

Hipotermia lecznicza w encefalopatii niedokrwienno-niedotlenieniowej u noworodka

Therapeutic hypothermia for neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy

Gulczyńska Ewa¹, Gadzinowski Janusz^{2,1}

¹ Klinika Neonatologii ICZMP w Łodzi, Polska

² Katedra i Klinika Neonatologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, Polska

Streszczenie

Zmiany niedotlenieniowo-niedokrwienne w okresie okołoporodowym prowadzą w konsekwencji do encefalopatii noworodka i są głównym czynnikiem odpowiedzialnym za występowanie mózgowego porażenia dziecięcego i deficytów neurorozwojowych. W ostatnim dwudziestoleciu dokonano się znaczący postęp w zakresie badań nad encefalopatią niedotlenieniowo-niedokrwieną. Opisano wiele nowych mechanizmów niedotlenienia występujących na poziomie molekularnym. Pomimo tych osiągnięć, możliwość skutecznego leczenia noworodków z niedotlenieniem okołoporodowym są nadal ograniczone. W ostatnich latach wykazano, iż jedyną interwencją mogącą faktycznie poprawić wyniki neurologiczne w tej grupie wiekowej jest umiarkowana hipotermia lecznicza.

W pracy autorzy prezentują patogenezę zmian niedokrwienno-niedotlenieniowych, wyniki badań nad hipotermią prowadzonych na modelach zwierzęcych oraz pierwsze publikacje dotyczące zastosowania hipotermii leczniczej u noworodków. Dyskutowane są także kryteria diagnostyczne encefalopatii u noworodków donoszonych oraz kryteria kwalifikacji do hipotermii leczniczej. Prezentowane są także wyniki badań z randomizacją dotyczących zastosowania hipotermii w grupie noworodków donoszonych i tzw. „późnych wcześniaków” oraz wyniki ich meta-analiz. W podsumowaniu przedstawiono aktualnie prowadzone badania nad hipotermią a także stan zaawansowania wdrażania hipotermii leczniczej u noworodków z encefalopatią niedotlenieniowo-niedokrwieną w Polsce.

Słowa kluczowe: **noworodek / selektywne chłodzenie głowy /
/ hipotermia całego ciała / encefalografia niedokrwienno-niedotlenieniowa /**

Adres do korespondencji:

Ewa Gulczyńska
Klinika Neonatologii ICZMP
Polska, 93-338 Łódź, ul. Rzgowska 281/289
tel./fax: +42 271 16 78
e-mail: ewagulcz@wp.pl

Otrzymano: 17.10.2011
Zaakceptowano do druku: 22.02.2012

Gulczyńska E, et al.

Summary

Hypoxia-ischemia in the perinatal period is a serious condition affecting infants, which can result in death and cerebral palsy and associated disabilities. There has been significant research progress in hypoxic-ischemic encephalopathy over the last 2 decades. Many new molecular mechanisms of asphyxia have been identified. Despite all these advances, therapeutic interventions in HIE remain to be limited. Recently it has been revealed that mild therapeutic hypothermia is the only modality shown to improve neurologic outcome.

The authors present a summary of pathogenesis of HIE, animal studies of cooling for hypoxic and ischemic models, and first publications on human therapeutic hypothermia trials. The diagnosis of encephalopathy in full-term neonates and enrollment criteria for hypothermia are also discussed. The current data from randomized control trials of hypothermia as neuroprotection for full and near-term infants are presented along with the results of meta-analyses of these trials. Finally, the status of ongoing neonatal hypothermia trials as well as status of therapeutic hypothermia in Poland is summarized.

Key words: newborn / selective head cooling / whole body cooling / hypoxic-ischemic encephalopathy /

Niedotlenienie okołoporodowe prowadzące w konsekwencji do encefalopatii niedokrwiennie-niedotlenieniowej jest głównym czynnikiem odpowiedzialnym za występowanie mózgowego porażenia dziecięcego i deficytów neurorozwojowych w grupie noworodków donoszonych i tzw. „późnych wcześniaków”. Częstość występowania encefalopatii niedokrwiennie-niedotlenieniowej szacuje się na ok. 2-6 / 1000 żywo urodzonych. 15-20% noworodków umiera a u 25 % stwierdzone są trwałe uszkodzenia neurologiczne. [1, 2]

Na przestrzeni wieków w resuscytacji noworodków urodzonych z cechami niedotlenienia okołoporodowego stosowano różnorodne metody. W czasach braku jasnych rekomendacji jedną z nich, powszechnie wykorzystywaną w różnych regionach świata było polewanie lub nawet zanurzanie całego noworodka w zimnej wodzie. [1] Metodą taką posługiwała się w latach sześćdziesiątych dwudziestego stulecia również Virginia Apgar. W takim postępowaniu wykorzystywany był raczej krótkotrwały efekt bodźca termicznego i bólowego, który miał stymulować ośrodek oddechowy. Na korzystne efekty hipotermii wskazywały jednak także incydentalne opisy zaskakująco efektywnych resuscytacji po długich okresach niedotlenienia przebytych w środowiskach niskich temperatur, głównie po utonięciach w zimie. [3]

W erze powstawania oddziałów intensywnej terapii noworodka, pojawiły się możliwości kontynuacji leczenia dzieci urodzonych z objawami niedotlenienia okołoporodowego. Kolejne wdrażane metody takie jak: hiperwentylacja, diureza osmotyczna, steroidoterapia, w szerszej zakrojonych badaniach okazywały się jednak nieefektywne lub nawet szkodliwe. Już w bieżącym dziesięcioleciu w bibliotece *Cochrane Library* ukazały się meta-analzy oceniające skuteczność leków stosowanych u dzieci urodzonych w zamartwicy takich jak: allopurinol, leki p/drgawkowe, nalokson [4-9]. Żadna z przedstawionych analiz nie potwierdziła ich korzystnych efektów neuroprotektoryjnych.

Korzystne efekty hipotermii wykazane pod koniec dwudziestego stulecia w badaniach nad biochemicznymi efektami niedotlenienia OUN były podstawą do wdrażania hipotermii w grupie noworodków urodzonych z objawami niedotlenienia okołoporodowego [10-11].

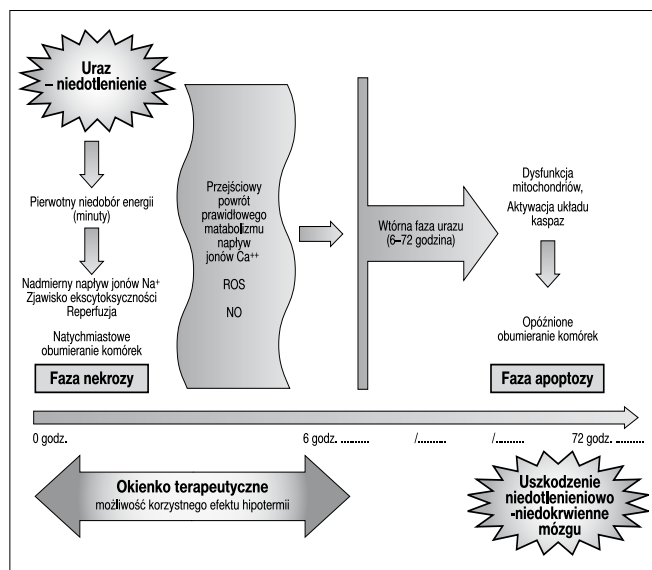
Wiadomo, iż w wyniku ciężkiego urazu niedotlenieniowego występują dwie fazy uszkodzeń biochemicznych. W początkowej fazie dochodzi do natychmiastowego obumierania neuronów (zjawisko nekrozy). Po okresie reperfuzji następuje okres utajenia z krótkotrwałym powrotem metabolizmu energetycznego mózgu. W końcowym efekcie dochodzi do wtórnej fazy niekorzystnych i kaskadowo narastających zjawisk biochemicznych (kumulacja cytotoksyn, obrzęk mózgu, niewydolność mechanizmów oksydacyjnych) prowadzących do opóźnionego obumierania neuronów na drodze apoptozy. Faza latentna pomiędzy pierwotnym urazem i fazą wtórną będąca jednocześnie tzw. okienkiem terapeutycznym trwa średnio ok. 6 godzin. Wykazano, iż czas trwania fazy latentnej jest odwrotnie proporcjonalny do nasilenia urazu niedokrwiennie-niedotlenieniowego, im cięższy uraz okołoporodowy tym krótsze okienko terapeutyczne, większy wtórny spadek produkcji energii w mitochondriach, oraz bardziej nasiloną martwicę neuronów [11-12].

Pierwsze badania kliniczne nad hipotermią u noworodków zwierzęcych (małp, psów i kotów) i ludzkich zdawały się nie potwierdzać oczekiwanych efektów [13-16]. Stosowane początkowo, docelowe temperatury chłodzenia, jak również szybkość wprowadzania i wyprowadzania z hipotermii rzutowały na niezadawalające wyniki eksperymentów.

Kolejne badania dotyczące efektów biochemicznych i zmian patomorfologicznych, prowadzone na modelach zwierzęcych (psy, szczury, prosięta) poddanych niedotlenieniu w warunkach eksperymentu a następnie prowadzonych w warunkach hipotermii w pierwszych godzinach po resuscytacji, potwierdziły jej korzystny wpływ na procesy biochemiczne jak również na odległe efekty neurologiczne [17, 18, 19]. Wykazano, iż korzystny efekt hipotermii wdrożonej w fazie latentnej tzn. w pierwszych 6 godzinach po niedotlenieniu polega na zahamowaniu wzrostu: stężenia glutaminianu pozakomórkowego, syntezy wolnych rodników, syntezy tlenu azotu, utrzymaniu stężenia mózgowych fosforanów wysokoenergetycznych, redukcji alkalozji mózgu i stężenia kwasu mlekowego, hamowanie aktywacji mikrogleju. Zbliżała się era rozpoczęcia badań klinicznych [20, 21].

W latach 1996-1997 badacze z Nowej Zelandii po raz pierwszy zastosowali selektywne chłodzenie głowy z umiarkowaną hipotermią całego ciała.

Hipotermia lecznicza w encefalopatii niedokrwienno-niedotlenieniowej u noworodka.



Rycina 1. Patogeneza encefalopatii niedotlenieniowo-niedokrwiennej.

Porównano wyniki 25 noworodków ludzkich urodzonych z cechami niedotlenienia (pH krwi pępowinowej <7,09; ocena wg skali Apgar <6 pkt) prezentujących kliniczne objawy encefalopatii, leczonych hipotermią w różnych zakresach (w przedziałach 36,5-36; 35,9-35,5; 35±0,5°C; 34±0,5°C) [22, 23]. Wyniki badania, publikowane kolejno w latach 1998-2001 wskazywały zarówno na bezpieczeństwo jak i skuteczność metody [24]. Ostatecznie, korzystne efekty hipotermii potwierdziła ocena neurorozwojowa przeprowadzona w 18 m-cu życia [25, 26].

W kolejnym badaniu Eicher i wsp. w latach 1998-2001 zakwalifikowali do grupy hipotermii (chłodzenie głowy i tułowia pakunkami żelowymi a następnie kontynuacja chłodzenia materacem wodnym do 48 godziny) 32 noworodki w 7 ośrodkach porównując je z kontrolną grupą 33 noworodków. Temperaturę docelową w tej grupie ustalono na poziomie 33°C ± 0,5. Mniejsza śmiertelność w grupie leczonej hipotermią (31% vs 42%) i korzystne wyniki połączonego parametru zgonu lub/i bardzo zły rozwój ocenianego po 12 miesiącach w grupie leczonych hipotermią w porównaniu z normotermią (84% vs 52%), opublikowane w 2005 roku były podstawą do rozpoczęcia randomizowanych badań wieloośrodkowych [27].

W 2002 roku grupa badaczy z Detroit, Shankaran i wsp. w pilotażowych badaniach z zastosowaniem hipotermii całego ciała (temp. ±34,5°C) prowadzonych na zwierzętach (n=3) oraz u noworodków ludzkich (grupa hipotermii n=9, grupa kontrolna n=10) wykazali skuteczność materacyków chłodzących w prowadzeniu hipotermii, jak również brak niekorzystnych następstw hipotermii takich jak: kwasica, arytmia, krwawienia, zakrzepy [28, 29].

Dużym, stanowiącym ważny punkt odniesienia dla następów było badanie Cool Cap Trial [29-30]. Zadaniem badawczym było wykazanie czy 72-godzinna hipotermia selektywna głowy z umiarkowaną całego ciała rozpoczęta do 6 godziny życia poprawia rozwój psychoruchowy w 18 miesiącu życia u dzieci z umiarkowaną i ciężką ENN w okresie noworodkowym.

W 25 ośrodkach perinatalnych do badania zrandomizowano łącznie 234 noworodki (116 włączono do hipotermii, 118 noworodków leczono konwencjonalnie). Śmiertelność w grupie leczonej hipotermią wynosiła 33% w porównaniu z 38% w grupie kontrolnej, zgon lub częstsze upośledzenie rozwoju (parametr połączony) stwierdzono w 55% grupy badanej w porównaniu z 66% grupy kontrolnej. Wyniki badania Cool Cap sugerowały, że z wyjątkiem bardzo ciężkiej encefalopatii u noworodków, selektywne wychładzanie głowy z umiarkowanym chłodzeniem całego ciała jest klinicznie dostępne i skuteczne w zmniejszeniu śmiertelności i upośledzenia rozwoju neurologicznego w następstwie encefalopatii. Wyniki badania były na tyle przekonujące, iż w roku 2006 urządzenie otrzymało akceptację Food and Drug Administration. Przyjęte kryteria kwalifikacji w powyższych badaniach RCT [30, 32, 34] były porównywalne z innymi badaniami wieloośrodkowymi:

- dojrzałość płodowa ≥35 lub 36 tyg. ciąży
- masa ciała ≥1800-2000g
- pH we krwi pępowinowej <7,0
- BE we krwi pępowinowej <-13; -16
- ocena wg skali Apgar w 10 min ≤5 pkt
- kontynuacja resuscytacji co najmniej 10 min.

Kolejne duże badanie wieloośrodkowe prowadzono równolegle w 15 ośrodkach współpracujących w ramach Narodowego Instytutu Zdrowia Dziecka i Rozwoju Człowieka USA w 2005r [32]. Badanie dotyczyło oceny skuteczności chłodzenia całego ciała noworodka. W grupie noworodków donoszonych ze średnią i ciężką ENN hipotermię rozpoczynano do 6 godz. życia i kontynuowano przez kolejne 72 godziny. Celem było stwierdzenie czy można uzyskać obniżenie wskaźnika śmiertelności i uszkodzenia neurologicznego ocenianego w 18-22 miesiącu życia w porównaniu z opieką konwencjonalną. Włączono 102 noworodki do grupy leczonej i 106 do grupy kontrolnej. Śmiertelność analizowana do 18 m-ca życia w grupie leczonej wynosiła 24% vs 37% w grupie kontrolnej. Ciężkie uszkodzenia neurologiczne występowały u 19% dzieci leczonych hipotermią w porównaniu z 25% w grupie kontrolnej [33].

W roku 2006 eksperci zajmujący się badaniami nad hipotermią (Azzopardi, Edwards, Saustad, Papile) uznali, iż dotychczas wykazane w badaniach wieloośrodkowych dowody naukowe są nadal niewystarczające, tak by uznać hipotermię jako standardową metodę leczenia [34]. Podkreślano wówczas, iż niezbędne jest ukończenie prowadzonych wówczas wieloośrodkowych badań randomizowanych tj. *Toby (Total Body Cooling Trial)* i *ICE (Infant Cooling Evaluation)* [35, 36]

W 2007 roku, w bazie Cochraine Library, opublikowano wyniki meta-analizy 8 badań randomizowanych o łącznej grupie pacjentów 638, urodzonych z cechami niedotlenienia okołoporodowego i demonstrujących objawy encefalopatii niedokrwienno-niedotlenieniowej. Do meta-analizy zakwalifikowano badania prowadzone nad obiema metodami hipotermii (selektywne chłodzenie głowy z umiarkowaną hipotermią całego ciała i hipotermia całego ciała). Wykazano, iż hipotermia lecznicza w sposób istotny statystycznie zmniejszyła częstość śmiertelności lub ciężkich nieprawidłowości neurorozwojowych w 18 m-cu życia (RR 0,76 (95% CI 0,65, 0,89), NNT 7 (95% CI 4, 14). Potwierdzono redukcję ryzyka umieralności (RR 0,74 (95% CI 0,58, 0,94), NNT 11 (95% CI 6, 50)) oraz częstości ciężkich nieprawidłowości neurorozwojowych RR 0,68 (95% CI 0,51,

0,92). Jednocześnie wykazano, iż hipotermia zwiększa ryzyko stosowania leków inotropowych oraz ryzyko wystąpienia małopłytkowości na granicy istotności statystycznej. Autorzy meta-analizy podkreślali jednak fakt, iż analizowano jedynie wyniki badań ukończonych z oceną długofalową – *follow-up*. Do czasu opracowania analizy, była to zaledwie połowa rzeczywistej grupy noworodków poddanych hipotermii, o których wiadano, iż uczestniczą w aktualnie prowadzonych badaniach [35].

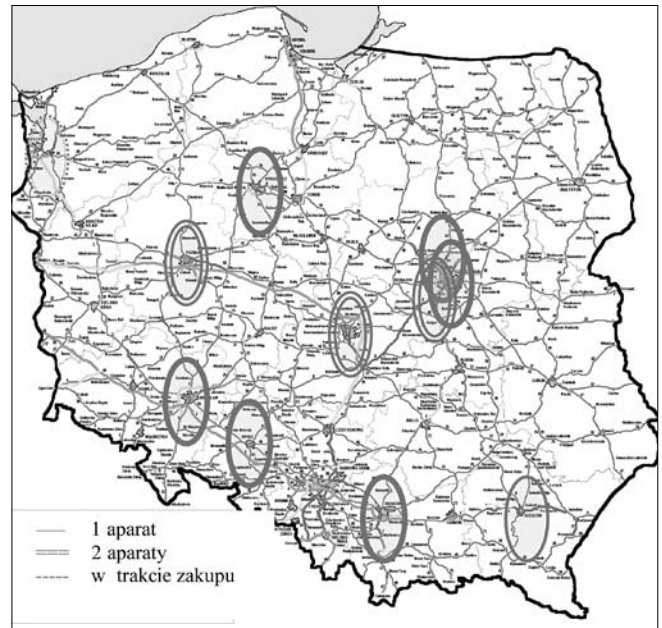
Wyniki badania prowadzonego z randomizacją *Toby Trial* opublikowano pod koniec 2009 roku. W badaniu udział wzięło 325 noworodków, wśród których 163 poddano hipotermii całego ciała. Hipotermię na poziomie 33,5°C prowadzono przez 72 godziny. Wśród noworodków poddanych chłodzeniu istotnie częściej notowano przeżycia bez ciężkich nieprawidłowości neurologicznych (RR, 1,57; 95% CI, 1,16-2,12; $p=0,003$). W grupie noworodków które przeżyły, istotnie rzadziej stwierdzano mózgowo-porażenie dziecięce oraz statystycznie istotnie lepsze wyniki MDI i PDI w skali Rozwoju Niemowlęcia Bayley II. Śmiertelność wynosiła 26% w grupie leczonej hipotermią a 27% w grupie kontrolnej. TOBY Trial podsumowano stwierdzeniem, że hipotermia zmniejsza uszkodzenia mózgu w ENN [37].

Z kolei w wieloośrodkowym badaniu ICE Trial (*Infant Cooling Evaluation*) prowadzonym w Australii oceniano zastosowanie hipotermii przy pomocy prostych metod tzn. stosując zimne torebki żelowe wzdłuż szyi i tułowia, tak aby uzyskać docelową temperaturę w odbyticy 33-34 stopnie C. Chłodzenie utrzymano przez 72 godziny następnie stopniowo dzieci ogrzewano o 0,5°C co 2 godziny. Włączono 221 noworodki (wychładzane $n=110$, grupa kontrolna $n=111$). Zmarło ogółem 35% noworodków w grupie kontrolnej i 21% w grupie z hipotermią. Terapia okazała się metodą bezpieczną w grupie noworodków donoszonych i bliskich terminu porodu z umiarkowaną i ciężką ENN. Dostępność tej taniej i prostej metody została udowodniona [38].

W 2010 roku opublikowano wyniki badań europejskich Neo-nEuro Network RTC. Badanie dotyczyło efektów systemowej hipotermii utrzymywanej na poziomie 33,5 °C (zakres 33-34°C) skojarzonej z podaniem morfiny w dawkach uznanych za neuroprotektoryjne. Hipotermię stosowano przez 72 godziny. Wszystkie dzieci otrzymały morfynę. Włączono 129 noworodków a 111 oceniono w wieku 18-21 miesięcy (53 w grupie z hipotermią i 58 z normotermią). Odsetek zgonów lub ciężkich uszkodzeń neurologicznych wynosił 51% w grupie z hipotermią i 83% w grupie z normotermią. Wyniki tego badania były tak zachęcające, iż dalsza randomizacja została przerwana ze względów etycznych. W podsumowaniu Simbruner i wsp. stwierdzają, że hipotermia całego ciała wykazuje silne, neuroprotektoryjne działanie i jest skuteczna nawet w grupie noworodków z ciężką encefalopatią niedotlenieniowo-niedokrwienną. [39]

Pomiędzy wieloośrodkowymi badaniami nad hipotermią istnieją duże podobieństwa. Kryteria włączenia to z reguły ostry incydent niedotlenienia wewnątrzmacicznego, objawy encefalopatii niedokrwiennieo-niedotlenieniowej, drgawki i zmiany w aEEG. Do badań włączano noworodki urodzone w 35 tyg. ciąży lub później, z masą ciała powyżej 2000g. Podjęcie leczenia następowało do 6 godziny życia. Temperatura chłodzenia mierzona w odbyticy wynosiła od 33 stopni C do 34°C.

Po zastosowaniu hipotermii zdrowienie noworodków jest powolne, tłumaczy się to tym, że w następstwie leczenia



Rycina 2. Ośrodki hipotermii w Polsce.

następuje wprawdzie osłabienie procesu apoptozy lecz zaburzenia regulacji procesów fizjologicznych trwają. Dochodzi do tego kumulacja leków: morfiny, fenobarbitalu i benzodiazepin stosowanych w czasie hipotermii, które muszą zostać wyeliminowane [27].

Pierwotne kryteria oceny efektów hipotermii w różnych RCT to ciężkie lub umiarkowane uszkodzenia neurologiczne, funkcji poznawczych, śmierć lub kryterium połączone śmierć lub/i uszkodzenia neurologiczne. Ważnym jest też, że wtórne kryteria oceny dokonywane były zazwyczaj po 18 miesiącach życia [26, 34, 41].

Raportowane powikłania hipotermii to upośledzenie funkcji układu krążenia i oddechowego, przejściowy obrzęk skalpu (przy stosowaniu Cool Cap), przejściowa hipoglikemia, zatokowa bradykardia, lekkie zniekształcenie odcinka QT w zapisie EKG, zaburzenia krzepnięcia krwi, niskie ciśnienie systemowe krwi z potrzebą korekty objętości krwi krążącej lub użycia leków inotropowych. Powyższe powikłania były odwracalne.

Nadal pozostaje do wyjaśnienia szereg kwestii, czy:

- lepsza jest hipotermia głowy z umiarkowanym chłodzeniem całego ciała w porównaniu do hipotermii całego ciała?
- możliwe i potrzebne jest stosowanie niższych temperatur chłodzenia tj. 32-34 stopni C?
- uzasadnione jest rozpoczynanie chłodzenia po 6 godz. po urodzeniu
- wskazane jest chłodzenie dłużej niż 72 godz?
- rozpoczęcie chłodzenia na początku jest lepsze niż pod koniec tzw. „okienka terapeutycznego” (być może zależy to od ciężkości ENN)?
- stosować czynne czy bierne chłodzenie w transporcie?
- prosty sposób wychładzania jest równorzędny ze skomplikowanymi metodami?

Hipotermia lecznicza w encefalopatii niedokrwienno-niedotlenieniowej u noworodka.

Prowadzone są badania nad późniejszym rozpoczęciem hipotermii np. po 6 godzinach, gdy nie udało się przetransportować pacjenta wcześniej.

Inny, nowy kierunek kontynuowanych badań określony jest mianem hipotermia plus tj. oprócz hipotermii podawane są leki o potencjalnym działaniu neuroprotekcynym: morfina, xenon, erytropoetyna czy siarczan magnezu [42-48]. W ten nurt wpisuje się polska sieć hipotermii noworodków i program HEMEN, w którym biorą udział 4 ośrodki – celem jest ocena skuteczności hipotermii połączonego z podaniem $MgSO_4$. Obecny stan zaawansowania to 36 noworodków. Powstają także ośrodki poza siecią HEMEN, obecnie pracuje już 7 dodatkowych ośrodków hipotermii. Łącznie, w Polsce hipotermią leczono dotychczas ponad 80 noworodków. Oprócz północy Polski, pozostałe ośrodki są w zakresie możliwości transportu dzieci wymagających leczenia i możliwości podjęcia leczenia w okresie do 6 godzin po urodzeniu.

Podsumowując można stwierdzić, że hipotermia lecznicza może pomóc grupie noworodków z ENN przy zachowaniu warunków określonych opisanymi w/w badaniami. W najnowszych rekomendacjach American Academy of Pediatrics oraz American Heart Association resuscytacji noworodka potwierdzono, iż hipotermia staje się standardową metodą leczenia noworodków [49]. Z satysfakcją trzeba też podkreślić, iż jest to metoda obecnie powszechnie dostępna w Polsce.

Piśmiennictwo

- Gunn A. *Acta Ped Scand*. 1964, Suppl 134.
- Kornacka M, Bokinić R, Bargiel A. Risk factors for preterm encephalopathy. *Ginekol Pol*. 2009; 80,620-623.
- Elfvig G, Palmu A, Silvonen E, [et al.]. Successful resuscitation of a child drowned in ice-cold water. *Duodecim*. 1967, 83, 512-516.
- Kecskes Z, Healy G, Jensen A. Fluid restriction for term infants with hypoxic-ischaemic encephalopathy following perinatal asphyxia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005, CD 004337.
- Chaudhari T, McGuire W. Allopurinol for preventing mortality and morbidity in newborn infants with suspected hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008, Apr 16;(2)CD 006817.
- McGuire W, Fowle P, Evans D. Naloxone for preventing morbidity and mortality in newborn infants of greater than 34 weeks' gestation with suspected perinatal asphyxia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004, CD 003955.
- Beveridge C, Wilkinson A. Sodium bicarbonate infusion during resuscitation of infants at birth. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006, CD 004864.
- Vannucci R, Perlman J. Interventions for perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics*. 1997, 100, 1004-1014.
- Evans D, Levene M, Tsakmakis M. Anticonvulsants for preventing mortality and morbidity in full term newborns with perinatal asphyxia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007, Jul 18;(3)CD 001240.
- Wagner B, Nedelcu J, Martin E. Delayed postischemic hypothermia improves long-term behavioral outcome after cerebral hypoxia-ischemia in neonatal rats. *Pediatr Res*. 2002, 51, 354-360.
- Thoresen M. Cooling the newborn after asphyxia - physiological and experimental background and its clinical use. *Semin Neonatol*. 2000, 5, 61-73.
- Iwata O, Iwata S, Thornton J, [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.
- Manzar S. Role of hypothermia in asphyxia. *Pediatrics*. 1999, 104,1169.
- Steen P, Soule E, Michenfelder J. Detrimental effect of prolonged hypothermia in cats and monkeys with and without regional cerebral ischemia. *Stroke*. 1979, 10, 522-529.
- Michenfelder J, Milde J. Failure of prolonged hypocapnia, hypothermia, or hypertension to favorably alter acute stroke in primates. *Stroke*. 1977, 8, 87-91.
- Elliott R, Mann T. Neonatal cold injury due to accidental exposure to cold. *Lancet*. 1957, 272, 229-234.
- Weinrauch V, Safar P, Tisherman S, [et al.]. Beneficial effect of mild hypothermia and detrimental effect of deep hypothermia after cardiac arrest in dogs. *Stroke*. 1992, 23, 1454-1462.
- Yager J, Asselin J. Effect of mild hypothermia on cerebral energy metabolism during the evolution of hypoxic-ischemic brain damage in the immature rat. *Stroke*. 1996, 27, 919-925; discussion 926.
- Haaland K, Loberg E, Steen P, Thoresen M. Posthypoxic hypothermia in newborn piglets. *Pediatr Res*. 1997, 41, 505-512.
- Thoresen M, Wyatt J. Keeping a cool head, post-hypoxic hypothermia – an old idea revisited. *Acta Paediatr*. 1997, 86, 1029-1033.
- Thoresen M. Cooling the asphyxiated brain – ready for clinical trials? *Eur J Pediatr*. 1999, 158, Suppl 1, 5-8.
- Gunn A, Gluckman P, Gunn T. Selective head cooling in newborn infants after perinatal asphyxia: a safety study. *Pediatrics*. 1998, 102, 885-892.
- Gunn A, Gunn T, Gunning M, [et al.]. Neuroprotection with prolonged head cooling started before postischemic seizures in fetal sheep. *Pediatrics*. 1998, 102, 1098-1106.
- Compagnoni G, Pogliani L, Lista G, [et al.]. Hypothermia reduces neurological damage in asphyxiated newborn infants. *Biol Neonate*. 2002, 82, 222-227.
- Gunn A. Cerebral hypothermia for prevention of brain injury following perinatal asphyxia. *Curr Opin Pediatr*. 2000, 12, 111-115.
- Battin M, Dezoete J, Gunn T, [et al.]. Neurodevelopmental outcome of infants treated with head cooling and mild hypothermia after perinatal asphyxia. *Pediatrics*. 2001, 107, 480-484.
- Eicher D, Wagner C, Katikaneri L, [et al.]. Moderate hypothermia in neonatal encephalopathy: safety outcomes. *Pediatr Neurol*. 2005, 32, 18-24.
- Shankaran S, Laptook A, Wright L, [et al.]. Whole-body hypothermia for neonatal encephalopathy: animal observations as a basis for a randomized, controlled pilot study in term infants. *Pediatrics*. 2002, 110, 377-385.
- Shankaran S, Laptook A. Challenge of conducting trials of neuroprotection in the asphyxiated term infant. *Semin Perinatol*. 2003, 27, 320-332.
- Gluckman P, Wyatt J, Azzopardi D, [et al.]. Selective head cooling with mild systemic hypothermia after neonatal encephalopathy: multicentre randomised trial. *Lancet*. 2005, 365, 663-670.
- Rutherford M, Azzopardi D, Whitelaw A, [et al.]. Mild hypothermia and the distribution of cerebral lesions in neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics*. 2005, 116, 1001-1006.
- Shankaran S, Laptook A, Ehrenkranz R, [et al.]. Whole-body hypothermia for neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy. *N Engl J Med*. 2005, 353, 1574-1584.
- Higgins R, Raju T, Perlman J, [et al.]. Hypothermia and perinatal asphyxia: executive summary of the National Institute of Child Health and Human Development workshop. *J Pediatr*. 2006, 148, 170-175.
- American Heart Association. 2005 American Heart Association (AHA) guidelines for cardiopulmonary resuscitation (CPR) and emergency cardiovascular care (ECC) of pediatric and neonatal patients: pediatric basic life support. *Pediatrics*. 2006, 117, 989-1004.
- Jacobs S, Hunt R, Tarnow-Mordi W, [et al.]. Cooling for newborns with hypoxic ischaemic encephalopathy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007, CD 003311.
- Azzopardi D, Brocklehurst P, Edwards D, [et al.]. TOBY Study Group. The TOBY Study. Whole body hypothermia for the treatment of perinatal asphyxial encephalopathy: a randomised controlled trial. *BMC Pediatr*. 2008, 30,17.
- Azzopardi D, Strohm B, Edwards A, [et al.]. TOBY Study Group. Moderate hypothermia to treat perinatal asphyxial encephalopathy. *N Engl J Med*. 2009, 361, 1349-1358.
- Schulzke S, Rao S, Patole S. A systematic review of cooling for neuroprotection in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy - are we there yet? *BMC Pediatr*. 2007, 57,30.
- Simbruner G, Mittal R, Rohlmann F, Muehe R. neo.nEURO.network Trial Participants. Systemic hypothermia after neonatal encephalopathy: outcomes of neo.nEURO. network RCT. *Pediatrics*. 2010, 126, 771-778.
- Edwards A, Azzopardi D. Therapeutic hypothermia following perinatal asphyxia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2006, 91, 127-131.
- Sarkar S, Barks J, Bhagat I, [et al.]. Effects of therapeutic hypothermia on multiorgan dysfunction in asphyxiated newborns: whole-body cooling versus selective head cooling. *J Perinatol*. 2009, 29, 558-563.
- Nichol A, Cooper D. Can we improve neurological outcomes in severe traumatic brain injury? Something old (early prophylactic hypothermia) and something new (erythropoietin). EPO Study Investigators on behalf of the ANZICS-Clinical Trials Group. *Injury*. 2009, 40, 471-478.
- Chakkarapani E, Dingley J, Liu X, [et al.]. Xenon enhances hypothermic neuroprotection in asphyxiated newborn pigs. *Ann Neurol*. 2010, 68, 330-341.
- Kelen D, Robertson N. Experimental treatments for hypoxic ischaemic encephalopathy. *Early Hum Dev*. 2010, 86,369-377.
- Levene M. Cool treatment for birth asphyxia, but what's next? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2010, 95, 154-157.
- Degos V, Loron G, Mantz J, [et al.]. Neuroprotective strategies for the neonatal brain. *Anesth Analg*. 2008, Jun;106, 1670-1680.
- Chakkarapani E, Thoresen M, Hobbs C, [et al.]. A closed-circuit neonatal xenon delivery system: a technical and practical neuroprotection feasibility study in newborn pigs. *Anesth Analg*. 2009, 109,451-460.
- Thoresen M, Hobbs C, Wood T, [et al.]. Cooling combined with immediate or delayed xenon inhalation provides equivalent long-term neuroprotection after neonatal hypoxia-ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2009, 29, 707-714.
- Kattwinkel J, Perlman J, Aziz K, [et al.]. American Heart Association. Neonatal resuscitation: 2010 American Heart Association Guidelines for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care. *Pediatrics*. 2010, Nov;126(5):e1400-1126, 1400-1413.