

Hipoksik İskemik Ensefalopatili Yenidoğanlarda Erken Dönem Beyin Hasarının Belirlenmesinde Nöron Spesifik Enolaz, Protein S-100 ve Kreatin Kinazın Rolü¹

THE PREDICTIVE ROLE OF NEURON SPECIFIC ENOLASE, PROTEIN S-100 AND CREATINE KINASE FOR EARLY DETERMINATION OF BRAIN DAMAGE IN INFANTS WITH HYPOXC ISCHEMIC ENCEPHALOPATHY

Dr. Yakup ASLAN*, Dr. S. Caner KARAHAN**, Dr. Yaşar ŞEN***, Dr. Ender ÖDEMİŞ****, Dr. Fazıl ORHAN*****, Dr. Ahmet ALVER*****, Dr. Şadan HACISALİHOĞLU*****
Dr. Yaşam BARLAK*****

* Doç., Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri AD, Neonatoloji BD,
** Doç., Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD, TRABZON
*** Yrd.Doç., Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri AD, ELAZIĞ
**** Uz., Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri AD,
***** Yrd.Doç., Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri AD,
***** Asis., Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD,
***** Asis., Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri AD, TRABZON

Özet

Amaç: Bu çalışma, hipoksik iskemik ensefalopatili (HİE) yenidoğanlarda gelişen beyin hasarının erken belirlenmesinde nöron spesifik enolaz (NSE), protein S-100 (PS-100) ve kreatin kinazın (CK) rolünü araştırmak amacı ile gerçekleştirildi.

Materyel ve Metod: Çalışmaya miadında doğmuş 52 adet perinatal asfiksili yenidoğan bebek alındı. Bu vakalardan HİE tanısı konulan 34'ü HİE grubu (7'si Evre-3 HİE, 10'u Evre-2 HİE ve 17'si Evre-1 HİE) ve HİE tanısı olmayan 18'i kontrol grubu olarak kabul edildi. Bütün vakalardan rutin muayene, HİE evrelendirme ve laboratuvar analizlerinin yanında yaşamlarının 24. saatinde serumdan NSE, PS-100 ve CK analizleri, beyin omurilik sıvısından (BOS) NSE ve PS-100 analizleri gerçekleştirildi.

Bulgular: Grupların doğum ağırlıkları, gebelik yaşları ve doğum şekilleri istatistiksel olarak benzer idi. Beyin dışında en sık etkilenen organlar sırası ile karaciğer, böbrekler, barsaklar, akciğer ve kalp idi. Evre-1 HİE'li olan vakaların ortalama serum CK düzeyleri HİE'li olmayanlara göre anlamlı derecede yüksek olmasına rağmen, diğer analizler açısından aynı gruplar arasında anlamlı farklılık yoktu. Öte yandan, Evre-3 HİE vakalarında diğer evrelere, Evre-2 HİE vakalarında Evre-1 HİE'li olan veya HİE'li olmayanlara göre BOS ve serum NSE, PS-100 ve serum CK düzeyleri anlamlı derecede yüksek idi. BOS ve serum NSE, PS-100 ve serum CK analizlerinin kendi aralarında ve HİE evreleri ile yapılan korelasyon analizlerinde anlamlı derecede pozitif korelasyonlar belirlendi.

Sonuç: BOS ve serum NSE ve PS-100 analizleri HİE'ye bağlı beyin hasarının erken evrede belirlenmesinde kullanılabilir testlerdir. Ancak bu testlerin maliyetleri yüksektir ve HİE'ye bağlı beyin hasarının belirlenmesinde yeterince özgül değillerdir.

Anahtar Kelimeler: Hipoksik iskemik ensefalopati,
Nöron spesifik enolaz, Protein S-100,
Kreatin kinaz

Summary

Purpose: The aim of this study was to evaluate predictive values of neuron specific enolase (NSE), protein S-100 (PS-100) and creatine kinase (CK) for early determination of brain damage in newborns with hypoxic ischemic encephalopathy (HIE).

Material and Methods: Fifty two term newborns with perinatal asphyxia were enrolled in the study. The cases were subdivided in two groups, HIE group included 34 newborns with HIE (7 of Stage-3, 10 of Stage-2, 17 Stage-1) and control group included 18 newborns without HIE. Routine physical examination and HIE staging were performed to all patients. Neuron specific enolase, PS-100 and CK were assessed in the sera, and NSE and PS-100 in the cerebrospinal fluid (CSF) at the 24th hour of life.

Results: The mean birth weights, gestational ages, route of delivery were not different statistically between groups. In addition to brain; liver, kidneys, guts, lungs and heart were the most affected tissues, respectively. In HIE Stage-1 cases, the mean level of serum CK was higher than cases of control group, but there is no difference for other tests between the same groups. Additionally, the mean serum level of NSE, PS-100 and CK, and the mean levels of NSE and PS-100 in CSF of HIE Stage-3 cases were higher compared to all cases of other stages and control group, in HIE Stage-2 cases compare to HIE Stage-1 and control cases. The mean serum and CSF levels of NSE, PS-100 and serum levels of CK were positively correlated with each other and HIE Stages.

Conclusion: CSF and serum NSE and PS-100 are tests that can be used for early determination of HIE related cerebral injury. However, these tests are expensive and they are not sufficiently specific for determination of HIE related brain damage.

Key Words: Hypoxic ischemic encephalopathy,
Neuron specific enolase, Protein S-100,
Creatine kinase

Perinatal asfiksi neonatal morbidite ve mortalitenin en önemli nedenlerindedir. Pulmoner, renal, gastrointestinal, hematolojik ve kardiyak sistem ile ilgili organ hasarlarının yanı sıra, asfiktik bebeklerin üçte birinde hipoksik iskemik ensefalopati (HİE) gelişir (1,2). Asfiksiye bağlı nöron hasarını önleyici tedavi edici ajanlar hayvan deneylerinde araştırılmış ve etkili bulunmuştur. İnsanlarda bu ajanların uygulanabilmesi için öncelikle nöron hasar riski yüksek bebeklerin erken evrede belirlenmesi gereklidir (3).

Geçmişte klinik, elektroensefalografik ve nöroradyolojik değerlendirme en sık kullanılan metodlar iken, son 10 yıl içinde beyin hasarının erken evrede belirlenmesinde daha kolay uygulanabilir çeşitli biyokimyasal belirleyicilerin etkinliği araştırılmaya başlanmıştır (1,4). Santral sinir sistemine özgül molekül veya metabolitlerin beyin omurilik sıvısında (BOS) veya kanda belirlenmesi ile, HİE ile ilişkili beyin hasarı indeksleri geliştirilmeye çalışılmıştır. Bununla birlikte halen en duyarlı ve özgül olan belirleyicinin hangisi olduğu konusunda fikir birliği yoktur (4-9).

Nöron spesifik enolaz (NSE) sitoplazma içi glikolitik enolazın nöronal formudur ve nöron hücre cisimlerinde, aksonlarda ve nöroendokrin hücrelerde bulunur (1). Protein S-100 (PS-100) çeşitli hücre tiplerinde sitozolün ana kısmını oluşturan, dimerik yapıda, kalsiyum bağlayan, asidik bir proteindir. Hipoksik iskemik ensefalopatili yenidoğan bebeklerde NSE düzeyleri birkaç çalışmada, PS-100 düzeyleri ise bir çalışmada araştırılmış ve nöron hasarının bir göstergesi olarak kullanılacakları iddia edilmiştir (1,4,10).

Bir çok değişik dokuda bulunan bir enzim olan kreatin kinazın (CK) kalp kası, iskelet kasları ve beyin dokusuna özgül izoenzimleri vardır. Beyin dokusuna özgül olan CK-BB izoenziminin erişkinlerdeki beyin hasarını belirlemedeki rolü yaygın olarak araştırılmış olmasına karşın, perinatal asfiksili yenidoğanlarda beyin hasarını belirlemedeki rolü ile ilgili birkaç çalışma rapor edilmiştir (1,11). Total CK düzeyleri ise beyin dışındaki organ hasarlarında da artış gösterebildiği için beyin hasarını belirlemede özgül bir değer taşıması

beklenmez, ancak beyin dahil bütün organ hasarları konusunda kabaca bir fikir verebilir.

Bu çalışmada perinatal asfiksi ve HİE tanısı ile yenidoğan yoğunbakım servisimizde tedavi edilen yenidoğan bebeklerde NSE ve PS-100'ün serum ve BOS düzeyleri ve serum total CK düzeyleri incelenmiş, HİE evresi ve prognoz ile ilişkileri araştırılmıştır.

Materyel ve Metod

Çalışma Nisan 1998 ile Nisan 2001 tarihleri arasında KTÜ Tıp Fakültesi Yenidoğan Yoğunbakım Ünitesi'nde gerçekleştirildi. Çalışmaya miadında doğmuş ve normal doğum kilosuna sahip, majör konjenital anomali, sistemik enfeksiyon ve metabolik hastalığı olmayan ve perinatal asfiksi dışı nedenlerden kaynaklanan ciddi respiratuar distresi bulunmayan, 57 adet perinatal asfiksili bebek alındı. Perinatal asfiksi tanısı aşağıdaki kriterlerden en az üçünün varlığında konuldu (4,12): 1) Doğum esnasında veya öncesinde fetal bradikardi veya geç deselerasyonların varlığı. 2) Apgar skorunun 1. dakikada dörtten ve/veya 5. dakikada yediden küçük olması. 3) Etkili spontan solunumun başlaması için bir dakikadan daha fazla pozitif basınçlı ventilasyon gerekmesi. 4) Umbilikal arter kanı pH değerinin 7.1'in altında olması. Başlangıçta çalışmaya alınan 57 bebekten ikisi analizlerin yapılacağı 24. saatten önce öldükleri için, üçü de ailesi tarafından BOS incelemesine izin verilmediği için çalışmadan çıkarıldı ve çalışmayı 52 bebek tamamladı. Apgar skorları ve nörolojik muayenelerinin doğru yapılabilmesi ve kord kanı gaz analizlerinin ölçülebilmesi için sadece hastanemizde doğan bebekler çalışmaya alındı.

Bebeklerin HİE derecelendirmesi Sarnat and Sarnat (13) tarafından tanımlanan basitleştirilmiş evrelendirme sistemi kullanılarak yapıldı. Buna göre hipereksitabilite ve/veya hipertoni varlığı, buna karşın konvülziyonun olmaması durumunda Evre-1 HİE tanısı; letarji, hipotoni, yenidoğan reflekslerinin zayıflığı, konvülziyon ve/veya bradikardi varlığında Evre-2 HİE tanısı; ciddi hipotoni, sık ve inatçı konvülziyon, koma veya stupor, apne, bradikardi ve/veya hipotansiyon ve pupil cevaplarının kaybı gibi anormal beyin sapı

işaretlerinin varlığında ise Evre-3 HİE tanısı konuldu. Sonuç olarak 52 vakanın 34'ü HİE tanısı konulan çalışma grubu, diğer 18'i ise HİE tanısı almayan kontrol grubu olarak kabul edildi.

Bütün vakalara resüsitasyon bitiminden kısa süre sonra, 6, 12, 24, 36, 48 ve 72. saatlerde kas tonusu ve gücü, motor aktivite, irritabilite ve yenidoğan reflekslerini içeren nörolojik muayene aynı hekim tarafından yapıldı. Hem asfiktik, hem de kontrol grubu vakalarda Apgar skorları 1 ve 5. dakikalarda belirlendi. Ayrıca HİE tanısı alan vakalardan hem evrelendirme, hem de gelişen veya gelişmesi beklenen beyin hasarlarını belirlemek amacı ile klinik durumları uygun olduğunda kranial ultrasonografi, tomografi ve/veya manyetik rezonans inceleme ve elektroensefalografi (EEG), kontrol grubu vakalara ise yalnızca kranial ultrasonografi ve EEG incelemesi yapıldı.

Beyin haricindeki organların hasarlarını belirlemek için asfiktik bebeklerden tam idrar analizi, tam kan sayımı, serum elektrolitleri, kalsiyum, fosfor, glukoz, ALT, AST, BUN, kreatinin, ürik asit, protein, albümin, PT ve aPTT analizleri doğumdan kısa süre sonra ve doğumdan sonraki 24. saatte gerçekleştirildi. Bütün vakalardan umbilikal arter kan gazları ölçüldü. Yaşamlarının 24. saatinde NSE ve PS-100 için BOS ve kan, total CK analizi için ise kan örnekleri alındı.

Alınan kanların serumları ayrıştırıldı ve hem serum hem de BOS örnekleri çalışma bitirilip analizler yapılmaya kadar -70°C'lik derin dondurucuda saklandı. Serum CK analizleri ise örnekler alınır alınmaz biyokimya laboratuvarında gerçekleştirildi. Serum ve BOS'tan yapılan NSE analizleri Fluoroimmunoassay yöntemi ile, Delfia-Pharmacia (Freiburg, Germany) ticari kitleri ve cihazı kullanılarak çalışıldı. Serum PS-100 analizleri ise Immunoradiometric Assay (IRMA) yöntemi ile, Byk Sangtec (Bromma, Sweden) ticari kitleri ve Gamma Counter cihazı kullanılarak çalışıldı.

Çalışmaya başlamadan önce lokal etik komitenin onayı alındı. Ayrıca bütün vakaların ebeveynleri çalışma hakkında bilgilendirilip onayları alındı.

Ölçülen NSE, PS-100 ve CK değerleri ortalaması±SD olarak belirlendi. Ölçülen değerlerin HİE

evrelerine göre farklılık gösterip göstermediğini belirlemek için Kruskal Wallis varyans analizi ve Mann Whitney-U testi, bu ölçümlerin birbirleri ile ve HİE evreleri ile ilişkilerini belirlemek amacı ile Sperman korelasyon analizi kullanıldı.

Sonuçlar

Çalışma (HİE'li grup) ve kontrol grubu ve HİE alt gruplarında yer alan vakaların ortalama doğum ağırlıkları, gebelik yaşları ve doğum şekilleri istatistiksel olarak farksız idi ($p>0.05$). HİE'li olmayan ile Evre-1 HİE'li olan vakaların 1. ve 5. dakikalarda belirlenen ortalama Apgar skorları kendi aralarında farksız olmasına rağmen ($p>0.05$), Evre-2 ve Evre-3 vakalar ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek idi ($p<0.05$). Benzer şekilde Evre-2 vakalarının 1. ve 5. dakika ortalama Apgar skorları Evre-3 vakalarinkine oranla daha yüksek idi ($p<0.05$). Evre-1 ve Evre-2 HİE'li olan ve HİE'li olmayan vakaların ortalama umbilikal arter pH düzeyleri istatistiksel olarak farksız olmasına rağmen ($p>0.05$), Evre-3 HİE'li vakaların pH düzeyleri bu gruplarinkine oranla anlamlı derecede düşük idi ($p<0.05$) (Tablo 1).

Perinatal asfiksiye bağlı organ etkilenme oranları Tablo 2'de verilmiştir. Herhangi bir organın etkilenme oranının %85, beyin etkilenme oranının %79 olduğu ve beyin dışında en sık etkilenen organların karaciğer, böbrek ve barsaklar olduğu gözlemlendi.

Tablo 3'te NSE, PS-100 ve CK değerlerinin HİE evrelerine göre ortalama değerleri gösterildi. Evre-1 HİE vakalarının ortalama BOS ve serum NSE ve PS-100 değerleri istatistiksel olarak HİE'li olmayan vakalarinkinden farksız iken ($p>0.05$), ortalama CK düzeyleri Evre-1 HİE'li olan vakalarda daha yüksek idi ($p<0.05$). Bunun dışında ortalama BOS ve serum NSE ve PS-100 değerleri Evre-3 HİE vakalarında Evre-1 ve Evre-2 HİE'li olan ve HİE'li olmayanlara göre, Evre-2 HİE vakalarında Evre-1 HİE'li olan ve HİE'li olmayanlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek idi ($p<0.05$).

Serum NSE, BOS-NSE, serum PS-100, BOS PS-100 ve serum CK ölçümlerinin kendi aralarında

Tablo 1. HİE evrelerine göre vakaların perinatal özellikleri (ortalama±SD)

Özellik	HİE'li olmayan (n=18)	Evre-1 HİE (n=17)	Evre-2 HİE (n=10)	Evre-3 HİE (n=7)
Doğum ağırlığı (g)	3240±510	3329±532	3423±689	3281±734
Gestasyonel yaş (hafta)	40.1±1.9	39.7±1.7	39.9±1.5	40.5±2.1
Doğum şekli				
Vajinal [n (%)]	11 (61)	10 (59)	5 (50)	4 (57)
Sezeryen [n (%)]	7 (39)	7 (41)	5 (50)	3 (43)
Apgar skoru				
1. dakika	3.4±2.3 ^a	3.1±1.7 ^b	2.3±1.8 ^c	1.2±1.9 ^d
5. dakika	6.5±1.1 ^e	6.4±1.3 ^f	5.2±2.1 ^g	2.2±2.6 ^h
Umbilikal arter kanı pH	7.07±0.4 ⁱ	7.03±0.2 ^j	7.01±0.1 ^k	6.8±0.6 ^l

P<0.05: a-c, a-d, b-c, b-d, c-d, e-g, e-h, f-g, f-h, g-h, i-l, j-l, k-l

Tablo 2. Santral sinir sistemi dışındaki organ tutulumları

Etkilenen Organ	HİE'li olmayan n (%)	Evre-1 HİE n (%)	Evre-2 HİE n (%)	Evre-3 HİE n (%)	Toplam n (%)
Karaciğer	2 (11)	4 (24)	8 (80)	6 (86)	20 (38)
Böbrek	1 (6)	2 (12)	8 (80)	7 (100)	18 (35)
Barsak	-	2 (12)	6 (60)	7 (100)	15 (29)
Akciğer	-	1 (6)	5 (50)	5 (71)	11 (21)
Kalp	-	-	2 (20)	3 (43)	5 (10)

Tablo 3. HİE evrelerine göre vakaların NSE, PS-100 ve CK düzeyleri (ortalama±SD)

Biyokimyasal analiz	HİE'li olmayan* (n=18)	Evre-1 HİE (n=17)	Evre-2 HİE (n=10)	Evre-3 HİE (n=7)
Serum NSE (µg/L)	10.5±5.8 ^a	14.2±6.8 ^b	30.4±12.5 ^c	47.5±19.5 ^d
BOS NSE (µg/L)	11.4±5.7 ^e	22.4±10.3 ^f	35.3±14.6 ^g	102.5±50.9 ^h
Serum PS-100 (µg/L)*	2.2±1.8 ⁱ	2.7±1.3 ^j	6.4±3.0 ^k	12.0±5.2 ^l
BOS PS-100 (µg/L)*	1.7±1.2 ^m	1.9±0.9 ⁿ	3.1±1.4 ^o	9.1±4.0 ^p
Serum CK (U/L)	169.1±61.5 ^f	289.6±186.1 ^s	1107.5±370.8 ^t	1983.8±461.0 ^u

P<0.05: a-c, a-d, b-c, B-d, c-d, e-g, f-g, f-h, g-h, i-k, i-l, j-k, j-l, k-l, m-o, m-p, n-o, n-p, o-p, r-s, r-t, r-u, s-t, s-u, t-u

* Kit yetersizliği nedeniyle HİE'li olmayan vakaların 12'sinde serum ve BOS PS-100 ölçümü yapılabildi

ve HİE evreleri ile yapılan korelasyon analizlerinin sonuçları Tablo 4'te gösterilmiştir. Serum CK ile serum PS-100 arasındaki hariç, bütün korelasyon analizleri istatistiksel olarak anlamlı derecede pozitif idi ($r>0.500$, $p<0.05$). HİE evreleri ile en güçlü korelasyonlar sırası ile BOS NSE ve BOS PS-100 arasında belirlendi.

Tartışma

Perinatal hipoksik iskemik beyin hasarı, uzun dönem çocukluk çağı nörolojik sekellerinin en önemli nedenlerindedir. Kullanılan kriterlerin farklılığından dolayı değişik oranlarda bildirilmiş olmakla birlikte, sıklığı miadında canlı doğan bebeklerde binde 1-5, tüm canlı doğan bebeklerde ise %1-1.5'tir (14-16).

Tablo 4. PS-100, NSE ve CK analizlerinin kendi aralarında ve HİE evreleri ile yapılan ve anlamlı bulunan korelasyon analizleri (rakamlar r değerlerini göstermekte olup, hesaplanan bütün p değerleri <0.005 olarak bulunmuştur)

Parametreler	BOS-NSE	S-NSE	BOS-PS-100	S-PS-100	CK	HİE-Evresi
BOS-NSE	-	,791	,876	,693	,591	,806
S-NSE	,791	-	,612	,654	,589	,681
BOS-PS-100	,876	,612	-	,680	,621	,753
S-PS-100	,693	,654	,680	-	-	,602
CK	,591	,589	,621	-	-	,598
HİE-Evresi	,806	,681	,753	,602	,598	-

S-NSE: serum NSE, S-PS-100: serum PS-100

Perinatal asfiksili yenidoğanlarda beyin başta olmak üzere çoğu organlar hasar görebilir. Organların etkilenme sıklığı değişik oranlarda rapor edilmiştir. Martin-Ancel ve ark. (17) bir veya daha fazla organ tutulum oranını %82 ve SSS tutulum oranını %72 olarak rapor etmişlerdir. Diğer bazı çalışmalarda beyin dışında en sık etkilenen organın böbrek olduğu ve sıklığının %40-50 arasında değiştiği bildirilmiştir (17-19). Bizim çalışmamızda herhangi bir organın veya beyin etkilenme oranı Martin-Ancel ve arkadaşlarının (17) rapor ettiklerine benzer olmakla birlikte, beyin dışında en sık etkilenen organlar sırası ile karaciğer ve böbrekler idi.

Hipoksiye veya asfiksiye maruz kalan bir yenidoğan bebekte enerji kaynakları 12 ile 48 saat boyunca devamlı bir düşüş gösterir (20). Bu yüzden nöron hasarını önleyici tedavi girişimleri için bu erken dönem çok önemlidir. Ancak nöron hasarını önleyici girişim veya tedavilerin zararlı olabileceği de iddia edilmiştir (21). Bu nedenle öncelikle bu tedavilere ihtiyacı olan vakaların doğru bir şekilde ve erken dönemde belirlenmesi gerekmektedir. Bunun için kolay uygulanabilir nöron hasarı belirleyicilerine gereksinim vardır.

Kraniyal tomografi, manyetik rezonans, elektroensefalografi ve somatosensöriyel uyarılmış potansiyeller kullanılarak ensefalopati derecesinin ve prognozunun belirlenebileceği yapılan değişik çalışmalarda bildirilmiştir (22-25). Ancak bu incelemeler erken dönemde ve hastanın solunum desteğine gereksinimi var iken gerçekleştirilemez.

Bundan hareketle, nöron hasarının erken belirlenmesine yönelik çeşitli biyokimyasal belirleyici-

ler üzerinde araştırmalar gerçekleştirilmiştir. Bunlardan bazıları üriner laktat/kreatinin oranı, BOS'ta IL-6, glial fibriler asidik protein ve eksitator amino asit olup hipoksi sonrası 6-66 saat arası dönemlerde çalışılmışlardır. Ancak bu testler hipoksik beyin hasarı ile ilgili bazı katkılar sağlamakla birlikte yeterli derecede özgül bulunmamışlardır (6-9). Son dönemlerde CK-BB, PS-100 ve NSE ile ilgili araştırmalara bir yöneliş dikkat çekmektedir (1,4,11).

Asfiktik term ve preterm bebeklerde CK izoenzimlerinden beyin için özgül olan CK-BB formunun BOS ve serum düzeyleri daha önce rapor edilmiş bazı çalışmalarda incelenmiştir. Talvik ve ark. (11) perinatal asfiksili yenidoğan bebeklerde yaptıkları bir çalışmada preterm bebeklerde 2. ve 5. günlerde BOS'ta ölçülen CK-BB düzeylerinin asfiktik term bebeklere ve sağlam erişkinlere göre, ayrıca evre-2 ve evre-3 HİE vakalarında evre-1 HİE'li olanlara göre daha yüksek bulunduğunu rapor etmişlerdir. Nagdyman ve ark. (1) asfiktik term yenidoğanlarda doğum sonrası 2, 6 ve 12. saatlerde ölçülen serum CK-BB enzim düzeylerinin orta veya ciddi HİE vakalarında hafif HİE'li olan veya HİE'li olmayanlara göre anlamlı derecede yüksek olduğunu ve 2. saat değerlerinin PS-100 ile birlikte yüksek belirleyicilik (%83) ve özgüllüğe (%95) sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Total kreatin kinaz beyin dışında kalp kası, iskelet kasları ve barsaklar başta olmak üzere bir çok dokuda bulunan bir enzim olduğundan HİE'ye bağlı beyin hasarının belirlenmesinde özgül bir değer taşıması beklenmez. Ancak yapılan bir çalışmada kord kanı total CK, CK-MB ve troponin-I

analizlerinin perinatal hipoksi tanısında ve prognozunun belirlenmesinde kullanılabilecek testler oldukları rapor edilmiştir (26). Çalışmamızda ölçülen total CK düzeylerinin gerek HİE evreleri ve gerekse BOS ve serum NSE, BOS PS-100 gibi beyin için daha özgül olan analizlerle iyi korelasyon göstermesi, rutin laboratuvarlarda kolay ve düşük maliyetle ölçülebilmesi, asfiktik bebeklerde beyin hasarını belirlemede yardımcı bir test olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

NSE total çözünebilir beyin proteininin %3'ünü oluşturan, ancak beyin dokusu dışında periferik sinirler, endokrin bezler, lenfositler, eritrositler ve trombositler başta olmak üzere bir çok dokuda bulunan bir enzimdir (4,27). Biyolojik sıvılarda çözünür kısmı stabil olduğu için, ölçümleri hiperbilirubinemi veya lipemi gibi durumlardan etkilenmez (4), ayrıca nöron kaynaklı olmayan enolazlar ile immünolojik çapraz reaksiyonlar göstermez (27). Değişik çalışmalarda erişkinlerin iskemi, kardiyak arrest, enfeksiyon, tümör ve travma gibi nöron hasarı yapan hastalıklarında NSE ölçümlerinin tanısal değer taşıdığı iddia edilmiştir (28,29).

Perinatal asfiksidede NSE içeren beyin dışı organların bir çoğu hasar görebileceğinden, serum NSE ölçümlerinin HİE evrelendirme ve tanısı için yanlış pozitif sonuçlar verebileceği düşünülebilir. Ancak Barone ve ark. (30) tarafından hayvanlarda orta serebral arter oklüzyonu ile fokal iskemi oluşturularak yapılan bir çalışmada, iskemi sonrası 1-2. günlerde plazmada NSE düzeylerinin ölçülebilir düzeyde bulunduğu ve bundan hareketle iskemik beyin hasarını belirlemede bir marker olarak kullanılabileceği iddia edilmiştir. Ayrıca Martens (31) tarafından kardiyak arrest geçirip yaşayan erişkinlerde yapılan bir çalışmada, arrest sonrası 24. saatte ölçülen serum NSE düzeylerinin hipoksik beyin hasarını belirlemede destekleyici bir marker olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

Asfiktik yenidoğan bebeklerde yapılan birkaç çalışmada BOS-NSE ölçümlerinin serum NSE ölçümlerinden daha değerli olduğu vurgulanmıştır (1,4,10). Bildiğimiz kadarı ile yalnızca bir çalışmada hem BOS, hem de serum NSE düzeyleri birlikte incelenmiştir (10). Garcia-Alix ve ark. (4)

perinatal asfiksili term yenidoğanlarda 12 ve 72. saatlerde ölçülen BOS NSE düzeylerinin hipoksik beyin hasarının erken belirlenmesinde kullanılabilecek biyokimyasal bir belirleyici olduğunu rapor etmişlerdir. Nagdyman ve ark. (1) ise benzer özelliklerdeki yenidoğanlarda 12. saatten sonra ölçülen serum NSE düzeylerinin orta ve ciddi derecede HİE'li bebeklerde, hafif HİE'li olan veya HİE'li olmayan bebeklere göre daha yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda Evre-2 ve Evre-3 HİE'li bebeklerde ölçülen BOS ve serum NSE düzeyleri diğer vakalarda ölçülenlere göre yüksek idi. Serum ve BOS NSE düzeyleri HİE evreleri ve diğer analizlerle anlamlı pozitif korelasyonlar göstermesine rağmen, BOS NSE ile yapılan korelasyonların daha anlamlı olması, önceki çalışmaların sonuçlarına paralel olarak, BOS NSE ölçümlerinin HİE'ye bağlı beyin hasarını belirlemede daha özgül olduğunu düşündürmektedir.

Protein S-100 kalp kası, çizgili kaslar, böbrekler, yağ dokusu ve timus dokusunda bulunan bir proteindir (1,32). Normal erişkinlerin serumunda ölçülecek düzeylerde bulunmaz (33). Erişkinlerde kardiyopulmoner bypass (34), kardiyak arrest (35), beyin kanaması (36) ve serebral iskemi (37) durumlarında gelişecek olan beyin hasarının bir göstergesi olarak serum PS-100 ölçümlerinin değeri araştırılmıştır. Westbay ve ark. (34) tarafından kardiyopulmoner bypass operasyonu uygulanan erişkinlerde yapılan bir çalışmada, sternotomi öncesi serumda PS-100 ölçülemeyecek düzeylerde olduğu halde, operasyon esnasında yapay dolaşım uygulanan vakalarda düzeylerin anlamlı derecede arttığı rapor edilmiştir. Lindberg ve ark. (38) ise kardiyak operasyon uygulanan çocuklarda yapay dolaşım sonrası 5-15. saatler arasında yaptıkları PS-100 ölçümlerinde bir aydan küçük bebeklerin daha yüksek düzeylere sahip olduklarını belirlemişler ve bundan hareketle yaşa bağlı referans değerlerinin belirlenmesi gerektiğini rapor etmişlerdir.

Yaptığımız literatür taramasında perinatal asfiksili yenidoğanlarda PS-100'ün tanısal değerini inceleyen yalnızca bir çalışmaya rastlayabildik. Nagdyman ve ark. (1) tarafından perinatal asfiksili yenidoğanların kord kanında, doğum sonrası 2, 6, 12 ve 24. saatlerde alınan serum örneklerinde NSE,

CK-BB ve PS-100 analizleri gerçekleştirmiş ve bütün örneklerde asfiktik grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuş iken, orta ve ciddi HİE vakalarında hafif HİE vakalarına göre sadece 2 ve 6. saatlerde anlamlı derecede yüksek bulunduğu bildirilmiş ve bu verilerin ışığında serum PS-100 ve CK-BB ikilisinin HİE için en yüksek belirleyicilik ve özgüllüğe sahip olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca PS-100 düzeylerinin serumdaki artışının renal atılımının azalması, glial hücre ve nöron membranlarının hipoksik hasarına bağlı olarak ekstrasvasküler sıvıya kaçağın artmasına bağlı olabileceğini iddia etmişlerdir (1). Bebeklerde erişkinlere oranla serum PS-100 düzeyinin daha yüksek bulunması, kan-beyin bariyeri geçirgenliğindeki artışın serum PS-100 düzeylerini etkilediğini düşündürmektedir (38). Buna karşılık, yakın geçmişte rapor edilen çalışmalarda serumda geçici PS-100 artışının kalıcı nöron hasarı ile ilişkisiz olduğunun gösterilmiş olması, serumda ölçülen PS-100'ün beyinden başka kaynaklarının olabileceği düşüncesini gündeme getirmiştir (39,40).

Bizim çalışmamızda BOS ve serum PS-100 düzeyleri arasında anlamlı korelasyon olması, Nagdyman ve arkadaşlarının (1) kan-beyin bariyer geçirgenliğinin artışı ve BOS PS-100 düzeylerinin serum PS-100 düzeylerini etkilediği şeklindeki iddiasını desteklemektedir. Öte yandan, serum PS-100 düzeylerinin BOS düzeylerine oranla yüksek olması, yukarıda ifade edilen serum PS-100 değerlerinin beyin dışı kaynaklarının olabileceği şeklindeki ikinci düşüncüyü desteklemektedir.

Sonuç olarak, BOS'ta ölçülenler daha değerli olmakla birlikte, gerek BOS ve gerekse serum NSE ve PS-100 analizleri HİE'ye bağlı beyin hasarının derecesini belirlemede kullanılabilir biyokimyasal testlerdir. Ancak serum düzeylerini etkileyebilecek diğer faktörler göz önüne alındığında, bu testlerin HİE'ye bağlı beyin hasarının erken belirlenmesinde yeterli derecede özgül olmadıkları söylenebilir. Ayrıca bu testlerin erken dönemde ölçülen düzeyleri ile geç dönem HİE prognozu arasındaki ilişki de bilinmemektedir. Yine bu testlerin henüz rutin laboratuvarlarda çalışılmayan ve maliyeti yüksek testler olduğu unutulmamalıdır. Bu nedenlerle HİE'ye bağlı beyin hasarının erken belirlenmesin-

de başka testlere yönelik çalışmalara gereksinim olduğu kanısındayız. Bunun yanı sıra rutin laboratuvarlarda ve düşük maliyet ile ölçülebilen CK analizinin, perinatal asfiksiye bağlı doku hasarı derecesinin tahmininde kaba bir fikir verebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Nagdyman N, Kömen W, Ko H-K, Müler C, Obladen M. Early biochemical indicators of hypoxic-ischemic encephalopathy after birth asphyxia. *Pediatr Res* 2001; 49:502-6.
2. Goodwin TM, Belai I, Hernandez P, Durand M, Paul RH. Asphyxial complications in the term newborn with severe umbilical acidemia. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 67:1506-12.
3. Vannucci RC, Perlman JM. Interventions for perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics* 1997; 100:1004-14.
4. Garcia-Alix A, Cabanas F, Pellicer A, Hernanz A, Stiris TA, Quero J. Neuron-specific enolase and myelin basic protein: relationship of cerebrospinal fluid concentrations to the neurologic condition of asphyxiated full-term infants. *Pediatrics* 1994; 93:234-40.
5. Al Naqeeb N, Edwards AD, Cowan FM, Azzopardi D. Assessment of neonatal encephalopathy by amplitude-integrated electroencephalography. *Pediatrics* 1999; 103:1263-71.
6. Blennow M, Hagberg H, Rosengren L. Glial fibrillary acidic protein in the cerebrospinal fluid: a possible indicator of prognosis in full-term asphyxiated newborn infants? *Pediatr Res* 1995; 37: 260-4.
7. Hagberg H, Thornberg E, Blennow M, Kjellmer I, Lagercrantz H, Hamberger A, et al. Excitatory amino acids in the cerebrospinal fluid of asphyxiated infants: relationship to hypoxic-ischemic encephalopathy. *Acta Paediatr* 1993; 82:925-9.
8. Martin-Ancel A, Garcia-Alix A, Pascual-Salcedo D, Cabanas F, Valcarce M, Quero J. Interleukin-6 in the cerebrospinal fluid after perinatal asphyxia is related to early and late neurological manifestations. *Pediatrics* 1997; 100:789-94.
9. Huang CC, Wang ST, Chang YC, Lin KP, Wu PL. Measurement of the urinary lactate: creatinine ratio for the early identification of newborn infants at risk for hypoxic-ischemic encephalopathy. *N Engl J Med* 1999; 341:328-35.
10. Thornberg E, Thiringer K, Hagberg H, Kjellmer I. Neuron specific enolase in asphyxiated newborns: association with encephalopathy and cerebral function monitor trace. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1995; 72:F39-42.
11. Talvik T, Haldre S, Soot A, Hamarik M, Piirsoo A, Mikkelsen AV. Creatine kinase isoenzyme BB concentrations in cerebrospinal fluid in asphyxiated preterm neonates. *Acta Paediatr* 1995; 84:1183-7.
12. Lupton BA, Hill A, Roland HE, Whitfield MF, Flodmark O. Brain Swelling in the asphyxiated term newborn: pathogenesis and outcome. *Pediatrics* 1988; 82:139-46.

13. Sarnat HB, Sarnat MS. Neonatal encephalopathy following fetal distress: a clinical and electroencephalographic study. *Arch Neurol* 1976; 33:696-705.
14. Dios GJ, Moya M. Perinatal asphyxia, hypoxic-ischemic encephalopathy and neurological sequelae in full-term newborns: an epidemiological study (1). *Rev Neurol* 1996; 24:821-9.
15. Mulligan JC, Painter MJ, O'Donoghue PA, McDonald HM, Alle AC, Taylor PM. Neonatal asphyxia. II. Neonatal mortality and long-term sequelae. *J Pediatr* 1980; 96:903-7.
16. Ergander U, Eriksson M, Zetterström R. Severe neonatal asphyxia. Incidence and prediction of outcome in the Stockholm area. *Acta Paediatr Scand* 1983; 72:321-5.
17. Martin-Ancel A, Garcia-Alix A, Gaya F, Cabanas F, Burgueros M, Quero J. Multiple organ involvement in perinatal asphyxia. *J Pediatr* 1995; 127:786-93.
18. Satar M, Narlı N, Kırımı E, Atıcı A, Türkmen M, Yapıcıoğlu H. Evaluation of 205 neonates with hypoxic ischemic encephalopathy. *T Klin J Pediatr* 2001; 10:36-41.
19. Perlman JM, Tack ED. Renal injury in the asphyxiated newborn infant: Relationship to neurological outcome. *J Pediatr* 1988; 113:875-9.
20. Lorek A, Takei Y, Cady EB, Wyatt JS, Penrice J, Edwards AD, et al. Delayed ("secondary") cerebral energy failure after acute hypoxia-ischemia in the newborn piglet: continuous 48-hour studies by phosphorus magnetic resonance spectroscopy. *Pediatr Res* 1994; 36:699-706.
21. Levene M, Gibson N, Fenton A, Papathoma E, Barnett D. The use of a calcium-channel blocker, nifedipine, for severely asphyxiated newborn infants. *Dev Med Child Neurol* 1990; 32:567-74.
22. Hellström-Westas L, Rosén I, Svenningsen NW. Predictive value of early continuous amplitude integrated EEG recordings on outcome after severe birth asphyxia in full term infants. *Arch Dis Child* 1995; 72:34-38.
23. de Vries LS, Pierrat V, Eken P, Minami T, Daniels H, Casaer P. Prognostic value of early somatosensory evoked potentials for adverse outcome in full-term infants with birth asphyxia. *Brain Dev* 1991; 13:320-5.
24. Fitzhardinge PM, Flodmark O, Fitz CR, Ashby S. The prognostic value of computed tomography as an adjunct to assessment of the term infants with postasphyxial encephalopathy. *J Pediatr* 1981; 99:777-81.
25. Cowan FM, Pennock JM, Hanrahan JD, Manji KP, Edwards AD. Early detection of cerebral infarction and hypoxic ischemic encephalopathy in neonates using diffusion-weighted magnetic resonance imaging. *Neuropediatrics* 1994; 25:172-5.
26. Türker G, Babaoğlu K, Zengin E, Duman C, Arısoy AE. CK, CK-MB, ve troponin I düzeylerinin perinatal hipoksizde diagnostik ve prognostik önemi. *Samsun, XI Ulusal Neonatoloji Kongresi, 2001, 12.*
27. Kaiser E, Kuzmits R, Pregant P, Burghuber O, Worofka W. Clinical biochemistry of neuron specific enolase. *Clin Chim Acta* 1988; 183:13-32.
28. Mokuno K, Kato K, Kawai K, Matsuoka Y, Yanagi T, Sobue I. Neuron specific enolase and S-100 levels in cerebrospinal fluid of patients with various neurological diseases. *J Neurol Sci* 1983; 60:443-51.
29. Jacobi C, Reiber H. Clinical relevance of increased neuron specific enolase concentration in cerebrospinal fluid. *Clin Chim Acta* 1988; 177:49-54.
30. Barone FC, Clark RK, Price WJ, White RF, Feuerstein GZ, Storer BL, et al. Neuron-specific enolase increases in cerebral and systemic circulation following focal ischemia. *Brain Res* 1993; 623:77-82.
31. Martens P. Serum neuron-specific enolase as a prognostic marker for irreversible brain damage in comatose cardiac arrest survivors. *Acad Emerg Med* 1996; 3:126-31.
32. Kojima K, Wekerle H, Lassmann H, Berger T, Linington C. Induction of experimental autoimmune encephalitis by CD 4+ T cells specific for an astrocyte protein, S100 beta. *J Neural Transm Suppl* 1997; 49:43-51.
33. Fassbender K, Schmidt R, Schreiner A, Fatar M, Mühlhauser F, Daffertshofer M, et al. Leakage of brain-originated proteins in peripheral blood: temporal profile and diagnostic value in early ischemic stroke. *J Neurol Sci* 1997; 148:101-5.
34. Westaby S, Johnsson P, Parry AJ, Blomqvist S, Solem Jan-Otto, Alling C, et al. Serum S100 protein: a potential marker for cerebral events during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1996; 61:88-92.
35. Böttiger BW, Möbes S, Glätzer R, Bauer H, Gries A, Bärtsch P, et al. Astroglial protein S-100 is an early and sensitive marker of hypoxic brain damage and outcome after cardiac arrest in humans. *Circulation* 2001; 103:2694.
36. Kim JS, Yoon SS, Kim YH, Ryu JS. Serial measurement of interleukin-6, transforming growth factor- β , and S-100 protein in patients with acute stroke. *Stroke* 1996; 27:1553-7.
37. Martens P, Raabe A, Johnsson P. Serum S-100 and neuron-specific enolase for prediction of regaining consciousness after global cerebral ischemia. *Stroke* 1998; 29:2363-6.
38. Lindberg L, Olsson AK, Anderson K, Jögi P. Serum S-100 protein levels after pediatric cardiac operations: a possible new marker for postperfusion cerebral injury. *Thorac Cardiovasc Surg* 1998; 116:281-5.
39. Jönsson H, Blomquist S, Alling C, Johnsson P. Early release of S100 after cardiac surgery: interference from extracerebral sources. *Ann Thorac Surg* 1998; 66:1493.
40. Westaby S, Saatvedt K, White S, Katsumata T, Oeveren W, Bhatnager NK, et al. Is there a relationship between serum S-100 β and neuropsychologic dysfunction after cardiopulmonary bypass? *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 119:132-7.

Geliş Tarihi: 31.03.2003

Yazışma Adresi: Dr. Yakup ASLAN
KTÜ Tıp Fakültesi, Pediatri AD
Neonatoloji BD, TRABZON

*Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Rektörlüğü Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (Proje kod No: 96.114.003.12).