini, böylece nöronları koruma fonksiyonu yanında strok sonrası geri dönüşümde, çevre dokuların düzenlenmesine de katkıda bulunduğunu belirtmişlerdir .

İnsanlarda klinik uygulamalar sonrasında nörolojik fonksiyonları değerlendiren bir çalışma yapan Ohls ve arkadaşları (83), prematürelde anemi nedeniyle rahatlıkla

kullanılan EPO tedavisinin, merkezi sinir sistemi gelişimi üzerine etkilerini araştırmışlar. Prematür anemisi nedeniyle EPO alan ve kan EPO konsantrasyonları 500 mU/ml üzerinde olan bebeklerin, 500 mU/ml altında olanlara göre daha yüksek zihinsel gelişim indeksine sahip olduğu görülmüştür. EPO tedavisi alan hastalarda herhangi bir yan etki saptanmamış ve daha az transfüzyon ihtiyacı göstermişler. Bu çalışmada araştırmacılar, yüksek EPO konsantrasyonlarının, nörolojik gelişim üzerine olumlu etkisini gözlemlemişlerdir. Tersine Newton ve arkadaşları (84) EPO alan, almayan bebeklerin gelişimlerini incelediklerinde aralarında anlamlı fark görmemişlerdir.

Santral sinir sistemi hücrelerini oksidatif strese karşı koruyan EPO'nun hipoksik hastalarda uygulama zamanları ve dozları çeşitli araştırmalarla incelenmiştir. Endojen EPO'nun nörolojik hasar oluşturulan hayvan deneylerinde, hücre koruma kapasitesinin, hasardan önce veya hemen sonra dışardan verilen EPO ile arttığı tespit edilmiştir. Brines ve arkadaşları (63) ratlarda iskemi modeli oluşturmuşlar ve iskemiden 24 saat önce, 3, 6, 9 saat sonra sistemik olarak EPO infüze etmişler. İskemiden önce ve 6. saat sonrası uygulanan EPO ile infarkt alanında belirgin azalma tesbit etmişler, ancak 9. saatte hiçbir koruma sağlayamamışlar. Vasküler daralma ile aynı anda uygulanan EPO'nun minimum etkili dozunu 450 Ü/kg olarak belirlemişlerdir. Bu strok modelinde, iskemi başlangıcından 6 saat sonrasına kadarki pencerede EPO uygulanması ile, infarkt oluşumuna müdahale edebilmenin mümkün olduğu ve sistemik olarak da 450 Ü/kg dan 5000 Ü/kg a kadar değişen dozlarda EPO uygulanabileceği belirtilmektedir.

Akut *invivo* olaylarda, EPO'nun astrositler tarafından endojen üretimi nöronal dokuyu korumak için genellikle yeterli veya yeterince hızlı değildir. Bundan dolayı, beyin kapillerinde koruma sağlayabilmek için kan beyin bariyerini geçmeye hazır EPO bulunması gerekmektedir. Deneyler göstermiştir ki, kan beyin bariyerindeki sınırlı geçiş, iskemi sırasında bozulmakta ve sistemik olarak verilen EPO, transsitoz yolla geçerek olayın meydana geldiği bölgede etkili olabilmektedir (2). Klinik olarak prematüre anemisinin tedavisinde rahatlıkla kullanılan ve ciddi yan etkileri rapor edilmeyen EPO'nun, prematür beynini koruyup korumadığını araştıran çalışmalarda, düşük dozlarda bile EPO uygulanan prematür bebeklerin, diğer bebeklere göre nörolojik gelişimlerinin daha iyi olduğu tespit edilmiştir. Sistemik olarak verilen EPO'nun kan beyin bariyerini geçip geçmediği değerlendirildiğinde ise bir grup araştırmacılar, prematür anemisinde verilen dozlarda beyin omurilik sıvısında yüksek EPO konsantrasyonları ile karşılaşmamalarına

rağmen, başka bir grup EPO'nun bu dozlarda bile etkin bir şekilde beyin omurilik sıvısına geçtiğini göstermişlerdir. Özetle çalışmalarda, EPO dozajı ve kan beyin bariyeri yeteneğinin, EPO'nun kan beyin bariyerine geçişini etkileyen temel faktörler olarak belirlenmiş ve hipoksi sırasında bariyer bütünlüğü bozulduğu içinde EPO'nun geçişinin ve etkinliğinin fazla olduğu deneylerde gözlenmiştir (69).

Anemi ve kronik böbrek yetmezliği hastalarında uzun yıllardan beri kullanılan EPO'nun iyi bir şekilde tolere edildiği ve güvenli olduğu görülmektedir. Yakın zamanda Ehrenrich ve arkadaşları (77), 53 felçli erişkin hastada intravenöz yüksek doz EPO uygulamış ve bir aylık takiplerinin sonucunda hemotokrit seviyelerinde artış belirtisi olmaksızın klinik sonuçlarda ilerleme kaydetmişlerdir.

Yapılan araştırmalar EPO'yu eritropoezin uyarılması için gerekli bir madde olma rolünden, geniş kapsamlı hücre koruyucu ve inflamasyonu önleyici fonksiyonlara sahip, yeni bir maddeye dönüştürmüştür. Nöronları koruyan bir madde olarak EPO' nun serebral iskemi, nöronal travma, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, psikiyatrik hastalıklar, diabetik nöropatiler, otoimmün hadiseler ve perinatal asfiksi üzerinde yararlı ve etkili olmasından dolayı, birçok hastalıkta kullanılabileceğini düşündürmektedir (74). Öncelikle amaç merkezi sinir sistemi hastalıklarında, nöronal fonksiyonları korumak ve ileride oluşabilecek sekelleri önlemek olmalıdır. Beynin endojen koruma mekanizmalarını taklit, etkin ve iyi tolere edilebilir olduğu sürece, belkide nöron koruma tedavileri için gelecekteki başarılı yaklaşımların anahtarı olacaktır ve bu bağlamda EPO oldukça dikkate değerdir.

SONUÇLAR

Perinatal asfiksiye maruz kalmış ve sağlıklı yenidoğanlarda EPO düzeylerini değerlendirdiğimiz bu çalışmada, aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır.

- 1- Çalışmaya alınan toplam 38 yenidoğanın EPO düzeyleri ile cinsiyetleri arasındaki ilişki incelendiğinde, cinsiyet ile EPO düzeylerinin etkilenmediği tespit edildi.
- 2- Asfiktik hastaların hematokrit değerleri ile EPO düzeyleri arasında bir korelasyon saptanmadı.
- 3- Asfiktik hastaların EPO düzeyleri, kontrol grubunun düzeylerine göre yüksek olarak ölçüldü.
- 4- Asfiktik hastalarda hipoksinin şiddeti ile klinikle orantılı olarak giderek yükselen EPO düzeyleri belirlendi. Grup 1'den grup 3'e doğru değerlerin giderek yükselmekte olduğunu tespit ettik.
- 5- Hastaların hipoksiye maruz kaldıkları döneme yakın saatlerinde alınan EPO düzeyleri belirgin yüksekti ve bu yükseklik olay ortadan kalktığı için ilerleyen saatlerde giderek düşme eğilimindeydi.
- 6- İlk saatlerde alınan EPO düzeylerinde (E0), Grup1 ile 2 arasında, 1 ile 3 arasında, 1 ile kontrol grubu arasında ve 2 ile kontrol grubu arasındaki değerler istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Ancak Grup 2 ve 3'de hipoksinin şiddeti ile orantılı yüksek EPO düzeyleri, istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.
- 7- 12. saatlerinde (E12) alınan EPO düzeyleri arasında Grup 1 ile 3 arasında, 3 ile kontrol grubu Grup 4 arasında asfiksinin şiddeti ile orantılı değişen değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Grup 2 ile 3 arasında ve Grup 2 ile kontrol grubu Grup 4 arasında EPO düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmedi. Bu saatlerden itibaren hipoksik olayın etkisinin geçmesine bağlı olarak EPO düzeylerinde azalmaya başladığını tespit ettik.
- 8- 24. saatlerdeki EPO düzeylerini gruplar arasında karşılaştırdığımızda, 12. saattekinen benzer bulgular ve istatistiksel sonuçlarla karşılaştık. Ancak klinik olarak şiddetli hipoksi grubu olan Grup 3'de ilerleyen saatlerde azalmış, ancak kontrol ve diğer asfiktik gruplara rağmen yüksek EPO düzeyleri olduğunu gördük. Grup 3'deki devam eden

EPO yüksekliği, hipoksinin Őiddetinden daha çok etkilenen bu bebeklerdeki nörolojik bulgularla paralel gitmektedir. Kendi aralarında değerlendirildiklerinde Grup 1 ile 3 ve Grup 3 ile kontrol grubu 4 arasındaki değerler istatistiksel olarak anlamlı, diğerleri anlamsız olarak değerlendirildi.

9- 36. ve 48. saatlerdeki EPO düzeyleri gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmemiŐtir.

KAYNAKLAR

1. Yurdakök M, Perinatal hipoksik iskemik ensefalopatinin patofizyolojisi. Özalp İ, Yurdakök M (eds), *Pediatride Gelişmeler* Ankara Güneş kitabevi 1999, ss 167-68.
2. Marti H H. Erythropoietin and hypoxic brain. *J Exp Biol.* 2004;207; 3233-3242.
3. Saugstad O.D.: Resuscitation of newborn infants in “*Textbook of Perinatal Medicine*” Kurjak A(ed), The Parthenon Publishing, London, Newyork pp1998, ss 1393-1400.
4. Williams CE, Mallard C, Tan W, Gluckman PD. Pathophysiology of perinatal asphyxia, *Clin Perinatol* 1993; 20:305-325.
5. Hacettepe Üniversitesi Perinatal Mortalite Çalışma Grubu, Hacettepe Üniversitesi 1998 yılı Perinatal Mortalitesi, *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 1999; 42: 315-327.
6. Carter BS, Haverkamp AD, Merenstein GB. The definition of acute perinatal asphyxia. *Clin Perinatol* 1993;20:287-303.
7. Apgar V: A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. *Curr Res Anesthesiol* 1953; 32:260.
8. Nelson KB. Ellenberg JH: Apgar scores as predictors of chronic neurologic disability. *Pediatrics* 1981; 68:36-40.
9. Pearlman J.M.: İntrapartum hypoxic ischemic cerebral injury and subsequent cerebral palsy: Medicolegal Issues, *Pediatrics.*1997; 99: 851-859.
10. Pschirrer E.R., Yeomans E.R.: Does asphyxia cause cerebral palsy? *Semin Perintol.* 2000; 24: 215-220.
11. American Academy of Pediatrics Committee on fetus and newborn. Use and abuse of the apgar score, *Pediatrics.* 1986; 78: 1148-1149.
12. Cunningham F.G., Gant N.F., Leveno K.J., Gilstrap L.C.Hauth.J.C., Wenstrom K.D. İn “*Williams Obstetrics*” eds.The Newborn İnfant. 2001;21: 385-402
13. Kişnişçi H., Gökşin E., Durukan T., Ustay K., Ayhan A., Gürgan T., Önderoğlu L.S.: *Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi*, Güneş Kitabevi Ltd. Ankara,

1996, ss 185-190.

14. Evans DJ, Levene MI. Hypoxic-ischaemic injury İn: Textbook of Neonatology Rennie JM, Robertson NRC (eds), Churchill Livingstone Edinburg, 1999, pp 1231-1251.
15. Ballard RA. Newborn stabilization and initial evaluation. İn: Taeusch HW, Ballard RA, Avery's Diseases of the newborn. WB Saunders Co, Philadelphia 1998, pp 319-355.
16. Yurdakök M.: Perinatal asfiksiden korunma.: Fetal tanı ve tedavi, Saraçoğlu F. (eds), Güneş Kitabevi, Ankara,1998, ss 462-479.
17. Martin-Ancel A., Garcia-Alix., Gaya F., Cabanas F., Burgueros M., Quero J.: Multiple organ involvement in perinatal asphyxia, J Pediatr. 1995; 127: 786-793.
18. Coddick SA., Turnbull AV., Rothwell NJ. Cerebral interleukin 1 is neuroprotective against permanent focal ischemia in rat. J Cereb Blood Flow Metab. 1997; 176-179.
19. Volpe JJ. Hypoxic ischemic encephalopathy, in Volpe JJ (ed): Neurology of the newborn Philadelphia, PA, WB. Saunders Company. 2000, pp. 217-276.
20. Acunaş B., Çeltik C., Garipardıç M., Karasalihoğlu S. Perinatal asfiksili yenidoğanların etyoloji, klinik ve prognoz açısından değerlendirilmesi. Türkiye klinikleri J.Pediatr. 1999, 8: 21-26.
21. Barbara J. Klinik manifestation of diseases in the newborn period. İn : Behrman R, Kleigman R., Jenson H. (eds), Nelson textbook of pediatrics (17.ed) Saunders Pres, Pennsylvania pp 2004.ss 566-67.
22. Sarnat HB., Sarnat MS. Neonatol encephalopathy following fetal distress. A clinical and electroencephalographic study. Arch Neurol 1976;33: 696-705.
23. Jelkman W. Erythropoietin research 80 years after the initial studies by Carnot and Deflandre. Respir Physiol. 1986; 63: 257-66.
24. Moritz K.M., Lim G.B., Wintour E.M.: Developmental regulation of erythropoietin and erythropoiesis, Am. J. Physiol.1997;273: 1829-1844.
25. Krantz S.B.:Erythropoietin, Blood.1991; 77:419-34.
26. Bauer C, Koch KM, Scigala P., Wiczorec İ: Erythropoietin; Molecular Physiology and Clinical Application. 1994; pp: 365-375.
27. Erslev AJ: Hematology, McGraw-Hill Book Company, 3.ed. 1986:365-76; 1634-

1636.

28. Olsen NV. Central nervous system frontiers for the use of erythropoietin. *Clin. Infect. Dis.* 2003;37: S323-S330.
29. Eckadt K.U., Boutellier U., Kurtz A., et al: Rate of erythropoietin formation in humans in response to acute hypobaric hypoxia. *J. Appl Physiol* 1989; 66: 1785-8.
30. Malek A., Sager R., Eckardt K.U., Bauer C., Schneider H.: Lack of transport of erythropoietin across the human placenta as studied by an in vitro perfusion system, *Pflugers Arch.*1994;427: 157-61.
31. Thomas R.M., Canning C.E., Cotes P.M., Linch D.C., Rodeck C.H., Rossiter C.E., Huens E.R.: Erythropoietin and cord blood hemoglobin in regulation of human fetal erythropoiesis, *Br J Obstet Gynaecol.*1983; 90:795-800.
32. Rizzo DJ., Seidenfeld J., Piper M., Aronson N., Lichtin A., Littlewood T. Erythropoietin: A Paradigm for the development of practice guidelines, American Society of Hematology, 2001.
33. Cerami A. Brines M., Cerami C. Epoetin alfa has potential efficacy in central nervous system disorders. *EJD Supplements* 2004;2: 29-35.
34. Bernaudin M., Bellail A., Marti H., Yvon A., Vivien D., Duchatelle L., MacKenzie E.T., and Petit E. Neurons and astrocytes express EPO mRNA: oxygen-sensing mechanism that involve the redox-state of the brain. *Glia* 2000; 30: 271-278.
35. Bruick R.K. and McKnight S.L. A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF. *Science* 2001; 294: 1337-1340.
36. Chong Z.Z., Kang J.Q. and Maiese K. Erythropoietin: cytoprotection in vascular and neuronal cells. *Curr. Drug Targets Cardiovasc. Haematol. Disord.*2003; 3;141-154.
37. Digicaylioglu M. and Lipton S.A. Erythropoietin mediated neuroprotection involves cross-talk between Jak2 and NF- κ B and signalling cascades. *Nature* 2001;412: 641-647.
38. Lin F-K, Suggs S., Lin C-H., Cloning and expression of the human erythropoietin gene *proc. Natl. Acad Sci USA*, 1985; 82: 7580-7584.
39. Dirnagl U., Simon R.P. and Hallenbeck J.M. Ischemic tolerance and endogenous neuroprotection. *Trends Neurosci.*2003; 26:248-254.
40. Ehrenreich H. and Siren A.L. Neuroprotection- what does it mean? – what means

do we have? *Eur. Arch. Psyc. Clin. Neurosci.* 2001; 251: 149-151.

41. Yasuda Y., Masuda S., Chikuma M., Inoue K., Nagao M. and Sasaki R. Estrogen dependent production of erythropoietin in uterus and its implication in uterine angiogenesis. *J. Biol. Chem.* 1998;273:25381-87.
42. Ivan M., Kondo K., Yang H.F., Kim W., Valiando J., Ohh M., Salic A., Asara J.M., Lane W.S. and Kaelin W.G. HIF α targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: Implications for oxygen sensing. *Science* 2001;292: 464-468.
43. Buemi M., Cavallaro E., Floccari F., Sturiale A., Aloisi C., Trimarchi M., Corica F. And Frisina N. The pleiotropic effects of erythropoietin in the central nervous system. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2003; 62: 228-236.
44. Kawakami M., Sekiguchi M., Sato K., Kozaki S. and Takahashi M. Erythropoietin receptor-mediated inhibition of exocytotic glutamate release confers neuroprotection during chemical ischemia. *J. Biol. Chem.* 2001;276: 39469-75.
45. Konishi Y., Chui D.H., Hirose H., Kunishita T. And Tabira T. Trophic effect of erythropoietin and other hematopoietic factors on central cholinergic neurons in vitro and in vivo. *Brain Res.* 1993; 609: 29-35.
46. Dame C., Bartmann P., Wolber EM., Fahnenstich H., Hofmann D., Fandrey J. Erythropoietin gene expression in different areas of the developing human central nervous system. *Developmental Brain Research* 2000;125: 69-74.
47. Lando D., Peet D.J., Gorman J.J., Whelan D. A., Whitelaw M.L. and Bruick R.K. FIH is an asparaginyl hydroxylase enzyme that regulates the transcriptional activity of hypoxia inducible factor. *Genes Dev.* 2002; 16:1466-71.
48. Lando D., Gorman J.J., Whitelaw M.L. and Peet D.J. Oxygen-dependent regulation of hypoxia-inducible factors by prolyl and asparaginyl hydroxylation. *Eur. J. Biochem.* 2003; 270:781-790.
49. Marti H. H. and Risau W. Angiogenesis in ischemic disease. *Thromb. Haemost.* 1999; 82:44-52.
50. Semenza G.L. HIF-1 and human disease: one highly involved factor. *Genes Dev.* 2001;14. 1983-1991.
51. Wenger R.H. Mammalian oxygen sensing, signalling and gene regulation. *J. Exp. Biol.* 2000;203:1253-63.

52. Wenger R.H. Cellular adaptation to hypoxia: oxygen sensing protein hydroxylases, hypoxia inducible transcription factors and oxygen regulated gene expression. *FASEB J.*2002;16:1151-62.
53. Studer L., Csete M., Lee S.H., Kabbani N., Walikonis J., Wold B. and McKay R. Enhanced proliferation survival and dopaminergic differentiation of CNS precursors in lowered oxygen. *J. Neurosci.*2000;20:7377-83.
54. Assandri R., Egger M., Gassman M., Niggli E., Bauer C., Forster I. and Görlach A. Erythropoietin modulates intracellular calcium in a human neuroblastoma cell line. *J. Physiol. Lond.* 1999;516:343-352.
55. Weber A., Maier R.F., Hoffmann U., Grips M., Hoppenz M., Aktaş A.G., Heinemann U., Obladen M. and Schuchmann S. Erythropoietin improves synaptic transmission during and following ischemia in rat hippocampal slice cultures. *Brain Res.* 2002;958: 305-311.
56. Hewitson K.S, McNeill L.A., Riordan M.V., Tian Y., Bullock A.N., Welford R.W., Elkins J.M., Oldham N.J., Bhattacharya S., Gleadle J.M. et al. Hypoxia inducible factor (HIF) asparagine hydroxylase is identical to factor inhibiting HIF (FIH) and is related to the cupin structural family. *J. Biol. Chem.*2002; 277: 26351-55.
57. Nitta K., Uchida K., Kimata N., Honda K., Kobayashi H., Kawashima A., Yumura W. And Nihei H. Recombinant human erythropoietin stimulates vascular endothelial growth factor release by glomerular endothelial cells. *Eur.J.Pharmacol.*1999;373:121-124.
58. Juul S. Erythropoietin in the central nervous system and its use to prevent hypoxic ischemic brain damage. *Acta Pediatr.*2002; 91:36-42.
59. Ruscher K., Freyer D., Karsch M., İsaev N., Megow D., Sawitzki B., Priller J., Dirnagl U. and Meisel A. Erythropoietin is a paracrine mediator of ischemic tolerance in the brain: evidence from an in vitro model. *J. Neurosci.*2002;22:10291-10301.
60. Siren A.L., Knerlich F., Poser W., Gleiter C.H., Brück W. and Ehrenreich H. Erythropoietin and erythropoietin receptor in human ischemic hypoxic brain. *Acta Neuropathol.*2001;101:271-76.
61. Wen T.C., Sadamoto Y., Tanaka J., Zhu P.X., Nakata K., Ma Y.J., Hata R. and Sakanaka M. Erythropoietin protects neurons against chemical hypoxia and

cerebral ischemic injury by up-regulating Bcl-xl expression. *J.Neurosci.Res.*2002;67:795-803.

62. Genc S., Kuralay F., Genc A., Akhisaroglu M., Fadiloglu S., Yorukoglu K., Fadiloglu M. and Gure A. Erythropoietin exert neuroprotection in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine treated C57/BL mice via increasing nitric oxide production. *Neurosci.Lett.* 2001;298:139-141.
63. Brines L., Ghezzi P., Kenan S., Agnello D., de Lanerolle N.C., Cerami C., Itri L.M. and Cerami A. Erythropoietin crosses the blood brain barrier to protect against experimental brain injury. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 2000; 9:10526-31.
64. Juul S.E., McPherson R.J., Farrell F.X., Jolliffe L., Ness D.J. and Gleason C.A. Erythropoietin concentration in cerebrospinal fluid of nonhuman primates and fetal sheep following high dose recombinant erythropoietin. *Biol.Neonate* 2004; 85:138-144.
65. Weissner C., Allegrini P.R., Ekatodramis D., Jewell U.R., Stallmach T and Gassmann M. Increased cerebral infarct volumes in polyglobulic mice overexpressing erythropoietin. *J.Cereb.Blood Flow Metab.*2001;21:857-64.
66. Spandou E., Papadopoulou Z., Soubasi V., Karkavelas G., Simeonidou C., Kremenopoulos G., Guiba G.T. Hypoxia Ischemic affects erythropoietin and erythropoietin receptor expression pattern in the neonatal rat brain. *Brain Research* 2004;1021: 167-172.
67. Kakuya F., Shira M. Relation ship between erythropoietin levels both in cord serum and amniotic fluid at birth and abnormal fetal heart rate records. *Pediatrics International* 2002; 414-419.
68. Heinze S., Sitka V. Erythropoietin as a marker of perinatal risk. *Z Geburtshirfe Neonatol* 1998; 202: 111-4.
69. Strunk T, Hartel C, Schultz C. Does erythropoietin protect the preterm brain? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.*2004;89:F364-6.
70. Juul SE., Yachnis AT., Rojiani AM., Christensen RD. Immunohistochemical localization of erythropoietin and its receptor in the developing human brain. *Pediatr Dev Pathol.* 1999;2: 148-58.
71. Kertesz N., Wu J., Tim H., Chen P., Sucov HP., Wu H. The role of erythropoietin in regulating angiogenesis. *Developmental Biology.* 2004;276: 101-110.

72. Melendez M., Yan E., Walker DW. Expression of erythropoietin and its receptor in the brain of late gestation fetal sheep and responses to asphyxia caused by umbilical cord occlusion. *Dev Neurosci.* 2005; 27: 220-7.
73. Bernaudin M., Marti HH., Roussel S., Divoux D., Nouvelot A., MacKenzie ET., Petit E. A potential role for erythropoietin in focal permanent cerebral ischemia in mice. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1999 ; 19: 643-51.
74. Grasso G. Beneficial effects of systemic administration of recombinant human erythropoietin in rabbits subjected to subarachnoid hemorrhage. *Proc.Natl. Acad. Sci.USA.* 2002;99: 5627-31.
75. Olsen NV. Central nervous system frontiers for the use of erythropoietin.*Clin. Infect. Dis.* 2003;37: S323-S330.
76. Maiese K., Li F., Chong ZZ. Erythropoietin in the brain: can the promise to protect be fulfilled?. *Trends in Pharmacological Sciences.* 2004;25: 11.
77. Ehrenreich H., Hasselblatt M., De mbowski C., Cepek L., Lewczuk P., Stiefel M., Rustenbeck H.H., Breiter N., Jacob S., Knerlich F. Erythropoietin therapy for acute stroke is both safe and beneficial. *Mol. Med.*2002;8;495-505.
78. Yu X., Lin C., Constantini F. And Noguchi C.T. The human erythropoietin receptor gene rescues erythropoiesis and developmental defects in the erythropoietin null Mouse. *Blood* 2001;98:475-477.
79. Cerami A. Brines M., Cerami C. Epoetin alfa has potential efficacy in central nervous system disorders. *EJD Supplements* 2004;2: 29-35.
80. Kumral A., Ozer E., Yılmaz O., Akhisaroğlu M., Gökmen N., Duman N., Ulukus C., Genç S., Ozkan H. Neuroprotective effect of erythropoietin on hypoxic ischemic brain injury in neonatal rats. *Biol Neonate* 2003;83: 224-228.
81. Sun Y., Calvert JW.,Zhang JH. Neonatal hypoxia/ischemia is associated with decreased inflammatory mediators after erythropoietin administration. *Stroke* 2005; 36: 1672-8.
82. Lei W., Zhang Z., Ying W., Ruilan Z., Chopp M. Treatment of stroke with erythropoietin enhances neurogenesis and angiogenesis and improves neurological function rats. *Stroke* 2004;35: 1732-1737.
83. Ohls R., Ehrenkranz RA., Das A., Dusick AM., Yolton K., Romano E., Black VD., Papile LA., Simon NP., Steichen JJ., Lee K. Neurodevelopment outcome and

growth at 18 to 22 months' corrected age in extremely low birth weight infants treated with early erythropoietin and iron. *Pediatrics*. 2004;114:1287-1291.

- 84.** Newton NR., Leonard CH., Piecuch RE., Phibbs RH. Neurodevelopmental outcome of prematurely born children treated with recombinant human erythropoietin in infancy. *J Perinatol*. 1999;19: 403-6.
- 85.** Wen TC., Rogido M., Genetta T., Sola A. Permanent focal cerebral ischemia activates erythropoietin receptor in the neonatal rat brain. *Neuroscience Letters* 2004;355: 165-168.
- 86.** Baciu I, Oprisiu C, Derevenco P, Vasile V, Muresan A, Hriscu M, Chis I. The brain and other sites of erythropoietin production. *Rom J Physiol* 2000;37:3-14.
- 87.** Juul S.E., Stallings S.A., Christensen R.D. Erythropoietin in the cerebrospinal fluid of neonates who sustained CNS injury. *Pediatric Research* 1999;46: 543-547.
- 88.** Fahnenstich H, Dame C, Allera A, Rosskamp R, Kowalewski S. Erythropoietin as a biochemical parameter for fetal hypoxia. *Klin Padiatr*. 1995;207:326-30.

Ek Tablo 9:Hastaların EPO düzeyleri, cinsiyetleri ve hematokrit düzeyleri

Hastalar	Cinsiyet	Evre	Htc	E0	E12	E24	E36	E48
B.Koç	E	3	54	510	510	51	27	12
B.İz	K	1	50,8	5	3	2	3	1
B.Öztürk	K	3	48,9	45	22	22	11	16
B.Bayraktar	K	3	57,5	18	7	6	6	6
B.Tokaç	K	3	57,5	510	510	449	420	510
B.Baldemir	K	1	48,8	50	30	25	10	7
B.Çakıllı	K	3	56,2	34	40	46	40	17
B.Şen	E	2	37,6	66	18	7	4	4
B.Fidan	E	1	56	6	2	1	1	1
B.Koçak	K	2	53,5	86	55	17	2	3
B.Başpınar	K	3	56,2	38	26	19	2	3
B.İşıқтаş	E	2	45	35	12	2	8	6
B.Murat	E	1	45,3	5	7	2	1	1
B.Uzel	K	2	43,7	510	450	5	3	2
B.Yanarsoy	E	2	48	20	7	5	4	5
B.Bayram	E	3	46	117	150	275	60	17
B.Akgüneş	E	1	46	21	2	8	9	5
B.İşık	E	1	47	50	30	35	30	20
B.Coşkun	K	2	46	160	23	18	13	20
B.Bayraktar	K	1	50	18	7	6	6	6
B.Ceyhan	K	1	48	2	2	3	3	2
B.Dündar	E	2	47	20	6	4	3	3
B.Çoban	E	1	43	2	2	0	3	2
B.Bahar	K	1	52	2	2	2	7	12
B.Atasoy	E	2	51	43	36	13	2	2
B.Şaşmaz	E	3	45	25	20	21	12	5
B.İşgören	E	2	49	25	21	5	15	22
B.Balcı	K	1	50	24	23	24	1	2

Ek Tablo 10: Kontrol hastaların EPO düzeyleri ve cinsiyetleri

Hastalar	Cinsiyet	E0	E12	E24	E36	E48
B.Bekdikli	E	5	6	1	5	9
B.Tonbay	E	7	5	3	6	5
B.Ördek	E	3	3	6	9	8
B.Özışık	E	20	7	3	7	12
B.Şeydanur	K	6	5	4	1	1
B.Canpolat	K	6	6	5	4	9
B.Özdemir	E	0	1	3	7	6
B.Aslan	K	16	16	4	6	4
B.Bulut	E	9	13	117	3	6
B.Palaz	K	4	7	5	5	4

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Güldane Aylin İnal'a ait Asfiktik Yenidoğanlarda Hipoksi İle Eritropoietin Düzeyleri Arasındaki İlişki Ve Önemi adlı çalışma, jürimiz tarafından Perdiatri Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih : 27.12.2006

İmza

Başkan : Prof. Dr. Mustafa K. Öztürk

İmza

Üye : Prof. Dr. Mehmet Akif Özdemir

İmza

Üye : Prof. Dr. Mustafa Kendirci

İmza

Üye : Prof. Dr. Mustafa Başbuğ

İmza

Üye : Doç. Dr. Duran Aslan

İmza