



ARTÍCULO ESPECIAL

Terapia combinada frente a la encefalopatía hipóxico-isquémica neonatal



María Cánovas-Ahedo y Daniel Alonso-Alconada*

Departamento de Biología Celular e Histología, Facultad de Medicina y Enfermería, Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Leioa, Bizkaia, España

Recibido el 14 de marzo de 2019; aceptado el 12 de abril de 2019
Disponible en Internet el 17 de mayo de 2019

PALABRAS CLAVE

Encefalopatía hipóxico-isquémica; Asfixia; Hipotermia; Terapias neuroprotectoras; Terapia combinada

Resumen La encefalopatía hipóxico-isquémica neonatal como consecuencia de la falta de oxígeno en el cerebro del recién nacido aparece asociada a secuelas neurológicas severas como la parálisis cerebral, pudiendo incluso desencadenar la muerte del recién nacido asfíctico. Actualmente, la hipotermia es la única terapia empleada en las unidades de cuidados intensivos neonatales, gracias, principalmente, a su capacidad para disminuir la acumulación de aminoácidos excitatorios y a su efecto antioxidante, antiinflamatorio y antiapoptótico. Sin embargo, la hipotermia no presenta beneficio clínico significativo en aproximadamente la mitad de los casos, haciéndose necesario encontrar u optimizar una terapia eficaz que disminuya las secuelas neurológicas derivadas de la asfixia perinatal, mediante su aplicación en solitario o en combinación con la hipotermia.

Dentro de estas terapias con potencial terapéutico demostrado destacan la melatonina, el alopurinol y la eritropoyetina, con ensayos clínicos en marcha, y otras como las células madre, la N-acetilcisteína o los gases nobles, con trabajos preclínicos publicados. La melatonina desarrolla un notable efecto antioxidante y antiinflamatorio, actuando como secuestrador de radicales libres y regulando diversos mediadores proinflamatorios. Por su parte, el alopurinol ejerce una potente función antioxidante mediante la inhibición de la enzima xantina oxidasa. La eritropoyetina, en cambio, tiene su principal diana terapéutica en la muerte celular y en la estimulación de la neurogénesis.

Teniendo en consideración las diferentes dianas y estrategias terapéuticas, el futuro del tratamiento de la encefalopatía hipóxico-isquémica podría hallarse en la combinación de uno o varios de estos tratamientos junto con la hipotermia terapéutica.

© 2019 Asociación Española de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: daniel.alonsoa@ehu.eus (D. Alonso-Alconada).

KEYWORDS

Hypoxic ischaemic encephalopathy;
Asphyxia;
Hypothermia;
Neuroprotective agents;
Adjuvant therapy

Combined therapy in neonatal hypoxic-ischaemic encephalopathy

Abstract Neonatal hypoxic-ischaemic encephalopathy due to the lack of oxygen at birth can have severe neurological consequences, such as cerebral palsy, or even the death of the asphyxiated newborn. Hypothermia is currently the only therapy included in intensive care neonatal units. This shows a clinical benefit in neonates suffering from hypoxic-ischaemic encephalopathy, mainly because of its ability to decrease the accumulation of excitatory amino acids and its anti-inflammatory, antioxidant, and anti-apoptotic effects. However, hypothermia is not effective in half of the cases, making it necessary to search for new, or to optimize current therapies, with the aim on reducing asphyxia-derived neurological consequences, either as single treatments or in combination with cooling. Within current potential therapies, melatonin, allopurinol, and erythropoietin stand out among the others, with clinical trials on the way. While, stem cells, N-acetylcysteine and noble gases have obtained promising pre-clinical results. Melatonin produces a powerful antioxidant and anti-inflammatory effect, acting as free radical scavenger and regulating pro-inflammatory mediators. Through the inhibition of xanthine oxidase, allopurinol can decrease oxidative stress. Erythropoietin has cell death and neurogenesis as its main therapeutic targets. Keeping in mind the whole scenario of current therapies, management of neonates suffering from neonatal asphyxia could rely on the combination of one or some of these treatments, together with therapeutic hypothermia.

© 2019 Asociación Española de Pediatría. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

Con una incidencia de 1-3 por cada 1.000 recién nacidos a término¹, la encefalopatía hipóxico-isquémica (EHI) es una de las causas más frecuentes de lesión cerebral en el neonato. Teniendo en cuenta el creciente número de recién nacidos de alto riesgo por causas como el incremento en la edad materna y el número de embarazos múltiples, entre otros, la EHI persiste como un problema relevante en el ámbito hospitalario para el cual todavía no existe una solución definitiva.

El estudio de la fisiopatología tras la asfixia perinatal ha permitido comprender el complejo proceso que acontece a nivel celular y tisular durante el desarrollo del daño cerebral ante la falta de oxígeno. Muchos de estos mecanismos lesivos son agrupados con base en el tiempo que discurre desde su aparición, describiéndose 4 fases principales (fig. 1): de hipoxia-isquemia (HI), latente, secundaria y terciaria. En un primer momento, la lesión viene desencadenada por un déficit en el aporte de oxígeno a las células y los tejidos, provocando una insuficiencia energética primaria. Posteriormente, los niveles de fosfatos de alta energía parecen recuperados, constituyendo la fase latente. Sin embargo, esta mejora es transitoria, dando paso a la fase secundaria, en la que se ponen en marcha muchos de los mecanismos fisiopatológicos implicados en el desarrollo del daño cerebral neonatal, destacando: excitotoxicidad, entrada masiva de Ca²⁺ en la célula, estrés oxidativo, reacción inflamatoria y, en la mayoría de los casos, muerte celular por necrosis o apoptosis. Por último, la fase terciaria se caracteriza por la persistencia del daño cerebral semanas, meses e incluso años después de la agresión hipóxico-isquémica.

Este conocimiento de la fisiopatología ha permitido describir potenciales dianas terapéuticas con el objetivo de

reducir el daño cerebral derivado de la asfixia, con el consiguiente desarrollo de numerosas estrategias terapéuticas. Algunos de estos tratamientos, actualmente en ensayo, buscan actuar de forma sinérgica con la hipotermia terapéutica, la única terapia frente a la EHI que se ha incorporado a las unidades de cuidados intensivos neonatales.

Hipotermia

El origen de la hipotermia como terapia neuroprotectora neonatal surge del descubrimiento de la puesta en marcha de un mecanismo endógeno de enfriamiento por parte del recién nacido que ha sufrido algún daño durante el nacimiento². Su efecto neuroprotector está relacionado principalmente con la reducción del metabolismo cerebral, con un descenso del 5% por cada grado de temperatura³, consiguiendo de esta forma modular algunas de las rutas metabólicas lesivas desencadenadas tras la asfixia, resumidas en la figura 2.

Terapia combinada

Ante la evidencia de que los actuales protocolos de hipotermia parecen óptimos⁴ y que su eficacia en la práctica clínica se ha demostrado limitada⁵, se hace necesario ampliar el elenco de agentes terapéuticos frente a la EHI⁶. Investigaciones recientes se centran en el desarrollo e implementación de terapias que puedan ser utilizadas en combinación con la hipotermia, tratando de actuar a distintos niveles de protección de la cascada fisiopatológica o fomentando la sinergia entre ambas terapias (fig. 3).

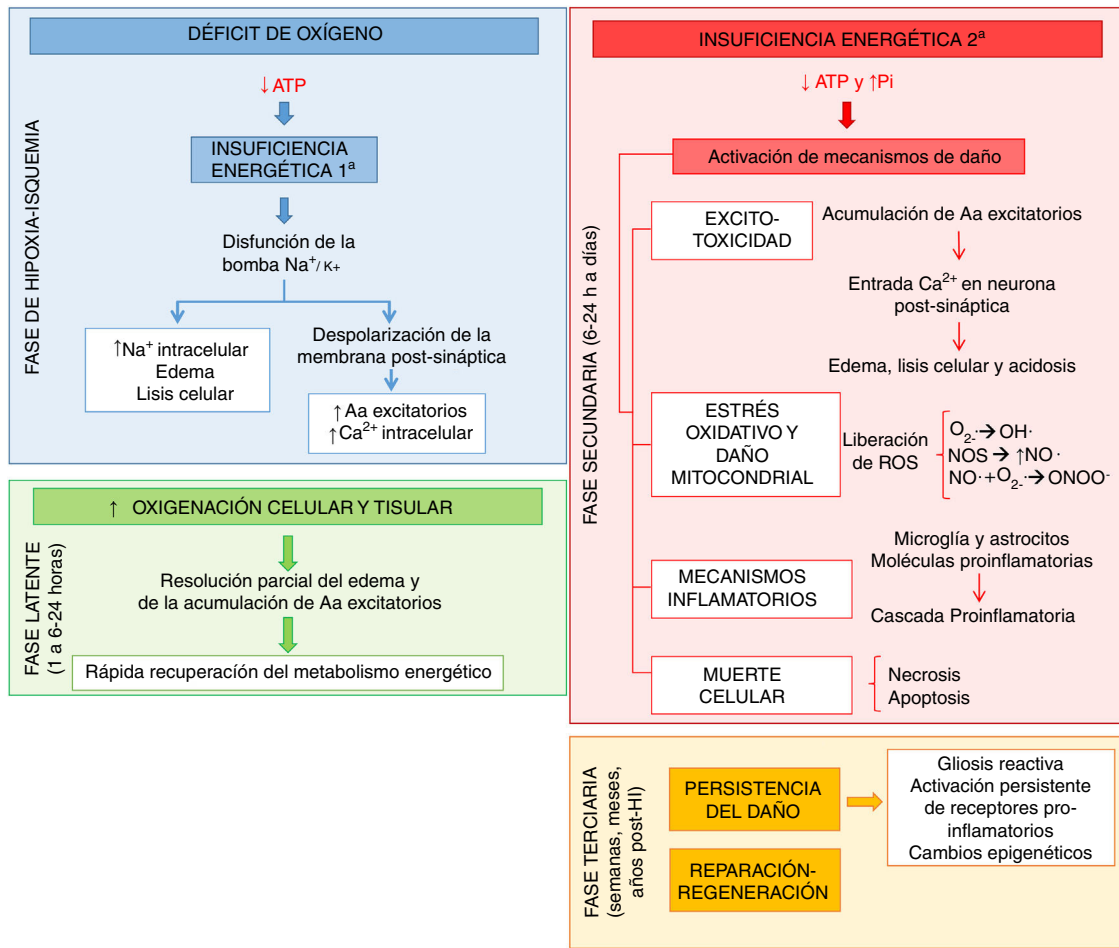


Figura 1 Principales mecanismos desencadenados tras la asfixia en las fases de hipoxia-isquemia (HI, azul), latente (verde), secundaria (rojo) y terciaria (naranja).

Aa: aminoácidos; ATP: adenosín trifosfato; Ca²⁺: ion calcio; K⁺: ion potasio; Na⁺: ion sodio; NO·: óxido nítrico; NOS: especies reactivas del nitrógeno; O₂·: anión superóxido; OH·: radical libre hidroxilo; ONOO·: peroxinitrito; Pi: fósforo inorgánico; ROS: especies reactivas del oxígeno.

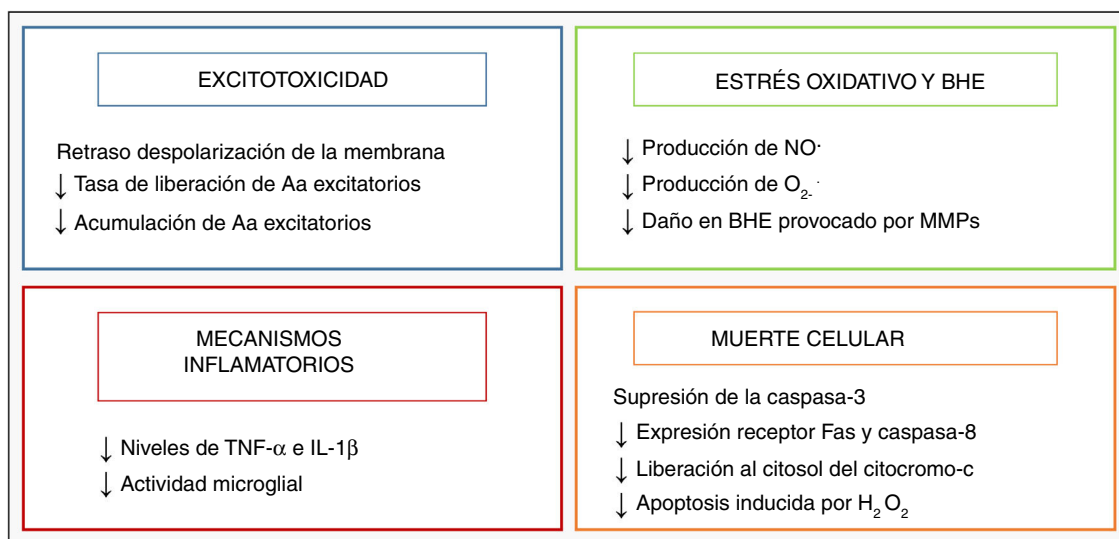


Figura 2 Efecto de la hipotermia sobre los mecanismos de daño.

Aa: aminoácidos; BHE: barrera hematoencefálica; H₂O₂: peróxido de hidrógeno; IL-1β: interleucina 1β; MMP: metaloproteasas de la matriz; NO·: óxido nítrico; O₂·: anión superóxido; TNF-α: factor de necrosis tumoral α.

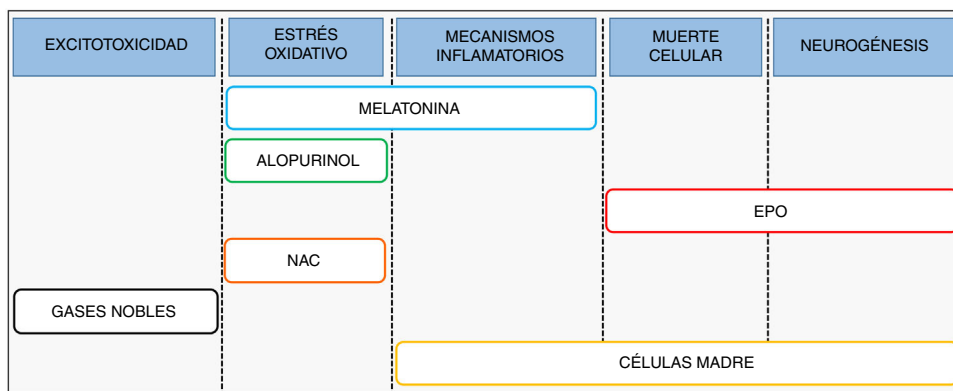


Figura 3 Posibles dianas terapéuticas y principales estrategias neuroprotectoras bajo ensayo frente a la EHI neonatal. EPO: eritropoyetina; NAC: N-acetilcisteína.

Melatonina

La melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) es una neurohormona sintetizada por la glándula pineal, secretada siguiendo un ciclo diurno/nocturno y encargada, principalmente, de regular el ritmo circadiano. Un punto clave para ser utilizada como terapia frente a la EHI radica en su notable poder antioxidante y antiinflamatorio⁷ y en su capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica y de llegar al sistema nervioso central⁸.

Previo paso a su ensayo en neonatos, la melatonina ha demostrado ser capaz de incrementar el nivel de protección desarrollado por la hipotermia, mediante la optimización del metabolismo energético cerebral en un estudio con lechones⁹. A nivel clínico, en un trabajo publicado por Aly et al.¹⁰, la mitad de los recién nacidos asfícticos fueron tratados con hipotermia y 5 dosis de 10 mg/kg/día de melatonina por vía oral. Los autores observaron una reducción de los niveles en suero de superóxido dismutasa y óxido nítrico en los sujetos tratados con la terapia combinada frente al grupo que únicamente fue sometido a hipotermia, demostrando de esta forma el efecto beneficioso de su aplicación conjunta frente al estrés oxidativo.

Con el objetivo de evaluar la seguridad, la farmacocinética, la posología y la efectividad del uso de la melatonina en combinación con hipotermia, un estudio reciente conducido por Balduini et al. ha demostrado que la hipotermia no afecta a la farmacocinética de esta neurohormona¹¹, pudiendo alcanzarse valores elevados en sangre con dosis inferiores a las empleadas en modelos experimentales. Actualmente, se encuentra en proceso de reclutamiento de pacientes el estudio MELPRO (NCT03806816), en el que se pretende incluir a 100 neonatos. Este y otros trabajos son indispensables previo desarrollo de ensayos clínicos de fase III y posterior aplicación de la melatonina en la práctica clínica.

Alopurinol

La base sobre la que se sustenta la utilización de alopurinol como terapia frente a la EHI es su efecto inhibitorio sobre el enzima xantina oxidasa, implicada en el daño oxidativo.

Además, este medicamento posee la capacidad de quelar el hierro libre y de actuar como secuestrador de radicales hidroxilo^{12,13}. Resultados preclínicos obtenidos con un modelo de rata neonatal en el que los animales fueron incluidos en 5 grupos experimentales (grupo control, grupo de HI, grupo tratado con hipotermia, grupo tratado con alopurinol y grupo de terapia combinada), mostraron que, 72 h tras la HI, la mayor reducción de volumen infartado se dio en el grupo de la terapia combinada¹⁴.

Respecto a sus características farmacológicas, el alopurinol es capaz de atravesar la placenta y alcanzar rápidamente la concentración adecuada en el neonato, dato comprobado mediante un estudio realizado en gestantes a las que se les administró 500 mg iv de alopurinol, obteniéndose, a los 5 min, niveles óptimos en muestras de cordón umbilical¹⁵. Con el fin de evaluar su posible efecto antioxidante en el neonato asfíctico, un estudio realizado por van Bel et al. en 1998 concluyó que, en el grupo de neonatos con EHI severa, la administración de 40 mg/kg iv de alopurinol conseguía reducir la formación de radicales libres¹³. Sin embargo, un ensayo posterior realizado por Benders et al. en 2006 no encontró diferencias entre el grupo tratado con alopurinol y el grupo control¹⁶. Las conclusiones de los autores señalaron la extrema gravedad de la EHI en los neonatos incluidos en la muestra como una posible causa de la ausencia de diferencias significativas. También consideraron que el periodo transcurrido hasta la aplicación del alopurinol (3-4 h posreperfusión) podría haber sido relativamente tardío para obtener resultados favorables. En relación con este último punto, Gunes et al. administraron la misma dosis de alopurinol que los 2 ensayos previos, pero dentro de las primeras 2 h de vida, obteniendo, en el grupo de tratamiento, una aparente mejoría en el neurodesarrollo¹⁷. En línea con estos resultados, la administración de alopurinol iv a la madre durante el parto de fetos con hipoxia o hipoxia incipiente ha demostrado aumentar la eficacia del tratamiento, reduciendo los niveles en sangre de la arteria umbilical de la proteína S-100 β , utilizada como biomarcador de daño cerebral¹⁸. Actualmente está en marcha un ensayo clínico Effect of Allopurinol for Hypoxic-ischemic Brain Injury on Neurocognitive Outcome (NCT03162653), que trata de evaluar su potencial terapéutico administrando el inhibidor enzimático en los primeros minutos de vida.

Eritropoyetina

La eritropoyetina (EPO) es una citocina de 30,4 kDa que en el periodo fetal es sintetizada por el hígado para, posnatalmente, ser sintetizada por el riñón y el cerebro en desarrollo, donde actúa como factor de crecimiento y agente neuroprotector¹⁹. El uso tanto de la EPO como de la EPO recombinante humana (rhEPO) en la EHI se fundamenta en su acción a través de su receptor, presente en neuronas y glía²⁰, capaz de desarrollar una potente actividad antiapoptótica (favoreciendo la transcripción de genes antiapoptóticos Bcl-2 y Bcl-xL), así como antiinflamatoria y antioxidante^{19,21}. Además de su efecto neuroprotector, la EPO es capaz de promover procesos reparativos a largo plazo, tales como la angiogénesis, la oligodendrogénesis y la neurogénesis^{22,23}.

Ensayos preclínicos en los que se ha evaluado el efecto sinérgico de la coadministración de EPO o rhEPO con hipotermia han obtenido resultados contradictorios. Utilizando un modelo similar de daño cerebral hipóxico-isquémico en ratas neonatales P7, Fang et al. mostraron que su administración conjunta no generaba un efecto neuroprotector significativo²⁴. Sin embargo, en otro trabajo realizado por Fan et al.²⁵, los autores sí observaron un ligero efecto beneficioso en la función sensorio-motora de las ratas neonatales, aunque esto no se reflejó en la histología de muestras cerebrales.

Estudios en recién nacidos con EHI han demostrado que la rhEPO es segura en dosis entre 300 y 2.500 U/kg. Dosis bajas de rhEPO se muestran eficaces en pacientes con daño moderado, cuya administración aparece asociada a un menor riesgo de discapacidad o mortalidad²⁶. Dosis más elevadas (de hasta 2.500 U/kg) son capaces de disminuir las convulsiones y las anomalías neurológicas a los 6 meses²⁷.

A día de hoy, se encuentran en curso 3 ensayos clínicos en fase III en los que se pretende incluir a un total de 840 neonatos para evaluar la seguridad y la eficacia de dosis altas de EPO (1.000 U/kg) en combinación con hipotermia (Erythropoietin for Hypoxic Ischaemic Encephalopathy in Newborns, NCT03079167; High-dose Erythropoietin for Asphyxia and Encephalopathy, NCT02811263; Erythropoietin in Management of Neonatal Hypoxic Ischemic Encephalopathy, NCT03163589). El objetivo primario de los 2 primeros ensayos es la reducción de muerte o discapacidad a los 2 años, mientras que el último evaluará estos parámetros tras un año. Habrá que esperar a los resultados de estos y otros estudios para poder determinar si la EPO o alguno de sus derivados presentan eficacia terapéutica y de qué manera debe ser implementada, evaluando factores como la dosis mínima efectiva, su vía de administración, la duración de la terapia, etc.

Células madre

El empleo de células madre es un campo cada vez más explorado para tratar todo tipo de enfermedades, entre ellas la EHI. Esta terapia podría facilitar la reparación y la regeneración del tejido cerebral dañado tras la agresión hipóxico-isquémica, a través de su interacción con células del sistema inmunitario localizadas en órganos alejados del cerebro tales como el bazo, alterando de esta forma la

respuesta inmune/inflamatoria. Así mismo, la recuperación funcional obtenida tras su administración puede deberse en parte a una interacción entre las células trasplantadas y el tejido cerebral, con la consiguiente producción de factores de crecimiento, cuyo efecto final se refleja en un aumento de la proliferación celular y de la neurogénesis.

Pese a que aún es necesario aumentar los conocimientos que nos permitan su aplicación como terapia efectiva, trabajos realizados en modelos experimentales han demostrado que células madre de diversa naturaleza son capaces de sobrevivir al hospedarse en el cerebro lesionado, diferenciarse en neuronas o células gliales, integrarse en el tejido diana y modificar favorablemente los resultados conductuales (revisados en Bennet et al.²⁸). Estudios recientes han descrito que la administración de células madre mesenquimales junto a 24 h de hipotermia en ratas P7 ha obtenido mejores resultados que cada terapia de forma individual²⁹, incrementando, además, la ventana terapéutica para su administración hasta 2 días después del evento hipóxico-isquémico³⁰. A su vez, las células madre pueden modular la respuesta inmunitaria mediante su interacción con células localizadas en órganos alejados del cerebro tales como el bazo, cuya movilización ha demostrado capacidad de exacerbar la respuesta inflamatoria y el daño HI en el cerebro inmaduro, pudiendo incrementar de esta forma la neuroprotección^{31,32}.

La terapia con células madre, exclusiva o en combinación con hipotermia, es un campo de investigación prometedor que todavía requiere de ensayos clínicos para determinar, entre otros, los tipos de progenitores más efectivos, la dosis óptima y el periodo de administración más adecuado para la obtención de los mejores resultados terapéuticos²⁸. Uno de estos trabajos en marcha en fase de reclutamiento (Study of hCT-MSC in Newborn Infants With Moderate or Severe HIE, NCT03635450) incluirá una muestra de 6 neonatos de 36 o más semanas de gestación con EHI moderada-severa, que serán tratados con hipotermia e infusión de 2 dosis de células mesenquimales estromales derivadas de cordón umbilical (hCT-MSC, por sus siglas en inglés). Este ensayo en fase I ha establecido como objetivos principales evaluar la seguridad de la administración de hCT-MSC y analizar la supervivencia y el neurodesarrollo de los neonatos a los 6 y 16 meses, respectivamente. En otro estudio también en fase I (NCT00593242), el trasplante autólogo de células de cordón umbilical obtuvo resultados prometedores, donde un 74% de los neonatos que recibieron células madre presentaron puntuaciones por encima de 85 en los 3 dominios del test de Bayley, frente al 41% que recibió solo hipotermia³³.

N-acetilcisteína

La N-acetilcisteína (NAC) es un precursor de la cisteína que puede actuar como secuestrador de radicales libres y es capaz de contribuir al mantenimiento del glutatión³⁴, regulando de esta forma el estrés oxidativo. Respecto a su aplicación junto con hipotermia, la NAC mostró una mayor reducción en el volumen cerebral infartado al comparar el grupo de terapia combinada con los grupos que solo recibieron un tratamiento. Además, se obtuvieron valores similares a los animales del grupo control con relación a los reflejos y al daño en la sustancia blanca³⁵. Gracias a la ausencia

de efectos teratogénicos tras su administración durante el embarazo y a su capacidad de atravesar la placenta³⁶, la NAC ha sido catalogada como uno de los agentes terapéuticos más prometedores para su inclusión en las unidades de cuidados intensivos neonatales. Sin embargo, a día de hoy no encontramos ningún estudio clínico en marcha para analizar su uso frente a la EHI, limitándose a ensayos relacionados con inflamación intraamniótica, corioamnionitis o síndrome de estrés respiratorio.

Gases nobles

Gases nobles como el xenón y el argón han demostrado efectos neuroprotectores en modelos experimentales de HI neonatal. Numerosos trabajos han evaluado la posibilidad de utilizar el xenón como agente terapéutico (para revisión, véase Lobo et al.³⁷), debido a su capacidad de disminuir la excitotoxicidad post-HI mediante la modulación de los receptores glutamatérgicos NMDA^{38,39}.

Con un tamaño muestral de 92 neonatos de entre 36 y 43 semanas, el ensayo clínico multicéntrico Total Body hypothermia plus Xenon (TOBY- Xe) ha empleado este gas en combinación con hipotermia. Pese a que los resultados no han mostrado diferencias significativas entre grupos⁴⁰, y con el objetivo de profundizar en algunas de las variables que hayan podido influir en el tratamiento con este gas noble como la dosis o la duración del tratamiento, actualmente se desarrolla un ensayo clínico en fase II denominado CoolXenon3 Study (NCT02071394).

El argón, por su parte, no presenta estudios clínicos hasta la fecha, pero ha demostrado mejorar los resultados obtenidos por la hipotermia respecto al biomarcador N-acetil-aspartato/lactato, el cual aparece relacionado con un incremento en los valores de muerte cerebral y con el desarrollo de secuelas neurológicas en el recién nacido⁴¹. Estos prometedores resultados, junto con su mayor biodisponibilidad y su menor coste en comparación con el xenón, convierten al argón en una molécula con elevado potencial traslacional para tratar la EHI.

Conclusiones

Obtener un tratamiento eficaz contra la EHI es uno de los grandes retos para la medicina moderna. Por ello, a lo largo de los años, se han invertido ingentes esfuerzos en estudiar los mecanismos de daño neuronal desarrollados tras la asfisia perinatal y, de esta manera, poder desarrollar terapias efectivas que puedan bloquearlos. Actualmente, pediatras y neurocientíficos tratan de desarrollar nuevos compuestos que puedan ser utilizados de forma sinérgica con la hipotermia, con el objetivo de reducir al máximo las secuelas neurológicas derivadas de la EHI. Por otro lado, recientes investigaciones comienzan a incluir el sexo como una variable a tener en cuenta a la hora de tratar la EHI, ya que se han observado diferencias sexuales dimórficas tanto en los mecanismos de daño (animales de experimentación hembras han mostrado mayores déficits de memoria, mientras que los machos son más susceptibles al estrés oxidativo), como en las vías de actuación de los diferentes tratamientos ensayados. Pese a los prometedores avances conseguidos con el empleo de la melatonina o de compuestos como la EPO,

todavía se requiere del desarrollo de estudios preclínicos para profundizar en el conocimiento de las vías de actuación de estas moléculas, así como el desarrollo de ensayos clínicos con mayor número de sujetos en los que determinar las dosis y vías óptimas de administración de estas y otras terapias.

Financiación

Ayuda otorgada por la UPV/EHU dentro del programa de ayudas a grupos de investigación de la universidad (GIU 17/018).

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Kurinczuk JJ, White-Koning M, Badawi N. Epidemiology of neonatal encephalopathy and hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Early Hum Dev.* 2010;86:329–38.
- Burnard ED, Cross KW. Rectal temperature in the newborn after birth asphyxia. *Br Med J.* 1958;2:1197–9.
- Laptook AR, Corbett RJ, Sterett R, Garcia D, Tollefsbol G. Quantitative relationship between brain temperature and energy utilization rate measured in vivo using 31P and 1H magnetic resonance spectroscopy. *Pediatr Res.* 1995;38:919–25.
- Alonso-Alconada D, Broad KD, Bainbridge A, Chandrasekaran M, Faulkner SD, Kerenyi Á, et al. Brain cell death is reduced with cooling by 3.5 °C to 5 °C but increased with cooling by 8.5 °C in a piglet asphyxia model. *Stroke.* 2015;46:275–8.
- Roka A, Azzopardi D. Therapeutic hypothermia for neonatal hypoxic ischaemic encephalopathy. *Early Hum Dev.* 2010;86:361–7.
- Drury PP, Bennet L, Gunn AJ. Mechanisms of hypothermic neuroprotection. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2010;15:287–92.
- Alonso-Alconada D, Alvarez A, Arteaga O, Martinez-Ibarguen A, Hilario E. Neuroprotective effect of melatonin: A novel therapy against perinatal hypoxia- ischemia. *Int J Mol Sci.* 2013;14:9379–95.
- Reiter RJ. Melatonin: Lowering the high price of free radicals. *News Physiol Sci.* 2000;15:246–50.
- Robertson NJ, Faulkner S, Fleiss B, Bainbridge A, Andorka C, Price D, et al. Melatonin augments hypothermic neuroprotection in a perinatal asphyxia model. *Brain.* 2013;136 Pt 1:90–105.
- Aly H, Elmahdy H, el-Dib M, Rowisha M, Awmy M, el-Gohary T, et al. Melatonin use for neuroprotection in perinatal asphyxia: A randomized controlled pilot study. *J Perinatol.* 2015;35:186–91.
- Balduini W, Weiss MD, Carloni S, Rocchi M, Sura L, Rossignol C, et al. Melatonin pharmacokinetics and dose extrapolation after enteral infusion in neonates subjected to hypothermia. *J Pineal Res.* 2019;8:e12565.
- Ko KM, Godin DV. Inhibition of transition metal ion-catalysed ascorbate oxidation and lipid peroxidation by allopurinol and oxypurinol. *Biochem Pharmacol.* 1990;40:803–9.
- Van Bel F, Shadid M, Moison RM, Dorrepaal CA, Fontijn J, Monteiro L, et al. Effect of allopurinol on postasphyxial free radical formation, cerebral hemodynamics, and electrical brain activity. *Pediatrics.* 1998;101:185–93.
- Rodríguez-Fanjul J, Duran Fernandez-Feijoo C, Lopez-Abad M, Lopez Ramos MG, Balada Caballe R, Alcantara-Horillo S, et al. Neuroprotection with hypothermia and allopurinol in an animal model of hypoxic-ischemic injury: Is it a gender question? *PLOS ONE.* 2017;12:e0184643.

15. Boda D, Németh I, Kiss P, Orvos H. Treatment of mothers with allopurinol to produce therapeutic blood levels in newborns. *Prenat Neonatal Med.* 1999;4:130–4.
16. Benders MJ, Bos AF, Rademaker CM, Rijken M, Torrance HL, Groenendaal F, et al. Early postnatal allopurinol does not improve short term outcome after severe birth asphyxia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2006;91:163–5.
17. Gunes T, Ozturk MA, Koklu E, Kose K, Gunes I. Effect of allopurinol supplementation on nitric oxide levels in asphyxiated newborns. *Pediatr Neurol.* 2007;36:17–24.
18. Torrance HL, Benders MJ, Derks JB, Rademaker CM, Bos AF, van den Berg P, et al. Maternal allopurinol during fetal hypoxia lowers cord blood levels of the brain injury marker S-100B. *Pediatrics.* 2009;124:350–7.
19. Juul SE, Pet GC. Erythropoietin and neonatal neuroprotection. *Clin Perinatol.* 2015;42:469–81.
20. Juul SE, Anderson DK, Li Y, Christensen RD. Erythropoietin and erythropoietin receptor in the developing human central nervous system. *Pediatr Res.* 1998;43:40–9.
21. Juul SE, Beyer RP, Bammler TK, McPherson RJ, Wilkerson J, Farin FM. Microarray analysis of high-dose recombinant erythropoietin treatment of unilateral brain injury in neonatal mouse hippocampus. *Pediatr Res.* 2009;65:485–92.
22. Jantzie LL, Miller RH, Robinson S. Erythropoietin signaling promotes oligodendrocyte development following prenatal systemic hypoxic-ischemic brain injury. *Pediatr Res.* 2013;74:658–67.
23. Jantzie LL, Corbett CJ, Firl DJ, Robinson S. Postnatal erythropoietin mitigates impaired cerebral cortical development following subplate loss from prenatal hypoxia-ischemia. *Cereb Cortex.* 2015;25:2683–95.
24. Fang AY, Gonzalez FF, Sheldon RA, Ferriero DM. Effects of combination therapy using hypothermia and erythropoietin in a rat model of neonatal hypoxia-ischemia. *Pediatr Res.* 2013;73:12–7.
25. Fan X, van Bel F, van der Kooij MA, Heijnen CJ, Groenendaal F. Hypothermia and erythropoietin for neuroprotection after neonatal brain damage. *Pediatr Res.* 2013;73:18–23.
26. Zhu C, Kang W, Xu F, Cheng X, Zhang Z, Jia L, et al. Erythropoietin improved neurologic outcomes in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics.* 2009;124:218–26.
27. Elmahdy H, el-Mashad AR, el-Bahrawy H, el-Gohary T, el-Barbary A, Aly H. Human recombinant erythropoietin in asphyxia neonatorum: Pilot trial. *Pediatrics.* 2010;125:1135–42.
28. Bennet L, Tan S, van den Heuvel L, Derrick M, Groenendaal F, van Bel F, et al. Cell therapy for neonatal hypoxia-ischemia and cerebral palsy. *Ann Neurol.* 2012;71:589–600.
29. Park WS, Sung SI, Ahn SY, Yoo HS, Sung DK, Im GH, et al. Hypothermia augments neuroprotective activity of mesenchymal stem cells for neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *PLOS ONE.* 2015;10:e0120893.
30. Ahn SY, Chang YS, Sung DK, Sung SI, Park WS. Hypothermia broadens the therapeutic time window of mesenchymal stem cell transplantation for severe neonatal hypoxic ischemic encephalopathy. *Sci Rep.* 2018;8:7665.
31. Van Velthoven CT, Kavelaars A, Heijnen CJ. Mesenchymal stem cells as a treatment for neonatal ischemic brain damage. *Pediatr Res.* 2012;71 4 Pt 2:474–81.
32. Jellema R, Ophelders DR, Zwanenburg A, Nikiforou M, Delhaas T, Andriessen P, et al. Multipotent adult progenitor cells for hypoxic ischemic injury in the preterm brain. *J Neuroinflammation.* 2015;12:241.
33. Cotten CM, Murtha AP, Goldberg RN, Grotegut CA, Smith PB, Goldstein RF, et al. Feasibility of autologous cord blood cells for infants with hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Pediatr.* 2014;164:973–9.
34. Bavarsad Shahripour R, Harrigan MR, Alexandrov AV. N-acetylcysteine (NAC) in neurological disorders: Mechanisms of action and therapeutic opportunities. *Brain Behav.* 2014;4:108–22.
35. Jatana M, Singh I, Singh AK, Jenkins D. Combination of systemic hypothermia and N-acetylcysteine attenuates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Pediatr Res.* 2006;59:684–9.
36. Horowitz R, Dart R, Jarvie D, Bearer C, Gupta U. Placental transfer of N-acetylcysteine following human maternal acetaminophen toxicity. *J Toxicol Clin Toxicol.* 1997;35:447–51.
37. Lobo N, Yang B, Rizvi M, Ma D. Hypothermia and xenon: Novel noble guardians in hypoxic-ischemic encephalopathy? *J Neurosci Res.* 2013;91:473–8.
38. Franks NP, Dickinson R, de Sousa SL, Hall AC, Lieb WR. How does xenon produce anaesthesia? *Nature.* 1998;396:324.
39. Ma D, Williamson P, Januszewski A, Nogaro MC, Hossain M, Ong LP, et al. Xenon mitigates isoflurane-induced neuronal apoptosis in the developing rodent brain. *Anesthesiology.* 2007;106:746–53.
40. Azzopardi D, Robertson NJ, Bainbridge A, Cady E, Charles-Edwards G, Deierl 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;15:145–53.
41. Broad KD, Fierens I, Fleiss B, Rocha-Ferreira E, Ezzati M, Hassell J, et al. Inhaled 45-50% argon augments hypothermic brain protection in a piglet model of perinatal asphyxia. *Neurobiol Dis.* 2016;87:29–38.