



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

HİPOKSİK İSKEMİK ENSEFALOPATİLİ YENİDOĞANLARDA
PENTRAKSİN-3 VE NÖRONAL PENTRAKSİN-1 DÜZEYLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ
DR. YAĞMUR TÜRKMENOĞLU

TEZ DANIŞMANI
PROF DR. HACER ERGİN

DENİZLİ – 2022



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

HİPOKSİK İSKEMİK ENSEFALOPATİLİ YENİDOĞANLARDA
PENTRAKSİN-3 VE NÖRONAL PENTRAKSİN-1 DÜZEYLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ
DR. YAĞMUR TÜRKMENOĞLU

DANIŞMAN
PROF. DR. HACER ERGİN

DENİZLİ – 2022

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin **24.12.2019** tarih ve **2019TIPF022** nolu kararı ile desteklenmiştir

KABUL VE ONAY

Prof. Dr. Hacer ERGİN danışmanlığında Dr. Yağmur TÜRKMENOĞLU tarafından yapılan “Hipoksik İskemik Ensefalopatili Yenidoğanlarda Pentraksin-3 ve Nöronal Pentraksin-1 Düzeylerinin Değerlendirilmesi” başlıklı tez çalışması 07/07/2022 tarihinde yapılan tez savunma sınavında değerlendirilerek jürimiz tarafından Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Prof. Dr. Hacer ERGİN

ÜYE

Prof. Dr. Özmert M. A. ÖZDEMİR

ÜYE

Doç. Dr. Abdullah Barış Akcan

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

—/—/—

Prof. Dr. Melek Bor KÜÇÜKATAY

Pamukkale Üniversitesi

Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Bilgisi, deneyimleri, yol göstericiliği ile hem eğitimim süresince hem de tezim süresince yanımda olan, birlikte çalışmaktan onur duyduğum, değerli bilim insanı, saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Hacer ERGİN'e,

Uzmanlık eğitimim süresince çok şey öğrendiğim, beraber çalışmaktan gurur ve mutluluk duyduğum, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan başta değerli hocam Prof. Dr. Dolunay GÜRSSES olmak üzere Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda görev yapan diğer tüm saygıdeğer hocalarıma,

Tezimin hazırlık aşamasında desteğini gördüğüm ADÜ Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Çiğdem YENİSEY ve Araştırma Görevlisi Ömer ERDOĞAN'a

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan, hemşire, tıbbi sekreter ve personel arkadaşlarıma,

Vaka desteği sağlayan merkezlerdeki tüm hocalarıma,

Tezimin istatistik aşamasında yardımını gece gündüz esirgemeyen Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Hande ŞENOL'a,

Yaşamımın her döneminde beni destekleyen ve her koşulda yanımda olan canım annem, babam ve kardeşime,

Her anımda olduğu gibi tez yazım aşamasında da sabrını ve desteğini esirgemeyen, her türlü mutluluğu ve sıkıntıyı paylaştığım biricik eşim Yakup Ozan TÜRKMENÖĞLU'na ve neşe kaynağım minik kedilerimize

TEŞEKKÜRLERİMLE....

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

KABUL VE ONAY	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Hipoksik İskemik Ensefalopati	3
2.1.1. Tanımı ve Sıklığı	3
2.1.2. Etiyoloji	4
2.1.3. Patofizyoloji	5
2.1.3.1. Oksidatif Stres	7
2.1.3.2. İntraselüler Kalsiyum (Ca ²⁺) Birikimi	8
2.1.3.3. Mitokondrial Disfonksiyon	9
2.1.3.4. Eksitotoksisite	9

2.1.3.5. İnflamasyon	10
2.1.4. Nöropatoloji ve Klinik Yansımaları.....	11
2.1.4.1. Selektif Nöronal Nekroz	11
2.1.4.2. Parasagittal Hasar	11
2.1.4.3. Status Marmoratus	11
2.1.4.4. Periventriküler Lökomalazi	12
2.1.4.5. Periventriküler - İntraventriküler Kanama	12
2.1.4.6. Fokal veya Multifokal Beyin Hasarı	12
2.1.5. Klinik Prezantasyon	12
2.1.5.1. Term Yenidoğanlarda HİE’de Görülen Bulgular	13
2.1.6. Tanı	13
2.1.6.1. Biyokimyasal Yöntemler	16
2.1.6.2. Nörofizyolojik Yöntemler	16
2.1.6.3. Radyolojik Yöntemler	17
2.1.7. HİE Tedavi	18
2.1.7.1. Terapötik Hipotermi	19
2.1.7.2. Hipoterminin Yan Etkileri	20
2.1.7.2.1. Kardiyovasküler Yan Etkileri	20
2.1.7.2.2. Respiratuar Yan Etkileri	21
2.1.7.2.3. Hematolojik Yan Etkileri	21
2.1.7.2.4. Böbrek ve Elektrolit Balansı Açısından Yan Etkileri	21

2.1.7.2.5. Metabolik ve Endokrinolojik Yan Etkileri	22
2.1.7.2.6. İmmünolojik Yan Etkileri	22
2.1.7.3. Hipotermiden Sonra Yeniden Isıtma Prosedürü	22
2.1.7.4. Terapötik Hipotermi İçin Dışlama Kriterleri	22
2.2. Pentraksinler	23
2.2.1. Pentraksin-3	25
2.2.2. Nöronal Pentraksin-1	26
3. GEREÇ ve YÖNTEM	27
3.1. Çalışmadan Dışlama Kriterleri	29
3.2. Kan Örneklerinin Toplanması	30
3.3. Serum NPTX1 ve PTX3 Düzeylerinin Ölçülmesi	30
3.4. Serum NPTX1 Düzeyi Ölçümünde İzlenen Protokol	30
3.5. Serum PTX3 Düzeyi Ölçümünde İzlenen Protokol	31
3.6. İstatistiksel Değerlendirme	32
3.7. Etik Kurul Onayı ve Maddi Destek	32
4. BULGULAR	33
5. TARTIŞMA	55
6. SONUÇ	74
7. KAYNAKLAR	78
8. EKLER	96

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABR	: İşitsel Beyin Sapı Testi
aEEG	: Amplitüd Entegre Elektroensefalografi
AMPA	: Alfa-Amino-3-Hidroksi-5-Metil-4-İzoksazol Propiyonik Asit
ATP	: Adenosin Trifosfat
BS	: Burst Supresyon
CNV	: Sürekli Normal Voltaj
CRP	: C Reaktif Protein
DNV	: Sürekli Olmayan Normal Voltaj
EMR	: Erken Membran Ruptürü
ES	: Eritrosit Süspansiyonu
FT	: Düz Trase
GluR1	: Glutamat Reseptör-1
Hİ	: Hipoksik-İskemik
HİE	: Hipoksik İskemik Ensefalopati
HT	: Hipotermi
IL-1	: İnterlökin 1
IL-6	: İnterlökin 6
IUGR	: İntrauterin Gelişme Geriliği
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
LV	: Düşük Voltaj
MR	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
NaCl	: Sodyum Klorür
NICHD	: Ulusal Çocuk Sağlığı Ve İnsan Gelişimi Enstitüsü
NMDA	: N-Metil-D-Aspartat
NEK	: Nekrotizan Enterokolit
NE	: Neonatal Ensefalopati
NAD⁺	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NO	: Nitrik Oksit
NPTX	: Nöronal Pentraksin-1
PBV	: Pozitif Basınçlı Ventilasyon
PTX3	: Pentraksin-3
PV-İVK	: Periventriküler - İntraventriküler Kanama
PPHT	: Persistan Pulmoner Hipertansiyon
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
SAP	: Serum Amiloid P Bileşini
TDP	: Taze Donmuş Plazma
TH	: Teröpatik Hipotermi
TNF-A	: Tümör Nekrozis Faktör Alfa
USG	: Ultrason

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1. Uzun ve Kısa Pentraksinler	23
Şekil 2. aEEG görüntülerinin sınıflaması	29
Şekil 3. HİE ve Kontrol gruplarının Apgar skorları	36
Şekil 4. Kontrol ve HİE gruplarının kord / 1.saat kan gazı pH düzeyleri	41
Şekil 5. Kontrol ve HİE gruplarının kord /1.saat kan gazı baz defisiti düzeyleri	42
Şekil 6. Kontrol ve HİE gruplarının hipotermi öncesi laktat düzeyleri	42
Şekil 7. HİE Grubu'nun hipotermi öncesi lökosit düzeyleri	43
Şekil 8. HİE Grubu'nun zamana göre aEEG sonuçları.....	44
Şekil 9. HİE-2 ve HİE-3 gruplarında zamana göre aEEG'de patoloji sıklığı	45
Şekil 10. Kontrol ve HİE gruplarının işitme sonuçları	46
Şekil 11. HİE Grubu'nun kranial MR sonuçları	48
Şekil 12. Kontrol ve HİE gruplarının PTX3 düzeyleri.....	50
Şekil 13. Kontrol ve HİE gruplarının NPTX1 düzeyleri	51

TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1. Perinatal asfiksi risk faktörleri	5
Tablo 2. Perinatal asfiksini sistemik komplikasyonları	13
Tablo 3. HİE Sarnat & Sarnat evreleme sistemi	15
Tablo 4. HİE Thompson skoru	16
Tablo 5. HİE’de aEEG paternleri	17
Tablo 6. Kontrol ve HİE gruplarının demografik özelliklerinin karşılaştırılması.....	34
Tablo 7. Kontrol ve HİE gruplarının anne özellikleri	35
Tablo 8. Kontrol ve HİE gruplarının doğumdaki özellikleri	37
Tablo 9. HİE Grubu’na uygulanan hipotermi tedavisi	38
Tablo 10. HİE Grubu’nda eşlik eden semptom ve bulgular.....	39
Tablo 11. HİE Grubu’na uygulanan destek tedavileri.....	39
Tablo 12. Kontrol ve HİE Gruplarının laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması	40
Tablo 13. HİE Grubunun laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması	41
Tablo 14. HİE Grubu’nun aEEG sonuçları	44
Tablo 15. Kontrol ve HİE gruplarının işitme testi sonuçları	45
Tablo 16. HİE Grubu’nun kranial MR sonuçları	46
Tablo 17. Kranial MR patolojisini etkileyen faktörler	47
Tablo 18. Kontrol ve HİE gruplarının PTX3 sonuçları	49

Tablo 19. Kontrol ve HİE gruplarının NPTX1 sonuçları	50
Tablo 20. Pentraksin-3 düzeyini etkileyen faktörler.....	52
Tablo 21. Nöronal Pentraksin-1 düzeyini etkileyen faktörler.....	53
Tablo 22. Kranial MR patolojisini öngören faktörlerin değerlendirilmesi	54

ÖZET

Giriş: Hipoksik iskemik ensefalopati (HİE), yenidoğan morbidite ve mortalitesinin önemli bir nedenidir. Bu çalışmada magnetik rezonans (MR) görüntülemeye patoloji öngörüsünde klinik, laboratuvar bulguları, lokal inflamasyon belirteci pentraksin-3 (PTX3) ve pro-apoptotik nöronal pentraksin-1 (NPTX1)'in yeri araştırıldı.

Yöntem: Bu prospektif çok merkezli çalışmaya 2020-2021 yıllarında asfiktik doğan ve HİE saptanan, gebelik yaşı \geq 36 hafta, doğum ağırlığı $>$ 1800gr bebekler alındı. Hastaların demografik verileri, maternal özellikleri, klinik ve laboratuvar bulguları kaydedildi. Hastalar modifiye Sarnat skorlamasına hafif (HİE-1), orta (HİE-2), ağır (HİE-3) HİE olarak sınıflandırıldı; HİE-2 ve HİE-3 hastalara hafif hipotermi uygulandı. Hastaların ilk 6 saatten itibaren kaydedilen aEEG, 5-7. günlerde çekilen kranial MR, taburculukta yapılan işitme testi sonuçları, kord/ilk 6 saat, 72-96 saat, 3.ay serum PTX3, NPTX1 düzeyleri değerlendirildi.

Bulgular: Asfiksi (n:144, HİE-1 n:33, HİE-2 n:80, HİE-3 n:31) ve kontrol (n:30) gruplarında sırasıyla gebelik yaşı ($38,5\pm 1,5$, $38,5\pm 1,1$ hf), doğum ağırlığı (3163 ± 529 , 3370 ± 517 gr), cinsiyet (kız, %42, %47) farksızken ($p>0,05$); kontrol grubunda sezaryen doğum (%43, %90, $p<0,001$) yüksek, asfiksi grubunda 1.dk ($4,2\pm 2,0$, $9,0\pm 0,4$), 5.dk ($6,4\pm 2,0$, $9,9\pm 0,3$) Apgar skorları, kord pH ($6,99\pm 0,17$, $7,34\pm 0,04$) düşük, baz defisiti ($15,1\pm 5,7$, $3,27\pm 1,7$), laktat ($11,0\pm 11,3$, $1,9\pm 0,6$) yüksekti ($p<0,001$). Olguların %18'ine ileri resusitasyon uygulandı; %36,8'inde konvülsiyon görüldü. Hastaların %80'i aEEG, %84'ü kranial MR, %98,6'sı ABR ile izlendi; %58,2'sinde aEEG'de, %24,8'inde MR'da, %25,3'ünde ABR'de patoloji saptandı. HİE-3'de aEEG (%93), MR (%46,1) ve ABR (%65,5) patolojisi en yüksekti. MR patolojisi sıklığı, HİE-1'de (%21) HİE-2 (%18,4) ve HİE-3 (%46,1) ile benzer ($p>0,05$) iken, HİE-3'de, HİE-2'e göre belirgin yüksekti ($p=0,005$). MR patolojisini öngörü duyarlılık/seçicilik oranları laktat $\geq 8,8$ mmol/L için %70 / %59, HİE-3 için %40 / %84,6, aEEG'de ≥ 48 saat patoloji varlığı için %51,8 / %70,6, nöbet için %63,3 / %67, lökosit $\geq 22.120/mm^3$ için %60 / %69,2 idi.

Hipotermiden önce NPTX1 düzeyleri (pg/ml), kontrol ve HİE gruplarında ($0,57\pm 1,01$, $0,69\pm 0,7$, $p=0,19$) farksız iken; hipotermi alanlarda almayanlardan ($0,7\pm 0,77$, $0,65\pm 0,34$, $p=0,05$) yüksekti. PTX3 düzeyleri (pg/ml) HİE grubunda kontrol grubundan ($0,99\pm 0,87$, $0,24\pm 0,02$, $p=0,0001$), HİE-3'de HİE-2'den ($1,48\pm 1,01$, $0,8\pm 0,73$, $p=0,001$) yüksekti. Hipotermiden sonra NPTX1 düzeyleri HİE-3'de HİE-2'den yüksekti ($0,75\pm 0,49$, $0,71\pm 1,24$, $p=0,006$). PTX3 düzeyleri HİE-3'de ($1,26\pm 0,94$), HİE-1 ($0,77\pm 0,85$, $p=0,003$) ve HİE-2'den ($0,55\pm 0,4$, $p=0,0001$) yüksekti. NPTX1 ve PTX3 düzeyleri 3. ayda farksızdı ($p>0,05$). Kaybedilen iki hastada PTX3 düzeyleri kontrol grubu ile benzerdi. PTX3 ve NPTX1 düzeylerinin MR patolojisini öngörmeye yetersiz olduğu görüldü.

Sonuç: İlk altı saatte hafif HİE tanısı alan ve hipotermi uygulanmayan bebeklerde kranial MR'da patoloji sıklığı orta ve ağır HİE'li bebeklerle benzer olduğundan, bu bebeklerde terapötik hipotermi gereksinimi ve etkinliğini araştıran yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Lokal inflamasyon belirteci PTX3 düzeylerinin hastalık şiddetine paralel artması, kaybedilen hastalarda düşük olması, MR patolojisini öngörmemesi, HİE'de koruyucu etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: hipoksik iskemik ensefalopati, yenidoğan, aEEG, kranial MR, pentraksin-3, nöronal pentraksin-1

ABSTRACT

Evaluation of Pentraxin-3 and Neuronal Pentraxin-1 Levels in Newborns with Hypoxic Ischemic Encephalopathy

Aim: Hypoxic ischemic encephalopathy (HIE) is an important cause of neonatal morbidity and mortality. In this study, the role of clinical and laboratory findings, local inflammation marker pentraxin-3 (PTX3) and pro-apoptotic neuronal pentraxin-1 (NPTX1) were investigated in the prediction of pathology in magnetic resonance (MR) imaging.

Materials and Methods: In this prospective multicenter study, babies born asphyxia in 2020-2021 and diagnosed with HIE, gestational age ≥ 36 weeks, and birth weight >1800 gr were included. Demographic data, maternal characteristics, clinical and laboratory findings of the patients were recorded. Patients were classified as mild (HIE-1), moderate (HIE-2), severe (HIE-3) HIE according to the modified Sarnat scoring; Mild hypothermia was applied to HIE-2 and HIE-3 patients. Patients aEEG recordings (from the first 6 hours of life), Cranial MRI findings (taken on 5-7. days), hearing test results at discharge, cord/first 6 hours, 72-96 hours, 3rd month serum PTX3, NPTX1 levels were evaluated.

Results: While gestational age ($38,5\pm 1,5$, $38,5\pm 1,1$ week), birth weight (3163 ± 529 , 3370 ± 517 g) and gender (female, 42%, 47%) were indifferent ($p>0,05$) in the asphyxia (n:144, HIE-1 n:33, HIE-2 n:80, HIE-3 n:31) and control (n:30) groups respectively; cesarean section was higher in the control group (43%, 90%, $p<0.001$), 1st minute ($4,2\pm 2,0$, $9,0\pm 0,4$), 5th minute ($6,4\pm 2,0$, $9,9\pm 0,3$) Apgar scores, cord pH ($6,99\pm 0,17$, $7,34\pm 0,04$) low, base deficit ($15,1\pm 5,7$, $3,27\pm 1,7$), lactate ($11,0\pm 11,3$, $1,9\pm 0,6$) was high in the asphyxia group ($p<0.001$).

Advanced resuscitation was performed in 18% of the cases; Convulsions were seen in 36,8% of them. 80% of the patients were followed up with aEEG, 84% with cranial MR, 98,6% with ABR; Pathology was detected in aEEG in 58,2%, MRI in 24,8%, and ABR in 25,3%. In HIE-3, aEEG (93%), MR (46,1%) and ABR (65,5%) pathology were the highest. While the frequency of MR pathology was

similar in HIE-1 (21%) with HIE-2 (18,4%) and HIE-3 (46,1%) ($p>0,05$), in HIE-3 it was significantly higher than HIE-2 ($p=0,005$).

Sensitivity/selectivity for predicting MR pathology 70% / 59% for lactate $\geq 8,8$ mmol/L, 40% / 84,6% for HIE-3, 51,8% / 70,6% for the presence of pathology ≥ 48 hours in aEEG, 63,3% / 67% for seizures and 60% / 69,2% for leukocytes $\geq 22.120/mm^3$.

While NPTX1 levels (pg/ml) before hypothermia were indifferent in the control and HIE groups ($0,57\pm 1,01$, $0,69\pm 0,7$, $p=0,19$); those who did not receive hypothermia ($0,7\pm 0,77$, $0,65\pm 0,34$, $p=0,05$) were higher. PTX3 levels (pg/ml) were higher in HIE group compared to control group ($0,99\pm 0,87$, $0,24\pm 0,02$, $p=0,0001$), and HIE-3 than HIE-2 ($1,48\pm 1,01$, $0,8\pm 0,73$, $p=0,001$). After hypothermia, NPTX1 levels were higher in HIE-3 than HIE-2 ($0,75\pm 0,49$, $0,71\pm 1,24$, $p=0,006$). PTX3 levels were higher in HIE-3 ($1,26\pm 0,94$) than HIE-1 ($0,77\pm 0,85$, $p=0,003$) and HIE-2 ($0,55\pm 0,4$, $p=0,0001$). NPTX1 and PTX3 levels were indifferent at 3 months ($p>0,05$). PTX3 levels in the two patients who died were similar to the control group. PTX3 and NPTX1 levels were found to be insufficient to predict MR pathology.

Conclusion: Since the frequency of pathology on cranial MR in infants who were diagnosed with mild HIE in the first six hours and did not undergo hypothermia was similar to infants with moderate and severe HIE, there is a need for new studies investigating the need and effectiveness of therapeutic hypothermia in these infants. The fact that the levels of local inflammation marker PTX3 increase in parallel with the severity of the disease, are low in deceased patients and do not predict MR pathology, suggest that it may have a protective effect in HIE.

Key words: Neonatal hypoxic ischemic encephalopathy, amplitude-integrated electroencephalography, magnetic resonance imaging, pentraxin-3, neuronal pentraxin-1

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hipoksik iskemik ensefalopati (HİE), hipoksik-antenatal/perinatal olaylar sonucu beyne yeterli oksijen gitmemesine bağlı serebral fonksiyonun bozulması olup; neonatal mortalitenin, yaşayanlarda serebral palsy, mental gerilik, epilepsi ve nörogelişimsel bozuklukların önde gelen nedenlerindedir (1). HİE'nin, 1000 canlı doğumda görülme sıklığı yüksek ve orta gelirli ülkelerde 1,3–1,9, düşük gelirli ülkelerde 8,5(2, 3), ülkemizde 2,6, yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda 12 olarak bildirilmiştir (4).

Yaşamın ilk altı saati içinde başlanan terapötik hipotermi, orta ve ağır HİE'li term yenidoğanlarda mortalite ve morbiditeye etkisi kanıtlanmış tek tedavi seçeneğidir(5). Hipoksik iskemik olayın tam zamanlamasını kestirmek mümkün olmayabileceğinden; HİE'li bebeklerin erken tanımlanması ve terapötik pencere kaçırılmadan hipoterminin derhal başlanması gereklidir. Ancak, hipotermi tedavisinin bazı hastalarda kalıcı organ hasarını, nöronal doku kaybını engelleyememesi (6), nörolojik hasarı öngören belirteçlerin araştırılmasını gündeme getirmiştir.

Hipoksik iskemik hasarın ve prognozun erken tahmini için klinik evreleme (Sarnat Evrelemesi, Thompson Skoru), nörofizyolojik testler (EEG, aEEG), gelişmiş nörogörüntüleme yöntemleri (MR, MRS) ve çeşitli biyokimyasal biyobelirteçler (beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), nöron spesifik enolaz (NSE), kreatin kinaz (CK), laktat dehidrojenaz (LDH), süperoksit dismutaz (SOD), ksantin oksidaz (XO), laktat) kullanılmış olsa da hiçbiri optimal test olarak önerilemez (7-11).

Serebral hipoksi-iskemi (HI)'ye bağlı nöronal hasar, glutamat reseptörlerinin NMDA ve AMPA alt tiplerinin aşırı uyarılması, oksidatif stres ve apoptotik hücre ölümünün intrinsik programının aktivasyonu ile karakterizedir (12-14). Hipoksik-iskemik stres altında indüklenen ve nöronal ölüm programını başlatan proteinlerden biri olan Nöronal Pentraksin-1 (NPTX1)'in (12), ağırlıklı olarak hipokampus, beyincik ve serebral korteks nöronlarında eksprese olduğu, hem sinaptik remodeling hem de nöronal apoptozda rol oynadığı (13-15) bilinmekte ve hipoksik-iskemik beyin hasarında yeni bir mediyatör olabileceği düşünülmektedir (13).

Pentraksin ailesinin bir diğer üyesi olan ve direk hasarlı dokudaki immün sistem hücreleri ve endotelde sentezlenen Pentraksin-3 (PTX3)'ün, inflamasyonun gerçek bağımsız bir göstergesi olduğu, vasküler yapının inflamatuvar durumunu doğrudan yansıttığı ve pro-/anti-inflamatuvar dengede temel rolü olduğu (16, 17); akut reperfüzyonla ilişkili inflamasyon, doku hasarı ve mortalitenin belirlenmesinde yeni bir biyobelirteç olabileceği ileri sürülmektedir (18-21).

Bu çalışmada HİE'li yenidoğanlarda, tanı ve nörolojik hasarın erken tahmininde, klinik evreleme, aEEG ve MR'ın yanı sıra ilk defa lokal inflamasyon belirteci PTX3 ve pro-apoptotik etkili NPTX1'in öngörü değerinin araştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hipoksik İskemik Ensefalopati

2.1.1. Tanımı ve Sıklığı

Hipoksi ve anoksi bir / birkaç organda oksijen eksikliği veya yokluğu; hipoksemi kanda oksijen miktarının azalması; iskemi ise hücre veya organlara giden kan akımının hayati fonksiyonları sürdürmekte yetersiz kalması olarak tanımlanır. Perinatal asfiksi latince "nabızsızlık" anlamına gelen asfiksinin özel bir formudur. Plesantal veya pulmoner gaz değişiminin bozukluğuna bağlı olarak, fetus veya yenidoğanda hipoksemi, hiperkapni ve asidozu kapsayan klinik tablodur (22). Neonatal ensefalopati (NE), anormal nörolojik fonksiyon ile ortaya çıkan ve term ve geç preterm yenidoğanlarda solunumu sürdürmede güçlük, aktivite ve bilinç düzeyinde, motor tonusta azalma, ilkel reflekslerin devam etmesi ve nöbetlerle karakterize klinik bir sendromdur (23). Hipoksik iskemik ensefalopati (HİE), hipoksik-antenatal/perinatal olaylar sonucu beyne yeterli oksijen gitmemesine bağlı serebral fonksiyonun bozulması olup; neonatal ensefalopatinin en sık nedenidir(24).

Gelişmiş ülkelerde HİE insidansı bin canlı doğumda 0,5-1,0, bazı kaynaklarda bin canlı doğumda 8 olarak bildirilmiştir (5, 25). Düşük/orta gelirli ülkelerde, HİE insidansı yüksek olup, yılda 1,1 milyondan fazla bebeği etkilemektedir (26-28). Türk Neonatoloji Derneği 2008 verilerine göre HİE bin canlı doğumda 2,6 sıklıkta, yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda bin canlı doğumda 12 sıklıkta görülmektedir (4). Türkmen ve ark.nın çalışmasında (2009) HİE sıklığı Aydın'da bin canlı doğumda 15, yenidoğan yoğunbakım ünitesinde yatan hastalarda 35 olarak bildirilmiştir (29). Bilgin ve ark.nın çalışmasında (2011) yenidoğan yoğunbakım ünitesinde yatan hastalarda HİE sıklığı bin canlı doğumda 61 olarak saptanmıştır (30).

HİE hayatın ilk haftasında görülen ölümlerin ana nedenidir (4). Sağlık Bakanlığı verilerine göre ülkemizde doğan her bin bebekten 1'i asfiksi nedeniyle kaybedilmektedir (4). Günümüzde etkin kardiyopulmoner canlandırma, gelişmiş

ventilasyon teknikleri ve uygun bebek bakımı uygulamalarına rağmen, etkilenmiş bebeklerin %15-20'si doğumdan sonra kaybedilmekte, %25'inde ise serebral palsy, epilepsi, görme bozuklukları, mental retardasyon gelişmektedir (31).

2.1.2. Etiyoloji

Maternal veya fetal risk faktörlerine bağlı olarak ortaya çıkan hipoksi beyin kan akımının azalmasına ve iskemiye neden olmaktadır (32). Perinatal asfiksi antenatal, natal veya postnatal dönemde gelişebilirse de, %90'ı antepartum ve intrapartum dönemde gelişmektedir. Asfiktik bebeklerde yapılan bir çalışmada asfiksisinin antepartum, intrapartum ve postpartum dönemde görülme sıklığı %51, %40 ve %9 olarak bildirilmiştir. Perinatal ölümleri inceleyen bir çalışmada asfiksisinin %10'unun antepartum, %40'ının antepartum ve intrapartum, %16'sının intrapartum, %34'ünün ise neonatal dönemde ortaya çıktığı saptanmıştır (33).

Antepartum risk faktörlerinden fetal nedenler düşük doğum ağırlığı, prematürite, intrauterin enfeksiyonlar, fetal anemi, fetal kalp ritm bozuklukları, maternal nedenler sosyoekonomik düzeyin düşüklüğü, ailede nöbet veya nörolojik hastalık öyküsü, infertilite tedavisini takiben gebelik, kötü beslenme, multiparite, hipoksiye yol açabilecek derin anemi, preeklampsi/eklampsi, nörolojik, pulmoner, tiroid ve kardiyovasküler hastalıklar, diabetes mellitus, enfeksiyonlar, plasentanın anormal yerleşimi ve postmaturite olarak gösterilebilir.

İnapartum nedenler uzamış travay, kordon patolojileri (sarkması, dolanması, düğümlenmesi veya dıştan bası), ablasyo plasenta, plasenta previa, plasenta infarktüsleri, maternal kanamadır. Anestezi süresince gelişen hipovekilasyon sonucunda annede kan oksijenizasyonu yetersizliği, siyanotik doğumsal kalp hastalıkları, solunum yetmezliği veya CO₂ maruziyeti fetal hipoksinin nedenleridir. Maternal hipotansiyon, spinal anestezi veya büyüyen uterusun vena kava/aortaya basısı sonucunda gelişir.

Postpartum nedenler ise neonatal ciddi anemi, kanama, hemolitik hastalık, ağır pulmoner hastalıklar; tekrarlayan apne, konjenital kalp hastalıkları, kardiyovasküler kollapsla seyreden sepsis olarak bildirilmektedir (33)(Tablo 1).

Tablo 1. Perinatal asfiksi risk faktörleri (33)

Antepartum - Fetal Nedenler	Antepartum - Maternal Nedenler	İntrapartum Nedenler	Postpartum Nedenler
Düşük Doğum Ağırlığı ve Prematürite	Sosyoekonomik Düzeyin Düşüklüğü	Uzamış Travay	Ciddi Anemi
Fetal Enfeksiyonlar	Ailede Nöbet veya Nörolojik Hastalık Hikâyesi	Kordon Sarkması, Dolanması, Düğümlenmesi Veya Korda Dıştan Bası	Ciddi Kanama
Fetal Anemi	İnfertilite Tedavisi Sonrası Gebelik	Ablasyo Plasenta	Hemolitik Hastalık,
Fetal Kalp Ritm Bozuklukları	Kötü Beslenme	Plasenta Previa	Ağır Pulmoner Hastalıklar
	Multiparite	Plasenta İnfarktüsleri	Tekrarlayan Apneler
	Derin Anemi	Maternal Kanama	Konjenital Kalp Hastalıkları
	Preeklampsi/Eklampsi		Kardiovasküler Kollapsla Seyreden Sepsis
	Annede Hipoksiye Neden Olabilecek Nörolojik, Pulmoner, Tiroid ve Kardiovasküler Hastalıklar		
	Maternal Diabetes Mellitus		
	Maternal Enfeksiyonlar		
	Plasentanın Anormal Yerleşimi Ve Postmatürite		

2.1.3. Patofizyoloji

Doğum eylemi sırasında uterus kasılması ile her bebek geçici bir hipoksemi, hiperkapni, respiratuvar ve metabolik asidozdan oluşan hafif asfiksi epizodu yaşamaktadır. Ancak sağlıklı fetus bunu tolere edebilmektedir. Doğum eylemi sırasında asfiksi oluşturacak beş temel mekanizma mevcuttur: a) Umbilikal kordun sıkışmasına bağlı fetüse giden kan akımının bozulması, b) Plasentada gaz alışverişinin bozulması, c) Maternal hipotansiyon/hipertansiyona bağlı plasentanın yetersiz perfüzyonu, d) Maternal oksijenizasyonun bozulması (kardiyak problemler, derin anemi), e) Persistan fetal dolaşım (34).

Perinatal asfikside esas sorun dokulara kan akımının (iskemi) ve oksijen sunumunun (hipoksemi) azalmasıdır. Asfiksiye ilk yanıt, kardiyak outputu artırarak, tüm organlara giden kan akımını arttırmaktır, ancak hipoksiye neden olan olay ciddi

ve hipoksi ağır ise periferik damarlarda vazokonstriksiyon, kalp ve beyinde vazodilatasyon oluşturularak kanın öncelikle hayati organlara ulaştırılması sağlanır (redistribüsyon). Kısa süreli hipoksilerde bu mekanizma ile organ ve doku hasarı engellenebilir; ancak hipoksik / iskemik olay ciddi ve uzun süreli ise sistemik hipotansiyon gelişeceğinden serebral kan akımı azalır ve beyin hasarı gerçekleşir. Ayrıca yenidoğan beyninin otoregülatör mekanizmasının olgunlaşmamış olması ve normal yenidoğan serebral kan basıncının alt sınıra yakın olması da yenidoğanın kan basıncı düşüklüklerinden daha kolay etkilenmesine neden olmaktadır (33).

HİE gelişiminde üç farklı evreyi tanımlamak mümkündür (35). Hücre ölümünün ilk fazı (primer nöron ölümü), hipoksik-iskemik (Hİ) olay esnasında primer enerji yetmezliğine bağlı olarak oksidatif metabolizma yetmezliği, sitotoksik ödem ve eksitotoksinlerin birikmesi ile sonuçlanır (36). Serebral dolaşımın yeniden sağlanmasından sonra yaklaşık altı saat süren ikinci (latent) faz başlar. Hİ hasardan 6-15 saat sonra, ensefalopati ve nöbet aktivitesi artışı ile ilişkili sekonder enerji yetmezliği (gecikmiş nöron ölümü) fazı meydana gelir. Bu fazda yer alan mekanizmalar eksitotoksisite, apoptoz ve mikroglyal aktivasyonu içerir (37).

Hipoksik iskeminin primer enerji yetmezliği olarak adlandırılan ilk aşamasında oksijen ve glukozun azalması adenosin trifosfat (ATP) gibi yüksek enerjili fosfatların yetersiz üretimine yol açar. ATP'nin azalması sonucunda hücre membranında bulunan Na^{+2}/K^{+} ATPaz pompasının fonksiyonu bozularak hücre içine Na^{+} , Cl^{-} ve Ca^{++} girişi ve hücreden K^{+} çıkışı gelişir. Bu iyon akışı anoksik depolarizasyonu tetikleyerek akut hücre lizisine sebep olur (36).

Hücre içindeki fazla kalsiyum glutamat salınımını tetikler. ATP'ye bağımlı aktif transport ile geri emilen glutamat, hipoksi durumunda sinaptik aralıktan uzaklaştırılmaz. Glutamat, salınımının artması ve geri alınımının azalması ile sinaptik aralıkta birikir ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörünü aktive eder. Uyarıcı nörotransmitterlerin kontrolsüz salınımı, nöronlara sitoplazmik ve mitokondriyal seviyede zarar veren iskemik kaskadı ve inflamatuvar yanıtı başlatır. Sitoplazmada konsantrasyonu artan Ca^{2+} , reaktif oksijen türleri (ROS) ve sitozolik fosfolipazlar, eikosanoid salınımı ve inflamatuvar kaskadı oluşturan nitrik oksit sentaz ve ksantin oksidazın aktivasyonu dâhil birçok yolak ile nörotoksik kaskadı tetikler (38, 39).

Hipoksik/iskemik olayın ilk fazından sonra, akut zedelenmeyi ve resusitasyonu takiben oksijenasyon ve perfüzyonun sağlanması ile hücrede glukoz kullanımı, ATP seviyeleri ve fosfokreatininin kısmen düzeldiği latent faz gelişir. Soğutma için “terapötik pencere” olarak adlandırılan bu fazın süresi hipoksik hasarın şiddetine bağlı olsa da, 6-12 saatlik bir periyodu kapsadığına inanılmaktadır (40, 41). Oksidatif metabolizmanın endojen inhibisyonu ve doku oksijenasyonunun arttığı bu fazda nörotoksik kaskadın inhibe edildiği düşünülmektedir (42).

Beyin oksijenizasyonuna rağmen, orta-şiddetli hipoksik iskemiden sonra bu geçici iyileşmeyi, yaklaşık altı saat sonra başlayan, gecikmiş, ilerleyici oksidatif metabolizma yetmezliği izler (43). Sekonder enerji yetmezliği olarak adlandırılan bu ikincil bozulmaya gecikmiş nöbetler, ikincil sitotoksik ödem, nöroinflamasyon ve programlanmış hücre ölümü eşlik eder. Hayvan modellerinde, ikincil fazın, hipoksik iskemiye takiben 6-12 saatte başladığı ve birkaç gün sürdüğü gösterilmiştir (39).

Sekonder enerji yetmezliği fazı atlatılsa da, inflamasyon, nöron hasarı ve nöbet duyarlılığında artış, gliozisin sürmesi, oligodendrosit olgunlaşması, miyelinsasyonun bozulması, proliferasyon ve sinaptogenezin değişmesi gibi beyin üzerindeki patolojik süreçler devam edebilir. İlk perinatal hasardan sonra haftalar-yıllar sürebilen bu olaylar “tersiyer faz” terimi altında birleştirilmiştir (44).

HİE patofizyolojisi ana hatlarıyla biri diğeriyle bağlantılı beş başlıkta özetlenebilir: oksidatif stres, hücre içinde Ca^{+2} birikimi, mitokondriyal disfonksiyon, eksitotoksisite ve inflamasyon (45).

2.1.3.1. Oksidatif Stres

Yenidoğan beyninin çoklu doymamış yağ asitleri ve serbest Fe yönünden zengin olması, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzim düzeylerinin düşük olması ve enerjisinin büyük çoğunluğunu oksijen bağımlı mitokondriyal oksidatif fosforilasyondan sağlaması, beyni oksidatif strese -serbest oksijen radikallerine- karşı savunmasız hale getirmektedir(46).

Serbest oksijen radikalleri (SOR: hidroksil radikali, süperoksit radikali, hidrojen peroksit, hipoklorit iyonu, nitrik oksit, peroksinitrit) normalde, süperoksit

dismutaz ve glutatyon peroksidaz tarafından temizlenirken, hipoksik iskemi sırasında, metabolizmadaki duraksama nedeniyle hemen elimine edilemez ve birikir (47). Oksidatif stres ve hipoksik iskemiye sekonder üretilen SOR hücre zarındaki çoklu doymamış yağ asitlerini, hücre iskeletindeki proteinleri, nükleik asitleri okside ederek hücre hasarına ve apoptozise neden olur (47).

HİE'de SOR, mitokondriyal elektron taşıma zinciri, NADPH oksidaz, ksantin oksidaz, araşidonik asit ve nitrik oksit (NO) sentazdan üretilir. NMDA iyon kanallarından hücre içine Ca^{2+} akışı, Ca^{2+} /kalmodulin bağımlı mekanizma yoluyla NO sentaz aktivasyonuna yol açarak NO serbest radikallerinin üretilmesine neden olur. Hipoksi sırasında üretilen NO, apoptotik proteinlerin ekspresyonunu arttırarak ve hücre zarlarını değiştiren, protein ve reseptör aktivitesine müdahale eden ve preapoptotik yolu aktive eden peroksinitrit radikalini açığa çıkararak nörotoksositeye yol açar (46, 48, 49). Ayrıca NO lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu, nükleer membranların nitrasyonu, DNA hasarı ve intranükleer Ca^{2+} artışına neden olur. Tüm bu olumsuz nöronal etkilerden dolayı, NO sentazın inhibisyonu, HİE çalışmalarında nöroproteksiyon için hedef olmuştur (46, 50, 51).

2.1.3.2. İntraselüler Kalsiyum (Ca^{2+}) Birikimi

Fizyolojik şartlarda hücre içinde Ca^{2+} miktarı hücre dışına oranla oldukça düşüktür. NMDA reseptörü hücre içi Ca^{2+} birikiminde ana yollardan biridir. NMDA reseptörleri, nöronlara Ca^{2+} girişini bloke ederek Hİ sonrası nörodejenerasyonu önemli ölçüde azaltır (52). Hİ, anormal kan dolaşımına yol açarak oksijen, glukoz yoksunluğu ve aşırı glutamat salınmasını tetikler. Glutamat, NMDA reseptör kanallarının açılmasını uyararak Ca^{2+} 'nin hücre içine kontrolsüz akışına yol açar (53).

Hücre içinde Ca^{2+} artışı, Ca^{2+} / kalmodulin bağımlı mekanizma yoluyla NO sentazı aktive eder, mitokondriyal disfonksiyonu indükler ve Ca^{2+} bağımlı proteinin aktivasyonu ile nöron ölümüne aracılık eder (54). Mitokondriyal Ca^{2+} artışı, mitokondride geçirgenlik artışına, ROS detoksifikasyonu ve metabolik süreçlerde önemli nikotinamid adenin dinükleotit (NAD^+)'nin kaybına yol açar (55).

2.1.3.3. Mitokondrial Disfonksiyon

Mitokondri, hipoksi-iskemiye maruz kalan hücrelerin kaderini belirlemede merkezi rol oynamaktadır. Mitokondri, oksidatif stres koşullarında oldukça toksik SOR üretebilen çoklu oksidasyon reaksiyonlarını yönetir. Mitokondri hücre içi Ca^{2+} 'in ana tamponudur ve hücre içine Ca^{2+} akışının artması ile fonksiyonu bozulabilir. Mitokondri fonksiyonunun azalması, membran iyon gradyanlarını korumak için gereken enerjinin azalmasına, membran depolarizasyonu ve NMDA reseptör kanalı açılması kısır döngüsüne yol açar (56).

Hipoksik iskemide oluşan SOR fazlalığı nedeniyle elektron taşıma zincirinin işleyişi kesintiye uğrar, böylece mitokondrial serbest radikal üretimi artar. Protein ve lipidlerin oksidatif modifikasyonu, membran depolarizasyonu yoluyla mitokondrial iç zarın geçirgenliğini değiştirerek oksidatif fosforilasyonu bozar ve ATP yetersizliğine yol açar. Bu şiddetli enerji eksikliği, hücre zarı depolarizasyonuna ve Ca^{2+} akışına katkıda bulunur (55). Sonuç olarak mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres, hücre içi Ca^{2+} birikimi ve nöron apoptozisine ve dolayısıyla nörodejenerasyona yol açan mitokondriyal enerji yetmezliği gibi bir dizi ölümcül soruna neden olabilir (38).

2.1.3.4. Eksitotoksisite

Hipoksik iskemik ensefalopatide önemli hasar mekanizmasından biri de eksitotoksisitedir. İlk olarak 1970'lerde kullanılan bir terim olan eksitotoksisite, hücre dışı uyarıcı aminoasit reseptörlerinin aşırı uyarılmasının aracılık ettiği hücre ölümünü ifade eder (57). Çoğu nöron ve glia hücrelerinde bulunan bu reseptörler iyonotropik ve metabotropik olmak üzere ikiye ayrılır. İyonotropik reseptörler kendi içinde N-metil-D-aspartat (NMDA), alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propiyonik asit (AMPA) ve kainik asit reseptörleri olmak üzere üçe ayrılır. İyonotropik reseptörler eksitator etki yaparken, metabotropik reseptörler hem eksitator hem de inhibitör etki yapar. Fizyolojik şartlarda bu reseptörler beyindeki dominant eksitator nörotransmitter olan glutamatın fizyolojik uyarıcı etkilerine aracılık eder. Ancak HI esnasında, yüksek glutamat seviyeleri ve membran depolarizasyonu tarafından aşırı uyarıldıklarından, nöronların içine ölümcül bir Ca^{2+}

akışına yol açar (38). Uzun süreli hipoksiyi takiben, ATP azalması ve iyonik gradyanları koruma yetersizliği nedeniyle hücre homeostazı bozulur. Sinaptik glutamat seviyelerini düşük tutan glial pompaların aktivitesinin azalması sonucunda ekstraselüler alanda, sinaptik alanda glutamat birikir (56). Böylece glutamat eksprese eden nöron ve glial progenitör hücre reseptörlerinin aşırı uyarılması eksitotoksisteye yol açar (45). Perinatal asfiksi modellerinde ekstraselüler glutamatın arttığı, NMDA ve kalsiyum geçirgen AMPA reseptörlerini bloke eden ilaçlarla [dizosilpin (MK-801), dekstrometorfan, ketamin, magnezyum] hipoksik iskemik hasarın önlenebildiği gösterilmiştir (58, 59).

Glutamat reseptörlerinin, özellikle NMDA ve AMPA tiplerinin bölgesel dağılımı nöronal hasarın en önemli belirleyicisidir. Hipoksik iskemik nöron hasarının anatomisi, glutamat sinapslarının anatomisine benzer ve hasarın yeri, derecesi glutamat reseptörlerinin yoğunluğu ile ilişkilidir. Hipoksik iskemik hasarda glutamat reseptörlerinin yoğun olarak bulunduğu bazal gangliyonlar ve talamusun ilk ve daha çok etkilendiği bilinmektedir (60, 61). Sinaptik alanda biriken aşırı glutamatın bir diğer etkisi de, glutamat-sistin antiport sistemini bozarak, glutatyon seviyelerini azaltarak aşırı reaktif oksijen oluşumuna ve geri dönüşümsüz nöron hasarına yol açmasıdır (62).

2.1.3.5. İnflamasyon

Reperfüzyon/reoksijenezasyonu takiben serbest radikal üretimi ve hücre dışı glutamatın artışı, inflamasyonu tetikleyerek makrofaj aktivasyonuna neden olur. Astrositler ve mikroglialının aktivasyonu ile interlökin 1 (IL-1), interlökin 6 (IL-6), tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) gibi proinflamatuvar sitokinler salgılanır (63). Kanda beş gün kadar yüksek konsantrasyonda bulunan bu sitokinler fagositik aktivite ve immünolojik yanıtı sebep olur.

IL-1'in araşidonik asit ve NOS'u arttırdığı kanıtlanmıştır. TNF- α ve IL-1 β 'nin, hasar görmüş beyinde inflamatuvar hücrelerin birikimine yol açtığı; tersine IL-1 reseptör antagonistlerinin enfarktüsün boyutunu azalttığı gösterilmiştir. İleride bu sitokinlerin antagonistlerinin tedavide kullanılabileceği düşünülmektedir (64).

2.1.4. Nöropatoloji ve Klinik Yansımaları

Hipoksi sonrası beyin hasarının patolojik görünümü hasarın yerine, asfiksiye neden olan olayın şiddetine, etyolojik faktörün süresine, beyin maturitesine, beyindeki vasküler bölge ve NMDA reseptör dağılımına bağlıdır (65, 66).

Asfiksiye bağlı nöron hasarının nöropatolojik özellikleri yenidoğanın gestasyonel yaşı ile yakından ilişkilidir. Gebelik yaşı 36 hafta ve üzerindeki term bebeklerde serebral korteks ve subkortikal gri madde hasarı, prematüre bebeklerde periventriküler beyaz madde oligodendroglial /beyaz cevher hasarı ön plandadır (65). Hipoksi sonucunda matür yenidoğanlarda selektif nöronal nekroz, parasagittal serebral hasar, status marmaratus ve fokal veya multifokal iskemik serebral nekroz, prematüre yenidoğanlarda periventriküler lökomalazi, periventriküler hemorajik lezyonlar, selektif nöronal nekroz, fokal veya multifokal iskemik serebral nekroz en sık görülmektedir (67). Merkezi sinir sisteminde en çok etkilenen bölgeler hipokampüsün CA1 ve dentat girus bölgesindeki nöronlar, serebral korteksin derin katmanları, putamen, talamus ve serebellar purkinje hücreleridir. İskemiye takiben nöroprotektif mekanizmalar harekete geçer ve serebral sıcaklık 2-3 °C düşer (68, 69).

2.1.4.1. *Selektif Nöronal Nekroz*

Asfiksiye bağlı nöronal hasarın en sık görülen tipi olup, term yenidoğanlarda daha sık görülmektedir. Korteks, talamus, beyin sapı ve ön boynuz hücrelerinde görülür. Serebral korteks ve talamustaki lezyonlar bilinç düzeyinde azalmaya, serebral korteks, diensefalon ve orta beyin yapılarındaki hasarlar nöbete, korteks, serebellum ve spinal kord hasarları, kas tonusu ve koordinasyon bozukluklarına neden olur. Beyin sapı zedelenmesi ise kliniğe ekstraoküler kas bozuklukları, görme kaybı, solunum ve emme-yutma bozuklukları şeklinde yansır (70).

2.1.4.2. *Parasagittal Hasar*

Parasagittal alanda, ön, orta ve arka serebral arterlerin beslediği serebral korteks ve subkortikal beyaz maddede çoğunlukla bilateral ve simetrik dağılımda infarktlar izlenir. Term yenidoğanlarda daha sıktır. Üst ekstremitede daha belirgin hipotoni ve proksimal güçsüzlük görülür. Prognozu kötüdür (70).

2.1.4.3. Status Marmoratus:

Bazal gangliya ve talamus makroskopik olarak düz, mermer benzeri görünümündedir. Şiddetli perinatal hipoksik-iskemik hasardan yaklaşık 6 ay sonra gelişir. Histolojik incelemede nöronlardan ziyade glial demetlerde anormal miyelinsasyon saptanır (71). Ender bir nekroz tipi olup klinik yansımaları net değildir.

2.1.4.4. Periventriküler Lökomalazi (PVL)

Lateral ventriküllerin dorsal ve laterallerinde beyaz cevherin hipoksik - iskemik nekrozu ve gliozisi gelişir. Çok düşük doğum ağırlıklı (<1500 gr) bebeklerin yaklaşık üçte birinde görülür. Ön, orta ve arka serebral arterlerin meningeal dallarındaki zengin interarteriel bağlantılara bağlı olarak serebral korteks kısmen korunur. Hastaların yaklaşık dörtte birinde periventriküler infarkt alanlarında kanama görülür. Çoğunlukla ciddi intraventriküler kanama ile seyreder (65). Bu hastalarda koreoatetoz, entellektüel bozukluk, spastik dipleji gelişebilir (70).

2.1.4.5. Periventriküler - İnaventriküler Kanama (PV-İVK)

Çoğunlukla prematürelde görülür. Genellikle venöz kaynaklı olup, medüller ve terminal venlerin geniş subependimal germinal matriks hemorajisi ile tıkanması sonucu oluşur (72)

2.1.4.6. Fokal veya Multifokal Beyin Hasarı

Ana serebral arterlerden birinin (fokal) ya da birkaçının oklüzyonu sonucu gelişen iskemik beyin hasarıdır. Matür bebeklerde daha çok fokal, prematürelde daha çok multifokal infarktlar görülür. Hasar, çoğunlukla orta serebral arterin beslediği alana lokalizedir (65, 70). İnfarktlara bağlı kistik kaviter lezyonlar oluşur. Bu lezyonlar yenidoğan döneminde asemptomatik olabildiği gibi fokal konvülsiyonlara ve hemipareziye neden olabilir (73).

2.1.5. Klinik Prezantasyon

Hipoksik iskemik ensefalopatinin klinik bulgularının tanınması erken tedavi başlanması ve prognoz açısından çok önemlidir.

2.1.5.1. Term Yenidoğanlarda HİE’de Görülen Bulgular

Hafif hipotoniden, stupor, koma ve yaygın hipotoniye kadar değişen tonus ve bilinç bozuklukları, reflekslerin azalması veya kaybolması, konvülsiyonlar, anormal solunum paterni, solunum arresti, apne, postür ve hareket bozuklukları, anormal okülomotor ve pupiller cevap, ön fontanelde bombelik saptanabilir.

HİE’de beynin yanı sıra olguların üçte ikisinde en az iki organ etkilenmiştir. Organ hasarı en fazla böbreklerde görülür. Klinik bulguların düzelme derecesi değişkenlik gösterir ve önceden tahmin edilemez. HİE’nin sistemik etkileri Tablo 2’de gösterilmiştir (74)

Tablo 2. Perinatal asfiksini sistemik komplikasyonları (74)

Sistem	Etki
Renal	Akut tübüler nekroz, hematüri, renal ven trombozu veya akut böbrek hasarı
Pulmoner	Solunum yetersizliği ve mekonyum aspirasyonu, fetal distres ve persistan pulmoner hipertansiyon
Kardiyak	Miyokardiyal disfonksiyon, konjestif kalp yetersizliği, aritmi ve hipotansiyon
Hepatik	Karaciğer enzimlerinde, bilirübinde artış, koagülasyon faktörlerinde azalma
Hematolojik	Koagülopati, kemik iliği baskılanması, trombositopeni
Gastrointestinal	Uç-organ perfüzyonunun azalmasına bağlı paralitik ileus, nekrotizan enterokolit (NEK)
Metabolik	Asidoz (laktat artışı), hipoglisemi (hiperinsülinizm), hipokalsemi (artmış fosfat yükü, metabolik asidozun düzeltilmesi) ve hiponatremi/uygunsuz antidiüretik hormon salınımı sendromu

2.1.6. Tanı

Perinatal asfiksi tanısında, antenatal, doğum öyküsü ve nörolojik muayene çok önemlidir. Tanıda MRG ve USG gibi nörogörüntüleme yöntemleri ve EEG, amplitüd entegre ensefalografi (aEEG) gibi nörofizyolojik yöntemlerden de yararlanılmaktadır. Hipoksik iskemik ensefalopati tanısında Amerikan Obstetrik ve Jinekoloji Derneği’nin tanı kriterleri kullanılmaktadır (75).

HİE Tanı Kriterleri

Aşağıdaki bulguların/akut olayların eşlik etmesi

- 1- Apgar skorunun 5. ve 10. dakikada <5 olması
- 2- Fetal umbilikal arter kan gazında pH<7 veya BE< -12 mmol/L olması
- 3- MRI veya MRS'da HİE ile uyumlu beyin hasarının görülmesi
- 4- Çoklu organ yetmezliği veya etkilenmesinin olması

Akut peripartum - intrapartum olayın eşlik etmesi

1. Doğumda uterus rüptürü, ablasyo plasenta, kord prolapsusu, maternal hipotansiyon, amniyon sıvı embolisi, maternal hipoksemi, maternal kardiyovasküler kollaps, vasa previa veya fetomaternal kanama olması
2. Görüntülemelerde tipik bulguların olması, derin gri cevherde zedelenmeler, kortikal hasar saptanması
3. Şu durumların olmaması: anormal fetal büyüme, maternal enfeksiyonlar, fetomaternal kanama, neonatal sepsis, kronik plasental lezyonlar

HİE tanısı kadar şiddetinin belirlenmesi de önemlidir. Hafif HİE genellikle tedavi gerektirmeden kısa zamanda düzelmektedir. Orta derecede HİE'li bebeklerin bir kısmı tedaviden yarar görürken, diğer kısmında önemli sağlık sorunları gelişmektedir (76). Ağır HİE tedaviye rağmen ciddi sağlık sorunlarına ve gelişimsel gecikmeye sebep olmaktadır. Beyin hasarının şiddetini saptamak için skorlama sistemleri geliştirilmiştir. Tablo 3'te ilk kez Sarnat tarafından oluşturulan evreleme sistemi görülmektedir (77).

Tablo 3. HİE Sarnat & Sarnat evreleme sistemi (77)

Bulgu	Evre 1	Evre 2	Evre 3
Bilinç düzeyi	Hiperalert	Letarjik	Stupor, koma
Kas tonusu	Normal	Hipotonik	Flask
Postür	Normal	Fleksiyon	Deserebre
Tendon refleksler/klonus	Hiperaktif	Hiperaktif	Alınamaz
Miyoklonus	Var	Var	Yok
Moro refleksi	Canlı	Zayıf	Alınamaz
Pupiller	Midriyatik	Miyotik	Anizokorik
Nöbetler	Yok	Sık	Deserebrasyon
EEG bulguları	Normal	Düşük voltajdan nöbet aktivitesine kadar değişken	Burst süpresyonu, izoelektrik aktivite
Süre	24 saatten az	1-14 gün	Birkaç gün-hafta
Sonuç	İyi	Değişken	Ölüm veya ağır sekel

Yaygın olarak kullanılan Sarnat evrelendirme sistemi ile HİE'nin derecesi hızlı ve doğru bir şekilde saptanmakta, mortalite oranları ve prognoz hakkında yorum yapılabilmektedir. Mortalite oranı HİE-3'teki bebeklerde en yüksektir (77). Satar ve ark.nın çalışmasında mortalite HİE-2'de %15, HİE-3'te %78,6, toplam mortalite %24,4 saptanmıştır (78). Türk Neonatoloji Derneği'nin çok merkezli çalışmasında ise HİE-1'deki olguların tamamı taburcu olurken, mortalite HİE-2'de % 16,7, HİE-3'de %51,7, toplam mortalite %22,6 olarak bildirilmiştir (29).

Hipoksik iskemik ensefalopati evrelemesi için 1997'de geliştirilen Thompson Ensefalopati Skoru, kolay uygulanmakta ve EEG gerektirmemektedir (79)(Tablo 4).

Tablo 4. HİE Thompson skoru (79)

Belirti	Thompson Skoru			
	0	1	2	3
Tonus	normal	hipertonik	hipotonik	flasit
Bilinç	normal	hiperalert	letarjik	komatöz
Nöbet	yok	<3 günde	>2 günde	
Postür	normal	fisting, çevirme	distal fleksiyon	deserebre
Moro	normal	parsiyel	yok	
Yakalama	normal	az	yok	
Emme	normal	az	yok	
Solunum	normal	hiperventilasyon	apne	solunum desteği
Fontanel	normal	gergin	bombe	

2.1.6.1. Biyokimyasal Yöntemler

HİE'nin varlığını, şiddetini, prognozunu gösterebilen, halen klinikte kullanılan biyokimyasal bir test bulunmamaktadır. Metabolik asidoz, hipokalsemi, hiponatremi, hiperpotasemi, hipoglisemi ve hiperamonyemi gibi bazı biyokimyasal bozukluklar HİE'ye eşlik edebilir. Periferik yayma ile birlikte tam kan sayımı, kan kültürü, glukoz, elektrolitler, kan üre azotu, kreatinin, kardiyak enzimler, laktat dehidrogenaz (LDH) seviyeleri, ürik asit, karaciğer enzimleri, koagülasyon paneli ve kan gazlarına tanı anında bakılmalı ve düzenli izlenmelidir (74).

2.1.6.2. Nörofizyolojik Yöntemler

aEEG, günümüzde asfiktik yenidoğana yaklaşımda en sık kullanılan laboratuvar yöntemi olarak kabul edilebilir. HİE hastalarında nöbetlerin varlığı, ensefalopatinin ciddiyeti, lezyonun lokalizasyonu, hastanın tedaviye cevabı ve prognoz hakkında bilgi sağlar (73, 80)(Tablo 5).

Tablo 5. HİE’de aEEG Paternleri(73)

Hipoksik iskemik ensefalopatide aEEG
1.Sürekli normal voltaj: Alt amplitüdün yaklaşık 7-10 μ V ve üst amplitüdün 10- 25 μ V olduğu sürekli aktivite
2. Sürekli olmayan normal voltaj: Alt amplitüdün her zaman 5 μ V altında ve üst amplitüdün 10 μ V üzerinde olduğu sürekli olmayan zemin aktivite
3. Burst supresyon: Değişken olmayan alt amplitüdün 0-1 (2) μ V ve >25 μ V amplitüdü burstlerin olduğu sürekli olmayan zemin
4. Sürekli aşırı düşük voltaj: Sürekli çok düşük voltajın olduğu zemin paterni ($\leq 5 \mu$ V)
5. Aktivitenin olmadığı, düz çizgi: 5 μ V altında inaktif zemin (izoelektrik çizgi)

2.1.6.3. Radyolojik Yöntemler

1- Kranial Ultrasonografi

Kranial Ultrasonografi, hasta başı uygulanabilmesi, zararsız, güvenilir ve ucuz olması nedeniyle sık tercih edilen bir tanı yöntemidir. Kranial USG, parankim kanaması, ventrikül boyutu, major kranial malformasyonlar, parankimal kistik lezyonlar hakkında fikir verir.

2- Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) ve Difüzyon Ağırlıklı MRG

Konvansiyonel Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG), yenidoğan döneminde HİE’deki lezyonların tanınmasında ve bu hastaların izleminde diğer kranial görüntülemelerden oldukça üstündür. Hem etiyolojiyi aydınlatmada, etkilenmenin derecesini göstermede hem de gelişimsel beyin anomalisi veya infarkt gibi patolojilerin ayırıcı tanısında yardımcıdır; ancak hasarlı alanlar bu yöntemle de 8-12. saatten önce gösterilemez (81).

Difüzyon ağırlıklı MRG, görüntü elde etme süresinin oldukça kısa olması, kontrast madde gereksinimi göstermemesi ve radyasyon içermemesi nedeniyle HİE görüntülenmesinde tercih edilen bir yöntemdir. Beyin maturasyonu, hasar ve beyin perfüzyon değişim ölçümleri yaparak onarım hakkında değerli bilgiler sağlar. Erken dönemdeki iskemik değişikliklerin saptanmasında, konvansiyonel MRG’yi de içeren diğer görüntüleme yöntemlerinden üstündür. Soul ve ark.nın çalışmasında, difüzyon

MR'da 6. saatte iskemik değişikliklerin saptandığı, bulguların 32. saatte daha da belirginleştii gözlenmiştir. Konvansiyonel MR'de ise 6. saatte bulgu saptanmazken, iskemi bulguları ancak 32. saatte ortaya çıkmıştır (82-84).

3- Kranyum Dışı Görüntülemeler

Kardiyak ventriküler fonksiyonu değerlendirmek için ekokardiyografi, uç organ hasarını gösterebilmek için renal ve hepatik ultrasonografi yapılabilir (74).

2.1.7. HİE Tedavi

Hipoksik iskemik hasarın önüne geçilmesinde asıl yöntem asfiksini önlenmesi olsa da, perinatal asfiksi çoğu zaman önlenemez ve öngörülemez şekilde ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle hastalara klinik yaklaşımda, destekleyici bakım ile hasarın artışının önlenmesi ve nöroprotektif tedaviler üzerine odaklanılmaktadır. HİE sonrası uygulanan başlıca destek tedaviler, solunum ve dolaşım desteğinin sağlanması, kan şekeri regülasyonu, nöbetlerin kontrolü ve beyin ödeminin önlenmesidir (74).

Son araştırmalar, HİE'de beyin hasarından sonra gelişen nöron ölümünün iki fazı olduğunu kanıtlamıştır. Ciddi hipoksik hasarı izleyen dönemde, yüksek enerji depolarının kullanımına bağlı olarak meydana gelen nöron ölümü primer nöron ölümü (primer enerji yetmezliği) olarak adlandırılmaktadır. Bunu izleyen 6 saatlik latent dönemden sonra sekonder enerji yetmezliği dönemi başlamakta ve gecikmiş nöron ölümü olarak adlandırılmaktadır (75, 85).

Sekonder enerji yetmezliğinden önceki latent dönem törapatik evre olup; enerji kaybının azaltılması, glutamat salınımının inhibisyonu, glutamat geri alım yetersizliğinin düzeltilmesi, glutamat reseptör blokajı, lökosit / mikroglia / sitokin etkilerinin inhibisyonu ve intraselüler olayların akışının blokajı üzerinden nöroprotektif etki sağlanması hedeflenmektedir (86). Nöroprotektif tedaviler arasında en güvenilir ve izlemde en çok fayda görülen tedavi şekli hipotermi tedavisidir (87, 88).

2.1.7.1. Terapötik Hipotermi

HİE tedavisinde hipotermi'nin klinik kullanımı, 1950'li yıllarda resüsitasyondan sonra asfiktik bebeklerin spontan solunumları başlayana kadar soğuk su dolu küvetlerde tutulması gözlemine dayanmaktadır (89). Geçmişte boğulan ve soğuk su altında 40 dakikaya kadar hipotermik kalan kişilerin resüsitasyondan sonra hayatta kalabildikleri bildirilmiştir (90). İzleyen 30 yıl boyunca kardiyopulmoner resüsitasyondan sonra hastalara 28–30 °C aralığında terapötik hipotermi uygulanmış; ancak yan etkiler, yararın belirsiz olması, tedavi yönetiminde ortaya çıkan sorunlar nedeniyle hipotermi tedavisinden uzaklaşmıştır. Hayvan çalışmalarında 1980'lerin başında, orta veya derin hipotermi yerine hafif (32-35 °C) hipotermi'nin de yararlı olduğu gösterilince, terapötik hipotermiye ilgi yeniden artmış ve asfiktik bebeklerin tedavisinde benimsenerek günümüze kadar gelmiştir (91, 92).

Terapötik hipotermi, serebral metabolizma hızını, serbest radikal üretimini ve eksitör amino asitlerin salınımını azaltıp, apoptozisi yavaşlatarak koruyucu etki göstermektedir (75, 85). Deneysel olarak hipotermi'nin iyon pompalarındaki disfonksiyonu düzelttiği, hücre içine kalsiyum girişini azaltarak nörotoksitesiteyi azalttığı gösterilmiştir (73).

Terapötik hipotermide amaç, 72 saat süre ile vücut sıcaklığının 3–4 derece düşürülerek 32-34 derecede tutulması ve bazal ganglionlar gibi beyin hasara en yatkın dokularında metabolizma hızının düşürülerek nöronların korunmasıdır (93). Terapötik hipotermi iki şekilde uygulanmaktadır: Tüm vücudun soğutulması ya da sadece başın soğutulması. Selektif baş soğutma, dışkulak yolu-orofarenks ısısını 33-33,5°C, fontanel ısısını <30°C tutmayı amaçlayan su sirkülasyonlu bir başlık (Cool Cap) ile uygulanırken; tüm vücut soğutma, rektal ısıyı 34,5-35°C veya 33,5-34°C kadar düşürmeyi amaçlayan su sirkülasyonlu battaniyeler ile uygulanmaktadır (93). Her iki tedavinin de benzer etkinlikte olduğu gösterilmiştir. Ancak uygulama kolaylığı ve EEG monitorizasyonu kolaylığı nedeniyle pek çok merkezde tüm vücut soğutma tercih edilmektedir (94-97).

Hipotermi tedavisinin en etkin olduğu aralık latent evre olduğu için, tedavinin doğumdan sonra en geç 6 saat içinde başlanması, 72 saat sürdürülmesi, ısıtma sırasında konvülsiyon görülürse sürenin 24 saat uzatılması önerilmektedir (87, 98).

Hipotermi tedavisi Amerikan Pediatri Akademisi tarafından belirlenen aşağıdaki kriterlere göre uygulanmaktadır (2014): a) Gebelik yaşı ≥ 36 hafta ve ≤ 6 saatten küçük bebekler, b) Kord kan gazında veya doğumdan sonraki ilk bir saat içerisinde alınan kan gazında $pH \leq 7.00$ ya da $BE \leq -16$ mmol/L olması, c) Apgar skoru 3-10. dakikada < 5 veya devam eden resusitasyon gereksinimi, d) Klinik değerlendirmede orta veya ağır ensefalopati bulgularının saptanması, e) pH ya da BE değeri uygun olmayan bebeklere düşük Apgar skoru ve ensefalopati varlığında tedavi başlanması uygundur (87, 98).

2.1.7.2. Hipoterminin Yan Etkileri

Terapötik hipotermi genellikle iyi tolere edilse de birçok sistem üzerinde kısa süreli yan etkisi olabilmektedir (99). Literatürde $30^{\circ}C$ 'ye kadar derin hipoterminin yenidoğanlarda güvenli olduğu gösterilmiştir (100).

2.1.7.2.1. Kardiyovasküler Yan Etkileri

Hipoterminin kardiyovasküler sistemde en sık görülen yan etkisi sinüs bradikardisidir (5). Kalp atım hızı, sıcaklıktaki her $1^{\circ}C$ değişiklik için 15/dk azalır. $33,5^{\circ}C$ 'de ortalama kalp atım hızı 80-100 atım/dakikadır.

Hipotermi esnasında vücut vazokonstriksiyon yoluyla ısıyı korumaya çalıştığı için sistemik vasküler dirençte artış gözlenir. Bu, hipotermik strese bağlı endojen katekolaminlerin ve kortizolün salınımı ile birleştiğinde, özellikle sedasyon uygulanmayan hastalarda kan basıncını arttırır (101-103). Bir çalışmada, soğutma sırasında kan basıncında medyan 10 mm Hg'lik bir artış ve yeniden ısıtma sırasında 8 mm Hg'lik bir düşüş olduğu bildirilmiştir (104).

Hipotermi sırasında kardiyak outputun azalması ve ekstravasküler alana sıvı geçişi hipovolemi ve hipotansiyona neden olabilir. Bir meta-analizde, hipotermi uygulanan bebeklerde normotermik bebeklere göre kan basıncı arttırıcı ilaç

kullanımında sınırdan anlamlı bir artış saptanmış (5). CoolCaP ve NICHD (Ulusal Çocuk Sağlığı ve İnsan Gelişimi Enstitüsü) araştırmalarında hipotansiyon, inotropik destek ihtiyacı veya hacim resüsitasyonu insidansında fark bulunamamış (105, 106). Genel olarak, hipotermi tedavisi sırasındaki kardiyovasküler değişiklikleri, organ perfüzyonunda önemli bir bozulma kanıtı olmaksızın yenidoğanların iyi tolere ettiği görülmektedir (5, 107).

2.1.7.2.2. Respiratuar Yan Etkileri

Teröpatik hipotermi surfaktan üretimini bozabilir; pulmoner vazokonstriksiyon / pulmoner hipertansiyonun uyarılması oksijenasyonun kötüleşmesine neden olabilir. Hipotermi alan bebeklerde tedavi gerektiren persistan pulmoner hipertansiyon (PPHT) oranı hipotermi almayan bebeklere göre daha yüksek saptanmış(108). TOBY çalışmasını da içeren üç hipotermi çalışmasında hipotermi alan ve almayan bebeklerde PPHT oranı benzer bulunmuştur (109-111).

2.1.7.2.3. Hematolojik Yan Etkileri

Hipotermi alan bebeklerde protrombin ve parsiyel tromboplastin zamanında uzama gösterilse de (108), büyük ölçekli üç hipotermi çalışmasında kanama diyatezi ve kanama komplikasyonları saptanmamış (109-111). Güncel bir meta-analizde, hipotermi alan/almayan hastalarda kanama riski açısından fark saptanmamış; ancak hipotermi alanlarda trombositopeni ve transfüzyon gereksiniminin arttığı, hipotermi süresinin uzamasının kanama riskinde artış ile ilişkili olduğu gösterilmiş (112).

2.1.7.2.4. Böbrek ve Elektrolit Balansı Açısından Yan Etkileri

Hayvan modelleri, hipotermi sırasında böbrek perfüzyonu ve böbrek fonksiyonunda değişiklikler rapor etmesine rağmen, asfiksili yenidoğanlarda hipotermi ile ilgili randomize kontrollü çalışmalarda idrar çıkışı veya kreatinin açısından önemli farklılıklar gösterilmemiştir (5). Potasyum, vücut sıcaklığı düştükçe hücre içine geçer ve hastalar hafif hipokalemi yaşayabilir. Yeniden ısıtma sırasında, bunun tersi gerçekleşir bu sebeple ısıtma sırasında böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastaların hiperkalemi açısından yakın takibi önemlidir. Hipotermi sırasında hipomagnezemi, hipokalsemi ve hipofosfatemi gibi elektrolit bozuklukları

da görülebilir (113, 114). Bugüne kadar yayınlanan yenidoğan randomize kontrollü çalışmalarda önemli elektrolit bozuklukları bildirilmemiştir (5).

2.1.7.2.5. Metabolik ve Endokrinolojik Yan Etkileri

Vücut sıcaklığındaki her 1°C 'lik düşüşle bazal ve serebral metabolik hızın %5-7 oranında azalması, glukoz kullanımının da azalmasına neden olur (115). Hipotermi aynı zamanda insülin sekresyonunun azalmasına ve insülin direncine yol açabilmektedir. Bu durum, hiperglisemiye ve/veya glukoz seviyesini normal aralıkta tutmak için gereken insülin miktarında artışa yol açabilir. Isıtma aşamasında insülin duyarlılığının hızla artması hipoglisemiye yol açabilir. Bu nedenle, ısıtma fazında glukoz seviyeleri sık sık kontrol edilmelidir (116).

2.1.7.2.6. İmmünolojik Yan Etkileri

Hipotermiye sekonder sepsis riskini araştıran beş çalışmanın metanalizinde, hipotermi sırasında / sonrasında bakteriyemi insidansında artış saptanmamış; bu sonucun asfiktik bebeklere rutin antibiyotik başlanması ile ilgili olduğu bildirilmiş (5). Hipotermi, nötrofil salınımı ve fonksiyonunun bozulması, lökosit kemotaksisinin azalması, fagositozun baskılanması, proinflamatuvar sitokin salınımının gecikmesi yoluyla bağışıklık fonksiyonunu etkileyebilir (117-119).

2.1.7.3. Hipotermiden Sonra Yeniden Isıtma Prosedürü

Toplam 72 saat süren hipotermiyi takiben rektal sıcaklık, saatte 0,5°C'yi geçmeyecek bir hızda 36,5–37°C'ye çıkarılarak yaklaşık yedi saatte, daha küçük ve hasta bebeklerde sekiz saatte ısıtma işlemi tamamlanır (120, 121). Bu işlem aktif soğutma durdurulup, inkübatör sıcaklığı saatte 1°C, radyan ısı sıcaklık ayarı saatte 0,5°C artırılarak sağlanır. Isınma evresinde serebral metabolizma hızındaki artışa bağlı nöbet, daralmış periferik vasküler yatağın vazodilatasyonuna bağlı hipotansiyon gelişebilir; bu nedenle kan basıncı ve/veya hacim desteği gerekebilir.

2.1.7.4. Terapötik Hipotermi İçin Dışlama Kriterleri

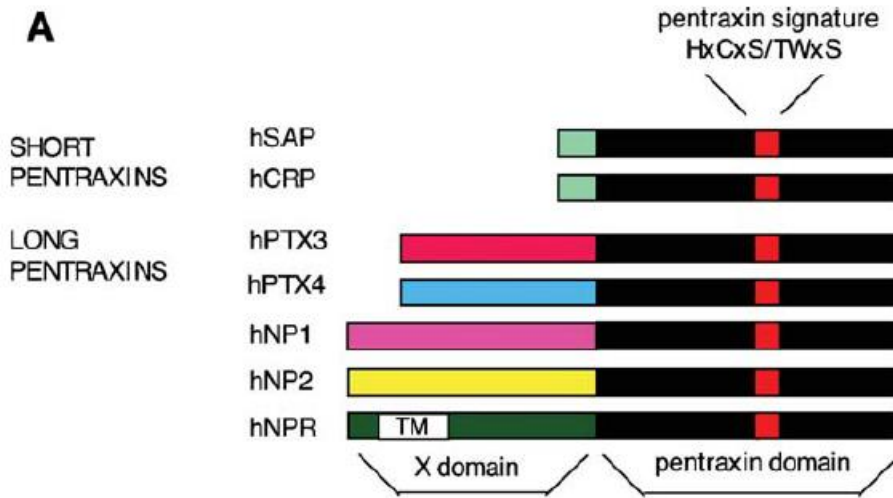
Hipotermi kontrendikasyonları, gebelik yaşının 36 haftadan küçük, doğum ağırlığının 1800 (bazı ünitelerde 2000) gramdan düşük olması, bebeğin postnatal

6. saatini tamamlamış olması, yaşamı tehdit eden solunum ve kardiyovasküler sistem anormallikleri, Trizomi 13, 18 gibi kromozom anomalileri, hayatı tehdit eden koagülopati, aktif kanama varlığı olarak gösterilebilir (99). Subgaleal kanamalı bebeklere ilk stabilizasyondan sonra, imperfore anüs saptanan bebeklere özofagus probu kullanılması şartıyla, PPHT'li bebeklere, hipotermi PPHT'yi kötüleştirmedeği veya indüklemeyeği için tüm vücut soğutma uygulanabilir (120).

2.2. Pentraksinler

Pentraksinler, 1930 yılında at nalı yengesinde (*Limulus polyphemus*) farklı formları keşfedilen multifonksiyonel multimerik glikoproteinlerdir. Yıllar önce keşfedilmesine rağmen, fonksiyonlarının anlaşılması 1990'lı yılları bulmuştur (122). Pentraksin terimi Yunanca "Penta" (beş) ve "Ragos" (meyveler) kelimelerinden köken alır (123). Yapı olarak siklik pentamerlerden oluşan pentraksin ailesi; karboksi terminal bölgesindeki sekiz aminoasit uzunluğunda "Pentraksin domain", kalsiyuma bağımlı ligand bağlama ve baklagil lektinlerine benzer farklı bir düzleştirilmiş β -jellyroll yapısıyla karakterizedir (124).

Pentraksin ailesi, proteinin primer yapısına göre kısa ve uzun pentraksinler olarak ikiye ayrılır. Uzun pentraksinler C terminaline bağlanmış ilişkisiz N terminalinin varlığı ile kısa pentraksinlerden ayrılmaktadır (125)(Şekil 1).



Şekil 1. Uzun ve Kısa Pentraksinler (125)

Kısa pentraksinler: C Reaktif Protein (CRP), Serum Amiloid P Bileşini (SAP)

Uzun pentraksinler: Nöronal Pentraksin Reseptörü (NPTXR), Nöronal Pentraksin-1 (NPTX1), Nöronal Pentraksin-2 (NPTX2), Pentraksin-3 (PTX3), Pentraksin-4 (PTX4)

Kısa pentraksinler, pentamerik simetriyle düzenlenmiş 5 veya 10 özdeş alt üniteden oluşan 25 kDa'luk glikoproteinlerdir (126). CRP'nin ultrastrüktürel beş subgruplu yapısı nedeniyle bu proteinlere pentraksin (PTX) adı verilmiştir. Nerdeyse tüm türlerde PTX'lerin karboksi terminal ucunda 200 aminoasitlik PTX domaini bulunmaktadır (127-129).

C Reaktif Protein, pnömokok hücre duvarının C-polisakkaritine bağlanan bir proteinden ismini alır. CRP, beş alt birimden oluşan pentraksin ailesinin ilk keşfedilen (1929) üyesi olup, insan doğal bağışıklık cevabında görev alan 23 kD' luk bir proteindir. Akut faz proteini olarak bilinir. Normal düzeyi 3 mg/L' nin altında, yarılanma ömrü 19 saattir. IL-6, IL-1 β ve TNF α gibi proinflamatuvar sitokinlere yanıt olarak yapımı artar (130). Akut faz yanıtında CRP konsantrasyonu her sekiz saatte iki katına, 36-50 saatte maksimum seviyeye ulaşır. Konsantrasyonunun binlerce kat artabilmesi, hızlıca eski seviyelerine inmesi, diüurnal varyasyon, yaş ve cinsiyet farkı göstermemesi CRP'nin çarpıcı biyolojik özelliklerindedir (131).

Serum Amiloid P Bileşeni, 1965 yılında keşfedilmiştir. Beş ya da 10 alt birimin nonkovalent bağlanmasıyla oluşan bir glikoproteindir; geni 1. kromozomda lokalizedir. Sadece hepatositlerde salgılanan SAP bileşeni, CRP ile %66 aynı yapıya sahiptir. Akut veya kronik inflamasyonlarda CRP'nin aksine serum konsantrasyonları normal sınırlara yakın kalır (132). İnsanlarda akut faz proteini olmamasına rağmen farelerde akut faz proteini olduğu savunulmaktadır (133).

Uzun pentraksinler kısa pentraksinlere göre, gen organizasyonunda, kromozom lokalizasyonunda, ligand tanıma yeteneğinde farklılık gösterebilirler.

2.2.1. Pentraksin-3

Uzun pentraksinlerin en önemli üyesi Pentraksin-3 (PTX3), ilk olarak 1990'lı yılların başında endotel hücrelerinde IL-1 tarafından uyarılan, fibroblastlarda ise TNF ve IL-1 tarafından uyarılan bir protein olarak tanımlanmıştır (134). PTX3, 3. kromozomda q25 bandına lokalize TNF-14 geni tarafından kodlanan, 381 aminoasitten oluşan multimerik yapıda bir glikoproteindir (135).

Yapı ve fonksiyon olarak CRP'ye benzese de, gen organizasyonu ve kromozomal yerleşimi, hücre kaynağı, indükleyici, uyarıcı ve ligand bağlama özellikleri açısından CRP ve SAP'dan farklıdır. Kısa pentraksinler ile 203 aminoasitlik C-terminal bölgesi homolog iken N-terminal bölgesi farklıdır. IL-6 ile uyarılan kısa PTX'lerin aksine PTX3 yapımı lipopolisakkaritler, lipoarabinomannan, dış membran Protein A, IL-1 β ve TNF- α ve toll like reseptör ailesinin diğer agonistleri ile uyarılmaktadır. Ayrıca PTX3 seçilmiş patojenlere, apoptotik hücrelere, hücre dışı matris proteinlerine ve damarsal büyüme faktörüne bağlanmaktadır (136).

PTX3 yapımında myeloid dendritik hücreler, monosit, makrofaj, vasküler endotelial hücreler, düz kas hücreleri, böbrek epitel hücreleri, fibroblast, adiposit, glial hücreler, kumulus ooforus hücreleri, mezengial hücreler ve sinovyal hücreler görev alır. PTX3, primer inflamatuvar sinyallere yanıt olarak vasküler endotelial hücreler ve makrofajları içeren değişik doku ve hücrelerden hızlıca üretilir ve salınır (136). Ayrıca klasik PTX'ler gibi kompleman C1q'ya bağlanarak kompleman yolağını aktive eder; makrofajlar, dendritik hücreler aracılığıyla patojenlerin tanınmasını kolaylaştırır.

Sağlıklı bireylerde PTX3 düzeyleri cinsiyet, yaş, vücut kitle indeksi, lipit profili ve kan şekeri ile ilişkilidir. Normal plazma PTX3 düzeyleri ≤ 2 ng/mL'dir. Birçok patolojik durumda plazma düzeyi hızla yükseldiği için tanı ve prognostik rolü olduğu düşünülmektedir. Serum düzeyi inflamasyonun başlamasından hemen sonra yükselmeye başlamakta, ortalama 7,5 saatte en yüksek değerine ulaşmakta ve 3-5 gün içinde normale dönmektedir. Direk hasarlı doku tarafından salınan PTX3 doğrudan vasküler yapının inflamatuvar durumunu yansıtırken; CRP karaciğerden

salgılanmakta ve lokal inflamasyona sistemik yanıtı göstermektedir (128). PTX3, inflamasyon bölgesinde immün sistem ve endotel hücrelerinde sentezlendiğinden; inflamasyonun gerçek bir göstergesi olduğu; proinflamatuvar / antiinflamatuvar dengenin sağlanmasında temel rolü olduğu ileri sürülmektedir (137, 138).

PTX3, klinikte romatizmal, otoimmün hastalıklar, küçük kan damarlarını tutan vaskülitler, kadınlarda infertilite, preeklampsi, erken membran rüptürü, intraamniyotik enfeksiyonların tanısı, myokard hastalıkları, akut myokard infarktüsü, ateroskleroz, enfeksiyon hastalıkları, hipoksik iskemik beyin hasarı, obezite gibi hastalıklarda takip ve tedaviyi yönlendirmede kullanılmaktadır (139).

2.2.2 Nöronal Pentraksin-1

Nöronal pentraksin (NPTX) ailesinin üyeleri arasında Nöronal Pentraksin Reseptörü (NPR), Nöronal Pentraksin-1 (NPTX1), Nöronal Aktiviteyi Düzenleyen Pentraksin (Narp, Nöronal Pentraksin-2, NPTX2) bulunur. NPTX1 ve Narp %54 özdeş olup, her ikisi de ~200 aminoasitli N-terminal alanı ve C-terminal alanı gibi benzer yapısal özellikleri paylaşır (15-17, 140, 141). Nöronal pentraksinler en çok serebellum ve hipokampusun CA3 bölgesinde saptanmıştır (15).

NPTX1, ilk kez yılan zehirli toksini taipoksin'in kalsiyum bağımlı alımını sağlayan bir rat proteini olarak tanımlanmıştır (16). NPTX1 yalnızca merkezi sinir sisteminde (MSS) eksprese edilirken; NPR ve NPTX2, beyin yanında pankreas, karaciğer, testis, kalp ve iskelet kası gibi dokularda da eksprese edilir (12, 17, 142). NPTX1, düşük nöronal aktivite ile uyarılan apoptotik hücre ölümü kaskadının bir parçasıdır ve olgun nöronlarda apoptotik nörodejenerasyona katkıda bulunur (143).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çok merkezli prospektif çalışmada asfiktik yenidoğanlarda erken serebral komplikasyonları öngörmede klinik, laboratuvar belirteçleri ve lokal inflamasyon belirteci pentraksin-3 (PTX3) ile pro-apoptotik etkili nöronal pentraksin-1 (NPTX1)'in yeri araştırıldı. Çalışma, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Neonatoloji Bilim Dalında yapıldı. Türk Neonatoloji Derneği aracılığıyla, asfiktik yenidoğan takip eden merkezlerden Ekim 2020 – Aralık 2021 tarihleri arasında hasta kabul edildi.

Bu çalışmaya gebelik yaşı ≥ 36 hafta, doğum ağırlığı > 1800 gr olan perinatal asfiksili doğan yenidoğanlar alındı. Perinatal asidemili yenidoğanların saptanmasında kullanılan klinik ve biyokimyasal tarama kriterleri: 1.Kord kanı veya ilk saat içinde alınan kanda $pH < 7.0$ veya baz defisiti ≥ -16 olması, veya 2.akut perinatal olay (nuchal kord, kord prolapsusu, uterus rüptürü, plasenta abduksiyonu, fetal distres) varlığında kan gazının olmaması veya kan gazı olanlarda $pH: 7.01-7.15$, baz defisiti $10-15.9$ olması yanısıra 10. dakika Apgar skorunun ≤ 5 olması veya doğumda başlayan ventilasyon desteğinin en az 10 dakika devam etmesi (144). Bu kriterleri karşılayan yenidoğanlar ilk altı saat içinde neonatoloji uzmanı tarafından muayene edildi. Modifiye Sarnat skorlamasına göre altı kategoriden [bilinç düzeyi, spontan aktivite, postür, tonus, primitif refleksler ve otonomik sinir sistemi fonksiyonları, alt parametrelerine göre (normal, hafif, orta ve ağır) değerlendirilerek] ≥ 3 kategoride orta ve ağır anomali saptananlar orta (HİE-2) ve ağır (HİE-3) HİE, ≥ 1 kategoride herhangi bir şiddette anomali saptanan ancak orta ve ağır HİE kanıtları olmayanlar hafif (HİE-1) HİE (örneğin alert veya hiperalert olan ve uyarıya aşırı, abartılı cevap veren yenidoğanlar) olarak sınıflandırıldı (77, 110).

HİE tanımlanan hastalar ayrıca tonus, bilinç düzeyi, konvülsiyon, postür, Moro, yakalama, emme refleksi, fontanel ve solunum değerlendirmesinden oluşan dokuz nörolojik belirti ve vital parametreyi içeren Thompson skoru ile de değerlendirildi. Total skor 0 (normal) ve 22 (ağır) puandan oluştu (79).

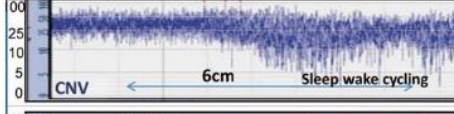
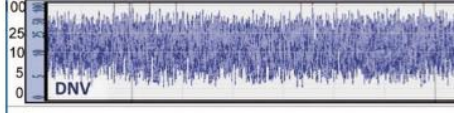
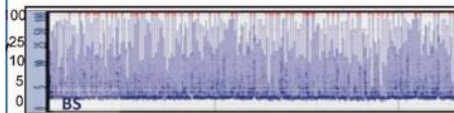


Çalışmaya alınan yenidoğanların demografik verileri, maternal özellikleri, klinik ve laboratuvar bulguları kaydedildi (Ek-1). Hastanın takip edildiği merkez, protokol numarası, adı, cinsiyeti, doğum tarihi, doğum ağırlığı, gebelik yaşı, bebek ve annenin doğum bilgileri (doğum şekli, fetal distres, plasenta previa-ablasiyo, kord düğümlenmesi, uterus rüptürü, kord prolapsusu, postmaturite veya intrauterin gelişme geriliği, amniyon sıvısının mekonyum boyalı olması, uzamış eylem, doğumda forseps-vakum kullanılması, doğumda resüsitasyon uygulanması), demografik özellikleri (anne yaşı, akraba evliliği, gebelik/doğum sayısı, çoğul gebelik, annede preeklampsi / eklampsi, diyabet, erken membran rüptürü (EMR), ilaç öyküsü, bebekte sefal hematoma, ekimoz, intrakranial kanama, mekonyum aspirasyonu, konjenital malformasyon, hipoglisemi, hipokalsemi, hiperkalemi, trombositopeni, koagülasyon parametrelerinde bozulma, apne, nöbet gibi eşlik eden semptom veya hastalıklar) kaydedildi. Apgar skorları 1., 5., 10. dakikada, kord / ilk saat içindeki kan gazı değerleri, koagülasyon parametreleri, tam kan sayımı, CRP, böbrek ve karaciğer fonksiyon testleri, laktat, LDH düzeyleri, hipotermi yapıp yapılmadığı, yapıldı ise süresi, aldığı tedaviler (inotrop, taze donmuş plazma, eritrosit süspansiyonu, afarez trombosit), eşlik eden komorbiditeler (konvülsiyon, koagülopati, bradikardi, trombositopeni) kaydedildi. Klinik değerlendirmede hipotermiden önce ve her altı saatte bir Sarnat ve Thompson skorları kaydedildi.

HİE-2 ve HİE-3 hastalara, tüm merkezlerde Tecotherm Neo (Inspiration Healthcare, UK) (ASTEK Medikal, Türkiye) cihazı ile 72-96 saat hafif hipotermi ($34\pm 0,5\text{ C}^\circ$) uygulandı.

HİE tanısı alan hastaların ilk altı saat içinde aEEG kayıtları alındı ve hipotermi başlangıcından yeniden ısıtma evresine dek (72-96 saat) aEEG (Olympic Brainz Monitor, Natus, USA ve Unique CFM, Inspiration, US) ile izlendi. aEEG kayıtları voltaj trasesi amplitüdüne göre değerlendirilerek günlük olarak hasta bilgi formuna kaydedildi. aEEG trasesi üst amplitüdünün $>10\ \mu\text{V}$, alt amplitüdünün $>5\ \mu\text{V}$ olması normal amplitüd, aEEG üst amplitüdünün $>10\ \mu\text{V}$, alt amplitüdünün $<5\ \mu\text{V}$ olması orta anormal amplitüd, aEEG üst amplitüdünün $<10\ \mu\text{V}$, alt amplitüdünün $<5\ \mu\text{V}$ olması ağır anormal amplitüd olarak değerlendirildi (145, 146)(Şekil 2).

Hastalara 5.-7. günlük iken kranial MR / difüzyon MR çekildi. Kranial MR'lar her merkezde radyologlar tarafından değerlendirildi ve kortikal ve derin gri cevher hasarı, parasagittal serebral korteks, subkortikal beyaz cevher hasarı ve/veya difüzyon MR değerlendirmesinde difüzyon kısıtlılığı veya artışı saptanması patolojik olarak kabul edildi. İzole fokal arteriyel enfarktüs, venöz enfarktüs, izole intraparakimal/ intraventriküler kanama, konjenital beyin malformasyonları HİE patolojisi olarak değerlendirilmedi (75).

Takip esnasında kaybedilen iki hasta dışında tüm hastalara taburculukta işitsel beyin sapı testi (ABR) uygulandı, Her iki kulak işitmeden 'geçti' ise, işitme normal, her iki kulaktan biri veya ikisi işitmeden "kaldı" ise işitme kaybı olarak kabul edildi (147).

Voltaj sınıflaması		Patern sınıflaması
Normal trase alt çizgi 5 mV üzerinde, üst çizgi 10 mV üzerinde		CNV: Sürekli normal voltaj
Orta derecede anormal alt çizgi ≤ 5 mV, üst çizgi > 10 mV		DNV: Sürekli olmayan normal voltaj
		BS: Burst süpresyonu
İleri derecede anormal alt sınır < 5 mV üst sınır < 10 mV		LV: Düşük voltaj
		FT: Düz trase, izoelektrik

Şekil 2. aEEG görüntülerinin sınıflaması(73)

3.1. Çalışmadan Dışlama Kriterleri

Gebelik yaşı 36 haftanın, doğum ağırlığı 1800 gramın altında olan, postnatal 6. saatini tamamlamış olan bebekler çalışmaya alınmadı. Tanıdan emin olunamayan durumlar veya neonatal ensefalopatiye neden olabilen diğer nedenlerin dokümente

edildiği hastalar, konjenital metabolik hastalıklar, kardeş öyküsü ile ailede tanı konmuş enerji eksikliği ve erken ensefalopati ile seyreden diğer hastalıklar, tedaviden yarar görmeyeceği düşünülen majör konjenital anomalisi olan bebekler, çok ağır veya yaygın parankimal kranial kanamalar, çok ağır hayatı tehdit eden koagülopati, maternal koriyoamniyonit, trizomiler (13 ve 18) veya çoklu organ anomalisi olan hastalar çalışmaya dâhil edilmedi.

3.2. Kan Örneklerinin Toplanması

Sağlıklı yenidoğanlardan doğumda kord kanı, asfiktik doğan ancak hipotermi uygulanmayan ve hipotermi tedavisi alan yenidoğanlardan kord kanı veya ilk 6 saat içinde, 72/96. saatte ve postnatal 3. ayda biyokimya tüpüne kan örneği alındı. Her merkezde kan örneği 6000 rpm'de 10 dk santrifuj edildikten sonra ayrılan plazma örnekleri ependorf tüpüne aktarıldı ve analiz aşamasına kadar -80 derecede korundu. Kan örnekleri çalışmaya katılan merkezlerden kuru buz içinde laboratuara ulaştırıldı.

3.3. Serum NPTX1 ve PTX3 Düzeylerinin Ölçülmesi

Hasta ve kontrol grupları plazmasından NPTX1 (Fine Test Catalogue NO: EH 10636) ve PTX3 (Fine Test Catalogue NO: EH 0263) düzeyleri ticari kit kullanılarak üretici firmanın prosedürüne uygun olarak yapıldı.

3.4. Serum NPTX1 Düzeyi Ölçümünde İzlenen Protokol

Kitin içindeki stok standart (10 ng/mL) dilüe edilerek 10 ng/mL - 0.156 ng/mL konsantrasyon aralığında standart hazırlandı. Hazırlanan örnek ve standartlar için kit içerisindeki özel antikor bağlı plateler kullanıldı. 1) Platelerdeki standart kuyucuklarına her bir standarttan 100 µL, örnek kuyucuklarına her bir örnekten 100 µL konuldu. Kör kuyucuğuna hiçbir şey eklenmedi. 2) Hazırlanan plate orbital shaker üzerinde 37°C' de 90 dakika inkübe edildi. 3) 90 dakika sonunda biotin antikor, antikor dilüenti ile 1:100 oranında dilüe edildi. Bu karışımdan her bir kuyucuğa 100 µl eklendi ve plate 37°C' de bir saat inkübe edildi. 4) Bir saat sonunda plate, yıkama tamponu ile 3 defa yıkandı. 5) HRP-Streptavidin, HRP-Streptavidin dilüenti ile 1:100 oranında dilüe edildi. Bu karışımdan her bir kuyucuğa 100 µl eklendi. 6) Plate içindekilerin karışması için karıştırıcıda hafifçe karıştırıldı. 7)

Hazırlanan plate orbital shaker üzerinde 37°C' de 30 dakika inkübe edildi. 8) Otuz dakika sonunda plate, yıkama tamponu ile beş defa yıkandı. 9) Kör kuyucuk dâhil her bir kuyucuğa önce 90 µL HRP substrat solüsyonu eklenip, karanlıkta 37°C' de 15 dakika inkübe edildi. 10) İnkübasyon sonunda mavi renk oluşumu gözlenince 50 µL durdurma solüsyonu konulup oluşan sarı rengin absorbansı 450 nm'de ölçüldü. 11) Standartların konsantrasyonlarına karşılık okunan OD değerlerine bağlı olarak standart grafiği çizildi. 4-parametre denklemi bulundu ve bu denklemden yola çıkılarak örneklerin konsantrasyonları hesaplandı.

Human NPTX1 kitinin sensitivitesi 0.094 ng/mL, örneklerdeki NPTX1 konsantrasyonu saptama aralığı 0.156-10 ng/mL'dir.

3.5. Serum PTX3 Düzeyi Ölçümünde İzlenen Protokol

Kitin içindeki stok standart (20 ng/mL) dilüe edilerek 20 ng/mL - 0.313 ng/mL konsantrasyon aralığında standart hazırlandı. Hazırlanan örnek ve standartlar için kit içerisindeki özel antikor bağlı plâtelere kullanıldı. 1) Plâtelere standart kuyucuklarına her bir standarttan 100 µL, örnek kuyucuklarına her bir örnekten 100 µL konuldu. Kör kuyucuğuna hiçbir şey eklenmedi. 2) Hazırlanan plate orbital shaker üzerinde 37°C' de 90 dakika inkübe edildi. 3) 90 dakika sonunda biotin antikor, antikor dilüenti ile 1:100 oranında dilüe edildi. Bu karışımdan her bir kuyucuğa 100 µl eklendi ve plate 37°C' de bir saat inkübe edildi. 4) Bir saat sonunda plate, yıkama tamponu ile üç defa yıkandı. 5) HRP-Streptavidin dilüenti ile 1:100 oranında dilüe edildi. Bu karışımdan her bir kuyucuğa 100 µl eklendi. 6) Plate içindekilerin karışması için karıştırıcıda hafifçe karıştırıldı. 7) Hazırlanan plate orbital shaker üzerinde 37°C' de 30 dakika inkübe edildi. 8) Otuz dakika sonunda plate, yıkama tamponu ile beş defa yıkandı. 9) Kör kuyucuk dâhil her bir kuyucuğa önce 90 µL HRP substrat solüsyonu eklenip, karanlıkta 37°C' de 15 dakika inkübe edildi. 10) İnkübasyon sonunda mavi renk oluşumu gözlenince 50 µL durdurma solüsyonu konulup oluşan sarı rengin absorbansı 450 nm'de ölçüldü. 11) Standartların konsantrasyonlarına karşılık okunan OD değerlerine bağlı olarak standart grafiği çizildi. 4-parametre denklemi bulundu ve bu denklemden yola çıkılarak örneklerin konsantrasyonları hesaplandı.

Human PTX3 kitinin sensitivitesi 0.188 ng/mL, örneklerdeki PTX3 konsantrasyonu saptama aralığı 0.313-20 ng/mL'dir.

3.6. İstatiksel Değerlendirme

Veriler SPSS 25. 0 paket programıyla analiz edilmiştir. Sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma ve kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak verilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov - Smirnov ve Shapiro Wilk testleri ile incelenmiştir. Parametrik test varsayımları sağlandığında bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında İki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi ve Tek Yönlü Varyans Analizi (post hoc: Tukey testi); parametrik test varsayımları sağlanmadığında ise bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi ve Kruskal Wallis Varyans Analizi (post hoc: Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi) kullanılmıştır. Bağımlı grup karşılaştırmalarında, parametrik test varsayımları sağlandığında İki eş arasındaki farkın önemlilik testi; parametrik test varsayımları sağlanmadığında ise Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi kullanılmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar ise Ki kare analizi ile incelenmiştir. İncelenen değişkenlerin öngördürücülük performanslarının incelenmesinde Duyarlılık, Seçicilik, Pozitif - Negatif Beklenen Değerler ve Kappa uyum sonuçları incelenmiştir.

3.7. Etik Kurul Onayı ve Maddi Destek

Ailelere çalışma ile ilgili yazılı ve sözlü bilgi verildikten sonra, çalışmaya katılmayı kabul eden ebeveynlerden yazılı onam, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Etik Kurulundan 25/09/2020 / 58224 tarih ve numaralı onay, Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu'ndan maddi destek alındı (19.04.2021 / 2021TIPF008).

4. BULGULAR

Çalışmamıza, Ekim 2020 - Aralık 2021 tarihleri arasında, asfiktik doğan 144 yenidoğan (HİE grubu) ve 30 sağlıklı yenidoğan (kontrol grubu) olmak üzere toplam 174 yenidoğan alındı. HİE grubu, HİE-1 (n:33), HİE-2 (n:80) ve HİE-3 (n:33) alt gruplarından oluştu. HİE-2 ve HİE-3 gruplarına (n:111, HİE grubunun %77'si) hipotermi uygulandı.

HİE grubunun 60'ı (%41,6) kız, 84'ü (%58,3) erkek, kontrol grubunun 14'ü (%46,6) kız, 16'sı (%53,3) erkek idi. HİE, kontrol ve HİE alt grupları arasında cinsiyet açısından istatistikî fark saptanmadı ($p>0,05$).

HİE ve kontrol gruplarının ortalama \pm SD olarak gebelik yaşları sırasıyla 38,5 \pm 1,5 ve 38,5 \pm 1,1 hafta, doğum ağırlıkları 3163 \pm 529 ve 3370 \pm 517 gr olup; HİE, kontrol ve HİE alt grupları arasında fark saptanmadı ($p>0,05$).

Sezaryen doğum oranı HİE ve kontrol gruplarında %43,7 ve %90 olup; kontrol grubunda yüksekti ($p=0,0001$). HİE alt grupları arasında fark yoktu ($p=0,33$ $p=0,61$).

HİE ve kontrol gruplarının ortalama \pm SD olarak anne yaşları sırasıyla 29,7 \pm 5,4 ve 28,3 \pm 5,9 yıl, gebelik sayıları 2,4 \pm 2,0 ve 2,4 \pm 1,6, doğum sayıları 1,2 \pm 1,7 ve 0,9 \pm 1,0 olup istatistikî olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). HİE alt grupları arasında anne yaşı, gebelik ve doğum sayısı açısından fark saptanmadı ($p>0,05$)(Tablo 6).

Tablo 6. Kontrol ve HİE gruplarının demografik özelliklerinin karşılaştırılması

	Kontrol (n=30)	HİE (n=144)	K/HİE	HİE-1	HİE-2	HİE-3	P 1/2/3	HİE2+3	P 1/2+3
^a Gebelik yaşı,hafta	38,5±1,1	38,5±1,5	0,78	38,2±1,7	38,7±1,4	38,3± 1,4	0,35	38,6±1,4	0,4
^a Doğum ağırlığı (gr)	3370±517	3163±529	0,13	3173±731	3190±410	3082±558	0,52	3160±456	0,35
Doğ. şekli (%)									
NSVY	10	57	0,0001	64	54	55	0,61	54	0,33
C/S	90	43		36	46	45		46	
Cinsiyet n(%)									
Kız	14 (%47)	60 (%42)	0,61	14 (%42)	37 (%46)	9 (%29)	0,25	46 (%41)	0,92
Erkek	16 (%53)	84 (%58)		19 (%58)	43 (%54)	22 (%71)		65(%59)	

K: Kontrol, ^a: Ortalama ± standart dağılım

Çoğul gebelik, postmaturite, intrauterin gelişme geriliği, preeklampsi / eklampsi, diyabet, annede ilaç kullanma öyküsü bakımından HİE, kontrol ve HİE alt grupları arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). EMR, HİE ve kontrol gruplarında benzer sıklıkta ($p=0,35$), HİE-1 grubunda HİE-2 grubuna göre belirgin yüksek saptandı ($p= 0,0001$).

Akraba evliliği HİE ve kontrol gruplarında %16 ve %0 olup; HİE grubunda belirgin yüksekti ($p=0,01$). HİE alt gruplarında akraba evliliği açısından fark saptanmadı ($p=0,6$)(Tablo 7).

Tablo 7. Kontrol ve HİE gruplarının anne özellikleri

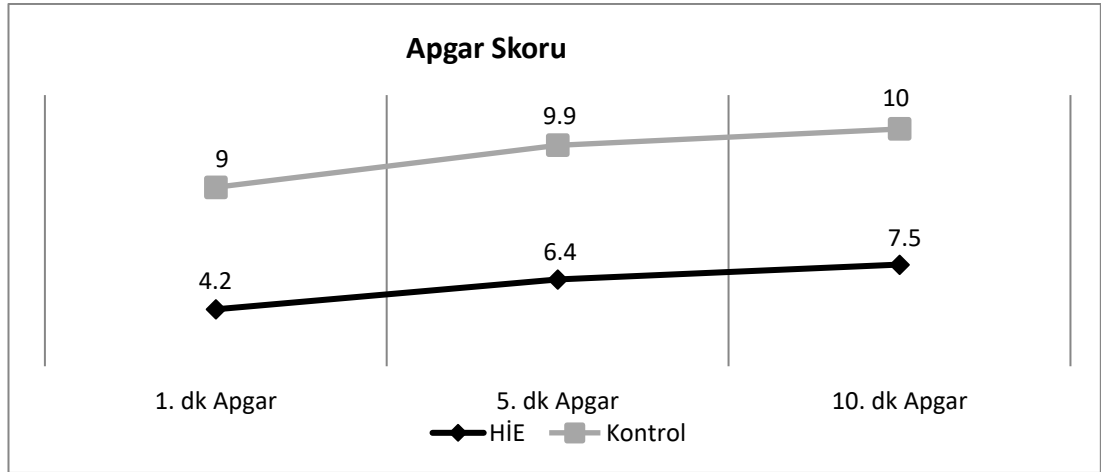
	Kontrol (n=30)	HİE (n=144)	K/HİE	HİE-1	HİE-2	HİE-3	P 1/2/3	HİE2+3	P 1/ 2+3
^a Anne yaşı,yıl	28,3±5,9	29,7±5,4	0,18	30,0±6,6	27,5± 5,3	28,7±6,4	0,12	27,8±5,6	0,09
Akraba Evliliği n(%)	0 (0)	24 (16)	0,01	5 (%15)	12 (%15)	7 (%23)	0,6	19 (%17)	0,7
^a Gebelik Sayısı	2,4±1,6	2,4±2,0	0,82	2,9±2,9	2,2±1,3	2,6± 2,1	0,98	2,3±1,6	0,94
^a Doğum sayısı	0,9±1,0	1,2±1,7	0,64	1,4±2,4	1,0±1,1	1,5±2,0	0,94	1,2±1,4	0,86
Çoğul Gebelik n(%)	(0)	3(2,08)	1	2 (%6)	1 (%1)	0 (%0)	0,19	1 (%1)	0,13
Postmat n(%)	0 (0)	11(7,64)	0,21	2 (%6)	4 (%5)	(%16)	0,17	9(8)	1
İUGG n(%)	0 (0)	6(4,17)	0,59	1(%3)	4(5)	1(3)	0,85	5(5)	1
Pre-/Eklampsi n(%)	0 (0)	5(3,4)	0,58	1(3)	4(5)	0(0)	0,25	4(4)	1
Diyabet n(%)	0 (0)	12(8,3)	0,48	4(12)	6(8)	2(6)	0,67	8(7)	0,47
İlaç n(%)	0 (0)	0(6,9)	0,69	3(9)	5(6)	2(6)	0,86	7(6)	0,69

K: Kontrol, Postmat: Postmatürite, IUGR: İntrauterin gelişme geriliği, ^a: Ortalama ± standart dağılım

Hipoksik iskemik ensefalopati etyolojisi değerlendirildiğinde, hastaların %44'ünde (n=64) uzamış eylem, %45'inde (n=66) fetal distress, %3'ünde (n=5) plasenta previa/ablasio plasenta, %9'unda (n=13) kord düğümlenmesi, %0,6'sında (n=1) kord prolapsusu, %24'ünde (n=35) mekonyum boyalı amniyon sıvısı ve bunların %50'sinde (n=18) mekonyum aspirasyon sendromu, %8'inde (n=11) vakum/forseps kullanımı, %2'sinde (n=3) çoğul gebelik, %8'inde (n=11) postmaturite, %4'ünde (n=6) intrauterin gelişme geriliği, %4'ünde (n=5) eklampsi/preeklampsi, %9'unda (n=12) annede diyabet, %7'sinde (n=10) annede ilaç kullanımı, %6'sında (n=8) EMR öyküsü saptandı. HİE grupları arasında plasenta previa, kord düğümlenmesi, kord prolapsusu, mekonyum boyalı amniyon sıvısı ve vakum/forseps sıklığı istatistikî açıdan farksız, fetal distress hipotermi grubunda yüksek saptandı (p=0,01). Uterus ruptürü hiçbir olguda saptanmadı.

HİE grubundaki olguların %79'una resusitasyon [(%61'ine PBV, %18'ine ileri resusitasyon (%9'una PBV+kardiyak masaj, %9'una PBV+kardiyak masaj+ilaç)] uygulandı. Hipotermi uygulanan hastalarda, hipotermi almayanlara göre resusitasyon (%85 ve %61), PBV (%64 ve %52) ve ileri resusitasyon (PBV+KM+ilaç: %12 ve %0) oranları istatistiki olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0,008$ $p=0,009$ $p=0,02$); kardiyak kompresyon sıklığının HİE-2'ye göre HİE-3'de (%4 ve %23), ilaç uygulanma sıklığının HİE-1 ve HİE-2'ye (%0 ve %4) göre, HİE-3'de (%32) belirgin arttığı görüldü (Tablo 8).

HİE grubunda, kontrol grubuna göre 1. dk ($4,2\pm 2,0$, $9,0\pm 0,4$), 5. dk ($6,4\pm 2,0$, $9,9\pm 0,3$) ve 10. dk ($7,5\pm 1,8$, $10,0\pm 0,0$) Apgar skorları düşüktü ($p<0,001$) (Şekil 3).



Şekil 3. HİE ve Kontrol gruplarının Apgar skorları

Tablo 8. Kontrol ve HİE gruplarının doğumdaki özellikleri

	Kontrol	HİE	P K/HİE	HİE-1	HİE-2	HİE-3	P 1/2/3	HİE 2+3	P 1/2+3
Uzamış eylem n(%)	0 (0)	64 (45)	0,0001	13 (39)	36 (45)	15 (48)	0,76	51 (46)	0,5
EMR n(%)	0 (0)	8 (5,5)	0,35	6 (18)	0 (0)	2 (6)	0,0001	2 (2)	0,002
Fetal distress n (%)	0 (0)	66 (46)	0,0001	9 (27)	39 (49)	18 (58)	0,03	57 (51)	0,01
P.previa / Ablasio n(%)	0 (0)	5 (4)	0,5	1 (3)	2 (3)	2 (6)	0,62	4 (4)	1
Kordda düğüm n(%)	0 (0)	13 (9)	0,1	2 (6)	10 (13)	1 (3)	0,21	11 (10)	0,73
Kord Prolap n(%)	0 (0)	1 (0,6)	1	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0,55	1 (1)	1
MAS n(%)	0 (0)	18 (12,5)	0,04	1 (3)	10 (13)	7 (23)	0,04	17 (15)	0,07
Vakum/ Forseps n(%)	0 (0)	11 (8)	0,2	2 (6)	5 (6)	4 (13)	0,5	9 (8)	0,10
1. dk Apgar									
Ort±SS Med(min- max)	9,0±0,4 9(8-10)	4,2±2,0 4(0-9)	0,0001	5,3±1,7 5(2-8)	4,4±1,9 5(0-9)	2,5±1,7 3(0-6)	0,0001	3,9±2,0 4 (0-9)	0,001
5. dk Apgar									
Ort±SS Med(min- max)	9,9±0,3 10(9-10)	6,4±2,0 7(0-10)	0,0001	7,5±1,4 8(3-10)	6,8±1,7 7(3-10)	4,3±1,9 5(0-8)	0,0001	6,1±2,1 6(0-10)	0,0001
10.dk Apgar									
Ort±SS Med(min- max)	10±0 10 (10-10)	7,5±1,8 8(0-10)	0,0001	8,7±1,2 9(5-10)	7,7±1,6 8(0-10)	6,1±1,9 6(1-9)	0,0001	7,2±1,8 8(0-10)	0,0001
Resusit (%)	0(0 0(0))	114(79)	-	20 (61)	67 (84)	27 (87)	0,02	94 (85)	0,008
PBV n (%)	0(0)	88(61)	-	17 (52)	61 (76)	10 (32)	0,02	71 (64)	0,009
PBV+KM n (%)		13(9)	-	3 (10)	3 (4)	7 (23)	0,01	10 (9)	1
PBV+KM+ ilaç n (%)	0(0)	13(9)	-	0 (0)	3 (4)	10 (32)	0,0001	13 (12)	0,02

K:Kontrol EMR: Erken membran ruptürü, P. previa: Plasenta previa, Resusit: Resusitasyon, PBV: Pozitif basınçlı ventilasyon, KM: Kalp masajı

Yenidoğan Yoğun bakıma kabülde vücut ısısı, hipotermi almayanlara göre hipotermi grubunda (35,7±1,3 ve 34,7±1,4 p=0,0001) ve HİE-1 ve 2'ye göre HİE-3'de (35,7±1,3, 34,8±1,3 ve 34,6±1,6 p=0,001) düşük saptandı.

HİE-2 ve HİE-3 HİE tanısı alan olgulara (n=111) ortalama 2,7±1,8 saatlik iken tam vücut soğutma yöntemi ile hipotermi başlandı; HİE-3 olgulara (2,0±1,6

saat), HİE-2 olgulara (2,9±1,8 saat) göre hipotermi tedavisinin daha erken başladığı görüldü (p=0,02)(Tablo 9). Hipotermi tedavi süresi ortalama 71,9±5,8 saat olup; hipotermi sürerken kaybedilen iki hastaya 28 ve 48 saat, ısıtma sırasında konvülsiyon geçiren üç hastaya 96 saat hipotermi uygulandı.

Tablo 9. HİE Grubu'na uygulanan hipotermi tedavisi

	HİE	HİE-1	HİE-2	HİE-3	P 1/2/3	HİE 2+3	P 1/2+3
Kabülde vücut ısısı (°C) Ort±SS	35,0±1,4	35,7±1,3	34,8±1,3	34,6±1,6	0,0001	34,7±1,4	0,0001
HT başlama, saat Ort±SS Med (min-max)	2,7±1,8 2,5(0,5-6)	-	2,9±1,8 3(0,5-6)	2,0±1,6 1(0,5-5,5)	0,02	2,7±1,8 2,5(0,5-6)	-
HT süresi (saat) Ortalama±SS Med (Min-max)	71,9±5,8 72(28-96)	-	72,7±3,9 72(72-96)	69,8±8,8 72(28-72)	0,02	71,9±5,8 72(28-96)	-

HT:Hipotermi

HİE grubunun %74'üne sefal hematom/ekimoz, intrakranial kanama, mekonyum aspirasyonu, hipoglisemi, hipokalsemi, trombositopeni, nöbet gibi semptomların eşlik ettiği; HİE-1'e göre HİE-2 ve HİE-3'de eşlik eden semptomların daha sık olduğu görüldü (p=0.004). HİE alt gruplarında sefal hematom/ekimoz/kaput suksedenum, intrakranial kanama/subgaleal hematoma, hiperkalemi, trombositopeni, apne, enfeksiyon sıklığı bakımından fark saptanmazken (p>0,05); hipokalsemi sıklığı, HİE-1'e göre HİE-2 ve HİE-3'te anlamlı yüksek bulundu (p=0,001). HİE olgularının %37'sinde (n=53) 10,5±19,8 (1-120) saatlik iken klinik nöbet görüldü, Hipotermi almayanlarda nöbet görülmezken; HİE-2'ye oranla HİE-3 olgularda nöbet sıklığı (%40 ve %68, p=0,0001) yüksek, ilk 12 saatte nöbet sıklığı (%29, %58 p=0,0001) yüksek ve ilk nöbet zamanı (13,3±24,5 ve 6,2±6,9 saat, p=0,0001) daha erkendi (Tablo 10).

Tablo 10. HİE Grubu'nda eşlik eden semptom ve bulgular

	HİE	HİE-1	HİE-2	HİE-3	P 1/2/3	HİE 2+3	P 1/2+3
Eşlik eden semptom n (%)	94(65,2)	18 (54,5)	48 (60)	28 (90)	0,004	76 (68)	0,14
Sepsis (enfeksiyon) n (%)	3(2)	2 (6)	0 (0)	1 (3)	0,07	1 (1)	0,13
Sefal hematom/ekimoz kaput suksadenum n (%)	40 (28)	9 (27)	18 (23)	13 (42)	0,12	31 (28)	0,94
İntrakranial kanama subgaleal hematom n (%)	7(4,8)	2 (6)	4 (5)	1 (3)	0,86	5 (5)	0,66
Hipoglisemi n (%)	9(6,2)	2 (6)	2 (3)	5 (16)	0,04	7 (6)	1
Hipokalsemi n (%)	24(16,6)	2 (6)	10 (13)	12 (39)	0,001	22 (20)	0,06
Hiperkalemi n (%)	11(7,6)	1 (3)	5 (6)	5 (16)	0,13	10 (9)	0,45
Trombositopeni n (%)	26(18)	4 (12)	12 (15)	10 (32)	0,06	22 (20)	0,31
Apne n (%)	2(1,3)	1 (3)	0 (0)	1 (3)	0,19	1 (1)	0,40
Nöbet n (%)	53 (37)	0 (0)	32 (40)	21 (68)	0,0001	53 (48)	0,0001
Zaman (sa) Ort±SS	10,5±19,8	-	13,3±24,5	6,2±6,9	0,0001	10,5±19,8	-
Med (min-max)	5(1-120)	-	5(1-120)	3,5(1-24)	0,0001	5(1-120)	-
İlk 12 saatte nöbet	41 (29)	0 (0)	23 (%29)	18 (%58)	0,0001	41 (%29)	0,0001
13-24 saatte nöbet	9 (6)	0 (0)	6 (%7,5)	3 (%10)	0,08	9 (%6)	0,11
>24. saat nöbet	3 (2)	0 (0)	3 (%4)	0 (%0)	0,16	3 (%2)	1

Hipotermi almayanlarla karşılaştırıldığında, hipotermi alanlarda antiepileptik (p=0.0001), inotrop (p=0.0001), TDP (p=0.001) ihtiyacının arttığı görüldü (Tablo 11).

Tablo 11. HİE Grubu'na uygulanan destek tedavileri

	HİE	HİE-1	HİE-2	HİE-3	P 1/2/3	HİE 2+3	P 1/2+3
Antiepileptik n (%)	64 (45)	0 (0)	37 (46)	27 (87)	0,0001	64 (58)	0,0001
İnotrop n (%)	37 (26)	0 (0)	20 (25)	17 (55)	0,0001	37 (33)	0,0001
TDP n (%)	28 (20)	0 (0)	16 (20)	12 (39)	0,0001	28 (25)	0,001
Eritrosit n (%)	9 (7)	1 (3)	2 (3)	6 (19)	0,01	8 (7)	0,68
Aferez Trombosit n (%)	9 (7)	0 (0)	3 (4)	6 (19)	0,004	9 (8)	0,11

TDP: Taze Donmuş Plazma

HİE grubunda 8 hastanın kord/1.saat kan gazı verilerinin kaydedilmediği; 99'nun (%69) hem kord kan gazı hem de 1. saat kan gazı verilerinin, 16'sının (%11) sadece kord kan gazı, 21'nin (%15) sadece 1. saat kan gazı verilerinin bulunduğu görüldü. Kontrol grubuna göre HİE grubunda kord kan gazında pH düşük ($7,34\pm 0,04$ ve $6,98\pm 0,17$), baz defisiti yüksek ($3,2\pm 1,7$ ve $15,0\pm 5,6$) idi ($p<0,001$). HİE grubunun 1.saat kan gazında pH: $7,16\pm 0,14$, baz defisiti $11,2\pm 5,9$ olup; hipotermi olmayanlara göre hipotermi alanlarda kord pH ($7,12\pm 0,12$ ve $6,94\pm 0,16$) ve 1. saat pH ($7,22\pm 0,13$ ve $7,14\pm 0,14$) düşük, kord baz defisiti ($10,1\pm 5,08$ ve $16,3\pm 5$) 1. saat baz defisiti ($7,04\pm 4,4$ ve $12,3\pm 5,8$) yüksekti (Tablo 12) (Şekil 4,5).

Laktat düzeyleri HİE grubunda ($11,0\pm 11,3$) kontrol grubundan ($1,9\pm 0,6$), Hipotermi alanlarda ($12,5\pm 12,4$) HİE-1 grubundan ($6,2\pm 3,3$) yüksekti ($p<0,001$). HİE şiddeti arttıkça laktat değerinin arttığı ($6,2\pm 3,3$, $11,5\pm 7,2$ ve $12,9\pm 13,9$) saptandı (Tablo 12) (Şekil 6). Hipotermi grubunda, HİE-1'e göre LDH (1299 ± 1846 / 841 ± 642 , $p=0,004$), AST (184 ± 384 / 93 ± 78 , $p=0,01$), ürik asit ($7,2\pm 2,3$ / $5,8\pm 1,6$, $p=0,002$), CRP-1 ($1,6\pm 3,4$ / $1,4\pm 6,1$, $p=0,001$), CRP-2 ($6,8\pm 10,4$ / $2,3\pm 2,9$, $p=0,005$) ve lökosit düzeyleri (21074 ± 7087 / 20438 ± 7055 , $p=0,04$) yüksekti. LDH ($p=0,0001$), INR ($p=0,009$), AST ($p=0,0001$), ALT ($p=0,01$) düzeyleri HİE-3'de, HİE-1 ve HİE-2'ye göre yüksekti. Ürik asit ($p=0,001$), CRP-1 ($p=0,001$) ve CRP-2 ($p=0,001$) düzeyleri HİE-2'de, HİE-1'e oranla yüksek saptandı (Tablo 13).

Tablo 12: Kontrol ve HİE Gruplarının laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması

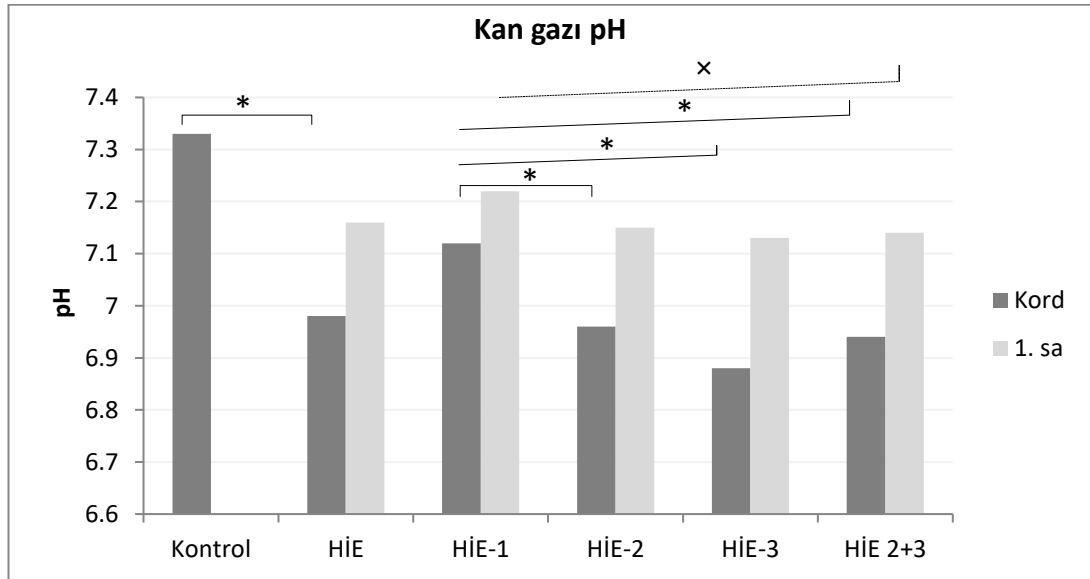
	Kontrol n=30	HİE n=136	p K/HİE	HİE-1	HİE-2	HİE-3	p 1/2/3	HİE-2+3	p 1/2+3
Kord pH	$7,34\pm 0,04$	$6,98\pm 0,17$	0,0001	$7,12\pm 0,12$	$6,96\pm 0,14$	$6,88\pm 0,18$	0,0001	$6,94\pm 0,16$	0,0001
Kord Beb	$3,2\pm 1,7$	$15,0\pm 5,6$	0,0001	$10,1\pm 5,08$	$16,2\pm 4,8$	$16,7\pm 5,4$	0,0001	$16,3\pm 5$	0,0001
1.sa. pH	-	$7,16\pm 0,14$	-	$7,22\pm 0,13$	$7,15\pm 0,12$	$7,13\pm 0,17$	0,09	$7,14\pm 0,14$	0,03
1.sa. Beb	-	$11,2\pm 5,9$	-	$7,04\pm 4,4$	$12,0\pm 5,2$	$13,3\pm 7,1$	0,0001	$12,3\pm 5,8$	0,0001
Laktat	$1,9\pm 0,6$	$11,0\pm 11,3$	0,0001	$6,2\pm 3,3$	$11,5\pm 7,2$	$12,9\pm 13,9$	0,0001	$12,5\pm 12,4$	0,0001

Beb: Baz defisiti

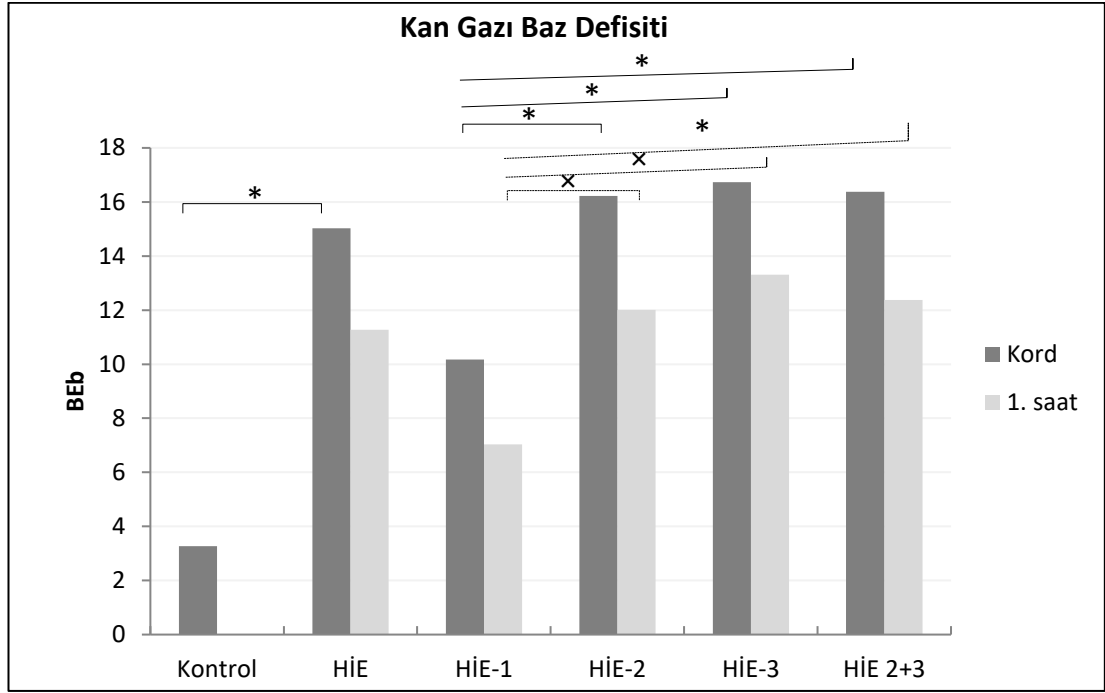
Tablo 13. HİE Grubunun laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması

	HİE	HİE-1	HİE-2	HİE-3	P 1/2/3	HİE-2+3	P 1/2+3
^a LDH	1194± 1658	841±642	994±595	2086± 3267	0,0001	1299± 1846	0,004
^a PT	18,4± 7,6	18,8±10,5	17,1±3,6	21,6± 10,5	0,06	18,3±6,5	0,42
^a APTT	39,1± 13,9	35,2±9,9	38,2±12,0	45,9± 19,6	0,03	40,2± 14,7	0,06
^a INR	1,4±0,5	1,3±0,3	1,3±0,2	1,89± 0,98	0,009	1,5±0,6	0,23
^a Hb	16,8± 2,1	17,4±1,8	16,8±2,3	16,24± 1,83	0,02	16,7±2,2	0,07
^a Hct	50,9± 7,5	52,0±6,7	50,9±8,0	49,84± 6,79	0,46	50,6±7,7	0,34
^a Lökosit	20438± 7055	18289± 6604	20064± 6500	23682± 7948	0,01	21074± 7087	0,04
^a Platelet	231097±79425	223333±61009	242355± 83210	210313±83761	0,13	233406±84229	0,26
^a AST	163± 341	93±78	109±83	379±686	0,0001	184±384	0,01
^a ALT	59±135	36±66	37±49	141±259	0,01	66±149	0,23
^a CK	2314± 2074	2091± 2060	2202± 1893	2843± 2485	0,14	2381± 2083	0,25
^a Üre	22,4± 8,7	20,6±7,1	22,5±9,4	24,0±8,5	0,23	22,9±9,1	0,20
^a BUN	9,0±3,8	8,7±3,4	9,2±4,1	9,0±3,6	0,79	9,1±3,9	0,51
^a Kreat	0,8±0,2	0,8±0,2	0,8±0,3	0,8±0,2	0,53	0,8±0,3	0,52
^a Ürik Asit	6,9±2,2	5,8±1,6	6,9±1,9	8,0±3,0	0,001	7,2±2,3	0,002
^a CRP-1	1,6±4,1	1,4±6,1	1,7±3,1	1,4±4,0	0,0001	1,6±3,4	0,001
^a CRP-2	5,8±9,4	2,3±2,9	6,9±10,2	6,5±11,0	0,01	6,8±10,4	0,005

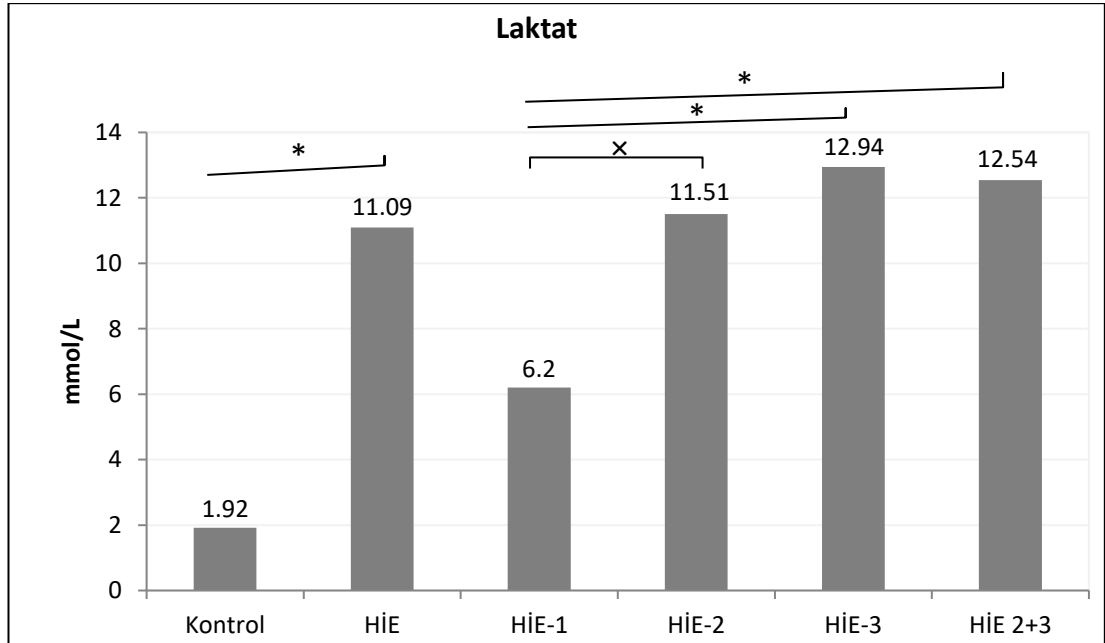
LDH:Laktat dehidrojenaz, PT:Protrombin zamanı, APTT: Aktive parsiyel tromboplastin zamanı, INR:Internal normalized ratio, Hb:Hemoglobin, Hct:Hematokrit, AST: Aspartat aminotransferaz, ALT: Alanin aminotransferaz, CK:Kreatin kinaz, BUN:Kan üre azotu, CRP:C-reaktif protein, CRP-1: Hipotermi öncesi CRP, CRP-2: Hipotermi sonunda CRP , ^a: Ortalama ± standart dağılım

**Şekil 4.** Kontrol ve HİE gruplarının kord / 1.saat kan gazı pH düzeyleri *p=0,0001

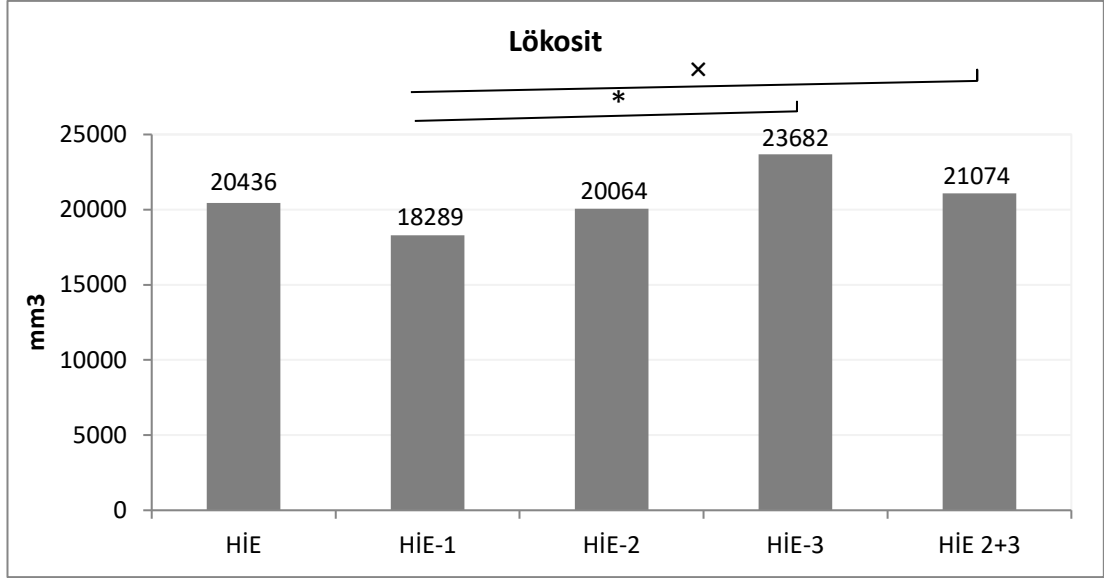
^xp=0,03



Şekil 5. Kontrol ve HİE gruplarının kord /1.saat kan gazı baz defisiti düzeyleri
*p=0,0001 x p=0,001



Şekil 6. Kontrol ve HİE gruplarının hipotermi öncesi laktat düzeyleri *p=0,0001
x p=0,001



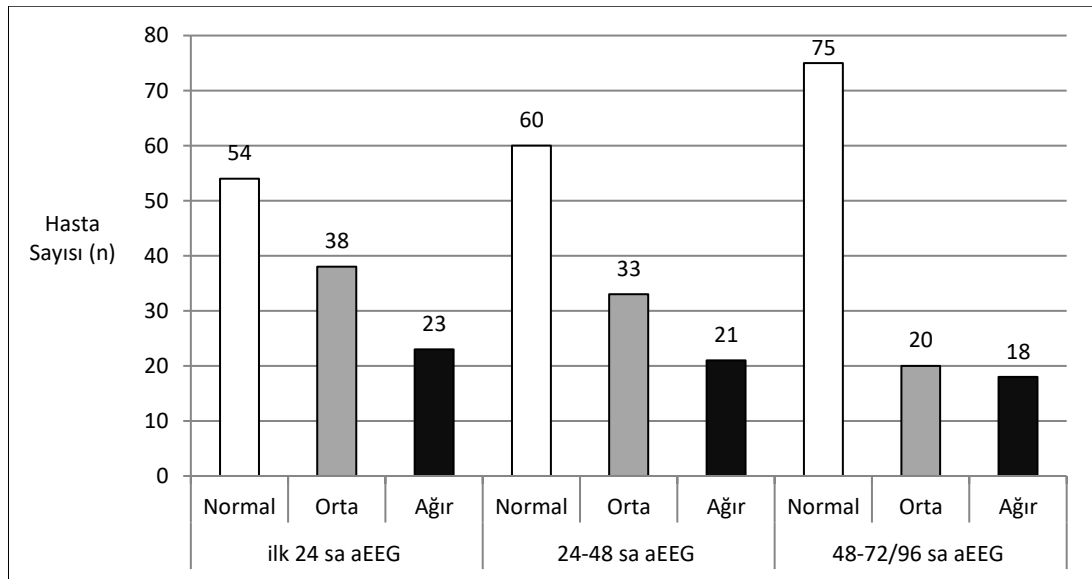
Şekil 7. HİE Grubu'nun hipotermi öncesi lökosit düzeyleri *p=0,01, x̄p=0,04

HİE grubundaki 144 bebeğin 115'ine (%80) servise kabülde ilk altı saat içinde aEEG çekildi. Bebeklerin 8'i HİE-1, 107'si hipotermi grubunda idi. HİE-1 grubunda aEEG normal saptanırken, hipotermi grubunda aEEG'de patoloji %57, izlem boyunca patoloji %32 sıklıkta saptandı. HİE-2 ve HİE-3 saptananlarda aEEG'de orta+ağır patoloji sıklığı ilk 24 saatte %44 ve %93, 24-48. saatte %37 ve %90, 48-72/96. saatte %22 ve %78 olup aEEG'de patoloji sıklığının giderek azaldığı ve HİE-3 grubunda belirgin yüksek olduğu görüldü (p=0,0001) (Tablo 14) (Şekil 8-9).

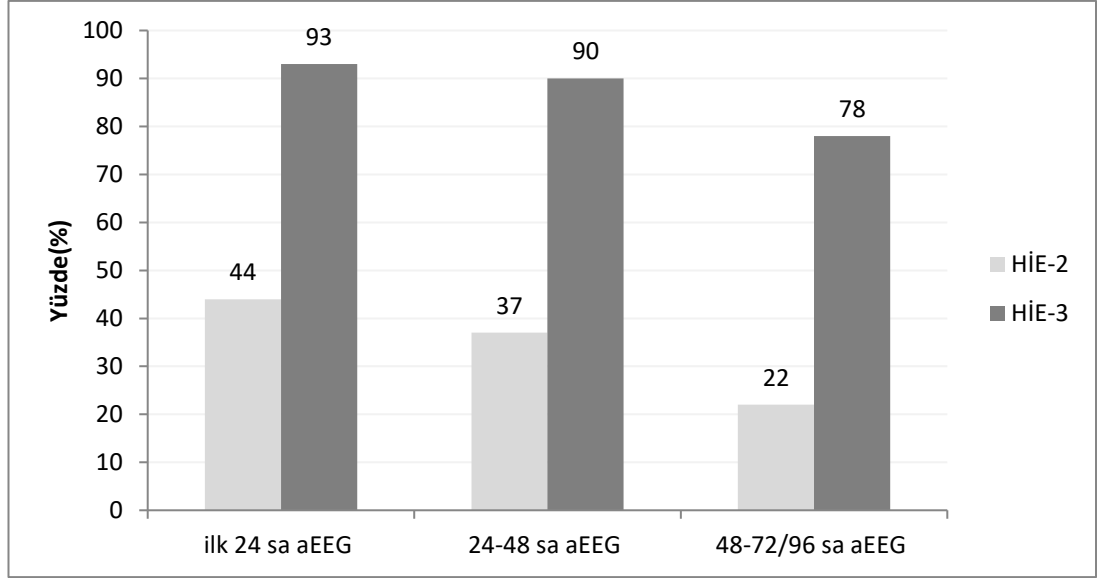
Tablo 14. HİE Grubu'nun aEEG sonuçları

		HİE n:144	HİE-1 n:33	HİE-2 n:80	HİE-3 n:31	p 1/2/3	HİE-2+3 n:111	p 1/2+3
aEEG	Yapılan/ Yapılmayan	115/29	8/25	78/2	29/2		107/4	
İlk 24 sa aEEG	Normal n(%)	54 (47)	8 (100)	44 (56)	2 (7)	0,0001	46 (43)	0,002
	Orta n(%)	38 (33)	0 (0)	30 (39)	8 (28)		38 (36)	
	Ağır n(%)	23 (20)	0 (0)	4 (5)	19 (65)		23 (21)	
	Orta+Ağır n (%)	61(53)	0(0)	34(44)	27(93)		61(57)	
24-48. sa aEEG	Normal n(%)	60 (52)	8 (100)	49 (63)	3 (10)	0,0001	52 (49)	0,004
	Orta n(%)	33 (30)	0 (0)	25 (32)	8 (29)		33 (31)	
	Ağır n(%)	21 (18)	0 (0)	4 (5)	17 (61)		21 (20)	
	Orta+Ağır n (%)	54(48)	0(0)	29(37)	25(90)		54(51)	
48-72/96. sa aEEG	Normal n(%)	75 (66)	8(100)	61 (78)	6 (22)	0,0001	67 (64)	0,03
	Orta n(%)	20 (18)	0 (0)	14 (18)	6 (22)		20 (19)	
	Ağır n(%)	18 (16)	0 (0)	3 (4)	15 (56)		18 (17)	
	Orta+Ağır n (%)	38(34)	0(0)	17(22)	21(78)		38(36)	

aEEG: Amplitüd entegre elektroensefalografi



Şekil 8. HİE Grubu'nun zamana göre aEEG sonuçları

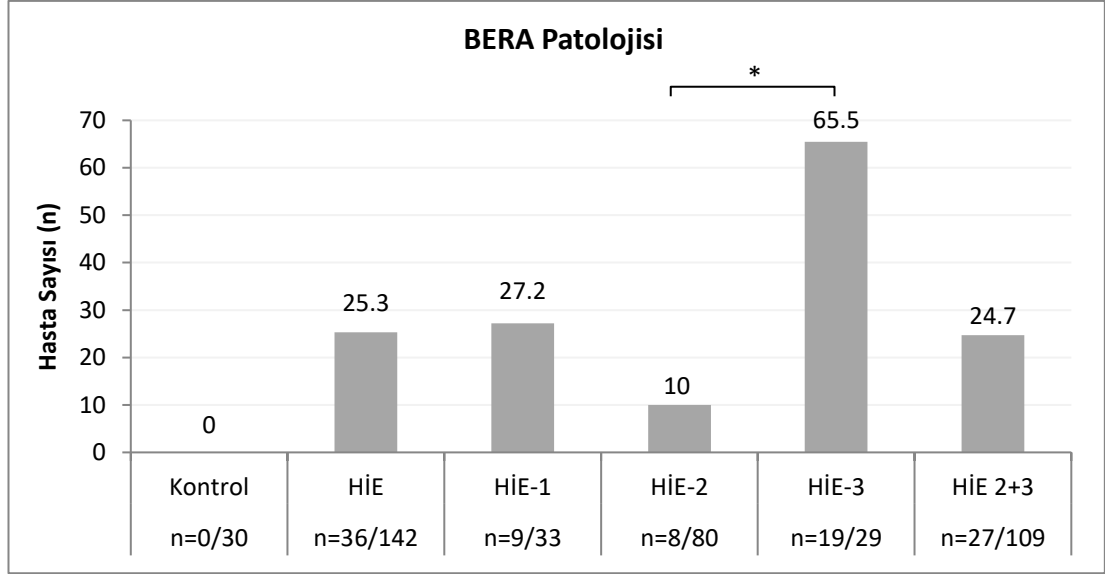


Şekil 9. HİE-2 ve HİE-3 gruplarında zamana göre aEEG’de patoloji sıklığı

HİE grubunda tedavi sırasında kaybedilen iki hasta dışında tüm olgulara (n:142, %98,6) ABR yapıldı. Test yapılan hastaların %74,7’si (n=106) işitmeden geçti, %25,3’ü (n:36) işitmeden kaldı (%13,3’ünde n=19 iki kulakta, %11,9’unda n=17 tek kulakta işitme kaybı). İşitme kaybı hipotermi gruplarında farksız iken, HİE-3 grubunda en yüksekti (Tablo 15) (Şekil 10).

Tablo 15. Kontrol ve HİE gruplarının işitme testi sonuçları

	Kontrol n=30	HİE n=142	P K/HİE	HİE-1	HİE-2	HİE-3	P 1/2/3	HİE 2+3	P 1/2+3
Geçti n (%)	30(100)	106(74,7)		24(73)	72(90)	10(35)		82(75)	
Kaldı n (%)		36(25,3)	-	9 (27,2)	8(10)	19(65,5)	0,0001	27 (25)	0,92
Tek kulak n(%)	0(0)	17(11,9)		4(12)	3(4)	10(35)		13(12)	
İki kulak n(%)		19(13,3)		5(15)	5(6)	9(30)		14(13)	



Şekil 10. Kontrol ve HİE gruplarının işitme sonuçları *p=0,0001

HİE grubundaki 144 bebeğin 121'ine (%84) 5-7. günlerde kranial MR / diffüzyon MR çekildi, 30'unda (%24,8) patoloji saptandı. HİE-1 grubunda MR çekilen 19 hastanın 4'ünde (%21), Hipotermi grubunda MR çekilen 102 hastanın 26'sında (%25,4) MR'da patoloji saptandı. HİE-1 ve Hipotermi grupları arasında fark saptanmazken (p=0,7), HİE-3'de (%46,1) HİE-1 (%21) ve HİE-2 (%18,4) grubuna göre MR'da patoloji görülme oranının arttığı görüldü (p=0,02) (Tablo 16) (Şekil 11).

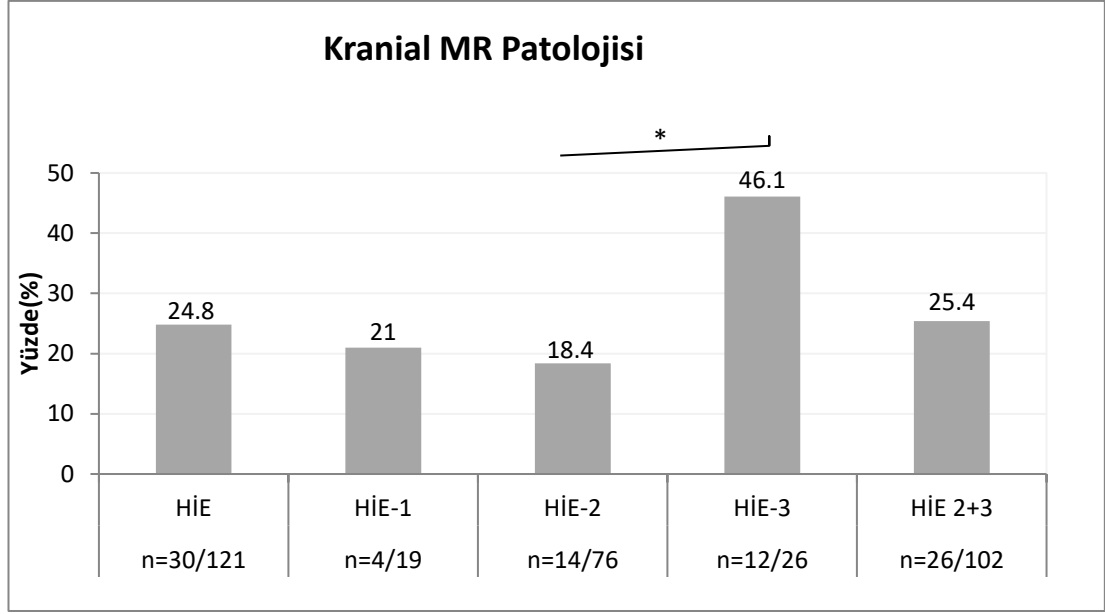
Kranial MR'da patoloji olan olgularda 5.dk (p=0.003), 10.dk (p=0.001) Apgar skorları daha düşük, resusitasyon (p=0,001), aEEG'de patoloji (p=0,01), nöbet (p=0,02) ve ilk 12 saatte nöbet sıklığı (p=0,0) laktat (p=0,03) ve lökosit düzeyleri (p=0,005) daha yüksek (p=0.02) iken; kranial MR'ı normal ve patolojik olanlarda kan gazında pH ve baz defisiti düzeyleri, perisentinel olay ve işitme kaybı sıklığı açısından fark yoktu (p>0.05) (Tablo 17).

Tablo 16. HİE Grubu'nun kranial MR sonuçları

		HİE	HİE-1	HİE-2	HİE-3	p 1/2/3	HİE 2+3	p 1 / 2+3
Kranial MR n (%)	Yapılan	121/144	19/33	76/80	26/31		102/111	
	Normal	91(75,2)	15 (78,9)	62 (81,6)	14 (53,8)	0,02	76 (71,6)	0,7
	Patolojik	30(24,8)	4 (21)	14 (18,4)	12 (46,1)		26 (25,4)	

Tablo 17. Kranial MR patolojisini etkileyen faktörler

	Kranial MR Normal	Kranial MR Patolojik	p
Perisentinel Olay (PSE)(%) Yok Var	76,1 66,7	23,9 33,3	0,4
Resusitasyon(%) Yok Var	30,1 69,9	6,1 93,9	0,001
5. dk Apgar Ort±SS	6,7±1,8	5,5±1,9	0,003
10. dk Apgar Ort±SS	7,8±1,6	6,7±1,5	0,001
Kan Gazı pH Ort±SS	6,9±0,1	6,8±0,1	0,8
Kan Gazı BeB Ort±SS	15,5±5,3	15,7±6,7	0,8
Laktat Ort±SS	10,9 ±12	11,82± 7,3	0,03
Lökosit Ort±SS	19.158± 6000	23778 ± 8146	0,005
Nöbet(%) Yok Var	67,1 32,9	46,9 53,1	0,02
İlk 12 Saatte Başlayan Nöbet(%) Yok Var	75,3 24,7	55,1 44,9	0,02
BERA(%) Normal Patolojik	86,6 13,4	75 25	0,2
aEEG(%) Normal Patolojik	46,7 53,3	18,5 81,5	0,01



Şekil 11. HIIE Grubu'nun kranial MR sonuçları *p=0,005

Pentraksin-3 ve Nöronal Pentraksin-1 Sonuçları

PTX3 ve NPTX1 için kan örneği kontrol grubundan kord kanından bir kez alınırken; HIIE grubundaki olguların 144'ünden hipotermi öncesi ilk 6 saatte, 142'sinden hipotermi sonunda ve 20'sinden 3. ayda alındı.

HIIE grubunda ilk 6 saatte/hipotermi öncesi PTX3 düzeyleri $0,99 \pm 0,87$ pg/mL, NPTX1 düzeyleri $0,69 \pm 0,7$ pg/mL, kontrol grubunda kord kanı PTX3 düzeyleri $0,24 \pm 0,02$ pg/mL, NPTX1 düzeyleri $0,57 \pm 1,01$ pg/mL olarak saptandı. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında PTX3 düzeyleri HIIE grubunda belirgin yüksek ($p=0,001$) iken; NPTX1 düzeyleri açısından HIIE ve kontrol grupları arasında fark saptanmadı ($p=0,19$). HIIE alt grupları değerlendirildiğinde, PTX3 düzeyleri bakımından hipotermi almayan ($1,01 \pm 0,91$) ve hipotermi alan ($0,99 \pm 0,87$) gruplar arasında fark saptanmazken ($p=0,84$); PTX3 düzeyleri, HIIE-2 hastalarına göre HIIE-3 hastalarında belirgin yüksekti ($0,8 \pm 0,73$ ve $1,48 \pm 1,01$) ($p=0,001$). NPTX1 düzeyleri hipotermi almayan ve alan gruplarda ($0,65 \pm 0,34$ ve $0,7 \pm 0,77$, $p=0,05$), HIIE-1, HIIE-2 ve HIIE-3 gruplarında ($0,65 \pm 0,34$, $0,7 \pm 0,79$ ve $0,7 \pm 0,73$) ($p=0,06$) farksızdı (Tablo 18,19) (Şekil 12,13).

Postnatal 72. saat/hipotermi sonunda alınan örneklerde hipotermi almayan ve hipotermi alan gruplar arasında PTX3 düzeyleri ($0,77\pm 0,85$ ve $0,74\pm 0,67$, $p=0,39$) ve NPTX1 düzeyleri ($0,58\pm 0,39$ ve $0,72\pm 1,09$, $p=0,15$) açısından fark saptanmadı. PTX3 düzeyleri HİE-3'de HİE-1 ($1,26\pm 0,94$ ve $0,77\pm 0,85$, $p=0,003$) ve HİE-2 ($1,26\pm 0,94$ ve $0,55\pm 0,4$, $p=0,0001$)'ye göre, NPTX1 düzeyleri HİE-3'de HİE-2'ye ($0,75\pm 0,49$ ve $0,71\pm 1,24$, $p=0,006$) göre anlamlı yüksek saptandı (Tablo 16,17) (Şekil12,13).

Hipotermi sonunda, 72/96 saatte HİE alt grupları HİE-1 ($p=0.01$) ve HİE-2'de ($p=0.0001$) PTX3 düzeylerinde, ilk 6 saat/ hipotermi öncesine oranla anlamlı düşüş saptanırken; HİE-3'de PTX-3 yüksekliği sebat etti (Tablo 16). NPTX-1 düzeylerinde değişiklik olmadı (Tablo 18).

Postnatal 3. ay PTX3 ve NPTX1 düzeyleri değerlendirildiğinde, HİE alt grupları arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo 18,19).

Tablo 18. Kontrol ve HİE gruplarının PTX3 sonuçları

PTX3	Kontrol	HİE	K/ HİE	HİE-1	HİE-2	HİE-3	P 1/2/3	HİE 2+3	P 1/2+3
HÖ Ort±SS Med (min-max)	0,24±0,02 0,24 (0,21-0,29)	0,99±0,87 0,6 (0,25-4,11)	0,001	1,01±0,91 0,64 (0,29-3,62)	0,8±0,73 0,51 (0,25-4,11)	1,48±1,01 1,2 (0,56-2,22)	0,001*	0,99±0,87 0,59 (0,25-4,11)	0,84
HS Ort±SS Med (min-max)	-	0,75±0,71 0,46 (0,25-3,72)	-	0,77±0,85 0,42 (0,29-3,72)	0,55±0,4 0,44 (0,36-0,55)	1,26±0,94 0,98 (0,27-3,5)	0,0001 £	0,74±0,67 0,48 (0,25-3,5)	0,39
p	-	0,0001	-	0,01	0,0001	0,35	-	0,001	-
3. ay Ort±SS Med (min-max)	-	0,51±0,26 0,37 (0,26-1,04)	-	0,7±0,3 0,62 (0,46-1,04)	0,42±0,21 0,36 (0,26-0,92)	0,62±0,33 0,62 (0,3-0,94)	0,094	0,47±0,24 0,36 (0,26-0,94)	0,093

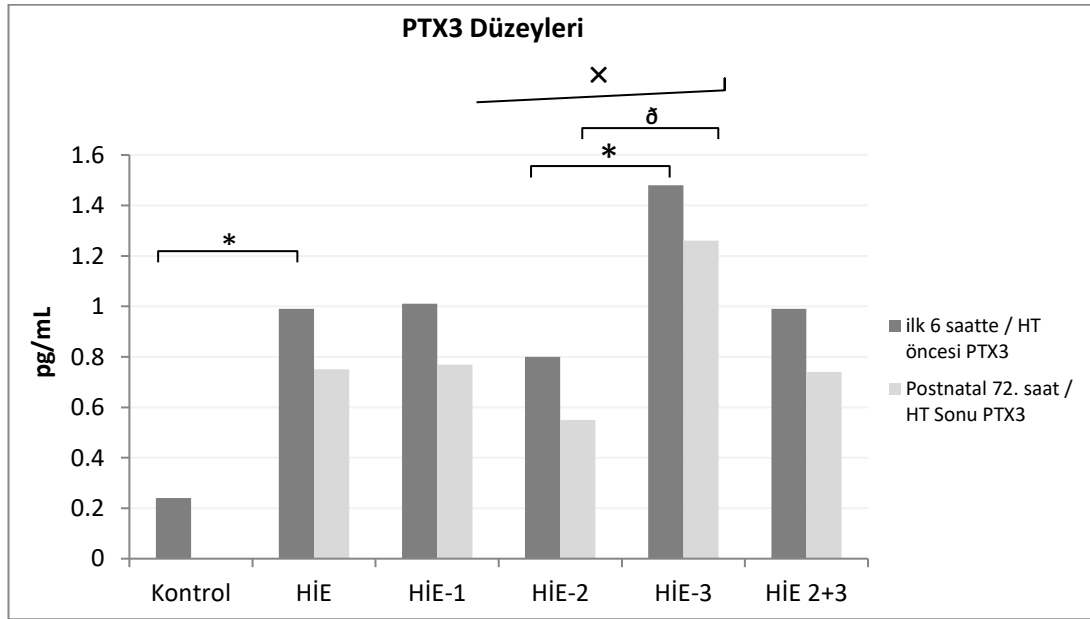
HÖ: İlk 6 saatte/hipotermi öncesi, HS: Postnatal 72. saat/hipotermi sonu, *HİE-2'ye göre HİE-3: $p:0.001$,

£HİE-1'e göre HİE-3: $p:0.003$, HİE-2'ye göre HİE-3: $p:0.0001$

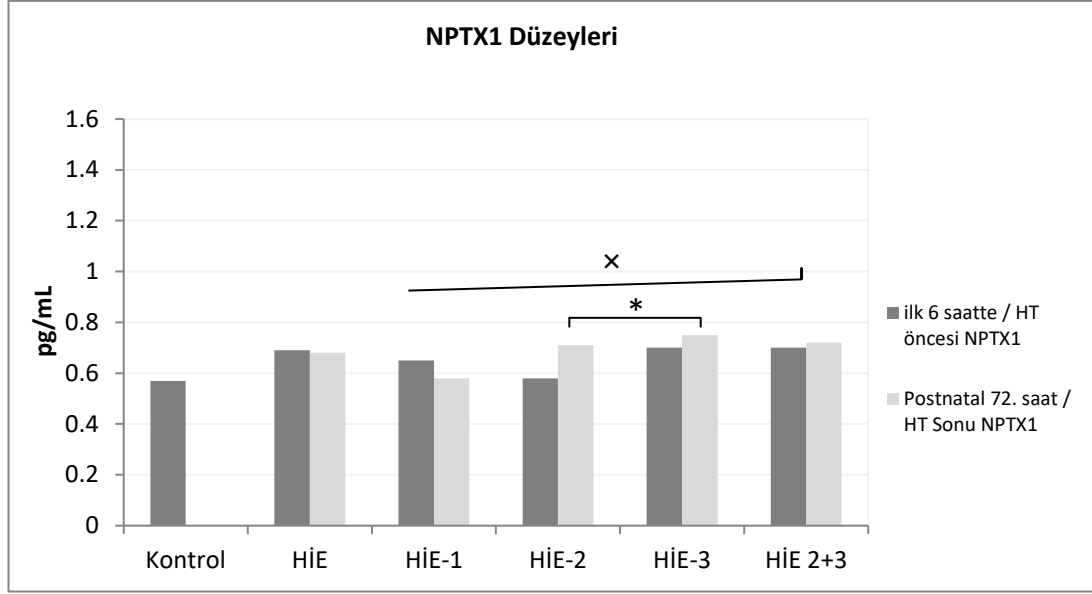
Tablo 19. Kontrol ve HİE gruplarının NPTX1 sonuçları

NPTX1	Kontrol	HİE	P K/HİE	HİE-1	HİE-2	HİE-3	P 1/2/3	HİE 2+3	P 1/2+3
HÖ Ort±SS Med (min-max)	0,57 ±1,01 0,37 (0,3-5,88)	0,69±0,7 0,44 (0,18-4,23)	0,19	0,65±0,34 0,56 (0,24-1,59)	0,7±0,79 0,37 (0,18-4,23)	0,7±0,73 0,46 (0,26-3,94)	0,06	0,7±0,77 0,41 (0,18-4,23)	0,05
HS Ort±SS Med (min-max)	-	0,68±0,97 0,41 (0,18-8,29)	-	0,58±0,39 0,44 (0,26-2,01)	0,71±1,24 0,36 (0,18-8,29)	0,75±0,49 0,56 (0,26-1,78)	0,003 *	0,72±1,09 0,39 (0,18-8,29)	0,15
P	-	0,16	-	0,05	0,17	0,38	-	0,58	-
3. ay Ort±SS Med (min-max)	-	0,47±0,32 0,33 (0,26-1,32)	-	0,34±0,1 0,31 (0,26-0,46)	0,54±0,38 0,33 (0,26-1,32)	0,35±0,06 0,34 (0,28-0,43)	0,84	0,5±0,34 0,34 (0,26-1,32)	0,61

HÖ: İlk 6 saatte/hipotermi öncesi, HS: Postnatal 72. saat/hipotermi sonu, *: HİE-2'ye göre HİE-3'de p:0.006



Şekil 12. Kontrol ve HİE gruplarının PTX3 düzeyleri * p=0,001, ö p=0,0001, x p=0,003



Şekil 13. Kontrol ve HİE gruplarının NPTX1 düzeyleri ^xp=0,05, ^{*}p=0,006

Kord kanı veya ilk saat içinde $pH \leq 7$, baz defisiti ≥ 16 , laktat $\geq 8,8$, Apgar skoru 5. ve 10. dakikada < 5 , ileri resusitasyon uygulanan, nöbeti olan, aEEG kaydında patoloji saptanan ve işitme testinden kalan hastalarda hipotermi öncesi / ilk altı saatte PTX3 düzeyleri belirgin yüksek saptandı. İleri resusitasyon uygulanan ve işitme testinden kalan hastalarda PTX3 düzeyleri hipotermi sonu/72-96 saatte de belirgin yüksekti (Tablo 20).

Hipotermi öncesi/ilk 6 saatte $pH \leq 7$ ve > 7 , baz defisiti ≥ 16 ve < 16 , laktat $\geq 8,8$ ve $< 8,8$, ileri resusitasyon uygulanan ve uygulanmayan, 5. ve 10. dk Apgar skorları < 5 ve ≥ 5 , nöbet, aEEG'de patoloji varlığı/ yokluğu ve işitme testinden geçen ve kalan hastaların NPTX1 düzeyleri arasında fark saptanmazken; hipotermi sonrası/ 72-96 saatte $pH \leq 7$, baz defisiti ≥ 16 , laktat $\geq 8,8$, ileri resusitasyon uygulanan ve işitmeden kalan hastalarda NPTX1 düzeyleri anlamlı yüksek bulundu (Tablo 21).

Tablo 20: Pentraksin-3 düzeyini etkileyen faktörler

	İlk 6 saat PTX3	p	72/96. saat PTX3	p
pH≤7 pH>7	0.99±0.83 0.90±0.84	0,0001	0.69±0.53 0.77±0.84	0,49
Baz defisiti ≥16 Baz defisiti<16	1.05±0.86 0.86±0.81	0,0001	0.79±0.74 0.69±0.7	0,34
Laktat ≥8,8 Laktat <8,8	1.01±0.86 0.98±0.89	0,001	0.87±0.88 0.6±0.38	0,65
Apgar 5. dk <5 Apgar 5. dk ≥5	1.25±0.87 0.95±0.87	0,0001	0.95±0.96 0.71±0.66	0,1
Apgar 10. dk <5 Apgar 10. dk ≥5	1.77±1.12 0.96±0.85	0,001	1.03±0.65 0.73±0.72	0,05
İleri resusitasyon var İleri resusitasyon yok	1.53±1.12 0.87±0.76	0,0001	1.16±1.04 0.65±0.59	0,001
Nöbet var Nöbet yok	1.17±0.94 0.89±0.82	0,01	0.79±0.71 0.72±0.72	0,14
BERA patolojik BERA normal	1.59±1.14 0.8±0.67	0,0001	1.25±1.11 0.58±0.42	0,0001
aEEG patolojisi var aEEG patolojisi yok	1.06±0.87 0.77±0.72	0,01	0.82±0.79 0.59±0.42	0,1

Tablo 21: Nöronal Pentraksin-1 düzeyini etkileyen faktörler

	İlk 6 saat NPTX1	p	72/96. saat NPTX1	p
pH≤7 pH>7	0.71±0.71 0.62±0.79	0,35	0.62±1.04 0.49±0.86	0,02
Baz defisiti ≥16 Baz defisiti<16	0.69±0.69 0.64±0.8	0,52	0.63±1.09 0.49±0.83	0,02
Laktat ≥8,8 Laktat <8,8	0.69±0.76 0.66±0.77	0,49	0.67±0.99 0.47±0.87	0,02
Apgar 5. dk <5 Apgar 5. dk ≥5	0.74 ± 0.95 0.66 ± 0.73	0,96	0.52 ± 0.43 0.55 ± 0.98	0,29
Apgar 10. dk <5 Apgar 10. dk≥5	0.83 ± 1.19 0.66 ± 0.74	0,96	0.55 ± 0.93 0.52 ± 0.54	0,8
İleri resusitasyon var İleri resusitasyon yok	0.73 ± 0.71 0.66 ± 0.77	0,05	0.59 ± 0.41 0.54 ± 0.98	0,006
Nöbet var Nöbet yok	0.66 ± 0.64 0.75 ± 0.84	0,81	0.73 ± 1.13 0.5 ± 0.34	0,19
BERA patolojik BERA normal	0.72±0.72 0.69±0.7	0,43	0.72±0.5 0.66±1.08	0,01
aEEG patolojisi var aEEG patolojisi yok	0.7 ± 0.76 0.68 ± 0.77	0,55	0.9 ± 1.56 0.51 ± 0.4	0,31

MR'da patoloji varlığını öngörmesi muhtemel faktörler incelendiğinde, doğumda kardiyak masaj uygulanması (p=0,02), laktat düzeyinin >8,8 mmol/L (p=0,007), lökosit düzeyinin >22.120/mm³ (p=0,004), Sarnat skorlamasında HİE-3 saptanması (p=0,004), ilk 12 saatte (p=0,004) veya süreç boyunca konvülsiyon görülmesi (p=0,003), herhangi bir aEEG'de (p=0,01), ilk 24 saatteki aEEG'de (p=0,004), 48-72/96 saatteki aEEG'de patoloji varlığının (p=0,03) MR patolojisini öngördüğü saptandı. Tablo 22'de incelenen faktörlerin sensitivite, spesitivite, pozitif prediktif değer (PPD), negatif prediktif değer (NPD) ve toplam doğruluk oranları verilmiştir. Hipotermiden önce / ilk 6 saatte ve hipotermiden sonra / 72-96. saatlerde alınan PTX3 ve NPTX1 düzeylerinin MR patolojisini öngörme açısından anlamlı ayırt ediciliği olmadığı görüldü.

Tablo 22. Kranial MR patolojisini öngören faktörlerin değerlendirilmesi

	Sensitivite	Spesifite	PPD	NPD	Doğruluk	p
HİE-1	13,3	16,4	21	77,4	33,8	0,5
HİE-3	40	84,6	46,2	81,1	73,6	0,004
Kardiyak masaj	33,3	85,7	43,7	79,6	72,7	0,02
İlaç uygulanması	16,7	92,3	41,7	77,1	73,6	0,09
Kord/1. saat pH \leq 7.0 / baz defisiti \geq 16	62,1	38,8	25,7	75	44,7	0,08
Kord/1. saat pH \leq 7.0	52	49	26	75	51	0,9
Kord/1. saat baz defisiti \geq 16	56	55	30	78	46	0,3
Laktat \geq 8,8 mmol/L	70	59	36	86	61	0,007
Lökosit \geq 22.120/mm ³	60	69,2	39,1	84	66,9	0,004
Herhangi bir aEEG'de patoloji varlığı	81,5	46,7	35,5	87,5	55,9	0,01
Süreç boyunca aEEG'de patoloji varlığı	37	76	35,7	77	65,7	0,19
İlk 24 sa aEEG patoloji	74	52	35,7	84,7	57,8	0,02
48-72/96. sa aEEG patoloji	51,8	70,6	38,8	80,3	65,6	0,03
Nöbet varlığı	63,3	67	38,8	84,7	66,1	0,003
İlk 12 sa nöbet görülmesi	53,3	74,7	41	82,9	69,4	0,004
BERA patoloji varlığı	40	78	37,5	79,8	68,6	0,08

5. TARTIŞMA

Hipoksik iskemik ensefalopati (HİE), hipoksik-antenatal/perinatal olaylar sonucu beyne yeterli oksijen gitmemesine bağlı serebral fonksiyonun bozulması olup; neonatal ensefalopatinin en sık nedenidir (24). HİE insidansı, gelişmiş ülkelerde bin canlı doğumda 0,5-1,0, ülkemizde Türk Neonatoloji Derneği'nin 2008 verilerine göre bin canlı doğumda 2.6 olarak bildirilmiştir (4, 5, 25).

Terapötik hipotermi, term doğan orta-ağır HİE'li bebeklerde ölümü ve nörolojik sekelleri azalttığı kanıtlanmış tek nöroprotektif tedavidir (5). Hipotermi tedavisine rağmen birçok bebekte ölüm, serebral palsi, epilepsi, mental gerilik, görme veya işitme bozukluğu gibi olumsuz sonuçların engellenememesi (148), asfiktik bebeklerde nörolojik hasarı mümkün olan en erken dönemde öngören ölçülebilir, güvenilir belirteçlerin araştırılmasını gerektirmektedir.

Literatürde erkek cinsiyette tek X kromozomu (XY) mevcutken, kız/kadın cinsiyette ekstra X (XX) kromozomu varlığının mortaliteyi azalttığı, hipoksiye direnci arttırdığı bildirilmiştir (149). Çalışmamızda HİE'li bebeklerin %42'si kız iken, literatürle uyumlu olarak %58'i erkek olup, hipotermi alırken kaybedilen iki bebek de erkekti (150-153).

Çalışmamızda hafif, orta, ağır HİE sıklığı sırasıyla %23, %55, %22 olarak saptandı. Çalışmamıza benzer şekilde Xu ve ark. (154) çalışmasında (%14, %67, %20), Lemyre ve ark. (155) çalışmasında (%25, %59, %16), Chhavi ve ark. (156) çalışmasında (%30, %47, %22) orta HİE oranları, çalışmamızdan farklı olarak Lozano ve ark.(150) çalışmasında (%25, %28, %47) ağır HİE hastaları daha yüksekti.

C/S doğum veya asiste vajinal doğumun, çoğu annenin doğum komplikasyonları ile hastaneye geç başvurması, sezaryen kararının ertelenmesi, uzamış travay, vakum-forseps kullanımı nedeniyle doğum asfiksisi riskini arttırdığı bildirilmiştir (157-159). Literatürde HİE'li hastalarda C/S doğum sıklığını yüksek (%67) (160) ve düşük (%26, %43) bulan çalışmalar mevcuttur (159, 161). Çalışmamızda, C/S sıklığının HİE grubunda %45 iken, kontrol grubunda yüksek

(%90) bulunması, kontrol grubundaki doğumların elektif olmasıyla açıklandı. HİE alt gruplarında doğum şekli açısından fark saptanmadı.

Çalışmamızda, HİE ve kontrol grupları arasında, literatürle uyumlu olarak doğum ağırlığı ve gebelik yaşı bakımından fark saptanmadı (150, 152, 153).

Çalışmamızda HİE ve kontrol gruplarında sırasıyla anne yaşı $29,7\pm 5,4$ ve $28,3\pm 5,9$ yıl, gebelik sayısı $2,4\pm 2,0$ ve $2,4\pm 1,6$, doğum sayısı $1,2\pm 1,7$ ve $0,9\pm 1,0$ olup gruplar arasında fark saptanmadı. Anne yaşı, Üstün ve ark. çalışmasında ($29,2\pm 6,4$ yıl) (162) çalışmamıza benzer, Lundgren (159), Liljestrom ve ark. (163) çalışmalarında (31 yıl ve $31,0\pm 5,2$ yıl) sonuçlarımıza yakındı. Literatürde ileri anne yaşı (>35 yaş) ile 5. dakika Apgar skoru düşüklüğünü ilişkili (164-166) ve ilişkisiz (167) bulan çalışmalar bulunmaktadır. Çalışmamızda ileri anne yaşı ile Apgar skoru düşüklüğü arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

Asfiksi etiyolojisinde kabul edilmemekle beraber, ülkemizde yapılan bir çalışmada (168) serebral palsili hastalarda akraba evliliği oranı %52 bulunurken, bizim çalışmamızda akraba evliliği oranı HİE'li hastalarda %16, kontrol grubunda %0 bulundu. HİE alt gruplarında, HİE-3'de en yüksek (%23) olmakla birlikte, akraba evliliği açısından istatistikî fark saptanmadı.

Çalışmamızda HİE grubunda başlıca risk faktörleri maternal diyabet (%8,3), eklampsi/preeklampsi (%3,4), fetal distress (%45,8), uzamış eylem (%44,4), mekonyum aspirasyon sendromu (%12,5), kord düğümlenmesi (%9), vakum/forseps kullanımı (%7,6), plasenta previa/ablasio plasenta (%3,4), kord prolapsusu (%0,6), EMR (%5,5), intrauterin gelişme geriliği (%4,1), annenin ilaç kullanımı (%6,9), çoğul gebelik (%2), mekonyum boyalı amniyon sıvısı (%24: %50'sinde mekonyum aspirasyonu), postmaturite (%7,6), olarak bulundu. Fetal distress hipotermi alan hastalarda, EMR, HİE-1'e göre HİE-2'li bebeklerde istatistikî olarak anlamlı yüksek saptandı. Kune ve ark. (158) çalışmasında uzamış eylem, makat geliş, sezaryen ve müdahaleli vajinal doğum ve düşük doğum ağırlığı, Peebles ve ark. (169) çalışmasında nulliparite, plasental abrupsiyon, uterus rüptürü, mekonyumlu amniyon sıvısı ve C/S doğum, Locatelli ve ark. (165) çalışmasında nulliparite asfiktik doğum HİE gelişimi için risk faktörleri olarak saptanmış. Rossi ve ark. (170) 1766 olguyu,

12 HİE çalışmasını kapsayan metaanalizde (2019), çalışmamızdan farklı olarak HİE'li bebeklerde acil sezaryen (%61), mekonyumlu amniyon sıvısı (%32), koriyoamniyonit (%11) ve IUGR (%9) sıklığının kontrol grubuna oranla yüksek olduğu saptanmış. Liljestrom ve ark. (2018) (163) çalışmasında nulliparite, C/S doğum, postmaturite, oksiput posterior prezentasyon ve iri doğum ağırlığı (>4000 gr); Sunny ve ark. (171) çalışmasında müdahaleli vajinal doğum, fetal distress, postmaturite ve erkek cinsiyet asfiktik doğum ve HİE gelişiminde öncül sebepler olarak bulunmuş. Xu ve ark. (154) çalışmasında asfiktik bebeklerde kord dolanması %36, plasenta abrupsiyonu %15, kord prolapsusu %6, uterus rüptürü %4, plasenta previa %4, maternal hipertansiyon %6, maternal diyabet %16 sıklıkta bulunmuş olup, çalışmamızın sonuçlarından yüksektir.

HİE gelişiminde mekonyumlu amniyon sıvısının risk faktörü olarak önemi çalışmalarda farklı değerlendirilmektedir. Amniyotik sıvıda mekonyum varlığı ile HİE arasında ilişki saptanmayan (158) çalışmalar yanında, amniyon sıvısında mekonyum varlığı ile HİE arasında ilişki bildiren çalışmalar son yıllarda yayınlanmaya başlanmıştır (152, 169-171). Çalışmamızda HİE grubunda amniyon sıvısında mekonyum varlığı %24, mekonyum aspirasyon sendromu sıklığı %12,5 olup; belirgin yüksek saptandı. HİE-1'de kranial MR'da patoloji saptanan dört bebekten ikisinde amniyotik sıvı mekonyumlu olup; bu iki bebeğin aEEG kaydı alınmamıştı.

Hipotermiye ne kadar erken başlanırsa nörolojik prognozun o kadar iyi olacağı, reperfüzyondan 90 dk sonra hipotermiye başlanan kuzularda, 5.5 saat sonra başlanana göre beyaz cevher hasarının daha az olduğu (41, 172), hastayı referans merkeze göndermeden hipotermi başlanması halinde terapötik hipotermi hedeflerine (33-34°C) daha kısa sürede ulaşılacağı bildirilmiştir (155). Çalışmamızda HİE saptanan hastaların vücut ısılarının yoğun bakıma kabülde $35,0\pm 1,4^{\circ}\text{C}$ olduğu; hipotermi alan hastalarda ($34,7\pm 1,4$), hipotermi almayan HİE-1 hastalara göre ($35,7\pm 1,3$) belirgin düşük olduğu ($p=0,0001$) görüldü. Bu bulgular, hipotermi ihtiyacı olan hastaların klinik bulgularının daha kötü olduğunu ve pasif hipotermiye doğum salonundan itibaren başladığını, bu durumun, terapötik hipotermi hedefine daha hızlı ulaşılmasını sağladığını düşündürdü.

Çalışmamızda HİE grubundaki olguların %79'una resusitasyon (%61'ine sadece PBV, %18'ine ileri resusitasyon (%9'una PBV+kardiyak masaj, %9'una PBV+kardiyak masaj+ilaç) uygulandı. Hipotermi uygulanan hastalarda, hipotermi almayanlara göre resusitasyon (%85 ve %61), PBV (%64 ve %52) ve ileri resusitasyon (%12 ve %0) uygulama oranları istatistikî olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0,008$ $p=0,009$ $p=0,02$). Kardiyak kompresyon sıklığının HİE-2'ye göre HİE-3'de (%4 ve %23), ilaç uygulanma sıklığının HİE-1 ve HİE-2'ye (%0 ve %4) göre, HİE-3'de (%32) belirgin arttığı görüldü.

Locatelli ve ark. (151) çalışmasında HİE'li hastalarda resusitasyon oranı (%75) ve HİE-1,2,3 hasta oranları çalışmamıza benzerdi. El-Gamasy ve ark. (153) çalışmasında resusitasyon oranı (%45) düşük; HİE-1 hasta (%45) oranı çalışmamıza göre yüksek saptandı. Lozano ve ark. (150) çalışmasında kardiyak kompresyon ve ilaç oranları (%72) çalışmamızdan (%19,4) yüksek olup; HİE-3 hasta oranları (%47) çalışmamızdan (%21,5) yüksek, ortalama 5.dakika Apgar skoru (5) çalışmamızdan (6,4) düşüktü. Lemyre ve ark. (155) çalışmasında kardiyak kompresyon oranı (%36) yüksek olup; çalışmaya dâhil edilen hastaların 10. dakika Apgar skoru (mediyan 4,5) bizim sonuçlarımızdan (mediyan 8) belirgin düşüktü. Doğumda kardiyak kompresyon uygulanmasının MR patolojisini öngörmeye sensitivite, spesitivitesi, PPD, NPD sırasıyla %33,3, %85,7, %43,5, %79,6 (toplam doğruluk %72,7, p -kappa=0,02) saptandı. Doğumda ilaç uygulanması ($p=0,09$) MR patolojisi öngörmeye anlamlı saptanmadı.

Çalışmamızda HİE grubunda kontrol grubuna göre kord/1.saat kan gazında pH ($6,98\pm0,17$ / $7,16\pm0,14$, $7,34\pm0,04$) düşük, baz defisiti ($-15,0\pm5,6$ / $-11,2\pm5,9$, $-3,2\pm1,7$) ve laktat ($11,1\pm11,3$, $1,9\pm0,64$) yüksek ($p<0,001$) saptandı. El-Gamasy ve ark. (153) çalışmasında da HİE'li hastalarda kontrol grubuna göre 1.dakika ($2,5\pm0,5$, $6,3\pm0,8$) ve 5. dakika ($5\pm0,8$, $8,7\pm0,6$) Apgar skorları ve pH ($7,03\pm0,13$, $7,39\pm0,03$) düşük, baz defisiti ($-11,1\pm3,5$, $-0,55\pm0,23$) yüksek saptanmış. Lemyre ve ark. (155) çalışmasında HİE'li hastalarda pH: $6,92\pm0,17$, BE: $-17,2\pm7,2$; Locatelli ve ark. (151) çalışmasında pH: $7,05\pm0,11$, BE: $14,1\pm2,3$ olarak saptanmış. Ruhfus ve ark. (173) çalışmasında, hipotermi uygulanan ve kranial MR'da patoloji saptanan bebeklerde 5. ve 10. Apgar skorları ve doğumdan sonraki ilk saat içinde pH düşük, nöbet geçirme

ve hipotermi öncesi Sarnat skoru yüksek, aEEG'nin normalleşme süresi daha uzun saptanmış. Bizim çalışmamızda da kranial MR'da patoloji saptanan bebeklerde 5.dk (p=0.003), 10.dk (p=0.001) Apgar skorları daha düşük, nöbet sıklığı daha yüksek (p=0.02) saptanmış olsa da; kranial MR'ı normal ve patolojik olanlar arasında kan gazında pH ve baz defisiti, aEEG'nin normalleşme süresi bakımından fark gösterilememiş olup (p>0.05) kranial MR patolojisini öngörmeye kord/1. sa pH≤7.0 değerinin sensitivite, spesitivitesi, PPV, NPD sırasıyla %52, %49, %26, %75 (toplam doğruluk %51, p-kappa=0,9) iken; kord/1. saat baz defisiti ≥16 değerinin %56, %55, %30, %78 (toplam doğruluk %46, p-kappa=0,3) saptandı.

Hipoksi sırasında gelişen oksijen ve substrat yetmezliği aerobik metabolizmanın anaerobik metabolizmaya kaymasına ve laktat artışına neden olmaktadır. Beyin oksijenasyonu ve mitokondri disfonksiyonunun bir göstergesi olarak kabul edilen laktat artışı, çalışmalarda fetal asfiksi ve HİE tanısında, HİE şiddeti ve prognozunun belirlenmesinde kullanılmıştır (174-177). İki farklı çalışmada, fetal asfiksi tanısında laktatın 4.8 mmol/l ve 8 mmol/l'den yüksek düzeylerinin pH değerinden daha duyarlı olduğu belirtilmiş (175, 176), Van Ahn ve ark. (177) çalışmasında, HİE tanısında laktat düzeyinin kestirim değeri 8,1 mmol/L olarak bulunmuş. Laktat düzeylerinin, hafif ensefalopatiye göre orta/ağır HİE'li bebeklerde (7.1±4.7 ve 11.09±4.6) belirgin yüksek olduğu, 9 mmol/L'den daha yüksek değerlerin orta-ağır ensefalopati ile 14 mmol/L'den yüksek değerlerin kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmiş (178-180). Einikyte ve ark. (180) çalışmasında ise, asfiktik hastalarda kontrol grubuna göre laktat (6.4±2.3 ve 3.6±1.8) yüksek olsa da, kısa dönem prognozu öngörmeye üstünlüğü olmadığı bildirilmiş. Bizim çalışmamızda da, HİE grubunun laktat düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı yüksek (11,0±11,3 ve 1,9±0,6) ve hafiften ağıra doğru HİE şiddeti arttıkça laktat değerinin arttığı (6,2±3,3, 11,5±7,2 ve 12,9±13,9) saptandı. Laktat düzeyinin ≥7,4 mmol/l olması orta/ağır ensefalopati (%68 duyarlılık, %72 seçicilik), ≥8,8 mmol/L saptanması MR'da patoloji (%70 duyarlılık, %59 seçicilik) ile ilişkili bulundu.

Neonatal ensefalopatinin nörogelişime etkileri klinik, nörogörüntüleme, fizyolojik ve biyokimyasal ölçümlerle değerlendirilmeye çalışılmış; bu amaçla Apgar skoru, doğum odasında entübasyon, umbilikal kanda baz defisitinin >20 olması,

Sarnat skorlama sistemi ve hayatın ilk 6 saatinde çekilen aEEG nörogelişimi öngören belirteçler olarak kullanılmış. Ayrapetyan ve ark. (181) çalışmasında HİE'li bebeklerin %63'ünün aEEG'sinin patolojik olduğu, %43'ünde 10. dakika Apgar skorunun ≤ 4 olduğu ve ilk altı saatte hipotermi başlandığı bildirilmiş. Çalışmamızda, HİE-3 hasta oranları benzer olmakla birlikte, 10. dakika Apgar skoru ≤ 4 olan hastalarının oranının daha düşük (%4) olması ve pasif ve terapötik hipotermiye ilk üç saat içinde başlanması, çalışmamızda aEEG'de patoloji sıklığının daha düşük olmasını ve hipotermi sonunda (%53'den %34'e) azalmasını açıklayabilir.

Son yıllarda aEEG, perinatal asfiksiden sonra potansiyel terapötik hipotermi adaylarının belirlenmesi, nöbetlerin saptanması ve hipotermi alan ve almayan bebeklerde nörolojik prognozun öngörülmesi için yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (88, 148, 182). Çalışmamızda hastaların %80'ine (n:115) aEEG çekildi, HİE-1 grubunda aEEG çekilen bebeklerin (n=8) tümünde aEEG normal saptanırken; hipotermi uygulanan hastaların %57'sinde aEEG'de patoloji, %32'sinde izlem boyunca patoloji saptandı. Hipotermi uygulanan hastalarda aEEG'de orta+ağır patoloji sıklığı ilk 24 saatte %57 24-48 saatte %51, 48-72/96 saatte %36 idi.

Hipotermi tedavisi almayan term asfiktik bebeklerde ilk 6 saat içinde çekilen aEEG, nörolojik sonuçların öngörülmesinde en güvenilir belirteç olarak kabul edilmektedir. Ancak, hipotermi tedavisi fizyolojik prosesleri ve nörolojik sonuçları değiştirdiğinden; bu tedavinin yaygınlaşmasıyla, asfiktik hastaların perinatal yönetimi, klinik değerlendirme ve tanı araçlarının prognostik değeri değişmiştir (183, 184). Halen erken ve geç nörolojik sonuçların değerlendirilmesinde aEEG'de iki skor sistemi, voltaj ve zemin paternleri, kullanılmaktadır: aEEG zemin aktivitesinin alt ve üst voltaj sınırlarını değerlendiren voltaj paterni (normal, orta, ağır) TOBY ve CoolCap çalışmalarında hipotermi tedavisine kabul edilecek asfiktik bebeklerin seçiminde kriter olarak kullanılmış. Çalışmamızda tanımlanması çok daha kolay olan voltaj paterni kullanıldı. Thoresen ve ark. (184), terapötik hipotermimin, HİE'li hastaların tedavisinde kullanılmaya başlanmasından sonra yapılan çalışmalarında, ilk 3-6 saat içinde alınan ve 72 saat sürdürülen aEEG kayıtları zemin paterni ve uyku/uyanıklık siklusuna göre değerlendirilerek, hipotermi alan ve almayan asfiktik

hastalarda nörolojik sonuçların öngörü değeri araştırılmış. İlk 6 saatte aEEG’de normal zemin paterninin hipotermi alan ve almayan hastalarda normal prognozu öngörebildiği gösterilmiş. İlk 6 saatte aEEG’de patolojik zemin paterninin kötü nörolojik sonuçları öngörmeye pozitif prediktif değeri hipotermi almayanlarda %84 iken, hipotermi alanlarda %59 bulunmuş ve erken aEEG paterninin hipotermi alanlarda nörolojik sonuçları öngörmeye kullanılamayacağı belirtilmiş. Hipotermi almayan hastalarda aEEG doğumdan 24 saat sonra düzelse dahi normal prognoz çok olası değilken, hipotermi alan olgularda aEEG 48 saatten önce düzeldiği sürece normal prognozun öngörülebileceği belirtilmiş.

Chandrasekaran ve ark. (185) 520 hastayı içeren metaanalizde(2017); hipotermi alan HİE’li bebeklerde, ilk 6 saatte anormal aEEG aktivitesine rağmen prognoz normal saptanabildiği; normal aEEG aktivitesinin olumsuz prognozu dışlayamasa da negatif prediktif değerinin yüksek olduğu; ≥ 48 saat devam eden ağır bozuk aEEG aktivitesinin kötü prognozu öngördüğü saptanmış. Obeid ve ark. (186) retrospektif çalışmasında (2016), HİE’li hastalarda ilk 24 saat içinde anormal aEEG varlığının birinci haftada çekilen kranial MR’daki beyin hasarı ve mortalite oranı ile uyumlu olduğu gösterilmiş. Bir sistematik incelemede (187),(111) hipotermi tedavisi alan HİE’li hastalarda en az 12 ay sonraki geç nörolojik sonuçların tahmininde aEEG’nin prognostik değeri araştırılmış ve hayatın ilk altı saatinde aEEG’nin öngörü değeri düşük (%59,1) iken, hipotermi sonunda yüksek (%95,7) bulunmuş. Çalışmamızda aEEG paternleri 24 saatlik dönemlerde değerlendirildi. Hipotermi uygulanmayan hastaların %24,2’sinin (n:8) aEEG kaydı olup tümü normaldi; 19’unun MR çekimi olup 4’ünde (4/19) MR patolojisi saptandı. MR patolojisi olan hastaların sadece birinin aEEG kaydı mevcut olup normaldi. Hipotermi alan hastaların 107’sinin aEEG kaydı, 102’sinin MR çekimi vardı; 26’sında (26/102) MR patolojisi saptandı. Hipotermi alanlardan ilk 24 saatte aEEG’si normal ve MR’ı mevcut olan 43 hastanın %86’sında MR normal, %14 patolojik iken; aEEG’si patolojik (n:61) ve MR’ı mevcut olan 56 hastanın %64’ünde MR normal, %36’sında patolojikti. 48. saat ve sonrasında aEEG aktivitesi ağır bozuk hastalarda (n:18) %44 oranında MR patolojisi saptandı. Hipotermi grubunda aEEG çekilen 107 hastanın %57’sinde ilk 6 saatte aEEG’de patoloji saptandı. HİE-2 ve HİE-3 hastalarda orta+ağır patoloji sıklığı ilk 24 saatte %43 / %94, 24-48 saatte %37 / %90, 48-72/96

saatte %22 / %78 olup, MR patolojisini öngörmeye ilk 24 saat aEEG'de patoloji varlığının sensitivite, spesitivitesi, PPV, NPD sırasıyla %74, %52, %35,7, %84,7 (toplam doğruluk %73,6, p-kappa=0,004) iken; 48-72/96 saat aEEG'de patoloji varlığının %51,8, %70,6, %38,8, %80,3 (toplam doğruluk %65,6, p-kappa=0,03) saptandı.

Terapötik hipoterminin, HİE'li yenidoğanlarda nörolojik prognozu ve hayatta kalma oranını iyileştirmede önemli ölçüde etkili olduğu kanıtlanmıştır (217).

Hallberg ve ark. (188) çalışmasında, hipotermi tedavisi gören HİE'li bebeklerde aEEG paterni 36-48 saat içinde düzelen 10 hastadan 4'ünde iyi prognoz gösterilirken, 24. saat ve sonrasında sebat eden ağır aEEG paterni nörolojik açıdan kötü prognozla ilişkilendirilmiş. Çalışmamızda ise aEEG paterni 24-48. saatte düzelen 10 hastadan 8'inin MR görüntülemesi normal saptanırken (%80), 24. saat ve sonrasında sebat eden ağır aEEG paternine sahip hastaların %44'ünün MR görüntülemesinde patoloji görüldü.

Nash ve ark. (189) çalışmasında (2011), terapötik hipotermi sırasında EEG aktivitesinin MR ve prognoza etkisi araştırılmış; izlemde hastaların %38'inde EEG aktivitesinde değişiklik saptanmazken; %49'unda iyileşme ve %13'ünde kötüleşme görülmüş. Hipotermi sonunda EEG'si normal olan hastaların %92'sinin, anormal olan hastaların %53'ünün MR incelemesi normal/hafif etkilenmiş olarak saptanmış. Çalışmamızda hastaların %67'sinin aEEG aktivitesinde değişiklik saptanmazken; %25'inde iyileşme ve %6'sında kötüleşme görüldü. aEEG paterni ilk 24 saat, 24-48 saat ve 48-72/96 saatte normal olan hastaların MR'ı da sırasıyla %84, %84 ve %78 oranında normal iken; aEEG paterninde orta/ağır bozukluk saptananlarda %36, %36, %39 sıklıkta MR patolojisi saptandı. Çalışmamızda orta/ağır aEEG patolojisi olan HİE'li hastaların sıklığı ilk 24 saatten hipotermi sonuna doğru %53'ten %34'e, HİE-3 hastalarda %94'ten %78'e kadar azaldı. HİE'li hastaların tümünde ve HİE-3'de MR patolojisi %24,8 ve %46,1, nöbet sıklığı %37 ve %68'di.

Biagioni ve ark. (190) çalışmasında (2001), 25 HİE'li term bebekte erken EEG ve kranial MR bulguları arasındaki ilişki araştırılmış; normal kranial MR her zaman normal EEG aktivitesi ve iyi prognoz ile ilişkili, MR'da ağır patoloji ise EEG

anormallikleri ve kötü prognoz ile ilişkili bulunmuş. Çalışmamızda aEEG’de patoloji varlığının MR patolojisini öngörme sensitivite, spesitivitesi, PPD, NPD sırasıyla %81,5, %46,7, %35,5, %87,5 (toplam doğruluk %55,9, p-kappa=0,01) saptandı. İlk 48 saatte aEEG aktivitesinin normale dönmesinin normal MR sonucu öngörme duyarlılığı, seçiciliği, PPD, NPD ve toplam doğruluk oranları %16,6, %80,7, %50, %45,6 (toplam doğruluk %53,5, p-kappa=0,9) bulundu. HİE-1 grubunda MR’da patoloji saptanan dört hastanın sadece birinin aEEG kaydı olup normaldi.

Lin ve ark. (191) çalışmasında (2021), hipotermi uygulanan 97 HİE’li bebekte klinik nöbetlerin ve aEEG paternlerinin, MR görüntülemesinde beyin hasarını ve nörogelişimsel prognozu öngörü değeri araştırılmış. Klinik nöbet saptanan hastaların %76’sında, nöbet saptanmayan hastaların %36’sında aEEG paterni bozuk izlenmiş; MR ve aEEG patolojisi olanların %94’ünde, MR ve aEEG’si normal olan hastaların %25’inde nöbet görülmüş. aEEG’si normal iken MR patolojisi olanlarda olmayanlara göre nöbet sıklığı yüksek bulunurken (p=0,003); aEEG’si bozuk iken MR’ı patolojik veya normal olan hastalar arasında nöbet sıklığı açısından fark saptanmamış. Kline-Fath’in (192) çalışmasında (2018), HİE’li yenidoğanda nöbet ve serebral hasar ilişkisi araştırılmış; nöbet görülen hastalarda nöbet görülmeyenlere oranla beyin hasarının daha fazla olduğu gösterilmiş. Kaufman ve ark. (193) çalışmasında (2003), asfiktik yenidoğanlarda klinik nöbet varlığının kranial MR patolojisi ile ilişkisi araştırılmış. Hastaların %32’sinde klinik nöbet saptandığı; nöbet aktivitesinin ağır ensefalopatinin işareti olduğu; nöbet aktivitesi ve ensefalopati şiddetinin kranial MR’da bazal ganglion anormallikleri ile ilişkili olduğu bildirilmiş. Çalışmamızda, nöbet saptanan (n:53) ve aEEG’si olan 50 hastanın 39’unda (%78), nöbet saptanmayan (n: 91) ve aEEG’si olan 65 hastanın 28’inde (%43) aEEG paterni bozuk idi. Yine nöbet saptanan (n:53) ve MR’ı çekilen 49 hastanın 19’unda (%38.7), nöbet saptanmayan (n:91) ve MR’ı olan 72 hastanın 11’inde (%15.2) MR patolojisi saptandı. Nöbet varlığı aEEG ve MR’da patoloji riskini arttırdı (p=0,007 ve p=0,02); Yine çalışmamızda HİE-3 hastalarda nöbet (%68) ve MR patolojisi (%46,1) sıklığı HİE-1 (%0 ve 21) ve 2’ye (%40 ve 18,4) göre yüksekti. Literatüre benzer şekilde ensefalopati şiddeti arttıkça nöbet ve MR’da patoloji saptanma sıklığı da arttı. (p=0,0001 ve p=0,02).

Hipotermi alan ve almayan asfiktik hastalarda beyin hasarı tanısının doğrulanması, hasarın boyutunun belirlenmesinde ve nörogelişimsel prognozun öngörülmesinde 3-7. günlerde çekilen MR ve difüzyon ağırlıklı görüntülemenin güvenilir olduğu gösterilmiş (194-196) Çalışmamızda 5-7. günde çekilen kranial MR'da patoloji sıklığı, hafif, orta ve ağır HİE gruplarında %21, %18.4 ve %46.1 olup; ağır HİE'lilerde orta HİE'lilere göre belirgin yüksek ($p=0.005$) iken, ağır ve hafif HİE grupları arasında ($p=0.08$), orta ve hafif HİE grupları arasında fark görülmedi. Hipotermi almayan hafif HİE'li hastalarda orta ve ağır HİE'li hastalara benzer oranlarda serebral hasar saptandı.

HİE'de meydana gelen serebral hasar, primer hipoksik/iskemik olayı takiben oluşan nekrotik hücre ölümü ve serebral sirkülasyonun başladığı reoksijenasyon döneminde oluşan apoptotik nöron ölümü nedeniyledir. İlk altı saat içinde başlatılan ve 72 saat sürdürülen terapötik hipotermi, nöronal apoptotik yolağı yavaşlatarak sekonder hücre ölümünü azaltmaktadır. Bu nedenle halen orta ve ağır HİE'li yenidoğanlarda mortaliteyi ve morbiditeyi azalttığı kanıtlanmış tek standart tedavi yöntemidir. Hipotermi tedavisinin hafif HİE'li hastalara uygulanmaması, eski raporlarda hafif HİE'li yenidoğanların nörogelişim skorlarının sağlıklı çocukları ile benzer olmasına dayandırılmaktadır. Ayrıca, terapötik hipotermi anneden ayrılmayı, yoğun bakıma yatışı ve invazif girişimleri gerektirdiğinden; ilaveten hipotermi tedavisine bağlı bradikardi, trombositopeni, koagülopati, subkutan yağ nekrozu gibi yan etkiler görülebildiğinden (146, 197), hatta bir hayvan çalışmasında sağlıklı beyinde apoptozu tetiklediği (51) gösterildiğinden, hafif HİE'li hastalarda hipotermi tedavisinin gereksiz olduğu düşünülmüş. Hafif HİE'li yenidoğanların yaşam oranları yüksek olsa da, detaylı nöropsikolojik ve davranış değerlendirmesi orta HİE'li hastalardan daha iyi olmadıklarını göstermiştir (198). Yeni çalışmalarda hipotermi tedavisi almayan hafif HİE'li yenidoğanlarda, hem EEG anomalileri ve MR'da patoloji gibi erken nörolojik sonuçların, hem de motor, bilişsel bozukluk gibi geç prognozun kötü olduğu gösterilmiş (197, 199-202). Rao ve ark. (197) çalışmasında (2020), hipotermi tedavisi alan hafif HİE'li hastaların %38.2'sinde MR'da patoloji saptanmış; ağırlıklı olarak beyaz cevher hasarı (%49) olmak üzere korteks hasarı (%13.4) ve derin gri cevher hasarı (%10.1) görüldüğü bildirilmiş. Hafif HİE'li hastalarda hipotermi tedavisinin etkinliğini kanıtlayan randomize kontrollü

çalışmalar olmamakla birlikte, Goswami ve ark. (203), Gagne-Loranger ve ark. (204) çalışmalarında, hipotermi tedavisi ve standart bakım alan hafif HİE'li hastalar karşılaştırıldığında, MR görüntüleri sırasıyla hipotermi alanların %41 ve %31'inde, hipotermi almayanların %62 ve %40'ında anormal bulunmuş ve hipoterminin hafif HİE'li hastalarda nöroprotektif olduğu yorumu yapılmış. Dupont ve ark. (144) çalışmasında, fetal asidemi ve nörolojik muayenede hafif HİE saptanan yenidoğanların %20'sinde memeyi emmeme, gastrostomi tüpünden beslenme, taburculukta nörolojik muayenede anormallik, MR'da patoloji, konvülsiyon ve ölüm gibi erken komplikasyonlar saptanmış ve hafif HİE'li bebeklerde hipotermi gereksinimini öngörecekle belirteçlerin önemi vurgulanmış. *Prospective research in infants with mild encephalopathy (PRIME)* çalışmasında, hipotermi almayan bebeklerde hafif HİE'nin tanısında ilk altı saat içinde Sarnat skorlamasında kullanılan üç kategoride üç orta ve ağır anomali kanıtı yerine National Institute of Child Health and Human Development (NICHD) kriterleri (perinatal asidozis ve modifiye Sarnat skorlamasında ≥ 1 anomali) kullanılmış. Çalışmanın ilk bölümünde hafif ensefalopatili bebeklerin %52'sinde taburculuğa kadar aEEG, MR ve taburculukta yapılan nörolojik muayeneden birinde ≥ 1 anomali saptanmış (199). Hafif HİE'li bebekler 18-22 aylık iken tekrar değerlendirildiğinde, %16'sında sakatlık, %40'ında kognitif, motor, dil skorlarının en az biri ≤ 85 bulunmuş (200). Montaldo ve ark. (146) çok merkezli çalışmasında, ilk altı saat içinde hipotermi başlanan ve hipotermi almayan hafif HİE'li bebeklerin erken ve geç sonuçları karşılaştırılmış; hipoterminin hafif HİE'li bebeklerde MR spektroskopi belirteçlerini düzelttiği, beyaz cevher hasarını azalttığı ve iki yaşta nörogelişim bozukluğunu önlediği gösterilmiş. Metabolik profilde değişikliğe yol açmaması nedeniyle, hafif HİE'li bebeklerde 24 saatten daha kısa süren hipoterminin etkin olmayacağı yorumu yapılmış. Benzer şekilde, fetal koyun modelinde, hafif ensefalopatide yeterli koruma için hipoterminin 48 saatte kesilmemesi, 72 saat sürdürülmesi gerektiği gösterilmiştir. Hafif hipoksik iskemik hasarda hücre ölümü daha yavaş geliştiğinden, ağır hasara göre hipoterminin nöron koruyucu etkisinin daha iyi olduğu düşünülmektedir (205). Bir prelinik çalışmada, hafif hipoksi iskemiye maruz bırakılan sıçanlarda, hipotermi tedavisinin beyaz cevher hasarını azalttığı, hafif hasarlanan beyinde hipoterminin en fazla koruma sağladığı gösterilmiş (206). Finder

ve ark. (201) çalışmasında, modifiye Sarnat skoru ile hafif ensefalopati saptanan hastaların 2-3 yaşlarında bilişsel, dil ve motor gelişimleri araştırılmış. Hipotermi almayan hafif ensefalopatili grubun bilişsel fonksiyonlarının sağlıklı kontrollere göre çok düşük olduğu, ortalama bilişsel komposit skorlarının hipotermi tedavisi alan orta ensefalopatili hastalarla benzer olduğu gösterilmiş. Çalışmamızda asfiksünün geç sonuçları araştırılmadı; ancak hipotermi almayan hafif HİE'li bebeklerde MR patolojisi sıklığı hipotermi tedavisi almış orta ve ağır HİE'li bebekler ile benzer bulundu.

Halen hafif HİE'li hastalarda ilk altı saat içinde serebral hasarı öngören nörofizyolojik bir erken markır veya görüntüleme yöntemi bulunmadığından, hafif ensefalopatinin erken nörolojik bulgularının çoğu kez tanımlayıcı olmaması ve saatler içinde değişebilmesi, maternal sedasyon, analjezik ve anesteziğin etkisi, hipotermi tedavisinin ilk altı saat içinde başlamak zorunda olması klinik bulguların değerlendirilmesini güçleştirdiğinden, yeterli kanıt olmasa da bu hastalara da rutin olarak 72 saat süreyle hipotermi uygulanması eğilimi artmıştır (205). Ensefalopati şiddetini saptamak için halen en sık kullanılan nörolojik test modifiye Sarnat skorlama sistemidir. Hipotermi kararında, deneyimli bir neonatolog tarafından tekrar tekrar yapılan nörolojik muayenenin çok önemli olduğu vurgulanmaktadır. Nitekim neonatal hipoksik iskemik hasarın dinamik bir süreç olduğu, hafif ensefalopatili bebeklerde ilk altı saat içinde belli belirsiz olan klinik bulguların hayatın ilk birkaç günü içinde yavaş yavaş belirginleşerek %1.6-%64 sıklıkta orta/ağır ensefalopatiye ilerleyebileceği bildirilmiştir (197, 203, 204). Gagne-Loranger ve ark. (204) çalışmasında, kabülde hafif HİE tanısı alıp, aEEG'de zemin aktivitesi bozuk olduğu için hipotermi alan hastalardan dördünün, kabülde hafif HİE tanısı alan ancak hipotermi kriterlerini karşılamadığı için soğutulmayan bebeklerden altısının 24-72 saat içinde kötüleştiği, birinin kaybedildiği bildirilmiştir. Walsh ve ark. (207) çalışmasında hafif, orta ve ağır ensefalopati tanısıyla hipotermi tedavisi alan yenidoğanların %54'ünde MR'da anomali saptanmış; hafif (%54), orta (%54), ağır (%50) ensefalopatili hastalarda patoloji sıklığı farksız bulunmuş ve ensefalopati şiddetinin MR'da anomali sıklığını etkilemediği görülmüş. Hayatın ilk saatlerinde yapılan nörolojik muayene ile, MR'da patoloji saptanan ve saptanmayan hastaların ensefalopati derecesinin ayrımının iyi yapılamadığı yorumu yapılmış. Çalışmamızda

da hipotermi kararı Sarnat skorlamasına göre verildi ve ağır HİE grubunda MR patolojisi sıklığı (%46,1) en yüksek, orta HİE grubunda (%18,4) ağır hastalara göre belirgin düşük saptanmakla birlikte, Walsh ve arkadaşlarının çalışmasına benzer şekilde hafif HİE grubunda (%21) MR patolojisi sıklığı orta ve ağır HİE vakaları ile benzer bulundu. Halen kullanılan hipotermi kriterleri, serebral hasar riski yüksek olan hafif ensefalopati hastaları kapsamadığı için daha iyi tarama yöntemlerine ya da hipotermi veya asidoz kriterlerinin genişletilmesine ihtiyaç olduğu belirtilmektedir (203, 208). İlk altı saatte nörolojik muayene ile hafif ensefalopati saptanan ve aEEG’de zemin aktivitesi normal olan hastalarda serebral hasar gelişmediği; bu nedenle hipotermi kararında nörolojik muayene yanında aEEG kayıtlarının da değerlendirilmesi gerektiği bildirilmiştir (204).

Orta/Ağır ensefalopatik hastalarda serebral hasarın daha çok akut perinatal sentinel olaylarla ilişkili olduğu, bu nedenle bu hastaların hipotermiden daha çok faydalanacakları yorumu yapılmış (197). Shankaran ve ark. (209) çalışmasında (2017), orta-ağır HİE’li 136 yenidoğanda perinatal sentinel olay ve MR patolojisi ilişkisi araştırılmış; 76 hastanın kranial MR’ında patoloji saptandığı; perinatal sentinel olay geçiren bebeklerde bazal ganglion-talamus etkilenme oranının yüksek olduğu bildirilmiş. Hafif HİE’li hastalarda doğumda fetal distress öyküsü ile ilişki saptanamadığı; HİE’nin daha çok devam eden intrauterin olaylarla ilişkili olduğu; bu nedenle gri cevher hasarı olan hafif HİE’li hastaların hipotermiden yararlanabilecekleri yorumu yapılmış (197). Bizim çalışmamızda da literatüre benzer şekilde perinatal sentinel olay geçirenlerde geçirmeyenlere göre MR patoloji sıklığı (%34 ve %24) daha yüksek bulunsa da istatistikî açıdan anlamlı fark yoktu ($p=0,4$).

Jain ve ark. (210) çalışmasında (2017), hipotermi uygulanan hastaların %47’sinde MR görüntülemesi normalken; hafif, orta, ağır etkilenme sıklığı %28, %15 ve %10 olarak saptanmış. Kranial MR’ı orta/ağır etkilenmiş bebeklerde normal/hafif etkilenenlere göre kord pH belirgin düşük, baz defisiti ve Sarnat HİE-2 (%40) ve HİE-3 (%55) ensefalopati sıklığı yüksek bulunmuş. Çalışmamızda MR’da patolojisi olan hastalarda resusitasyon, aEEG’de patoloji, nöbet, ilk 12 saatte nöbet sıklığı, laktat ve lökosit düzeyleri yüksek, 5. ve 10. dk Apgar skorları düşük saptandı.

Serebral hipoksi-iskemi (HI) ile meydana gelen nöron hasarı, glutamat reseptörlerinin NMDA ve AMPA alt tiplerinin aşırı uyarılması, oksidatif stres ve apoptotik hücre ölümünün aktivasyonu ile karakterizedir. Hem sinaptik remodeling hem de nöronal apoptozda önemli rol oynadığı düşünülen bir protein olan nöronal pentraksin-1 (NPTX1), nöronal pentraksin ailesinin bir üyesidir (15). Ağırlıklı olarak hipokampus, beyincik ve serebral korteks nöronlarında eksprese edilen NPTX, hipoksik-iskemik stres altında indüklenen ve nöronal ölüm programını başlatan proteinlerden biridir (211). Literatürde bildiğimiz kadarıyla HİE'li yenidoğanlarda PTX3 ve NPTX1 düzeylerini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır.

Ma ve ark.nın klinik çalışmasında (212) NPTX1'in, hafif bilişsel bozukluk ve erken evre Alzheimer hastalığında eksitator sinapslarda erken değişiklikler ile ilişkili potansiyel bir biyobelirteç olabileceği öne sürülmüş. Hossain ve ark. (13, 14) deneysel çalışmasında, sıçanlarda NPTX1'in hipoksik-iskemik beyin hasarındaki rolü araştırılmış; NPTX1'in hipoksi/iskemi tarafından tetiklenen eksitotoksik kaskadın bir parçası olduğu, eksitator glutamat reseptörü AMPA'nın alt birimi (GluR1) ile spesifik etkileşimi ve ortak lokalizasyonu olduğu bildirilmiş; NPTX'in yenidoğan sıçan beyinde hipoksik-iskemiden sonra doku kaybından önce indüklendiği, NPTX1 gen inhibisyonunun hipoksik nöron ölümüne karşı nöroprotektif olduğu gösterilmiş. Serebral korteks ve hipokampusta artan NPTX1 proteinlerinin varlığının en az yedi gün süreyle devam ettiği bildirilmiş, NPTX1 indüksiyonunun GluR1 ve muhtemel diğer eksitator glutamat reseptörleri ile etkileşime girerek hipoksik/iskemik hasara aracılık ettiği öne sürülmüş. Başka bir çalışmada, yenidoğan fare serebral hipoksi-iskemi modelinde NPTX1'in genetik delesyonunun hipoksi/iskemi sonrası beyin hasarını önlediği saptanmış (213). Hipoksik-iskemiden sonra NPTX1'in hücre dışı salınımının, sinaptik bölgelerde Glutamat reseptör-1(GluR1) yoluyla nöronal ölümü tetiklediği gösterilmiş (211). Clayton ve ark. (214) çalışmasında, NPTX1'in mitokondride BAX birikimini kolaylaştırdığı ve yenidoğan rat hücre kültüründe serebellar granül nöronlarında apoptoz sırasında mitokondriyal dinamikleri düzenlediği gösterilmiş.

Al Rahim'in çalışmasında (215), NPTX1'in, GluR1 ile birlikte lokalize olduğu, glukoz ve oksijen yokluğuna maruz kalan hipokampal nöronlarda sinaptik

bölgede GluR1 ekspresyonunu arttırdığı, NPTX1 mRNA delesyonunun, hipokampal nöronlarda hipoksik-iskemik nöronal ölümü önlediği gösterilmiş. Aynı grubun başka bir çalışmasında NPTX1'in mitokondride sitokrom C'nin salınımında ve kaspaz-3 aktivasyonunda düzenleyici rolü olduğu ve bu sayede mitokondri kaynaklı hipokampal hücre ölümünü düzenlediği gösterilmiş (216).

Bizim çalışmamızda HİE ve alt gruplarında NPTX1 düzeyleri daha yüksek olsa da, hipotermi öncesinde HİE/kontrol grubu arasında ve HİE alt grupları arasında NPTX düzeyleri bakımından istatistikî olarak anlamlı fark yoktu. Hipotermi alanlar ve almayanlar karşılaştırılınca hipotermi alanlarda, NPTX1 düzeylerinin sınırdan yüksek olduğu ($p=0,05$) görüldü ve hastalığın şiddeti arttıkça nöronal etkilenme dolayısıyla NPTX düzeylerinin pencere döneminden ($2,7\pm 1,8$ saat) itibaren arttığı yorumu yapıldı. Hipotermi sonunda HİE alt grupları arasında NPTX1 düzeylerinde belirgin farklılık saptandı. Hipotermi alanlar ve almayanlar arasında fark saptanmamakla birlikte hipotermi sonunda, asfiksiden daha az etkilenen HİE-1 hastalarda NPTX düzeylerinin azaldığı; HİE-2 hastalarda değişmediği, HİE-3 hastalarda arttığı görüldü ve hipotermiye rağmen asfiksinin şiddeti ile orantılı olarak nörolojik etkilenmenin devam ettiği düşünüldü. NPTX'in MR patolojisini öngörmediği görüldü. Hipotermi alırken kaybedilen iki hastadan birinde NPTX düzeyleri düşükken ($0,33\text{pg/ml}$), diğerinde yüksek ($2,2\text{ pg/ml}$) olması yorumlanamadı.

$\text{pH} \leq 7$ ve >7 , baz defisiti ≥ 16 ve <16 , laktat $\geq 8,8$ ve $<8,8$, ileri resusitasyon uygulanan ve uygulanmayan, 5. ve 10. dk Apgar skorları <5 ve ≥ 5 , nöbet aEEG'de patoloji varlığı/ yokluğu ve işitme testinden geçen ve kalan hastaların NPTX1 değerleri karşılaştırıldığında, hipotermi öncesi/ilk 6 saatte fark saptanmazken; hipotermi sonrası/ 72-96 saatte $\text{pH} \leq 7$, baz defisiti ≥ 16 , laktat $\geq 8,8$, ileri resusitasyon uygulanan ve işitmeden kalan hastalarda NPTX1'in anlamlı yüksek olduğu görüldü. NPTX1'in hipotermi tedavisine rağmen geç dönemde yüksek olması, asfiksinin ağırlığına işaret edebilir.

Pentraxin ailesinin bir diğer üyesi ve bir akut faz reaktif proteini olan Pentraxin 3 (PTX3)'ün, inflamasyon bölgesinde immün sistem hücreleri ve endotelde sentezlenmesi nedeniyle inflamasyonun gerçek bağımsız bir göstergesi

olduğu ve pro-/anti-inflamatuar dengede temel role sahip olduğu bildirilmektedir. PTX3 direk hasarlı doku tarafından salınmakta, vasküler yapının inflamatuvar durumunu doğrudan yansıtmaktadır (137, 138).

Kord kanı veya ilk saat içinde $pH \leq 7$, baz defisiti ≥ 16 , laktat $\geq 8,8$, Apgar skoru 5. ve 10. dakikada < 5 , ileri resusitasyon uygulanan, nöbeti olan, aEEG kaydında patoloji saptanan ve işitme testinden kalan hastalarda hipotermi öncesi / ilk altı saatte PTX3 düzeyleri belirgin yüksek saptandı. İleri resusitasyon uygulanan ve işitme testinden kalan hastalarda PTX3 düzeyleri hipotermi sonu/72-96 saatte de belirgin yüksekti. Yine PTX3 düzeylerinin HİE-3 hastalarında hipotermiden önce HİE-2 hastalarına göre, hipotermiden sonra HİE-1 ve HİE-2 hastalarına göre anlamlı yüksek saptanması, hastalığın şiddeti arttıkça inflamasyonun şiddetinin de arttığını göstermektedir. Lokal inflamasyon belirteci PTX3 düzeyinin asfiksiden ağır etkilenen bebeklerde yüksek olması, HİE'nin aynı zamanda bir inflamasyon hastalığı olduğu bilgisi ile örtüşmektedir. Asfiksiden ağır etkilenen hastalarda PTX3 düzeylerinin hem hipotermiden önce, hipotermiden sonra azalmakla birlikte hem de hipotermiden sonra halen anlamlı yüksek saptanması, ancak 3. ay kontrollerinde düşmesi, ağır HİE grubunda inflamasyonun 72-96. saatte de devam ettiğini göstermektedir. Hipotermi sonunda PTX3 düzeylerinin kısmen azalması, hipotermimin mikrogliya aktivasyonunu, IL-1 β ve polimorfonükleer lökosit akümülyasyonunu inhibe eden anti-inflamatuar özellikleri ile açıklanabilir (217).

Yetişkinlerde yapılan iskemik inme (18), akut serebral infarkt (19), obstrüktif apne sendromu (218) gibi klinik çalışmalarda, PTX3 hastalığın şiddeti ve kötü prognoz ile ilişkili bulunmuş. Ryu ve ark. (18) çalışmasında, iskemik inme geçiren hastalarda PTX3 düzeyinin arttığı, yüksek PTX3 seviyelerinin, iskemik inme sonrası yüksek mortalite ile ilişkili olduğu saptanmış. Qin ve ark.nın (19) çalışmasında (2016), akut serebral enfaktlı hastalarda plazma PTX3 seviyelerinin önemli ölçüde yükseldiği, yüksek PTX3 seviyelerinin hastalığın şiddeti ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu gözlenmiş. Sozer ve ark. (218) çalışmasında (2017), obstrüktif apne sendromlu (OAS) hastalarda, kontrol grubuna göre PTX3 düzeyinin yüksek olduğu, PTX3 ile minimum oksijen saturasyonu arasında negatif bir etkileşim olduğu saptanmış ve inflamasyonun önemi vurgulanmış. Çalışmamızda HİE grubunda

kontrol grubuna göre, ağır HİE grubunda HİE-2 grubuna göre PTX3 düzeyinin artışı, yukardaki örneklerde olduğu gibi hastalığın şiddeti ile inflamasyonun artışı olarak değerlendirildi.

Yetişkin farelerde yapılan deneysel çalışmalarda PTX3 artışının kötü prognoz ve mortalite ile ilişkili olduğu gösterilmiş. Chen ve ark. (219) çalışmasında, akut iskemik böbrek hasarı oluşturulan yetişkin farelerde böbrekte ve plazmada PTX3'ün arttığı gösterilmiş. Wild tip farelerle karşılaştırıldığında, transgenik olarak PTX3'ü çıkarılmış (knock-out) farelerde, hem fonksiyon hem de morfolojik açıdan renal iskemik reperfüzyon hasarının iyileştiği gözlenmiş. Souza ve ark. (21) çalışmasında, iskemiye maruz kalan PTX3^{-/-} yetişkin farelerin fenotipi ve superior mezenterik arterin reperfüzyonu değerlendirilmiş. Normal farelerde reperfüzyondan sonra hem serumda hem de bağırsaklarda PTX3 seviyelerinin yükseldiği ve belirgin doku hasarı olduğu; PTX3^{-/-} farelerde, doku hasarının inhibe edildiği ve sitokin üretiminin azaldığı saptanmış. Reperfüzyondan önce intravenöz PTX3 uygulamasının, PTX3^{-/-} farelerde doz bağımlı olarak doku hasarına neden olduğu ve mortaliteyi arttırdığı gösterilmiş. Akut reperfüzyonla ilişkili inflamasyon, doku hasarı ve mortalitenin belirlenmesinde PTX3'ün önemli bir rolü olduğu öne sürülmüş.

Bu çalışmalardan farklı olarak, miyokardiyal iskemi reperfüzyon (I/R) (20, 220), renal İ/R (221, 222), akut serebral I/R (223, 224) hasarı ve akut inme (225-227) oluşturulan yetişkin farelerde, PTX artışının miyokardiyal, renal ve serebral koruma sağladığı gösterilmiş. Zhu ve ark. (20) çalışmasında (2013), miyokardiyal iskemi /reperfüzyon hasarı oluşturulan yetişkin farelerde 24 saat sonra serum ve miyokardda PTX3 seviyelerinin belirgin arttığı ve 48 saat süreyle kontrol grubuna göre yüksek seviyede kaldığı, PTX3'ün kardiyomiyosit apoptozu ve nötrofil/makrofaj infiltrasyonunu azaltıp, hemodinamik performansı düzelterek; Shimizu ve ark. (220) çalışmasında (2015), miyokardiyal iskemi /reperfüzyon (I/R) hasarı oluşturulan farelerde, üretilen PTX3'ün nötrofil infiltrasyonunu, ROS oluşumunu ve inflamatuvar sitokin birikimini azaltarak miyokardiyal I/R hasarına karşı kardiyak koruma sağladığı gösterilmiş. Lee ve ark. (221) deneysel çalışmasında, akut renal iskemiden sonra ekzojen PTX3'e maruz bırakılan hücrelerde ROS üretiminin azaldığı, mitokondrial membranın stabilize edildiği ve kaspaz-3 aktivitesinin azalarak

apoptotik yolağın bastırıldığı ve renal tübüler hücrelerin iskemiden korunduğu belirtilmiş. Benzer şekilde Lech ve ark. (222) çalışmasında, farelerde oluşturulan renal iskemide, böbrekte PTX3 ekspresyonunun ve serum düzeylerinin arttığı; PTX3 eksikliğinin, masif tübüler nekroz ve postiskemik akut böbrek hasarını arttırdığı gösterilmiş.

Grande ve ark. (223) çalışmasında, yetişkin farelerde oluşturulan iskemide PTX3'ün nörogenez ve anjiogeneze aracılık ederek fonksiyonel iyileşmeye katkısı olduğu saptanmış. Aynı grubun diğer bir çalışmasında (2014), yetişkin farelerde iskemik beyin hasarından sonra proinflamatuvar sinyallerle (özellikle IL-1) indüklenen PTX3'ün ödem rezolüsyonu ve glial skar gelişiminde önemli rol oynadığı saptanmış (224). Akihiro ve ark. (225) çalışmasında (2016), farelerde inmenin akut fazında, peri-enfarktüs bölgesindeki reaktif astrositlerin PTX3 üretimini artırarak vasküler endotelial faktör ilişkili mekanizmalarla kan beyin bariyerini desteklediği gösterilmiş. Rajkovic ve ark. (226, 227) çalışmasında (2019), iskeminin geç döneminde PTX3(-) farelerde, PTX3(+) farelere oranla daha fazla nöronal ölüm görüldüğü, PTX3'ün nöroinflamasyon sırasında santral sinir sisteminde nötrofil göçünü düzenlediği gösterilmiş. Bu sonuçtan yola çıkarak, nöroinflamasyon durumlarında PTX3'ün tedavide önemli olabileceği öne sürülmüş.

Bizim çalışmamızda, hipotermi alırken kaybedilen iki hastanın PTX3 düzeyleri 0.26 ve 0.31 pg/ml olup, hipoksi/iskemi hasarı görmeyen kontrol grubunun PTX3 sonuçları (0.24±0.02) ile benzer, HİE (0.99±0.87) grubunun PTX3 düzeylerinden belirgin düşüktü (Tablo 18). Ağır HİE vakası olmalarına rağmen, kaybedilen bu iki bebeğin PTX3 düzeylerinin düşük olması, hipoksi/iskemiye inflamasyon cevaplarının olmadığını, innate immünitadaki bu bozukluğun mortalitenin nedeni olabileceğini düşündürdü. Hipoksi/iskemiye cevap olarak, hipoksi/iskemiinin şiddetine paralel olarak ilk 6 saat içinde artan PTX3, HİE'nin şiddetini öngören bir belirteç olarak değerlendirilebilir.

Çalışmamızdaki Kısıtlılıklar:

- 1- HİE gruplarında bazı hastaların kord kan gazı / 1. saat kan gazı, aEEG kaydı ve MR görüntülemesi verilerinin olmaması
- 2- NPTX1 ve PTX3 düzeylerinin ilk altı saatten sonra beyin ödemi bulgularının çıktığı 24. saatte de çalışılması daha doğru sonuçlara ulaşmamızı sağlayabilirdi.
- 3-Kan-beyin bariyeri bozukluğunu gösteren GFAP gibi bir ek belirtecin çalışılması, kan-beyin bariyeri bozulan bebekleri saptamamızı ve bu bebeklerde doğum (Apgar, kan gazı, ileri resusitasyon ihtiyacı) klinik (Sarnat sınıflaması, aEEG) ve radyolojik özelliklerin değerlendirilmesi daha doğru sonuçlara ulaşmamızı sağlayabilirdi.
- 4- PTX3 ve NPTX'in beyin omurilik sıvısında çalışılması nöronal doku hasarının öngörülmesinde daha doğru sonuçlar verebilirdi.

6. SONUÇ

Çalışmaya gebelik yaşı ≥ 36 hafta, doğum ağırlığı > 1800 gr olan perinatal asfiksili doğan 144 yenidoğan (HİE grubu) ve 30 sağlıklı term yenidoğan (Kontrol grubu) alındı.

1- HİE etyolojisinde fetal distress %45, uzamış eylem %44, mekonyum boyalı amniyon sıvısı %24, kord düğümlenmesi %9, annede diyabet %9, vakum/forseps kullanımı %8, postmaturite %8, annede ilaç kullanımı %7, EMR öyküsü %6, intrauterin gelişme geriliği %4, eklampsi/preeklampsi %4, plasenta previa/ablasio plasenta %3, çoğul gebelik %2, kord prolapsusu %0,6 sıklıkta saptandı.

2- HİE grubundaki olguların %79'una resusitasyon, %18'ine ileri resusitasyon uygulandı. Hipotermi alan hastalarda, hipotermi almayanlara göre resusitasyon (%85 ve %61), PBV (%64 ve %52) ve ileri resusitasyon (%12 ve %0) oranları istatistikî olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0,008$ $p=0,009$ $p=0,02$).

3- HİE saptanan hastaların vücut ısılarının yoğun bakıma kabülde $35,0 \pm 1,4^\circ\text{C}$ olduğu; hipotermi alanlarda ($34,7 \pm 1,4$), hipotermi almayanlara göre ($35,7 \pm 1,3$) düşük olduğu ($p=0,0001$) görüldü.

4- HİE grubunda, kontrol grubuna göre 1. dk ($4,2 \pm 2,0$, $9,0 \pm 0,4$), 5. dk ($6,4 \pm 2,0$, $9,9 \pm 0,3$), 10. dk ($7,5 \pm 1,8$, $10,0 \pm 0,0$) Apgar skorları daha düşüktü ($p < 0,001$).

5- HİE grubunda kontrol grubuna göre kord kan gazında pH düşük ($6,98 \pm 0,17$ ve $7,34 \pm 0,04$), baz defisiti ($15,0 \pm 5,6$ ve $3,2 \pm 1,7$) yüksek ($p < 0,001$) olup HİE alt gruplarında fark anlamlı idi ($p < 0,001$). HİE grubunda 1.saat kan gazında pH $7,16 \pm 0,14$, baz defisiti $11,2 \pm 5,9$ saptandı. HİE alt gruplarında pH bakımından fark saptanmaz iken, baz defisiti açısından istatistikî fark saptandı ($p < 0,001$).

6- HİE olgularının %36,8'inde, $10,5 \pm 19,8$ saatlik iken klinik nöbet görüldü, HİE-1'de nöbet görülmezken; HİE-2 ile karşılaştırıldığında, HİE-3'te nöbet sıklığı

(%40 ve %68, $p=0,0001$), ilk 12 saatte nöbet sıklığı (%29, %58 $p=0,0001$) yüksek, ilk nöbet zamanı ($13,3\pm 24,5$ ve $6,2\pm 6,9$ saat, $p=0,0001$) daha erkendi.

7- HİE-1 grubundaki 8 bebeğe ve hipotermi grubundaki 107 bebeğe aEEG çekildi. HİE-1 grubunda aEEG normal saptanırken, hipotermi grubunda aEEG'de patoloji %57, izlem boyunca patoloji %32 sıklıkta saptandı. HİE-2 ve HİE-3 gruplarında aEEG'de patoloji sıklığı ilk 24 saatte %43 ve %94, 24-48 saatte %37 ve %90, 48-72/96 saatte %22 ve %78 olup, aEEG'de patoloji sıklığının giderek azaldığı ancak HİE-3 grubunda tüm zamanlarda belirgin yüksek olduğu görüldü ($p=0,0001$).

8- MR patolojisini öngörmede ilk 24 saat aEEG'de patoloji varlığının sensitivite, spesitivitesi, PPD, NPD sırasıyla %74, %52, %35,7, %84,7 (toplam doğruluk %73,6, $p\text{-kappa}=0,004$) iken; 48-72/96 saat aEEG'de patoloji varlığının %51,8, %70,6, %38,8, %80,3 (toplam doğruluk %65,6, $p\text{-kappa}=0,03$) saptandı.

9- aEEG paterni ilk 48. saatte düzelen hastaların %80'inin MR görüntülemesi normal saptandı. İlk 48 saatte normale dönen aEEG'nin normal MR sonucu öngörü sensitivitesi %16,6, spesitivitesi %80,7 bulundu. İlk 24 saat ve daha sonra ağır aEEG paterni sebat eden hastaların %44'ünde MR patolojisi görüldü.

10- Kontrol grubundaki hastaların tümü işitmeden geçerken, HİE grubunda ABR yapılan hastaların %74,7'si işitmeden geçti, %25,3'ü kaldı. İşitme kaybı HİE-3 grubunda en yüksekti; ancak hipotermi alan ve almayanlar arasında fark saptanmadı.

11- HİE grubunda kranial MR çekilen hastaların %24,8'inde, hafif, orta ve ağır HİE'li hastaların %21, %18,4 ve %46,1'inde patoloji saptandı; hipotermi alan ve almayan ($p=0,7$), hafif ve ağır HİE'li hastalar arasında ($p=0,08$) fark saptanmazken; MR patolojisi orta HİE'li hastalarda ağır HİE'li hastalara göre daha düşüktü ($p=0,005$).

12- Kranial MR'da patoloji olan bebeklerde 5.dk ($p=0,003$), 10.dk ($p=0,001$) Apgar skorları daha düşük, resusitasyon ($p=0,001$), aEEG'de patoloji ($p=0,01$), nöbet ($p=0,02$) ve ilk 12 saatte nöbet sıklığı ($p=0,0$) laktat ($p=0,03$) ve lökosit düzeyleri ($p=0,005$) daha yüksek ($p=0,02$) iken; kranial MR'ı normal ve patolojik olanlarda

kan gazında pH ve baz defisiti düzeyleri, perisentinel olay ve işitme kaybı sıklığı bakımından fark yoktu ($p>0.05$).

13- HİE grubunda kontrol grubuna göre laktat düzeyi yüksek ($11,0\pm 11,3$, $1,9\pm 0,6$, $p<0.001$) olup; HİE şiddeti arttıkça arttığı ($6,2\pm 3,3$, $11,5\pm 7,2$, $12,9\pm 13,9$, $p<0.001$) görüldü. Laktat düzeyi $\geq 7,4$ mmol/L orta/ağır ensefalopati, $\geq 8,8$ mmol/L olması MR'da patoloji (%70 sensitivite, %59 spesitivite) ile ilişkili bulundu.

14- Doğumda kardiyak masaj uygulanması ($p=0,02$), laktat düzeyinin $\geq 8,8$ mmol/L ($p=0,007$), lökosit düzeyinin $\geq 22.120/\text{mm}^3$ ($p=0,004$), Sarnat skorlamasında HİE-3 saptanması ($p=0,004$), ilk 12 saatte ($p=0,004$) veya süreç boyunca konvülsiyon görülmesi ($p=0,003$), herhangi bir aEEG'de ($p=0,01$), ilk 24 saatteki aEEG'de ($p=0,004$), 48-72/96 saatteki aEEG'de patoloji varlığının ($p=0,03$) MR patolojisini öngördüğü saptandı.

15- İlk 6 saatte/hipotermi öncesi, PTX3 düzeyleri kontrol grubuna göre HİE grubunda belirgin yüksek ($p=0,001$) iken; NPTX1 düzeyleri açısından fark saptanmadı ($p=0,19$). HİE alt grupları değerlendirildiğinde, PTX3 düzeyleri HİE-1 ve HİE-3 ($p=0.1$), hipotermi almayan ve alanlarda farksız ($1,01\pm 0,91$ ve $0,99\pm 0,87$, $p=0,84$) iken; HİE-2'ye göre HİE-3 hastalarda belirgin yüksekti ($0,8\pm 0,73$ ve $1,48\pm 1,01$, $p=0.001$). NPTX1 düzeyleri hipotermi almayan/alan ($0,65\pm 0,34$ ve $0,7\pm 0,77$, $p=0,05$) ve HİE-1/2/3 ($0,65\pm 0,34$, $0,7\pm 0,79$ ve $0,7\pm 0,73$, $p=0,06$) gruplarında farksızdı.

16- Postnatal 72. saat/hipotermi sonunda, hipotermi almayan ve alan gruplarda PTX3 düzeyleri ($0,77\pm 0,85$ ve $0,74\pm 0,67$, $p=0,39$) ve NPTX1 düzeyleri ($0,58\pm 0,39$ ve $0,72\pm 1,09$, $p=0,15$) farksız iken; PTX3 düzeyleri HİE-3'de HİE-1 ($1,26\pm 0,94$ ve $0,77\pm 0,85$, $p=0,003$) ve HİE-2 ($1,26\pm 0,94$ ve $0,55\pm 0,4$, $p=0,0001$)'ye göre, NPTX1 düzeyleri HİE-3'de HİE-2'ye ($0,75\pm 0,49$ ve $0,71\pm 1,24$, $p=0,006$) göre yüksekti.

17- PTX3 ve NPTX1 düzeyleri 3. ayda HİE alt gruplarında farksızdı ($p>0,05$).

18- Kord kanı veya ilk saat içinde $pH \leq 7$, baz defisiti ≥ 16 , laktat $\geq 8,8$, Apgar skoru 5. ve 10. dakikada < 5 , ileri resusitasyon uygulanan, nöbeti olan, aEEG kaydında patoloji saptanan ve işitme testinden kalan hastalarda hipotermi öncesi / ilk altı saatte PTX3 düzeyleri belirgin yüksek saptandı. İleri resusitasyon uygulanan ve işitme testinden kalan hastalarda PTX3 düzeyleri hipotermi sonu/72-96 saatte de belirgin yüksekti.

19- Hipotermi öncesi/ilk 6 saatte $pH \leq 7$ ve > 7 , baz defisiti ≥ 16 ve < 16 , laktat $\geq 8,8$ ve $< 8,8$, ileri resusitasyon uygulanan ve uygulanmayan, 5. ve 10. dk Apgar skorları < 5 ve ≥ 5 , nöbet, aEEG'de patoloji varlığı/ yokluğu ve işitme testinden geçen ve kalan hastaların NPTX1 düzeyleri arasında fark saptanmazken; hipotermi sonrası/ 72-96 saatte $pH \leq 7$, baz defisiti ≥ 16 , laktat $\geq 8,8$, ileri resusitasyon uygulanan ve işitmeden kalan hastalarda NPTX1 düzeyleri anlamlı yüksek bulundu.

20- HİE grubunda İlk 6 saatte/hipotermi öncesi PTX3 düzeyleri kranial MR patolojisi olan hastalarda yüksek olmakla birlikte (1.1 ± 0.84 ve 1.05 ± 0.95) istatistiki fark bulunmadı; PTX3 yüksekliğinin MR patolojisini öngörmediği saptandı.

21- NPTX1'in MR patolojisini öngörmediği görüldü.

Sonuç olarak, ilk altı saatte hafif HİE tanısı alan ve hipotermi uygulanmayan bebeklerde kranial MR'da patoloji sıklığı orta ve ağır HİE'li bebeklerle benzer olduğundan, bu bebeklerde terapötik hipotermi gereksinimi ve etkinliğini araştıran yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Lokal inflamasyon belirteci PTX3 düzeylerinin hastalık şiddetine paralel artması, kaybedilen hastalarda düşük olması, MR patolojisini öngörmemesi, HİE'de koruyucu etkili olabileceğini düşündürmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Laptook AR, Shankaran S, Tyson JE, Munoz B, Bell EF, Goldberg RN, et al. Effect of Therapeutic Hypothermia Initiated After 6 Hours of Age on Death or Disability Among Newborns With Hypoxic-Ischemic Encephalopathy: A Randomized Clinical Trial. *Jama*. 2017;318(16):1550-60.
2. Kurinczuk JJ, White-Koning M, Badawi N. Epidemiology of neonatal encephalopathy and hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Early human development*. 2010;86(6):329-38.
3. World Health Statistics. Monitoring health for the SDGs. Sustainable Development Goals. Geneva: World Health Organization, 2017.
4. Ensefalopati TNDHİ, Grubu ÇJÇSvHD. Türkiye’de yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde izlenen hipoksik iskemik ensefalopatili olgular, risk faktörleri, insidans ve kısa dönem prognozları. 2008;51(3):123-29.
5. Jacobs SE, Berg M, Hunt R, Tarnow-Mordi WO, Inder TE, Davis PG. Cooling for newborns with hypoxic ischaemic encephalopathy. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2013;2013(1):Cd003311.
6. Azzopardi DV, Strohm B, Edwards AD, Dyet L, Halliday HL, Juszczak E, et al. Moderate hypothermia to treat perinatal asphyxial encephalopathy. *The New England journal of medicine*. 2009;361(14):1349-58.
7. Gulcan H, Ozturk IC, Arslan SJN. Alterations in antioxidant enzyme activities in cerebrospinal fluid related with severity of hypoxic ischemic encephalopathy in newborns. 2005;88(2):87-91.
8. Fernandez F, Quero J, Verdú A, Ferreiros M, Daimiel E, Roche MJ. LDH isoenzymes in CSF in the diagnosis of neonatal brain damage. 1986;74(1):30-3.

9. Sävmán K, Heyes MP, Svedin P, Karlsson AJTsr. Microglia/macrophage-derived inflammatory mediators galectin-3 and quinolinic acid are elevated in cerebrospinal fluid from newborn infants after birth asphyxia. 2013;4(2):228-35.
10. Hussein MH, Daoud GA, Kakita H, Kato S, Goto T, Kamei M, et al. High cerebrospinal fluid antioxidants and interleukin 8 are protective of hypoxic brain damage in newborns. 2010;44(4):422-9.
11. Ray G, Husain SA, Dutta AK, Batra SJMs. Lipid peroxidation and antioxidant status in asphyxiated neonates. 1998;26(3):201-2.
12. Hsu Y-C, Perin MSJG. Human neuronal pentraxin II (NPTX2): conservation, genomic structure, and chromosomal localization. 1995;28(2):220-7.
13. Hossain MA, Russell JC, O'Brien R, Laterra JJJoN. Neuronal pentraxin 1: a novel mediator of hypoxic-ischemic injury in neonatal brain. 2004;24(17):4187-96.
14. Hossain MAJJoDN. Hypoxic-ischemic injury in neonatal brain: involvement of a novel neuronal molecule in neuronal cell death and potential target for neuroprotection. 2008;26(1):93-101.
15. Schlingens A, Helms J, Vogel H, Perin MJN. Neuronal pentraxin, a secreted protein with homology to acute phase proteins of the immune system. 1995;14(3):519-26.
16. Omeis IA, Hsu Y-C, Perin MSJG. Mouse and human neuronal pentraxin 1 (NPTX1): conservation, genomic structure, and chromosomal localization. 1996;36(3):543-5.
17. Tsui CC, Copeland NG, Gilbert DJ, Jenkins NA, Barnes C, Worley PFJJoN. Narp, a novel member of the pentraxin family, promotes neurite outgrowth and is dynamically regulated by neuronal activity. 1996;16(8):2463-78.

18. Ryu W-S, Kim CK, Kim BJ, Kim C, Lee S-H, Yoon B-WJA. Pentraxin 3: a novel and independent prognostic marker in ischemic stroke. 2012;220(2):581-6.
19. Qin L, Li W, Huang Y, Lu F, Li S, Yang H, et al. PTX3 expression in the plasma of elderly ACI patients and its relationship with severity and prognosis of the disease. 2016;20(19):4112-8.
20. Zhu H, Cui D, Liu K, Wang L, Huang L, Li JJTI. Long pentraxin PTX 3 attenuates ischemia reperfusion injury in a cardiac transplantation model. 2014;27(1):87-95.
21. Souza DG, Amaral FA, Fagundes CT, Coelho FM, Arantes RM, Sousa LP, et al. The long pentraxin PTX3 is crucial for tissue inflammation after intestinal ischemia and reperfusion in mice. 2009;174(4):1309-18.
22. Can G. Neonatal asfiksi. *Pediatric I. Neyzi O, Ertuğrul T. 2. baskı. Nobel Tıp Kitapevi. İstanbul; 1993.*
23. McIntyre S, Badawi N, Blair E, Nelson KBJDM, Neurology C. Does aetiology of neonatal encephalopathy and hypoxic–ischaemic encephalopathy influence the outcome of treatment? 2015;57:2-7.
24. Glass HCJCLLiN. Hypoxic-ischemic encephalopathy and other neonatal encephalopathies. 2018;24(1):57-71.
25. Arnaez J, García-Alix A, Arca G, Caserío S, Valverde E, Moral MT, et al. Population-based study of the national implementation of therapeutic hypothermia in infants with hypoxic-ischemic encephalopathy. 2018;8(1):24-9.
26. Pauliah SS, Shankaran S, Wade A, Cady EB, Thayyil SJPo. Therapeutic hypothermia for neonatal encephalopathy in low-and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis. 2013;8(3):e58834.

27. Montaldo P, Pauliah SS, Lally PJ, Olson L, Thayyil S, editors. Cooling in a low-resource environment: lost in translation. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*; 2015: Elsevier.
28. Lee AC, Kozuki N, Blencowe H, Vos T, Bahalim A, Darmstadt GL, et al. Intrapartum-related neonatal encephalopathy incidence and impairment at regional and global levels for 2010 with trends from 1990. *2013*;74(1):50-72.
29. Türkmen MKJTKJP. Hipoksik İskemik Ensefalopatili Yenidoğanların Klinik, Nörofizyolojik ve Nörogörüntüleme Sonuçlarının Değerlendirilmesi. *2009*;18(4):264-71.
30. BİLGİN LK, ALADAĞ N, AYGÜN C, ALTAY DJTÇHD. Hipoksik İskemik Ensefalopati: 63 Term Yenidoğanın Değerlendirilmesi. *2011*;5(2):89-94.
31. Robertson C, Finer N, Grace MJTJop. School performance of survivors of neonatal encephalopathy associated with birth asphyxia at term. *1989*;114(5):753-60.
32. Wintermark P, Boyd T, Gregas MC, Labrecque M, Hansen A. Placental pathology in asphyxiated newborns meeting the criteria for therapeutic hypothermia. *American journal of obstetrics and gynecology*. *2010*;203(6):579.e1-9.
33. Volpe JJ. *Neurology of the newborn E-book*. 2008.
34. Barbara JS RM. *The fetus and the neonatal infant*. 17 ed. Behrman RE KR, Hal BJ, editor. Philadelphia: Saunders; 2005. 561-9. p.
35. Favié LM, Cox AR, Van den Hoogen A, Nijboer CH, Peeters-Scholte CM, Van Bel F, et al. Nitric oxide synthase inhibition as a neuroprotective strategy following hypoxic–ischemic encephalopathy: evidence from animal studies. *2018*;9:258.
36. Wassink G, Gunn ER, Drury PP, Bennet L, Gunn AJJFin. The mechanisms and treatment of asphyxial encephalopathy. *2014*;8:40.

37. Liu F, Mccullough LDJAPS. Inflammatory responses in hypoxic ischemic encephalopathy. 2013;34(9):1121-30.
38. Greco P, Nencini G, Piva I, Scioscia M, Volta C, Spadaro S, et al. Pathophysiology of hypoxic–ischemic encephalopathy: a review of the past and a view on the future. 2020;120(2):277-88.
39. Chakkarapani AA, Aly H, Benders M, Cotten CM, El-Dib M, Gressens P, et al., editors. Therapies for neonatal encephalopathy: targeting the latent, secondary and tertiary phases of evolving brain injury. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*; 2021: Elsevier.
40. Iwata O, Iwata S, Thornton JS, De Vita E, Bainbridge A, Herbert L, et al. “Therapeutic time window” duration decreases with increasing severity of cerebral hypoxia–ischaemia under normothermia and delayed hypothermia in newborn piglets. 2007;1154:173-80.
41. Gunn AJ, Bennet L, Gunning MI, Gluckman PD, Gunn TRJPr. Cerebral hypothermia is not neuroprotective when started after postischemic seizures in fetal sheep. 1999;46(3):274-80.
42. Jensen E, Bennet L, Hunter C, Power G, Gunn AJTJop. Post-hypoxic hypoperfusion is associated with suppression of cerebral metabolism and increased tissue oxygenation in near-term fetal sheep. 2006;572(1):131-9.
43. Bainbridge A, Tachtsidis I, Faulkner S, Price D, Zhu T, Baer E, et al. Brain mitochondrial oxidative metabolism during and after cerebral hypoxia–ischemia studied by simultaneous phosphorus magnetic-resonance and broadband near-infrared spectroscopy. 2014;102:173-83.
44. Fleiss B, Gressens PJTLN. Tertiary mechanisms of brain damage: a new hope for treatment of cerebral palsy? 2012;11(6):556-66.
45. Edwards AB, Anderton RS, Knuckey NW, Meloni BPJBS. Perinatal hypoxic–ischemic encephalopathy and neuroprotective peptide therapies: A case for cationic arginine-rich peptides (CARPs). 2018;8(8):147.

46. Zubrow AB, Delivoria-Papadopoulos M, Ashraf QM, Fritz KI, Mishra OP. Nitric oxide-mediated Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase IV activity during hypoxia in neuronal nuclei from newborn piglets. *Neuroscience letters*. 2002;335(1):5-8.
47. Cao W, Carney J, Duchon A, Floyd R, Chevion MJ. Oxygen free radical involvement in ischemia and reperfusion injury to brain. *1988;88(2):233-8*.
48. Zubrow AB, Delivoria-Papadopoulos M, Ashraf QM, Ballesteros JR, Fritz KI, Mishra OP. Nitric oxide-mediated expression of Bax protein and DNA fragmentation during hypoxia in neuronal nuclei from newborn piglets. *2002;954(1):60-7*.
49. Groenendaal F, Vles J, Lammers H, De Vente J, Smit D, Nikkels PG. Nitrotyrosine in human neonatal spinal cord after perinatal asphyxia. *2008;93(1):1-6*.
50. Dorrepaal CA, Van Bel F, Moison RM, Shadid M, Van De Bor M, Steendijk P, et al. Oxidative stress during post-hypoxic-ischemic reperfusion in the newborn lamb: the effect of nitric oxide synthesis inhibition. *1997;41(3):321-6*.
51. Wang B, Armstrong JS, Reyes M, Kulikowicz E, Lee JH, Spicer D, et al. White matter apoptosis is increased by delayed hypothermia and rewarming in a neonatal piglet model of hypoxic ischemic encephalopathy. *Neuroscience*. 2016;316:296-310.
52. Gilland E, Puka-Sundvall M, Hillered L, Hagberg H. Mitochondrial function and energy metabolism after hypoxia—ischemia in the immature rat brain: involvement of NMDA-receptors. *1998;18(3):297-304*.
53. Calvert JW, Zhang J. Pathophysiology of an hypoxic–ischemic insult during the perinatal period. *2005;27(3):246-60*.

54. Wang KKJTin. Calpain and caspase: can you tell the difference? 2000;23(1):20-6.
55. Lu Y, Tucker D, Dong Y, Zhao N, Zhuo X, Zhang QJJon, et al. Role of mitochondria in neonatal hypoxic-ischemic brain injury. 2015;2(1):1.
56. Johnston MV, Trescher WH, Ishida A, Nakajima W. Neurobiology of hypoxic-ischemic injury in the developing brain. *Pediatric research*. 2001;49(6):735-41.
57. Choi DW, Rothman SM. The role of glutamate neurotoxicity in hypoxic-ischemic neuronal death. *Annual review of neuroscience*. 1990;13:171-82.
58. McDonald JW, Silverstein FS, Johnston MVJBR. Neuroprotective effects of MK-801, TCP, PCP and CPP against N-methyl-D-aspartate induced neurotoxicity in an in vivo perinatal rat model. 1989;490(1):33-40.
59. McDonald JW, Roeser NF, Silverstein FS, Johnston MVJEn. Quantitative assessment of neuroprotection against NMDA-induced brain injury. 1989;106(3):289-96.
60. Johnston MVJBp. Excitotoxicity in perinatal brain injury. 2005;15(3):234-40.
61. Görgülü A KT. Eksitator Aminoasidler ve Eksitotoksisite Bölüm I Türk Nöroşirürji Dergisi. 2005;15:33-8.
62. Murphy TH, Miyamoto M, Sastre A, Schnaar RL, Coyle JTJN. Glutamate toxicity in a neuronal cell line involves inhibition of cystine transport leading to oxidative stress. 1989;2(6):1547-58.
63. Wang Q, Tang XN, Yenari MAJJon. The inflammatory response in stroke. 2007;184(1-2):53-68.
64. Yamasaki Y, Matsuura N, Shozuhara H, Onodera H, Itoyama Y, Kogure KJS. Interleukin-1 as a pathogenetic mediator of ischemic brain damage in rats. 1995;26(4):676-81.

65. Volpe J. Hypoxic-ischemic encephalopathy: neuropathology and pathogenesis. In: J. V, editor. *Neurology of the Newborn*. 4rd ed. ed: WB Saunders; 2001. p. 217-394.
66. Feet B, Gilland E, Groenendaal F, Brun N, Hellström-Westas L, Hagberg H, et al. Cerebral excitatory amino acids and Na⁺, K⁺-ATPase activity during resuscitation of severely hypoxic newborn piglets. 1998;87(8):889-95.
67. Khwaja O, Volpe JJAoDiC-F, Edition N. Pathogenesis of cerebral white matter injury of prematurity. 2008;93(2):F153-F61.
68. Rivkin MJJCip. Hypoxic-ischemic brain injury in the term newborn: neuropathology, clinical aspects, and neuroimaging. 1997;24(3):607-25.
69. Busto R, Dietrich WD, Globus M, Ginsberg MDJS. The importance of brain temperature in cerebral ischemic injury. 1989;20(8):1113-4.
70. Evans D, Levene MJTonRJ, Robertson NRC . 3rd edi. London, Churchill Livinstone. Hypoxic-ischaemic injury. 1999:1233-34.
71. van den Broek MP, Huitema AD, van Hasselt JG, Groenendaal F, Toet MC, Egberts TC, et al. Lidocaine (lignocaine) dosing regimen based upon a population pharmacokinetic model for preterm and term neonates with seizures. 2011;50(7):461-9.
72. Hill A VJ. Hypoxic-ischemic Cerebral Injury in the Newborn. 3rd ed. ed. Swaimann KF AS, editor. St. Louis: Mosby Inc; 1999.
73. Akısü M, Kumral A, Canpolat FE. Neonatal Ensefalopati Tanı Ve Tedavi Rehberi. Türk Neonatoloji Derneği. 2018:1-39.
74. Gomella TL CD, Eyal FG. 7th: McGraw Hill; 2013. p. 297-301, 805-14.
75. Executive summary: Neonatal encephalopathy and neurologic outcome, second edition. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Neonatal Encephalopathy. *Obstet Gynecol*. 2014;123(4):896-901.

76. Higgins RD. Hypoxic ischemic encephalopathy and hypothermia: a critical look. *Obstet Gynecol.* 2005;106(6):1385-7.
77. Sarnat HB, Sarnat MSJAon. Neonatal encephalopathy following fetal distress: a clinical and electroencephalographic study. 1976;33(10):696-705.
78. Satar M, Narlı N, Kırımı E, Atıcı A, Türkmen M, Yapıcıoğlu HJTKJP. Hipoksik iskemik ensefalopatili 205 olgunun değerlendirilmesi. 2001;10:36-41.
79. Thompson C, Puterman A, Linley L, Hann F, Van der Elst C, Molteno C, et al. The value of a scoring system for hypoxic ischaemic encephalopathy in predicting neurodevelopmental outcome. 1997;86(7):757-61.
80. Toso PA, González AJ, Pérez ME, Kattan J, Fabres JG, Tapia JL, et al. Clinical utility of early amplitude integrated EEG in monitoring term newborns at risk of neurological injury. 2014;90:143-8.
81. Chao CP, Zaleski CG, Patton ACJR. Neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy: multimodality imaging findings. 2006;26(suppl_1):S159-S72.
82. Wintermark P, editor *Injury and repair in perinatal brain injury: insights from non-invasive MR perfusion imaging.* *Seminars in Perinatology;* 2015: Elsevier.
83. Soul JS, Robertson RL, Tzika AA, du Plessis AJ, Volpe JJJP. Time course of changes in diffusion-weighted magnetic resonance imaging in a case of neonatal encephalopathy with defined onset and duration of hypoxic-ischemic insult. 2001;108(5):1211-4.
84. Singhal AB, Topcuoglu MA, Buonanno FSJS. Acute ischemic stroke patterns in infective and nonbacterial thrombotic endocarditis: a diffusion-weighted magnetic resonance imaging study. 2002;33(5):1267-73.

85. Cowan F, Rutherford M, Groenendaal F, Eken P, Mercuri E, Bydder GM, et al. Origin and timing of brain lesions in term infants with neonatal encephalopathy. *Lancet* (London, England). 2003;361(9359):736-42.
86. Volpe JJ, reviews ddr. Perinatal brain injury: from pathogenesis to neuroprotection. 2001;7(1):56-64.
87. Papile LA, Baley JE, Benitz W, Cummings J, Carlo WA, Eichenwald E, et al. Hypothermia and neonatal encephalopathy. *Pediatrics*. 2014;133(6):1146-50.
88. Edwards AD, Brocklehurst P, Gunn AJ, Halliday H, Juszczak E, Levene M, et al. Neurological outcomes at 18 months of age after moderate hypothermia for perinatal hypoxic ischaemic encephalopathy: synthesis and meta-analysis of trial data. *BMJ* (Clinical research ed). 2010;340:c363.
89. Thoresen M, Whitelaw A. Therapeutic hypothermia for hypoxic-ischaemic encephalopathy in the newborn infant. *Current opinion in neurology*. 2005;18(2):111-6.
90. Siebke H, Rod T, Breivik H, Link B. Survival after 40 minutes; submersion without cerebral sequelae. *Lancet* (London, England). 1975;1(7919):1275-7.
91. Busto R, Dietrich WD, Globus MY, Valdés I, Scheinberg P, Ginsberg MD. Small differences in intras ischemic brain temperature critically determine the extent of ischemic neuronal injury. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 1987;7(6):729-38.
92. Ginsberg MD, Sternau LL, Globus MY, Dietrich WD, Busto R. Therapeutic modulation of brain temperature: relevance to ischemic brain injury. *Cerebrovascular and brain metabolism reviews*. 1992;4(3):189-225.
93. Inder TE, Volpe JJ. Hypoxic-ischemic injury in the term infant: clinical-neurological features, diagnosis, imaging, prognosis, therapy. *Volpe's neurology of the newborn: Elsevier; 2018. p. 510-63. e15.*

94. Atıcı A, Çelik Y, Gülaşı S, Turhan AH, Okuyaz Ç, Sungur MAJTAoPTPA. Comparison of selective head cooling therapy and whole body cooling therapy in newborns with hypoxic ischemic encephalopathy: short term results. 2015;50(1):27.
95. Thoresen M, Tooley J, Liu X, Jary S, Fleming P, Luyt K, et al. Time is brain: starting therapeutic hypothermia within three hours after birth improves motor outcome in asphyxiated newborns. *Neonatology*. 2013;104(3):228-33.
96. Gunn AJ, Gluckman PD, Gunn TR. Selective head cooling in newborn infants after perinatal asphyxia: a safety study. *Pediatrics*. 1998;102(4 Pt 1):885-92.
97. Gulczynska EM, Gadzinowski J, Kesiak M, Sobolewska B, Caputa J, Maczko A, et al. Therapeutic hypothermia in asphyxiated newborns: selective head cooling vs. whole body cooling - comparison of short term outcomes. *Ginekologia polska*. 2019;90(7):403-10.
98. Shankaran S, Pappas A, McDonald SA, Vohr BR, Hintz SR, Yolton K, et al. Childhood outcomes after hypothermia for neonatal encephalopathy. *The New England journal of medicine*. 2012;366(22):2085-92.
99. Zanelli S, Buck M, Fairchild K. Physiologic and pharmacologic considerations for hypothermia therapy in neonates. *Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association*. 2011;31(6):377-86.
100. Compagnoni G, Bottura C, Cavallaro G, Cristofori G, Lista G, Mosca F. Safety of deep hypothermia in treating neonatal asphyxia. *Neonatology*. 2008;93(4):230-5.
101. Frank SM, Higgins MS, Breslow MJ, Fleisher LA, Gorman RB, Sitzmann JV, et al. The catecholamine, cortisol, and hemodynamic responses to mild perioperative hypothermia. A randomized clinical trial. *Anesthesiology*. 1995;82(1):83-93.

102. Frank SM, Satitpunwaycha P, Bruce SR, Herscovitch P, Goldstein DS. Increased myocardial perfusion and sympathoadrenal activation during mild core hypothermia in awake humans. *Clinical science (London, England : 1979)*. 2003;104(5):503-8.
103. Thoresen M, Satas S, Løberg EM, Whitelaw A, Acolet D, Lindgren C, et al. Twenty-four hours of mild hypothermia in unsedated newborn pigs starting after a severe global hypoxic-ischemic insult is not neuroprotective. *Pediatric research*. 2001;50(3):405-11.
104. Thoresen M, Whitelaw A. Cardiovascular changes during mild therapeutic hypothermia and rewarming in infants with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics*. 2000;106(1 Pt 1):92-9.
105. Shankaran S, Pappas A, Laptook AR, McDonald SA, Ehrenkranz RA, Tyson JE, et al. Outcomes of safety and effectiveness in a multicenter randomized, controlled trial of whole-body hypothermia for neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics*. 2008;122(4):e791-8.
106. Battin MR, Thoresen M, Robinson E, Polin RA, Edwards AD, Gunn AJ. Does head cooling with mild systemic hypothermia affect requirement for blood pressure support? *Pediatrics*. 2009;123(3):1031-6.
107. Shah PS, Ohlsson A, Perlman M. Hypothermia to treat neonatal hypoxic ischemic encephalopathy: systematic review. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*. 2007;161(10):951-8.
108. Eicher DJ, Wagner CL, Katikaneni LP, Hulsey TC, Bass WT, Kaufman DA, et al. Moderate hypothermia in neonatal encephalopathy: efficacy outcomes. *Pediatric neurology*. 2005;32(1):11-7.
109. Azzopardi D, Strohm B, Edwards AD, Halliday H, Juszczak E, Levene M, et al. Treatment of asphyxiated newborns with moderate hypothermia in routine clinical practice: how cooling is managed in the UK outside a clinical trial. *Archives of disease in childhood Fetal and neonatal edition*. 2009;94(4):F260-4.

110. Shankaran S, Laptook AR, Ehrenkranz RA, Tyson JE, McDonald SA, Donovan EF, et al. Whole-body hypothermia for neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy. *The New England journal of medicine*. 2005;353(15):1574-84.
111. Gluckman PD, Wyatt JS, Azzopardi D, Ballard R, Edwards AD, Ferriero DM, et al. Selective head cooling with mild systemic hypothermia after neonatal encephalopathy: multicentre randomised trial. *Lancet (London, England)*. 2005;365(9460):663-70.
112. Wang CH, Chen NC, Tsai MS, Yu PH, Wang AY, Chang WT, et al. Therapeutic Hypothermia and the Risk of Hemorrhage: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Medicine*. 2015;94(47):e2152.
113. Polderman KH, Peerdeman SM, Girbes AR. Hypophosphatemia and hypomagnesemia induced by cooling in patients with severe head injury. *Journal of neurosurgery*. 2001;94(5):697-705.
114. Arpino PA, Greer DM. Practical pharmacologic aspects of therapeutic hypothermia after cardiac arrest. *Pharmacotherapy*. 2008;28(1):102-11.
115. Laptook AR, Corbett RJ. The effects of temperature on hypoxic-ischemic brain injury. *Clinics in perinatology*. 2002;29(4):623-49, vi.
116. Polderman KH. Mechanisms of action, physiological effects, and complications of hypothermia. *Critical care medicine*. 2009;37(7 Suppl):S186-202.
117. Kimura A, Sakurada S, Ohkuni H, Todome Y, Kurata K. Moderate hypothermia delays proinflammatory cytokine production of human peripheral blood mononuclear cells. *Critical care medicine*. 2002;30(7):1499-502.

118. Salman H, Bergman M, Bessler H, Alexandrova S, Beilin B, Djaldetti M. Hypothermia affects the phagocytic activity of rat peritoneal macrophages. *Acta physiologica Scandinavica*. 2000;168(3):431-6.
119. Fairchild KD, Viscardi RM, Hester L, Singh IS, Hasday JD. Effects of hypothermia and hyperthermia on cytokine production by cultured human mononuclear phagocytes from adults and newborns. *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*. 2000;20(12):1049-55.
120. Mosalli R. Whole body cooling for infants with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Journal of clinical neonatology*. 2012;1(2):101-6.
121. Shankaran S. Therapeutic hypothermia for neonatal encephalopathy. *Current treatment options in neurology*. 2012;14(6):608-19.
122. Robey FA, LIU TY. Limulin: a C-reactive protein from *Limulus polyphemus*. 1981.
123. Shrivastava AK, Singh HV, Raizada A, Singh SKJTEHJ. C-reactive protein, inflammation and coronary heart disease. 2015;67(2):89-97.
124. Emsley J, White HE, O'hara BP, Oliva G, Srinivasan N, Tickle IJ, et al. Structure of pentameric human serum amyloid P component. 1994;367(6461):338-45.
125. Garlanda C, Bottazzi B, Bastone A, Mantovani AJAroi. Pentraxins at the crossroads between innate immunity, inflammation, matrix deposition, and female fertility. 2005;23(1):337-66.
126. Cox N, Pilling D, Gomer RHJJolb. Serum amyloid P: a systemic regulator of the innate immune response. 2014;96(5):739-43.
127. Ablj HC, Meinders AEJEJoIM. C-reactive protein: history and revival. 2002;13(7):412-22.

128. Mantovani A, Garlanda C, Doni A, Bottazzi B, Joci. Pentraxins in innate immunity: from C-reactive protein to the long pentraxin PTX3. 2008;28(1):1-13.
129. Ortega-Hernandez O-D, Bassi N, Shoenfeld Y, Anaya J-M, editors. The long pentraxin 3 and its role in autoimmunity. Seminars in arthritis and rheumatism; 2009: Elsevier.
130. Yap SH, Moshage HJ, Hazenberg BP, Roelofs HM, Bijzet J, Limburg PC, et al. Tumor necrosis factor (TNF) inhibits interleukin (IL)-1 and/or IL-6 stimulated synthesis of C-reactive protein (CRP) and serum amyloid A (SAA) in primary cultures of human hepatocytes. *Biochimica et biophysica acta*. 1991;1091(3):405-8.
131. Adukauskienė D, Čiginskienė A, Adukauskaitė A, Pentiokinienė D, Šlapikas R, Čeponienė I. Clinical relevance of high sensitivity C-reactive protein in cardiology. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*. 2016;52(1):1-10.
132. Pepys MB, Booth D, Hutchinson W, Gallimore J, Collins I, Hohenester EJA. Amyloid P component. A critical review. 1997;4(4):274-95.
133. Bottazzi B, Inforzato A, Messa M, Barbagallo M, Magrini E, Garlanda C, et al. The pentraxins PTX3 and SAP in innate immunity, regulation of inflammation and tissue remodelling. 2016;64(6):1416-27.
134. Peri G, Inrona M, Corradi D, Iacuitti G, Signorini S, Avanzini F, et al. PTX3, A prototypical long pentraxin, is an early indicator of acute myocardial infarction in humans. 2000;102(6):636-41.
135. Balhara J, Koussih L, Zhang J, Gounni ASJFii. Pentraxin 3: an immunoregulator in the lungs. 2013;4:127.
136. Kunes P, Holubcova Z, Kolackova M, Krejsek JJMoi. Pentraxin 3 (PTX 3): an endogenous modulator of the inflammatory response. 2012;2012.

137. Fazzini F, Peri G, Doni A, Dell'Antonio G, Cin ED, Bozzolo E, et al. PTX3 in small-vessel vasculitides: an independent indicator of disease activity produced at sites of inflammation. 2001;44(12):2841-50.
138. Garlanda C, Bottazzi B, Moalli F, Deban L, Molla F, Latini R, et al. Pentraxins and atherosclerosis: the role of PTX3. 2011;17(1):38-46.
139. Bottazzi B, Bastone A, Doni A, Garlanda C, Valentino S, Deban L, et al. The long pentraxin PTX3 as a link among innate immunity, inflammation, and female fertility. 2006;79(5):909-12.
140. Goodman AR, Cardozo T, Abagyan R, Altmeyer A, Wisniewski H-G, Vilček JJC, et al. Long pentraxins: an emerging group of proteins with diverse functions. 1996;7(2):191-202.
141. O'Brien R, Xu D, Mi R, Tang X, Hopf C, Worley PJJON. Synaptically targeted narp plays an essential role in the aggregation of AMPA receptors at excitatory synapses in cultured spinal neurons. 2002;22(11):4487-98.
142. D'Nette CD, Omeis IA, Cushman SJ, Helms JA, Perin MSJJoBC. Neuronal pentraxin receptor, a novel putative integral membrane pentraxin that interacts with neuronal pentraxin 1 and 2 and taipoxin-associated calcium-binding protein 49. 1997;272(34):21488-94.
143. DeGregorio-Rocasolano N, Gasull T, Trullas RJJJoBC. Overexpression of neuronal pentraxin 1 is involved in neuronal death evoked by low K⁺ in cerebellar granule cells. 2001;276(1):796-803.
144. DuPont TL, Chalak LF, Morriss MC, Burchfield PJ, Christie L, Sánchez PJ. Short-term outcomes of newborns with perinatal acidemia who are not eligible for systemic hypothermia therapy. *The Journal of pediatrics*. 2013;162(1):35-41.
145. al Nageeb N, Edwards AD, Cowan FM, Azzopardi DJP. Assessment of neonatal encephalopathy by amplitude-integrated electroencephalography. 1999;103(6):1263-71.

146. Montaldo P, Lally PJ, Oliveira V, Swamy R, Mendoza J, Atreja G, et al. Therapeutic hypothermia initiated within 6 hours of birth is associated with reduced brain injury on MR biomarkers in mild hypoxic-ischaemic encephalopathy: a non-randomised cohort study. *Archives of disease in childhood Fetal and neonatal edition*. 2019;104(5):F515-f20.
147. Özdemir ÖMA, Tümkaya F. Hearing screening program in the newborn and management. 2017.
148. Azzopardi D, Childhood-Fetal TSGJAoDi, Edition N. Predictive value of the amplitude integrated EEG in infants with hypoxic ischaemic encephalopathy: data from a randomised trial of therapeutic hypothermia. 2014;99(1):F80-F2.
149. Mage DT, Donner MJ, Jowsh. Female resistance to hypoxia: does it explain the sex difference in mortality rates? 2006;15(6):786-94.
150. León-Lozano MZ, Arnaez J, Valls A, Arca G, Agut T, Alarcón A, et al. Cerebrospinal fluid levels of neuron-specific enolase predict the severity of brain damage in newborns with neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy treated with hypothermia. *PloS one*. 2020;15(6):e0234082.
151. Locatelli A, Lambicchi L, Incerti M, Bonati F, Ferdico M, Malguzzi S, et al. Is perinatal asphyxia predictable? *BMC pregnancy and childbirth*. 2020;20(1):186.
152. Torbenson VE, Tolcher MC, Nesbitt KM, Colby CE, El-Nashar SA, Gostout BS, et al. Intrapartum factors associated with neonatal hypoxic ischemic encephalopathy: a case-controlled study. *BMC pregnancy and childbirth*. 2017;17(1):415.
153. El-Gamasy MA, Alarabawy R. Relation of Serum Creatinine to Sarnat Scoring and Brain Computerized Tomography of Neonates with Hypoxic Ischemic Encephalopathy. A Single-Center Experience. *Journal of pediatric neurosciences*. 2018;13(4):437-42.

154. Xu EH, Mandel V, Huet C, Rampakakis E, Brown RN, Wintermark P. Maternal risk factors for adverse outcome in asphyxiated newborns treated with hypothermia: parity and labor duration matter. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstet.* 2021;34(24):4123-31.
155. Lemyre B, Ly L, Chau V, Chacko A, Barrowman N, Whyte H, et al. Initiation of passive cooling at referring centre is most predictive of achieving early therapeutic hypothermia in asphyxiated newborns. *Paediatrics & child health.* 2017;22(5):264-8.
156. Chhavi N, Zutshi K, Singh NK, Awasthi A, Goel A. Serum liver enzyme pattern in birth asphyxia associated liver injury. *Pediatric gastroenterology, hepatology & nutrition.* 2014;17(3):162-9.
157. Milsom I, Ladfors L, Thiringer K, Niklasson A, Odeback A, Thornberg E. Influence of maternal, obstetric and fetal risk factors on the prevalence of birth asphyxia at term in a Swedish urban population. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica.* 2002;81(10):909-17.
158. Kune G, Oljira H, Wakgari N, Zerihun E, Aboma MJPo. Determinants of birth asphyxia among newborns delivered in public hospitals of West Shoa Zone, Central Ethiopia: A case-control study. 2021;16(3):e0248504.
159. Lundgren C, Brudin L, Wanby A-S, Blomberg MJTJoM-F, Medicine N. Ante-and intrapartum risk factors for neonatal hypoxic ischemic encephalopathy. 2018;31(12):1595-601.
160. Baserga MC, Beachy JC, Roberts JK, Ward RM, DiGeronimo RJ, Walsh WF, et al. Darbepoetin administration to neonates undergoing cooling for encephalopathy: a safety and pharmacokinetic trial. 782015. p. 315-22.
161. Yashwanth K, Suresh Babu M, Srinivas KJIJDmSV. A study of urinary uric acid to creatinine ratio in assessing the severity of birth asphyxia. 2017;4:2279-861.

162. ÜSTÜN NJACTJoMS. Evaluation of risk factors for neonatal hypoxic ischemic encephalopathy.27(1):32-8.
163. Liljestrom L, Wikstrom AK, Jonsson MJAoegS. Obstetric emergencies as antecedents to neonatal hypoxic ischemic encephalopathy, does parity matter? 2018;97(11):1396-404.
164. Mehari M-a, Maeruf H, Robles CC, Woldemariam S, Adhena T, Mulugeta M, et al. Advanced maternal age pregnancy and its adverse obstetrical and perinatal outcomes in Ayder comprehensive specialized hospital, Northern Ethiopia, 2017: a comparative cross-sectional study. 2020;20(1):1-10.
165. Yılmaz EJJöC, Investigations E. Perinatal outcomes in advanced age pregnancies. 2016;7(2):157-62.
166. Almeida NKO, Almeida RM, Pedreira CEJJdp. Adverse perinatal outcomes for advanced maternal age: a cross-sectional study of Brazilian births. 2015;91:493-8.
167. Rashed H, Awaluddin S, Ahmad NA, Supar N, Lani Z, Aziz F, et al. Advanced maternal age and adverse pregnancy outcomes in Muar, Johor, Malaysia. 2016;45(10):1537-42.
168. Kabakuş N, Açık Y, Kurt A, Özdiller DŞ, Kurt A, Aygün ADJÇSvHD. Serebral palsili hastalarımızın demografik, etiyolojik ve klinik özellikleri. 2005;48(2):125-9.
169. Peebles PJ, Duello TM, Eickhoff JC, McAdams RMJJöP. Antenatal and intrapartum risk factors for neonatal hypoxic ischemic encephalopathy. 2020;40(1):63-9.
170. Rossi AC, Prefumo FJCOiO, Gynecology. Antepartum and intrapartum risk factors for neonatal hypoxic–ischemic encephalopathy: a systematic review with meta-analysis. 2019;31(6):410-7.

171. Sunny AK, Paudel P, Tiwari J, Bagale BB, Kukka A, Hong Z, et al. A multicenter study of incidence, risk factors and outcomes of babies with birth asphyxia in Nepal. 2021;21(1):1-8.
172. Roelfsema V, Bennet L, George S, Wu D, Guan J, Veerman M, et al. Window of opportunity of cerebral hypothermia for postischemic white matter injury in the near-term fetal sheep. 2004;24(8):877-86.
173. Ruhfus M, Giannakis S, Markus M, Stein A, Hoehn T, Felderhoff-Mueser U, et al. Association of routinely measured proinflammatory biomarkers with abnormal MRI findings in asphyxiated neonates undergoing therapeutic hypothermia. 2021:213.
174. Haiju Z, Suyuan H, Xiufang F, Lu Y, Sun R. The combined detection of umbilical cord nucleated red blood cells and lactate: early prediction of neonatal hypoxic ischemic encephalopathy. *Journal of perinatal medicine*. 2008;36(3):240-7.
175. Gjerris AC, Staer-Jensen J, Jørgensen JS, Bergholt T, Nickelsen C. Umbilical cord blood lactate: a valuable tool in the assessment of fetal metabolic acidosis. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2008;139(1):16-20.
176. Kruger K, Hallberg B, Blennow M, Kublickas M, Westgren M. Predictive value of fetal scalp blood lactate concentration and pH as markers of neurologic disability. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1999;181(5 Pt 1):1072-8.
177. Van Anh TN, Hao TK, Chi NTD, Son NH. Predictions of Hypoxic-Ischemic Encephalopathy by Umbilical Cord Blood Lactate in Newborns with Birth Asphyxia. *Open access Macedonian journal of medical sciences*. 2019;7(21):3564-7.
178. Shah S, Tracy M, Smyth JJJop. Postnatal lactate as an early predictor of short-term outcome after intrapartum asphyxia. 2004;24(1):16-20.

179. Da Silva S, Hennebert N, Denis R, Wayenberg JLJAp. Clinical value of a single postnatal lactate measurement after intrapartum asphyxia. 2000;89(3):320-3.
180. Einikyte R, Snieckuviene V, Ramasauskaite D, Panaviene J, Paliulyte V, Opolskiene G, et al. The comparison of umbilical cord arterial blood lactate and pH values for predicting short-term neonatal outcomes. 2017;56(6):745-9.
181. Ayrapetyan M, Talekar K, Schwabenbauer K, Carola D, Solarin K, McElwee D, et al. Apgar scores at 10 minutes and outcomes in term and late preterm neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy in the cooling era. 2019;36(05):545-54.
182. Han Y, Fu N, Chen W, Liang J, Cui Y, Zhang Y, et al. Prognostic value of electroencephalography in hypothermia-treated neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy: a meta-analysis. 2019;93:3-10.
183. Shankaran S, Pappas A, McDonald SA, Laptook AR, Bara R, Ehrenkranz RA, et al. Predictive value of an early amplitude integrated electroencephalogram and neurologic examination. Pediatrics. 2011;128(1):e112-20.
184. Thoresen M, Hellström-Westas L, Liu X, de Vries LSJP. Effect of hypothermia on amplitude-integrated electroencephalogram in infants with asphyxia. 2010;126(1):e131-e9.
185. Chandrasekaran M, Chaban B, Montaldo P, Thayyil SJJOP. Predictive value of amplitude-integrated EEG (aEEG) after rescue hypothermic neuroprotection for hypoxic ischemic encephalopathy: a meta-analysis. 2017;37(6):684-9.
186. Obeid R, Sogawa Y, Gedela S, Naik M, Lee V, Telesco R, et al. The correlation between a short-term conventional electroencephalography in the first day of life and brain magnetic resonance imaging in newborns

- undergoing hypothermia for hypoxic-ischemic encephalopathy. 2017;67:91-7.
187. Del Río R, Ochoa C, Alarcon A, Arnáez J, Blanco D, García-Alix A. Amplitude Integrated Electroencephalogram as a Prognostic Tool in Neonates with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy: A Systematic Review. *PloS one*. 2016;11(11):e0165744.
 188. Hallberg B, Grossmann K, Bartocci M, Blennow MJAp. The prognostic value of early aEEG in asphyxiated infants undergoing systemic hypothermia treatment. 2010;99(4):531-6.
 189. Nash K, Bonifacio S, Glass H, Sullivan J, Barkovich A, Ferriero D, et al. Video-EEG monitoring in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy treated with hypothermia. 2011;76(6):556-62.
 190. Biagioni E, Mercuri E, Rutherford M, Cowan F, Azzopardi D, Frisone MF, et al. Combined use of electroencephalogram and magnetic resonance imaging in full-term neonates with acute encephalopathy. 2001;107(3):461-8.
 191. Lin Y-K, Hwang-Bo S, Seo Y-M, Youn Y-AJM. Clinical seizures and unfavorable brain MRI patterns in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy. 2021;100(12):e25118.
 192. Kline-Fath BM, Horn PS, Yuan W, Merhar S, Venkatesan C, Thomas CW, et al. Conventional MRI scan and DTI imaging show more severe brain injury in neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy and seizures. 2018;122:8-14.
 193. Kaufman SA, Miller SP, Ferriero DM, Glidden DH, Barkovich AJ, Partridge JCJpn. Encephalopathy as a predictor of magnetic resonance imaging abnormalities in asphyxiated newborns. 2003;28(5):342-6.
 194. Rutherford MA, Azzopardi D, Whitelaw A, Cowan F, Renowden S, Edwards AD, et al. Mild hypothermia and the distribution of cerebral lesions in neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy. 2005;116(4):1001-6.

195. Rutherford M, Ramenghi LA, Edwards AD, Brocklehurst P, Halliday H, Levene M, et al. Assessment of brain tissue injury after moderate hypothermia in neonates with hypoxic–ischaemic encephalopathy: a nested substudy of a randomised controlled trial. 2010;9(1):39-45.
196. Chau V, Poskitt KJ, Miller SPJ. Advanced neuroimaging techniques for the term newborn with encephalopathy. 2009;40(3):181-8.
197. Rao R, Mietzsch U, DiGeronimo R, Hamrick SE, Dizon MLV, Lee KS, et al. Utilization of Therapeutic Hypothermia and Neurological Injury in Neonates with Mild Hypoxic-Ischemic Encephalopathy: A Report from Children's Hospital Neonatal Consortium. American journal of perinatology. 2022;39(3):319-28.
198. Murray DM, O'Connor CM, Ryan CA, Korotchikova I, Boylan GB. Early EEG Grade and Outcome at 5 Years After Mild Neonatal Hypoxic Ischemic Encephalopathy. Pediatrics. 2016;138(4).
199. Prempunpong C, Chalak LF, Garfinkle J, Shah B, Kalra V, Rollins N, et al. Prospective research on infants with mild encephalopathy: the PRIME study. Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association. 2018;38(1):80-5.
200. Chalak LF, Nguyen KA, Prempunpong C, Heyne R, Thayyil S, Shankaran S, et al. Prospective research in infants with mild encephalopathy identified in the first six hours of life: neurodevelopmental outcomes at 18-22 months. Pediatric research. 2018;84(6):861-8.
201. Finder M, Boylan GB, Twomey D, Ahearne C, Murray DM, Hallberg B. Two-Year Neurodevelopmental Outcomes After Mild Hypoxic Ischemic Encephalopathy in the Era of Therapeutic Hypothermia. JAMA pediatrics. 2020;174(1):48-55.
202. Oliveira V, Singhvi DP, Montaldo P, Lally PJ, Mendoza J, Manerkar S, et al. Therapeutic hypothermia in mild neonatal encephalopathy: a national survey

of practice in the UK. Archives of disease in childhood Fetal and neonatal edition. 2018;103(4):F388-f90.

203. Goswami IR, Whyte H, Wintermark P, Mohammad K, Shivananda S, Louis D, et al. Characteristics and short-term outcomes of neonates with mild hypoxic-ischemic encephalopathy treated with hypothermia. *Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association.* 2020;40(2):275-83.
204. Gagne-Loranger M, Sheppard M, Ali N, Saint-Martin C, Wintermark P. Newborns Referred for Therapeutic Hypothermia: Association between Initial Degree of Encephalopathy and Severity of Brain Injury (What About the Newborns with Mild Encephalopathy on Admission?). *American journal of perinatology.* 2016;33(2):195-202.
205. McDouall A, Wassink G, Bennet L, Gunn AJ, Davidson JO. Challenges in developing therapeutic strategies for mild neonatal encephalopathy. *Neural regeneration research.* 2022;17(2):277-82.
206. Koo E, Sheldon RA, Lee BS, Vexler ZS, Ferriero DM. Effects of therapeutic hypothermia on white matter injury from murine neonatal hypoxia-ischemia. *Pediatric research.* 2017;82(3):518-26.
207. Walsh BH, Neil J, Morey J, Yang E, Silvera MV, Inder TE, et al. The Frequency and Severity of Magnetic Resonance Imaging Abnormalities in Infants with Mild Neonatal Encephalopathy. *The Journal of pediatrics.* 2017;187:26-33.e1.
208. Chawla S, Bates SV, Shankaran S. Is It Time for a Randomized Controlled Trial of Hypothermia for Mild Hypoxic-Ischemic Encephalopathy? *The Journal of pediatrics.* 2020;220:241-4.
209. Shankaran S, Laptook AR, McDonald SA, Hintz SR, Barnes PD, Das A, et al. Acute perinatal sentinel events, neonatal brain injury pattern, and outcome of infants undergoing a trial of hypothermia for neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. 2017;180:275-8. e2.

210. Jain S, Zempel J, Srinivasakumar P, Wallendorf M, Mathur AJJoP. Early EEG power predicts MRI injury in infants with hypoxic-ischemic encephalopathy. 2017;37(5):541-6.
211. Thatipamula S, Hossain MAJBn. Critical role of extracellularly secreted neuronal pentraxin 1 in ischemic neuronal death. 2014;15(1):1-11.
212. Ma Q-L, Teng E, Zuo X, Jones M, Teter B, Zhao EY, et al. Neuronal pentraxin 1: a synaptic-derived plasma biomarker in Alzheimer's disease. 2018;114:120-8.
213. Thatipamula S, Al Rahim M, Zhang J, Hossain MAJNod. Genetic deletion of neuronal pentraxin 1 expression prevents brain injury in a neonatal mouse model of cerebral hypoxia–ischemia. 2015;75:15-30.
214. Clayton KB, Podlesniy P, Figueiro-Silva J, López-Doménech G, Benitez L, Enguita M, et al. NP1 regulates neuronal activity-dependent accumulation of BAX in mitochondria and mitochondrial dynamics. 2012;32(4):1453-66.
215. Rahim MA, Hossain MAJJotAHA. Genetic Deletion of NP 1 Prevents Hypoxic-Ischemic Neuronal Death Via Reducing AMPA Receptor Synaptic Localization in Hippocampal Neurons. 2013;2(1):e006098.
216. Al Rahim M, Thatipamula S, Hossain MAJNod. Critical role of neuronal pentraxin 1 in mitochondria-mediated hypoxic–ischemic neuronal injury. 2013;50:59-68.
217. Drury PP, Bennet L, Gunn AJ, editors. Mechanisms of hypothermic neuroprotection. Seminars in Fetal and Neonatal Medicine; 2010: Elsevier.
218. Sozer V, Kutnu M, Atahan E, Caliskaner Ozturk B, Hysi E, Cabuk C, et al. Changes in inflammatory mediators as a result of intermittent hypoxia in obstructive sleep apnea syndrome. 2018;12(4):1615-22.
219. Chen J, Matzuk MM, Zhou XJ, Lu CYJKi. Endothelial pentraxin 3 contributes to murine ischemic acute kidney injury. 2012;82(11):1195-207.

220. Shimizu T, Suzuki S, Sato A, Nakamura Y, Ikeda K, Saitoh S-i, et al. Cardio-protective effects of pentraxin 3 produced from bone marrow-derived cells against ischemia/reperfusion injury. 2015;89:306-13.
221. Lee HH, Kim SY, Na JC, Yoon YE, Han WKJ. Exogenous pentraxin-3 inhibits the reactive oxygen species-mitochondrial and apoptosis pathway in acute kidney injury. 2018;13(4):e0195758.
222. Lech M, Römmele C, Gröbmayer R, Susanti HE, Kulkarni OP, Wang S, et al. Endogenous and exogenous pentraxin-3 limits postischemic acute and chronic kidney injury. 2013;83(4):647-61.
223. Rodriguez-Grande B, Varghese L, Molina-Holgado F, Rajkovic O, Garlanda C, Denes A, et al. Pentraxin 3 mediates neurogenesis and angiogenesis after cerebral ischaemia. 2015;12(1):1-11.
224. Rodriguez-Grande B, Swana M, Nguyen L, Englezou P, Maysami S, Allan SM, et al. The acute-phase protein PTX3 is an essential mediator of glial scar formation and resolution of brain edema after ischemic injury. 2014;34(3):480-8.
225. Shindo A, Maki T, Mandeville ET, Liang AC, Egawa N, Itoh K, et al. Astrocyte-derived pentraxin 3 supports blood-brain barrier integrity under acute phase of stroke. 2016;47(4):1094-100.
226. Rajkovic I, Wong R, Lemarchand E, Tinker R, Allan SM, Pinteaux EJA. Pentraxin 3 regulates neutrophil infiltration to the brain during neuroinflammation. 2019;1.
227. Rajkovic I, Wong R, Lemarchand E, Rivers-Auty J, Rajkovic O, Garlanda C, et al. Pentraxin 3 promotes long-term cerebral blood flow recovery, angiogenesis, and neuronal survival after stroke. 2018;96(12):1319-32.

Ek-1: Hipoksik İskemik Ensefalopati Çalışma Formu**HİPOKSİK İSKEMİK ENSEFALOPATİ ÇALIŞMA FORMU**

<p>Hastane adı: Protokol: Hasta adı: Cinsiyet (K/E): Doğum tarihi: Doğum ağırlığı: Gebelik yaşı (hafta): Doğum şekli (CS/NSVY): 1. /5./10. dk Apgar: Başvuruda vücut ısısı:</p> <p>Doğumda resusitasyon Pozitif basınçlı ventilasyon: Kardiyak masaj: İlaç verilmesi:</p> <p>Uzamış eylem (30 dk- 2 saat): Fetal distress: Plasenta previa/Ablasio plasenta: Kord düğümlenmesi: Uterus rüptürü: Kord prolapsusu: Mekonyum boyalı amniyon sıvısı: Vakum/forseps:</p>	<p>LAB bulguları: Kord kan gazı: pH: CO2: Beb: 1.saat içindeki kan gazı: pH: CO2: Beb: Laktat: LDH: PT: APTT: INR: Hemoglobin: HCT: Lökosit: Platelet: AST: ALT: CK: Üre: BUN: Kreatinin: Ürik Asit: CRP 1- Hipotermi öncesi ilk 6 saat içinde: CRP 2- Hipotermi Bitiminde:</p> <p>İşitme testi (BERA):</p> <p>Kranial MRI (5. gün veya 1. haftada çekilmiş):</p> <p>Diffuzyon MRI (5. gün veya 1. haftada çekilmiş):</p>
<p>Anne yaşı: Akraba evliliği: Gebelik/Doğum sayısı: Çoğul gebelik: Postmaturite: İntrauterin gelişme geriliği: Preeklampsi/ Eklampsi: Diyabet: İlaç kullanımı: EMR:</p>	<p>aEEG Bulguları: Hafif: (Alt çizgi > 5mV üst çizgi > 10 mV) Orta: (Alt çizgi ≤ 5mV üst çizgi > 10 mV) Ağır: (Alt çizgi < 5mV üst çizgi <10 mV)</p> <p>Tedavi:</p> <p>Hipotermiden önce aEEG: İlk 24 saatte aEEG: 24-48 saatte aEEG: 48-72 saatte aEEG: Hipotermiden sonra aEEG:</p>
<p>Eşlik eden semptom/hastalık: Sefal hematoma, ekimoz: İntrakranial kanama: Mekonyum aspirasyonu: Konjenital malformasyon: Hipoglisemi (kan şekeri): Hipokalsemi (Ca) Hiperkalemi (K): Trombositopen (Trombosit)i: Apne: Nöbet: (var ise kaçınıcı saatte başladı)</p>	<p>TEDAVİLER Hipotermi: (uygulandıysa kaç saat) Antiepileptik: İnotrop: %3 NACI: Mannitol: Taze Donmuş Plazma: Eritrosit Süspansiyonu: Afarez Trombosit:</p>

	Thompson Skoru	Sarnat Evresi	<u>(NÖRONAL PENTRAKSİN 1 ve PENTRAKSİN 3 için)</u>
Hipotermi Öncesi			Asfiktik doğan/ Hipotermi uygulanan bebekte 1-Korddan veya dışarıdan gelen hastalarda ilk 6 saat içerisinde hipotermiye başlanmadan önce 2-Hipotermimin bitiminde (72. saatinde) veya uzamış hipotermi tedavisinde (96. saatinde) ısıtma işlemi başlanmadan önce 3-Postnatal 3.ayda
6. saat			
12. saat			
18. saat			Asfiktik doğan / hipotermi uygulanmayan bebekte 1-Korddan veya dışarıdan gelen hastalarda ilk 6 saat içerisinde 2-Hayatın 72. saatinde 3-Postnatal 3.ayda
24. saat			
30. saat			
36. saat			Sağlıklı bebeklerde 1-Korddan biyokimya tüpüne 2 ml venöz kan alınacak
42. saat			
48. saat			
54. saat			Venöz kan 6000 rpm'de 10 dk santrifüj edildikten sonra serum eppendorf tüpüne ayrılarak -80 C'de saklanacak
60. saat			
66. saat			
72. saat			
Hipotermi Sonunda			

Çalışmaya Vaka Desteği Veren Merkezler:

- 1- Sabahattin Ertuğrul ve Sibel Tanrıverdi Yılmaz (Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi)
- 2- Fatma Kaya Narter (Kartal Dr Lütü Kırdar Şehir Hastanesi)
- 3- Akan Yaman (Özel Güngören Hastanesi)
- 4- Kazım Küçüktaşcı (Denizli Özel Sağlık Hastanesi)
- 5- Ayşegül Zenciroğlu ve Ahmet Özyazıcı (Dr Sami Ulus Kadın Doğum Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Eğitim Araştırma Hastanesi)
- 6- Mustafa Aydın ve Samet Benli (Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi)
- 7- Abdullah Barış Akcan (Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi)
- 8- Özkan İlhan (Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi)
- 9- Tülin Gökmen Yıldırım ve Oğuz Han Kalkanlı (Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi)