DOI: 10.15690/pf.v13i5.1641

Г.А. Каркашадзе[1], А.В. Аникин[1], Е.П. Зимина[1], И.В. Давыдова[1, 2], Х.М. Каримова[1], М.Э. Захарян[3], Л.С. Намазова-Баранова[1, 2, 3], О.И. Маслова[1], Г.В. Яцык[1], С.И. Валиева[1, 3], А.К. Геворкян[1, 2]

[1] Научный центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация
[2] Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Российская Федерация
[3] Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Российская Федерация

Современные данные о патогенезе и лечении гипоксически-ишемических поражений головного мозга у новорожденных

Контактная информация:
Каркашадзе Георгий Арчилович, кандидат медицинских наук, заведующий отделением когнитивной педиатрии НИИ педиатрии
Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, **тел.:** +7 (495) 967-14-20, **e-mail:** karkga@mail.ru
Статья поступила: 09.10.2016 г., **принята к печати:** 26.10.2016 г.

Гипоксически-ишемические поражения головного мозга у детей являются главным средовым (негенетическим) фактором формирования у них тяжелой неврологической патологии с последующей инвалидизацией. В качестве основного пути снижения тяжести неврологических осложнений ученые видят совершенствование лечебных подходов в острый период заболевания. Благодаря достижениям нейронауки в области изучения механизмов гипоксически-ишемических перинатальных повреждений (ГИПП) были определены три энергетические фазы развертывания патологических событий: первичная (до 6 ч с момента поражения), вторичная (от 6 до 24–48 ч от момента поражения) и отдаленная третичная (в течение нескольких недель-месяцев). При этом некроз, апоптоз, глутаматная эксайтотоксичность, окислительный стресс, воспаление, ангио- и нейрогенез составляют отдельные звенья процесса поражения. На основании новых данных о патогенезе заболевания ученые разных стран уже предложили современные методы лечения ГИПП препаратами эритропоэтина, аллопуринола, мелатонина, N-ацетилцистеина, сульфата магния, альбумина, β-интерферона, а также при помощи управляемой гипотермии, ксенона, использования стволовых клеток и др. В статье представлен обзор новых данных о патогенезе и перспективных методах лечения ГИПП.

Ключевые слова: *гипоксически-ишемические перинатальные поражения мозга, новорожденные, перинатальные поражения мозга, патогенез гипоксически-ишемических перинатальных поражений мозга, лечение гипоксически-ишемических перинатальных поражений мозга.*

(***Для цитирования:*** Каркашадзе Г.А., Аникин А.В., Зимина Е.П., Давыдова И.В., Каримова Х.М., Захарян М.Э., Намазова-Баранова Л.С., Маслова О.И., Яцык Г.В., Валиева С.И., Геворкян А.К. Современные данные о патогенезе и лечении гипоксически-ишемических поражений головного мозга у новорожденных. *Педиатрическая фармакология*. 2016; 13 (5): 452–467. doi: 10.15690/pf.v13i5.1641)

ВВЕДЕНИЕ

Общемировой научно-технический прогресс в отношении исследовательских технологий за последние десятилетия привел к качественному и количественному скачку нейронаук. Наиболее активно наполняется новыми данными поле фундаментальных представлений о развитии головного мозга, что обусловливает интересы ученых к таким областям медицины, как перинатальная неврология и неврология раннего возраста. Несмотря на расширение представлений о вкладе генетической составляющей, по-прежнему большое внимание уделяется изучению прямых патофизиологических механизмов гипоксически-ишемических поражений (ГИП) головного мозга у новорожденных. К настоящему моменту накоплен массив новых данных в этой области, что подталкивает медицину к внедрению передовых лечебных технологий.

Цель работы — провести литературный обзор современных научных данных о механизмах гипоксически-ишемических повреждений мозга у новорожденных и разрабатываемых на их основании новых методов лечения.

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ

Традиционно основные лечебные тактики в острый период гипоксически-ишемических перинатальных поражений головного мозга (ГИППГМ) предусматривают медикаментозное поддержание сердечно-легочных функций и противосудорожную защиту [1]. Последние достижения в раскрытии патофизиологических механизмов непосредственно ГИП дают опору для поиска и внедрения новых лечебных технологий. У доношенных детей основным прямым механизмом ГИП является внутриутробная асфиксия, вызванная проблемами кровообращения, в том числе в области плацентарных артерий, отслойкой плаценты или воспалительным процессом. За этим следуют снижение объема кислорода и углекислого газа в крови и тяжелый лактат-ацидоз. Выраженное снижение сердечного выброса в условиях гипоксии, называемое гипоксией-ишемией, в течение 12–36 ч приводит к поражению головного мозга [2].

Фазы энергетической недостаточности

Клинические и экспериментальные исследования показывают, что ГИП развиваются через две фазы — первичную и вторичную энергетическую недостаточность [3–6].

Первичная недостаточность энергии обусловлена первоначальным сокращением мозгового кровообращения, которое приводит вначале к уменьшению уровня кислорода и глюкозы, затем к снижению уровня аденозинтрифосфата (АТФ) и повышенной выработке лактата. Низкие уровни АТФ влекут за собой отказ многих механизмов, поддерживающих целостность клеток, в частности натрий-калиевых (Na/K) насосов, и предотвращают проникновение кальция в нейроны. Неэффективность Na/K-насосов приводит к чрезмерному притоку натрия и массивной деполяризации нейронов, что в свою очередь обеспечивает высвобождение глутамата. Глутамат связывается с рецепторами глутамата, что ведет к дополнительному притоку внутриклеточного кальция и натрия. Избыточная концентрация внутриклеточного кальция имеет пагубные последствия: кроме усиления токсичности скопившегося оксида азота и повреждения митохондрий, ведет к отеку мозга, ишемии, повреждению микрососудов с развитием некроза и/или апоптоза. Большинство случаев первичной энергетической недостаточности заканчивается некрозом тканей. Необратимый процесс гибели клеток происходит в условиях крайне тяжелой гипоксии и ишемии. При разрыве нейронов наблюдается высвобождение их содержимого, что дополнительно обусловлено текущим воспалением. Медиаторы воспаления микроглии могут повредить белое вещество и привести к образованию рубцовой ткани [7]. Исход событий при нетяжелой форме гипоксии-ишемии предполагает как восстановление нейронов и их функций, так и активацию апоптоза — запрограммированной клеточной гибели. Апоптоз даже вне какого-либо воспаления вызывает клеточную усадку, не нарушая при этом целостности клеточных мембран. Некроз и апоптоз — основные процессы дальнейших функциональных нарушений мозга. Преобладание одного из этих механизмов или их сочетание обусловливают либо тяжесть поражения мозга, либо восстановительный потенциал.

Латентный период. Высокая степень первичной энергетической недостаточности способствует дальнейшему повреждению [3–6]. Между первичной и вторичной фазой энергетической недостаточности есть короткий, так называемый латентный, период восстановления кровотока, который характеризуется нормальным церебральным метаболизмом. Предполагается, что латентный период тем короче, чем тяжелее степень ГИП. На данный момент нет консолидированных представлений о том, когда заканчиваются фаза первичной энергетической недостаточности и следующий за ней латентный период, как, соответственно, и сроки начала вторичной фазы. В одном из последних обзоров [6] предполагается, что время начала латентной фазы исчисляется 30–60 мин после поражения. Латентный период при этом считается наиболее оптимальным для терапевтических вмешательств [8].

Вторичная недостаточность энергии. Гораздо больше сведений о фазе вторичной недостаточности, которая продолжается от 6 до 24 [9] – 48 [10] часов с момента поражения. Вторая фаза энергетической недостаточности сопровождается повреждающим эффектом гиперпродукции возбуждающих нейротрансмиттеров и свободных радикалов, а также истощением запасов фосфатов, но в отличие от первой фазы не зависит от ацидоза. Экспериментальное и клиническое исследование продемонстрировали ухудшение мозгового окислительного метаболизма через 6–24 ч после гипоксии-ишемии,

George A. Karkashadze[1], Anatoly V. Anikin[1], Elena P. Zimina[1], Irina V. Davydova[1, 2], Khadizhat M. Karimova[1], Mariam E. Zakharyan[3], Leyla S. Namazova-Baranova[1, 2, 3], Olga I. Maslova[1], Galina V. Yatsyk[1], Saniya I. Valieva[1, 3], Anait K. Gevorkyan[1, 2]

[1] Scientific Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation
[2] I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation
[3] Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Recent Information on the Pathogenesis and Treatment of Hypoxic-Ischemic Brain Lesions in Newborns

Hypoxic-ischemic brain lesions in children are the main environmental (non-genetic) factor in forming severe neurological pathology with subsequent disability. Scientists see the improvement of therapeutic approaches in acute phase of the disease as a main way to reduce the severity of neurologic complications. Due to the achievements in neuroscience in the field of perinatal hypoxic-ischemic injury mechanisms, three energy phases of pathologic events deployment were identified: primary (up to 6 hours from the lesion), secondary (6 to 24–48 h after the lesion) and distal tertiary (during few weeks, months). At the same time, necrosis, apoptosis, glutamate excitotoxicity, oxidative stress, inflammation, angiogenesis and neurogenesis make up separate links of destruction process. On the basis of new data on the pathogenesis of the disease, scientists from different countries have already offered modern treatment methods for perinatal hypoxic-ischemic injury with erythropoietin, allopurinol, melatonin, N-acetylcysteine, magnesium sulphate, albumin, β-interferon, as well as with the help of controlled hypothermia, xenon, the use of stem cells, etc. This article presents a review of new data on pathogenesis and promising treatment methods for perinatal hypoxic-ischemic injuries.

Key words: *perinatal hypoxic-ischemic brain injury, neonates, perinatal brain injuries, pathogenesis of perinatal hypoxic-ischemic brain injury, treatment of perinatal hypoxic-ischemic brain injury.*

(***For citation:*** Karkashadze George A., Anikin Anatoly V., Zimina Elena P., Davydova Irina V., Karimova Khadizhat M., Zakharyan Mariam E., Namazova-Baranova Leyla S., Maslova Olga I., Yatsyk Galina V., Valieva Saniya I., Gevorkyan Anait K. Recent Information on the Pathogenesis and Treatment of Hypoxic-Ischemic Brain Lesions in Newborns. *Pediatricheskaya farmakologiya — Pediatric pharmacology*. 2016; 13 (5): 452–467. doi: 10.15690/pf.v13i5.1641)

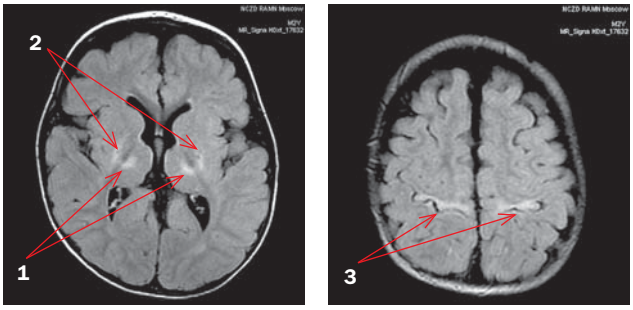
несмотря на адекватные оксигенацию и кровообращение [9, 10]. С помощью магнитно-резонансной спектроскопии было показано, что процесс сопровождается падением фосфокреатина (участвует в переносе фосфата от аденозиндифосфата к АТФ) и нуклеозидтрифосфата (основа АТФ) и одновременным увеличением неорганических фосфатов [9, 11]. Соотношения фосфокреатин/неорганические фосфаты и нуклеозидтрифосфат/общие подвижные фосфаты могут использоваться в качестве прогностических факторов смертности и тяжести психоневрологических исходов [11]. Вторичная энергетическая недостаточность приводит к вторичному цитотоксическому отеку, накоплению цитокинов и митохондриальной недостаточности — ключевому моменту на пути к задержке гибели клеток, а степень трофической поддержки влияет на ангио- и нейрогенез во время фазы восстановления после гипоксии-ишемии [6].

Третья фаза недостаточности энергии. В последних работах рассматривается и третья фаза ГИП (Tertiary brain injury) с ссылками на доказательство того, что активные патологические процессы происходят в течение недель, месяцев и лет после гипоксического-ишемического инсульта [5, 6, 12]. Действительно, сохраняющийся церебральный лактат-алкалоз наблюдается в течение первого года после рождения у младенцев с неблагоприятными нервно-психическими исходами [13]. Механизмы этого повреждения связывают с глиозом, активацией рецептора стойкого воспаления и эпигенетическими изменениями. С целью более детальной проработки терапевтических мишеней ученые концентрируются на отдельных звеньях представленных выше механизмов — некрозе и апоптозе, глутаматной эксайтотоксичности, окислительном стрессе, воспалении, ангио- и нейрогенезе [1, 5].

Результаты молекулярных каскадов энергетической недостаточности

Селективный некроз. Главным драматическим результатом молекулярных каскадов энергетической недостаточности является развитие нейрональных некрозов в чувствительных зонах мозга, так называемого селективного некроза, в который вовлекаются в первую очередь скорлупа, таламус и перироландическая область коры (рис. 1) [14]. Некротические изменения в области скорлупы и таламуса начинаются через несколько часов после воздействия гипоксии-ишемии и прогрессируют с вовлечением других зон мозга в течение 3–4 дней [15].

Рис. 1. МРТ-изображения головного мозга ребенка, перенесшего гипоксически-ишемические перинатальные повреждения: селективный нейрональный некроз — двустороннее симметричное повреждение (глиоз) таламуса, скорлупы и перироландической области (из архива НЦЗД. А.В. Аникин, 2016)



Примечание. Стрелками обозначены задние отделы таламуса (1), задние отделы скорлупы (2), перироландическая область (3).

Анатомические изменения сопровождаются увеличением лактата и снижением N-ацетил-аспартата [16].

Экспериментальные данные свидетельствуют о вариативности выживания нейронов в период от нескольких дней до нескольких недель после гипоксии-ишемии, т.е. своеобразных «окнах возможностей» [17, 18]. Именно в этот патологически сложный промежуток времени требуются лечебные мероприятия с целью предотвращения некроза. Одним из современных подходов можно считать метод гипотермии [19–21]. Экспериментальные исследования привели к новому пониманию нейронального некроза. Было показано, что на первом этапе быстрое истощение АТФ выводит из строя Na/K-насос, происходит деполяризация клеток, их набухание и накопление в цитоплазме кальция, что приводит к некрозу и активации нескольких каскадов, которые, в конечном счете, все равно заканчиваются обширной гибелью нейронов [22–25]. При этом форма клеточной гибели зависит от степени гипоксии-ишемии [26]: при тяжелой — некроз, при умеренной — апоптоз [18]. Активация апоптоза обусловлена тем, что запрограммированная гибель клеток у человека в первые дни после рождения представляет собой ведущий механизм нейропластичности, поэтому максимально проявляется именно в этот период времени [27, 28]. В ряде работ экспериментаторами выделен третий, промежуточный, тип погибших нейронов — гибридный, который в ядрах имеет признаки апоптотической гибели, а в цитоплазме — некротический тип [18, 29]. Показано, что такое профилирование может быть связано с митохондриальной биоэнергетической недостаточностью [30], которая, вероятно, ведет к прекращению каскадов апоптоза при ГИП в незрелом мозге с формированием промежуточных, гибридных, типов погибших нейронов [30, 31].

Митохондриальная проницаемость. Точкой невозврата при запуске механизмов апоптоза является состояние митохондриальной проницаемости (Mitochondrial Permeability Transition, MPTr), т.е. открытие пор внутренней мембраны митохондрий для проникновения молекул менее 1500 Дальтон [32]. В развивающемся мозге при гипоксии-ишемии к развитию MPTr приводят эксайтоксичность и оксидантный стресс; считается, что основным механизмом этого является действие проапоптотического белка X-protein (Bax) [33]. Вследствие MPTr митохондрии набухают и погибают, выделяя в цитоплазму ряд эффекторов апоптоза, включая цитохром С, апоптозиндуцирующий фактор (Apoptosis-inducing factor, AIF), прокаспазу-9 и эндонуклеазу G [34]. Цитохром С и прокаспаза-9, попадая в цитоплазму, в течение от 3 до 24 ч после повреждения приводят к активации каспазы-9, а в течение 6–48 ч — к переходу прокаспазы-3 в активную каспазу-3 [18]. Активация каспазы-3 обеспечивает протеолиз основных клеточных белков, в том числе белков цитоскелета и киназ, а также ведет к другим морфологическим изменениям, характерным для апоптоза, в том числе фрагментации ядра [35]. Этот цитохромопосредованный путь также называют внутренним путем апоптоза. Высокий уровень активированной каспазы-3 был обнаружен в посмертной ткани мозга доношенных новорожденных, перенесших тяжелую перинатальную асфиксию [36]. Существует и внешний путь апоптоза, который заключается в реагировании ряда рецепторов клеточной поверхности на цитокины при воспалительной стимуляции, что приводит к активации запрограммированной клеточной гибели через активацию каспазы-8 [37]. Помимо этого, имеется также внекаспазный путь апоптоза, который опосредован поли(АДФ-рибоза)-полимеразой-1 (Poly

[ADP-ribose]-polymerase, PARP) [38]. Эффект PARP заключается в активации перехода AIF из митохондрий в ядро. Дополнительным путем PARP является активация потребления никотинамидадениндинуклеотида (Nicotinamide Adenine Dinucleotide, NAD^+), необходимого для продукции митохондриальной энергии, что влечет высвобождение цитохрома С и активацию каспаз (каспазный путь) [38]. Экспериментальные исследования показали гибель нейронов при активации PARP и снижение площади инфаркта мозга при ее ингибировании [39, 40].

Гендерные особенности путей апоптоза. Интерес представляют данные работ, согласно которым существуют межполовые различия апоптоза при ГИППГМ. Шведские ученые первыми наблюдали, что выбивание гена *PARP1* уменьшало повреждение мозга от гипоксии-ишемии в 7-дневном возрасте у мышей мужского пола, но не женского [41]. Также было обнаружено, что уровни NAD^+ после перенесенной гипоксии-ишемии были значительно ниже у новорожденных самцов. Через год похожие результаты на взрослых мышах были продемонстрированы американскими учеными [42]. В работе на культуре тканей было показано, что ингибирование нейрональной синтетазы оксида азота (Neuronal nitric oxide synthase, nNOS) редуцировало повреждение у самцов, но не у самок [43]. В следующем экспериментальном исследовании американских ученых продемонстрировано, что мужские нейроны более чувствительны к оксидантному стрессу и глутаминовой эксайтотоксичности, а женские — к агентам, которые активируют каспаза-зависимый апоптоз [44]. Мужские нейроны погибали преимущественно путем активации AIF-зависимого пути, в то время как женские — преимущественно путем высвобождения цитохрома С из митохондрий с последующей активацией каспазы.

Судя по всему, гендерные особенности путей апоптоза могут отражать один из механизмов реализации хорошо известных межполовых различий в исходах ГИП: более высокая смертность отмечается среди мальчиков, они подвержены более тяжелым нервно-психическим последствиям ГИП. Различия определяются и при количественной нейровизуализации, согласно которой у недоношенных мальчиков вследствие внутрижелудочковых кровоизлияний больше повреждается белое (а у девочек — серое) вещество [45]. Это предполагает гендер-дифференцированные механизмы нейропротекторной защиты при ГИП, и новые разработки должны вестись с учетом данного обстоятельства. По крайней мере одна работа в области клинической фармакотерапии уже подтвердила это: индометацин вдвое снижал последствия внутрижелудочковых кровоизлияний, элиминировал паренхиматозные кровоизлияния у недоношенных новорожденных мальчиков и улучшал у них вербальные когнитивные показатели в возрасте от 3 до 8 лет, и в то же время был неэффективен у девочек [46].

Особенности метаболизма глутаматных рецепторов. Одним из механизмов ГИП является вовлечение в патологический каскад системы выделения и рецепции глутамата — основного возбуждающего нейромедиатора. При гипоксии нарушаются доставка глюкозы и работа зависимой от анаэробного метаболизма глюкозы Na/K-АТФазы, что в свою очередь блокирует функцию глутамат-транспортера, в результате чего глутамат не удаляется, а скапливается в избыточных количествах в синаптической щели [47]. При гипоксии-ишемии ионотропные рецепторы глутамата, селективно связывающие N-метил-D-аспартат (N-methyl-D-Aspartate) NMDA-рецепторы, вероятно, выступают посредником в повреждении большей части нейронов в таких структурах, как кора головного мозга, базальные ганглии, гиппокамп и таламус [48]. Запуск кальция в нейрон через открытые NMDA-каналы открывает каскад внутриклеточных событий, которые опосредуют клеточную гибель. Активность NMDA-рецептора регулируется магнием, который блокирует ионный канал рецептора и предотвращает проход внутрь кальция [49]. NMDA-рецепторы, таким образом, предстают перспективной мишенью фармакотерапии. Однако, такие диссоциативные препараты, блокирующие NMDA-рецепторы или каналы, как дизоцилпин (МК-801), декстрометорфан, кетамин или магний, уже в 1989–1990 гг. демонстрировали сильную защиту против ГИП на моделях животных, но не показали эффективности в клинических исследованиях [50–52]. Активация другого вида глутаматных рецепторов — α-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты (α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid) AMPA-рецепторов, отвечающих за самое быстрое возбуждение нейронов (в первую очередь за счет открытия натриевых каналов), также способствует ГИП [53]. AMPA-рецепторы появляются в синапсах несколько позже NMDA и приводят к усилению первичной нейрональной активности [54]. В течение первых 2 нед жизни у грызунов (следовательно, примерно в течение первых месяцев жизни у детей) AMPA-рецепторы незрелые, проницаемы для кальция и напоминают этим NMDA-рецепторы [53, 55]. Именно в первые часы и дни, когда глутаматные рецепторы незрелые, их чрезмерная активация приводит к ГИП в экспериментальных моделях у новорожденных в отличие от взрослых животных. В моделях на грызунах пик чувствительности NMDA-рецепторов приходится на 7-й день жизни, а AMPA-рецепторов — на несколько дней позже [56, 57]. Экстраполируя на детей экспериментальные данные, следует, что потенциально мозг новорожденного остается уязвимым к тяжелой гипоксии в течение как минимум первых двух месяцев жизни, и если кислородное голодание по каким-либо причинам имеет постнатальное продолжение, следует пролонгировать прием антиглутаматных средств. Этим можно объяснить, почему неонатальные судороги, как правило, не повторяются в более старшем возрасте.

Особенности анте- и постнатального метаболизма глутаматных рецепторов позволяют обеспечивать в этот период высокую нейрональную активность (в том числе спонтанную), что необходимо для формирования и развития мозга, в том числе его нейропластичности. Однако, высокая нейрональная активность, с одной стороны, и уязвимость для эксайтотоксичности — с другой — создают парадоксальную ситуацию: незрелый мозг способен дольше выдерживать ситуацию низкого энергообеспечения по сравнению со взрослым (за счет высокой возбудимости глутаматных рецепторов), но, с другой стороны, при достижении определенного критического порога энергодефицита нейрональная деструкция развивается гораздо сильней и за счет разворачивания эксайтотоксичности — необратимо [1]. Это важный нюанс, объясняющий выраженность органических дефектов и низкую эффективность лечебных мероприятий в случае тяжелого эпизода гипоксии-ишемии, а также отсутствие подобных драматических эффектов на развивающийся мозг длительных, но невыраженных экспозиций стрессоров (недостаточность питания, подострая гипоксия и т.д.) в период беременности или при недоношенности. Поэтому особое внимание следует акцентировать на предотвращении тяжелых эпизодов гипоксии-ишемии, а также на профилактике декомпенсации хронической патологии беременной и плода.

Воспаление. Следующим важным фактором ГИП является воспаление. Целый ряд исследований отслеживает связь ГИП с повышенным уровнем воспалительных цитокинов [58–60], а также с активацией генов воспаления [61]. Наиболее важную роль воспаление играет во второй фазе ГИП (от 6 до 48 ч). Микроглия и астроциты способствуют вторичному поражению мозга путем производства провоспалительных цитокинов, протеаз, активных форм кислорода, оксида азота, факторов комплемента и эксайтотоксических нейромедиаторов, таких как хинолиновая кислота. В основном в воспалении, усиливающем ГИП, участвуют следующие интерлейкины (Interleukin, IL): IL 1β, IL 6, IL 8; фактор некроза опухоли α, простагландины, а также различные молекулы адгезии и белки острой фазы воспаления. В экспериментах липополисахарид (известный также как эндотоксин) успешно моделирует воспаление и усиление ГИП. Применение местных внутриматочных липополисахаридов в низких дозах резко увеличивало тяжесть ГИП у новорожденных мышей, но в то же время защищало от поражения взрослых грызунов [62]: другими словами, в случае с незрелым мозгом воспалительные процессы усугубляют ГИП, а во взрослом мозге играют защитную роль.

При асфиксиях, нарушениях мозгового кровообращения резко нарастает число недоокисленных, промежуточных форм кислорода — свободных радикалов, отличающихся особой агрессивностью и токсичностью по отношению к клеточным структурам, что с избыточным притоком кальция через глутаматные рецепторы приводит к окислительному стрессу и гибели нейронов в условиях реоксигенации и при рождении, когда естественным путем ткани насыщаются кислородом. Критичным является накопление перекиси водорода (H_2O_2) [63]. Повторные гипоксии-ишемии приводят к концентрированию пуриновых производных (аденозин и гипоксантин), которые усиливают повреждение нейронов при реоксигенации [64]. Активация оксидаз и синтазы оксида азота (Nitric oxide synthase, NOS), повышение регуляции индуцируемого гипоксией фактора HIF-1α, а также снижение экспрессии антиоксидантных ферментов, таких как супероксиддисмутаза, каталаза и глутатионпероксидаза, генерируют взрыв реактивного кислорода (Reactive oxygen species, ROS) на реоксигенацию [65]. Дополнительно к этому NOS и оксид азота образуют сильный окислитель — пероксинитрит [66]. Было показано заметное увеличение иммунореактивности NOS в нервных волокнах более чем через неделю после гипоксии-ишемии в таких регионах, как таламус [67]. Главной мишенью ROS-атаки являются митохондрии, а незрелый мозг особенно чувствителен к свободнорадикальному повреждению из-за его слаборазвитых поглощающих систем и высокой доступности железа для каталитического образования гидроксильных радикалов [32]. Когда уровни ROS превышают способность клетки в целом и митохондрии в частности элиминировать их, инициируется переход MPTr, который в свою очередь усиливает окислительный стресс [68]. Как уже указывалось выше, вслед за MPTr развивается апоптоз.

Ученые одного из калифорнийских университетов (США) показали, что выключение нейронной NOS у нокаутных мышей защищало их от неонатальных, индуцированных гипоксией-ишемией гистопатологических повреждений мозга [69]. Продолжающаяся продукция оксида азота в период после повреждения, вероятно, влияет на эволюцию ГИПП центральной нервной системы. Так, позже теми же учеными было показано, что непрерывное введение ингибитора NOS 7-нитроиндазола в течение 9–12 ч было более эффективным в снижении гипоксически-ишемического повреждения у животных, чем его прерывистое, скачкообразное введение [70]. Следует отметить, что если в нейронах высокие концентрации оксида азота играют нейротоксическую роль, то оксид азота, генерируемый эндотелиальными NOS, участвует в поддержании кровотока и сосудистого давления: недостаток эндотелиального гена синтазы оксида азота (*ENOS*) увеличил количество церебральных инфарктов после гипоксии-ишемии [71, 72]. Таким образом, оксид азота может играть двойную роль в развитии ГИП.

Маркеры прогнозирования долгосрочных неврологических исходов

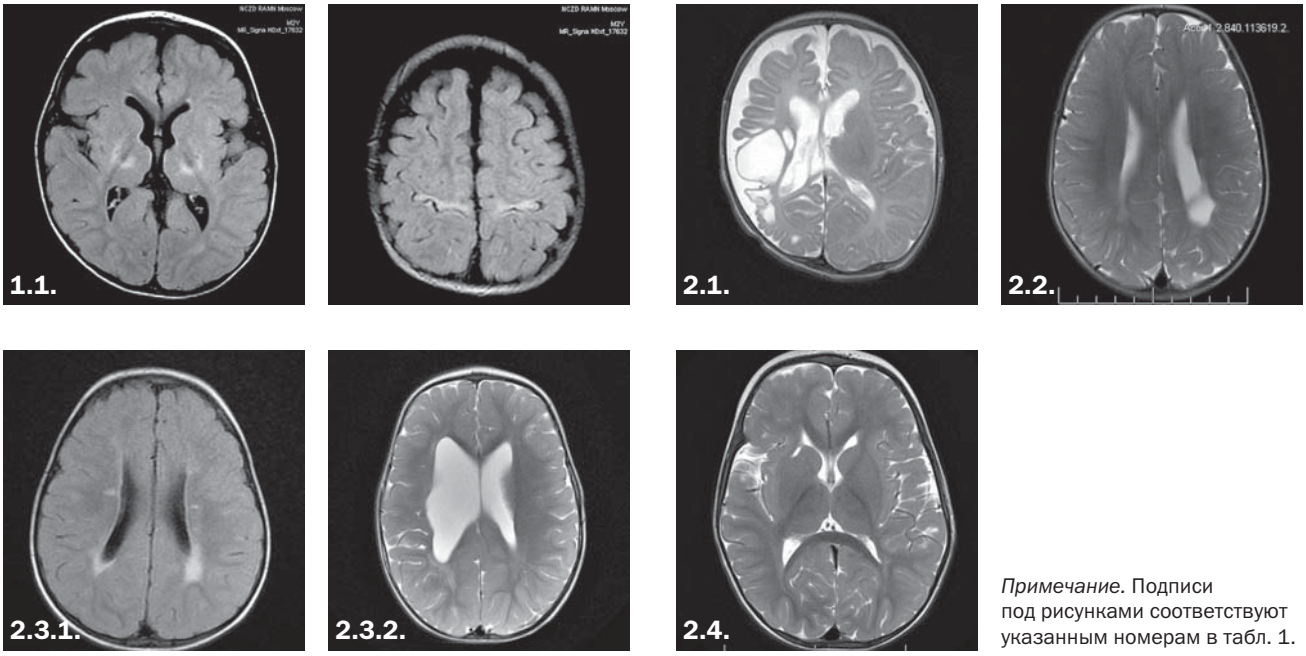
На основе современных патогенетических данных исследователи пытаются определить маркеры исхода ГИПП центральной нервной системы. Как уже указывалось выше, показатели второй фазы энергетической недостаточности — соотношения фосфокреатин/неорганические фосфаты и нуклеозидтрифосфат/общие подвижные фосфаты — могут использоваться в качестве прогностических факторов смертности и тяжести психоневрологических исходов [11].

В недавно проведенном исследовании в Китае оценивались маркеры пуповинной крови: нейронспецифическая енолаза (Neuron-specific enolase, NSE); белок S100β; глиальный фибриллярный кислый белок (Glial fibrillary acidic protein, GFAP), отвечающий за стабильность и прочность глиальных и эндотелиальных клеток мозга; ген, кодирующий фермент, связанный с ростом и развитием нейронов и аксонов (Ubiquitin C-terminal hydrolase L1, UCHL1); ответственный за синтез микротрубочек аксонов белок Tay; микроРНК, лактатдегидрогеназа и креатинфосфокиназа-BB [73]. В качестве биомаркеров прогнозирования долгосрочных неврологических исходов ГИПП центральной нервной системы лучший результат показали GFAP и UCHL1.

В США (Флорида) в настоящее время проводится исследование, которое определяет прогностическую значимость концентрации UCHL1 и GFAP в пуповинной крови новорожденных, перенесших ГИПП центральной нервной системы [74].

Наибольшего внимания заслуживает опубликованный в 2012 г. результат метаанализа 29 исследований, в которых проводилась оценка в общей сложности 11 прогностических факторов по достижению детьми с ГИПП центральной нервной системы возраста старше 18 мес [75]. Наиболее перспективными показали себя амплитудно-интегрированная электроэнцефалография (чувствительность специального алгоритма обработки для продолжительного наблюдения за динамикой амплитуды ЭЭГ 0,93, специфичность 0,90), ЭЭГ (чувствительность 0,92; специфичность 0,83) и зрительные вызванные потенциалы (чувствительность 0,90; специфичность 0,92). Среди средств визуализации диффузионно взвешенная магнитно-резонансная томография (МРТ) показала лучшие результаты по специфичности (0,89), а по чувствительности (0,98) — T_1/T_2-взвешенная. Магнитно-резонансная спектроскопия показала чувствительность 0,75 с низкой специфичностью (0,58). Авторы работы подчеркивают, что исследования отличались большой методологической гетерогенностью, в связи с чем имеется необходимость в организации новых крупных проспективных исследований. В подтверждение этому недавно выполненный и потому не вошедший в приведенный метаанализ анализ исходов ГИПП центральной нервной системы в одном из университетов США показал

Рис. 2. МРТ-корреляты перинатальных поражений центральной нервной системы у доношенных и недоношенных детей



Примечание. Подписи под рисунками соответствуют указанным номерам в табл. 1.

связь тяжести исходов с МРТ-данными (МРТ проводилась в течение недели после рождения) и отсутствие связи с ЭЭГ-параметрами [76]. Однако, это исследование проводилось на небольшой когорте (n = 17), ретроспективно, что ограничивало ЭЭГ-анализ и оценку развития исходов.

В настоящее время в проспективном объединенном исследовании в Ирландии и Швеции изучают ЭЭГ-прогностические маркеры ГИПП центральной нервной системы (ЭЭГ проводится новорожденным в течение первых трех суток жизни) [77].

Специально для данной публикации мы также ретроспективно проанализировали связь данных МРТ и неврологических исходов у 30 детей с ГИПП центральной нервной системы, проходивших комплексную абилитацию в условиях клиники дневного стационара НЦЗД. В соответствии с тяжестью исходов мы выделили несколько градаций поражений на МРТ (табл. 1, рис. 2).

Объем поражения мозга не всегда коррелирует с выраженностью неврологического дефицита. Важное значение имеет локализация участка поражения. Наиболее тяжелая картина неврологического дефицита связана с вовлеченностью структур, входящих в состав двигательного кортикоспинального тракта, чувствительных путей (спиноталамического и таламокортикального), а также структур, связанных с первичной аналитической обработкой и памятью. Гиппокампальные регионы, подкорковые ядра, прецентральная и постцентральная извилины (роландический регион) — именно эти структуры наиболее чувствительны к гипоксии у зрелого новорожденного. Поэтому постгипоксические глиозно-атрофические изменения гиппокампов (с вторичным атрофическим расширением височных рогов боковых желудочков), задних отделов скорлупы, вентролатеральных ядер таламусов с вовлеченностью заднего бедра

Таблица 1. МРТ-корреляты перинатальных поражений центральной нервной системы у доношенных и недоношенных детей

Повреждение	Степень клинической тяжести	Комментарии
1. Селективный нейрональный некроз		Преимущественно у доношенных новорожденных
1.1. Полный вариант (гиппокамп; подкорковые ядра — задние отделы скорлупы, вентролатеральные ядра таламуса; роландическая область — пре- и постцентральная извилины)	↑ ↑ ↑	
1.2. Преимущественно изолированный вариант	↑ ↑	
2. Другие повреждения + вентрикуломегалии		Преимущественно у недоношенных новорожденных
2.1. Диффузная вентрикуломегалия с участками тотальной кистозно-глиозной трансформации белого вещества от перивентрикулярных до кортикальных регионов	↑ ↑ ↑	
2.2. Диффузная вентрикуломегалия с участками субтотальной кистозно-глиозной трансформации белого вещества перивентрикулярно и/или субкортикально	↑ ↑ ↑	
2.3.1. Вентрикуломегалия с перивентрикулярными участками глиоза	↑ ↑	
2.3.2. Асимметричная вентрикуломегалия как исход острого нарушения мозгового кровообращения	↑ ↑	
2.4. Вентрикуломегалия с локальной кистой небольшого размера как исход острого нарушения мозгового кровообращения	↑	

Примечание. Магнитно-резонансная томография (МРТ) выполнялась в течение первых месяцев жизни детей. Оценка психомоторного развития проводилась по Бадаляну в первые месяцы жизни исходно и повторно с 12 до 24 мес.

внутренней капсулы, а также роландического региона — типичный паттерн последствий селективного нейронального некроза.

У недоношенных новорожденных эти структуры не достигают высокого уровня метаболизма, поэтому повреждение носит более диффузный характер с вовлечением белого вещества головного мозга.

Лечебные формы нейропротекции при ГИП

Открытие молекулярных механизмов развития ГИП у новорожденных позволяют ученым также проводить поиск новых лечебных форм.

Управляемая гипотермия — наиболее яркий пример успешного клинического внедрения новых методов лечения ГИП, основанных на нейробиологических достижениях. Гипотермия (переохлаждение) снижает образование свободных радикалов и уровень глутамата, уменьшает потребность в кислороде и уменьшает апоптоз [4, 78, 79]; одним из ведущих механизмов терапевтического эффекта считается противовоспалительный [80]. Основные эффекты гипотермии направлены на действие в период «окна возможностей», или латентного периода энергетической недостаточности [6], который, как говорилось выше, предположительно длится с 30 мин после рождения до 24–48 ч. Именно в этот период появляется возможность не допустить или минимизировать вторичную фазу энергетической недостаточности. Новорожденных обычно охлаждают до температуры 33,5 (все тело) и 34,5–36,5 (селективно область головы) в течение 48–72 ч, и далее медленно отогревают [4, 6]. Проведенный в 2015 г. метаанализ трех исследований результатов применения гипотермии при ГИП показал снижение смертности и тяжелых неврологических исходов у детей (до 24 мес) [81]. Ранее метаанализ управляемой гипотермии в первые 6 ч жизни среди 1440 новорожденных (13 исследований) показал значительное снижение риска смертности, умеренных и тяжелых нервно-психических расстройств, развития церебрального паралича, тяжелых зрительных и когнитивных нарушений на сроках до 12 мес [82]. Метод внедрен в клиническую практику ряда стран, в частности Великобритании [83], где уже подведены первые экономические результаты, согласно которым внедрение признано эффективным, исходы ГИП в целом улучшаются примерно на 15% [84]. Подтверждений эффективности гипотермии при перинатальных поражениях другого генеза, например инфекционного, в экспериментах пока не получено [85].

Другие перспективные методы (использование эритропоэтина, ксенона, стволовых клеток, мелатонина, N-ацетилцистеина, мелатонина, топирамата и др.) находятся в промежуточной стадии утверждения: уже получены хорошие экспериментальные результаты, но ждут на различных стадиях подтверждения клинической эффективности, поэтому пока не готовы к внедрению в массовую клиническую практику.

Эритропоэтин (ЭПО) является гликопротеином с плейотропными свойствами. ЭПО оказывает влияние на разнообразные рецепторопосредованные и клеточные специфические реакции, которые полезны после гипоксии-ишемии. ЭПО приписывают противовоспалительный, антиэксайтотоксический, антиоксидантный и антиапоптотический эффекты, а также содействие нейро- и ангиогенезу [86–88]. ЭПО экспрессируется в головном мозге человека и животных, особенно в астроцитах и микроглии, на ранних стадиях жизни и поэтому необходим для развития мозга, но постепенно снижается после рождения [89]. Исследования показали, что применение высоких доз ЭПО у новорожденных крыс с ГИП приводит к гистологическим и функциональным (включая такие, как пространственная память) улучшениям, также отмечается дозозависимое уменьшение объема инфаркта [90–92]. Опубликованы данные по крайней мере трех пилотных клинических исследований в Китае, Египте и США, которые характеризовались относительно небольшим количеством участников и показали снижение тяжелых исходов при ГИП в случае использования ЭПО, а также его безопасность [93–95]. В исследовании китайских ученых ЭПО применялся в течение 2 нед после рождения: был показан положительный эффект при ГИП умеренной, но не тяжелой степени [93]. В настоящее время в США и Франции проводятся клинические исследования (с планируемым завершением в 2016 и 2017 гг.), в которых изучается лечебная эффективность эритропоэтина в комбинации с гипотермией при ГИП у новорожденных: в одном из них ЭПО вводится в течение первых 5 дней, в другом — в течение первых 3 дней [5, 96, 97]. ЭПО одобрен Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США (Food and Drug Administration, FDA) как обладающий надежным профилем безопасности у новорожденных. В 2014 г. также опубликованы результаты первых исследований с участием недоношенных детей. В работе швейцарских ученых установлено, что ЭПО (3000 МЕ), введенный недоношенным детям в течение 42 ч, снижает риск повреждения головного мозга, оцененного при помощи МРТ [98]. В другой работе американскими учеными было показано лучшее когнитивное развитие у недоношенных, которые получали подкожные инъекции эритропоэтина и дарбэпоэтина α, по сравнению с группой плацебо [99].

Ксенон — мощный газообразный анестетик, легко преодолевает гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), ингибирует NMDA-рецепторы глутамата и таким образом может уменьшить повреждение нейронов, вызванное чрезмерной концентрацией глутамата и эксайтотоксичностью. В качестве анестетика ксенон доказал свою безопасность и хорошую переносимость у взрослых [100]. Некоторые авторы призывают осторожно относиться к применению ксенона у детей, опираясь на данные исследований на животных, которые показали, что все анестетики, включая ксенон, в той или иной степени способны вызывать нейродегенерацию в развивающемся мозге [101]. Несмотря на это, ксенон рассматривается в качестве одного из перспективных средств лечения ГИП у новорожденных. Прежде всего, эти надежды основаны на положительных результатах экспериментальных исследований на животных, показавших нейропротекторный эффект ксенона при ГИППГМ, причем несколько работ касалось совместного применения ксенона с гипотермией [102–104]. Уже получены данные о том, что применение 50% ксенона у новорожденных во II фазе международного клинического исследования, проведенного совместно учеными Великобритании и Норвегии, было безопасным [105]. Клинические исследования эффективности продолжаются: совсем недавно были опубликованы результаты первого завершенного исследования эффективности применения ксенона в комбинации с гипотермией у 96 новорожденных с ГИППГМ в Великобритании, подтвердившего клиническую безопасность такого сочетания, но не продемонстрировавшего его эффективности [106].

Мелатонин является эндогенным веществом — поглотителем свободных радикалов, который показал перспективные эффекты в лечении ГИП. Он обладает антиоксидантным, противовоспалительным и антиапоптотиче-

ским свойствами [107]. Мелатонин свободно проникает через плаценту и ГЭБ, что делает его привлекательным средством для нейропротекции [5]. На моделях асфиксии у животных мелатонин показал способность защитить мозг как самостоятельно, так в комбинации с гипотермией [108, 109]. Появились и первые клинические данные: рандомизированное контролируемое пилотное исследование в Египте с участием 30 новорожденных с ГИП и 15 здоровых детей показало, что сочетание внутривенного введения мелатонина (в течение первых 5 дней) и терапевтической гипотермии у детей с умеренной и тяжелой степенью ГИП было эффективным в снижении окислительного стресса, улучшало состояние белого вещества по данным МРТ, уменьшало судорожную готовность на ЭЭГ и, в конечном счете, приводило к улучшению выживаемости с благоприятным исходом в психомоторном развитии в возрасте 6 мес [110]. Показана также эффективность мелатонина для недоношенных детей [111]. Предполагается, что комбинированная терапия с гипотермией является наиболее эффективной при ГИППГМ [111]. Продолжаются исследования для определения оптимальных режимов применения и безопасности мелатонина в клинической практике (одно из них должно было стартовать в январе 2016 г. в США).

Применение стволовых клеток для лечения ГИП новорожденных перспективно с точки зрения реализации иных новых механизмов лечебного воздействия, когда многие антиоксиданты еще не доказали своих эффективности и безопасности, а антиглутаматные препараты и гипотермия могут снижать степень ГИП, но никак не содействуют быстрому восстановлению и развитию поврежденных функций [112]. Благодаря стимуляции нейро- и ангиогенеза стволовые клетки могли бы взять на себя эту роль. Наиболее простой и безопасной является аутотерапия пуповинной кровью (простая технология получения и применения, отсутствие проблем иммуносовместимости) [113, 114]. В ряде работ, анализирующих риск и преимущества аутогенной инфузии пуповинной крови у новорожденных с ГИП и у детей с церебральным параличом, показаны перспективные результаты [115–116]. Однако, для клинического подтверждения и внедрения необходимы плацебоконтролируемые исследования [112, 117], которые и проводятся в настоящее время. Ближе всего к завершению работа в Северной Каролине (США, 2016), в которой новорожденным с умеренным и тяжелым ГИПП проводится по 4 инфузии клеток собственной пуповинной крови в течение первых 14 дней жизни [118]. В Японском исследовании, которое завершится в 2018 г., инфузия проводится в течение первых 3 дней жизни новорожденным с тяжелым ГИПП [119]. Помимо этого, в различных странах запланировано еще 4 клинических исследования, в том числе с комбинированным применением инфузий клеток пуповиной крови и гипотермии, но в них исследователи пока не приступали к набору участников. Необходимо отметить, что пуповинная кровь является источником в основном мононуклеарных стволовых клеток, которые не обладают плюрипотентными свойствами эмбриональных стволовых клеток, поэтому их эффекты ограничены. Технологии применения мультипотентных эмбриональных клеток и нейрональных стволовых клеток в лечении новорожденных более сложны, поэтому данных по их применению пока недостаточно. В январе 2016 г. в США должно было стартовать первое клиническое исследование среди новорожденных с ГИП, в котором предполагается использовать помимо клеток пуповинной крови плацентарные стволовые клетки в комбинированном формате [120].

Одно из проводимых в настоящее время в Японии клинических исследований направлено на изучение механизмов воздействия клеток пуповинной крови на ГИП путем измерения уровня цитокинов и нейротрофических факторов [121]. Возможно, это исследование откроет перспективы использования не прямой трансплантации стволовых клеток, а их факторов. Пока в экспериментальных исследованиях показаны обнадеживающие результаты гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Granulocyte-colony stimulating factor, G-CSF), а также нейротрофического фактора глиальных клеток [122, 123]. В целом, клинические поиски лечебного применения клеточных технологий при ГИП пока находятся на начальной стадии, и исследователям еще предстоит ответить на вопросы по приоритетным для лечения видам стволовых клеток, методологии их применения и, естественно, их эффективности и безопасности.

Топирамат является противосудорожным препаратом с несколькими механизмами действия [124]. Его нейропротекторные свойства связаны, прежде всего, с ингибированием глутаматных рецепторов, а также с блокадой Na^+-каналов, сдерживанием активированных токов кальция. Таким образом, топирамат может выключать эксайтотоксичность из механизма развития ГИПП. Кроме того, топирамат ингибирует карбоангидразу изоферментов и переход в состояние митохнодриальной проницаемости, что может обусловливать антиапоптотический эффект. В экспериментальных работах на моделях ГИП у новорожденных крыс топирамат показал свою результативность изолированно и вместе с мелатонином, а также длительный дозозависимый нейропротекторный эффект на эксайтотоксической модели ГИПП у новорожденных мышей [125–127]. В 2013 г. в Италии завершилось первое клиническое исследование безопасности и эффективности применения топирамата при ГИПП, в котором он использовался дополнительно к гипотермии в дозе 10 мг/кг 1 раз в день в течение первых 3 дней жизни [128]. К сожалению, данные этого исследования пока не опубликованы. В 2018 г. в США также должно завершиться второе клиническое исследование по комбинированному применению гипотермии и топирамата у такого же контингента: препарат назначается в меньшей дозе (по 5 мг/кг 1 раз в день), но более длительно (первые 5 дней жизни) [129].

Сульфат магния ($MgSO_4$) стал активно рассматриваться в качестве нейропротектора при ГИППГМ благодаря своей способности смягчать эксайтотоксическое повреждение путем связывания ионных каналов NMDA-глутаматных рецепторов магнием и блокировки поступления внутрь кальция [130]. Помимо этого, магний уменьшает вторичное воспаление, связанное с повреждением мозга, стабилизирует клеточные мембраны и ингибирует свободные радикалы, а также улучшает сердечно-сосудистую стабильность [131–133]. Исследования на экспериментальных моделях фокальной ишемии у взрослых грызунов показали весьма обнадеживающие результаты [134]. Вместе с тем лучшие эффекты в отношении выживаемости и тяжести исходов больше характерны для популяций недоношенных, чем для доношенных моделей ГИППГМ [135, 136]. Что касается клинических исследований, то применение сульфата магния у женщин с повышенным риском преждевременных родов значительно снижает риск церебрального паралича у их детей, не увеличивая при этом риск смерти [137, 138]. В Австралии в национальные клинические рекомендации введен прием сульфата магния беременной с 31-й нед гестации в случае угрозы преждевременных родов с целью нейро-

протекции ребенка [139]. В то же время не подтверждается, что магний может предотвращать сами преждевременные роды, либо облегчать их течение [138, 140].

Результаты клинических исследований в отношении эффективности применения магния сульфата у доношенных новорожденных непосредственно при ГИППГМ неоднозначны и противоречивы, что, возможно, связано с методологическими разночтениями, поэтому говорить о перспективах клинического внедрения пока преждевременно [141]. Продолжается III фаза многоцентрового исследования в странах Азии, в котором изучается безопасность и эффективность применения магния сульфата в сочетании с гипотермией при асфиксиях новорожденных [142]. Следует учитывать, что высокие дозы сульфата магния могут приводить у новорожденных к гипотензии, брадикардии, замедлению внутрижелудочковой проводимости, в том числе полной атриовентрикулярной блокаде [143, 144].

Аллопуринол и его метаболит оксипуринол являются ингибиторами ксантиноксидазы — фермента, участвующего в производстве супероксида, особенно во время реперфузионного повреждения. Дополнительный эффект аллопуринола заключается в непосредственном связывании токсического гидроксильного свободного радикала [145]: следовательно, он может оказывать антиоксидантное действие и снижать таким образом повреждение при гипоксии-ишемии [146]. Отдельные исследования на животных подтвердили нейропротективные свойства аллопуринола при ГИП у новорожденных [147, 148].

Первое клиническое плацебоконтролируемое исследование с участием 32 новорожденных в Нидерландах показало отсутствие сколько-нибудь краткосрочных значащих эффектов при ГИПП (аллопуринол вводился внутривенно дважды: сразу после рождения и через 12 ч) [149]. Однако, увеличение количества участников до 54 и более длительное наблюдение (до 5 лет) продемонстрировало положительный эффект применения аллопуринола у новорожденных с умеренным ГИПП: тяжесть осложнений снизилась до 25% против 65 в группе контроля [150]. Голландские исследователи объясняют неоднозначность первых результатов тем, что введение аллопуринола постнатально — слишком поздно для получения клинически значимых антиоксидантных эффектов, поэтому в настоящее время они проводят клиническое исследование, где оцениваются эффекты антенатального введения препарата [151, 152]. Проведенное чуть ранее другими нидерландскими авторами исследование по применению аллопуринола беременными при внутриутробной гипоксии показало достоверно более низкие концентрации белка S100B — нейромаркера ГИП мозга — в пуповинной крови новорожденных от матерей, принимавших аллопуринол; клинические исходы пока не оценивались [153]. Еще одно плацебоконтролируемое исследование с участием 60 новорожденных с асфиксией было проведено в Турции: аллопуринол назначался новорожденным с рождения в течение 3 дней [154]. На 3–4-е сут сывороточный уровень оксида азота был достоверно ниже у детей группы аллопуринола, а к возрасту 1 года дети с асфиксией в анамнезе из группы аллопуринола показали достоверно лучшие результаты в нервно-психическом развитии и имели меньше неврологических осложнений. В целом, данные первых клинических исследований о лечебно-профилактических перспективах аллопуринола обнадеживают, однако пока их число недостаточно, и необходимы другие исследования.

N-ацетилцистеин. Ряд исследований рассматривает роль еще одного антиоксиданта в качестве нейропротектора при гипоксии-ишемии — противосвободнорадикального агента N-ацетилцистеина (N-acetylcysteine, NAC) [155, 156]. Его защитный эффект проявляется при введении как до, так и после гипоксии-ишемии, и считается более выраженным, чем у других агентов, в том числе по сравнению с мелатонином [157]. Эффекты NAC, по-видимому, связаны со снижением оксидантного стресса, подавлением апоптотических протеаз (каспазы-3, кальпаина) и снижением воспаления. Только что опубликованы результаты первого клинического рандомизированного контролируемого двойного слепого исследования безопасности применения NAC, проведенного учеными южнокалифорнийского университета (США) [158]. Препарат вводился антенатально матерям с хориоамнионитом (через каждые 6 ч) и постнатально их новорожденным (через 12 ч пятикратно). Были показаны безопасность препарата, а также некоторые потенциально лечебные биохимические эффекты: по сравнению с плацебо для NAC отмечались сохранность церебрососудистой связи у новорожденных (предположительно улучшение сосудистой регуляции), более высокий уровень сывороточного противовоспалительного антагониста рецептора IL 1 и более низкий уровень провоспалительного сосудистого эндотелиального фактора роста (повышение противовоспалительной защиты). Параметры сердечно-сосудистой деятельности, скорости церебрального кровотока, оксигенации и сосудистого сопротивления не отличались от группы контроля.

Новейшие кандидаты в лечебные средства (альбумин; остеопонтин; β-интерферон; c-Jun N-концевые киназы, JNKs; эдаравон и др.) пока находятся в стадии экспериментальных исследований.

Альбумин является основным белком плазмы, составляя около 60%. Marzocchi и соавт. продемонстрировали карбонилирование альбумина у новорожденных с более высоким уровнем несвязанного с белком железа (Non-protein bound iron, NBPI) и низким психомоторным развитием [159]. Так как NBPI может производить гидроксильные радикалы, главной мишенью оксидантного стресса при гипоксии-ишемии, опосредованной через NBPI, является его носитель альбумин. Поскольку альбумин является главным внеклеточным антиоксидантом, и он восприимчив к окислению, можно ожидать снижения в плазме антиоксидантной защиты и увеличения вероятности повреждения тканей из-за окислительного стресса у новорожденных. В работе бельгийских ученых был обнаружен значительно повышенный уровень нитрированного альбумина у детей с умеренной или тяжелой энцефалопатией по сравнению с теми, кто имел нормальное неврологическое развитие или легкую степень органического поражения головного мозга [160]. Экспериментальные данные показывают, что альбумин значительно улучшает неврологические функции и может уменьшить отек мозга и инфаркта при введении через 4 ч после факта ишемии у взрослых крыс [161]. В ходе клинических испытаний у взрослых, перенесших острый ишемический инсульт, была показана безопасность введения альбумина, за исключением возникновения отека легких у 13%, который легко корректировался диуретиками [162].

Остеопонтин (Osteopontin) — гликопротеин, показавший в работе голландских исследователей способность восстанавливать функции мозга после повреждения при ГИП [163]. Остеопонтин считается мультифункциональным двухкомпонентным белком за счет про- и противовоспалительных эффектов, регуляции клеточной пролиферации, выживаемости клеток и дифференциации олигодендроцитов. Американские авторы установили его роль в расщеплении каспазы-3, приводящей к анти-

апоптотическому эффекту и снижению повреждения при гипоксии-ишемии [164]. Однако, самые последние исследования, в которых использовался протеин остеопонтина (TAT-OPN peptide) для лечения ГИП у новорожденных мышей, не продемонстрировал каких-либо нейропротективных эффектов протеина [165, 166].

Бета-интерферон (Interferon, IFN β), как известно, является эффективным иммуномодулятором воспаления, что было показано прежде всего при рассеянном склерозе. Учитывая роль воспаления при ГИП, IFN β стали рассматривать в качестве перспективного нейропротектора при этих состояниях [167]. Действительно, при внутримозговом введении вещества голландскими исследователями были показаны сохранение целостности ГЭБ, уменьшение размера инфаркта, а также блокировка инфильтрации воспалительных клеток в средней мозговой артерии на окклюзионной модели у животных [168]. Схожие эффекты были показаны в недавней работе шведских и датских ученых, выключавших либо гены IFN β, либо гены рецептора IFN β у животных с моделью инсульта [169]. Но в исследовании с внутривенным введением выяснилось, что IFN β не может преодолеть ГЭБ и быть эффективным при фокальном инсульте [170]. Таким образом, необходим поиск путей прохода или обхода ГЭБ для эффективности IFN β при ГИП [5].

Активация JNKs связана с набором экологических факторов стресса, и по этой причине они известны как стрессактивированные протеинкиназы [171]. Через фосфорилирование и модификации белков, находящихся в митохондриях, JNKs играют определенную роль в регуляции апоптоза [172]. В 2009 г. голландские ученые опубликовали результаты работы на неонатальных моделях ГИП, в которой они вводили внутрибрюшинно TAT-JBD, ингибитор JNK [173]. При этом достоверно уменьшалось повреждение мозга, и защитный эффект фиксировался до 14 нед после ГИП. Кроме того, связанные с инъекциями TAT-JBD 50% нейроанатомические улучшения коррелировали с сенсорными, когнитивными и поведенческими преимуществами. В 2013 г. Nijboer и соавт. также показали, что препятствие фосфорилированию митохондриальной JNK может привести к недопущению ранней потери митохондриальной целостности, что обусловливает снижение воспаления и ингибирование апоптоза [174].

Эдаравон (3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one, Edaravone) является поглотителем свободных радикалов и рассматривается в качестве вещества, перспективного для лечения ГИП, острого церебрального инсульта. В Японии он уже используется в клинике у взрослых при лечении острой стадии инсульта [175]. Эдаравон, как полагают, взаимодействует с перекисными и гидроксильными радикалами, создавая промежуточные формы, которые образуют стабильные (устойчивые) конечные продукты окисления, предотвращая таким образом воздействие свободных радикалов при оксидантном стрессе [176, 177]. Системное введение эдаравона в течение 30 мин после реанимации при ГИП может спасти нейроны в стриатуме, что было показано американскими учеными на животной модели новорожденных с ГИП (в этой работе показана также эффективность другого антиоксиданта — EUK-134) [178]. Еще одно исследование японских авторов на моделях ГИП у новорожденных крысят показало, что внутрибрюшинное введение эдаравона после ГИП более эффективно, когда доза вводится в течение короткого периода времени (в течение 2 сут), а не растягивается на 5 или 10 дней [174]. Двухдневные инъекции показали морфологическое улучшение, коррелировавшее с улучшением памяти и способностью к обучению, в то время как 5-дневная терапия приводила лишь к морфологическим, но не когнитивным, улучшениям, а 10-дневная вообще не показала результата.

Также ведутся изыскания по другим эффективным средствам лечения ГИППГМ: канабиоидам (полимеханизм), барбитуратам (антиэксайтотоксичность), креатину (антиоксидант), иминобиотину (антиоксидант), дефероксамину (антиоксидант), докозаноидам (полимеханизм), ингибиторам простагландина (противовоспалительные), лютеину (полимеханизм) и др.

Основные закономерности разработки и внедрения современных методов лечения ГИПП (на 01.03.2016) изложены в табл. 2.

РЕЗЮМЕ

Резюмируя вышеизложенное, можно утверждать, что последние нейробиологические достижения в изучении механизмов повреждения мозга новорожденных при ГИП создают основу для разработок новых эффективных патогенетических методов нейропротекции и лечения этих состояний.

По современным представлениям, повреждение мозга новорожденных при тяжелом ГИП в виде селективного некроза и апоптоза нейронов происходит вследствие двух фаз энергетической недостаточности нейронов. Первичная энергетическая недостаточность инициируется непосредственно гипоксией ткани. Между двумя фазами энергетической недостаточности имеется латентный период, варьирующий по времени от 30 мин с рождения до 2–3 сут жизни, совпадающий с этапом восстановления церебрального кровотока. Когда тяжелая гипоксия-ишемия уже в наличии, то именно этот период является «окном возможностей» для лечебных усилий, когда можно предотвратить вторичную фазу энергетической недостаточности и более обширное повреждение. Подробное изучение механизмов повреждения показало, что в его реализации участвуют эксайтотоксичность (глутаматергическая система), окислительный стресс и воспаление.

Особые настройки глутаматных рецепторов в незрелом мозге новорожденного рассчитаны на то, чтобы рецепторы легко возбуждались,— это необходимо для важной в плане развития мозга высокой спонтанной нейрональной активности в условиях умеренной энергетической недостаточности. Однако, это же делает мозг новорожденных особо уязвимым, когда гипоксия-ишемия носит тяжелый характер: возбудимость рецепторов приводит к эксайтотоксичности и повреждению нейронов, поэтому основные силы и средства имеет смысл концентрировать на направлениях недопущения и лечения тяжелых ГИП — порог защиты незрелого мозга при подострых состояниях значительно выше.

Процессы воспаления при гипоксии-ишемии усиливают повреждение мозга у новорожденного, тогда как у взрослого человека, напротив, играют защитную роль. Воспаление чаще всего приводит к рубцово-глиозным изменениям белого вещества головного мозга. Также незрелый мозг особенно чувствителен к свободнорадикальному повреждению при окислительном стрессе из-за слаборазвитых поглощающих систем и высокой доступности железа для образования гидроксильных радикалов.

Эксайтотоксичность, окислительный стресс и воспаление путем вовлечения митохондриальной недостаточности, а также при помощи собственно факторов апоптоза приводят к апоптозу нейронов. Апотоз нейронов при дополнительном участии нарушения нейро- и ангиогенеза значительно расширяет зону повреждения, которое первично ограничено селективным некрозом.

Таблица 2. Новые технологии лечения гипоксически-ишемического повреждения головного мозга у новорожденных (по Г.А. Каркашадзе, 2016)

Наименование	Воздействие на патогенез и время применения						Результаты клинических исследований
	Глутаматтоксичность	Окислительный стресс	Воспаление	Апоптоз	Сосудистая регуляция	Нейрогенез	
Гипотермия							Внедрение в клинику
	С рождения до 2–3 сут жизни						
Эритропоэтин							Безопасность подтверждена. Эффективность подтверждается рядом исследований, в т.ч. для недоношенных. Исследования продолжаются
	С рождения до 3–5 сут С рождения до 2 нед						
Мелатонин							Первые данные подтвердили безопасность и эффективность. Исследования продолжаются
	С рождения до 5 сут						
Стволовые клетки							Исследования в начальной стадии
	С рождения до 3–14 сут						
Аллопуринол							Первые данные подтвердили безопасность. Первые данные неоднозначно подтвердили эффективность. Исследования продолжаются
	С рождения до 1–3 сут						
Топирамат							Проводятся первые исследования
	С рождения до 3–5 сут						
Ксенон							Первые данные подтвердили безопасность, первые данные не подтвердили эффективности. Исследования продолжаются
	С рождения до 1 сут						
Сульфат магния							Для недоношенных — внедрение в клинику в Австралии. Для доношенных — данные об эффективности неоднозначные. Исследования продолжаются
	С 30-й нед гестации до 3 сут жизни						
N-ацетилцистеин							Первые данные подтвердили безопасность и показали потенциальную эффективность. Исследования продолжаются
	С 24-й нед гестации до 3 сут жизни						
Альбумин							Клинические исследования проводились при инсультах у взрослых
β-Интерферон							Клинические исследования не проводились
JNKs							Клинические исследования не проводились
Эдаравон							Клинические исследования проводились при инсультах у взрослых — внедрение в клинику в Японии
Остеопонтин							Клинические исследования не проводились

Примечание. — присутствует патогенетический эффект, — основной патогенетический эффект.

Новые данные о патогенезе ГИПП, благодаря исследованиям, проводимым одновременно в разных странах мира, позволяют ученым выдвигать новые стратегии и методы лечения этих состояний. Один из таких методов (управляемая гипотермия) уже получил клиническое внедрение в здравоохранении ряда государств. Другие, такие как эритропоэтин, — на пути к этому. Обширная группа технологий находится на разных стадиях экспериментальных и клинических исследований. Приоритетная временная точка приложения большинства новых техник — это первые двое-трое суток жизни, когда имеется терапевтическое «окно возможностей», основная цель — предотвращение более обширного повреждения, заморозка процесса на стадии первичного некроза. Но некоторые методики, в частности с использованием эритропоэтина, магния, и N-ацетилцистеина, рассматриваются и в качестве антенатальной профилактической терапии при высоком риске преждевременных родов. Те же методики,

рассчитанные на активацию нейро- и ангиогенеза, содержащие в себе восстановительный потенциал (стволовоклеточные технологии, эритропоэтин), распространяются и за пределы первой недели жизни. Соответственно, из числа представленных уместно выделять технологии с профилактическим, лечебным и восстанавливающим направлением, а конкретнее — лечебно-профилактические и лечебно-восстанавливающие технологии.

Обращает на себя внимание, что более эффективны методики, которые воздействуют на максимальный спектр патогенетических факторов. Поэтому путем повышения эффективности видится комбинирование средств лечения с различными механизмами действия (например, мелатонина и топирамата), что и было выполнено в одной из экспериментальных работ. В клинических исследованиях эта идея выражается в комбинировании средства-кандидата (эритропоэтина, мелатонина, ксенона, топирамата, аутотерапии клетками пуповинной крови, магния сульфата) с уже продемонстрировавшей эффективность гипотермией. Большинство завершенных исследований показало более высокую суммарную эффективность.

Отдельные из разрабатываемых методик, в частности эритропоэтин и магний, продемонстрировали эффективность в профилактике тяжелых неврологических исходов у недоношенных вне зависимости от фактора гипоксии-ишемии, поэтому могут иметь более широкое применение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вероятно, в относительно отдаленном будущем будут разрабатываться и предлагаться к внедрению лечебно-профилактические технологии, учитывающие гендерные различия патогенеза ГИПП. Если найдут дальнейшее подтверждение представления о патологическом процессе и третьей фазе ГИПП, растянутой по времени на месяцы, появятся также разработки в области патогенетического лечения детей раннего возраста.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Г. А. Каркашадзе http://orcid.org/0000-0002-8540-3858

Л. С. Намазова-Баранова http://orcid.org/0000-0002-2209-7531

И. В. Давыдова http://orcid.org/0000-0002-7780-6737

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fatemi A, Wilson MA, Johnston MV. Hypoxic ischemic encephalopathy in the term infant. *Clin Perinatol*. 2009;36(4):835–858. doi: 10.1016/j.clp.2009.07.011.
2. Volpe JJ. Perinatal brain injury: from pathogenesis to neuroprotection. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*. 2001;7(1):56–64. doi: 10.1002/1098-2779(200102)7:1<56::aid-mrdd1008>3.0.co;2-a.
3. Cotten CM, Shankaran S. Hypothermia for hypoxic-ischemic encephalopathy. *Expert Rev Obstet Gynecol*. 2010;5(2):227–239. doi: 10.1586/eog.10.7.
4. Allen KA, Brandon DH. Hypoxic ischemic encephalopathy: pathophysiology and experimental treatments. *Newborn Infant Nurs Rev*. 2011;11(3):125–133. doi: 10.1053/j.nainr.2011.07.004.
5. Dixon BJ, Reis C, Ho WM, et al. Neuroprotective strategies after neonatal hypoxic ischemic encephalopathy. *Int J Mol Sci*. 2015;16(9):22368–22401. doi: 10.3390/ijms160922368.
6. Hassell KJ, Ezzati M, Alonso-Alconada D, et al. New horizons for newborn brain protection: enhancing endogenous neuroprotection. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2015;100(6):F541–552. doi: 10.1136/archdischild-2014-306284.
7. Alvarez-Diaz A, Hilario E, de Cerio FG, et al. Hypoxic-ischemic injury in the immature brain-key vascular and cellular players. *Neonatology*. 2007;92(4):227–235. doi: 10.1159/000103741.
8. Iwata O, Iwata S, Thornton JS, et al. Therapeutic time window duration decreases with increasing severity of cerebral hypoxia-ischaemia under normothermia and delayed hypothermia in newborn piglets. *Brain Res*. 2007;1154:173–180. doi: 10.1016/j.brainres.2007.03.083.
9. Azzopardi D, Wyatt JS, Cady EB, et al. Prognosis of newborn infants with hypoxic-ischemic brain injury assessed by phosphorus magnetic resonance spectroscopy. *Pediatr Res*. 1989;25(5):445–451. doi: 10.1203/00006450-198905000-00004.
10. Lorek A, Takei Y, Cady EB, et al. Delayed (secondary) cerebral energy failure after acute hypoxia-ischemia in the newborn piglet: continuous 48-hour studies by phosphorus magnetic resonance spectroscopy. *Pediatr Res*. 1994;36(6):699–706. doi: 10.1203/00006450-199412000-00003.
11. Martin E, Buchli R, Ritter S, et al. Diagnostic and prognostic value of cerebral 31P magnetic resonance spectroscopy in neonates with perinatal asphyxia. *Pediatr Res*. 1996;40(5):749–758. doi: .10.1203/00006450-199611000-00015.
12. Fleiss B, Gressens P. Tertiary mechanisms of brain damage: a new hope for treatment of cerebral palsy. *Lancet Neurol*. 2012;11(6):556–566. doi: 10.1016/s1474-4422(12)70058-3.
13. Robertson NJ, Cox IJ, Cowan FM, et al. Cerebral intracellular lactic alkalosis persisting months after neonatal encephalopathy measured by magnetic resonance spectroscopy. *Pediatr Res*. 1999;46(3):287–296. doi: 10.1203/00006450-199909000-00007.
14. Barkovich AJ, Westmark K, Partridge C, et al. Perinatal asphyxia: MR findings in the first 10 days. *AJNR Am J Neuroradiol*. 1995;16(3):427–438.
15. Takeoka M, Soman TB, Yoshii A, et al. Diffusion-weighted images in neonatal cerebral hypoxic-ischemic injury. *Pediatr Neurol*. 2002;26(4):274–281. doi: 10.1016/s0887-8994(01)00403-9.
16. Zhu W, Zhong W, Qi J, et al. Proton magnetic resonance spectroscopy in neonates with hypoxic-ischemic injury and its prognostic value. *Transl Res*. 2008;152(5):225–232. doi: 10.1016/j.trsl.2008.09.004.
17. Van Doormaal PJ, Meiners LC, ter Horst HJ, et al. The prognostic value of multivoxel magnetic resonance spectroscopy determined metabolite levels in white and grey matter brain tissue for adverse outcome in term newborns following perinatal asphyxia. *Eur Radiol*. 2012;22(4):772–778. doi: 10.1007/s00330-011-2315-z.
18. Nakajima W, Ishida A, Lange MS, et al. Apoptosis has a prolonged role in the neurodegeneration after hypoxic ischemia in the newborn rat. *J Neurosci*. 2000;20(21):7994–8004.
19. Shankaran S. Therapeutic hypothermia for neonatal encephalopathy. *Curr Opin Pediatr*. 2015;27(2):152–157. doi: 10.1097/mop.0000000000000199.
20. Douglas-Escobar M, Weiss MD. Hypoxic-ischemic encephalopathy: a review for the clinician. *JAMA Pediatr*. 2015;169(4):397–403. doi: 10.1001/jamapediatrics.2014.3269.
21. Saliba E, Fakhri N, Debillon T. Establishing a hypothermia service for infants with suspected hypoxic-ischemic encephalopathy. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2015;20(2):80–86. doi: 10.1016/j.siny.2015.01.008.
22. Wallace BK, Foroutan S, O'Donnell ME. Ischemia-induced stimulation of Na-K-Cl cotransport in cerebral microvascular endothelial cells involves AMP kinase. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2011;301(2):C316–326. doi: 10.1152/ajpcell.00517.2010.
23. Chen YJ, Wallace BK, Yuen N, et al. Blood-brain barrier KCa3.1 channels: evidence for a role in brain Na uptake and edema in ischemic stroke. *Stroke*. 2015;46(1):237–244. doi: 10.1161/strokeaha.114.007445.
24. Brillault J, Lam TI, Rutkowsky JM, et al. Hypoxia effects on cell volume and ion uptake of cerebral microvascular endothelial cells.

Am J Physiol Cell Physiol. 2008;294(1):C88–96. doi: 10.1152/ajpcell.00148.2007.
25. Hausmann R, Seidl S, Betz P. Hypoxic changes in Purkinje cells of the human cerebellum. *Int J Legal Med*. 2007;121(3):175–183. doi: 10.1007/s00414-006-0122-x.
26. Bonfoco E, Krainc D, Ankarcrona M, et al. Apoptosis and necrosis: two distinct events induced, respectively, by mild and intense insults with N-methyl-D-aspartate or nitric oxide/superoxide in cortical cell cultures. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(16):7162–7166. doi: 10.1073/pnas.92.16.7162.
27. Sun X, Crawford R, Liu C, et al. Development-dependent regulation of molecular chaperones after hypoxia-ischemia. *Neurobiol Dis*. 2015;82:123–131. doi: 10.1016/j.nbd.2015.06.001.
28. Blomgren K, Leist M, Groc L. Pathological apoptosis in the developing brain. *Apoptosis*. 2007;12(5):993–1010. doi: 10.1007/s10495-007-0754-4.
29. Portera-Cailliau C, Price DL, Martin LJ. Excitotoxic neuronal death in the immature brain is an apoptosis-necrosis morphological continuum. *J Comp Neurol*. 1997;378(1):70–87. doi: 10.1002/(sici)1096-9861(19970203)378:1<10::aid-cne4>3.0.co;2-n.
30. Northington FJ, Zelaya ME, O'Riordan DP, et al. Failure to complete apoptosis following neonatal hypoxia-ischemia manifests as «continuum» phenotype of cell death and occurs with multiple manifestations of mitochondrial dysfunction in rodent forebrain. *Neuroscience*. 2007;149(4):822–833. doi: 10.1016/j.neuroscience.2007.06.060.
31. Baburamani AA, Hurling C, Stolp H, et al. Mitochondrial optic atrophy (OPA) 1 processing is altered in response to neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Int J Mol Sci*. 2015;16(9):22509–22526. doi: 10.3390/ijms160922509.
32. Blomgren K, Hagberg H. Free radicals, mitochondria, and hypoxia-ischemia in the developing brain. *Free Radic Biol Med*. 2006;40(3):388–397. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.08.040.
33. Wang X, Carlsson Y, Basso E, et al. Developmental shift of cyclophilin D contribution to hypoxic-ischemic brain injury. *J Neurosci*. 2009;29(8):2588–2596. doi: 10.1523/jneurosci.5832-08.2009.
34. Cao G, Xing J, Xiao X, et al. Critical role of calpain I in mitochondrial release of apoptosis-inducing factor in ischemic neuronal injury. *J Neurosci*. 2007;27(35):9278–9293. doi: 10.1523/jneurosci.2826-07.2007.
35. Wang X, Karlsson JO, Zhu C, et al. Caspase-3 activation after neonatal rat cerebral hypoxia-ischemia. *Biol Neonate*. 2001;79(3–4):172–179. doi: 10.1159/000047087.
36. Rossiter JP, Anderson LL, Yang F, Cole GM. Caspase-3 activation and caspase-like proteolytic activity in human perinatal hypoxic-ischemic brain injury. *Acta Neuropathol*. 2002;103(1):66–73. doi: 10.1007/s004010100432.
37. Strasser A, Jost PJ, Nagata S. The many roles of FAS receptor signaling in the immune system. *Immunity*. 2009;30(2):180–192. doi: 10.1016/j.immuni.2009.01.001.
38. Andrabi SA, Dawson TM, Dawson VL. Mitochondrial and nuclear cross talk in cell death: parthanatos. *Ann N Y Acad Sci*. 2008;1147:233–241. doi: 10.1196/annals.1427.014.
39. Mandir AS, Poitras MF, Berliner AR, et al. NMDA but not non-NMDA excitotoxicity is mediated by Poly(ADP-ribose) polymerase. *J Neurosci*. 2000;20(21):8005–8011.
40. Ducrocq S, Benjelloun N, Plotkine M, et al. Poly(ADP-ribose) synthase inhibition reduces ischemic injury and inflammation in neonatal rat brain. *J Neurochem*. 2000;74(6):2504–2511. doi: 10.1046/j.1471-4159.2000.0742504.x.
41. Hagberg H, Wilson MA, Matsushita H, et al. PARP-1 gene disruption in mice preferentially protects males from perinatal brain injury. *J Neurochem*. 2004;90(5):1068–1075. doi: 10.1111/j.1471-4159.2004.02547.x.
42. McCullough LD, Zeng Z, Blizzard KK, et al. Ischemic nitric oxide and poly (ADP-ribose) polymerase-1 in cerebral ischemia: male toxicity, female protection. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2005;25(4):502–512. doi: 10.1038/sj.jcbfm.9600059.
43. Li H, Pin S, Zeng Z, et al. Sex differences in cell death. *Ann Neurol*. 2005;58(2):317–321. doi: 10.1002/ana.20538.
44. Du L, Hickey RW, Bayir H, et al. Starving neurons show sex difference in autophagy. *J Biol Chem*. 2009;284(4):2383–2396. doi: 10.1074/jbc.m804396200.
45. Thompson DK, Warfield SK, Carlin JB, et al. Perinatal risk factors altering regional brain structure in the preterm infant. *Brain*. 2007;130(3):667–677. doi: 10.1093/brain/awl277.
46. Ment LR, Vohr BR, Makuch RW, et al. Prevention of intraventricular hemorrhage by indomethacin in male preterm infants. *J Pediatr*. 2004;145(6):832–834. doi: 10.1016/j.jpeds.2004.07.035.
47. Thomazi AP, Boff B, Pires TD, et al. Profile of glutamate uptake and cellular viability in hippocampal slices exposed to oxygen and glucose deprivation: developmental aspects and protection by guanosine. *Brain Res*. 2008;1188:233–240. doi: 10.1016/j.brainres.2007.10.037.
48. Johnston MV. Excitotoxicity in perinatal brain injury. *Brain Pathol*. 2005;15(3):234–240. doi: 10.1111/j.1750-3639.2005.tb00526.x.
49. McDonald JW, Silverstein FS, Johnston MV. Magnesium reduces N-methyl-D-aspartate (NMDA)-mediated brain injury in perinatal rats. *Neurosci Lett*. 1990;109(1–2):234–238. doi: 10.1016/0304-3940(90)90569-u.
50. McDonald JW, Silverstein FS, Johnston MV. Neuroprotective effects of MK-801, TCP, PCP and CPP against N-methyl-D-aspartate induced neurotoxicity in an in vivo perinatal rat model. *Brain Res*. 1989;490(1):33–40. doi: 10.1016/0006-8993(89)90427-7.
51. McDonald JW, Johnston MV. Pharmacology of N-methyl-D-aspartate-induced brain injury in an in vivo perinatal rat model. *Synapse*. 1990;6(2):179–188. doi: 10.1002/syn.890060210.
52. McDonald JW, Roeser NF, Silverstein FS, Johnston MV. Quantitative assessment of neuroprotection against NMDA-induced brain injury. *Exp Neurol*. 1989;106(3):289–296. doi: 10.1016/0014-4886(89)90162-3.
53. Talos DM, Fishman RE, Park H, et al. Developmental regulation of alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid receptor subunit expression in forebrain and relationship to regional susceptibility to hypoxic/ischemic injury. I. Rodent cerebral white matter and cortex. *J Comp Neurol*. 2006;497(1):42–60. doi: 10.1002/cne.20972.
54. McCarran WJ, Goldberg MP. White matter axon vulnerability to AMPA/kainate receptor-mediated ischemic injury is developmentally regulated. *J Neurosci*. 2007;27(15):4220–4229. doi: 10.1523/jneurosci.5542-06.2007.
55. Deng W, Rosenberg PA, Volpe JJ, Jensen FE. Calcium-permeable AMPA/kainate receptors mediate toxicity and preconditioning by oxygen-glucose deprivation in oligodendrocyte precursors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(11):6801–6806. doi: 10.1073/pnas.1136624100.
56. Johnston MV, Ferriero DM, Vannucci SJ, Hagberg H. Models of cerebral palsy: which ones are best? *J Child Neurol*. 2005;20(12):984–987. doi: 10.1177/08830738050200121001.
57. McDonald JW, Trescher WH, Johnston MV. Susceptibility of brain to AMPA induced excitotoxicity transiently peaks during early postnatal development. *Brain Res*. 1992;583(1–2):54–70. doi: 10.1016/s0006-8993(10)80009-5.
58. Dammann O, O'Shea TM. Cytokines and perinatal brain damage. *Clin Perinatol*. 2008;35(4):643–663. doi: 10.1016/j.clp.2008.07.011.
59. Bartha AI, Foster-Barber A, Miller SP, et al. Neonatal encephalopathy: association of cytokines with MR spectroscopy and outcome. *Pediatr Res*. 2004;56(6):960–966. doi: 10.1203/01.pdr.0000144819.45689.bb.
60. Bona E, Andersson AL, Blomgren K, et al. Chemokine and inflammatory cell response to hypoxia-ischemia in immature rats. *Pediatr Res*. 1999;45(4 Pt 1):500–509. doi: 10.1203/00006450-199904010-00008.
61. Hedtjarn M, Mallard C, Hagberg H. Inflammatory gene profiling in the developing mouse brain after hypoxia-ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2004;24(12):1333–1351. doi: 10.1097/01.wcb.0000141559.17620.36.
62. Wang X, Hagberg H, Nie C, et al. Dual role of intrauterine immune challenge on neonatal and adult brain vulnerability to hypoxia-ischemia. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2007;66(6):552–561. doi: 10.1097/01.jnen.0000263870.91811.6f.
63. Lafemina MJ, Sheldon RA, Ferriero DM. Acute hypoxia-ischemia results in hydrogen peroxide accumulation in neonatal but not adult mouse brain. *Pediatr Res*. 2006;59(5):680–683. doi: 10.1203/01.pdr.0000214891.35363.6a.
64. Hagberg H, Andersson P, Lacarewicz J, et al. Extracellular adenosine, inosine, hypoxanthine, and xanthine in relation to tissue nucleotides and purines in rat striatum during transient ischemia. *J Neurochem*. 1987;49(1):227–231. doi: 10.1111/j.1471-4159.1987.tb03419.x.

65. Guglielmotto M, Aragno M, Autelli R, et al. The up-regulation of BACE1 mediated by hypoxia and ischemic injury: role of oxidative stress and HIF1alpha. *J Neurochem*. 2009;108(4):1045–1056. doi: 10.1111/j.1471-4159.2008.05858.x.
66. Vinas JL, Sola A, Hotter G. Mitochondrial NOS upregulation during renal I/R causes apoptosis in a peroxynitrite-dependent manner. *Kidney Int*. 2006;69(8):1403–1409. doi: 10.1038/sj.ki.5000361.
67. Ishida A, Ishiwa S, Trescher WH, et al. Delayed increase in neuronal nitric oxide synthase immunoreactivity in thalamus and other brain regions after hypoxic-ischemic injury in neonatal rats. *Exp Neurol*. 2001;168(2):323–333. doi: 10.1006/exnr.2000.7606.
68. Boya P, Gonzalez-Polo RA, Poncet D, et al. Mitochondrial membrane permeabilization is a critical step of lysosome-initiated apoptosis induced by hydroxychloroquine. *Oncogene*. 2003;22(25): 3927–3936. doi: 10.1038/sj.onc.1206622.
69. Ferriero DM, Holtzman DM, Black SM, Sheldon RA. Neonatal mice lacking neuronal nitric oxide synthase are less vulnerable to hypoxic-ischemic injury. *Neurobiol Dis*. 1996;3(1):64–71. doi: 10.1006/nbdi.1996.0006.
70. Muramatsu K, Sheldon RA, Black SM, et al. Nitric oxide synthase activity and inhibition after neonatal hypoxia ischemia in the mouse brain. *Brain Res Dev*. 2000;123(2):119–127. doi: 10.1016/s0165-3806(00)00088-2.
71. Kaminski A, Kasch C, Zhang L, et al. Endothelial nitric oxide synthase mediates protective effects of hypoxic preconditioning in lungs. *Respir Physiol Neurobiol*. 2007;155(3):280–285. doi: 10.1016/j.resp.2006.06.005.
72. Huang Z, Huang PL, Ma J, et al. Enlarged infarcts in endothelial nitric oxide synthase knockout mice are attenuated by nitro-L-arginine. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1996;16(5):981–987. doi: 10.1097/00004647-199609000-00023.
73. Van Laerhoven H, de Haan TR, Offringa M, et al. Prognostic tests in term neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy: a systematic review. *Pediatrics*. 2013;131(1):88–98. doi: 10.1542/peds.2012-1297.
74. Lv H, Wang Q, Wu S, et al. Neonatal hypoxic ischemic encephalopathy-related biomarkers in serum and cerebrospinal fluid. *Clin Chim Acta*. 2015;450:282–297. doi: 10.1016/j.cca.2015.08.021.
75. clinicaltrials.gov [Internet]. Study Record Detail. Developmental Outcomes [cited 2016 Sep 9]. Available from: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02264808?term=Cord+Blood++HIE&rank=11.
76. Nanavati T, Seemaladinne N, Regier M, et al. Can we predict functional outcome in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy by the combination of neuroimaging and electroencephalography? *Pediatr Neonatol*. 2015;56(5):307–316. doi: 10.1016/j.pedneo.2014.12.005.
77. clinicaltrials.gov [Internet]. Study Record Detail. BiHiVE2 Study. The Investigation and Validation of Predictive Biomarkers in Hypoxic-ischaemic Encephalopathy. (BiHiVE2) [cited 2016 Sep 9]. Available from: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02019147?term=Cord+Blood++HIE&rank=9.
78. Wang B, Armstrong JS, Reyes M, et al. White matter apoptosis is increased by delayed hypothermia and rewarming in a neonatal piglet model of hypoxic ischemic encephalopathy. *Neuroscience*. 2016;316:296–310. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.12.046.
79. Wassink G, Gunn ER, Drury PP, et al. The mechanisms and treatment of asphyxial encephalopathy. *Front Neurosci*. 2014;8:40. doi: 10.3389/fnins.2014.00040.
80. Kimura A, Sakurada S, Ohkuni H, et al. Moderate hypothermia delays proinflammatory cytokine production of human peripheral blood mononuclear cells. *Crit Care Med*. 2002;30(7):1499–1502. doi: 10.1097/00003246-200207000-00017.
81. Rossouw G, Irlam J, Horn AR. Therapeutic hypothermia for hypoxic ischaemic encephalopathy using low-technology methods: a systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatr*. 2015; 104(12):1217–1228. doi: 10.1111/apa.1283.
82. Shah PS. Hypothermia: a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2010;15(5):238–246. doi: 10.1016/j.siny.2010.02.003.
83. Azzopardi D, Strohm B, Edwards AD, et al. Steering Group and TOBY Cooling Register participants. Treatment of asphyxiated newborns with moderate hypothermia in routine clinical practice: how cooling is managed in the UK outside a clinical trial. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2009;94(4):F260–264. doi: 10.1136/adc.2008.146977.
84. Azzopardi D, Strohm B, Linsell L, et al. Implementation and conduct of therapeutic hypothermia for perinatal asphyxial encephalopathy in the UK-analysis of national data. *PLoS One*. 2012; 7(6):e38504. doi: 10.1371/journal.pone.0038504.
85. Osredkar D, Thoresen M, Maes E, et al. Hypothermia is not neuroprotective after infection-sensitized neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Resuscitation*. 2014;85(4):567–572. doi: 10.1016/j.resuscitation.2013.12.006.
86. Villa P, Bigini P, Mennini T, et al. Erythropoietin selectively attenuates cytokine production and inflammation in cerebral ischemia by targeting neuronal apoptosis. *J Exp Med*. 2003;198(6):971–975. doi: 10.1084/jem.20021067.
87. Wang L, Zhang Z, Wang Y, et al. Treatment of stroke with erythropoietin enhances neurogenesis and angiogenesis and improves neurological function in rats. *Stroke*. 2004;35(7):1732–1737. doi: 10.1161/01.str.0000132196.49028.a4.
88. Juul SE. Hypothermia plus erythropoietin for neonatal neuroprotection? *Pediatr Res*. 2013;73(1):10–11. doi: 10.1038/pr.2012.148.
89. Juul SE, Yachnis AT, Rojiani AM, Christensen RD. Immunohistochemical localization of erythropoietin and its receptor in the developing human brain. *Pediatr Dev Pathol*. 1999;2(2):148–158. doi: 10.1007/s100249900103.
90. Wu YW, Bauer LA, Ballard RA, et al. Erythropoietin for neuroprotection in neonatal encephalopathy: safety and pharmacokinetics. *Pediatrics*. 2012;130(4):683–691. doi: 10.1542/peds.2012-0498.
91. Kumral A, Uysal N, Tugyan K, et al. Erythropoietin improves long-term spatial memory deficits and brain injury following neonatal hypoxia-ischemia in rats. *Behav Brain Res*. 2004;153(1):77–86. doi: 10.1016/j.bbr.2003.11.002.
92. Gonzalez FF, Abel R, Almli CR, et al. Erythropoietin sustains cognitive function and brain volume after neonatal stroke. *Dev Neurosci*. 2009;31(5):403–411. doi: 10.1159/000232558.
93. Zhu C, Kang W, Xu F, et al. Erythropoietin improved neurologic outcomes in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics*. 2009;124(2):e218–226. doi: 10.1542/peds.2008-3553.
94. Rogers EE, Bonifacio SL, Glass HC, et al. Erythropoietin and hypothermia for hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatr Neurol*. 2014;51(5):657–662. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2014.08.010.
95. Elmahdy H, El-Mashad AR, El-Bahrawy H, et al. Human recombinant erythropoietin in asphyxia neonatorum: pilot trial. *Pediatrics*. 2010;125(5):e1135–1142. doi: 10.1542/peds.2009-2268.
96. clinicaltrials.gov [Internet]. Study Record Detail. Neonatal Erythropoietin And Therapeutic Hypothermia Outcomes in Newborn Brain Injury (NEATO) (NEATO) [cited 2016 Sep 9]. Available from: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01913340.
97. clinicaltrials.gov [Internet]. Study Record Detail. Efficacy of Erythropoietin to Improve Survival and Neurological Outcome in Hypoxic Ischemic Encephalopathy (Neurepo) [cited 2016 Sep 9]. Available from: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01732146.
98. Leuchter RH, Gui L, Poncet A, et al. Association between early administration of high-dose erythropoietin in preterm infants and brain MRI abnormality at term-equivalent age. *JAMA*. 2014;312(8): 817–824. doi: 10.1001/jama.2014.9645.
99. Ohls RK, Kamath-Rayne BD, Christensen RD, et al. Cognitive outcomes of preterm infants randomized to darbepoetin, erythropoietin, or placebo. *Pediatrics*. 2014;133(6):1023–1030. doi: 10.1542/peds.2013-4307.
100. Dworschak M. Pharmacologic neuroprotection-is xenon the light at the end of the tunnel? *Crit Care Med*. 2008;36(8): 2477–2479. doi: 10.1097/ccm.0b013e31818113d2.
101. Istaphanous GK, Loepke AW. General anesthetics and the developing brain. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2009;22(3):368–373. doi: 10.1097/aco.0b013e3283294c9e.
102. David HN, Haelewyn B, Rouillon C, et al. Neuroprotective effects of xenon: a therapeutic window of opportunity in rats subjected to transient cerebral ischemia. *FASEB J*. 2008;22(4):1275–1286. doi: 10.1096/fj.07-9420com.
103. Ma D, Hossain M, Chow A, et al. Xenon and hypothermia combine to provide neuroprotection from neonatal asphyxia. *Ann Neurol*. 2005;58(2):182–193. doi: 10.1002/ana.20547.
104. Thoresen M, Hobbs CE, Wood T, et al. Cooling combined with immediate or delayed xenon inhalation provides equivalent long-term neuroprotection after neonatal hypoxia-ischemia. *Cereb Blood Flow Metab*. 2009;29(4):707–714. doi: 10.1038/jcbfm.2008.163.

105. Dingley J, Tooley J, Liu X, et al. Xenon ventilation during therapeutic hypothermia in neonatal encephalopathy: a feasibility study. *Pediatrics*. 2014;133(5):809–818. doi: 10.1542/peds.2013-0787.
106. Azzopardi D, Robertson NJ, Bainbridge A, et al. Moderate hypothermia within 6 h of birth plus inhaled xenon versus moderate hypothermia alone after birth asphyxia (TOBY-Xe): a proof-of-concept, open-label, randomised controlled trial. *Lancet Neurol*. 2016;(15)2:145–153. doi: 10.1016/s1474-4422(15)00347-6.
107. Alonso-Alconada D, Alvarez A, Arteaga O, et al. Neuroprotective effect of melatonin: a novel therapy against perinatal hypoxia-ischemia. *Int J Mol Sci*. 2013;14(5):9379–9395. doi: 10.3390/ijms14059379.
108. Carloni S, Perrone S, Buonocore G, et al. Melatonin protects from the long-term consequences of a neonatal hypoxic-ischemic brain injury in rats. *J Pineal Res*. 2008;44(2):157–164. doi: 10.1111/j.1600-079x.2007.00503.x.
109. Robertson NJ, Faulkner S, Fleiss B, et al. Melatonin augments hypothermic neuroprotection in a perinatal asphyxia model. *Brain*. 2013;136(1):90–105. doi: 10.1093/brain/aws285.
110. Aly H, Elmahdy H, El-Dib M, et al. Melatonin use for neuroprotection in perinatal asphyxia: a randomized controlled pilot study. *J Perinatol*. 2015;35(3):186–191. doi: 10.1038/jp.2014.186.
111. Merchant NM, Azzopardi DV, Hawwa AF, McElnay JC, Middleton B, et al. Pharmacokinetics of melatonin in preterm infants. *Br J Clin Pharmacol*. 2013;76(5):725–33.
112. Zalewska T, Jaworska J, Ziemka-Nalecz M. Current and experimental pharmacological approaches in neonatal hypoxic- ischemic encephalopathy. *Curr Pharm Des*. 2015;21(11):1433–1439. doi: 10.2174/1381612820999141029162457.
113. Shea KL, Palanisamy A. What can you do to protect the newborn brain? *Curr Opin Anaesthesiol*. 2015;28(3):261–266. doi: 10.1097/aco.0000000000000184.
114. Liao Y, Cotten M, Tan S, et al. Rescuing the neonatal brain from hypoxic injury with autologous cord blood. *Bone Marrow Transplant*. 2013;48(7):890–900. doi: 10.1038/bmt.2012.169.
115. Sun J, Allison J, McLaughlin C, 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*. 2010;50(9):1980–1987. doi: 10.1111/j.1537-2995.2010.02720.x.
116. Escolar ML, Poe MD, Provenzale JM, et al. Transplantation of umbilical-cord blood in babies with infantile Krabbe's disease. *N Engl J Med*. 2005;352(20):2069–2081. doi: 10.1056/nejmoa042604.
117. Cotten CM, Murtha AP, Goldberg RN, et al. Feasibility of autologous cord blood cells for infants with hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Pediatr*. 2014;164(5):973–979.e1. doi: 10.1016/j.jpeds.2013.11.036.
118. clinicaltrials.gov [Internet]. Study Record Detail. Cord Blood for Neonatal Hypoxic-ischemic Encephalopathy [cited 2016 Sep 9]. Available from: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00593242?term=NCT00593242&rank=1.
119. clinicaltrials.gov [Internet]. Study Record Detail. Autologous Cord Blood Cell Therapy for Neonatal Encephalopathy [cited 2016 Sep 9]. Available from: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02256618?term=Cord+Blood++HIE&rank=7.
120. clinicaltrials.gov [Internet]. Study Record Detail. Autologous Cord Blood and Human Placental Derived Stem Cells in Neonates With Severe Hypoxic-Ischemic Encephalopathy (HPDSC+HIE) [cited 2016 Sep 9]. Available from: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02434965?term=Cord+Blood++HIE&rank=2.
121. clinicaltrials.gov [Internet]. Study Record Detail. Cytokines Associated With Cord Blood Cell Therapy for Neonatal Encephalopathy [cited 2016 Sep 9]. Available from: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02455830?term=Cord+Blood++HIE&rank=8.
122. Doycheva D, Shih G, Chen H, et al. Granulocyte-colony stimulating factor in combination with stem cell factor confers greater neuroprotection after hypoxic-ischemic brain damage in the neonatal rats than a solitary treatment. *Transl Stroke Res*. 2013;4(2):171–178. doi: 10.1007/s12975-012-0225-2.
123. Katsuragi S, Ikeda T, Date I, et al. Implantation of encapsulated glial cell line-derived neurotrophic factor-secreting cells prevents long-lasting learning impairment following neonatal hypoxic-ischemic brain insult in rats. *Am J Obstet Gynecol*. 2005;192(4):1028–1037. doi: 10.1016/j.ajog.2004.09.099.
124. Shank RP, Gardocki JF, Streeter AJ, Maryanoff BE. An overview of the preclinical aspects of topiramate: pharmacology, pharmacokinetics, and mechanism of action. *Epilepsia*. 2000;41 Suppl 1:S3–9. doi: 10.1111/j.1528-1157.2000.tb02163.x.
125. Ozyener F, Cetinkaya M, Alkan T, et al. Neuroprotective effects of melatonin administered alone or in combination with topiramate in neonatal hypoxic-ischemic rat model. *Restor Neurol Neurosci*. 2012;30(5):435–444.
126. Noh MR, Kim SK, Sun W, et al. Neuroprotective effect of topiramate on hypoxic ischemic brain injury in neonatal rats. *Exp Neurol*. 2006;201(2):470–478. doi: 10.1016/j.expneurol.2006.04.038.
127. Sfaello I, Baud O, Arzimanoglou A, Gressens P. Topiramate prevents excitotoxic damage in the newborn rodent brain. *Neurobiol Dis*. 2005;20(3):837–848. doi: 10.1016/j.nbd.2005.05.019.
128. Filippi L, Fiorini P, Daniotti M, et al. Safety and efficacy of topiramate in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy treated with hypothermia (NeoNATI). *BMC Pediatr*. 2012;12:144. doi: 10.1186/1471-2431-12-144.
129. clinicaltrials.gov [Internet]. Study Record Detail. Topiramate in Neonates Receiving Whole Body Cooling for Hypoxic Ischemic Encephalopathy [cited 2016 Sep 9]. Available from: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01765218?term=NCT01765218&rank=1.
130. Zeevalk GD, Nicklas WJ. Evidence that the loss of the voltage-dependent Mg2+ block at the N-methyl-D-aspartate receptor underlies receptor activation during inhibition of neuronal metabolism. *J Neurochem*. 1992;59(4):1211–1220. doi: 10.1111/j.1471-4159.1992.tb08430.x.
131. Sugimoto J, Romani AM, Valentin-Torres AM, et al. Magnesium decreases inflammatory cytokine production: a novel innate immunomodulatory mechanism. *J Immunol*. 2012;188(12):6338–6346. doi: 10.4049/jimmunol.1101765.
132. Hoffman DJ, Marro PJ, McGowan JE, et al. Protective effect of MgSO4 infusion on nmda receptor binding characteristics during cerebral cortical hypoxia in the newborn piglet. *Brain Res*. 1994;644(1):144–149. doi: 10.1016/0006-8993(94)90357-3.
133. Shokry M, Elsedfy GO, Bassiouny MM, et al. Effects of antenatal magnesium sulfate therapy on cerebral and systemic hemodynamics in preterm newborns. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2010;89(6):801–806. doi: 10.3109/00016341003739542.
134. Conde-Agudelo A, Romero R. Antenatal magnesium sulfate for the prevention of cerebral palsy in preterm infants less than 34 weeks' gestation: a systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol*. 2009;200(6):595–609. doi: 10.1016/j.ajog.2009.04.005.
135. Zhu H, Meloni BP, Bojarski C, et al. Post-ischemic modest hypothermia (35 degrees C) combined with intravenous magnesium is more effective at reducing CA1 neuronal death than either treatment used alone following global cerebral ischemia in rats. *Exp Neurol*. 2005;193(2):361–368. doi: 10.1016/j.expneurol.2005.01.022.
136. Tataranno ML, Perrone S, Longini M, Buonocore G. New antioxidant drugs for neonatal brain injury. *Oxid Med Cell Longev*. 2015;2015:108251. doi: 10.1155/2015/108251.
137. Ovbiagele B, Kidwell CS, Starkman S, Saver JL. Potential role of neuroprotective agents in the treatment of patients with acute ischemic stroke. *Curr Treat Options Neurol.* 2003;5(5):367–375. doi: 10.1007/s11940-003-0027-7.
138. Costantine MM, Weiner SJ. Effects of antenatal exposure to magnesium sulfate on neuroprotection and mortality in preterm infants: a meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 2009;114(2 Pt 1):354–364. doi: 10.1097/aog.0b013e3181ae98c2.
139. Magee L, Sawchuck D, Synnes A, et al. Magnesium sulphate for fetal neuroprotection. *J Obstet Gynaecol Can*. 2011;33(5):516–529. doi: 10.1016/S1701-2163(16)34886-1.
140. Ramsey PS, Rouse DJ. Magnesium sulfate as a tocolytic agent. *Semin Perinatol*. 2001;25(4):236–247. doi: 10.1053/sper.2001.27546.
141. Galinsky R, Bennet L, Groenendaal F, et al. Magnesium is not consistently neuroprotective for perinatal hypoxia-ischemia in term-equivalent models in preclinical studies: a systematic review. *Dev Neurosci*. 2014;36(2):73–82. doi: 10.1159/000362206.
142. clinicaltrials.gov [Internet]. Study Record Detail. Efficacy Study of Hypothermia Plus Magnesium Sulphate(MgSO4) in the Management of Term and Near Term Babies With Hypoxic Ischemic Encephalopathy (MagCool) [cited 2016 Sep 9]. Available from: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01646619?term=NCT01646619&rank=1.

143. Levene M, Blennow M, Whitelaw A, et al. Acute effects of two different doses of magnesium sulphate in infants with birth asphyxia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1995;73(3):F174–177. doi: 10.1136/fn.73.3.f174.
144. Robertson NJ, Tan S, Groenendaal F, et al. Which neuroprotective agents are ready for bench to bedside translation in the newborn infant? *J Pediatr*. 2012;160(4):544–552.e4. doi: 10.1016/j.jpeds.2011.12.052.
145. Peeters-Scholte C, Braun K, Koster J, et al. Effects of allopurinol and deferoxamine on reperfusion injury of the brain in newborn piglets after neonatal hypoxia-ischemia. *Pediatr Res*. 2003;54(4):516–522. doi: 10.1203/01.pdr.0000081297.53793.c6.
146. Marro PJ, Mishra OP, Delivoria-Papadopoulos M. Effect of allopurinol on brain adenosine levels during hypoxia in newborn piglets. *Brain Res*. 2006;1073–1074:444–450. doi: 10.1016/j.brainres.2005.11.061.
147. Palmer C, Towfighi J, Roberts RL, Heitjan DF. Allopurinol administered after inducing hypoxia-ischemia reduces brain injury in 7-day-old rats. *Pediatr Res*. 1993;33(4):405–411. doi: 10.1203/00006450-199333040-00018.
148. Peeters C, Hoelen D, Groenendaal F, et al. Deferoxamine, allopurinol and oxypurinol are not neuroprotective after oxygen/glucose deprivation in an organotypic hippocampal model, lacking functional endothelial cells. *Brain Res*. 2003;963(1–2):72–80. doi: 10.1016/s0006-8993(02)03843-x.
149. Benders MJ, Bos AF, Rademaker CM, et al. Early postnatal allopurinol does not improve short term outcome after severe birth asphyxia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2006;91(3):F163–165. doi: 10.1136/adc.2005.086652.
150. Kaandorp JJ, van Bel F, Veen S, et al. Long-term neuroprotective effects of allopurinol after moderate perinatal asphyxia: follow-up of two randomised controlled trials. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2012;97(3):F162–166. doi: 10.1136/archdischild-2011-300356.
151. Juul SE, Ferriero DM. Pharmacologic neuroprotective strategies in neonatal brain injury. *Clin Perinatol*. 2014 Mar;41(1):119–131. doi: 10.1016/j.clp.2013.09.004.
152. Kaandorp JJ, Benders MJ, Schuit E, et al. Maternal allopurinol administration during suspected fetal hypoxia: a novel neuroprotective intervention? A multicentre randomised placebo controlled trial. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2015;100(3):F216–223. doi: 10.1136/archdischild-2014-306769.
153. Torrance HL, Benders MJ, Derks JB, et al. Maternal allopurinol during fetal hypoxia lowers cord blood levels of the brain injury marker S100B. *Pediatrics*. 2009;124(1):350–357. doi: 10.1542/peds.2008-2228.
154. Gunes T, Ozturk MA, Koklu E, et al. Effect of allopurinol supplementation on nitric oxide levels in asphyxiated newborns. *Pediatr Neurol*. 2007;36(1):17–24. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2006.08.005.
155. Lee TF, Tymafichuk CN, Bigam DL, Cheung PY. Effects of postresuscitation N-acetylcysteine on cerebral free radical production and perfusion during reoxygenation of hypoxic newborn piglets. *Pediatr Res*. 2008;64(3):256–261. doi: 10.1203/pdr.0b013e31817cfcc0.
156. Aremu DA, Madejczyk MS, Ballatori N. N-acetylcysteine as a potential antidote and biomonitoring agent of methylmercury exposure. *Environ Health Perspect*. 2008;116(1):26–31. doi: 10.1289/ehp.10383.
157. Wang X, Svedin P, Nie C, et al. N-acetylcysteine reduces lipopolysaccharide-sensitized hypoxic-ischemic brain injury. *Ann Neurol*. 2007;61(3):263–271. doi: 10.1002/ana.21066.
158. Jenkins DD, Wiest DB, Mulvihill DM, et al. Fetal and neonatal effects of n-acetylcysteine when used for neuroprotection in maternal chorioamnionitis. *J Pediatr*. 2016;168:67–76.e6. doi: 10.1016/j.jpeds.2015.09.076.
159. Marzocchi B, Perrone S, Paffetti P, et al. Nonprotein-bound iron and plasma protein oxidative stress at birth. *Pediatr Res*. 2005;58(6):1295–1299. doi: 10.1203/01.pdr.0000183658.17854.28.
160. Wayenberg JL, Ransy V, Vermeylen D, et al. Nitrated plasma albumin as a marker of nitrative stress and neonatal encephalopathy in perinatal asphyxia. *Free Radic Biol Med*. 2009;47(7):975–982. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.07.003.
161. Liu Y, Belayev L, Zhao W, et al. Neuroprotective effect of treatment with human albumin in permanent focal cerebral ischemia: histopathology and cortical perfusion studies. *Eur J Pharmacol*. 2001;428(2):193–201. doi: 10.1016/s0014-2999(01)01255-9.
162. Ginsberg MD, Hill MD, Palesch YY, et al. The ALIAS Pilot Trial: a dose-escalation and safety study of albumin therapy for acute ischemic stroke I: Physiological responses and safety results. *Stroke*. 2006;37(8):2100–2106. doi: 10.1161/01.str.0000231388.72646.05.
163. van Velthoven CT, Heijnen CJ, van Bel F, Kavelaars A. Osteopontin enhances endogenous repair after neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Stroke*. 2011;42(8):2294–2301. doi: 10.1161/strokeaha.110.608315.
164. Chen W, Ma Q, Suzuki H, et al. Osteopontin reduced hypoxia-ischemia neonatal brain injury by suppression of apoptosis in a rat pup model. *Stroke*. 2011;42(3):764–769. doi: 10.1161/strokeaha.110.599118.
165. Albertsson AM, Zhang X, Leavenworth J, et al. The effect of osteopontin and osteopontin-derived peptides on preterm brain injury. *J Neuroinflammation*. 2014;11:197. doi: 10.1186/s12974-014-0197-0.
166. Bonestroo HJ, Nijboer CH, van Velthoven CT, et al. The neonatal brain is not protected by osteopontin peptide treatment after hypoxia-ischemia. *Dev Neurosci*. 2015;37(2):142–152. doi: 10.1159/000369093.
167. Fathali N, Khatibi NH, Ostrowski RP, Zhang JH. *The evolving landscape of neuroinflammation after neonatal hypoxia-ischemia*. In: Zhang J, Colohan A, editors. *Intracerebral hemorrhage research. Acta Neurochirurgica Supplementum*. V. 111. Vienna: Springer Vienna; 2011. p. 93–100. doi: 10.1007/978-3-7091-0693-8_15.
168. Veldhuis WB, Floris S, van der Meide PH, et al. Interferon-beta prevents cytokine-induced neutrophil infiltration and attenuates blood-brain barrier disruption. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2003;23(9):1060–1069. doi: 10.1097/01.wcb.0000080701.47016.24.
169. Inacio AR, Liu Y, Clausen BH, et al. Endogenous IFN-β signaling exerts anti-inflammatory actions in experimentally induced focal cerebral ischemia. *J Neuroinflammation*. 2015;12:211. doi: 10.1186/s12974-015-0427-0.
170. Maier CM, Yu F, Nishi T, et al. Interferon-beta fails to protect in a model of transient focal stroke. *Stroke*. 2006;37(4):1116–1119. doi: 10.1161/01.str.0000208214.46093.d5.
171. Bogoyevitch MA, Boehm I, Oakley A, et al. Targeting the JNK MAPK cascade for inhibition: basic science and therapeutic potential. *Biochim Biophys Acta*. 2004;1697(1–2):89–101. doi: 10.1016/j.bbapap.2003.11.016.
172. Dhanasekaran DN, Reddy EP. JNK signaling in apoptosis. *Oncogene*. 2008;27(48):6245–6251. doi: 10.1038/onc.2008.301.
173. Nijboer CH, Heijnen CJ, Groenendaal F, et al. Alternate pathways preserve tumor necrosis factor-alpha production after nuclear factor-kappa B inhibition in neonatal cerebral hypoxia-ischemia. *Stroke*. 2009;40(10):3362–3368. doi: 10.1161/strokeaha.109.560250.
174. Nijboer CH, Bonestroo HJ, Zijlstra J, et al. Mitochondrial JNK phosphorylation as a novel therapeutic target to inhibit neuroinflammation and apoptosis after neonatal ischemic brain damage. *Neurobiol Dis*. 2013;54:432–444. doi: 10.1016/j.nbd.2013.01.017.
175. Noor JI, Ikeda T, Mishima K, et al. Short-term administration of a new free radical scavenger, Edaravone, is more effective than its long-term administration for the treatment of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Stroke*. 2005;36(11):2468–2474. doi: 10.1161/01.str.0000185653.49740.c6.
176. Takizawa Y, Miyazawa T, Nonoyama S, et al. Edaravone inhibits DNA peroxidation and neuronal cell death in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy model rat. *Pediatr Res*. 2009;65(6):636–641. doi: 10.1203/pdr.0b013e3181a16a9f.
177. Noor JI, Ueda Y, Ikeda T, Ikenoue T. Edaravone inhibits lipid peroxidation in neonatal hypoxic-ischemic rats: an in vivo microdialysis study. *Neurosci Lett*. 2007;414(1):5–9. doi: 10.1016/j.neulet.2006.10.024.
178. Ni X, Yang ZJ, Carter EL, et al. Striatal neuroprotection from neonatal hypoxia-ischemia in piglets by antioxidant treatment with EUK-134 or Edaravone. *Dev Neurosci*. 2011;33(3–4):299–311. doi: 10.1159/000327243.