

# Erythropoietin의 투여가 신생백서 저산소허혈뇌손상에 미치는 영향

경북대학교 의과대학 소아과학교실, 병리학교실\*

김행미 · 최병호 · 권순학 · 손윤경\*

= Abstract =

## The effect of erythropoietin in neonatal rat model of hypoxic-ischemic brain injury

Heng-Mi Kim, M.D., Byung-Ho Choe, M.D., Soon-Hak Kwon, M.D. and Yoon-Kyung Sohn, M.D.\*

Department of Pediatrics, Department of Pathology\*, College of Medicine, Kyungpook National University, Daegu, Korea

**Purpose :** Perinatal asphyxia is an important cause of neonatal mortality and subsequent lifelong neurodevelopmental handicaps. Although many treatment strategies have been tested, there is currently no clinically effective treatment to prevent or reduce the harmful effects of hypoxia and ischemia in humans. Erythropoietin (Epo) has been shown to exert neuroprotective effects in various brain injury models although the exact mechanisms through which Epo functions are not completely understood. This study investigates the effect of Epo on hypoxic-ischemic (HI) brain injury and the possibility that its neuroprotective actions may be associated with iron-mediated metabolism.

**Methods :** HI brain injury was produced in 7-day-old rats by unilateral carotid artery ligation followed by hypoxia with 8% oxygen for 2 h. At the end of HI brain injury, the rats received an intraperitoneal injection of 5,000 units/kg erythropoietin. Random premedication with iron, deferoxamine, iron-deferoxamine, or saline were performed 23 d before HI brain injury. The severity of the brain injury was assessed at 7 d after HI.

**Results :** Single Epo treatment post-HI brain injury reduced the gross and histopathological findings of brain injury. Iron premedication did not increase the incidence or severity of the injury as measured by the damage score. Deferoxamine administration before HI brain injury improved the brain injury as compared to no treatment or Epo treatment.

**Conclusion :** These findings indicate that Epo provides neuroprotective benefits after HI in the developing brain. These findings suggest that Epos neuroprotective actions may involve reducing iron in tissues that mediate the formation of free radicals. (Korean J Pediatr 2009;52:105-110)

**Key Words :** Hypoxia, Ischemia, Brain, Erythropoietin, Deferoxamine, Iron

### 서 론

주산기 질식은 신생아 사망과 뇌성마비, 신경눅됨, 학습장애 및 경련 등 장기적 신경발달 장애의 중요한 원인이다. 최근 질식에 의한 저산소 허혈성 뇌손상이 일어나는 기전에 대한 지식과 이해가 현저히 진전되었음에도 불구하고 임상에 적용할 치료법은 현재까지 개발되지 못하고 있는 실정이다.

저산소 허혈에 의한 뇌손상에 관여하는 glutamate, 산화질소(nitric oxide)의 신경 독성, 자유 라디칼 형성, 칼슘 축적, 면역/염증 활성화는 산소와 혈류가 재공급된 후에도 지속적으로 뇌손

상을 일으킨다. 따라서 이 기간 동안 손상의 하나 혹은 여러 과정을 억제하는 약제는 저산소 허혈 뇌손상의 경감 혹은 예방 효과를 가질 것으로 기대된다<sup>1)</sup>. Erythropoietin (Epo)은 콩팥에서 형성되는 cytokine으로 적혈구 생성을 자극하는 기능 외에 중추 신경계에서의 신경 보호기능과 신경발달에 대한 영향이 알려지고 있으나<sup>2-4)</sup> 그 작용 기전은 명확하게 밝혀져 있지 않으며 신생 동물에서의 연구 역시 부족한 실정이다<sup>5, 6)</sup>.

철은 세포 손상의 주된 증개자 역할을 한다. 질식과 산혈증 상태에서 세포내 단백 비결합 철은 혈청내로 방출되며 관류가 재기 되어 자유 라디칼이 생성되는 상황에서 촉매로 작용하여 강력한 활성화 산소를 만들어 저산소 허혈 손상을 증가시킨다<sup>7)</sup>. Epo 투여는 철 요구량을 증가시켜 조직 내 철을 감소시키므로<sup>8)</sup> Epo의 신경 보호 기전에 철 대사가 관여할 가능성이 있으나 이에 대한 조사는 없다.

이에 저자들은 신생 동물의 저산소 허혈 뇌손상에서 Epo의 신경 보호 효과를 가지며 신경 보호 기전에 철 대사가 관여한다

Received : 29 July 2008, Revised : 3 September 2008,

Accepted : 5 September 2008

Address for correspondence : Heng-Mi Kim, M.D.

Department of Pediatrics, College of Medicine, Kyungpook National University, 50, Samduk 2-ga, jung-gu, Daegu 700-721, Korea

Tel : +82.53-420-5714, Fax : +82.53-425-6683

E-mail : hmkim@knu.ac.kr

는 가설을 세우고 이를 증명하기 위해 신생 백서의 저산소 허혈 뇌손상 모형을 사용해 이 연구를 시행하였다.

### 대상 및 방법

실험동물은 7마리의 Sprague-Dawley종 백서 어미에서 태어난 73마리의 신생 백서를 사용하였다. 신생 백서는 생후 4-5일에 무작위로 철, deferoxamine, 철과 deferoxamine 혹은 생리 식염수를 복강내 투여하였고 생후 7일에 편측 온목동맥(carotid artery) 결찰 후 산소농도 8%에 2시간 노출시켜 저산소 허혈 모형을 만들었다. 백서는 허혈 유도전 투여 약제에 따라 Epo군(유도 전 생리식염수, 유도 후 Epo 투여), Iron+Epo군(유도 전 철, 유도 후 Epo 투여), Def+Epo군(유도 전 Deferoxamine, 유도 후 Epo 투여), Iron+Def+Epo군(유도 전 철과 Deferoxamine, 유도 후 Epo 투여)과 대조군(유도 전후 생리식염수 투여)을 만들었다. Epo는 recombinant human erythropoietin (Recomon, Roche사, 스위스)을 체중 kg 당 5,000 IU, 철은 Iron dextran (Cosmo-Fer<sup>®</sup> Nebo A/S사, 덴마크) 100 mg/kg, deferoxamine은 deferoxamine mesylate (Desferal Inj<sup>®</sup>, 한국 노바티스, 한국) 500 mg/kg를 복강내 투여하였고 대조군은 Epo 투여와 동일한 방법으로 동량의 생리식염수를 투여하였다. 투여군과 대조군 모두 이후 어미와 함께 양육하였으며 저산소 허혈 유발 7일째인 생후 14일에 뇌를 적출하여 hematoxylin-eosin 염색을 하여 광학현미경으로 관찰하였다.

뇌손상 정도는 Cataltepe 등<sup>9)</sup>의 방법으로 전교련(anterior commissure) 부위와 infundibulum 부위를 선택하여 전방 대뇌 피질, 후방 대뇌피질, 해마의 CA1, CA2, CA3, CA4, 치아막(fascia dentata), 줄무늬체(striatum) 및 시상을 점수화하여 손상 정도를 판독하고 이들 점수의 합을 총 손상점수로 하였다. 점수화 방법은 관찰 부위의 신경세포가 정상인 경우=0점; 신경세포 손상이 1-5%=1점; 6-25%=2점; 26-50%=3점; 51-75%=4점; 75% 이상=5점으로 하였다. 또한 손상 점수의 총점으로 15점 이하는 경증, 16-30점은 중등도, 31-45점을 중증 손상으로 판독하였다. 각군의 손상 정도는 SPSS 10.0을 사용해 각각 공분산분석(ANCOVA)과 Mann-Whitney 검정을 시행하였다.

### 결 과

73마리의 신생 백서 중 Epo군, Iron+Epo군, Def+Epo군 그리고 Iron+Def+Epo 투여군은 각각 34, 13, 10 그리고 6마리였으며 대조군은 10마리였다.

#### 1. 육안적 뇌손상

적출한 뇌 조직의 육안 관찰상 온목동맥 결찰 반대측 뇌반구는 전에서 정상소견을 보였다. 결찰 반대측 뇌는 경색이 일어난 경우 대뇌 반구의 부종과 뇌연화증 등이 관찰되었으며 뇌조직

의 상당부분이 없어진 경우도 있었다. 대뇌의 경색 양상은 Epo군 및 대조군, Epo군과 Iron+Epo군, Def+Epo군 사이에 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 이들 육안적 손상은 수적으로 Epo군 34마리 중 21마리(61.8%), Iron+Epo군 13마리 중 8마리(61.5%), Def+Epo군 10마리 중 5마리(50%) 그리고 Iron+Def+Epo군 6마리 중 2마리(33.3%)에서 관찰할 수 있었다. 반면 대조군은 10마리 중 8마리 (80%)에서 손상이 관찰되어 Epo 투여시 대조군에 비해 손상 빈도가 감소하는 양상을 보였다( $P<0.05$ ) (Fig. 1).

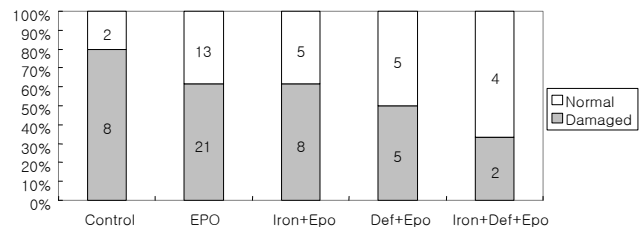
#### 2. 광학 현미경학적 뇌손상

Hematoxylin-eosin 염색 후 실물크기로 관찰하였을 때 경색 부위는 염색성이 현저하게 떨어졌으며 주위와의 경계가 비교적 명확하게 구별되었다. 투약군과 대조군 모두에서 온목동맥 결찰측의 대뇌 피질을 중심으로 경색이 관찰되었으며 결찰 반대측은 전에서 정상 소견을 보였다. 광범위한 괴사가 일어난 경색 주변부는 조직의 부종과 염증세포 침윤이 있었으며 신경세포의 허혈손상을 시사하는 red neuron도 다수 관찰되었다. 염증세포는 주로 호중구와 대식세포 등이었다(Fig. 2, 3).

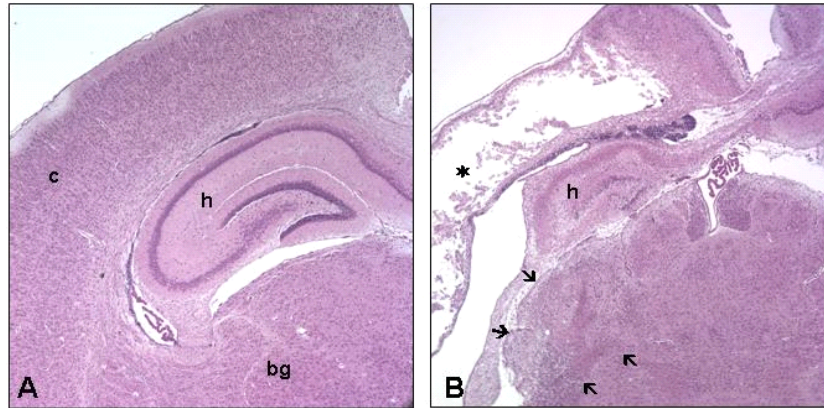
각 군의 총 손상 점수에 따라 경증, 중등도 및 중증으로 나누어 비교한 결과 대조군은 경증 1예(12.5%), 중등도 3예(37.5%) 및 중증 4예(50.0%)이며 Epo 투여군은 각각 9예(42.9%), 10예(47.6%) 및 중증 2예(9.5%)로서 Epo 투여시 대조군에 비해 중증 손상의 빈도가 감소하고 경증 손상이 증가하는 양상이 관찰되었다( $P<0.05$ ). 또한 철 투여에 의해 손상 정도가 증가하는 양상은 보이지 않았으나 Def+Epo군 및 Iron+Def+Epo군에서는 중증 손상이 관찰되지 않고 경증 손상이 증가하여 Def 투여시 Epo의 손상 경감 효과가 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 2, 3, 4).

전, 후 대뇌피질의 평균 손상점수, 해마 여러 부위의 평균 손상 점수, striatum 및 시상의 손상 점수 등 결찰 반대측 뇌 각 부위의 손상 점수를 관찰한 결과, 투약에 관계없이 각 부위에 손상이 고루 초래된 것을 알 수 있었다(Fig. 5).

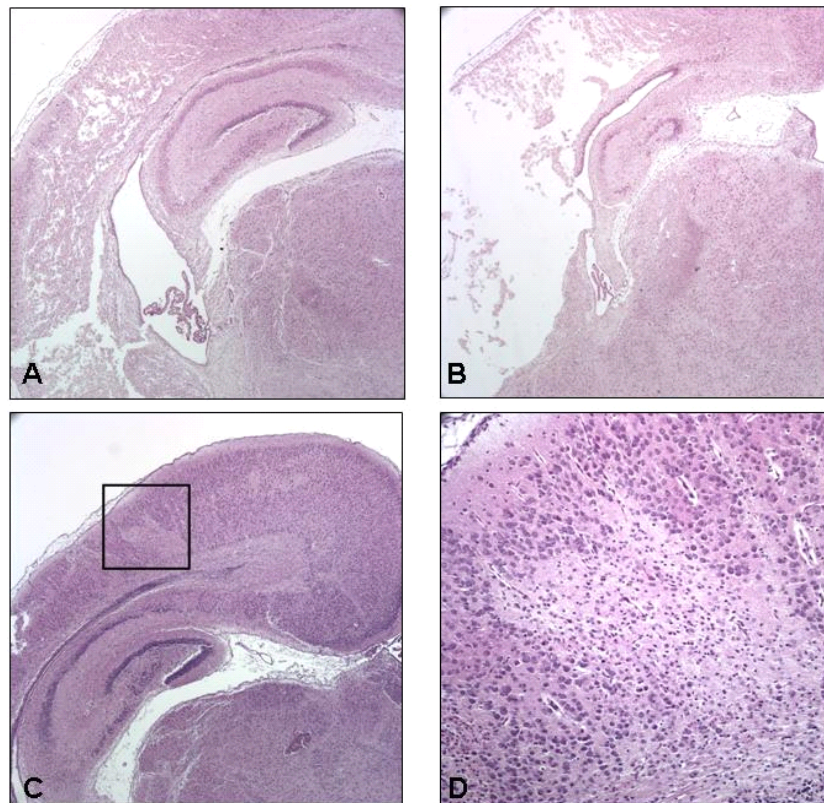
이들 각 부위의 손상 점수와 각군의 총 손상 점수는 통계상



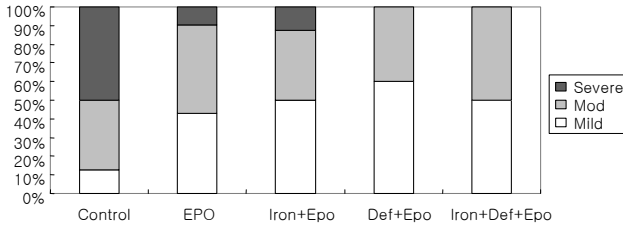
**Fig. 1.** Incidence of gross morphologic brain damage in rat pups subjected to hypoxic ischemia (HI) and treated with pre- and post-HI injection of Epo, iron and deferoxamine. Abbreviations: Control, pre-saline and post-saline injection; Epo, pre-saline and post-Epo injection; Iron+Epo, pre-iron and post-Epo injection; Def+Epo, pre-deferoxamine and post-Epo injection; Iron+Def+Epo, pre-iron and deferoxamine and post-Epo injection.



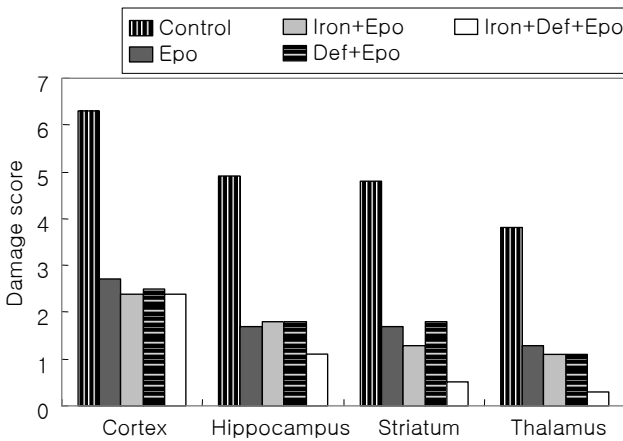
**Fig. 2.** (A) Normal neonatal rat brain. Cerebral cortex (c), hippocampus (h), and a part of basal ganglia (bg) is demonstrated. (B) Seven days after hypoxic-ischemic damage of the neonatal rat brain. Cystic degeneration of cortex (\*) and diffuse neuronal death in the hippocampus (h) and a part of basal ganglia (arrows) are observed (Hematoxylin & Eosin, 40 magnification).



**Fig. 3.** (A) Erythropoietin-treated neonatal rat brain after hypoxic-ischemic insult. Diffuse neuronal death with focal cystic degeneration of cerebral cortex is noted. Death of many pyramidal neurons is observed, but granular cells of dentate persist. (B) Iron-pretreated and erythropoietin-treated brains show cystic degeneration of cerebral cortex and profound loss of pyramidal neurons and granular cells in the hippocampus. (C) Deferoxamine-pretreated and erythropoietin-treated brains show focal neuronal death without prominent cystic degeneration of cerebral cortex. More than half of the pyramidal neurons and most of the granular cells are still alive. (D) Higher magnification of inset image of C. Geographic neuronal death (\*) is seen (Hematoxylin & Eosin, A,B,C:  $\times 40$ , D:  $\times 200$  magnification).



**Fig. 4.** Incidence and severity of brain damage in rat pups subjected to hypoxic ischemia (HI) and treated with pre- and post-HI injection of Epo, iron and deferoxamine. Bars represent percentage of animals exhibiting brain damage, ranging from mild to severe. Abbreviations: Control, pre-saline and post-saline injection; Epo, pre-saline and post-Epo injection; Iron+Epo, pre-iron and post-Epo injection; Def+Epo, pre-deferoxamine and post-Epo injection; Iron+Def+Epo, pre-iron and deferoxamine and post-Epo injection.



**Fig. 5.** Severity of brain damage in selected brain structures of rat pups subjected to hypoxic ischemia according to pre- and post-hypoxic ischemia.

유의한 차이를 보이지 않았으나 이는 조사 대상군의 개체수가 작았기 때문으로 생각된다.

## 고 찰

저산소 허혈 뇌 손상의 생화학적 연쇄 정폭 반응에는 흥분성 아미노산, 칼슘, 자유 라디칼, 산화질소(nitric oxide), proinflammatory cytokine 및 bioactive lipid 등이 관여하며 저산소 허혈 후 관류가 재개되면서 자유 라디칼 형성이 급증하여 산화 스트레스가 일어난다<sup>1, 10</sup>. 이러한 손상 과정 중 철은 중요한 중개자로서 산화 환원 과정에서 강력한 촉매작용(Fenton 반응)을 통해 수산화 라디칼 생성을 조장한다. 가사와 산혈증 환경에서는 세포내 단백질 비결합 철이 혈청으로 방출되므로 산화 환원에 더욱 관여하게 된다<sup>11</sup>. 분화하는 희소돌기아교세포(oligodendrocyte)가 자유 라디칼 손상에 취약한 것은 이 세포가 분화에 필요한 철을 다량 함유하고 있기 때문이며, 출혈이 동반된 백질연화증에서 후유증이 호발하는 것 역시 철 공급이 증가되기 때문이다<sup>10</sup>.

Erythropoietin (Epo)은 콩팥에서 생성되는 30.4-kD의 혈액 형성 성장인자로서 적혈구 생성을 조절하는 기능을 가진다. 재조합사람 Epo (recombinant human erythropoietin, rEpo)는 1985년부터 사용되기 시작하여 현재까지 만성 신부전, 암, 만성 염증성 질환 및 HIV 감염 등과 동반된 많은 빈혈 환자에게 사용되고 있으며<sup>2</sup> 신생아 영역에서는 미숙아 빈혈의 예방 목적으로 널리 사용되고 있다<sup>12</sup>. 최근 배양 신경세포에서 Epo 수용체(Epo receptor, EpoR)가 발현하고 별아교세포(astrocyte)에서 Epo 생성이 관찰되며 여러 동물의 중추신경계와 사람의 태아 뇌에서 Epo 및 EpoR이 발견됨으로써 Epo의 중추신경계 작용 기능이 알려지기 시작하였다<sup>2</sup>. Epo와 EpoR는 배아와 태아에게 광범위하게 분포하며 발생 중 일시적으로 성인 골수 수준으로 증가하여 출생 시 수준의 100배에 이르게 된다<sup>13</sup>. Epo knock out 쥐는 Epo 혹은 EpoR의 결손으로 인해 neuronal progenitor cell의 수와 신경발생(neurogenesis)이 감소하고, 신경세포 자멸사가 증가하며 낮은 산소 분압에의 감수성이 증가한다<sup>14</sup>.

시험관 실험과 생체내 실험에서 Epo 투여로 일어나는 신경 보호 작용과 긍정적 신경발달 영향이 관찰되기도 하나<sup>2, 5</sup> 이와 상반되게 효과가 없거나 병변이 악화하는 양상 역시 관찰되고 있다<sup>15-17</sup>. 따라서 Epo의 신경계 관련 효과는 그 효과의 검정 뿐 아니라 투여 방법 및 투여 용량 그리고 작용 기전에 대한 연구가 필요한 실정이다<sup>2</sup>. 이들 조사 중 손상 후에 투여한 경우에 있어서는 다수의 연구에서 구조적, 행동적 호전<sup>4, 18-19, 21</sup>을 보고하고 있으나 Wiessner 등<sup>16</sup>은 Epo에 의한 뇌경색의 악화를 보고하였고 Weber 등<sup>17</sup>은 Epo 단독 투여는 배양 신경세포의 생활력을 증가시키는 반면 저산소 환경에서 투여하는 경우 생활력 감소가 일어남을 보고하였다. 현재 신생 동물의 rEpo 투여 조사는 많지 않으며<sup>5, 6, 8, 20</sup> 철 대사 과정과 rEpo의 신경 보호 효과를 조사한 연구는 없다. 이에 저자들은 생체내 철 대사가 Epo의 신경 보호 작용에 관여한다는 가설을 설정하고 본 연구를 시행하였다.

본 연구에서 사용한 deferoxamine은 자유 철의 킬레이트(chelate) 제제로 철 촉매 자유 라디칼을 감소시켜 산소로 인한 기관 손상을 감소시키는 것으로 기대되고 있으나<sup>21, 22</sup> 동물 실험에서 관찰된 deferoxamine의 저산소 허혈 후 손상 예방 혹은 경감 효과는 일정하지 않다. 손상 후 호전을 보인 보고에서는 재판류 초기의 헤마, 시상, 시상하부 및 amygdala의 혈류 증가와 neurologic deficit score 호전<sup>23</sup>, 온목동맥 혈류와 대뇌 산소 대사의 유지<sup>24</sup>, 신생동물의 고산소 노출로 인한 폐 발달 손상의 호전<sup>25</sup> 소견이 관찰되었으나 효과를 보이지 않았다는 보고도 있다<sup>26</sup>.

본 조사에서 Epo 투여시 대조군에 비해 뇌손상의 빈도와 정도가 감소하나 철 투여에 의한 손상의 증가는 관찰되지 않았다. 반면 Epo와 deferoxamine 투여시에는 Epo 단독보다 손상의 빈도와 정도가 더 감소하였다. 이는 deferoxamine의 철 킬레이트 작용으로 Epo의 신경 보호 효과가 증가함으로써 Epo의 신경 보호 효과 기전에 철의 감소가 일부 관여하는 것으로 추정할 수 있다.

반면 본 연구에서는 iron dextran 투여군과 Epo 단독 투여군의 뇌손상 빈도와 정도에 차이를 보이지 않아 철 투여는 뇌손상을 증가시키지 않았다. 본 연구에서 사용한 철 투여 방법과 투여량은 통상적 미숙아 빈혈 예방 목적으로 rEpo 투여시 사용되는 철 투여량 보다 다량이며 다수의 철 독성 실험 연구에서 투여 효과가 입증된 방법이며 투여량이다. 그러나 Legssyer 등<sup>27)</sup>에 의하면 iron dextran, iron polymaltose, iron sucrose 및 iron gluconate 등의 철분 제제를 투여 후 뇌조직을 제외한 조직에서 모든 제제 투여 후 철 함량이 현저히 증가한 반면 뇌조직은 철 함량이 증가하지 않음을 보고한 바 있다. 본 조사에서 철이 뇌손상에 영향을 미치지 않은 것은 투여한 철이 뇌조직에 도달하지 못해 손상 기전에 관여하지 못한 것으로 추정되나 본 연구에서는 백서 뇌조직의 철 함량 변화를 측정 조사하지 못하였으므로 앞으로 이에 대한 조사가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

## 요 약

**목적 :** 신생 백서의 저산소 허혈 뇌손상에 있어서의 erythropoietin (Epo) 투여의 손상 예방 효과와 보호 기전에 철 대사가 관여하는지를 조사하고자 하였다.

**방법 :** 신생 백서를 암수 구별 없이 생후 7일째에 편측 온목 동맥 결찰 후 산소 농도 8%인 환경에 2시간 노출시켜 저산소 허혈을 유도하였으며 저산소 노출 직후 Epo 5,000 u/kg를 복강내 투여하였다. 이들은 저산소 허혈 유도 전 투여한 생리식염수, 철, deferoxamine 등에 따라 Epo군, Iron+Epo군, Def+Epo군, Iron+Def+Epo군, 대조군으로 나누어 저산소 허혈 유도 후 7일에 뇌손상 정도를 비교하였다.

**결과 :** Epo 투여시 뇌손상의 빈도와 정도는 대조군에 비해 감소하였다. 뇌손상의 빈도와 손상 점수로 뇌손상 정도를 비교한 결과 철 투여는 Epo의 뇌손상 예방 효과를 감소시키지 않았다. Deferoxamine 투여는 Epo 단독 투여군에 비해 뇌손상의 빈도와 정도가 경감하였으나 통계적 유의성은 없었다.

**결론 :** Epo는 저산소 허혈 뇌손상에 있어 뇌손상 보호 효과를 보인다. 철 투여는 뇌손상을 악화시키지 않았으나 deferoxamine 동시 투여는 Epo 단독 투여에 비해 뇌손상의 빈도와 손상 점수가 감소하여 뇌손상 보호 효과에 철 대사가 관여할 가능성을 제시하였다.

## References

- 1) Grow J, Barks J. Pathogenesis of hypoxic-ischemic cerebral injury in the term infant : current concepts. Clin Perinatol 2002;29:585-602.
- 2) Juul S. Recombinant erythropoietin as a neuroprotective treatment : in vitro and in vivo models. Clin Perinatol 2004; 31:129-42.
- 3) Alafaci C, Salpietro F, Grasso G, Sfacteria A, Passalacqua M, Morabito A, et al. Effect of recombinant human erythropoietin on cerebral ischemia following experimental subarachnoid hemorrhage. Eur J Pharmacol 2000;406:219-25.
- 4) Catania MA, Marciano MC, Parisi A, Sturiale A, Buemi M, Grasso G, et al. Erythropoietin prevents cognition impairment induced by transient brain ischemia in gerbils. Eur J Pharmacol 2002;437:147-50.
- 5) Akisu M, Tuzun S, Arslanoglu S, Yalaz M, Kultursay N. Effect of recombinant human erythropoietin administration on lipid peroxidation and antioxidant enzyme(s) activities in preterm infants. Acta Med Okayama 2001;55:357-62.
- 6) Aydin A, Genc Kurdad, Akhisaroglu M, Yorukoglu Kutsal, Gokmen Necati, Gonullu Erdem. Erythropoietin exerts neuroprotective effect in neonatal rat model of hypoxic-ischemic brain injury. Brain Dev 2003;27:494-8.
- 7) Buonocore G, Perrone S, Longini M, Paffetti P, Vezzosi P, Gatti MG, et al R. Non protein bound iron as early predictive marker of neonatal brain damage. Brain 2003;126:1224-30.
- 8) Kling PJ, Winzerling JJ. Iron status and the treatment of the anemia of prematurity. Clin Perinatol 2002;29:283-94.
- 9) Cataltepe O, Vannucci RC, Heitjan DF, Towfighi J. Effect of status epilepticus on hypoxic-ischemic brain damage in the immature rat. Pediatr Res 1995;38:251-7.
- 10) Buonocore G, Perrone S. Biomarkers of hypoxic brain injury in the neonate. Clin Perinatol 2004;31:107-16.
- 11) Heffner JE, Repine JE. Pulmonary strategies of antioxidant defense. Am Rev Respir Dis 1989;140:531-54.
- 12) Vamvakas EC, Strauss RG. Meta-analysis of controlled clinical trials studying the efficacy of rHuEPO in reducing blood transfusions in the anemia of prematurity. Transfusion 2001;41:406-15.
- 13) Juul SE, Yachnis AT, Christensen RD. Tissue distribution of erythropoietin and erythropoietin receptor in the developing human fetus. Early Hum Dev 1998;52:235-49.
- 14) Yu X, Shacka JJ, Eells JB, Suarez-Quian C, Przygodzki RM, Beleslin-Cokic B, et al. Erythropoietin receptor signalling is required for normal brain development. Development 2002; 129:505-16.
- 15) Romsis P, Ronka E, Kiviluoma K, Vainionpaa V, Hirvonen J, Mennander A, et al. Potential neuroprotective benefits of erythropoietin during experimental hypothermic circulatory arrest. J Thorac Cardiovasc Surg 2002;124:714-23.
- 16) Wiessner C, Allegrini PR, Ekatomdramis D, Jewell UR, Stallmach T, Gassmann M. Increased cerebral infarct volumes in polyglobulic mice overexpressing erythropoietin. J Cereb Blood Flow Metab 2001;21:857-64.
- 17) Weber A, Dzierko M, Berns M, Felderhoff-Mueser U, Heinemann U, Maier RF, et al. Neuronal damage after moderate hypoxia and erythropoietin. Neurobiol Dis 2005;20:594-600.
- 18) Siren AL, Fratelli M, Brines M, Goemans C, Casagrande S, Lewczuk P, et al. Erythropoietin prevents neuronal apoptosis after cerebral ischemia and metabolic stress. Proc Natl Acad Sci U S A 2001;98:4044-9.
- 19) Celik M, Gokmen N, Erbayraktar S, Akhisaroglu M, Konak S, Ulukus C, et al. Erythropoietin prevents motor neuron apoptosis and neurologic disability in experimental spinal cord ischemic injury. Proc Natl Acad Sci U S A 2002;99:

- 2258-63.
- 20) Spandou E, Papadopoulou Z, Soubasi V, Karkavelas G, Simeonidou C, Pazaiti A, et al. Erythropoietin prevents long-term sensorimotor deficits and brain injury following neonatal hypoxia-ischemia in rats. *Brain Res* 2005;1045:22-30.
  - 21) Barker DJ, Eriksson JG, Forsen T, Osmond C. Fetal origins of adult disease: strength of effects and biological basis. *Int J Epidemiol* 2002;31:1235-9.
  - 22) Saugstad OD. Bronchopulmonary dysplasia-oxidative stress and antioxidants. *Semin Neonatol* 2003;8:39-49.
  - 23) Liachenko S, Tang P, Xu Y. Deferoxamine Improves Early Postresuscitation Reperfusion After Prolonged Cardiac Arrest in Rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003;23:574-81.
  - 24) Shadid M, Moison R, Steendijk P, Hiltermann L, Berger HM, van Bel F. The effect of antioxidative combination therapy on post hypoxic-ischemic perfusion, metabolism, and electrical activity of the newborn brain. *Pediatr Res* 1998;44:119-24.
  - 25) Blanco LN, Frank L. The formation of alveoli in rat lung during the third and fourth postnatal weeks: effect of hyperoxia, dexamethasone, and deferoxamine. *Pediatr Res* 1993;34:334-40.
  - 26) Feng Y, LeBlanc MH, LeBlanc EB, Parker CC, Fratkin JD, Qian XB, et al. Desmethyl tirilazad improves neurologic function after hypoxic ischemic brain injury in piglets. *Crit Care Med* 2000;28:1431-8.
  - 27) Legssyer R, Geisser P, McArdle H, Crichton RR, Ward RJ. Comparison of injectable iron complexes in their ability to iron load tissues and to induce oxidative stress. *Biometals* 2003;16:425-33.