

Yenidoğanlarda hipoksik-iskemik ansefalopati evresi ile eritropoietin düzeyleri arasındaki ilişki: Tedavide kullanılabilir mi? The relationship between grade of hypoxic-ischaemic encephalopathy and erythropoietin levels in the newborn: Can it be used in treatment?

Yasemin Altuner Torun, Aylin İnal*, Mehmet Akif Özdemir**, Turkan Patiroğlu**, Musa Karakükcü**

Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Hematoloji Bölümü, Kayseri, Türkiye

*Kayseri Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi, Yenidoğan Kliniği, Kayseri, Türkiye

**Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematoloji Bilim Dalı, Kayseri, Türkiye

Özet

Amaç: Yenidoğan hipoksik iskemik ansefalopatisi ciddi bir hastalığa ve ölüme sebep olmasına rağmen günümüzde etkin bir tedavisi yoktur. Eritropoietin hipoksik iskemik beyin zedelenmesinden sonra işlevsel olarak iyileşme sağladığı gösterilmesine rağmen uygulama zamanı ve uygun doz uygulaması tam olarak ortaya çıkarılamamıştır. Bu çalışmanın amacı asfiktik yenidoğanlarda hipoksinin şiddeti ve serum eritropoietin seviyesini karşılaştırmak ve bu ilişkinin klinik kullanım açısından önemini değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Eritropoietin düzeylerini doğum sonrası 0, 12, 24, 36, ve 48. saatlerde enzim immün yöntemi ile dört grupta ölçtük. Bu gruplar (1) evre 1 (n=11); (2) evre 2 (n=9); (3) evre 3 hipoksik iskemik ansefalopatisi olan yenidoğanlar (n=8) ve sağlıklı kontrol grubundan (n=10) oluşmakta idi.

Bulgular: Kontrol grubunda eritropoietin düzeyinin geometrik ortalaması 5 mU/mL idi. Eritropoietin seviyeleri 0 ve 12 saatte grup 2 ve 3'de kontrol ve grup 1'e göre; 24 ve 36. saatlerde ise grup 3'de diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti (p=0,01). Kontrol ve hipoksik iskemik ansefalopati gruplarında 48. saatte fark yoktu (p>0,05).

Çıkarımlar: Bu sonuçlara göre zamanında doğan yenidoğanlarda rekombinan insan eritropoietin tedavisinin orta derece hipoksik iskemik ansefalopatide 12 saat, ağır olgularda 24 saat sonra kullanılması gerektiğini düşünmekteyiz. (*Türk Ped Arş 2010; 45: 334-8*)

Anahtar sözcükler: Eritropoietin, hipoksik-iskemik ansefalopati, yenidoğan

Summary

Aim: Neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy leads to mortality and severe morbidity, but currently there is no effective treatment. Erythropoietin has been well characterized and shown to improve functional outcomes after hypoxic-ischemic brain injury; however, application time and optimal dosing regimens have not been clarified. The purpose of this study was to compare the severity of hypoxia with serum erythropoietin levels in the asphyctic newborns and evaluate the importance of this relationship in the terms of its clinical use.

Material and Method: We studied erythropoietin concentrations measured at 0 h, 12 h, 24 h, 36 h, and 48 h after birth by enzyme immunoassay in four groups: neonates with hypoxic-ischaemic encephalopathy (1) grade 1 (n=11); (2) grade 2 (n=9); (3) grade 3 (n=8) and control group with healthy newborns (n=10).

Results: The geometric mean of erythropoietin concentration was 5.0 mU/mL in the control group. Erythropoietin levels were found significantly increased (p=0.01) in the group 2 and 3 with respect to control and group 1 at 0 h and 12 h; and increased in group 3 with respect to all other groups at 24 h and 36 h (p<0.05). There was no difference between the control group and hypoxic-ischemic groups at 48 h.

Conclusions: We think that recombinant human erythropoietin treatment for newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy may be used after 12 h in moderate hypoxic-ischemic encephalopathy but after 24 h in severe cases. (*Türk Arch Ped 2010; 45: 334-8*)

Key words: Hypoxic ischemic encephalopathy, erythropoietin, newborn

Giriş

Asfikside kalmış bebeklerin hastalığını ve ölümünü en fazla etkileyen durum hipoksik iskemik ansefalopatidir (HİE) ve günümüzde etkin bir tedavisi yoktur (1,2). Son yıllarda yapılan araştırmalarda, oksijen bağımlı sistemle yönetilen ve esas olarak böbreklerden salınan eritropoietinin (EPO) beyinde de üretildiği tespit edilmiştir (3,4). Hayvan deneylerinde, iskemi ve hipoksi sonrasında beyin hücrelerinde EPO almaçlarının (reseptörlerinin) arttığı gözlenmiş ayrıca invitro ve invivo olarak yapılan birçok çalışmada EPO'nun nöronları koruduğu tespit edilmiştir (5,6). Çalışmalarda EPO'nun hücresele düzeyde, özellikle programlı hücre ölümünü azalttığı, kapiler oluşumları sağladığı, dopamin gibi hücreleri koruyan nörotransmitterlerin salınımını uyardığı, serbest oksijen radikalleri, nitrik oksit ve enflamatuvar aracılarn salınımını azalttığı, hücre içi kalsiyumu düzenlediği, kainik asit toksisitesini önlediği gösterilmiştir (6). Beyinde bulunan EPO ve EPO almaç sisteminin hipoksi ve iskemi sonrası beyni korumaya yönelik etkisi gösterdiğinin bulunması üzerine yenidoğanın HİE tedavisinde EPO kullanımını gündeme gelmiştir (5-9).

Bu çalışmanın amacı, asfiktik yenidoğanlarda doğum sonrası alınan EPO düzeylerinin HİE şiddeti ile ilişkisini ve klinik kullanım zamanını belirlemektir.

Gereç ve Yöntem

Çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklendi ve aynı kurumun etik kurul onayı alınarak gerçekleştirildi. Bu çalışmaya Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesinde ve çevre sağlık kuruluşlarında doğmuş, yenidoğan biriminde izlenen 28 asfiktik ve 10 sağlıklı yenidoğan alındı.

Hastalar klinik ve laboratuvar olarak HİE bulgusu olan, 37 hafta ve üzeri, miadında doğan yenidoğanlardan oluşmaktaydı. Çalışmaya alınma ölçütleri; doğumdan sonra ilk saat içinde kabul edilip takibe alınmış olması, gestasyonel yaşı 37 hafta ve üzerinde, doğum ağırlığının gestasyonel yaşına uygun olması, beşinci dakika Apgar skorunun altının altında olması, doğum sonrasında canlandırma ve pozitif basınçlı ventilasyon kullanılması, perinatal HİE tablosu ile karışan klinik durumların bulunmaması (kas hastalığı, sepsis kliniği ve kan kültüründe üremesi olmaması, polisiteminin bulunmaması, annenin sedatif ilaç kullanımı öyküsü ve bebekte doğumda uygulanan anesteziğin etkisinin olmaması), kemik iliği hastalığı, aşırı kan kaybı, hemolitik anemi ve intrauterin büyüme geriliği gibi EPO düzeylerini etkileyecek bozuklukların olmaması idi.

Hastalar, Modifiye Sarnat ve Sarnat HİE derecelendirmesine göre (10) üç HİE grubu (grup 1 (evre 1, n=11), grup 2 (evre 2, n= 9), grup 3 (evre 3, n= 8)) ve sağlıklı kontrol grubundan (n=10) oluşturuldu. Sağlıklı kontrol grubu HİE

kliniği olmayan, EPO düzeyini etkileyecek durumların bulunmadığı bebeklerden oluşmaktaydı. Tüm hastalarda detaylı dolaşım, solunum ve sinir sistemi incelemeleri yapıldı. Ayrıca tam kan sayımı, kan gazları, serum biyokimya ve kranial ultrasonografi incelemeleri yapılarak ve doğum hikâyesi alınarak hipoksinin şiddeti ve bebeğin etkilenme derecesi değerlendirildi. Takiplerinde 12 saat ara ile nörolojik muayeneleri yapıldı. Eritropoietin düzeyleri ölçümü için toplam beş kez alınan kan örnekleri çalışma yapılana kadar -20 °C'de saklandı ve ELİSA (BİOMERİCA, USA) yöntemi ile çalışıldı. Testin duyarlılığı 0,1 ng/mL idi. Sonuçlar mU/mL olarak ifade edildi.

Araştırma verilerinin istatistiksel analizinde SPSS 15,0 ile Sigma Stat 3.1 istatistik programlarından yararlanıldı. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediğine Kolmogorov-Smirnov testi ile bakıldı. Değişkenler normal dağılım göstermediği için ortanca olarak ifade edildi. Bağımsız iki grup arasındaki farkı belirtmek için Mann-Whitney U testi, hematokrit ile EPO düzeyleri arasındaki ilişki için Spearman's korelasyon testi, HİE ve EPO düzeylerini karşılaştırmak için Kruskal Wallis H testi, sonucu farklı çıkan grupların karşılaştırılması için Dunn's yöntemi uygulandı. Tüm bu testlerde p<0,05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

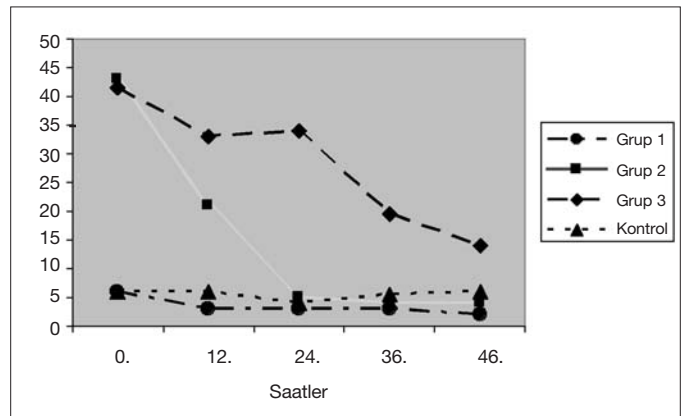
Bulgular

Bu çalışmada, hastaların 20'si erkek (%52,6), 18'i (%47,4) kız olup hepsi miadında doğan yenidoğanlardan oluşmakta idi (Tablo 1).

Bebeklerin cinsiyetleri ile EPO düzeyleri incelendiğinde geliş saatleri ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (Tablo 1, p>0,05).

Hastaların EPO düzeyleri grup 1'de 2-15 mU/mL idi. Bu grupta EPO düzeyleri, kontrol grubunun EPO düzeylerine benzer; grup 2 ve 3'e göre düşük değerlerde idi (Şekil 1).

Eritropoietin değerleri grup 2'de kontrol grubu ve grup 1 düzeylerine göre daha yüksek ölçüldü. Bu gruptaki hastaların değerleri ise 2-510 mU/mL arasında değişmekte idi. Yüksek EPO değerleri ilk 24 saat içinde tespit edildi (Tablo 1).



Şekil 1. EPO düzeylerinin belirli saatler ve gruplarda değişimi

Eritropoetin düzeyleri grup 3'de 2-510 mU/mL arasında değişmekteydi. EPO değerlerinin 12 saatten sonra düşmeye başladığı yinede kontrol grubu ve grup 2'ye göre daha yüksek olduğu görüldü (Şekil 1, Tablo 1).

Eritropoietin düzeyleri kontrol grubunda grup 1'e benzer ama grup 2 ve 3'e göre daha düşük düzeyde idi (Tablo 1).

Saatlere göre EPO düzeyleri karşılaştırıldığında; 0. saatte grup 2 ve 3'ün diğer gruplara göre, 12. saatte ise grup 3'ün grup 1 ve kontrol grubuna göre, 24. ve 36. saatlerde grup 3'ün diğer gruplara göre EPO düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek idi ($p=0,01$, $p=0,01$, $p<0,05$, Tablo 1). Eritropoietin düzeyleri açısından gruplar arasında 48. saatte istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,05$, Tablo 1).

Tartışma

Bu çalışma EPO düzeylerinin evre 1 HİE ve kontrol grubunda benzer bulunması; evre 2 ve 3 HİE'de belirgin olarak yüksek bulunması ve zamanla azalması nedeniyle endojen EPO seviyesinin azaldığı saatlerde HİE'nin zararlı etkilerine karşı beyni korumaya yönelik EPO tedavisinin uygulanabileceğini düşündürmektedir.

Asfiksi, perinatal hastalık ve ölümün önemli nedenlerinden birisidir. İnsan vücudunda tüm organların hipoksiden zarar gördüğü bilinmekle birlikte, merkezi sinir sistemi etkilendiğinde kalıcı hasar olacağından dolayı beyni korumaya yönelik tedavi yöntemleri geliştirilmeye çalışılmaktadır (11-13).

Eritropoietinin beyinde üretildiğine dair kanıtlar bulunması ile birlikte hayvanlar ve ölüm sonrası insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, beyinde temporal, frontal ve oksipital korteksler, beyincik, hipotalamus, kaudat çekirdekler dahil olmak üzere incelenen bütün alanlarda ve hücresele seviyelerde EPO ve almasının bulunduğu gösterilmiştir (14-17).

Juul ve ark.'ları (18), düşük sonrası beyinleri incelenen fetuslarda 5.-6. haftada ventrikül çevresi jerminal zonda, 10. haftada ventriküllerin etrafı boyunca EPO ve EPO almaçlarını göstermişlerdir. Dame ve ark.'ları (16) gestasyon yaşı 23 ile 37 hafta arasındaki dört fetustan ölüm sonrası merkezi sinir sistemi, böbrek ve karaciğerden doku örnekleri alarak, PCR ile EPO mRNA miktarlarını ölçmüşlerdir. Beyinlerin bütün alanlarında değişik oranlarda tespit edilen EPO mRNA böbrek ile karaciğerden alınan örneklerle yakın ölçülmüştür. Sonuçta gebeliğin erken dönemlerinden itibaren EPO'nun merkezi sinir sistemindeki hücrelerin gelişimi ve farklılaşmasında önemli rol oynadığı bildirilmiştir.

Beyinde EPO ve almasının bulunmasından sonra insanlarda hipoksi ile EPO arasındaki ilişkiyi incelemek için Fahnenstich ve ark.'ları (19), akut ve kronik strese maruz kalmış zamanında ($n=75$) ve erken doğmuş ($n=77$) bebekler ile, sağlıklı zamanında doğmuş ($n=54$) bebeklerden alınan kan örneklerinden EPO düzeyleri çalışmışlardır. Yüksek riskli hastalarda stresin akut veya kronik olduğunu umbilikal kord pH ölçümü ve apgar skoru ile belirlemişlerdir. Eritropoietin düzeyleri, akut strese olanlarda ($n=27$) ortalama 153,4 mU/mL, kronik streste olanlarda ($n=48$) ortalama 102,6 mU/mL, erken doğmuş yenidoğanlarda ortalama 11-17,3 mU/mL arasında, sağlıklı yenidoğanlarda ise ortalama 20,02 mU/ml olarak ölçülmüştür. Bizim çalışmamıza benzer bir şekilde stresle EPO düzeylerinin arttığı, özellikle bu yüksekliğin, akut streste daha belirgin olduğunu tespit etmişlerdir. Juul ve ark.'ları (20) ise merkezi sinir sistemi hasarı ile giden hastalıklara sahip, gestasyonel yaşları 24 haftalık bebekten 16 yaşa kadar değişen hastalar ($n=81$) ve sağlıklı çocukların ($n=41$) serum ve beyin omurilik sıvısında EPO düzeylerini ölçmüşlerdir. Hastalar perinatal HİE ($n=16$), menenjit ($n=31$), kafa içine kanama ($n=11$), farklı nörolojik soruna sahip çocuklar ($n=11$) ve anemi nedeniyle 200 U/kg'dan EPO tedavisi alan erken doğmuş yenidoğanlardan ($n=12$) oluşmakta idi. Asfiktik hastaların ilk iki gün içinde alınan EPO düzeyleri, kontrol ve diğer hasta gruplarındaki değerlere göre belirgin olarak yüksek ölçüldü.

Tablo 1. Belirli saatlerde alınan EPO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması					
Saatler	EPO değerleri (mU/ml)			Kontrol grubu (n:10)	P değeri
	Grup 1 (E:5/K:6)	Grup 2 (n:9) (E:5/K:4)	Grup 3 (n:10) (E:5/K:5)		
0.	6 (2-50)	43 a,d (20-510)	41,5 a,d (18-510)	6 (0-20)	0,01
12.	3 (2-30)	21 (6-450)	33 a,d (7-510)	6 (1-16)	<0,05
24.	3 (0-35)	5 (2-18)	34 a,b,d (6-449)	4 (1-17)	<0,05
36.	3 (1-30)	4 (2-15)	19,5 a,b,d (2-420)	5,5 (1-9)	<0,05
48.	2 (1-20)	4 (2-22)	14 (3-210)	6 (1-12)	<0,05

a $P<0,05$; grup 1 ile kıyaslandığında

b $P<0,05$; grup 2 ile kıyaslandığında

c $P<0,05$; grup 3 ile kıyaslandığında

d $P<0,05$; kontrol grubu ile kıyaslandığında

İnsanlarda hipoksi ile EPO ilişkisi tespit edildikten sonra hipoksi ile fetal risk arasındaki ilişkiyi belirlemek için kordon kanı EPO düzeyi üzerinde çalışmalara başlanmıştır. Kakuya ve ark.'ları (21), doğum öncesi ve sırasında EPO düzeyleri ile fetal stres arasındaki ilişkiyi göstermek için fetal kalp hızı anormal (n=14) ve sağlıklı (n=99) olan kadınlarda amniyon sıvısı ve kordon kanından EPO düzeyleri çalışmışlardır. Apgar skoru düşük olan ve belirgin hipokside kalmış yenidoğanlarda hem amniyon sıvısı hem de kordon kanındaki EPO düzeyleri belirgin olarak yüksek bulunmuştur. Heinze ve ark.'ları (22) tarafından yapılan çalışmada apgar skoru düşük olan, elektif sezeryan ile doğan, doğum sonrası asidozu, annede hipertansiyon ve diyabeti olan ve sağlıklı bebeklerin doğum sırasında kordon kanları alınarak EPO düzeyleri çalışılmış olup, apgar skoru düşük, asidozu olan ve belirgin hipoksi ve iskemide kalmış bebeklerde EPO düzeyleri yüksek ölçülmüştür. Ruth ve ark.'ları (23) perinatal beyin zedelenmesinin göstergesi olarak kordon kanında EPO, hipoksantin ve plazma arjinin vazopresin düzeylerini ölçtüklerinde; asfiktik yenidoğanlarda EPO düzeyinin yüksek olduğunu ve bu durumun beyin felci veya ölüm riskinde artışın bir göstergesi olarak değerlendirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmalarda EPO ölçümü kordon kanında yapılırken, çalışmamızda yenidoğanda ve doğum sonrası tekrarlı ölçümler yapılmıştır. Bu çalışmalara benzer olarak HİE tanısı alan yenidoğanlarda EPO düzeyleri yüksek tespit edilmiştir.

Eritropoietin tedavisinin zamanlaması açısından hipoksi ve iskemi sonrası EPO ve EPO almaç düzeyinin artış zamanını belirlemek üzere yapılan çalışmalarda Wen ve ark.'ları (24) hipoksiye maruz bırakılan 20 sıçan yavrusunda iskemi bölgesinde EPO almacının 6. saatten itibaren arttığını tespit etmişlerdir. Spandou ve ark.'ları (25) tek taraflı karotid arterlerini bağlayarak yedi yavru sıçanın beyinlerini bir saat kadar hipokside bıraktıktan sonra 24 saat ile dört gün sonra beyinlerini incelediklerinde kortikal infarkt ile bazı alanlarda nöron kaybının EPO ve EPO almaç sisteminin uyarılması ile düzeltilmeye çalışıldığını bildirmişlerdir. Melendez ve ark.'ları (26) gebe koyunların umbilikal kordonlarını 10 dakika kadar bağlayarak hipokside bıraktıkları zamanında doğacak yavruların 48 saat sonra beyinlerini incelediklerinde en fazla korteks ile ventrikül çevresinde EPO ve EPO almaç artışıyla karşılaşmışlardır. Umbilikal kordon 10'ar dakika iki defa bağlandığında ise beynin incelenen tüm alanlarında EPO artışını tespit etmişlerdir.

Merkezi sinir sistemi hücrelerini hipoksiye karşı koruyan EPO'nun klinikte uygulama zamanı ile ilgili yapılan çalışmalarda Gonzalez ve ark.'ları (27) cerrahi olarak orta serebral arter tıkanması oluşturulan yenidoğan sıçanlara (n=10) ya tek doz (5U/g) veya 0. saat, 24. saat ve 7. günlerde üç doz (1U/g) EPO uygulanmış olup üç dozda EPO verilenlerde hemisfer hacimlerinde artış, hücre tamiri ve çoğalmasını sağladığı için EPO tedavisinin gerekliliğini bildirmişlerdir. Bernaudin ve ark.'ları (28) farelerde kalıcı

bölgesel beyin iskemisi oluşturdukları çalışmalarında, iskemiden sonraki birinci günde endotelial hücrelerde, üçüncü günde mikrogliya ve makrofaj benzeri hücrelerde, 4. ve 7. günlerde ise astrositlerde EPO ekspresyonunda artış olduğunu saptamışlardır. Kumral ve ark.'ları (29) 2,5 saat hipoksiye maruz kaldıktan sonra sistemik olarak 1000 U/kg dozunda EPO uygulanan (n:11) ve EPO verilmeden hipoksiye maruz kalan sıçanlar (n:11) karşılaştırıldığında 72 saat sonra EPO alan grubun infarkt alanının daha küçük olduğunu tespit etmişlerdir. Sun ve ark.'ları (30) EPO uygulanma zamanı ile ilgili bir çalışmada 90 dakika hipokside bıraktıkları yedi günlük sıçanların bir kısmına hipoksi öncesinde ve sonrasında 5 U/gr dozunda EPO sistemik olarak, sonraki dozları ise bir gün ara ile iki defa uygulandığında hipokside 24 saat sonra dahi EPO'nun, beyni koruduğunu tespit etmişlerdir. Brines ve ark.'ları (31) sıçanların sağ orta serebral arterlerini bir saat kadar bağlayarak oluşturdukları iskemi örneğinde 24 saat önce, 3, 6, 9 saat sonra sistemik olarak EPO uyguladıklarında iskemiden önce ve altı saat sonra infarkt alanında belirgin azalma olduğu ancak dokuzuncu saatte önemli bir etkinin olmadığı tespit etmişlerdir.

Son yıllarda yapılan bir çalışmada Zhu ve ark.'ları (7) orta ve ağır HİE geçirmiş olan 83 yenidoğana rekombinan insan EPO'sunu deri altı olarak 300 U/kg (n=52) veya 500 U/kg (n=31) gūnaşırı, doğum sonrası 1-48 saat'den (ortalama 20-24 saat) itibaren iki hafta süre ile ve 84 yenidoğana ise geleneksel tedavi uygulamışlardır. Tekrarlanan, düşük doz EPO tedavisinin orta derecede HİE'de etkili olduğunu bildirmişlerdir. Eritropoietinin uzun dönem etkisi hakkında bilgi elde edebilmek için hastalarda 18 aylık olana kadar altı ayda bir nörolojik muayene yapılmış olup ölüm ve sakatlık açısından belirgin bir farklılık saptanmamıştır. Bu çalışmada serum EPO seviyelerine tedavi sonrası yeterli EPO düzeyinin saptanması amacı ile bakılmış olup ilk enjeksiyon zamanı hakkında herhangi bir yorumda bulunulmamıştır. Çalışmamızda EPO tedavisinin evre 2'de 12 saat, evre 3'de 24 saat sonra uygulandığında daha etkili olabileceğinin bulunması en iyi zamanlama açısından önemlidir. Eritropoietin tedavisi 12 saat sonra başladığı takdirde orta düzeyde HİE olan hastalardaki düzelmeyi daha belirgin olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca bilgilerimize göre çalışmamız HİE sonrası evrelerine göre ardışık EPO ölçümünün yapıldığı ilk çalışmadır. Çalışmamızın başlıca kısıtlılıkları olgu sayısının fazla olmaması ve EPO değerinin değiştiği zamanın belirlenmesi için daha sık aralıklarla kan alınamamış olmasıdır.

Sonuç olarak, beyni hipoksi ve iskeminin zararlı etkilerine karşı koruyan ve endojen savunma sisteminin parçası olan EPO'nun etkisinin görülmesi için endojen üretimin azaldığı ağır HİE'de 24 saat, orta derecede HİE'de 12 saat sonra verilmesinin daha etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

Kaynaklar

1. Florio P, Abella R, Marinoni E, et al. Biochemical markers of perinatal brain damage. *Front Biosci* 2010; 2: 47-72.
2. Chang YC, Huang CC. Perinatal brain injury and regulation of transcription. *Curr Opin Neurol* 2006; 19: 141-7.
3. Strunk T, Härtel C, Schultz C. Does erythropoietin protect the preterm brain? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2004; 89: 364-6.
4. Juul S. Erythropoietin in the central nervous system, and its use to prevent hypoxic-ischemic brain damage. *Acta Paediatr Suppl* 2002; 91: 36-42.
5. Van der Kooij MA, Groenendaal F, Kavelaars A, Heijnen CJ, van Bel F. Neuroprotective properties and mechanisms of erythropoietin in vitro and in vivo experimental models for hypoxia/ischemia. *Brain Res Rev* 2008; 59: 22-33.
6. Buemi M, Cavallaro E, Floccari F, et al. Erythropoietin and the brain: from neurodevelopment to neuroprotection. *Clin Sci* 2002; 103: 275-82.
7. Zhu C, Kang W, Xu F, et al. Erythropoietin improved neurologic outcomes in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics* 2009;124:218-26.
8. Noguchi CT, Asavaritikrai P, Teng R, Jia Y. Role of erythropoietin in the brain. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007; 64: 159-71.
9. Maiese K, Li F, Chong ZZ. Erythropoietin in the brain: can the promise to protect be fulfilled? *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25: 577-83.
10. Sarnat HB, Sarnat MS. Neonatal encephalopathy following fetal distress: A clinical and electroencephalographic study. *Archives of Neur* 1976; 33: 696-705.
11. McPherson RJ, Juul SE. Recent trends in erythropoietin-mediated neuroprotection. *Int J Dev Neurosci* 2008; 26: 103-11.
12. Ehrenreich H, Aust C, Krampe H, et al. Erythropoietin: novel approaches to neuroprotection in human brain disease. *Metab Brain Dis* 2004; 19: 195-206.
13. Grow J, Barks JD. Pathogenesis of hypoxic-ischemic cerebral injury in the term infant: current concepts. *Clin Perinatol* 2002; 29: 585-602.
14. Sirén AL, Knerlich F, Poser W, Gleiter CH, Brück W, Ehrenreich H. Erythropoietin and erythropoietin receptor in human ischemic/hypoxic brain. *Acta Neuropathol* 2001; 101: 271-6.
15. Yu X, Lin CS, Costantini F, Noguchi CT. The human erythropoietin receptor gene rescues erythropoiesis and developmental defects in the erythropoietin receptor null mouse. *Blood* 2001; 98: 475-7.
16. Dame C, Bartmann P, Wolber E, Fahnenstich H, Hofmann D, Fandrey J. Erythropoietin gene expression in different areas of the developing human central nervous system. *Brain Res Dev Brain Res* 2000; 125: 69-74.
17. Matsuda S, Okano M, Yamagishi K, Nagao M, Ueda M, Sasaki R. A novel site of erythropoietin production. Oxygen-dependent production in cultured rat astrocytes. *J Biol Chem* 1994; 269: 19488-93.
18. 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.
19. Fahnenstich H, Dame C, Allera A, Roskamp R, Kowalewski S. Erythropoietin as a biochemical parameter for fetal hypoxia. *Klin Padiatr* 1995; 207: 326-30.
20. Juul SE, Stallings SA, Christensen RD. Erythropoietin in the cerebrospinal fluid of neonates who sustained CNS injury. *Pediatr Res* 1999; 46: 543-7.
21. Kakuya F, Shirai M, Takase M, et al. Relationship between erythropoietin levels both in cord serum and amniotic fluid at birth and abnormal fetal heart rate records. *Pediatr Int* 2002;44:414-9.
22. Heinze S, Sitka U. Erythropoietin as a marker of perinatal risk. *Z Geburtshilfe Neonatol* 1998; 202: 111-4.
23. Ruth V, Autti-Rämö I, Granström ML, Korkman M, Raivio KO. Prediction of perinatal brain damage by cord plasma vasopressin, erythropoietin, and hypoxanthine values. *J Pediatr* 1988; 113: 880-5.
24. Wen TC, Rogido M, Genetta T, Sola A. Permanent focal cerebral ischemia activates erythropoietin receptor in the neonatal rat brain. *Neurosci Lett* 2004; 355: 165-8.
25. Spandou E, Papoutsopoulou S, Soubasi V, et al. Hypoxia-ischemia affects erythropoietin and erythropoietin receptor expression pattern in the neonatal rat brain. *Brain Res* 2004; 1021: 167-72.
26. Castillo-Meléndez 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.
27. Gonzalez FF, Abel R, Almlı CR, Mu D, Wendland M, Ferriero DM. Erythropoietin sustains cognitive function and brain volume after neonatal stroke. *Dev Neurosci* 2009; 31: 403-11.
28. Bernaudin M, Marti HH, Roussel S, et al. A potential role for erythropoietin in focal permanent cerebral ischemia in mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 1999; 19: 643-51.
29. Kumral A, Ozer E, Yilmaz O, et al. Neuroprotective effect of erythropoietin on hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Biol Neonate* 2003; 83: 224-8.
30. Sun Y, Calvert JW, Zhang JH. Neonatal hypoxia/ischemia is associated with decreased inflammatory mediators after erythropoietin administration. *Stroke* 2005; 36: 1672-8.
31. Brines ML, Ghezzi P, Keenan S, et al. Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 10526-31.