

## Hipoksik iskemik ensefalopatili yenidoğan bebeklerde beyin-omurilik sıvısı askorbik asit düzeyleri

M. Adnan Öztürk<sup>1</sup>, Tamer Güneş<sup>2</sup>, İnci Karaküçük<sup>3</sup>, Mustafa Kendirci<sup>1</sup>, Figen Narin<sup>4</sup>

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi <sup>1</sup>Pediyatri Profesörü, <sup>2</sup>Pediyatri Yardımcı Doçenti, <sup>3</sup>Biyokimya Doçenti, <sup>4</sup>Biyokimya Uzmanı

**SUMMARY:** Öztürk MA, Güneş T, Karaküçük İ, Kendirci M, Narin F. (Departments of Pediatrics and Biochemistry, Erciyes University Faculty of Medicine, Kayseri, Turkey). Cerebrospinal fluid ascorbic acid levels in newborn infants with hypoxic ischemic encephalopathy. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2002; 45: 222-225.

The aim of this study was to analyze the relationship between ascorbic acid concentrations in cerebrospinal fluid (CSF) and severity of hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE) in newborn infants. Infants at or above 37 weeks of gestation were classified to have mild, moderate or severe HIE according to Sarnat and Sarnat. Three groups of neonates were studied: 8 patients had mild (group I), 8 patients had moderate (group II) and 9 patients had severe (group III) HIE. CSF samples obtained between 24 and 72 hours of life were immediately frozen at  $-70^{\circ}$  C till the time of measurement. CSF ascorbic acid concentrations were measured with high performance liquid chromatographic (HPLC) method. The CSF ascorbic acid concentrations in groups I, II and III were  $43.08 \pm 17.15$  mg/L,  $70.28 \pm 42.66$  mg/L, and  $77.10 \pm 43.79$  mg/L, respectively. The CSF ascorbic acid levels were not statistically different in the three groups ( $p > 0.05$ ). The results of this study indicate that the CSF ascorbic acid level is not an accurate tool for assessing the severity of neurological insult after perinatal asphyxia.

**Key words:** hypoxic-ischemic encephalopathy, ascorbic acid, cerebrospinal fluid.

**ÖZET:** Yenidoğan bebeklerde hipoksik-iskemik ensefalopatinin (HİE) patogenezinde serbest oksijen radikallerinin rolü olduğu gösterilmiş ve antioksidan maddelerin tedavideki etkinlikleri tartışılmaktadır. Askorbik asit önemli bir antioksidan maddedir. Serbest radikal tutucu etkisi vardır, hipoksi ve değişik nörolojik hastalıklarda beyin-omurilik sıvısında (BOS) arttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada yenidoğan servisine yatan asfiktik bebeklerde BOS askorbik asit seviyelerini çalışarak hastalığın klinik ve laboratuvar bulguları ve prognozla ilişkisini araştırmayı amaçladık. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Yenidoğan Yoğun Bakım ünitesinde HİE tanısı ile izlenen 25 (sekizi grade I, sekizi grade II, dokuzu grade III) bebeğin beyin-omurilik sıvısı askorbik asit düzeyleri çalışıldı. BOS askorbik asit düzeyleri grade I, II, III asfiktik bebeklerde sırasıyla  $43.08 \pm 17.15$  mg/L,  $70.28 \pm 42.66$  mg/L,  $77.10 \pm 43.79$  mg/L olarak bulundu. Hafif asfiktik (grade I) vakalarda diğerlerine göre daha düşük BOS askorbik asit düzeyleri olmasına rağmen her üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ( $p > 0.05$ ). Sonuç olarak; HİE'nin şiddetinin değerlendirilmesinde BOS askorbik asit düzeylerinin yönlendirici olup olmadığını söylemek için daha fazla sayıda vaka ile çalışma gerekli olacağı kanısına varıldı.

**Anahtar kelimeler:** hipoksik iskemik ensefalopati, askorbik asit, BOS, yenidoğan.

Asfiksiye bağlı gelişen hipoksik iskemik ensefalopati (HİE) yenidoğan bebeklerin morbidite ve mortalitesinin en önemli nedenlerinden biridir. HİE bebeklerde serebral palsi, mental retardasyon, öğrenme bozuklukları gibi çocuğun yaşamını olumsuz yönde etkileyen sorunlara yol açmaktadır<sup>1</sup>. Hastalığın patogeneğinde serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun rolü olduğu ileri sürülmektedir. Değişik çalışmalarda da antioksidan maddelerin tedavideki etkinlikleri halen tartışılmaktadır<sup>2-4</sup>.

Bilinen başlıca antioksidan maddeler; transferrin, seruloplazmin, glutatyon, askorbik asit ve tokoferollerdir<sup>5</sup>. Askorbik asit plazmada bulunan önemli bir antioksidan vitamindir. Serbest radikal tutucu etkisi vardır. Beyin dokusu ve beyin-omurilik sıvısı (BOS) askorbik asit düzeyi oranı 4/1'dir<sup>6</sup>. Yapılan pek çok çalışmada plazma askorbik asit düzeyleri ile ilgili önemli bir bozukluk saptanmamıştır<sup>7</sup>. Daha önce yapılan deneysel çalışmalarda hipokside beyin dokusu askorbik asit düzeyleri kontrollerden düşük bulunurken, BOS askorbik asit konsantrasyonları yüksek bulunmuştur<sup>8-11</sup>. Yapılan bir çalışmada; zamanında doğmuş asfiktik yenidoğan bebeklerde askorbik asitin BOS'da artmış olduğu, bunun nedeninin de beyin dokusundan askorbik asit serbestleşmesi olduğu gösterilmiştir<sup>8</sup>. Bu bulguların sonucuna göre BOS askorbik asit düzeylerinin beyin iskemisinin önemli bir belirleyicisi olabileceği belirtilmiştir.

Bu çalışmanın amacı, HİE'li yenidoğan bebeklerin BOS askorbik asit düzeyleri ile HİE şiddeti arasında bir ilişki olup olmayacağı, dolayısıyla HİE prognozu ile BOS askorbik asit düzeyleri arasında bir ilişkinin olup olmadığını araştırmaktır.

### Materyal ve Metot

Çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi'ne asfiksi tanısı ile yatırılan 12'si erkek, 13'ü kız toplam 25 matür bebekte yapıldı. Asfiksi tanısı, maternal ve/veya fetal risk faktörlerinin varlığı, doğum öncesi veya sonrası kalp seslerinin dakikada 120'nin altında veya 160'ın üstünde olması, doğar doğmaz kord kanında veya en geç bir saat sonra alınan arteryel kan gazlarında metabolik asidozun bulunması ( $\text{pH} < 7.2$ ,  $\text{HCO}_3^- < 15$

mEq/L), bebeğe entübe edilerek veya hava kesesi yardımıyla bir dakikadan fazla yapay solunum yapılması, mekanik ventilasyon ihtiyacı, doğum sonu ağlamanın üç dakikadan fazla gecikmesi ve ilk iki gün içerisinde konvülsiyon geçirmesi gibi faktörlerin ikiden fazlasının bir arada bulunması ile konuldu<sup>12</sup>. Diğer hastanelerden acil polikliniğimize doğumdan sonraki ilk iki saat içerisinde getirilen üç bebekte ise, gönderen doktorların epikrizleri ve servisimize kabul edildiklerinde elde edilen bulgulara dayanarak asfiksi tanısı konuldu. Tedavilerinde, bebeğin pozisyonu, sıvı kısıtlanması, bikarbonat, fenobarbital ve gerekli olduğunda mekanik ventilasyon gibi klasik yöntemler uygulandı.

Bebekler, Sarnat ve Sarnat<sup>13</sup> sınıflamasına göre sekizi grade I, sekizi grade II, ve dokuzu grade III olarak üç gruba ayrıldı. Kromozom anomalileri, standart sinir sistemi anomalileri, metabolik ve endokrin hastalıklar, İntrauterin büyüme geriliği olanlar, kan değişimi gerektiren hiperbilirubinemili vakalar prenatal enfeksiyon ve sepsis gibi bulguları olan bebekler çalışma kapsamına alınmadı.

Tüm hastalardan stabilizasyonlarından sonra, servis ve asfiksi rutinleri yanında lomber ponksiyon yapılarak (ortalama 1-6. saatlerde) BOS örnekleri alındı. Eritrositler askorbik asiti düşürdüğü için kanlı BOS'u olanlar çalışma dışı bırakıldı. BOS örneklerinin hiçbiri enfekte değildi. Alınan 0.5 ml BOS 0.4 ml %10'luk metafosforik asit ile karıştırılarak askorbik asitin oksidasyonu önleni ve  $-70\text{ }^\circ\text{C}$ 'de analize kadar saklandı. Askorbik asit analizi için daha önceden kullanılan high performance liquid chromatographic (HPLC) yöntemi kullanıldı<sup>14</sup>.

Bulgular ortalama  $\pm$  standart sapma olarak belirlendi. Verilerin değerlendirilmesinde iki ortalamanın arasındaki farkın anlamlılık testi uygulandı.

### Bulgular

Bebeklerin ortalama Apgar skorları birinci dakikada  $4.5 \pm 0.7$  ve beşinci dakikada  $6.7 \pm 0.6$ , erkek kız oranı 12/13, gebelik yaşları ortalama  $39.3 \pm 1.4$  hafta, doğum ağırlıkları ortalama grade I'deki bebeklerde  $3088 \pm 529$  gr, grade II'deki bebeklerde  $3313 \pm 269$  gr ve grade III'deki bebeklerde  $3277 \pm 415$  gr idi.

Kan pH'ı grade III hastalarda ( $7.07 \pm 0.22$ ), grade I ve II hastalardan (sırasıyla  $7.28 \pm 0.13$

Tablo I. Hastaların grade'lerine göre değerleri

	Ağırlık (gr)	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mEq/L)	pH	BOS askorbik asit (mg/L)
Grade I (n=8)	3088 ± 529	18.70 ± 3.90	7.28 ± 0.13	43.08 ± 17.15
Grade II (n=8)	3313 ± 269	19.70 ± 5.60	7.24 ± 0.11	70.28 ± 42.66
Grade III (n=9)	3277 ± 415	17.02 ± 8.90	7.07 ± 0.22	77.10 ± 43.99
		p>0.05	p<0.05	p>0.05

ve 7.24±0.11) anlamlı olarak düşüktü (p<0.05). Grupların bikarbonat düzeyleri arasında fark yoktu (Tablo I).

Beyin-omurilik sıvısı askorbik asit düzeyleri, grade I'de en düşük (ortalama 43.08 ± 17.15 mg/L), grade II ve III'de ise daha yüksek (sırasıyla ortalama 70.28 ± 42.66 mg/L ve 77.10 ± 43.99 mg/L) düzeylerde idi. Grade I'de askorbik asit düzeyleri düşük olmakla beraber üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p>0.05, Tablo I).

### Tartışma

Hipoksik iskemik ensefalopati gibi santral sinir sistemi zedelenmesine neden olan durumlarda serbest radikallerin yeri ve serum antioksidan düzeyleri ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır<sup>3,4,11,15,16</sup>. Serbest radikaller biyomembranlarda yapısal değişikliklere, nükleik asit ve protein moleküllerinde bozulmalara neden olarak zararlı olmaktadır. Santral sinir sistemi içindeki birçok endojen madde serbest radikal zedelenmesine karşı hücreleri korumaktadır. Bunlar arasında askorbik asit önemlidir. Askorbik asit koroid pleksuslar tarafından BOS'a aktif olarak salgılanmakta olup beyin dokusuyla yakın temas halindedir<sup>6,17</sup>.

Santral sinir sistemi zedelenmesi sonrası BOS'da askorbik asit düzeyinin artması ya da oksidasyonu, serbest radikallere karşı bir savunma sistemi özelliği göstermektedir. Askorbik asit, serbest radikalleri zarara uğratarak etki etmektedir. Askorbik asit serbest radikallerle etkileşim göstererek askorbat serbest radikalleri oluşturmakta, oluşan askorbat serbest radikalleri daha az zararlı görmektedir<sup>18</sup>.

Neonatal asfiksili bebeklerde ilk beş gün içinde yapılan bir çalışmada askorbik asitin nöronlarda normalde dört kat daha yüksek düzeylerde

olduğu, asfiksi sonrası askorbik asidin BOS lehine arttığı ve hipoksik zedelenme sonucunda nöronlardan hücre dışına çıkarak BOS'a geçtiği ileri sürülmektedir<sup>8</sup>. Hayvan çalışmalarında da iskemi sonrası beyin dokusunda askorbik asit düzeylerinin azaldığı daha önceleri yayınlanmıştır<sup>10,11</sup>.

Çalışmamızda HİE'li bebeklerde daha önce sağlam çocuklarda BOS askorbik asit düzeyleri (36.20 ± 5.73 mg/L) ile ilgili olarak yapılan çalışmalardaki<sup>8</sup> değerlerden daha yüksek askorbik asit düzeyleri bulunmuştur. Bu durum HİE'de BOS askorbik asit düzeylerinin arttığıyla ilgili daha önceki bilgilerle uyumludur. Hipoksi ve iskemi olan bu bebeklerde nöronlardan BOS'a askorbik asit salınması sonucu arttığı söylenebilir.

Bu çalışmada HİE şiddeti ile BOS askorbik asit düzeyleri arasında bir ilişki olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Grade I HİE'li bebeklerde en düşük ve sağlam çocuklarda daha önceden bulunan değerlere yakın askorbik asit değerleri bulunmuştur. Grade II ve III HİE'li bebeklerde daha yüksek BOS askorbik asit düzeyleri bulunmuştur. Her üç grupta bulunan askorbik asit düzeyleri arasında istatistiksel olarak fark bulunamamıştır (p>0.05). Daha önce Oriot ve arkadaşlarının<sup>8</sup> yaptıkları çalışmada grade II ve III asfiktik bebeklerde BOS askorbik asit düzeyleri, grade I ve kontrol grubu bebeklerin BOS askorbik asit düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda grade I ile grade II ve III arasında değersel bir fark olmamasına rağmen istatistiksel farkın olmaması vaka sayılarının azlığı ile açıklanabilir. BOS'da askorbik asit artışının gerçek sebebi tam olarak anlaşılamamıştır. Oriot ve arkadaşları<sup>8</sup> spekülatif olarak okside askorbik asit düzeylerinin nöronal zedelenme sonrası BOS'a salındığını ileri sürmüşlerdir.

Çalışmamız sonuçlarına göre böyle bir spekülasyonu destekleyecek istatistiksel veriler bulunamamıştır. BOS askorbik asit düzeylerinin nöronal zedelenmenin bir belirleyicisi olarak kullanılabilmesi için daha fazla sayıda HİE'li bebekte ve kontrollerde çalışmanın yapılmasının gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

#### KAYNAKLAR

- Hill A, Vope JJ. Hypoxic-ischemic encephalopathy of the newborn. In: Swalman KF (ed). Pediatric Neurology. Principles and Practice (vol 1). St Louis: CV Mosby. 1989; 363-372.
- Yurdakök M. Perinatal hipoksik-iskemik ensefalopatinin patofizyolojisi. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 1997; 40: 571-577.
- Vannucci RC. Current and potentially new management strategies for perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy. Pediatrics 1990; 85: 961-968.
- Rosenberg AA, Murdaugh E, White CW. The role of oxygen free radicals in postasphyxial cerebral hypoperfusion in newborn lambs. Pediatr Res 1989; 26: 215-219.
- Halliwel B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. Arch Biochem Biophys 1990; 280: 1-8.
- Spector R. Penetration of ascorbic acid from cerebrospinal fluid in to brain. Exp Neurol 1981; 72: 645-653.
- Öztürk MA, Doğan P. Asfiksik bebeklerde plazma antioksidan madde düzeyleri: transferrin, seruloplazmin, vitamin C ve vitamin E. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 1997; 40: 53-59.
- Oriot D, Betremieux P, Baumann N, Lefrançois C, Marec BL. CSF ascorbic acid and lactate levels after neonatal asphyxia: preliminary results. Acta Paediatr 1992; 81: 845-846.
- Scheriber M, Novy P, Trojan S. The effect of acute and chronic hypoxia on ascorbic acid in various areas of the brain, liver, adrenal glands and in biological fluids in 18-day-old rats. [article in Czech]. Sb Lek 1989; 91: 129-136.
- Oriot D, Beharry K, Gordon JB, Aranda JV. Ascorbic acid during cerebral ischemia in newborn piglets. Acta Paediatr 1995; 84: 621-626.
- Adlard BP, De Souza SW, Moon S. The effect of age, growth retardation and asphyxia on ascorbic acid concentrations in the developing brain. J Neurochem 1973; 21: 877-881.
- Nelson KB, Leviton A. How much of neonatal encephalopathy is due to birth asphyxia? Am J Dis Child 1991; 145: 1325-1331.
- Sarnat HB, Sarnat MS. Neonatal encephalopathy following fetal distress. A clinical and electroencephalographic study. Arch Neurol 1976; 33: 696-705.
- Garcia-Castineiras S, Diaz-Bonnet V, Figueroa R, Miranda M. Ascorbic acid determination by hydrophobic liquid chromatography of the osazone derivative: application to the analysis of aqueous humor. J Liquid Chromatogr 1981; 4: 1619-1640.
- Öztürk MA, Büyükpatır A, Doğan P, Köse K. Asfiksik bebeklerde ve annelerinde antioksidan aktivite. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 1996; 39: 665-675.
- Sullivan JL, Vewton RB. Serum antioxidant activity in neonates. Arch Dis Child 1988; 63: 748-750.
- Spector R. Vitamin homeostasis in the central nervous system. N Engl J Med 1977; 296: 1393-1398.
- Bielski BH, Richter HW, Chan PC. Some properties of the ascorbate free radical. Ann NY Acad Sci 1975; 258: 231-237.