

**Újszülöttkori Hipoxiás-Iszkémiás Enkefalopátia kezelése -
Hipotermia terápia és további lehetőségek**

Kerényi Áron

SE ÁOK V. év

I.sz. Gyermekklinika

2013

Konzulens: Dr. Szabó Miklós, PhD egyetemi docens

Tartalomjegyzék:

Tartalomjegyzék:	2
Rövidítések jegyzéke	4
Hipoxiás-izkémiai encefalopátia	6
Epidemiológia:	6
Etiológia és rizikó-faktorok:	6
Patomechanizmus:	7
A, Primer károsodás.....	7
B, Másodlagos energia-válság.....	9
C, Glutamát-toxicitás.....	10
D, Intracelluláris kalcium-felhalmozódás.....	11
E, Szabadgyök-képződés.....	11
F, Gyulladás.....	13
Diagnózis:	14
A, Antepartum diagnózis.....	14
B, Intrapartum diagnózis.....	16
C, Posztpartum diagnózis.....	18
Biomarkerek	19
A, Biokémiai markerek.....	19
B, Elektroencefalogram.....	21
C, Ultrahang és CT.....	21
D, Mágneses rezonancia.....	22
E, SPECT, PET és NIRS.....	23
Kimenetel:	24
Prognózis:	25
Terápiás intervenciók	26
Szupportív terápia:	26
A, Lélegeztetés.....	26
B, Vérnyomás.....	27
C, Vércukor-szint.....	28
D, Görcsök.....	28
Hipotermiás terápia:	29
Kísérletes terápiai:	32
A, Xenon.....	32
B, Melatonin.....	33
C, Erythropoietin (EPO).....	33
D, Posztkondicionálás.....	34
E, Óssejt terápia.....	35
F, További transzláció előtt álló terápiai.....	36
Saját munka:	37
A, Irodalmi háttér és célkitűzések.....	37
B, Módszerek.....	38
C, Eredmények.....	39
D, Megbeszélés és következtetések.....	41
További tervek:	42
A, Háttér.....	43
B, Módszerek.....	44
Összefoglalás:	45
Irodalomjegyzék:	46
Saját publikációk jegyzéke	61

Rövidítések jegyzéke

aEEG – Amplitúdó-integrált elektroencefalogram

AMPA – Alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropionát

CSF – Cerebrospinális folyadék

CTG – Cardiotocogram

DWI - Diffúzió-súlyozott képalkotás (Diffusion-Weighted Imaging)

EPO – Erythropoietin

HIE – Hipoxiás-iszkémiás enkefalopátia

HR - Szívfrekvencia

IRDS – Infantilis respirációs disztressz szindróma

ICAM-1 – Intercelluláris adhéziós molekula-1

IUGR – Intrauterin növekedésbeli retardáció

KIR – Központi idegrendszer

LPS – Lipopoliszacharid

MABP – Artériás középnyomás

MEF – Magas energia-tartalmú foszfát

MPTP – Mitokondriális tranzíciós permeabilitási pórus

MRI – Mágneses rezonancia képalkotás

MRS – Mágneses rezonancia spektroszkópia

NIRS – Infravörös-közeli spektroszkópia (Near-InfraRed Spectroscopy)

NMDA – N-metil-D-aszpartát

NOS – Nitrogén-monoxid szintáz

ROS – Reaktív oxigén gyökök (Reactive Oxygen Species)

RNS – Reaktív nitrogén gyökök (Reactive Nitrogen Species)

PDA – Perzisztáló ductus arteriosus

PET – Pozitron-emissziós vizsgálat

PVL – Periventrikuláris leukomalácia

SEF – Másodlagos energia-válság (Secondary Energy Failure)

SOD – Szuperoxid-dizmutáz

SPECT - Single-Photon Emission Computed Tomography

TBSS – Tract-Based Spatial Statistics

Trec – Rektális hőmérséklet

Hipoxiás-iszkémiás enkefalopátia

Epidemiológia:

A hipoxiás-iszkémiás enkefalopátia (HIE) az újszülöttkori agykárosodás első számú oka.¹ A fejlett országokban 1000 érett újszülött közül átlagosan 1-2 esetében fordul elő a kórkép.² Ez a szám a fejlődő országokban lényegesen magasabb, a pontos prevalencia nem ismert, de egyes becslések szerint akár a 27 %-ot is elérheti.³ A pontos prevalencia becslése a fejlődő országokban a hiányos nemzeti epidemiológiai adatbázisok mellett annak is betudható, hogy a HIE szindróma számos különböző etiológiai okra vezethető vissza és így pontos diagnózisa nehéz.

Világszerte a HIE-t elszenvedő újszülöttek 10-60%-a meghal és legalább 25%-uk hosszú távú neurológiai károsodást szenved⁴ A HIE a gyermekkori cerebrális parézis 15-28%-áért felelős.⁵

Etiológia és rizikó-faktorok:

A HIE szindróma kialakulásának közös útja az agyi iszkémia (azaz az agyi vérellátás csökkenése), amit legtöbbször, azonban nem minden esetben kísér hipoxiémia (azaz az agyhoz jutó vér csökkent O₂ tartalma). A hipoxémia első sorban a szívműködésének károsodásán és az cerebrovaszkuláris autoreguláció megszüntetésén keresztül alakít ki iszkémiát, így károsítva a központi idegrendszert (KIR).

A perinatális szakaszban fellépő súlyos hipoxémia okai a következők lehetnek: 1) aszfixia (azaz hipoxémia, hiperkarbia és acidózis együttes jelenléte) az intrauterin gázcsere zavarával és születéskori légzési elégtelenséggel; 2) születés utáni légzési elégtelenség újszülöttkori respirációs disztressz szindróma (IRDS) vagy ismétlődő apnoés epizódok következtében; 3) súlyos jobb-bal shunt perzisztáló fötális keringés

* Ebben a fejezetben számos helyen hivatkozom egy publikációra, amit ezért nem lenne célravezető minden mondat után az indexben szerepeltetni. Ez a publikáció a következő: Volpe, J.J. Neurology of the Newborn. Saunders (2008).

vagy szívbetegség következtében. A súlyos iszkémia okai ebben a periódusban a következők lehetnek: 1) intrauterin aszfixia kardiális elégtelenséggel és a cerebrovaszkuláris autoreguláció elvesztésével; 2) posztnatális szívelégtelenség ismétlődő apnoés epizódok, jelentős méretű perzisztáló ductus arteriosus (PDA), vagy súlyos veleszületett szívhiba következtében; 3) posztnatális keringési elégtelenség keringés-összeomlás következtében (pl. szepszis).

A hipoxiás-iszkémiás károsodáshoz vezető legfontosabb intrapartum események a következők: akut méhlepény- vagy köldökzsinór-elégtelenség, pl. abruptio placentae, köldökzsinór prolapszus, elhúzódó kitolás vállalakadással, nehéz eszközös kifejtés, vagy rotációs manőverek. Az HIE-ás esetek kb. 10%-ában kizárólag posztpartum események állnak a kórkép háttérében, pl. súlyos perzisztáló főtális keringés, súlyos tüdő- vagy szívbetegség.⁶ Antepartum események (pl. anyai hipotenzió vagy vérzés) csak a legkritikább esetben szerepelnek primer etiológiai okként a kórkép kialakulásában, azonban fontos prediszponáló tényezők lehetnek egy későbbi intrapartum károsodásra.

Hasonló módon rizikó-tényező lehet az anyai cukorbetegség, preeclampsia, a méhlepény keringési zavara, intrauterin növekedésbeli retardáció (IUGR) vagy az ikerterhesség.⁷ Ezen rizikófaktorok háttérében valószínűleg nem csak a placentáris keringés zavara áll, hanem a szív, a máj és az agy csökkent glükóz-raktározó képessége, aminek következtében a szervezet képtelen lesz a megszületés által okozott stressz fokozott szubsztrát-igényét kielégíteni.⁸

Patomechanizmus:

Az 1980-as és '90-es években számos alap- és preklinikai kutatás igyekezett feltárni a HIE kialakulásában szerepet játszó patomechanizmusokat. 2000-es évekre ezen a kutatásokon keresztül sikerült azonosítani olyan kulcs-fontosságú molekuláris struktúrákat és történéseket, amelyek alapul szolgálhattak terápiás intervenciók stratégiák felállításához. Ezen nagy volumenű kutatási tevékenységnek köszönhetően annak ellenére, hogy jelenleg is számos tisztázatlan pontja van a folyamatnak, a HIE patomechanizmusának alapjául szolgáló történésekkel kapcsolatban konszenzus alakult ki.

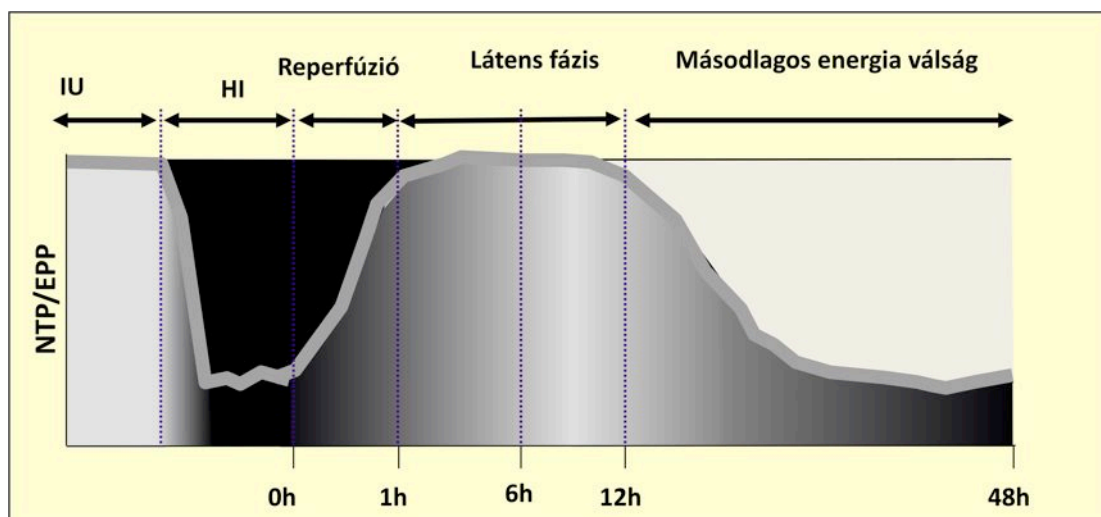
A fent felsorolt lehetséges etiológiai faktorok közös útjának kiindulási pontja a kombinált oxigén-glükóz hiány.⁹ Ennek következtében az idegsejtek energia-termelő folyamatai, első sorban a glikolízis és a terminális foszforiláció szubsztrát hiányában zavart szenvednek. Az oxigén-hiány hatása hamarabb jelenik meg az idegsejtek metabolizmusában, aminek köszönhetően az aerob helyett az anaerob glikolízis kerül előtérbe. Ennek során a glükóz nem szén-dioxidra oxidálódik, hanem laktáttá, amely folyamat a teljes glikolízishez képest kb. 95%-al kevesebb ATP-t szolgáltat.¹⁰ Ennek következtében az idegsejtek energia-termelő folyamatai felgyorsulnak, így egységnyi idő alatt az átlagos glükóz-felhasználás sokszorosára növekszik. Ezúton az iszkémia során kialakult glükóz-hiány sokkal hamarabb válik manifesztté, mint normoxiás körülmények közt. A két szubsztrát kombinált hiánya tehát az agyi energia-szintek gyors csökkenését eredményezi.¹¹ Ezzel párhuzamosan azonban a szisztémás vérkeringésben a glükóz koncentrációja emelkedni fog. Nagy klinikai jelentőségű a felismerés, miszerint hipoxia-iszkémia során a vér glükóz-koncentrációja nem tükrözi az agy glükóz-ellátottságát.¹¹

Az ATP hidrolízise illetve a laktát szintézise során keletkező intracelluláris H^+ ionok és a csökkenő pH központi szerepet játszik a HIE patomechanizmusában. A súlyos mértékű acidózis egyértelműen káros hatású, több úton keresztül is. Egyrészt gátolja az agyi erek autoregulációját, ezzel potenciálisan kiszolgáltatva egyes régiókat az intrakraniális perfúziós nyomás-csökkenés esetén kialakuló iszkémiának. A szisztémás acidémia hatására a miokardiális funkció csökkenésével ez a mechanizmus központi szerephez jut. Másrészt jól ismert a súlyos acidózis sejtkárosító hatása, ami súlyos esetben szöveti nekrozishoz vezethet.

Mindazonáltal számos kísérletben felmerült az enyhe acidózis esetlegesen protektív hatása is. Több mechanizmust is leírtak, amin keresztül az intracelluláris pH csökkenés kifejtheti védő hatását: 1) Gátolja a mitokondriális permeabilitási tranzíciós pórus (MPTP) összeszerelődését. Amennyiben ez a fehérje-komplex csatornává áll össze a mitokondrium belső membránjában, a mitokondrium elveszíti a töltését, a légzési lánc szétkapcsol, valamint citokróm c és további pro-apoptotikus fehérjék áramlanak ki a sejtplazmába, aminek következtében sejthalál következik be.¹² 2) Gátolja a foszfofruktokináz enzimet, így lassítva a sejt metabolizmusát.¹³ 3) Csökkenti a neuronok ingerelhetőségét.¹⁴ Az intracelluláris pH befolyásolása központi szerepet játszik több kísérletes neuroprotektív beavatkozás terápiás mechanizmusában is, erről a megfelelő fejezetekben lesz bővebben szó.

B, Másodlagos energia-válság

Mivel a HIE legtöbbször kombinált hipoxia és iszkémia következtében alakul ki, ebben a kórképben is központi szerepet játszik az iszkémiát követő reperfúziós károsodás. Ennek jelentőségét jól tükrözi a HIE patomechanizmusában leírt másodlagos energia-válság (SEF).¹⁵



1. ábra¹⁶ Az agyi energia szintek változása a HIE patomechanizmusa során. A függőleges tengelyen a magas energia-tartalmú foszfát vegyületek az összes foszfát vegyület arányában szerepel, P-MRS segítségével vizsgálva az agyban, az idő függvényében ábrázolva.

A SEF-t mágneses rezonancia spektroszkópiás vizsgálatok (H-MRS [proton] és P-MRS [foszfor]) segítségével írták le. Ennek segítségével az inzultus kezdetekor rövid időn belül látható az agyi laktát-szintek emelkedése valamint a magas energia-tartalmú foszfát (MEF) vegyületek szintjének csökkenése, ez az ún. elsődleges energia válság. Az inzultust követően a MEF vegyületek látszólagos szintje 2-3 órán belül normalizálódik és a laktát szintek is csökkennek. Ezt a pseudonormalizációt vagy látens szakaszt követően a MEF vegyületek szintje 24 órán belül ismét csökkenni kezd és 48 órán belül eléri a mélypontját. A SEF pontos időzítése változó, de humán újszülöttekben általában a 12-dik életórára kezdetét veszi. Az, hogy a SEF alapvetően oka vagy következménye a sejthalálnak sokáig megosztotta az ezzel foglalkozó kutatókat. Mindazonáltal úgy tűnik, hogy a SEF inkább következménye azoknak az eseményeknek, amelyek végül a kiterjedt sejtpusztuláshoz vezetnek.

Számos kutatás támasztja alá, hogy a HIE-ban tapasztalt sejthalál nem kizárólag vagy közvetlenül az oxigén-glükóz ellátás zavara miatt következik be, hanem további

patofiziológiai folyamatok is állnak a háttérben. Ezek közül a legfontosabbak az excitatorikus neurotranszmitterek extracelluláris felhalmozódása, az intracelluláris Ca^{2+} koncentráció emelkedése, a szabadgyökök képződése, valamint a neuroinflammáció.

C, Glutamát-toxicitás

Az izgató neurotranszmitterek közül a HIE patomechanizmusában legfontosabb szerepet a glutamát játssza, Fiziológias körülmények közt a glutamát a preszinaptikus neuronból szabadul fel Na^+ beáramlás hatására.¹⁷ A glutamát eltávolítása a szinaptikus térből a preszinaptikus neuronokon és az asztrocitákon található nagy-affinitású, Na^+ -függő glutamát-transzporterek segítségével történik. Hipoxia-iszkémia során az ATP-szint csökkenése miatt a Na^+ - K^+ -ATP-áz enzim működése károsodik, így nem fog létrejönni a transzporthoz szükséges Na^+ -grádiens, sőt akár a transzporter-funkció megfordulásához is vezethet. Az asztrocitákban az ATP-dependens glutamin-szintáz felelős a glutamát átalakításáért, amely mechanizmus így energia-hiányban szintén károsodni fog. Ezek következményeként ATP-hiányban extracelluláris glutamát-felhalmozódás fog kialakulni, ami következményes excitotoxicitáshoz vezet.

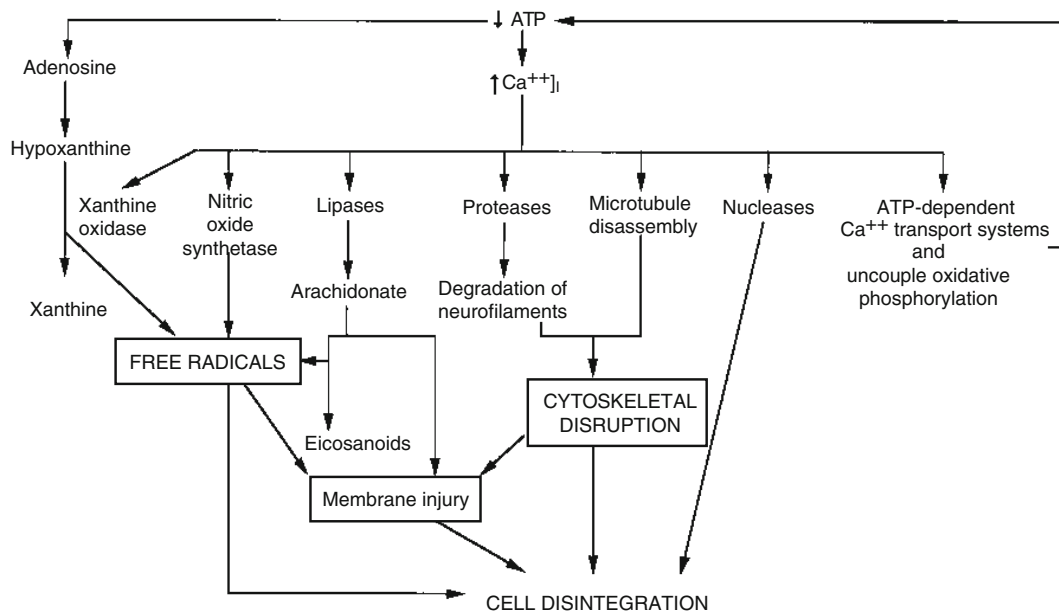
A posztzinaptikus neuronon ionotróp és metabotróp glutamát receptorok egyaránt megtalálhatóak. Ionotróp receptorok az NMDA, az AMPA és a kainát receptorok. Felnőtt agyban ezek közül csak az NMDA-receptorok permeábilisak Ca^{2+} -ionok számára, a másik két receptor csak Na^+ ionok számára átjárható. Az AMPA receptort a Ca^{2+} ionok számára átjárhatatlanná tevő GluR2 alegysége azonban a fejlődő agyban még alacsony koncentrációban van jelen, így ez a receptor is permeábilis Ca^{2+} ionok számára.¹⁸ HIE-ban a glutamát-okozta toxicitás patomechanizmusában az NMDA és az AMPA csatornák játszanak központi szerepet. A negyedik, metabotróp glutamát-receptor G-fehérje kapcsolt és foszfolipáz C aktivációján keresztül inozitol-trifoszfát és diacil-glicerol keletkezéséhez vezet. Ezek a másodlagos hírvivő molekulák az endoplazmatikus retikulumból való Ca^{2+} mobilizációt fogják elősegíteni.

A glutamát-toxicitás mechanizmusában két folyamat szerepe is felmerült. Az első az ionotróp csatornák aktivációját követő Na^+ beáramlás, amit passzív Cl^- és víz beáramlás követ.¹⁹ Ezek következtében sejtduzzadás és sejthalál következhet be. A másik folyamat, amely valószínűleg fontosabb szerepet játszik a sejthalál kialakulásában a korábban említett Ca^{2+} -beáramlás a citoplazmába.

D, Intracelluláris kalcium-felhalmozódás

A sejt plazmában fiziológiai körülmények között az extracelluláris terekhez képest kb. négy nagyságrenddel alacsonyabb a Ca^{2+} -koncentráció.²⁰ Ennek fenntartásában három rendszer játszik szerepet: a plazmamembrán, az endoplazmáris retikulum és a mitokondriumok. Ezeknek a membránjában különböző feszültség-függő, glutamát-függő, Na^+ -függő valamint ATP-függő transzport rendszerek találhatók, amelyek közül többet fentebb már tárgyaltunk. Ezek fényében világos, hogy a hipoxiás-izkémiai károsodás hatására kialakuló ATP-hiány, membrán-depolarizáció, Na^+ -grádiens csökkenése valamint a felhalmozódó glutamát együttesen jelentős intracelluláris Ca^{2+} emelkedést okoznak.

Az intracellulárisan felhalmozódó Ca^{2+} számos útvonalon keresztül vezet sejtkárosodáshoz, amelyet a következő ábra szemléltet:



2. ábra² A fokozott intracelluláris Ca^{2+} jel káros hatása hipoxia-izkémia során.

E, Szabadgyök-képződés

A szabadgyökök olyan reaktív vegyületek, amelyek a külső elektron-pályáikon párosítatlan elektronokat tartalmaznak. Ezen vegyületek reakcióba léphetnek a sejtekben normálisan megtalálható anyagokkal, mint például a sejtmembránban található telítetlen zsírsavakkal, amikből általában egy redox reakció keretében egy újabb szabadgyök képződik. Ezzel a mechanizmussal lánc-reakciót indíthatnak, ami gyakran visszafordíthatatlan károsodáshoz vezet. Az emlős sejtekben elsősorban reaktív

oxigén- (ROS) és reaktív nitrogén-gyökök (RNS) alakulnak ki.²¹ Az állapotot, amikor ezek a vegyületek felszaporodnak a sejtben oxidatív illetve nitratív stressznek nevezzük.

Hipoxia-iszkémia során a szabadgyökök egyik legfőbb forrása a mitokondrium belső membránjában található elektron-transzpor lánc. Az inzultus során az oxigén-hiány hatására az elektronok nem tudnak végigmenni a láncon a citokróm C-oxidáz enzimig, hanem korábban szabadgyökök, elsősorban szuperoxid-anion képződését okozzák. A szabadgyökök felhalmozódásának másik legfontosabb oka az intracelluláris Ca^{2+} koncentráció emelkedése, amely négy úton keresztül is elősegíti a képződésüket: 1) a Ca^{2+} -aktiválta foszfolipáz A2 enzim hatására arachidonsav keletkezik; 2) a Ca^{2+} aktiválja a xantin-oxidáz enzimet; 3) az intracelluláris Ca^{2+} koncentráció emelkedése fokozza a katecholaminok felszabadulását; 4) valamint a Ca^{2+} aktiválja a nitrogén-monoxid szintáz (NOS) nevű enzimet is. Ezen útvonalak aktiválódásának közös eleme a szabadgyökök képződése.²² Végül pedig azt is megfigyelték, hogy az inzultus helyén a korai reakcióban részt vevő asztrociták is fontos szabadgyök-forrásként működnek.²³

Az emlős sejtek rendelkeznek természetes védelmi mechanizmusokkal a szabadgyökök ellen. Ezek közül a legfontosabb a szuperoxid-dizmutáz (SOD) enzim, amely három izoformája is megtalálható a citoszolban, a mitokondriumban, illetve extracellulárisan. A reakció során hidrogén-peroxid keletkezik, amelyet a kataláz vagy a glutation-peroxidáz enzimek távolítanak el. Amennyiben ez a lépés zavart szenved és van jelen vas-ion, akkor a Fenton-reakció során hidroxil-gyök képződik, ami szélsőségesen káros az élő sejtre. Az újszülött agyban a hidrogén-peroxid eltávolításában résztvevő enzimek, különösen a glutation-peroxidáz szintje még viszonylag alacsony és a felnőtt álltuktól eltérően a hipoxiás-iszkémiás inzultus hatására nem következik be az enzim-szint adaptív emelkedése.²⁴

A másik központi jelentőségű enzim a fent említett NOS, amelynek három izoformája van, a konstitutív neuronális nNOS, a konstitutív endotheliális eNOS, illetve az indukálható iNOS, amely az asztrocitákban és a mikroglia sejtekben található.²⁵ A konstitutív formákat elsősorban a Ca^{2+} aktiválja, míg az indukálható forma Ca^{2+} -tól függetlenül, gyulladási stimulusok hatására aktiválódik.²³ Az enzim hatására keletkező NO számos fiziológiás jelátviteli útban vesz részt a guanilát-cikláz enzimen keresztül. A patológiás hatásért a NO metabolitjai felelősek, mint pl. a NO_2 , amely nitrotirozin csoportok képződéséhez vezet, vagy a nitrozónium ion (NO^+), amely a tiol csoportok nitrozilációját okozza. Hipoxia-iszkémia során a Ca^{2+} -jel hatására először az eNOS aktiválódik, amely hatására vazodilatáció jön létre a vérellátási zavar ellensúlyozására.²⁶

Az nNOS enzim által termelt NO átdiffundál a szomszédos neuronokba, ahol a korábban felszaporodott szuperoxid-anionnal reakcióba lépve létrehozza a különösen toxikus ONOO⁻ (peroxinitrit) gyököt.²⁷ Ez a vegyület számos úton vezet neuronális halálhoz, elsősorban mitokondriális károsodáson, energia-hiányon és további Ca²⁺-szint emelkedésen keresztül.²⁸ Az iNOS szerepe a késői NO-felhalmozódásban jelentős. Ennek hatására az inzultust követő órákban vagy napokban stabilan magas NO-szint lesz jellemző, amely szintén peroxinitrit-mediálta károsodáshoz vezet.²⁹

F, Gyulladás

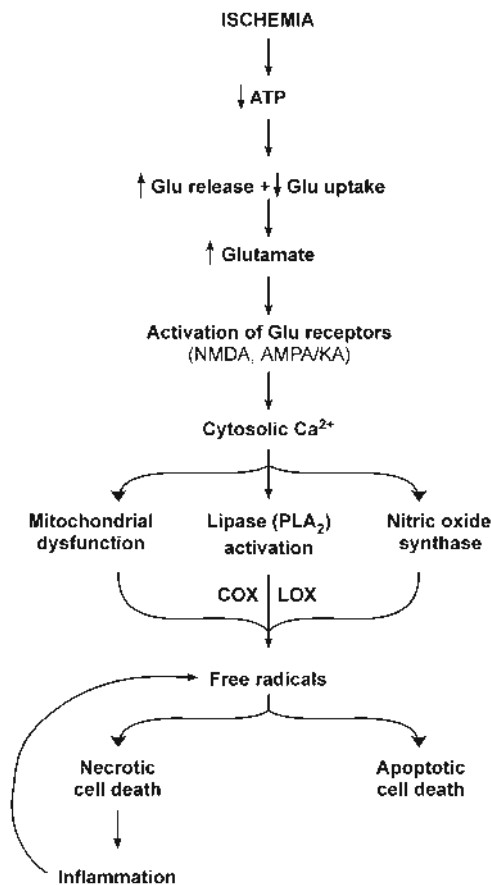
A gyulladás pontos szerepe a hipoxiás-iszkémiás károsodás patomechanizmusában máig nem teljesen tisztázott. Egyrészt számos adat utal arra, hogy a mérsékelt gyulladásos aktivációnak fontos szerepe lehet a neurológiai károsodást követő regeneratív folyamatokban.³⁰ Másik oldalról azonban mind a felnőtt, mint az újszülött hipoxiás-iszkémiás agykárosodás állatmodelljeiben központi szerepet kap a korai neuroinflammáció.

A hipoxiás-iszkémiás agykárosodás patomechanizmusában a gyulladásos folyamatok első közös pontja a mikroglia sejtek aktivációja, amely hamarabb következik be az újszülött agyban, mint a felnőtt modellekben.³¹ Ezek az aktivált mikroglia sejtek ezután számos neurotoxikus hatású anyagot juttatnak az interstitiumba és a keringésbe, többek közt reaktív oxigén-gyököket, NO-ot és citokineket. Ezek közül a citokinek közül a patomechanizmusban valószínűleg az IL-1béta és a TNF-alfa játsszák a legfontosabb szerepet. Az IL-1béta szerepe kiemelten fontos az endothel-neutrofil kapcsoló molekulák aktivációjában, elsősorban az intercelluláris adhéziós molekula-1 (ICAM-1) esetében.³² Ezeken keresztül polimorfonukleáris sejtek és a monocita-makrofág rendszer sejtjei akkumulálódnak az agyi erekben és több mechanizmuson keresztül súlyosbítják a hipoxiás-iszkémiás károsodást (pl. ROS termelésen, illetve vaszkuláris okklúzió kialakításán keresztül).

A fejlődő világban az egyik legjelentősebb neonatológiai problémát a születéskor fennálló perinatális infekció jelenti. Ilyenkor, például fennálló chorioamnionitis esetén jelentősen megnő az esély a különböző szülési komplikációk előfordulására, mint például a koraszülés vagy a HIE.³³ Számos kutatás vizsgálta az ilyen fertőzőes kórelőzmények hatását a HIE súlyosságára. Az állatkísérletes modellekben a Gram-negatív fertőzésekre jellemző lipopoliszacharid (LPS) injektálása az inzultust

megelőzően a legtöbb esetben súlyosbította a károsodást, azonban megfelelő időzítéssel leírták az előkezelés protektív hatását is.³⁴ Látható tehát, hogy a gyulladással kapcsolatos folyamatok pontos szerepe a HIE patomechanizmusában máig nem teljesen tisztázott.

A következő ábrán összefoglalásra kerül az eddig tárgyalt mechanizmusok egy lehetséges modellje:



3. ábra² Az apoptózishoz és nekrozishoz vezető folyamatok általános sorrendje hipoxia-iszkémia során.

Diagnózis:

A HIE adekvát kezelésének egyik legnagyobb akadálya a korai felismerés és diagnózis nehézsége. Az évek során számos diagnosztikus eljárás és biomarker merült fel, amelyeknek a klinikai alkalmazhatósága vagy hasznossága a legjobb esetben is csak részben igazolódott és egyik módszer sem tudott önmagában arany standarddá válni. A következőkben a különböző diagnosztikus eljárásokat az alkalmazásuk időpontja szerint csoportosítva tekintjük á

A, Antepartum diagnózis

Az antepartum diagnosztikai eljárások célja a szülés előtt fennálló, általában krónikus tényezők felderítése, amelyek HIE-hoz vezethetnek. Ezen vizsgálatok célja a magzat mozgásának, fejlődésének, szívfrekvenciájának, valamint az anyai és magzati keringési paramétereknek regisztrálása és adott esetben az ezekben bekövetkező változások észlelése.

A magzatmozgások csökkenésének leggyakoribb oka a krónikus uteroplacentáris elégtelenség volt a legtöbb vizsgálatban. Ezek rámutattak, hogy a magzatmozgások figyelése, főleg a szülést megelőző héten fontos lehet a későbbi szülési komplikációk szempontjából magasabb rizikójú terhesek azonosításában.³⁵ Ezek a vizsgálatok a közelmúltban újabb lendületet kaptak a valós-idejű ultrahang elterjedésével. Ezzel az eszközzel számos különböző magzati aktivitási mintázat és mozgás azonosítható, amelyeket vibrotaktilis illetve akusztikus ingerekre adott válaszokkal kiegészítve egy kvázi-neurológiai státusz vehető fel a méhben lévő újszülöttről. Ezeket a magzati légző mozgások finom vizsgálatával kiegészítve részletes információ kapható az újszülött neurológiai állapotáról.³⁶

Az egyik legelterjedtebb módja az antepartum monitorozásnak a főtális szívfrekvencia vizsgálatára irányul. Ennek két lehetséges módja van, a non-stressz teszt illetve a stressz-teszt. Ezek közül jelenleg a non-stressz teszt a klinikai gyakorlatban legelterjedtebb módszer. Ennek lényege, hogy a cardiotocogram (CTG) segítségével egyszerre kerül rögzítésre a főtális szívfrekvencia és a méh izomzat kontrakciója. A normális vagy reaktív CTG lelet a megfigyelési időszak alatt legalább két akcelerációt jelent a főtális szívfrekvenciában, amik általában magzati mozgásokhoz vagy vibroakusztikus stimulációhoz kapcsolódnak. A reaktív non-stressz teszt pozitív prediktív értéke magas, azaz normális magzati állapot esetén alkalmas az adott esetben sürgős beavatkozások megelőzésére.³⁷

A fent említett módszerek külön-külön való használatának számos korlátja van, ezért kialakult egy integrált megközelítés, aminek a célja a magzat biofizikai profiljának vizsgálata. Ennek elemei a magzati szívfrekvencia reaktivitása, a magzati légző mozgások, testmozgások, a magzati izomtónus, valamint az amnion-folyadék mennyisége. Ezeknek a tényezőknek az együttes vizsgálatára alkalmas a valós-idejű ultrahang. Ennek a módszernek az elterjedésével számos vizsgálatot végeztek a kialakított biofizikai profil pontrendszerre alapozva, amely csökkenése szignifikáns összefüggést mutat számos patológiai folyamattal, többek közt a cerebrális parézishez vezető agykárosodással.³⁸

Az ultrahang-technológia fejlődése lehetővé tette a magzati növekedés pontos monitorozását is. Ezzel a módszerrel azonosíthatók az intrauterin növekedési visszamaradásban (IUGR) szenvedő magzatok, amelyek 10-15%-ának háttérben uteroplacentáris elégtelenség áll és ezen magzatok szüléskor kiemelt kockázatúak lesznek intrapartum aszfixiára.³⁹

A non-stressz teszt mellett a másik legelterjedtebb antepartum monitorozási módszer a Doppler-vizsgálat, amelyben ultrahang-technológia segítségével mérhető különböző erekben a véráramlás sebessége. A HIE szempontjából a két legfontosabb vizsgált ér az arteria umbilicalis és a magzati arteria cerebri media. Az a. umbilicalis vizsgálata elsősorban az IUGR magzatok azonosításában kiemelkedő fontosságú. Ahogy korábban említettük, ezek a magzatok kiemelt rizikóval rendelkeznek perinatális neurológiai károsodás és újszülöttkori mortalitás szempontjából egyaránt.⁴⁰ Szintén ezen magzatok vizsgálatában elterjedt eljárás az a. cerebri media Doppler-monitorozása. Az umblikális áramlás csökkenésével (azaz a placentáris ellenállás emelkedésével) párhuzamosan leírták az agyi vaszkuláris rezisztencia csökkenését. Ezt a reakciót a szakirodalom az umblikális áramlás beszűkülésével párhuzamosan jelentkező hipoxiára adott adaptív válasznak tartja, amelynek célja az agyi vérkeringés megőrzése. Ennek fényében a cerebrális rezisztencia és az umblikális rezisztencia hányadosa jó prediktív értékű különböző magzati stressz-állapotok előrejelzésekor.⁴¹

Összefoglalva tehát látható, hogy számos lehetőség van a magzati állapot antepartum monitorozására, amelyek közül több rutinszerűen és jól használható a szülésetben. Mindazonáltal optimális esetben a magas rizikójú újszülöttek kiválasztásán túl ezek a módszerek egyelőre nem nyújtanak elég alapot a HIE kialakulását megelőző terápiás intervenciók alkalmazásához. A jövőben várható a mágneses rezonancia vizsgálatok elterjedése a szülésetben is, amely számos további lehetőséget nyithat meg a HIE korai diagnózisában.⁴²

B, Intrapartum diagnózis

Az aszfixia észlelése a megszületés során az elmúlt évtizedekben az egyik legtöbbet vitatott kérdés volt a szüléset és a neonatológia határterületei közül. Az amerikai egészségügyi ellátáshoz kapcsolódó kártérítési perek elterjedése befolyásolta a tengerentúli szülész orvosok gyakorlatát, ahol más diszciplínákhoz hasonlóan elterjedt a defenzív orvoslás. Ennek részeként a szüléseti szakma bizonyos esetekben hajlamos

volt az intrapartum agykárosodás jelentőségét kisebbíteni vagy akár tagadni is. Fontos azonban leszögezni, hogy az objektív vizsgálatok eredményei szerint a valódi szülészeti műhibák nagyon ritkák.⁴³ Mindazonáltal a megszületés körülményeinek pontos megismerését gátoló szüléshiattitűdők mindenképp hátráltathatják a perinatális aszfíxia etiológiájának felderítését és a megfelelő intervenciók kidolgozását.

Az intrapartum észlelhető elváltozások körül az egyik legtöbb irodalommal rendelkező a meconiummal szennyezett magzatvíz. A klinikai paradigma szerint a hipoxiás állapot következményeként indul meg a bélmotilitás, valamint enged el az anális sphincter izomzat és így kerül magzati bélsár a magzatvízbe. Azonban számos ellentmondásos bizonyíték áll rendelkezésre, amelyek arra utalnak, hogy a gesztációs kor előrehaladtával a nervus vagus fokozódó tónusának hatására hipoxia nélkül is bekövetkezhet a meconium-ürítés.⁴⁴ Az ellentmondásos eredményeket magyarázhatja, hogy a meconium-passzázs időzítése és mennyisége fontos jellemzők, amelyek nélkül nehezen értelmezhető a jelenség.⁴⁵

A másik legelterjedtebb intrapartum monitorozási módszer a CTG vizsgálat. A magzati szívfrekvencia és a méhösszehúzódások egyidejű non-invazív vizsgálata lehetővé teszi bizonyos karakterisztikus eltérések regisztrálását. Mindazonáltal a klinikai evidencia azt mutatja, hogy egyrészt számos esetben kóros CTG lelet után egészséges gyermekek születnek (azaz a negatív prediktív értéke alacsony), másrészt pedig a kóros CTG lelet által indikált sürgősségi császár-metszések számának növekedése nem hozott szignifikáns javulást a neurológiai károsodások vagy a cerebrális parézis tekintetében.⁴⁶ Mindezt figyelembe véve azonban tény, hogy a folyamatos CTG monitorozás során észlelhető a magzati jóllét egyik legbiztosabb mutatója, a normális beat-to-beat variabilitás, míg ennek elvesztése késői decelerációkkal társulva a magzati hipoxia fontos figyelmeztető jele.⁴⁷

A magzati szívfrekvencia monitorozásának egy kiegészítő lehetősége a magzati EKG. Európai randomizált vizsgálatok kimutatták, hogy ennek a módszernek az alkalmazásával szignifikánsan javultak bizonyos születési biomarkerek, azonban mivel a módszer egy magzati skalp-elektroda elhelyezését igényli és ezzel a leginvazívabb, így a klinikai gyakorlatban nem terjedt el.⁴⁸ További lehetőségek a magzati skalp-metszésből nyert vérgáz vizsgálat, a magzati pluzoximetria, a magzati EEG vizsgálat, valamint a magzati infravörös-közeli spektroszkópia (NIRS), amelyek azonban relatív invazivitásuk és technológiai akadályok miatt nem terjedtek a klinikai gyakorlatban.²

C, Posztpartum diagnózis

Megszületés után a szülész vagy a neonatológus számára az első teendő az újszülött fizikális státuszának vizsgálata. Az amerikai neonatológus, Dr. Virginia Apgar a XX. század közepén kidolgozta az ún. Apgar-féle pontrendszert, amely mind a mai napig a legelterjedtebb besorolási szisztéma az újszülötteknél.⁴⁹ Ez a rendszer egyszerűen és viszonylag objektív módon vizsgálja az újszülött szívfrekvenciáját, légzését, bőrének színét (az esetleges cianózist), az izomtónusát, valamint a reflexeit és ezeket 0, 1 vagy 2 ponttal értékeli. Az Apgar pontokat 1, 5, valamint kóros állapot gyanúja esetén 10 perces korban is meg szokták határozni és a 8-nál alacsonyabb pontszám utalhat valamilyen kórállapot fennállására.

Mivel a HIE valójában neurológiai károsodás, ezért a diagnózisában központi szerepet játszik a megfelelő neurológiai státusz felvétele és értékelése. Sajnos a kórképnek nincsenek egyértelmű, fokális tünetei, amelyeket születés után közvetlenül vizsgálni lehetne. Mindazonáltal a korai neurológiai vizsgálat az egyik legfontosabb támpont a neonatológusnak a mihamarabbi diagnózis-alkotásban. Ezek közül az egyik legfontosabb az újszülött tudati vigiliásának vizsgálata. A súlyos intrapartum aszfixiát elszenvedő újszülöttek általában mély stuporban vagy kómában vannak, azaz nem ébreszthetők és minimális vagy hiányzó válaszkészséget mutatnak szenzoros ingerlésre. A légzésük sok esetben periodikus vagy irreguláris, ami megfeleltethető a nagyobb gyerekekben vagy felnőttekben kétoldali hemispherium-érintettség esetén jelentkező Cheyne-Stokes légzésnek.⁵⁰ A pupilla-reflex és a spontán szemmozgások általában normálisak és a babafej-tünet is negatív, azonban sok esetben a szemmozgások diszkonjugáltak lehetnek. A pupilla- és szemmozgás-reflexek zavara ebben a fázisban ritka és ilyenkor súlyos agytörzsi károsodásra utal. Az újszülöttek izomzata általában diffúzan hipotóniás és a spontán vagy kiváltott mozgások minimálisak. Törzsdüci károsodás esetén jelentkezhet tónus-fokozódás.

Az újszülöttkori görcsök egyértelműen korrelálnak a HIE kialakulásával. A görcs-aktivitás sokféle klinikai formát ölthet (fixált tekintet, orális-bukkális reflex aktivitás, „úszó” végtagmozgások vagy apnoe epizódok) illetve létezik klinikailag nem, csak amplitúdó-integrált EEG felvétel segítségével azonosítható görcs-aktivitás is. Az újszülöttkori görcsök 50-60%-a már a 6. és a 12. életóra között jelentkezik⁵¹

A 12. és 24. életóra között a súlyosan károsodott újszülöttek kómában maradhatnak, azonban sokszor a középsúlyosan sérültek tudati vigiliás szintje látszólag javulásnak indul. Ezekben az esetekben a szemnyitás nem feltétlenül társul ujj-követéssel vagy

szenzoros stimulusokra adott válasszal. Emellett számos újszülöttnél ebben a korban jelentkeznek görcsök, apnoés epizódok, vagy motoros izgatottság. A 24. és a 72. életóra között a súlyosan sérült újszülöttek állapota tovább romolhat, mély kómába eshetnek, valamint egy ataxiás légzési periódus után légzésleállítás is bekövetkezhet. Ebben a szakaszban az agytörzsi okulomotor reflexek zavara gyakoribbá válik. A perinatális aszfixia következtében kialakult mortalitás ebben a periódusban a leggyakoribb, egy vizsgálatban a meghalt újszülöttek medián életkora 2 nap volt.⁵²

Azok az újszülöttek, amelyek túlélnek az első 72 órát, általában ezután viszonylag gyors javulásba kezdenek, azonban bizonyos neurológiai maradványtünetekkel. A vigilitási szint gyorsan emelkedik, azonban enyhe vagy közép súlyos stupor megmaradhat. Az egyik leggyakrabban jelentkező probléma az etetési nehézség, ami a szopó-, nyelő- valamint nyelvmozgató-központok zavarának tudható be. Összességében elmondható, hogy a neurológiai maradványtünetek mértéke és rendeződése nagy egyéni variabilitást mutat, azonban az biztosan látszik, hogy a leggyorsabb javulást mutató újszülöttek, akiknek egy hetes korukban már nincs észlelhető neurológiai tünetük kiváló prognózissal rendelkeznek az egészséges neurológiai kimenetelre nézve.⁵³

Biomarkerek

A fentiekből egyértelműen kitűnik, hogy a perinatális aszfixia korai klinikai diagnózisa nehezen vagy egyáltalán nem állítható fel klasszikus klinikai vizsgálatok alapján. Mindezek miatt az aszfixiával foglalkozó neonatológiai kutatások egyik legfőbb célkitűzése a minél korábbi és minél pontosabb biomarkerek azonosítása, amelyek segítségével lehetségessé válik a korai diagnózis-alkotás és a megfelelő terápiás eszközök kiválasztása. A következőkben ezeket a biomarkereket tekintjük át röviden.

A, Biokémiai markerek

Az egyik legideálisabb módja a diagnózis-alkotásnak egyértelműen az lenne, ha egy korán levett vérmintából kimutathatóak lennének olyan biokémiai markerek, amelyekből a neonatológus következtetni tudna az elszenvedett inzultus jellegére, súlyosságára és ezzel együtt az újszülött prognózisára is. Emiatt jelentős energiát fordítottak az elmúlt évtizedekben ilyen biomarkerek azonosítására és validálására.

Az egyik legkézenfekvőbb és egyben legtöbbet használt biomarker a pH. A születés kori szisztémás acidózis mértéke jól korrelál az elszenvedett inzultus súlyosságával, ezért a minél korábbi vérgáz vizsgálat egyértelműen feltétel az aszfixia diagnózisának felállításához. A korai pH mérés így más módszerekkel együtt részét képezi a jelenleg legelfogadottabb aszfixia diagnosztikai kritérium-rendszernek, amely a fejzet végén szerepel. A klasszikus klinikai álláspont szerint az acidózis szinte megkerülhetetlen része a poszt-aszfixia szindrómának, azaz a súlyos acidózis nem mutató újszülöttek esetében jobb prognózis várható.⁵⁴ Ez a paradigma azonban az elmúlt évtizedben megkérdőjeleződött, mivel a prospektív vizsgálatok kimutatták, hogy számos intrapartum aszfixiát elszenvedő újszülött nem mutat acidémiát és sok esetben ezek az újszülöttek magasabb rizikójúak rossz a neurológiai kimenetel szempontjából.⁵⁵ Ennek az okáról részletesen a rektori dolgozat utolsó részében lesz szó, előljáróban annyit említenék, hogy az aszfixiával járó respirációs acidózis valószínűleg pozitív hatású az agyi keringésre és egyéb metabolikus folyamatokra is.

Egy másik sokat vizsgált biomarker a vér glükóz-koncentrációja. A hipoglikémia nem csak tünete, hanem súlyosbító tényezője is lehet az aszfixiás agykárosodásnak, ezért ennek a paraméternek a figyelése kiemelkedő fontosságú a klinikumban.⁵⁶ Szintén leírták az ammónia-szint emelkedését aszfixia után és ennek a későbbi csökkenése jól korrelál a neurológiai funkciók javulásával, azonban ennek a klinikai jelentősége nem tisztázott.⁵⁷

Számos további biokémiai marker merült fel a perinatális aszfixia diagnózisában, amelyek akár vérből, akár cerebrospinális folyadékból (CSF) meghatározhatók. Ezekre általában jellemző, hogy a korábban felvázolt sejtszintű patomechanizmusok valamely lépésének végtermékei, azaz bizonyos metabolikus útvonalak jellemezhetők a segítségükkel. Így például az energiaszintek változását mutatja a glükóz, illetve a laktát szint változása, az excitátoros károsodás jellemezhető a CSF-ben mért izgató neurotranszmitterekkel (mint például a glutamát)⁵⁸, a szabadgyök-károsodás mértékét többek közt a végtermékek (pl. isoprostánok)⁵⁹ vagy bizonyos antioxidáns enzimek szintjének változásával jellemezhetjük⁶⁰, illetve bizonyos gyulladási markerek (pl. IL-6, IL-1 β , IL-10 vagy TNF- α) hasznosnak bizonyultak a neuroinflammáció mértékének jelzésében.⁶¹ Ismerünk Ismerünk továbbá agy-specifikus fehérjéket, amelyek megjelenése a vérben vagy a liquorban az vér-agy gát sérülését vagy neuronális károsodást jelez. Kutatócsoportunk behatóan vizsgálta két ilyen fehérjének, a neuron-specifikus enoláznak és az S100B-nek a változását aszfixiás újszülöttekben.⁶²

Az egyik legmodernebb megközelítése a metabolikus biokémiai markereknek az ún. *metabolomics*. Ennek során robusztus analitikai eszközökkel és szoftveres kiértékeléssel nagyszámú metabolit szintjének változását lehet kimutatni a vérben.⁶³ Ezeket a fenti beosztás szerint csoportosítva átfogó képet lehet kapni az újszülött metabolikus státuszáról, így ez a módszer a jövőben komoly szerepet kaphat a perinatális aszfixia diagnózisában.

B, Elektroencefalogram

Az EEG, illetve ennek a neonatológiában elterjed folyamatos amplitúdó-integrált változata (aEEG) az egyik legtöbbször használt diagnosztikus eszköz az aszfixiás újszülötteknél.⁶⁴ A módszer lényege, hogy egy szűrt és tömörített regisztrátumot jelenít meg, amely egyrészt alkalmas hosszú-távú változások megfigyelésére, másrészt az elektródák felhelyezése, illetve a regisztrátum kiértékelése nem igényel komoly szakmai tapasztalatot, ellentétben a klasszikus EEG-vel. Ennek köszönhetően a módszer az elmúlt 15 évben nagyon gyorsan elterjedt a neonatológusok körében, főleg miután bizonyos kutatások kimutatták a jó prognosztikus értékét a hosszú távú neurológiai kimenetelre perinatális aszfixiában.⁶⁵

Az aEEG regisztrátum elemzésekor elkülöníthetők különböző mintázatok, amelyek bizonyos vizsgálatokban jól korreláltak a neurológiai kimenetellel. A hipotermiás terápia bevezetésével (lásd később) azonban a korai aEEG vizsgálat prognosztikus értéke megkérdőjeleződött és jelenleg nem javasolt fontos terápiás döntéseket hozni kizárólag az aEEG eredményre támaszkodva.⁶⁶ Ezt a változást az aEEG prognosztikus értékében kutatócsoportunk is leírta a magyar betegpopuláción (publikáció alatt).

C, Ultrahang és CT

A neonatológia egy másik speciális vizsgálati lehetősége az intrakraniális ultrahang az első kutacson keresztül. Ez a vizsgálat non-invazív jellege, valamint költséghatékonysága és egyszerűsége miatt nagyon elterjedt és számos neonatológiai kórkép diagnózisára alkalmas (pl. intraventriculáris vérzés). Azonban a HIE-ben szenvedő újszülöttek első ultrahang vizsgálata 50%-ban negatív, azaz a prediktív értéke ebben az esetben limitált.⁶⁷

A CT vizsgálat szintén nem ideális aszfixiás újszülöttek esetében. Először is a nagymértékű sugárterhelés ebben az életkorban mindenképp kerülendő, ezért ahol van rá lehetőség, ott mindenképp az MRI vizsgálatot célszerű előnyben részesíteni. Mindazonáltal a diffúz kortikális károsodást, valamint a törzsdúcuk sérülését ki lehet mutatni CT vizsgálattal az első élethéten, bár az MRI vizsgálat sokkal specifikusabb és pontosabb.⁶⁸

D, Mágneses rezonancia

A mágneses rezonancia vizsgálatok jelentik a legbiztosabb módszert a HIE diagnosztikájában. Ennek a modalitásnak számos vizsgáló módszere van, amelyek különböző információkat nyújthatnak az újszülöttről.

A tradicionális T1/T2 súlyozott MRI képek csak a 3-4. életnap környékén válnak pozitívvá. Azonban a diffúzió-súlyozott képalkotás (DWI), amely során a vízmolekulák diffúzióját vizsgáljuk, már a 24. és 48. életóra között ki tud mutatni patológiás változásokat. Ezek a vizsgálatok számos patofiziológiai eredményt is szolgáltatnak, például sikerült kimutatni, hogy a periventrikuláris leukomalácia (PVL), amely jellemzően a koraszülöttek fehérállományi károsodása, az aszfixiát elszenvedett érett újszülöttek 30-50%-ában is megfigyelhető bizonyos szinten.⁶⁹

A diffúziós képalkotás jelentőségét jól mutatja az is, hogy jelenleg számos kutatás folyik ezeknek a mérési szekvenciáknak a fejlesztésére, illetve új szekvenciák kialakítására. Az egyik legígéretesebb terület az ún. tract-based spatial statistics (TBSS), amely segítségével operátortól függetlenül, objektíven vizsgálható az újszülött fehérállományi pályáinak állapota. Ezzel a módszerrel nagyon jó prediktivitással lehet összehasonlítást végezni HIE-ban szenvedő újszülöttek közt, ami jelentősen meggyorsíthatja a terápiás intervenciók hatékonyságának vizsgálatát, amelyben az arany standard jelenleg a két éves korban végzett fejlődés-neurológiai vizsgálat.⁷⁰ A módszer további fejlesztésében és értékelésében munkacsoportunk is tevékenyen részt vesz.⁷¹

Az MRI modalitásának további alkalmazási területei a volumetrikus MRI és diffúziós tenzor képalkotás. Ezek a módszerek szintén a fehérállományi károsodásra érzékenyek és a koraszülöttek hipoxiás károsodásának diagnosztikájában lehet a jövőben a legnagyobb szerepük.⁷² Szintén ígéretes a funkcionális képalkotás MRI segítségével, amely módszer képes a regionális neuronális aktivitást regisztrálni a lokális vérátáramlás és oxigén-felhasználás mérésének segítségével.⁷³

A mágneses rezonancia technológia nem csak a képalkotási modalitások segítségével járult nagyban hozzá a perinatális aszfixia diagnosztikájához. Az MR spektroszkópia (MRS) technológia lényege, hogy különböző, általában hidrogén- vagy foszfor-tartalmú vegyületek szintjét lehet non-invazív módon meghatározni. A különböző metabolitok szintje, illetve az egymáshoz viszonyított arányuk a sejt szintű folyamatok nagyon pontos és valós idejű követését teszi lehetővé, amely mind a klinikumban, mint a transzlációs állatmodelleken számos előrelépést hozott az elmúlt két évtizedben. Például a magas energiájú foszfát vegyületek és az összes foszfát-tartalmú vegyület egymáshoz viszonyított aránya tette lehetővé az aszfixia energia-szintekre gyakorolt hatásának pontos megismerését (lásd 1. Ábra).¹⁵ A klinikumban a proton-spektroszkópia segítségével meghatározott metabolit-koncentrációk és a spektrogramon lévő egyes csúcsok görbe alatti területének aránya, például a laktát/N-acetil aszpartát (Lac/NAA) vagy az NAA/Creatin (NAA/Cr) erősen korrelál a neurológiai kimenetellel, ezért jövőben jelentős segítséget nyújthat a kórkép diagnózisában.⁷⁴

E, SPECT, PET és NIRS

További képalkotó és diagnosztikai modalitások is felmerültek a perinatális aszfixia diagnosztikájával kapcsolatban, azonban ezeknek a módszereknek a hasznossága egyelőre nem tisztázott. A single-photon emission computed tomography (SPECT) főleg a vér-agy gát épségének vizsgálatában használható elsősorban kísérletes felállásban, azonban a klinikumban nem terjedt el széles körben.⁷⁵ A pozitron-emissziós vizsgálat (PET) szintén nincs elterjedve a klinikumban, azonban az fMRI technológiát megelőzve már nagy pontosságú információt tudott szolgáltatni az agyi véráramlás változásairól.⁷⁶

A NIRS technológia korábban említett intrapartum alkalmazásánál célravezetőbb a születés utáni alkalmazása. Ez a technika non-invazív módon teszi lehetővé az agyi vérátáramlás oxigén-telítettségének vizsgálatát. Ennek segítségével folyamatos képet kaphatunk az agy oxigén-felhasználásáról, amivel a HIE lefolyását követhetjük.⁷⁷

Összefoglalva tehát látható, hogy a perinatális aszifixiával kapcsolatban számos klasszikus klinikai vizsgálat, labor-értékek és új digitális modalitások segítségével egyre pontosabb és egyre korábbi diagnosztikai stratégiák keresése zajlik napjainkban is. A jelenlegi helyzet összegzéseként álljon itt a TOBY vizsgálat beválogatási kritérium-

rendszere⁷⁸, amely jelenleg a legelfogadottabb diagnosztikai szisztéma perinatális aszfixiában:

1. táblázat⁷⁹ A TOBY vizsgálat beválogatási kritérium-rendszere.

A kritériumok (ezek közül egy)	B kritériumok (ha az A-nak megfelelt)	C kritériumok (ha az A- és B-nek megfelelt)
≤ 5 Apgar pont 10 perces életkorban	Középsúlyos vagy súlyos enkefalopátia a tudati szint csökkenésével (letargia, stupor, kóma) ÉS A következőkből egy fennállása: - hypotonia - abnormális reflexek (pl. okulomotor- vagy pupilla-reflexek) - gyenge vagy hiányzó szopó reflex - klinikai görcs-aktivitás	Legalább 30 percnyi aEEG felvétel, amin abnormális háttéraktivitás vagy görcsök mutatkoznak. A következők közül legalább egy tényező fennállásakor: - normális háttér-aktivitás görcsökkel - mérsékelten abnormális aktivitás - csökkent aktivitás - folyamatos görcs-aktivitás
Újraélesztés szükséges (ET tubus vagy maszkos lélegeztetés) 10 perces életkorban		
Súlyos acidózis fennállása az első életórában (köldökszínór, artériás, vagy kapilláris pH < 7.00)		
≥ 16 mmol/L bázis deficit fennállása az első életórában (köldökszínór, artériás, vagy kapilláris mintában)		

Kimenetel:

A HIE enkefalopátia kimenetele nagyban függ az elszenvedett inzultus jellegétől és súlyosságától, valamint a posztnatális ellátástól (lásd később) és jelentős egyéni variabilitást mutat.

A neokortikális károsodás általában mentális retardációhoz vezet, azonban ennek kialakulásában a törzsdúcok, a talamusz, valamint a kisagy károsodása is közre játszhat. A kortikális károsodás következtében spasztikus motoros zavarok is kialakulhatnak. A HIE-ban szenvedő újszülöttek 10-30%-ában alakul ki valamilyen görcs-betegség, ami szintén a kortikális neuron-károsodásra, esetleg mélyebb magok sérülésére vezethető vissza. A súlyosan károsodott újszülöttek esetében látási zavarok is kialakulhatnak, amelyeket a törzsdúcok, a talamusz és a fehérállomány sérülésével kapcsolják össze MRI vizsgálatok.⁸⁰ A perinatális aszfixiát elszenvedő újszülöttek kb. 10%-ában zavart

lesz a szexuális érés, amely hipotalamikus károsodásra vezethető vissza.⁸¹ A szopó-, nyelő- és arc-mozgások zavara nukleáris károsodásra utal („bulbáris parézis), habár egyes újszülöttek a felső motoneuron-károsodás tüneteit mutatják („pszeudobulbáris parézis), mint az ún. mindent-vagy-semmit mosoly és a nyálcsorgással társult fixált arckifejezés.⁸² A hiperaktivitás és a figyelemzavar általában az enyhébben károsodott gyerekek tünete, akikben valószínűleg a retikuláris aktiváló rendszer, a törzsdúcok vagy a kisagy sérült.⁸³ Az érintett újszülöttek közül sokakban kialakulnak hallászavarok, amelyek valószínűleg a hátsó cochleáris magok károsodására vezethetők vissza. Végül pedig a típusosan az első néhány hónapban fennálló hypotonia hátterében a mellő szarvi neuronok sérülése áll, amely súlyos esetben a későbbi gyermekkorban is fennálló gyengeséghez vezethet („atóniás cerebrális parézis”).

Súlyos, de átmeneti inzultus esetében az agytörzs is érintett lehet. A túlélő újszülöttek közt a leggyakoribb az etetési zavar, amely hónapokig is fennállhat és sokszor szondás táplálást tesz szükségessé.⁸⁴ A törzsdúcok és a talamusz sérülésekor extrapiramidális tünetek jelentkezhetnek („diszkinetikus vagy atetoid cerebrális parézis”). Az érintett gyermekek egy kis része 7-14 éves korig nem mutat motoros tüneteket és csak ezután jelentkezik egy késői atetózis. Ezeknek a gyermekeknek azonban gyakran nem érintett olyan súlyosan az intelligenciájuk, mint a kortikális károsodottak esetében.⁸⁵

Prognózis:

A HIE prognózisának meghatározása a diagnosztikához hasonlóan nehéz feladat, elsősorban az inzultus pontos ismeretének hiánya miatt. Így aztán érthető, hogy a figyelembe vett prognosztikai faktorok egybe esnek a korábban tárgyalt diagnosztikai eszközökkel. Mindazonáltal, ahogy jelenleg még részben ismeretlen a pontos és gyors diagnózis-alkotás eszköztára, így a prognózis felállítása sem megfelelő pontosságú.

Az egyik legrégebbi igyekezet az Apgar-pontok és a kimenetel közötti korreláció megismerésére irányult. Ez azonban számos okból nehézkes, így például a megbízható pontozási gyakorlat hiánya miatt, az egyes figyelembe vett tényezők súlyozásának hiánya miatt, valamint azért, mert az alacsony pontértékek hátterében nem feltétlenül a HIE-hoz vezető patomechanizmus áll. Mindazonáltal legalább annyit érdemes megemlíteni, hogy a 10 perces életkorban extrém alacsony Apgar pontot kapott újszülöttek (0-3 között) 18%-a 1 éves kora előtt elhalálozik és 5%-ában cerebrális parézis alakul ki.⁸⁶ Szintén felmerült a születéskori acidózis szerepe a prognózisban,

azonban a diagnosztikus eszközöknél említett ellentmondások itt is megjelennek.⁵⁵ Hasonlóan nehéz objektíven rendszerezni a születés körüli eseményeket, mint az újraélesztéshez szükséges idő vagy a spontán légzés visszatérése. Mindazonáltal egy néhány évvel ezelőtti vizsgálat azt találta, hogy ha három születéskori paramétert (mellkaskompressziók, bázis deficit és spontán légzés visszatérte) figyelnek, akkor 97%-os negatív prediktív értékkel előre jelezhető a rossz kimenetel.⁸⁷

Az életen át tartó súlyos neurológiai maradványtünetek szempontjából legerősebb prognosztikai faktor a neonatális neurológiai szindróma. Ezen belül a neurológiai tünetek súlyossága, a görcsök jelenléte, valamint az újszülöttkori tünetek időtartama a kimenetel legerősebb prediktorai.⁸⁸ Ezek, a korábban tárgyalt képző eljárásokkal együtt korai életkorban engednek következtetni a kórkép várható prognózisára.

Összefoglalva elmondható, hogy a HIE prognózisa és kimenetele egy széles spektrumon mozog, a haláltól az egészséges túlélésig. A kimenetel nagyban függ az alkalmazott terápiás stratégiától és a követési időszakról, főleg mert számos eredmény utal arra, hogy a korai életkorban (2 vagy 4 évesen) elvégzett fejlődésneurológiai vizsgálatok negatív eredménye nem feltétlenül jelenti a maradványtünetek hiányát a későbbi életkorokban.⁸⁹

Terápiás intervenciók

Szupportív terápia:

A, Lélegeztetés

Az újszülöttek lélegeztetése központi szerepű az aszfixia klinikai kezelésében. Ezen belül központi szerepet kap a megfelelő oxigenizáció. Az oxigén tenzió befolyásolása azonban kétélű fegyver. Egyik oldalról a hipoxia elkerülése mindenképp fontos, egyrészt a további neuronális és fehér-állományi károsodás megelőzésére, másrészt pedig az agyi auto-reguláció szempontjából, aminek működése oxigén hiány esetén zavart szenved és ilyenkor az artériás vérnyomás csökkenése az agyban perfúziócsökkenéshez vezethet.⁹⁰ A hipoxia elkerülésére a legtöbb központban folyamatos transzkután oxigén-monitorozást vagy pulzoximetriát végeznek.⁹¹

Másik oldalról azonban a tartós hiperoxia szintén káros, mivel hozzájárulhat a ROS képződéséhez és ezzel az agyi károsodás fokozódásához. Egy klinikai vizsgálatban azon újszülöttek, akiknél az első életórán súlyos hiperoxia állt fenn, több mint 4-szeres rizikóval rendelkeztek a rossz neurológiai kimenetelre. Ezt a hatást a kombinált hipokapnia jelenléte tovább rontotta.⁹² Továbbá megvizsgálták, hogy hogyan alakul az egészséges újszülöttek oxigén-szaturációja közvetlenül megszületés után és azt találták, hogy az első 5-10 életpercben fiziológiásan is alacsonyabb a vér oxigén-telítettsége, mint 95%.⁹³ A harmadik legfontosabb tény, hogy a neurológiai károsodáson kívül a koraszülött retinopátia kialakulásának is magasabb a rizikója hiperoxia esetén.⁹⁴ Ezeknek az eredményeknek köszönhetően az elmúlt években módosították a szülőszobai újraélesztési protokollokat és 100% oxigén helyett most már 21% oxigénnel kezdenek neki az újszülött reszuscitációjának.⁹⁵

A másik legfontosabb lélegeztetési paraméter az artériás CO₂ nyomás, amely az oxigénhez hasonlóan azonban kétélű fegyver. Egyrészt a súlyos hiperkapniának több negatív hatása is ismert, amelyek legtöbbje az agyi vazodilatációhoz köthető. Így például koraszülöttek esetében a hiperkapnia növeli a germinális mátrix vérzés kockázatát, másrészt a vaszkuláris steal mechanizmuson keresztül az egészséges érszakaszok vazodilatációval reagálva a CO₂-nyomás emelkedésére egy relatív iszkémiát idéznek el az amúgy is sérült területeken.⁹⁶ Azonban mint korábban is említettük, az elmúlt években felmerült az enyhe hiperkapnia pozitív, protektív hatása is, amit a dolgozat végén tárgyalok részletesen.

A hipokapnia azonban, amely a túllélegeztetés leggyakoribb következménye szintén kerülendő. A súlyos CO₂-nyomás csökkenés az agyi perfúziós nyomás csökkenését vonhatja maga után, amely így iszkémiát okozhat.⁹⁷ Továbbá állatkísérletes és klinikai eredmények is arra mutatnak, hogy a hipokapnia jelenléte perinatális aszfixia után rontja a neurológiai kimenetelt.^{92,98}

B, Vérnyomás

A másodlagos agyi iszkémia elkerülése céljából kiemelten fontos a normális artériás vérnyomás fenntartása. Ehhez azonban fontos ismerni a vérnyomás normál értékét, amely nagyban függ a születési súlytól és az órákban mért életkortól.⁹⁹ Újszülöttkori aszfixiában a hipotenzió legtöbbször kardiális okokra vezethető vissza. Egy vizsgálatban kimutatták, hogy aszfixiát elszenvedett újszülötteknél a papilláris izomzat,

a subendokardiális szövetek és a myocardium is érintett az iszkémiában.¹⁰⁰ A hipotenziós epizódok háttérében állhat továbbá PDA, valamint visszatérő apnoés epizódok.¹⁰¹ Másik oldalról azonban a hipertenzió szintén kerülendő, mivel az agyi autoreguláció kiesése esetén ez vérzéses szövődményekhez vezethet.

Újszülöttkorban a normotenzió fenntartása intenzív osztályokon első sorban pozitív inotróp szerekkel történik, amelyek közül a vérnyomás-csökkenés háttérében álló folyamat ismeretében választhat a klinikus.¹⁰²

C, Vércukor-szint

Korábban említettük, hogy a vércukorszint hatása a HIE kimenetelére nem tisztázott. Bizonyos eredmények a hipoglikémia káros, neurológiai kimenetelt rontó hatását hangsúlyozzák,⁵⁶ más esetekben viszont az éheztetett kísérleti állatok védettek voltak az agyi sérüléssel szemben.¹⁰³ Jelenleg ezzel a klinikai paraméterrel kapcsolatban is a javaslatok a normoglikémia (4-5 mmol/l) fenntartását helyezik előtérbe.¹⁰⁴

D, Görcsök

Mint korábban is láttuk, a perinatális aszfixia egyik leggyakoribb szövődményei az újszülöttkori görcsök, amelyek 10-30%-ban fognak gyermekkori görcs-kórképpé alakulni. Több vizsgálat utal arra, hogy a születés utáni görcsök rontják a HIE kimenetelét, többek közt mert fokozzák az agyi metabolikus rátát, valamint mert további fölösleges excitatorikus neurotranszmittereket, pl. glutamátot juttathatnak a szinaptikus térbe.¹⁰⁵

Az újszülöttkori görcsök kezelése jelenleg is az évtizedek óta használt barbiturát vegyületek segítségével történik. Az első választandó szer a fenobarbitál, a második vonalbeli terápia pedig általában a fenitoin, amelyek közül mindkét szer komoly mellékhatás-profillal rendelkezik és a hatékonyságuk is erősen kétséges.¹⁰⁶ A jelenlegi anti-epileptikus gyógyszerek általában viszonylag alacsony hatékonyságúak újszülöttkori görcsökben, ezért jelenleg számos kutatás zajlik új terápiás megközelítések kifejlesztésére. Az egyik ilyen lehetőség az enyhe hiperkapnia, ami kísérleti állatokban

csökkentette az újszülöttkori görcsöket.¹⁰⁷ Jelenleg két klinikai kutatás is vizsgálja a CO₂ terápia hatékonyságát vizsgálva gyermekkori epilepsziás kórképekben.*

Hipotermiás terápia:

A hipotermiás terápia az első és jelenleg az egyetlen bizonyítottan hatásos neuroprotektív terápia perinatális aszfixiában. A kontrollált teljes-test hipotermia bizonyítottan csökkenti a halálozást és javítja a neurológiai kiemenetet.⁷⁸

Az újszülöttkorban alkalmazott terápiás hipotermiára utaló első feljegyzések még a 17. századból származnak, azonban az 1950-es években vetette fel először James Miller és Bjorn Westin a hipotermia alkalmazását születés kori aszfixia kezelésében.¹⁰⁸ Úttörő vizsgálatukban tíz súlyosan deprimált állapotú újszülöttet, akik az akkori újraélesztési útmutatásokkal minimális eséllyel rendelkeztek a túlélésre, egy különleges hűtő-fürdőbe merítették, amivel gyorsan csökkentették a gyermekek maghőmérsékletét egészen a spontán légzés megindulásáig.¹⁰⁹ A gyermekek közül egy újszülöttkori respirációs disztressz szindróma (IRDS) miatt exitált, azonban kilenc újszülött túlélte, a kezelés alatti 23-30 °C-os maghőmérséklettel. Továbbá tíz éves utánkövetéssel egyik gyermek se mutatta neuromotor károsodás vagy cerebrális parézis jelét.¹¹⁰ Miller és Westin a továbbiakban 65 újszülöttet kezelt hipotermiával, akik a hagyományos újraélesztésre nem reagáltak, közülük 52 túlélte a cerebrális parézis jelei nélkül, a 9 elhalálozott beteg pedig mind súlyosan koraszülött volt.¹¹¹ A két kutató a '70-es évekig folytatták a hipotermia népszerűsítését, azonban nem sikerült nemzetközileg elfogadtatniuk terápiájukat.

A hipotermia elterjedésének legnagyobb gátját egy, az eredeti Miller & Westin cikket egy évvel megelőző közlemény jelentette, amelyet Silverman és munkacsoportja publikáltak 1958-ban.¹¹² Ebben leírták, hogy 182 koraszülött esetében az első 5 életnapon az inkubátor hőmérsékletének csökkentése 31 °C-ról 29 °C-ra 15%-os romlást eredményezett a túlélésben. Később ugyan kimutatták, hogy az eredmény nagyrészt az

• <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/trial/2011-005318-12/GB>

<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01370044>

1000 g alatti, extrém koraszülöttek adataiból származik, azonban eddigre a cikk megpecsételte a hipotermia sorsát a következő közel fél évszázadra.

A '80-as évek végén és a '90-es évek elején elindultak olyan kísérletes kutatások, amelyek az agyi hőmérséklet hatását vizsgálták a neurológiai kimenetelre. A hőmérséklet fokozódásának káros hatását még 1987-ben leírták,¹¹³ és ezzel magyarázták az anyai lázas fertőzés negatív hatását a neurológiai kimenetelre érett újszülöttek esetében is.¹¹⁴

A '90-es évek második felére az állatkísérletes eredményeknek köszönhetően ismét felvetődött az enyhe hipotermia, mint klinikai terápiás intervenció gondolata HIE-ban.¹¹⁵ Az állatkísérletes modellek és az új képalkotó modalitások, mint a mágneses rezonancia lehetővé tették a dolgozat elején ismertetett patomechanizmusok, többek közt a SEF feltérképezését.¹⁵ Ennek segítségével lehetővé vált a hipotermiás terápia időzítése és kvázi dózis-válasz kísérletek elvégzése.¹¹⁶ Ezek eredményeként körvonalazódott, hogy a késleltetett (6 óras korban elkezdett), viszont a továbbiakban hosszan (72 órán át) fenntartott közepes hipotermia (33.5 °C) lehet klinikailag megvalósítható és eredményes.

Az hipotermia optimalizálása azonban újabb komoly kihívást jelentett a kutatók számára. Újszülött malac modellen leírták, hogy az agyon belül különbözik az egyes régiók optimális neuroprotektív hőmérséklete, így a mélyebb törzsdúcok és a talamusz esetében a relatíve magasabb hőmérséklet optimális a kortikális állományhoz képest.¹¹⁷

Ezekből az eredményekből kiindulva két megközelítés alakult ki a klinikai kutatásokban. Az elsőben egy speciális sapka segítségével szelektíven csak az újszülöttek fejét hűtötték aktívan.^{118,119} Ebben az ún. CoolCap vizsgálatban azonban csak azt sikerült kimutatni, hogy a súlyos EEG-eltérések nélküli újszülöttek esetében javítja ez a terápia a kimenetelt. Ennek magyarázatát szintén az állatkísérletek szolgáltatták, amelyekben újszülött malacon kimutatták, hogy a mély agy régiók hőmérséklete nem a köpenyhőmérséklettel, hanem a maghőmérséklettel korrelál erősen.¹²⁰

A másik megközelítés, amely szintén az ezredforduló környékén jutott el a klinikai kipróbálásig a teljes-test hipotermia volt. Ez a megközelítés ugyan elvileg könnyebben megvalósítható, azonban a korábbi negatív tapasztalatok az alacsony testhőmérsékletű újszülöttek kimenetelével kapcsolatban késleltették az alkalmazását, hogy korábban említettük.^{112,121} Az első biztonságossági vizsgálat 2000-ből származik, amikor leírták a

6 órán belül megkezdett hűtés megvalósíthatóságát és relatív enyhe mellékhatás-profilját.¹²² A következő években több vizsgálat is megerősítette a biztonságosságot,¹²³ és részletesen leírták a felmerülő mellékhatásokat.¹²⁴

Ilyen mellékhatások lehetnek a gyakoribb bradikardiás epizódok, a hosszabban tartó vazopresszor-igény, a megnövekedett protrombin idő és az alacsonyabb vérlemezke szám. Mindazonáltal ezek az eltérések könnyen kézben tarthatóak és kezelhetőek intenzív terápiás környezetben.

A harmadik nagy randomizált, multi-center vizsgálat az Egyesült Államokban zajlott teljes-test hipotermiával, ami szintén kimutatta, hogy a kezelés csökkenti a mortalitást és a rossz neurológiai kimenetel kockázatát.¹²⁵

A különböző megközelítések kombinációja, illetve az alkalmazott eszközök tekintetében lehetnek különbségek centrumok közt, amelyekből jelenleg úgy tűnik, hogy a szervo-kontrollált teljes-test hipotermia biztosítja a legstabilabb maghőmérsékletet a legkisebb variabilitással.¹²⁶ Az eltérő gyakorlatok közti különbségek hatása a neurológiai kimenetelre azonban egyelőre nem tisztázott.

A hűtés hatékonyságának bizonyítása után a fejlett országok neonatológusai legnagyobb részt nagy lelkesedéssel kezdték el alkalmazni a terápiát. Ez azonban további kérdéseket vetett fel, többek közt a hűtés klinikailag optimális idejének, kezdetének és mélységének meghatározását. Ezek közül az utóbbit, a hűtés mélységét részletesen tárgyaljuk majd a dolgozat saját munkáról szóló fejezetében.

Jelenleg a hűtéssel kapcsolatos vitás területek közül első sorban a beválogatási- és kizárási kritériumok állnak a párbeszéd középpontjában. Egyik oldalról a TOBY vizsgálatban a viszonylag szűk kritériumok ellenére is a vártnál több újszülöttet kellett besorolni, hogy megfelelő statisztikai ereje legyen az elemzésnek. Többek közt ennek elkerülése végett a jelenleg zajló xenon-vizsgálatok még ennél is szigorúbb rendszert alkalmaznak.^{*} Másik oldalról azonban felmerült, hogy az indikációk vagy beválogatási kritériumok kiterjesztésével esetleg még több sérült újszülött juthatna jobb esélyhez az egészséges túléléshez.^{127,128}

^{*} <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00934700>

Kísérletes terápiák:

A hipotermiás terápia sikerei ellenére a HIE kezelése máig nem megoldott kérdés. A perinatális aszifixiát elszenvedő újszülöttek fele így is meghal, vagy károsodik neurológiai kimenetel szempontjából,⁷⁸ ezért jelenleg a neonatológiai kutatás egyik legfőbb fókusza az addicionális terápiák keresése. A következőkben áttekintjük az elmúlt évtizedekben felmerült neuroprotektív stratégiákat, különös hangsúllyal azokra, amelyek jelenleg klinikai kipróbálás fázisában vannak.¹²⁹

A, Xenon

Jelenleg az egyik legígéretesebb addicionális neuroprotektív ágens a xenon. Mint nemes gáz, a xenon általában nem lép kémiai reakcióba a környező molekulákkal. Ennek ellenére már az '50-es években felismerték, hogy ez a gáz potens anesztetikum lehet, azonban a használata nem terjedt el, mivel a légkörből nagy mennyiségben való kivonása nagyon költséges.¹³⁰ A xenon hatásának hátterében álló biokémiai folyamatokat azonban csak az elmúlt 20 évben térképezték fel.

A xenon alapvetően egy nem kompetitív NMDA antagonistája és ennek tulajdonítják az aneszteziológiai tulajdonságait.¹³¹ Mindazonáltal további hatásai közt leírták, hogy K^+ -csatornát aktivál, gátolja a kalcium/kalmodulin-dependens protein kináz II enzimet, anti-apoptotikus fehérjéket aktivál, valamint növeli a HIF-1 α expresszióját és ezen keresztül serkenti az erythropoietin és a VEGF termelést.¹²⁹

Állatkísérletek kimutatták a xenon neuroprotektív hatását a HIE újszülött patkány és malac modelljein is, valamint leírták, hogy hipotermiával kombinálva additív hatást fejt ki.¹³²⁻¹³⁵ Ezek az eredmények elég alapot szolgáltatottak ahhoz, hogy 2012-ben megkezdődhessen a 24 órás xenon belélegeztetéssel kombinált hipotermia klinikai vizsgálata (TOBYXe; NCT00934700). Ebben a vizsgálatban az elsődleges kimeneteli pont az első élethéten készült MRS és MRI vizsgálat, ezzel remélhetőleg csökkentve a szükséges elemszámot, valamint lerövidítve az utánkövetést (a TOBY vizsgálatban 18 hónap volt ez az idő).

A xenonhoz hasonlóan felmerült további nemes-gázok alkalmazásai is, amelyek közül az olcsó és könnyebben elérhető argonnal kapcsolatban állnak rendelkezésre biztató kísérletes adatok.¹³⁶

B, Melatonin

A melatonin természetes hormon, amely triptofánból keletkezik az emberi tobozmirigyben, retinában és gasztrointesztinális traktusban. Alacsonyabb dózisban jelenleg is használt az idő-eltolódásos (jet-lag) betegség kezelésére, magasabb dózisban pedig ismertén potens antioxidáns. Egyrészt direkt szabadgyök-fogó vegyületként működik és a korábban említett szabadgyökök (OH^\cdot , O_2^\cdot , H_2O_2 , ONOO^-) közvetlen deaktiválására képes, továbbá indukálja több antioxidáns enzim, pl. a glutation-peroxidáz expresszióját.¹³⁷ A melatonin számos kísérletes felállásban neuroprotektívnek bizonyult, így felnőtt stroke¹³⁸ valamint gyerekkori PVL esetében is.¹³⁹ Újszülött malac modellen hipotermiával kombinálva robusztus addicionális neuroprotektív eredményezett a melatonin használata.¹⁴⁰ Szintén egyértelmű protektív hatást mutatott a melatonin újszülött bárány aszfixia modellen.¹⁴¹

Mivel a melatonin használata szinte mentes a mellékhatásoktól embereken, ezért ez az egyik legígéretesebb terápiás intervenció az elmúlt évekből.¹⁴² Jelenleg is zajlik az Egyesült Királyságban a MIND vizsgálat, amelyben koraszülöttek agykárosodásának rizikójára gyakorolt hatását vizsgálják. Szintén felmerült a melatonin antenatális, preventív adásának lehetősége.¹⁴³

C, Erythropoietin (EPO)

Az EPO szintén természetes hormon, amelyet a vese peritubuláris kapillárisainak endothel sejtjei termelnek és amely hatására a csontvelőben indukálódik az erythroid-sejtvonal, amelyből a vörös-vértestek képződnek. Az EPO további hatásai közt szerepel direkt neurotrófikus hatás, az idegsejtek glutamát-érzékenységének csökkentése, anti-apoptotikus faktorok indukciója, gyulladás-csökkentés, a NO-mediálta károsodás csökkentése, valamint közvetlen antioxidáns hatás.¹⁴⁴

A koraszülöttséghez kapcsolódó anémia kezelésében leírták rekombináns humán EPO biztonságosságát klinikai vizsgálatban.¹⁴⁵ Elméletileg az EPO molekuláris mérete (30,4 kDa) túl nagy a vér-agy gáton való áthaladáshoz, azonban érdekes, hogy főemlősökben

és újszülött bárányban intravénás adást követően a CSF-ből neuroprotektív koncentrációjú EPO volt mérhető.¹⁴⁶

Egy 167 aszfixiás újszülöttet bevonó kínai vizsgálatban leírták az alacsony dózisú EPO neuroprotektív hatását mérsékelt enkefalopátiás páciensekben.¹⁴⁷ Nagyobb dózisok alkalmazásával kapcsolatban azonban felmerült a trombotikus és más hematológiai szövődmények potenciálisan emelkedett rizikója. Az Egyesült Államokban 2012-végén zárult le az a vizsgálat (NEAT), amely az EPO alkalmazásának biztonságosságára irányult aszfixiás újszülöttekben és kimutatta, hogy a terápiás dózisok is jól toleráltak az újszülöttekben.¹⁴⁸ Valószínű tehát, hogy ez a terápia is a közeljövőben klinikai fázis 2-es vizsgálatba lép.

D, Poszt kondicionálás

A prekondicionálást iszkémiás szívkárosodás kapcsán írták le először a '80-as években, amikor megfigyelték, hogy nem letális mértékű iszkémia-reperfúzió a későbbi letális mértékű iszkémiával szemben protektívnek bizonyult.¹⁴⁹ Ezt az iszkémiás prekondicionálást később több más szerv (vese, agy) esetében is leírták és előre látható iszkémiás szívizom-sérüléssel (pl. szívműtéttel) kapcsolatban felmerült a klinikai transzlációja is.¹⁵⁰ Minthogy azonban a perinatális aszifixia általában nem jelezhető előre biztosan, ennek a megközelítésnek nem volt klinikai relevanciája.

Az elmúlt öt évben azonban leírták, hogy iszkémiás szív- és agy-károsodás esetében is az inzultus után alkalmazott poszt kondicionálás szintén protektív hatású.¹⁵¹ A két terápia mechanizmusában valószínűleg közös pont, hogy végső soron meggátolják a mitokondriális MPTP csatorna összeszerelődését, amely a poszt-reperfúziós sejthalál egyik központi mediátora. Ennek módja prekondicionálás esetében valószínűleg különböző intracelluláris jelátviteli utak aktiválása (pl. eNOS, PKC), míg poszt kondicionálás esetén a kialakuló intracelluláris acidózis gátolhatja a csatorna kialakulását.¹⁵² Ez az utóbbi mechanizmus valószínűleg szerepet játszik a CO₂ neuroprotektív hatásának közvetítésében.⁹⁸

A poszt kondicionálás klinikai transzlációja mellett szól több érv is: 1) Stroke modelleken az iszkémiás poszt kondicionálás 3-6 órával a primer sérülés után is neuroprotektív volt, javította az agyi metabolizmust és normalizálta az agyi perfúziót.¹⁵³ 2) A távoli végtagon alkalmazott poszt kondicionálás is csökkenti az infarktus méretét még 3 órával az inzultus után alkalmazva is.¹⁵⁴ A nem-gyógyszeres intervenciók közül

egyértelműen a posztkondicionálás áll a legközelebb a klinikai transzlációhoz, azonban újszülötteken egyelőre nem indultak el ezek a vizsgálatok.

E, Őssejt terápia

A regeneratív terápiás intervenciók őssejt felhasználásával jelenleg az egyik legnagyobb nyilvánosságot kapó kezelési módok. Az elmúlt években Magyarországon is megjelentek az őssejt-bankok, amelyek ígérete szerint az autológ, azaz saját köldökzsinór-őssejt megfelelő tárolásával és későbbi felhasználásával lehetőség nyílik számos gyermek- vagy felnőttkori betegség kezelésére. Az Amerikai Gyermekgyógyászati Társaság állásfoglalása azonban nem támogatja az őssejt bankolását, mivel álláspontjuk szerint a legtöbb olyan elváltozás, amelyen az őssejt-transzplantáció segíthetne, már újszülöttkorban is jelen van az őssejt pre-malignus elváltozásainak formájában. Mindazonáltal a sejtbankoktól függetlenül talán a legkézenfekvőbb lehetőség a neonatológiai kórképek kezelése köldökzsinórból származó őssejt segítségével.

Az elmúlt 10 évben számos preklinikai kutatás igazolta az őssejt-kezelés hatékonyságát perinatális aszfixia modelleken. Az őssejteket intraperitoneális¹⁵⁵, intracerebrális¹⁵⁶ vagy intravénás¹⁵⁷ útvonalakon juttaták az állatokba. A legtöbb vizsgálat talált különböző mértékű protektív hatást, volt azonban néhány csoport, akik nem számoltak be ilyenről.¹⁵⁸

Az őssejt-terápia hatásmechanizmusával kapcsolat több elmélet is született: 1) a sérült sejtek pótlása, 2) ér-regeneráció, 3) az ép sejtek túlélésének növelése jelátviteli útvonalakon keresztül, 4) gyulladásosejtek vérbe kerülésének gátlása a lépben.¹⁵⁹ Az első felevés valószínűleg nem játszik nagy szerepet a neuroprotekciónban, mivel néhány hét elteltével már alig mutathatók ki az őssejt az agyszövetből. A negyedik megközelítés valószínűleg csak akut sérülés esetében játszhat szerepet, krónikus modellekben nem mutatható ki ez a hatás.¹⁶⁰ A másik két mechanizmus valószínűleg különböző súllyal, de központi szerepet kaphat a neuroprotekción kialakításában. Különösen érdekes, hogy a mezenchimális őssejt transzplantációja hatására fokozódik az idegi növekedési faktor és az agyi eredetű neurotrófikus faktor expressziója és ezzel az intakt sejtek túlélése.¹⁶¹

Klinikailag a biztonságossággal kapcsolatos félelmek legnagyobb része az allogén transzplantációt érintik, a saját köldökzsinór őssejt beadása a jelenlegi eredmények

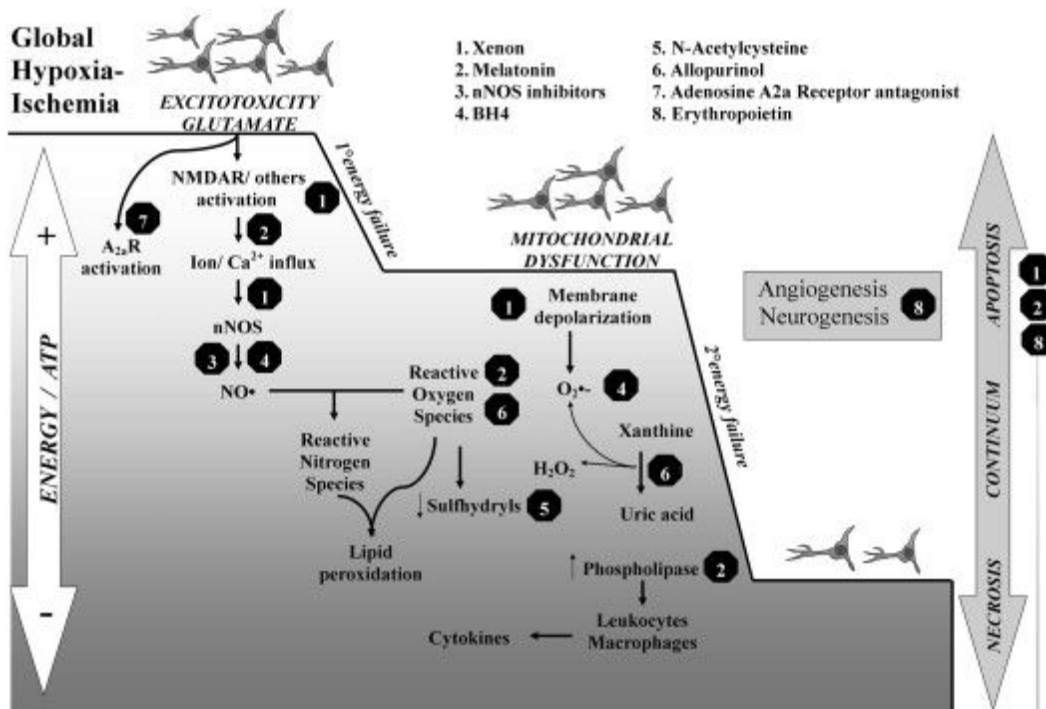
alapján viszonylag kockázatmentes.¹⁶² Jelenleg számos klinikai vizsgálat zajlik, első sorban az Egyesült Államokban és Kínában krónikus neurológiai károsodások kezelésére. Az egyetlen vizsgálat, amely akut agyi károsodásban vizsgálja az autológ őssejtek adásának biztonságosságát az amerikai Duke University-n zajlik.[•] Mindazonáltal úgy tűnik, hogy elméleti akadályok nincsenek egy aszfixiás újszülöttekre randomizált klinikai hatásossági vizsgálatnak köldökzsinór-őssejtek transzplantációjával.¹⁶³

F, További transzláció előtt álló terápikák

Mint látható, az elmúlt évtizedben számos terápia került a klinikai transzláció közelébe. Minthogy azonban a klinikai vizsgálatokba bevonható aszfixiás újszülöttek száma korlátozott, különösen a fejlett országokban, ezért különösen fontos, hogy lehetőleg az azok a terápikák kerüljenek klinikai kipróbálásra, amelyek esetében a legnagyobb a siker esélye. Ennek céljából kialakult egyfajta nemzetközi kollaboráció vezető aszfixia-kutatók között, akik közösen próbálták meghatározni a különböző terápikák alkalmazhatóságát a klinikumban.¹⁶⁴

A korábban említett szereken kívül antenatálisan felmerült a tetrahydrobiopterin (BH4) adása, amely fontos ko-faktor számos reakcióban és lényeges szerepe van az újszülött agy fejlődésében.¹⁶⁵ Szintén ígéretes az nNOS-gátlók és a xantin-oxidázt gátló allopurinol. Posztnatálisan további lehetőség az antioxidáns hatású N-acetil-cisztein adása, valamint az EPO-hoz hasonló hatású EPO-mimetikus peptidok. Az alábbi ábrán ezek, illetve a korábban tárgyalt vegyületek hatásmechanizmusát ábrázolták a szerzők:

[•] <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00593242>



4. ábra¹⁶⁴ Különböző kísérletes neuroprotektív intervenciók támadáspontjai a HIE patomechanizmusában.

Saját munka:

Saját munkámat a 2009/2010-es tanévben Dr. Nicola J. Robertson kutatócsoportjában végeztem a University College London egyetemen az Egyesült Királyságban. A kutatócsoport fő profilja a HIE transzlációs preklinikai kutatása több állatmodellen, amik közül én az újszülött malaccal dolgoztam. A modellnek a lényege, hogy egy tranziens kombinált hipoxiás-iszkémiás inzultus segítségével állítjuk elő a neurológiai károsodást, amely utánozza a humán HIE patomechanizmusát.

Ennek a malac-modellnek az egyik legnagyobb előnye, hogy neurológiai szempontból az újszülött malac nagyon hasonló a humán újszülöthöz, így kiemelten releváns klinikai következtetések vonhatók le a kapott eredményekből.

A, Irodalmi háttér és célkitűzések

A saját munkám során egy olyan kísérlet-sorozatot végeztünk, amelyben arra a kérdésre kerestük a választ, hogy melyik az optimális hőmérséklet a hipotermiás terápia maximális hatékonyságához (lásd korábban). Ez a kérdés különösen fontos volt, hiszen a TOBY vizsgálat lezárultával a hipotermia kezdett elterjedni világszerte és így számos

klinikus feltehetően azt a releváns kérdést, miszerint a mélyebb hőmérséklet nem eredményez-e nagyobb neuroprotekción.

A klinikai vizsgálatokban alkalmazott 33-35 °C-os tartomány biztonságosságát több oldalról leírták már korábban (lásd feljebb). Az állatkísérletes modellekben változó hűtés-profilokat alkalmaztak a kutatócsoportok. Futóegerekben a 32 és a 34 °C is protektív volt 6 hónapos korban.¹⁶⁶ Újszülött bárányban csak a 34 °C-os extradurális hőmérséklet bizonyult neuroprotektívnek,¹⁶⁷ míg az újszülött malacban a 35 °C erősebb neuroprotekción biztosított, mint a 33 °C.¹⁶⁸ Azonban például felnőtt emlősök esetében a. cerebri media okklúziós modellen a 29 °C-os hűtés 100%-os mortalitáshoz vezetett.¹⁶⁹ Mindazonáltal úgy tűnik, hogy a hűtés szisztémás mellékhatásai 34 °C alatt a maghőmérséklet csökkenésével arányosan nőnek.¹⁷⁰

Egy 2010-es metaanalízis kimutatta, hogy a klinikailag alkalmazott hipotermia 34 °C alatti és feletti célhőmérséklettel nem vezetett szignifikáns különbséghez neurológiai kimenetel szempontjából.¹⁷¹ Ez azt sugallja, hogy az optimális neuroprotektív hőmérséklet valahol 34 °C alatt van. Mindazonáltal valószínűleg létezik egy határhőmérséklet, amely alatt a szisztémás mellékhatások súlya meghaladja a neuroprotekción. Fontos továbbá felismerni, hogy a klinikai hipotermiás vizsgálatok enyhe mellékhatás-profilja annak is köszönhető, hogy fejlett intenzív terápiás centrumokban zajlik a hűtés. Mindazonáltal többen is beszámoltak váratlan vagy túlzott hőmérséklet-csökkenésről, főleg azokban az esetekben, ahol nem volt folyamatos rektális hőmérséklet monitorozás, pl. transzport közben.¹⁷²

A vizsgálatunk célja az volt, hogy leírja a 24 órán át alkalmazott, 35, 33,5 és 30 °C-os célhőmérsékletű hipotermiás kezelés szisztémás hatásait az újszülöttkori aszfixia malacmodelljében.

B, Módszerek

A kísérleteket 24 óránál fiatalabb nagy fehér sertéseken (LWP) végeztük. Altatásban intubáltuk az állatot, majd mindkét oldali arteria carotis communisa köré egy-egy felfújható bilincset vagy cuff-ot helyeztünk, valamint megkanuláltuk az egyik umblikális artériát és a vénát, amin keresztül biztosítottuk az artériás vérnyomás-mérést és a gyógyszeres terápiát. A kezdeti élettani paraméterek rögzítését követően behelyeztük az állatot egy 9.4 T térerősségű preklinikai MR gépbe, ahol P-MRS segítségével meghatároztuk az alap agyi energia-szinteket. Ezután a cuff-ok felfújásával

és a belélegzett O₂-koncentráció 8-12%-ra csökkentésével alakítottuk ki az inzultust. Eközben 2 percenként MRS felvétel készült az állatról, amin valós időben nyomon követhető az agyi energia-szintek alakulása. A standardizált inzultus során az alap agyi energia-szintek 40%-ára titráltuk az ATP-szinteket, majd 12,5 perc szinten tartás után felengedtük a carotisokat és visszaállítottuk a normoxiás gázkeveréket. Ez a modell több, mint 10 éve használt és hűen utánozza a perinatális aszfixia okozta agykárosodást.¹⁵

Két órával az inzultus vége után kezdődött a randomizált intervenció (normotermia, vagy hűtés 35, 33.5, vagy 30 °C-ra, n=7 mindegyik csoportban), amelyet 24 órán keresztül folytattunk. A felmelegítés graduálisan történt, óránként maximum 0.5 °C-al emelve a rektális hőmérsékletet. A kísérlet teljes ideje alatt gépi és gyógyszeres intenzív terápiás körülményeket biztosítottunk. 48 órával az inzultus után az állatokat intravénás barbiturát injekcióval túlaltattuk, a szöveteiket perfundáltuk és fixáltuk, majd az agyukat előkészítettük szövettani feldolgozásra.

Vizsgálatunk során az elsődleges kimeneteli pont a mortalitás, valamint a fiziológiai paraméterek (szívfrekvencia [HR], artériás középnyomás [MABP], rektális hőmérséklet [T_{rec}]), a sorozatos artériás vérgáz-értékek (pH, PaO₂, PaCO₂, BE, glükóz, laktát, elektrolitok), továbbá a szérum kortizol- és troponin-szintek változása volt. Ezen túlmenően megvizsgáltuk a főbb szervek (tüdő, máj, hasnyálmirigy, lép, vese és szív) makroszkópos elváltozásait. A statisztikai vizsgálatok során a normál eloszlású adatok esetében a csoportok együttes összehasonlítására lineáris regressziót, valamint ANOVA tesztet használtunk, majd Bonferroni korrekció után másodlagos, páros összehasonlításokat végeztünk a 30 °C-os csoporttal. A nem normál eloszlású adatok összehasonlítására Kruskal-Wallis tesztet használtunk. Az eredményeket p<0.005 esetén fogadtuk el szignifikánsnak.

C, Eredmények

Nem volt különbség a csoportok közt a testsúly, az életkor, az inzultus súlyossága, valamint a kiindulási fiziológiai és biokémiai paraméterek tekintetében. A 30 °C-os csoportban 7 állatból 6-nál következett be szívmegállás, ezek közül 5 nem élte meg a kísérlet végét, többek közt pulmonális ödéma, súlyos metabolikus zavarok vagy refrakter hipotenzió következtében. Egy állat esetében jelentkezett perzisztáló szívritmuszavar a 30 °C-os csoportban.

2. táblázat¹⁷³ A kísérleti csoportok fiziológiai paramétereit. Átlag (Szórás) * p<0.05 vs normothermia, ** p<0.05 vs 35 °C, † p<0.05 vs 33.5 °C, ‡ p<0.01

Variable	Normothermia	35 °C	33.5 °C	30 °C
Postnatal age, h	22.3 (1.2)	22.6 (1.1)	22.7 (0.9)	22.5 (1.1)
Body weight, g	1,771 (132)	1,786 (90)	1,714 (146)	1,864 (180)
AED (insult severity), h	0.07 (0.04)	0.05 (0.03)	0.06 (0.04)	0.08 (0.07)
HR, bpm				
Baseline	158 (26)	162 (32)	152 (28)	144 (21)
End of insult	182 (28)	184 (30)	187 (32)	172 (29)
2–3.5 h after time zero	155 (28)	130 (26)	132 (30)	130 (11)
3.5–26 h after time zero	156 (15)	121 (28)	114 (21)	123 (16)*
26–48 h after time zero	151 (22)	146 (33)	140 (17)	149 (4)
MABP (mm Hg)				
Baseline	51 (6)	53 (7)	53 (9)	51 (6)
End of insult	51 (10)	59 (16)	58 (11)	55 (6)
2–3.5 h after time zero	45 (6)	43 (5)	44 (8)	47 (7)
3.5–26 h after time zero	51 (6)	48 (6)	47 (6)	43 (7)
26–48 h after time zero	52 (6)	51 (7)	47 (6)	48 (11)
T rectal (°C)				
Baseline	38.4 (0.4)	38.2 (0.6)	38.1 (0.8)	38.4 (0.4)
End of insult	38.2 (0.4)	38.1 (0.3)	38.1 (0.4)	38.2 (0.4)
6–26 h after time zero	38.5 (0.4)	34.9 (0.4)*, ‡	33.2 (0.5)*, **, ‡	30.2 (0.4)*, **, †, ‡
26–48 h after time zero	38.4 (1.3)	37.7 (1.2)	37.0 (1.8)*, **, ‡	34.4 (2.6)*, **, †, ‡

A fiziológiai paraméterek tekintetében a hűtés alatti Trec értékeken kívül csak a HR volt szignifikánsan alacsonyabb a 30 °C-os csoportban a hűtés alatt (lásd 2. táblázat). Ugyan a 30 °C-os csoportban több állat szenvedett el súlyos hipotenziós periódusokat, ez a megfelelő terápia miatt statisztikailag nem volt szignifikáns. Ezzel szemben a folyadékpótlás és a dopamin-szükséglet is szignifikánsan magasabb volt a 30 °C-os csoportban (lásd 3. táblázat).

3. táblázat¹⁷³ A kísérleti csoportok folyadék- és inotrop igényei. Átlag (Szórás) * p<0.05 vs normothermia, ** p<0.05 vs 35 °C

	Normothermia	35 °C	33.5 °C	30 °C
Volume replacement (ml/kg)	15 (0, 31)	19 (0, 38)	18 (0, 82)	70 (46-108)*
Inotropes (µg·kg·min)				
Dopamine	0 (0, 0)	0 (0, 4.8)	5.5 (0.7, 11.1)*	13.8 (8.2, 18.6)*, **
Dobutamine	0 (0, 0)	0 (0, 0)	0 (0, 0)	16.0 (0, 18.7)
Noradrenaline	0 (0, 0)	0 (0, 0)	0 (0, 0)	0.1 (0, 0.3)

A biokémiai paraméterek közül a bázis-hiány szignifikánsan magasabb volt a hűtés alatt és a felmelegítés kezdetekor a 30 °C-os csoportban a többihez képest. Szintén ebben a csoportban szignifikánsan magasabb volt a szérumban a glükóz-koncentráció a hűtés során (lásd 4. táblázat). Ugyanebben az időszakban a 30 °C-os csoport K⁺ koncentrációja

szignifikánsan alacsonyabb, míg a hemoglobin koncentrációja szignifikánsan magasabb volt. A hűtés és a felmelegítés során a szérum kardiális troponin-I koncentráció szignifikánsan alacsonyabb volt a 30 °C-os csoportban. A makroszkópos vizsgálatok során a rendelkezésre álló szervek száma nem volt megfelelő statisztikai analízishez.

4. táblázat¹⁷³ A kísérleti csoportok vérgáz, glükóz és laktát értékei. Átlag (Szórás) * p<0.05 vs normothermia, ** p<0.05 vs 35 °C, † p<0.05 vs 33.5 °C, ‡ p<0.01, § p<0.05 vs baseline, §§ p<0.05 vs 24 óra

Variable	Normothermia	35 °C	33.5 °C	30 °C
PaO₂				
Baseline	9.3 (1.1) ^{§§}	10.5 (1.7)	9.4 (1.9)	8.3 (1.7)
Nadir of the insult	3.3 (1.0) ^{§§§}	3.1 (1.1) [§]	3.1 (1.2)	3.0 (1.0) [§]
12 h after time zero	10.3 (1.2)	8.8 (1.2)	9.2 (5.3)	8.0 (2.9)
24 h after time zero	11.2 (2.6) [§]	12.3 (6.3)	9.8 (3.3)	7.5 (2.2)
36 h after time zero	10.9 (2.2)	10.0 (3.6)	11.5 (4.5)	8.9 (1.7)
48 h after time zero	11.7 (2.2)	11.6 (3.0)	14.2 (6.3)	11.7 (1.9)
PaCO₂				
Baseline	5.46 (0.74)	5.26 (1.05)	5.26 (0.65)	4.98 (0.76)
Nadir of the insult	4.36 (0.49)	4.88 (1.22)	5.27 (0.94)	5.02 (0.82)
12 h after time zero	5.29 (0.93)	4.81 (0.71)	6.17 (0.86)	5.83 (2.13)
24 h after time zero	4.23 (1.03)	6.08 (1.71)	4.96 (1.34)	4.82 (2.43)
36 h after time zero	5.29 (1.11)	5.68 (1.36)	6.80 (1.26)	6.82 (1.35)
48 h after time zero	5.21 (1.28)	5.15 (0.71)	6.15 (1.43)	4.47 (0.51)
pH				
Baseline	7.49 (0.04)	7.50 (0.09)	7.52 (0.06)	7.51 (0.07)
Nadir of the insult	7.47 (0.09)	7.44 (0.05)	7.43 (0.16)	7.44 (0.08)
12 h after time zero	7.57 (0.08)	7.54 (0.09)	7.45 (0.05)	7.37 (0.20)
24 h after time zero	7.59 (0.09)	7.45 (0.14)	7.48 (0.14)	7.37 (0.28)
36 h after time zero	7.47 (0.10)	7.45 (0.10)	7.37 (0.10)	7.29 (0.11) [*]
48 h after time zero	7.45 (0.11) ^{§§}	7.47 (0.07)	7.38 (0.09)	7.52 (0.09)
Base deficit (mmol/l)				
Baseline	8.2 (3.6)	7.8 (2.1)	9.6 (5.4)	7.5 (4.5)
Nadir of the insult	0.7 (5.4) ^{§§§}	0.0 (4.0) ^{§§§}	2.2 (8.0)	1.2 (3.0)
12 h after time zero	11.7 (3.3)	9.7 (1.0)	9.3 (2.7)	0.6 (8.8) ^{*,**†‡}
24 h after time zero	8.5 (3.7)	7.2 (2.6)	3.6 (5.5)	-5.5 (8.8) ^{*,**†‡}
36 h after time zero	6.1 (3.0)	5.6 (1.5)	3.6 (3.8)	-3.1 (6.0) ^{*,**†}
48 h after time zero	3.6 (4.0)	5.0 (2.6)	2.1 (4.0)	4.5 (5.4)
Lactate (mmol/l; median (IQR))				
Baseline	3.4 (2.6, 4.3)	3.7 (2.9, 4.0) ^f	2.7 (2.4, 5.5)	3.3 (2.8, 3.8)
Nadir of the insult	7.6 (6.47, 8.5) ^{§§§}	7.4 (6.7, 8.4) ^{§§§}	6.9 (6.0, 9.7) ^{§§§}	8.2 (6.7, 9.0)
12 h after time zero	1.8 (1.3, 1.9)	1.6 (1.1, 1.9) [§]	1.3 (0.7, 1.7)	2.2 (1.7, 10.0)
24 h after time zero	2.4 (1.6, 3.0)	1.6 (0.9, 1.7) [§]	1.8 (1.5, 3.3)	3.6 (2.1, 12.0)
36 h after time zero	1.0 (0.8, 1.7)	1.5 (1.5, 1.6)	1.1 (1.0, 1.4)	2.7 (1.5, 3.8)
48 h after time zero	1.3 (1.2, 1.4)	1.3 (1.1, 2.1) [§]	1.2 (1.1, 1.8)	2.6 (1.8, 3.2)
Glucose (mmol/l)				
Baseline	7.5 (6.1, 8.1) ^{§§}	6.8 (6.1, 7.5)	6.2 (5.7, 6.5)	7.6 (6.9, 8.3) ^{§§}
Nadir of the insult	9.8 (8.3, 10.4) ^{§§§}	7.8 (7.7, 8.9)	8.4 (7.5, 9.8)	8.5 (8.5, 9.5)
12 h after time zero	5.2 (5.0, 6.2) [§]	5.5 (4.4, 7.0)	9.3 (4.7, 10.7)	17.2 (9.7, 28.7) ^{*,**§}
24 h after time zero	5.4 (4.8, 6.2) [§]	5.4 (4.5, 9.6)	5.5 (5.1, 8.5)	23.9 (12.2, 25.9) [§]
36 h after time zero	4.9 (4.1, 6.2)	6.4 (6.1, 7.4)	5.5 (4.3, 11.6)	15.9 (4.8, 15.9)
48 h after time zero	4.8 (3.9, 5.2)	4.9 (4.7, 5.2)	4.3 (3.0, 5.5)	5.8 (4.3, 6.4) ^{§§}

D, Megbeszélés és következtetések

A kísérleti modellünkben kimutattuk a 30 °C-os hipotermiás terápiával járó abnormális metabolikus homeosztázist, a fokozott folyadék- és vazopresszor-igényt, amely a MABP fenntartásához szükséges volt, valamint a fokozott mortalitást a normotermiás, illetve a 35 és 33.5 °C-os hipotermiával összevetve. Ezek az eredmények alátámasztják a klinikai gyakorlatban a rektális hőmérséklet szoros megfigyelését és a túlhűtés elkerülését.

A hipotermia során 7-9%-al csökken a metabolikus aktivitás a maghőmérséklet 1 °C-al való csökkenésekor.¹⁷⁴ A hipotermiás kezelésre adott kardiovaszkuláris fiziológias reakció lehet perifériás vazokonstrikció, sinus bradikardia, QT-idő megnyúlás, csökkent ejekciós frakció és percvolumen.^{171,175} A mély hipotermia (<30 °C) továbbá csökkenti a miokardium kontraktilitását is.¹⁷⁶

A klinikai vizsgálatokban ezek közül a sinus bradikardia az egyetlen mellékhatás, amiről beszámoltak, ezt mi is megfigyeltük a kísérletünkben.^{171,177} A 30 °C-os csoportban megfigyelt fokozott mortalitás szívmegállás és aritmiák következtében összeeseng más kísérletes vizsgálatok eredményeivel.^{169,175} A hipotermiás klinikai pilot vizsgálatokban beszámoltak enyhe hipokalémiáról, amit mi is megfigyeltünk a kísérletünkben.¹²² Ez valószínűleg a K⁺ intracelluláris áthelyeződésének és a fokozott szimpatikus tónusnak köszönhető, aminek szintén betudható a fokozott szérum glükózkoncentráció.

Összefoglalva tehát kimutattuk, hogy a 30 °C-os mély hipotermia súlyos metabolikus zavarokhoz, fokozott folyadék- és vazopresszor-igényhez, valamint fokozott mortalitáshoz vezetett normotermiához, illetve 35, valamint 33.5 °C-os hipotermiához képest. Mivel emberben a hűtés protektív határértéke ismeretlen, ezért ennek fényében javasolt szigorúan figyelni a 33.5 °C-os célhőmérsékletre.

Eredményeinket 2012-ben a *Pediatric Research* c. szaklapban publikáltuk.¹⁷³

További tervek:

Mint a korábban említettük, a hipotermiás terápia elterjedésével jelenleg a legtöbb aszfixiával foglalkozó kutatócsoport addicionális terápiák keresén és validálásán dolgozik. Munkacsoportunknak kiemelt célja, hogy részt vegyen ebben a nemzetközi törekvésben és ezzel javítsa az aszfixiás újszülöttek esélyét az egészséges túlélésre.

A, Háttér

Az aszfixia patomechanizmusának egyik legkevésbé ismert momentuma a reperfüzió után kialakuló, majd akár hónapokig is fennálló agyi alkalózis. Ennek a mechanizmusára ugyan voltak feltételezések a múltban is,¹⁷⁸ azonban a pontos kialakulása egyelőre ismeretlen. Közelmúltbeli eredmények azt támasztják alá, hogy az agyból történő nettó H^+ -eltávolításban a vér-agy gátban található Na^+/H^+ transzporter fehérjének van szerepe.¹⁷⁹ Ennek a csatornának a specifikus gátlása N-metil-izobutilamilorid segítségével megszünteti ezt az alkalózist és neuroprotektív hatású újszülött egérben.¹⁸⁰

Korábban említettük, hogy az elmúlt évtizedekben több oldalról is felmerült, hogy a klinikai dogma, miszerint az acidózis a károsodás mediátora vagy okozója, nem feltétlenül igaz minden helyzetben. Egyrészt leírták, hogy a súlyos szisztémás acidózis nélkül születő aszfixiás újszülöttek esetében fokozott az agykárosodás rizikója, különösen, ha hipokapnia is jelen van.⁵⁵ Másrészt több sejtes és kisállatos kutatás is felvetette az enyhe acidózis, mint természetes protektív tényező szerepét különböző károsodások esetében. Sejtkultúrákon végzett kutatások azt mutatják, hogy az alacsonyabb extracelluláris pH hatására a neuronok hamarabb regenerálódtak hipoxiás-iszkémiás károsodás után.¹⁸¹ Hasonló körülmények közt primer neuronális sejtvonalak csökkent apoptózist mutattak.¹⁸² Az agyi iszkémia szöveti modelljében hipoxia-iszkémiát követően az acidózis fenntartása megelőzte az iszkémiás károsodást.¹⁸³ Ez összecseng a posztkondicionálással kapcsolatos pH-hipotézissel amit korábban említettünk.¹⁵²

Az egyenletes szöveti acidózis elérésére a legalkalmasabb módszer a CO_2 -szint befolyásolása. Az enyhe hiperkapniáról leírták, hogy segíti a neuronális oxidatív metabolizmus és az agyi perfúzió megőrzését, javítja az agyi oxigén-ellátottságot valamint hosszú távon neuroprotektív újszülött patkányok hipoxiás károsodása esetében.^{98,184,185} Vannucci és munkatársai az általuk kidolgozott újszülött patkány-modellen (amely azóta világszerte a legelterjedtebb állatmodell a HIE kutatásában) kimutatták, hogy a hipoxiával párhuzamosan adott enyhe hiperkapnia neuroprotektív hatású.⁹⁸ Leírták továbbá, hogy az enyhe hiperkapnia potens görcs-gátló hatású terápia a lázgörcs¹⁸² és az újszülöttkori görcsök modelljében egyaránt.¹⁰⁷ Jelenleg két klinikai

vizsgálat is zajlik az 5% CO₂-t és 95% O₂-t tartalmazó Carbogen gáz hatásának vizsgálatára lázgörcs és gyermekkori non-konvulzív epilepszia kezelésére.

Klinikailag a hiperkapnia alkalmazásával kapcsolatban a legkomolyabb aggodalomra az a tény ad okot, hogy megszületéskor az aszfixiás újszülöttek nagy része súlyos metabolikus acidózisban szenved. Mivel tudjuk, hogy a súlyos acidózis káros hatású, ezért jogos ellenvetés lehet, hogy erre a metabolikus acidózisra egy további respirációs acidózis nem lesz-e negatív hatással. Mindazonáltal a kísérletes eredmények azt mutatják, hogy számos metabolikus acidózissal járó kórképben a respirációs acidózis csökkentette a metabolikus savak szintjét.¹⁸⁶

Hipotézisünk tehát, hogy a hipotermiával kombinált enyhe hiperkapnia javítja a túlélést, csökkenti a neurológiai károsodást és a görcsöket, valamint gyorsítja a szisztémás pH normalizálódását újszülöttkori aszfixiában.

B, Módszerek

Kísérleteinkhez a Vannucci-féle patkány modellt fogjuk alkalmazni.¹⁸⁷ Ennek során 7 napos patkányokon először egy műtét segítségével felkeressük és elköjtjük a jobb oldali a. carotis communist, majd egy rövid ébredési szakasz után 90 percen át 8%-os O₂-tartalmú gázkeverékkel lélegeztetjük az állatokat. Ez a modell alkalmas az újszülöttekben kialakuló agykárosodáshoz hasonló patológia létrehozására.¹⁸⁸

Az inzultus után 30 perccel fogjuk alkalmazni a randomizált intervenciót (hipotermia, 5% CO₂ vagy ezek kombinációja) 4 órán át, amit egy 4 órás normalizációs periódus fog követni. Az elsődleges kimeneteli pont a szövettani károsodás mértéke lesz, amelyet 48 órával az inzultus után fogunk vizsgálni. További kimeneteli pontjaink lesznek: sorozatos vérgáz-vizsgálatok, az agyi pH mérése, görcsaktivitás mérése és funkcionális neuromotoros vizsgálatok.

Jelenleg a kísérleti modell beállítása és pilot vizsgálatok zajlanak.

• <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/trial/2011-005318-12/GB>

<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01370044>

Összefoglalás:

A dolgozat keretein belül először áttekintettük az újszülöttkori hipoxiás-iszkémiás encefalopátia epidemiológiáját, etiológiai és rizikó-faktorait, patomechanizmusát, valamint diagnosztikáját és prognózisát. Ezután a szupportív terápia mellett ismertettük a jelenlegi egyetlen klinikailag használt kezelést, a hipotermia történetét, elméleti és kísérletes hátterét, valamint klinikai alkalmazásának részleteit. A dolgozat következő részében áttekintettük a jelenleg klinikai kipróbálás alatt vagy preklinikai fázisban lévő további terápiás intervenciók hátterét és alkalmazását. Az utolsó részben részletesen ismertettük eddigi kísérletes munkánk eredményeit, illetve a jövőbeli terveinket.

A dolgozat célja az volt, hogy logikusan felépítve és közérthetően ismertesse az egyik legsúlyosabb neonatológiai kórképre, a hipoxiás-iszkémiás encefalopátára vonatkozó korábbi és jelenlegi tudásunkat, valamint felvillantsa, hogy a következő 5-10 évben előreláthatólag milyen fejlemények várhatók ennek a tragikus betegségnek a kezelésében. A HIE még jelenleg is hatalmas fizikai, pszichológiai, szociális és gazdasági teher, mind az egyén, mind a család, mind a társadalom számára. Remélhetőleg az aktív és kitartó nemzetközi kutatói együttműködés eredményeként képesek leszünk ezt a terhet tovább csökkenteni és még több újszülöttnak megadni az esélyt az egészséges és teljes életre.

Irodalomjegyzék:

1. World Health Organisation. Child Health and Development: health of the newborn. (1991).
2. Volpe, J.J. Neurology of the Newborn. *Saunders* (2008).
3. Costello, A.M. & Manandhar, D.S. Perinatal asphyxia in less developed countries. *Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition* **71**, F1-3 (1994).
4. Selway, L.D. State of the science: hypoxic ischemic encephalopathy and hypothermic intervention for neonates. *Advances in neonatal care : official journal of the National Association of Neonatal Nurses* **10**, 60-66; quiz 67-68 (2010).
5. Rutherford, M.A., *et al.* Mild hypothermia and the distribution of cerebral lesions in neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics* **116**, 1001-1006 (2005).
6. Hagberg, B., Hagberg, G., Beckung, E. & Uvebrant, P. Changing panorama of cerebral palsy in Sweden. VIII. Prevalence and origin in the birth year period 1991-94. *Acta Paediatr* **90**, 271-277 (2001).
7. Mimouni, F., Miodovnik, M., Siddiqi, T.A., Khoury, J. & Tsang, R.C. Perinatal asphyxia in infants of insulin-dependent diabetic mothers. *The Journal of pediatrics* **113**, 345-353 (1988).
8. Thordstein, M. & Kjellmer, I. Cerebral tolerance of hypoxia in growth-retarded and appropriately grown newborn guinea pigs. *Pediatric research* **24**, 633-638 (1988).
9. Volpe, J.J. Perinatal brain injury: from pathogenesis to neuroprotection. *Mental retardation and developmental disabilities research reviews* **7**, 56-64 (2001).
10. Ádám, V. Orvosi Biokémia. *Medicina* (2006).
11. Holowach-Thurston, J., Hauhart, R.E., Jones, E.M., Ikossi, M.G. & Pierce, R.W. Decrease in brain glucose in anoxia in spite of elevated plasma glucose levels. *Pediatric research* **7**, 691-695 (1973).
12. Argaud, L., *et al.* Postconditioning inhibits mitochondrial permeability transition. *Circulation* **111**, 194-197 (2005).
13. Fidelman, M.L., Seeholzer, S.H., Walsh, K.B. & Moore, R.D. Intracellular pH mediates action of insulin on glycolysis in frog skeletal muscle. *The American journal of physiology* **242**, C87-93 (1982).

14. Chesler, M. Regulation and modulation of pH in the brain. *Physiological reviews* **83**, 1183-1221 (2003).
15. Lorek, A., *et al.* Delayed ("secondary") cerebral energy failure after acute hypoxia-ischemia in the newborn piglet: continuous 48-hour studies by phosphorus magnetic resonance spectroscopy. *Pediatric research* **36**, 699-706 (1994).
16. Hope, P.L., *et al.* Cerebral energy metabolism studied with phosphorus NMR spectroscopy in normal and birth-asphyxiated infants. *Lancet* **2**, 366-370 (1984).
17. Greenamyre, J.T. & Porter, R.H. Anatomy and physiology of glutamate in the CNS. *Neurology* **44**, S7-13 (1994).
18. Sanchez, R.M., *et al.* Decreased glutamate receptor 2 expression and enhanced epileptogenesis in immature rat hippocampus after perinatal hypoxia-induced seizures. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **21**, 8154-8163 (2001).
19. Choi, D.W. Excitotoxic cell death. *Journal of neurobiology* **23**, 1261-1276 (1992).
20. Siesjo, B.K. Calcium in the brain under physiological and pathological conditions. *European neurology* **30 Suppl 2**, 3-9; discussion 39-41 (1990).
21. Blomgren, K. & Hagberg, H. Free radicals, mitochondria, and hypoxia-ischemia in the developing brain. *Free radical biology & medicine* **40**, 388-397 (2006).
22. Bast, A., Haenen, G.R. & Doelman, C.J. Oxidants and antioxidants: state of the art. *The American journal of medicine* **91**, 2S-13S (1991).
23. Murphy, S. Production of nitric oxide by glial cells: regulation and potential roles in the CNS. *Glia* **29**, 1-13 (2000).
24. Lafemina, M.J., Sheldon, R.A. & Ferriero, D.M. Acute hypoxia-ischemia results in hydrogen peroxide accumulation in neonatal but not adult mouse brain. *Pediatric research* **59**, 680-683 (2006).
25. Dawson, V.L. & Dawson, T.M. Physiological and toxicological actions of nitric oxide in the central nervous system. *Adv Pharmacol* **34**, 323-342 (1995).
26. Ergenekon, E. & Gucuyener, K. Nitric oxide in developing brain. *European journal of paediatric neurology : EJPN : official journal of the European Paediatric Neurology Society* **2**, 297-301 (1998).
27. Beckman, J.S., Viera, L., Estevez, A.G. & Teng, R. Nitric oxide and peroxynitrite in the perinatal period. *Seminars in perinatology* **24**, 37-41 (2000).

28. Waxman, S.G. Nitric oxide and the axonal death cascade. *Annals of neurology* **53**, 150-153 (2003).
29. Ischiropoulos, H. & Beckman, J.S. Oxidative stress and nitration in neurodegeneration: cause, effect, or association? *The Journal of clinical investigation* **111**, 163-169 (2003).
30. Girard, S., *et al.* Role of perinatal inflammation in cerebral palsy. *Pediatric neurology* **40**, 168-174 (2009).
31. Ivacko, J.A., Sun, R. & Silverstein, F.S. Hypoxic-ischemic brain injury induces an acute microglial reaction in perinatal rats. *Pediatric research* **39**, 39-47 (1996).
32. Bona, E., *et al.* Chemokine and inflammatory cell response to hypoxia-ischemia in immature rats. *Pediatric research* **45**, 500-509 (1999).
33. Wu, Y.W., *et al.* Chorioamnionitis and cerebral palsy in term and near-term infants. *JAMA : the journal of the American Medical Association* **290**, 2677-2684 (2003).
34. Eklind, S., Mallard, C., Arvidsson, P. & Hagberg, H. Lipopolysaccharide induces both a primary and a secondary phase of sensitization in the developing rat brain. *Pediatric research* **58**, 112-116 (2005).
35. Meier, P.R. & Makowski, E.L. The antepartum assessment of fetal well-being. *The Western journal of medicine* **138**, 686-689 (1983).
36. DiPietro, J.A. Neurobehavioral assessment before birth. *Mental retardation and developmental disabilities research reviews* **11**, 4-13 (2005).
37. Pál, A. A szülészet - nőgyógyászat egyetemi tankönyve. *Medicina* (2012).
38. Manning, F.A., *et al.* Fetal assessment based on fetal biophysical profile scoring. VIII. The incidence of cerebral palsy in tested and untested perinates. *American journal of obstetrics and gynecology* **178**, 696-706 (1998).
39. Low, J.A., Boston, R.W. & Panchar, S.R. Fetal asphyxia during the intrapartum period in intrauterine growth-retarded infants. *American journal of obstetrics and gynecology* **113**, 351-357 (1972).
40. Adiotomre, P.N., Johnstone, F.D. & Laing, I.A. Effect of absent end diastolic flow velocity in the fetal umbilical artery on subsequent outcome. *Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition* **76**, F35-38 (1997).
41. Gramellini, D., Folli, M.C., Raboni, S., Vadora, E. & Merialdi, A. Cerebral-umbilical Doppler ratio as a predictor of adverse perinatal outcome. *Obstetrics and gynecology* **79**, 416-420 (1992).

42. Pugash, D., Krssak, M., Kulemann, V. & Prayer, D. Magnetic resonance spectroscopy of the fetal brain. *Prenatal diagnosis* **29**, 434-441 (2009).
43. Grant, A. Cerebral palsy in infants born during trial of intrapartum monitoring. *Lancet* **335**, 660 (1990).
44. Nathan, L., Leveno, K.J., Carmody, T.J., 3rd, Kelly, M.A. & Sherman, M.L. Meconium: a 1990s perspective on an old obstetric hazard. *Obstetrics and gynecology* **83**, 329-332 (1994).
45. Meis, P.J., Hobel, C.J. & Ureda, J.R. Late meconium passage in labor--a sign of fetal distress? *Obstetrics and gynecology* **59**, 332-335 (1982).
46. MacDonald, D. Cerebral palsy and intrapartum fetal monitoring. *The New England journal of medicine* **334**, 659-660 (1996).
47. Parer, J.T. & Livingston, E.G. What is fetal distress? *American journal of obstetrics and gynecology* **162**, 1421-1425; discussion 1425-1427 (1990).
48. Amer-Wahlin, I., *et al.* Cardiotocography only versus cardiotocography plus ST analysis of fetal electrocardiogram for intrapartum fetal monitoring: a Swedish randomised controlled trial. *Lancet* **358**, 534-538 (2001).
49. Apgar, V. A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. *Current researches in anesthesia & analgesia* **32**, 260-267 (1953).
50. Sasidharan, P. Breathing pattern abnormalities in full term asphyxiated newborn infants. *Archives of disease in childhood* **67**, 440-442 (1992).
51. Lien, J.M., *et al.* Term early-onset neonatal seizures: obstetric characteristics, etiologic classifications, and perinatal care. *Obstetrics and gynecology* **85**, 163-169 (1995).
52. Barnett, C.P., Perlman, M. & Ekert, P.G. Clinicopathological correlations in postasphyxial organ damage: a donor organ perspective. *Pediatrics* **99**, 797-799 (1997).
53. Scott, H. Outcome of very severe birth asphyxia. *Archives of disease in childhood* **51**, 712-716 (1976).
54. MacLennan, A. A template for defining a causal relation between acute intrapartum events and cerebral palsy: international consensus statement. *BMJ* **319**, 1054-1059 (1999).
55. Hermansen, M.C. The acidosis paradox: asphyxial brain injury without coincident acidemia. *Developmental medicine and child neurology* **45**, 353-356 (2003).

56. Salhab, W.A., Wyckoff, M.H., Laptook, A.R. & Perlman, J.M. Initial hypoglycemia and neonatal brain injury in term infants with severe fetal acidemia. *Pediatrics* **114**, 361-366 (2004).
57. Goldberg, R.N., Cabal, L.A., Sinatra, F.R., Plajstek, C.E. & Hodgman, J.E. Hyperammonemia associated with perinatal asphyxia. *Pediatrics* **64**, 336-341 (1979).
58. Khashaba, M.T., *et al.* Excitatory amino acids and magnesium sulfate in neonatal asphyxia. *Brain & development* **28**, 375-379 (2006).
59. Vilanova, J.M., *et al.* Arachidonic acid metabolites in CSF in hypoxic-ischaemic encephalopathy of newborn infants. *Acta Paediatr* **87**, 588-592 (1998).
60. Gulcan, H., Ozturk, I.C. & Arslan, S. Alterations in antioxidant enzyme activities in cerebrospinal fluid related with severity of hypoxic ischemic encephalopathy in newborns. *Biology of the neonate* **88**, 87-91 (2005).
61. Tekgul, H., *et al.* Value of biochemical markers for outcome in term infants with asphyxia. *Pediatric neurology* **31**, 326-332 (2004).
62. Roka, A., *et al.* Serum S100B and neuron-specific enolase levels in normothermic and hypothermic infants after perinatal asphyxia. *Acta Paediatr* **101**, 319-323 (2012).
63. Solberg, R., *et al.* Metabolomic analyses of plasma reveals new insights into asphyxia and resuscitation in pigs. *PloS one* **5**, e9606 (2010).
64. Hellstrom-Westas, L., Rosen, I. & Svenningsen, N.W. Predictive value of early continuous amplitude integrated EEG recordings on outcome after severe birth asphyxia in full term infants. *Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition* **72**, F34-38 (1995).
65. Spitzmiller, R.E., Phillips, T., Meinzen-Derr, J. & Hoath, S.B. Amplitude-integrated EEG is useful in predicting neurodevelopmental outcome in full-term infants with hypoxic-ischemic encephalopathy: a meta-analysis. *Journal of child neurology* **22**, 1069-1078 (2007).
66. Hallberg, B., Grossmann, K., Bartocci, M. & Blennow, M. The prognostic value of early aEEG in asphyxiated infants undergoing systemic hypothermia treatment. *Acta paediatrica* **99**, 531-536 (2010).
67. Babcock, D.S. & Ball, W., Jr. Postasphyxial encephalopathy in full-term infants: ultrasound diagnosis. *Radiology* **148**, 417-423 (1983).

68. Adsett, D.B., Fitz, C.R. & Hill, A. Hypoxic-ischaemic cerebral injury in the term newborn: correlation of CT findings with neurological outcome. *Developmental medicine and child neurology* **27**, 155-160 (1985).
69. Miller, S.P., *et al.* Patterns of brain injury in term neonatal encephalopathy. *The Journal of pediatrics* **146**, 453-460 (2005).
70. Bayley, N. Bayley Scales of Infant Development 2nd revision. *San Antonio: Psychological Corporation* (1993.).
71. Tusor, N., *et al.* Prediction of neurodevelopmental outcome after hypoxic-ischemic encephalopathy treated with hypothermia by diffusion tensor imaging analyzed using tract-based spatial statistics. *Pediatric research* **72**, 63-69 (2012).
72. Counsell, S.J., *et al.* Axial and radial diffusivity in preterm infants who have diffuse white matter changes on magnetic resonance imaging at term-equivalent age. *Pediatrics* **117**, 376-386 (2006).
73. Counsell, S.J., Tranter, S.L. & Rutherford, M.A. Magnetic resonance imaging of brain injury in the high-risk term infant. *Seminars in perinatology* **34**, 67-78 (2010).
74. Cheong, J.L., *et al.* Proton MR spectroscopy in neonates with perinatal cerebral hypoxic-ischemic injury: metabolite peak-area ratios, relaxation times, and absolute concentrations. *AJNR. American journal of neuroradiology* **27**, 1546-1554 (2006).
75. Haddad, J., Constantinesco, A., Brunot, B. & Messer, J. A study of cerebral perfusion using single photon emission computed tomography in neonates with brain lesions. *Acta Paediatr* **83**, 265-269 (1994).
76. Volpe, J.J., Herscovitch, P., Perlman, J.M., Kreusser, K.L. & Raichle, M.E. Positron emission tomography in the asphyxiated term newborn: parasagittal impairment of cerebral blood flow. *Annals of neurology* **17**, 287-296 (1985).
77. Nicklin, S.E., Hassan, I.A., Wickramasinghe, Y.A. & Spencer, S.A. The light still shines, but not that brightly? The current status of perinatal near infrared spectroscopy. *Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition* **88**, F263-268 (2003).
78. Azzopardi, D.V., *et al.* Moderate hypothermia to treat perinatal asphyxial encephalopathy. *The New England journal of medicine* **361**, 1349-1358 (2009).
79. Azzopardi, D., *et al.* The TOBY Study. Whole body hypothermia for the treatment of perinatal asphyxial encephalopathy: a randomised controlled trial. *BMC pediatrics* **8**, 17 (2008).

80. Ricci, D., *et al.* Sequential neurological examinations in infants with neonatal encephalopathy and low apgar scores: relationship with brain MRI. *Neuropediatrics* **37**, 148-153 (2006).
81. Robertson, C.M., Morrish, D.W., Wheler, G.H. & Grace, M.G. Neonatal encephalopathy: an indicator of early sexual maturation in girls. *Pediatric neurology* **6**, 102-108 (1990).
82. Maller, A.I., Hankins, L.L., Yeakley, J.W. & Butler, I.J. Rolandic type cerebral palsy in children as a pattern of hypoxic-ischemic injury in the full-term neonate. *Journal of child neurology* **13**, 313-321 (1998).
83. Lou, H.C. Etiology and pathogenesis of attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD): significance of prematurity and perinatal hypoxic-haemodynamic encephalopathy. *Acta Paediatr* **85**, 1266-1271 (1996).
84. Sugama, S., Ariga, M., Hoashi, E. & Eto, Y. Brainstem cranial-nerve lesions in an infant with hypoxic cerebral injury. *Pediatric neurology* **29**, 256-259 (2003).
85. Sarnat, H.B. Watershed infarcts in the fetal and neonatal brainstem. An aetiology of central hypoventilation, dysphagia, Moibius syndrome and micrognathia. *European journal of paediatric neurology : EJPN : official journal of the European Paediatric Neurology Society* **8**, 71-87 (2004).
86. Nelson, K.B. & Ellenberg, J.H. Apgar scores as predictors of chronic neurologic disability. *Pediatrics* **68**, 36-44 (1981).
87. Shah, P.S., Beyene, J., To, T., Ohlsson, A. & Perlman, M. Postasphyxial hypoxic-ischemic encephalopathy in neonates: outcome prediction rule within 4 hours of birth. *Archives of pediatrics & adolescent medicine* **160**, 729-736 (2006).
88. Dixon, G., *et al.* Early developmental outcomes after newborn encephalopathy. *Pediatrics* **109**, 26-33 (2002).
89. Perlman, M. & Shah, P.S. Hypoxic-ischemic encephalopathy: challenges in outcome and prediction. *The Journal of pediatrics* **158**, e51-54 (2011).
90. Piazza, A.J. Postasphyxial management of the newborn. *Clinics in perinatology* **26**, 749-765, ix (1999).
91. Hay, W.W., Jr., Thilo, E. & Curlander, J.B. Pulse oximetry in neonatal medicine. *Clinics in perinatology* **18**, 441-472 (1991).
92. Klinger, G., Beyene, J., Shah, P. & Perlman, M. Do hyperoxaemia and hypocapnia add to the risk of brain injury after intrapartum asphyxia? *Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition* **90**, F49-52 (2005).

93. Zubarioglu, U., Uslu, S., Can, E., Bulbul, A. & Nuhoglu, A. Oxygen saturation levels during the first minutes of life in healthy term neonates. *The Tohoku journal of experimental medicine* **224**, 273-279 (2011).
94. Lucey, J.F. & Dangman, B. A reexamination of the role of oxygen in retroental fibroplasia. *Pediatrics* **73**, 82-96 (1984).
95. Harach, T. Room Air Resuscitation and Targeted Oxygenation for Infants at Birth in the Delivery Room. *Journal of obstetric, gynecologic, and neonatal nursing : JOGNN / NAACOG* (2013).
96. Kaiser, J.R., Gauss, C.H. & Williams, D.K. The effects of hypercapnia on cerebral autoregulation in ventilated very low birth weight infants. *Pediatric research* **58**, 931-935 (2005).
97. Young, R.S. & Yagel, S.K. Cerebral physiological and metabolic effects of hyperventilation in the neonatal dog. *Annals of neurology* **16**, 337-342 (1984).
98. Vannucci, R.C., Towfighi, J., Heitjan, D.F. & Brucklacher, R.M. Carbon dioxide protects the perinatal brain from hypoxic-ischemic damage: an experimental study in the immature rat. *Pediatrics* **95**, 868-874 (1995).
99. Watkins, A.M., West, C.R. & Cooke, R.W. Blood pressure and cerebral haemorrhage and ischaemia in very low birthweight infants. *Early human development* **19**, 103-110 (1989).
100. Lees, M.H. Perinatal asphyxia and the myocardium. *The Journal of pediatrics* **96**, 675-678 (1980).
101. Pladys, P., *et al.* Patent ductus arteriosus and cystic periventricular leucomalacia in preterm infants. *Acta Paediatr* **90**, 309-315 (2001).
102. Maródi, L. *Gyermekgyógyászat. Medicina* (2013).
103. Davis, L.M., Pauly, J.R., Readnower, R.D., Rho, J.M. & Sullivan, P.G. Fasting is neuroprotective following traumatic brain injury. *Journal of neuroscience research* **86**, 1812-1822 (2008).
104. Nadeem, M., Murray, D.M., Boylan, G.B., Dempsey, E.M. & Ryan, C.A. Early blood glucose profile and neurodevelopmental outcome at two years in neonatal hypoxic-ischaemic encephalopathy. *BMC pediatrics* **11**, 10 (2011).
105. Miller, S.P., *et al.* Seizure-associated brain injury in term newborns with perinatal asphyxia. *Neurology* **58**, 542-548 (2002).
106. van Rooij, L.G., van den Broek, M.P., Rademaker, C.M. & de Vries, L.S. Clinical management of seizures in newborns : diagnosis and treatment. *Paediatric drugs* **15**, 9-18 (2013).

107. Helmy, M.M., Tolner, E.A., Vanhatalo, S., Voipio, J. & Kaila, K. Brain alkalosis causes birth asphyxia seizures, suggesting therapeutic strategy. *Annals of neurology* **69**, 493-500 (2011).
108. Wyatt, J.S. & Thoresen, M. Hypothermia treatment and the newborn. *Pediatrics* **100**, 1028-1030 (1997).
109. Westin, B., Miller, J.A., Jr., Nyberg, R. & Wedenberg, E. Neonatal asphyxia pallida treated with hypothermia alone or with hypothermia and transfusion of oxygenated blood. *Surgery* **45**, 868-879 (1959).
110. Westin, B. Infant resuscitation and prevention of mental retardation. *American journal of obstetrics and gynecology* **110**, 1134-1138 (1971).
111. Miller, J.A., Jr., Miller, F.S. & Westin, B. Hypothermia in the Treatment of Asphyxia Neonatorum. *Biologia neonatorum. Neo-natal studies* **6**, 148-163 (1964).
112. Silverman, W.A., Fertig, J.W. & Berger, A.P. The influence of the thermal environment upon the survival of newly born premature infants. *Pediatrics* **22**, 876-886 (1958).
113. Busto, R., *et al.* Small differences in intranscemic 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* **7**, 729-738 (1987).
114. Grether, J.K. & Nelson, K.B. Maternal infection and cerebral palsy in infants of normal birth weight. *JAMA : the journal of the American Medical Association* **278**, 207-211 (1997).
115. Thoresen, M. & Wyatt, J. Keeping a cool head, post-hypoxic hypothermia--an old idea revisited. *Acta paediatrica* **86**, 1029-1033 (1997).
116. Gunn, A.J. Cerebral hypothermia for prevention of brain injury following perinatal asphyxia. *Current opinion in pediatrics* **12**, 111-115 (2000).
117. Wyatt, J.S. & Robertson, N.J. Time for a cool head-neuroprotection becomes a reality. *Early human development* **81**, 5-11 (2005).
118. Battin, M.R., Penrice, J., Gunn, T.R. & Gunn, A.J. Treatment of term infants with head cooling and mild systemic hypothermia (35.0 degrees C and 34.5 degrees C) after perinatal asphyxia. *Pediatrics* **111**, 244-251 (2003).
119. Gluckman, P.D., *et al.* Selective head cooling with mild systemic hypothermia after neonatal encephalopathy: multicentre randomised trial. *Lancet* **365**, 663-670 (2005).

120. Iwata, O., *et al.* Brain temperature in newborn piglets under selective head cooling with minimal systemic hypothermia. *Pediatrics international : official journal of the Japan Pediatric Society* **45**, 163-168 (2003).
121. Elliott, R.I. & Mann, T.P. Neonatal cold injury due to accidental exposure to cold. *Lancet* **272**, 229-234 (1957).
122. Azzopardi, D., *et al.* Pilot study of treatment with whole body hypothermia for neonatal encephalopathy. *Pediatrics* **106**, 684-694 (2000).
123. Compagnoni, G., *et al.* Safety of deep hypothermia in treating neonatal asphyxia. *Neonatology* **93**, 230-235 (2008).
124. Eicher, D.J., *et al.* Moderate hypothermia in neonatal encephalopathy: safety outcomes. *Pediatric neurology* **32**, 18-24 (2005).
125. Shankaran, S., *et al.* Whole-body hypothermia for neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy. *The New England journal of medicine* **353**, 1574-1584 (2005).
126. Hoque, N., Chakkarapani, E., Liu, X. & Thoresen, M. A comparison of cooling methods used in therapeutic hypothermia for perinatal asphyxia. *Pediatrics* **126**, e124-130 (2010).
127. Thoresen, M. Hypothermia after perinatal asphyxia: selection for treatment and cooling protocol. *The Journal of pediatrics* **158**, e45-49 (2011).
128. Gancia, P. & Pomero, G. Brain cooling and eligible newborns: should we extend the indications? *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* **24 Suppl 1**, 53-55 (2011).
129. Kelen, D. & Robertson, N.J. Experimental treatments for hypoxic ischaemic encephalopathy. *Early human development* **86**, 369-377 (2010).
130. Cullen, S.C. & Gross, E.G. The anesthetic properties of xenon in animals and human beings, with additional observations on krypton. *Science* **113**, 580-582 (1951).
131. Franks, N.P., Dickinson, R., de Sousa, S.L., Hall, A.C. & Lieb, W.R. How does xenon produce anaesthesia? *Nature* **396**, 324 (1998).
132. Ma, D., *et al.* Xenon and hypothermia combine to provide neuroprotection from neonatal asphyxia. *Annals of neurology* **58**, 182-193 (2005).

133. Dingley, J., Tooley, J., Porter, H. & Thoresen, M. Xenon provides short-term neuroprotection in neonatal rats when administered after hypoxia-ischemia. *Stroke; a journal of cerebral circulation* **37**, 501-506 (2006).
134. Thoresen, M., Hobbs, C.E., Wood, T., Chakkarapani, E. & Dingley, J. Cooling combined with immediate or delayed xenon inhalation provides equivalent long-term neuroprotection after neonatal hypoxia-ischemia. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* **29**, 707-714 (2009).
135. Faulkner, S., *et al.* Xenon augmented hypothermia reduces early lactate/N-acetylaspartate and cell death in perinatal asphyxia. *Annals of neurology* **70**, 133-150 (2011).
136. Jawad, N., *et al.* Neuroprotection (and lack of neuroprotection) afforded by a series of noble gases in an in vitro model of neuronal injury. *Neuroscience letters* **460**, 232-236 (2009).
137. Gitto, E., Pellegrino, S., Gitto, P., Barberi, I. & Reiter, R.J. Oxidative stress of the newborn in the pre- and postnatal period and the clinical utility of melatonin. *Journal of pineal research* **46**, 128-139 (2009).
138. Pei, Z., Pang, S.F. & Cheung, R.T. Administration of melatonin after onset of ischemia reduces the volume of cerebral infarction in a rat middle cerebral artery occlusion stroke model. *Stroke; a journal of cerebral circulation* **34**, 770-775 (2003).
139. Husson, I., *et al.* Melatonergic neuroprotection of the murine periventricular white matter against neonatal excitotoxic challenge. *Annals of neurology* **51**, 82-92 (2002).
140. Robertson, N.J., *et al.* Melatonin augments hypothermic neuroprotection in a perinatal asphyxia model. *Brain : a journal of neurology* **136**, 90-105 (2013).
141. Miller, S.L., Yan, E.B., Castillo-Melendez, M., Jenkin, G. & Walker, D.W. Melatonin provides neuroprotection in the late-gestation fetal sheep brain in response to umbilical cord occlusion. *Developmental neuroscience* **27**, 200-210 (2005).
142. Lin, H.W. & Lee, E.J. Effects of melatonin in experimental stroke models in acute, sub-acute, and chronic stages. *Neuropsychiatric disease and treatment* **5**, 157-162 (2009).
143. Okatani, Y., *et al.* Maternal-fetal transfer of melatonin in pregnant women near term. *Journal of pineal research* **25**, 129-134 (1998).

144. Maiese, K., Li, F. & Chong, Z.Z. New avenues of exploration for erythropoietin. *JAMA : the journal of the American Medical Association* **293**, 90-95 (2005).
145. Ohls, R.K., *et al.* Neurodevelopmental outcome and growth at 18 to 22 months' corrected age in extremely low birth weight infants treated with early erythropoietin and iron. *Pediatrics* **114**, 1287-1291 (2004).
146. Juul, S.E., *et al.* Erythropoietin concentrations in cerebrospinal fluid of nonhuman primates and fetal sheep following high-dose recombinant erythropoietin. *Biology of the neonate* **85**, 138-144 (2004).
147. Zhu, C., *et al.* Erythropoietin improved neurologic outcomes in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics* **124**, e218-226 (2009).
148. Wu, Y.W., *et al.* Erythropoietin for neuroprotection in neonatal encephalopathy: safety and pharmacokinetics. *Pediatrics* **130**, 683-691 (2012).
149. Murry, C.E., Jennings, R.B. & Reimer, K.A. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* **74**, 1124-1136 (1986).
150. Yellon, D.M. & Downey, J.M. Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. *Physiological reviews* **83**, 1113-1151 (2003).
151. Pignataro, G., *et al.* In vivo and in vitro characterization of a novel neuroprotective strategy for stroke: ischemic postconditioning. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* **28**, 232-241 (2008).
152. Cohen, M.V., Yang, X.M. & Downey, J.M. The pH hypothesis of postconditioning: staccato reperfusion reintroduces oxygen and perpetuates myocardial acidosis. *Circulation* **115**, 1895-1903 (2007).
153. Ren, C., *et al.* Delayed postconditioning protects against focal ischemic brain injury in rats. *PloS one* **3**, e3851 (2008).
154. Ren, C., Gao, X., Steinberg, G.K. & Zhao, H. Limb remote-preconditioning protects against focal ischemia in rats and contradicts the dogma of therapeutic time windows for preconditioning. *Neuroscience* **151**, 1099-1103 (2008).
155. Pimentel-Coelho, P.M., *et al.* Human cord blood transplantation in a neonatal rat model of hypoxic-ischemic brain damage: functional outcome related to neuroprotection in the striatum. *Stem cells and development* **19**, 351-358 (2010).
156. Xia, G., *et al.* Intracerebral transplantation of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord blood alleviates hypoxic ischemic brain injury in rat neonates. *Journal of perinatal medicine* **38**, 215-221 (2010).

157. Yasuhara, T., *et al.* Mannitol facilitates neurotrophic factor up-regulation and behavioural recovery in neonatal hypoxic-ischaemic rats with human umbilical cord blood grafts. *Journal of cellular and molecular medicine* **14**, 914-921 (2010).
158. de Paula, S., *et al.* Hemispheric brain injury and behavioral deficits induced by severe neonatal hypoxia-ischemia in rats are not attenuated by intravenous administration of human umbilical cord blood cells. *Pediatric research* **65**, 631-635 (2009).
159. Carroll, J.E. & Mays, R.W. Update on stem cell therapy for cerebral palsy. *Expert opinion on biological therapy* **11**, 463-471 (2011).
160. Vendrame, M., *et al.* Anti-inflammatory effects of human cord blood cells in a rat model of stroke. *Stem cells and development* **14**, 595-604 (2005).
161. Zhang, P., Li, J., Liu, Y., Chen, X. & Kang, Q. Transplanted human embryonic neural stem cells survive, migrate, differentiate and increase endogenous nestin expression in adult rat cortical peri-infarction zone. *Neuropathology : official journal of the Japanese Society of Neuropathology* **29**, 410-421 (2009).
162. Sun, J., *et al.* Differences in quality between privately and publicly banked umbilical cord blood units: a pilot study of autologous cord blood infusion in children with acquired neurologic disorders. *Transfusion* **50**, 1980-1987 (2010).
163. Carroll, J. Human cord blood for the hypoxic-ischemic neonate. *Pediatric research* **71**, 459-463 (2012).
164. Robertson, N.J., *et al.* Which neuroprotective agents are ready for bench to bedside translation in the newborn infant? *The Journal of pediatrics* **160**, 544-552 e544 (2012).
165. Vasquez-Vivar, J., *et al.* Tetrahydrobiopterin in the prevention of hypertonia in hypoxic fetal brain. *Annals of neurology* **66**, 323-331 (2009).
166. Colbourne, F. & Corbett, D. Delayed postischemic hypothermia: a six month survival study using behavioral and histological assessments of neuroprotection. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **15**, 7250-7260 (1995).
167. Gunn, A.J. & Gunn, T.R. The 'pharmacology' of neuronal rescue with cerebral hypothermia. *Early human development* **53**, 19-35 (1998).
168. Iwata, O., *et al.* Depth of delayed cooling alters neuroprotection pattern after hypoxia-ischemia. *Annals of neurology* **58**, 75-87 (2005).

169. Steen, P.A., Soule, E.H. & Michenfelder, J.D. Deterimental effect of prolonged hypothermia in cats and monkeys with and without regional cerebral ischemia. *Stroke; a journal of cerebral circulation* **10**, 522-529 (1979).
170. Schubert, A. Side effects of mild hypothermia. *Journal of neurosurgical anesthesiology* **7**, 139-147 (1995).
171. Shah, P.S. Hypothermia: a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Seminars in fetal & neonatal medicine* **15**, 238-246 (2010).
172. Fairchild, K., Sokora, D., Scott, J. & Zanelli, S. Therapeutic hypothermia on neonatal transport: 4-year experience in a single NICU. *Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association* **30**, 324-329 (2010).
173. Kerenyi, A., *et al.* Systemic effects of whole-body cooling to 35 degrees C, 33.5 degrees C, and 30 degrees C in a piglet model of perinatal asphyxia: implications for therapeutic hypothermia. *Pediatric research* **71**, 573-582 (2012).
174. Sahuquillo, J. & Vilalta, A. Cooling the injured brain: how does moderate hypothermia influence the pathophysiology of traumatic brain injury. *Current pharmaceutical design* **13**, 2310-2322 (2007).
175. Steen, P.A., Milde, J.H. & Michenfelder, J.D. The detrimental effects of prolonged hypothermia and rewarming in the dog. *Anesthesiology* **52**, 224-230 (1980).
176. Groban, L., Zapata-Sudo, G., Lin, M. & Nelson, T.E. Effects of moderate and deep hypothermia on Ca²⁺ signaling in rat ventricular myocytes. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology* **12**, 101-110 (2002).
177. Jacobs, S., Hunt, R., Tarnow-Mordi, W., Inder, T. & Davis, P. Cooling for newborns with hypoxic ischaemic encephalopathy. *Cochrane Database Syst Rev*, CD003311 (2007).
178. Robertson, N.J., *et al.* Cerebral intracellular lactic alkalosis persisting months after neonatal encephalopathy measured by magnetic resonance spectroscopy. *Pediatric research* **46**, 287-296 (1999).
179. Helmy, M.M., *et al.* Acid extrusion via blood-brain barrier causes brain alkalosis and seizures after neonatal asphyxia. *Brain : a journal of neurology* **135**, 3311-3319 (2012).

180. Kendall, G.S., Robertson, N.J., Iwata, O., Peebles, D. & Raivich, G. N-methyl-isobutyl-amiloride ameliorates brain injury when commenced before hypoxia ischemia in neonatal mice. *Pediatric research* **59**, 227-231 (2006).
181. Swenson, E.R. Metabolic acidosis. *Respiratory care* **46**, 342-353 (2001).
182. Schuchmann, S., Vanhatalo, S. & Kaila, K. Neurobiological and physiological mechanisms of fever-related epileptiform syndromes. *Brain & development* **31**, 378-382 (2009).
183. Vornov, J.J., Thomas, A.G. & Jo, D. Protective effects of extracellular acidosis and blockade of sodium/hydrogen ion exchange during recovery from metabolic inhibition in neuronal tissue culture. *Journal of neurochemistry* **67**, 2379-2389 (1996).
184. Vannucci, R.C., Brucklacher, R.M. & Vannucci, S.J. Effect of carbon dioxide on cerebral metabolism during hypoxia-ischemia in the immature rat. *Pediatric research* **42**, 24-29 (1997).
185. Kohzuki, M., *et al.* Long-term neuroprotective effects of carbon dioxide on neonatal rat hypoxic-ischemic brain injury: an experimental study of skilled motor tasks. *American journal of obstetrics and gynecology* **195**, 240-245 (2006).
186. Abu Romeh, S. & Tannen, R.L. Amelioration of hypoxia-induced lactic acidosis by superimposed hypercapnea or hydrochloric acid infusion. *The American journal of physiology* **250**, F702-709 (1986).
187. Rice, J.E., 3rd, Vannucci, R.C. & Brierley, J.B. The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain damage in the rat. *Annals of neurology* **9**, 131-141 (1981).
188. Vannucci, R.C., *et al.* Rat model of perinatal hypoxic-ischemic brain damage. *Journal of neuroscience research* **55**, 158-163 (1999).

Saját publikációk jegyzéke

- 1 Kerényi, A., *et al.* Systemic effects of whole-body cooling to 35 degrees C, 33.5 degrees C, and 30 degrees C in a piglet model of perinatal asphyxia: implications for therapeutic hypothermia. *Pediatric research* **71**, 573-582 (2012).
- 2 Olson, L., Faulkner, S., Lundströmer, K., Kerényi, A., Kelen, D., Chandrasekaran, M., Ádén, U., Olson, L., Golay, X., Lagercrantz, H., Robertson, N.J., Galter, D. Comparison of Three Hypothermic Target Temperatures for the Treatment of Hypoxic Ischemia: mRNA Level Responses of Eight Genes in the Piglet Brain. *Translational Stroke Research*, 1-10 (2012).

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Szabó Miklósnak a kitartó és széleskörű támogatásért. Szintén szeretnék köszönetet mondani Dr. Kelen Dorottyanak, akivel a kísérletes munka nagy részét együtt végeztük. Szeretném megköszönni továbbá Dr. Nicola J. Robertsonnak és kutatócsoportjának az időt, amit ott tölthettem. Szintén szeretném megköszönni Dr. Fekete Andreának a jövőbeli terveinkkel kapcsolatos támogatását. Végül pedig szeretnék köszönetet mondani Dr. Lázár Enikőnek, aki nélkül ez a dolgozat nem jöhetett volna létre.

A kutatás a TÁMOP 4.2.4.A/1-11-1-2012-0001 azonosító számú „Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése országos program” című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.