

На правах рукописи

ГАРАЕВ  
Вугар Ризван оглы

НЕЙРОИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ  
ПОСТАНОКСИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ НОВОРОЖДЕННЫХ И  
ПРОГНОЗ ПСИХОНЕВРОЛОГИЧЕСКИХ ПОСЛЕДСТВИЙ

03.03.01 – физиология  
14.01.08 – педиатрия

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург  
2013

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» Северо-Западного отделения Российской академии медицинских наук

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук, профессор  
доктор медицинских наук, профессор,  
заслуженный деятель науки РФ

**Клименко Виктор Матвеевич**

**Шабалов Николай Павлович**

**Официальные оппоненты:**

**Якимовский Андрей Федорович**, доктор медицинских наук, профессор, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, кафедра нормальной физиологии, руководитель

**Пальчик Александр Бейнусович**, доктор медицинских наук, профессор, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, факультет повышения квалификации и постдипломной подготовки, кафедра психоневрологии, руководитель

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2013 г. в \_\_ часов на заседании совета Д001.022.03 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» Северо-Западного отделения Российской академии медицинских наук по адресу: 197376, Санкт-Петербург, ул. академика Павлова, 12.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» Северо-Западного отделения Российской академии медицинских наук по адресу: 197376, Санкт-Петербург, ул. академика Павлова, 12.

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2013 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

Доктор биологических наук

Хныченко Людмила Константиновна

**Актуальность исследования.** Гипоксически – ишемическая энцефалопатия (ГИЭ) новорожденных является приобретенным синдромом с клиническими и лабораторными показателями острого поражения головного мозга вследствие перенесенной асфиксии. Несмотря на значительное улучшение понимания механизмов развития данной патологии у новорожденных, перинатальная асфиксия является одной из основных причин острого неврологического повреждения при рождении. Частота ГИЭ для доношенных новорожденных в разных странах составляет 1-6 из 1000 живорожденных (Vannucci R.C., 1997; Gunn A.J., 2002; Azzopardi D., 2007; Volpe J.J., 2008).

Новорожденные с тяжелой ГИЭ в 15-25% случаях погибают, а 25-30% выживших страдают тяжелой степенью инвалидности (Dixon G., 2002). Данные о встречаемости ГИЭ в России варьируют в широких пределах 15,6 – 38,0 на 1000 среди доношенных новорожденных (Пальчик А.Б., Шабалов Н.П., 2011). Подобный разброс в числах, обусловлен разными критериями диагностики ГИЭ в России и за рубежом.

По данным литературы тенденцией последних лет является снижение частоты встречаемости ГИЭ (Smith J., 2000; Volpe J.J., 2008). Подобная тенденция, обусловлена наряду с улучшением антенатальной диагностики, социоэкономических условий и стандартизацией критериев диагностики ГИЭ. Тем не менее, по данным ВОЗ ГИЭ является одной из 5 основных причин смерти детей до 5 лет. Асфиксия является причиной смерти около 920000 детей в мире ежегодно. Более миллиона детей, перенесших асфиксию, имеют впоследствии церебральные дисфункции, задержки развития, трудности при обучении в школе и другие проблемы (Zanelli S.A., 2009).

Несмотря на наличие множества клинико – лабораторных методов определения степени тяжести при постановке диагноза ГИЭ, специфического теста способного подтвердить или исключить ГИЭ не существует. Данные, полученные в результате многочисленных экспериментальных и клинических исследований механизмов повреждающих неонатальный мозг после гипоксии-ишемии, указывают на важную патогенетическую роль нейровоспаления при ГИЭ. В связи с этим высокие уровни провоспалительных цитокинов при ГИЭ рассматриваются как критерий тяжести перенесенной асфиксии (Nelson K.B., 2003).

В экспериментах показано, что введения ИЛ-1 $\beta$  животным в неонатальном возрасте приводят к отдаленным нарушениям когнитивных функций, в частности, исследовательского поведения (Клименко В.М., 2005) и памяти (Зубарева О.Е. и Клименко В.М., 2008).

Исследования последних десятилетий функционального состояния ЦНС взрослых животных указывают на патогенное нарастание

возбудимости структур мозга под влиянием повышенного уровня провоспалительных цитокинов (Vezzani A. et al., 2008; Абдурасулова И.Н., Клименко В.М., 2011).

Высокие уровни провоспалительных цитокинов при ГИЭ являются не только показателем тяжести поражения головного мозга (ГМ) у новорожденных, но и дополнительным повреждающим фактором. В связи с чем, изучение влияния провоспалительных цитокинов на электрическую активность ГМ у новорожденных имеет большое значение для правильного понимания патологических процессов при гипоксии/ишемии и может улучшить не только прогнозирование, но существенно расширить возможности своевременной нейропротективной терапии при ГИЭ.

**Цель и задачи исследования:** изучить у новорожденных с гипоксически – ишемической энцефалопатией изменения функциональных показателей активности головного мозга, выявить их связь с динамикой уровней провоспалительных цитокинов в крови и оценить значимость этих изменений для прогноза ранних и отдаленных неврологических нарушений.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Изучить особенности изменений активности головного мозга с помощью амплитудно-интегрированной ЭЭГ (аЭЭГ) у новорожденных с разной степенью тяжести гипоксически-ишемической энцефалопатии и сопоставить их с показателями аЭЭГ детей без тяжелых неврологических нарушений.

2. Определить уровень провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 в крови новорожденных с неврологическими нарушениями при гипоксически – ишемической энцефалопатии разной степени, сопоставить их с показателями уровня провоспалительных цитокинов в крови детей без установленных неонатальных повреждений функций ЦНС.

3. Определить связь между уровнем циркулирующих цитокинов в крови с показателями аЭЭГ и клиническими проявлениями неврологических нарушений.

4. Выявить ранние неврологические (в возрасте 2-х месяцев жизни) и отдаленные (в возрасте 2-х лет) нарушения психомоторного развития у детей, перенесших в неонатальном периоде гипоксически – ишемическую энцефалопатию.

5. Оценить ранние и отдаленные нарушения психомоторного развития после гипоксически-ишемической энцефалопатии с особенностями аЭЭГ и повышением уровней циркулирующих в крови ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 в неонатальном периоде.

**Научная новизна исследования.** Получены приоритетные данные, которые указывают на корреляцию между повышением уровня ИЛ-6 в крови и степенью повреждения головного мозга у новорожденных с гипоксически – ишемической энцефалопатией (ГИЭ), а также с отставанием их психомоторного развития в последующем.

Показано, что повторная судорожная активность у новорожденных с ГИЭ коррелирует с высокими уровнями ИЛ-6 в крови. Полученные данные свидетельствуют о роли высоких уровней провоспалительных цитокинов в поддержании судорожного синдрома у новорожденных с ГИЭ и дальнейшего отставания психоневрологического развития.

#### **Научно-практическое значение результатов работы.**

Амплитудно – интегрированная энцефалография (аЭЭГ) является надежным инструментом для мониторинга церебральных функций у новорожденных с ГИЭ, что служит критерием для выявления случаев клинико-энцефалографических диссоциаций судорожной активности мозга («субклинические судороги») и прогноза психоневрологических последствий ГИЭ в перинатальном периоде. Практическая значимость полученных результатов заключается в том, что повышение уровня ИЛ-6 в крови не только является показателем тяжести ГИЭ у новорожденных, но и потенциальной мишенью для раннего терапевтического вмешательства с целью улучшения психоневрологического развития у данного контингента пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии новорожденных.

Выявленная корреляция уровня ИЛ-6 в крови со степенью тяжести ГИЭ, указывает на отсутствие необходимости определять уровень провоспалительных цитокинов в спинномозговой жидкости (более инвазивная процедура получения) для уточнения степени тяжести постгипоксического повреждения головного мозга.

#### **Положения, выносимые на защиту.**

1. Гипоксически – ишемическая энцефалопатия новорожденных (ГИЭ) сопровождается повышением уровня провоспалительных цитокинов в крови и нарушениями биоэлектрической активности головного мозга.

2. Определение уровня интерлейкина – 6 в крови и мониторинг биоэлектрической активности головного мозга методом амплитудно – интегрированной ЭЭГ улучшает диагностику и прогнозирование последствий ГИЭ.

**Личный вклад соискателя.** Автором проведен аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме. Внедрен метод амплитудно – интегрированной электроэнцефалографии (аЭЭГ) на отделении реанимации новорожденных ДГБ № 1, разработаны и

опубликованы методические рекомендации по регистрации и анализу аЭЭГ у новорожденных. Самостоятельно проведены клинические и аЭЭГ исследования, своевременный забор крови для определения уровней цитокинов у исследуемых новорожденных, статистическая обработка и изложение полученных данных. Определение уровней цитокинов в сыворотке крови выполнено совместно с к.б.н. О.Е. Зубаревой в Физиологическом отделе им. И.П. Павлова ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН. Уровень психомоторного развития определялся совместно с неврологом ДГБ № 1 М.В. Шумиловой и клиническим психологом В.И. Варфаломеевой.

**Апробация результатов работы.** Результаты работы были представлены и обсуждались на 12-ой Междисциплинарной международной конференции «Стресс и поведение» Санкт-Петербург, 16-20 мая, 2009 г.; на 6-ой Российской конференции «Нейроиммунопатология» Москва, 1-2 июня, 2010 г.; на 10-ой Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы клинки, диагностики и лечения в многопрофильном учебном учреждении» ВМА, Санкт-Петербург, 20-21 апреля, 2011 г.; на Всероссийской молодежной конференции-школе «Нейробиология интегративных функций мозга» «НИИЭМ» СЗО РАМН, Санкт – Петербург, 21-25 ноября 2011 г. Материалы диссертационной работы докладывались на научных заседаниях Физиологического отдела им. И.П. Павлова ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН и кафедры «Детских болезней» Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова.

По материалам диссертации опубликовано 7 научных работ, в том числе 4 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных перечнем ВАК. Опубликованы методические рекомендации по использованию амплитудно – интегрированной электроэнцефалографии в неонатологии.

#### **Структура и объем работы**

Работа содержит введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследований, результаты собственных исследований, их обсуждение, заключение, выводы и список цитируемой литературы. Материалы диссертации изложены на 122-х страницах печатного текста, содержат 13 таблиц и 20 рисунков. Список литературы включает 254 источников, из них 26 отечественных и 228 иностранных.

#### **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

##### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**Данные клинического исследования.** В исследование были включены 34 доношенных новорожденных. В последующем двое новорожденных были исключены (у одного ребенка была выявлена внутриутробная цитомегаловирусная инфекция (ВУИ), а у другого –

порок развития сосудов головного мозга). Исследуемые новорожденные были разделены на две группы по тяжести поражения головного мозга (ГМ). Контрольную группу (первая группа) составили 20 новорожденных, которые поступили в отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных, «Детской городской больницы» №1 г. Санкт – Петербурга в возрасте до трех суток жизни. Только у 10 из 20-ти новорожденных контрольной группы были проявления ГИЭ легкой степени. Остальные 10 новорожденных из контрольной группы (с легкими неврологическими нарушениями) родились с низкой оценкой по шкале Апгар и потребовали искусственной вентиляции легких при рождении. Диагнозы при поступлении: у 9-ти – родовая травма и у одного – транзиторное тахипноэ новорожденных. Два новорожденных, поступивших с диагнозом родовая травма, родились с низкой оценкой по шкале Апгар в связи с медикаментозной кардио-респираторной депрессией.

Вторую группу составили 12 новорожденных с тяжелыми неврологическими нарушениями после перинатальной асфиксии. У трех из них были проявления ГИЭ тяжелой степени, остальные 9 ГИЭ среднетяжелой степени. Два новорожденных с ГИЭ тяжелой степени умерли в неонатальном периоде от полиорганной недостаточности. Тяжесть ГИЭ диагностировали шкалой определения степени постановкисической энцефалопатии у доношенных новорожденных по Н.В. Samat и M.S. Samat (1976). Исследуемые группы новорожденных отличались по оценке шкалы Апгар на 1-ой и 5-ой минутах и продолжительностью искусственной вентиляции легких, что указывает на разную степень тяжести ГИЭ.

Все обследованные новорожденные получали общепринятое лечение, которое заключалось в искусственной вентиляции легких; инотропной поддержке; парэнтеральном и энтеральном питании; начальной антибактериальной терапии, стандартной противосудорожной терапии под контролем аЭЭГ (Шабалов Н.П., Любименко В.А., Пальчик А.Б., Ярославский В.К., 2003; Шабалов Н.П., 2009).

**Метод амплитудно-интегрированной электроэнцефалографии.** Всем исследуемым новорожденным производилась запись аЭЭГ при поступлении на отделение реанимации и интенсивной терапии и на 3-и сутки жизни во время забора крови для дальнейшего определения уровней ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 в сыворотке, с целью выявления судорожной и фоновой активности головного мозга.

Запись аЭЭГ проводилась с помощью цифрового электроэнцефалографа фирмы VIASYS HealthCare Inc., производства США, с программным обеспечением NicVue. С помощью трех серебряных

дисков, расположенных на голове новорожденных по международной системе расположения электродов ЭЭГ 10-20, в биполярных отведениях P3-P4 с индифферентным электродом в отведении Fz (Рис. 1. А). Для подавления артефактов ЭЭГ-сигнал пропускали через фильтр асимметричной волны, которая строго подавляет сигналы ниже 2 Гц и выше 15 Гц.

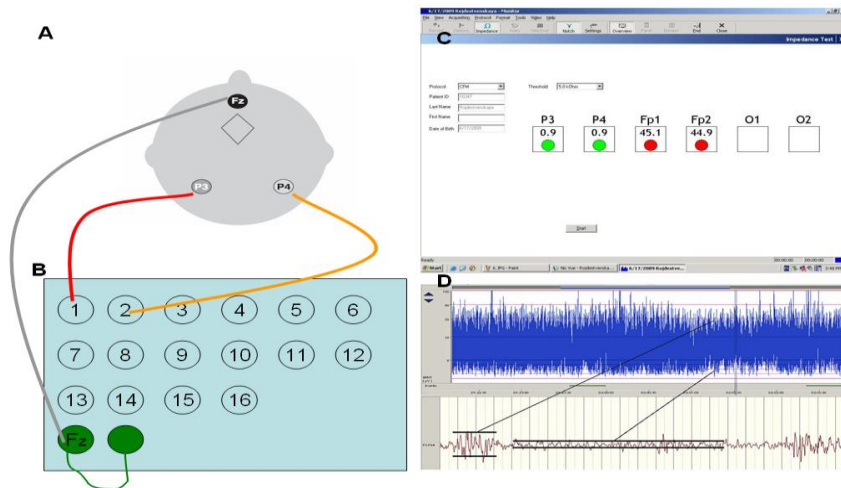


Рис. 1. Схема регистрации аЭЭГ (объяснения в тексте)

Дополнительная обработка ЭЭГ включает сжатие амплитуды (полулогарифмическое) и во времени с выпрямлением сигнала (Рис. 1.D). Ширина ленты отражает вариации минимальных и максимальных значений амплитуд ЭЭГ. Амплитуда откладывается полулогарифмически от 10 до 100 мкВ. Полулогарифмический дисплей помогает идентификации изменений низковольтной активности, избегая перегрузки дисплея сигналами высокой амплитуды (Рис.2).

Метод позволяет длительно следить за фоновой активностью головного мозга новорожденных в условиях отделений реанимации и интенсивной терапии. Помимо простоты регистрации, интерпретация записей аЭЭГ также не вызывает трудностей у клиницистов. Во время исследования использовалась всемирно принятая классификация паттернов аЭЭГ у доношенных новорожденных, предложенная в 1990 г. E.Thornberg, K. Thiringer и L. Hellstroëm-Westas (Рис.2а). Помимо разделения записей аЭЭГ на 5 основных паттернов, производилась регистрация судорожной активности, ЦСБ (циклы сон – бодрствование), максимальных и минимальных значений амплитуды.



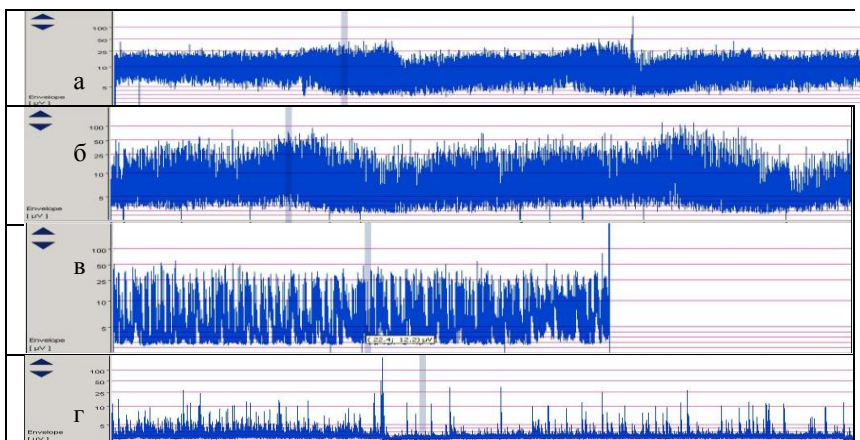


Рис. 2. Примеры нормальных и патологических аЭЭГ паттернов у новорожденных. а) постоянный паттерн с циклами сон – бодрствование у доношенного мальчика; б) прерывистый паттерн с нормальным вольтажом у доношенного мальчика с родовой травмой; в) прерывистый паттерн (вспышка – подавление) у доношенного мальчика с ГИЭ II степени; г) плоский паттерн (“flat trace”) – «изолиния» у новорожденного после тяжелой асфиксии, возвышающиеся линии являются артефактами вызванные манипуляциями и наслаиванием ЭКГ. Значения амплитуд указаны по полулогарифмической шкале от 0 до 100 мкВ.

1. **Постоянный паттерн с нормальным вольтажом**: запись с регулярной шириной, без значительных вариаций амплитуды и вольтажа,  $A_{\min} > 5$  мкВ, и  $A_{\max}$  10-25 (~ 50) мкВ (Рис. 2.а); 2. **прерывистый паттерн с нормальным вольтажом**: запись с нерегулярной шириной, при которой нижний край колеблется около 5мкВ (т.е. не вспышка – подавление) (Рис. 2.б); 3. **прерывистый фоновый паттерн (вспышка – подавление)**: периоды записи с низким вольтажом (электрического молчания) прерываются вспышками высокой амплитуды (Рис. 2.в); 4. **постоянный фоновый паттерн с очень низким вольтажом (около или ниже 5 мкВ)** (Рис. 2.г, левая половина); 5. **очень низковольтный, практически неактивная волна с амплитудой ниже 5 мкВ**, так называемый паттерн “flat trace”, т.е. «изолиния» (Рис. 2.г, правая половина).

Описательный и количественный анализы записей аЭЭГ производились после разделения на 10-ти минутные эпохи. Далее вычислялся % встречаемости из выше представленных паттернов аЭЭГ за время записи (Рис. 3.).

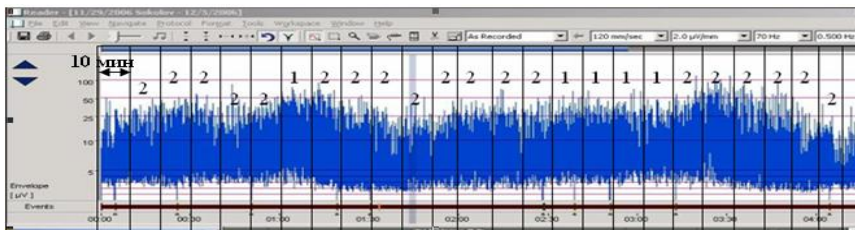


Рис. 3. Разделение на 10-ти минутные эпохи записи аЭЭГ и типы паттернов аЭЭГ. (Пример) Для вычисления преобладающего паттерна аЭЭГ представленную запись продолжительностью 4 часа (240 минут) разделили на 10 минутные эпохи т.е., 24 эпох, пять (2%) из которых соответствуют – 1-му, а 19 эпох (98%) – 2-му типу паттернов по вышеприведенной классификации.

**Метод иммуноферментного анализа.** Образцы сыворотки крови (0.5-1.0 мл) исследуемых новорожденных, взятые на третьи сутки жизни, хранили до определения цитокинов при  $-20^{\circ}\text{C}$ . Определения ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 выполняли стандартным методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием диагностических тест-систем производства НИИ особо чистых биопрепаратов (Санкт-Петербург). Уровень интерлейкина-1 $\beta$  определялся с помощью набора для количественного определения ИЛ-1 $\beta$  человека в образцах сыворотки методом твердофазного иммуноферментного анализа в диапазоне концентраций от 6.3 до 400 пкг/мл. Уровень ИЛ-6 определялся с помощью набора реактивов «ИФА – ИЛ-6» предназначенного для количественного определения ИЛ-6 человека в исследуемых образцах методом твердофазного иммуноферментного анализа в диапазоне от 0 до 500 пкг/мл. Анализ результатов проводили на сканирующем спектрофотометре Immuno Chem 2010 (High Technology Inc, США).

### **Шкала психомоторного развития Бейли (BS ID-II)**

Отдаленный психоневрологический статус исследуемых детей определялся в возрасте 2 лет с помощью шкалы психомоторного развития, разработанной N. Bayley. Нами было использовано второе издание данной шкалы (Scales of Infant Development Second Edition (BSID-II)) от 1993 года (Bayley N., 1993). Шкала развития ребенка N. Bayley включает 3 субшкалы: шкала умственного развития; шкала моторного развития; шкала записи поведения младенца для детей в возрасте от 2 месяцев до 2,5 лет. Шкала умственного развития описывает: восприятие, память, обучаемость, зачатки словесного общения, простейшие мыслительные решения. Шкала моторного развития оценивает моторные навыки: умение

стоять, ходить, подниматься по ступенькам, умение двигать руками и пальцами.

Оценочная шкала заполнялась совместно с психологом и неврологом. С последующим определением индексов психического и психомоторного развития (ИПР и ИПМР). Данная шкала предназначена для оценки разных аспектов развития личности ребенка: эмоциональной реакции, социального поведения. Шкала стандартизирована на большой группе детей и имеет высокие показатели надежности (Табл. 1.).

**Таблица 1. Классификация индексов психического и психомоторного развития по шкале Бейли**

ИПР* или ИПМР**	Классификация	Распределение в теоретической стандартной модели, %	Показатель в стандартной выборке, %	
			Психическая шкала	Моторная шкала
115 и выше	Опережающее развитие	16,0	14,8	16,5
85 – 114	В пределах нормы	68,0	72,6	68,7
70 – 84	Отставание развития	13,5	11,1	12,5
69 и ниже	Значительное отставание развития	2,5	1,5	2,3

Обозначения: \*ИПР – индекс психического развития; \*\*ИПМР – индекс психомоторного развития

Оценка проводилась в одинаковых условиях для всех детей (помещение, время и т.д.). По мере выполнения соответствующих заданий производилось заполнение бланков, для дальнейшего вычисления ИПР и ИПМР. Дополнительно проводилась видеозапись, для более детальной оценки проведенных заданий.

Ранний неврологический исход оценивали совместно с неврологом при выписке по мышечному тону, рефлексам, двигательной активности. За отклонение принималось наличие хотя бы одного из перечисленных неврологических нарушений: сниженный мышечный тонус, псевдобульбарный синдром, судорожный синдром (противосудорожная терапия при выписке). Средний возраст при выписке составил 1.5 – 2 месяцев.

**Статистические методы.** Обработка результатов производилась с помощью компьютерной программы Statistica 6.0. (StatSoft, США). Средние значения и стандартное отклонение вычислялись для таких

показателей, как масса тела и гестационный возраст. Идентичность сравниваемых групп определялась по t-критерию Стьюдента. Корреляционная связь между переменными измерялась непараметрическим методом ранговой корреляции Спирмена. Различия между признаками вычислялись с использованием U-критерия Манна-Уитни. Различия и связи считали достоверными при  $p \leq 0,05$ .

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

### **Результаты клинического исследования новорожденных.**

Оценка тяжести гипоксически – ишемического поражения головного мозга проводилась на основании клинических данных с помощью шкалы определения степени постаноксической энцефалопатии у доношенных новорожденных по Н.В. Samat и М.С. Samat (1976). Масса тела при рождении, гестационный возраст, пол, тип родов, уровень глюкозы, лейкоцитов и лимфоцитов на третьи сутки жизни не отличались в исследуемых группах детей (Табл. 2).

Исследуемые группы новорожденных отличались по оценке шкалы Апгар и продолжительностью искусственной вентиляции легких, что указывает на разную степень тяжести перинатального поражения головного мозга. Все новорожденные, которые были отнесены в группу с тяжелыми неврологическими нарушениями (Группа 2) получали противосудорожную терапию, назначенную им в родильных домах.

Основанием назначения противосудорожной терапии являлось наличие клинических судорог. С момента поступления этих новорожденных в отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных ДГБ№1 противосудорожная терапия проводилась под контролем аЭЭГ.

### **Результаты электроэнцефалографического исследования.**

Исследование фоновой активности головного мозга с помощью аЭЭГ показало, что у новорожденных с тяжелыми неврологическими нарушениями (Группа 2) преобладают паттерны с подавленной амплитудой (постоянная фоновая активность со сниженным вольтажом; постоянная фоновая активность с очень низким вольтажом; паттерн «вспышка – подавление»). У новорожденных с легкими неврологическими нарушениями (Группа 1) патологических паттернов не было выявлено, напротив, у 45% новорожденных из этой группы регистрировались циклы «сон-бодрствование» (Табл. 3).

Таким образом, отмечалась достоверно различная структура аЭЭГ у пациентов исследуемых групп. Выраженность таких паттернов, как постоянная фоновая активность с нормальной амплитудой (1) ( $U=37.5$ ;  $p<0.002$ ) и циклов сон – бодрствование ( $p<0.001$ ) была выше в группе новорожденных с легкой степенью неврологических нарушений.

**Таблица 2. Клинические показатели исследуемых новорожденных**

Клинические показатели	Группа 1 ГИЭ 0 + ГИЭ 1 n=20	Группа 2 ГИЭ 2 + ГИЭ 3 n=12
Срок гестации, (в неделях)	39 ±1	39 ±1.5
Масса тела, (в граммах)	3300 ± 400	3300 ± 600
Пол: мальчики/девочки	12/7	10/3
Оценка по шкале Апгар на 1-ой минуте	6.5 ±1.2	3.9 ±1.8*
Оценка по шкале Апгар на 5-ой минуте	7.5 ±1	5.5 ±1.4*
Тип родов: Кесарево сечение, (в %)	30%	39%
Длительность ИВЛ, (в сутках)	2.7 (2.5)	11 (9.2)*
Максимальная концентрация кислорода ИВЛ, (FiO <sub>2</sub> )	0.45 (±0.24)	0.8 (±0.5)
Инотропная поддержка**, (в сутках)	0.8 (±1)	1.6 (±5.6)
Лейкоциты*** 10 <sup>3</sup> на мл	18.2 (±5.3)	17.4 (±1.2)
Лимфоциты***, 10 <sup>3</sup> на мл	22.2 (±5.3)	22 (±8.7)
Уровень глюкозы в крови***, (ммоль/л)	3.9 (±0.7)	3.87 (±0.72)

Обозначения: \* -  $p \leq 0.05$  статистически значимые различия; \*\* инотропная поддержка – медикаментозная поддержка работы сердца и тонуса сосудов; \*\*\* приведены значения на третьи сутки жизни.

Патологических паттернов «вспышка-по давлению» (3), постоянно сниженная активность с низким (4) и очень низким вольтажом (5) в данной группе выявлено не было. Напротив, в группе новорожденных с тяжелыми неврологическими нарушениями, по данным аЭЭГ достоверно чаще встречалась повторная судорожная активность ( $p=0.02$ ). Кроме того, в этой группе в среднем минимальные амплитуды аЭЭГ записей были значительно ниже, чем в первой группе ( $p < 0.05$ ). Клинические судороги, были выявлены у всех 12 новорожденных 2-ой группы в родильных домах. Всем новорожденным с судорожным синдромом было начато стандартное противосудорожное лечение. В родильных домах в качестве противосудорожной терапии новорожденные получали тиопентал натрия (1-2 мг/кг/час) при клинических проявлениях судорог. Все новорожденные из второй группы при поступлении получали стандартное

противосудорожное лечение барбитуратами в виде внутривенного введения 5% раствора тиопентала натрия (1-2 мг/кг/час). В последующие дни противосудорожное лечение проводилось под контролем аЭЭГ, фенобарбиталом (per os, 5-20 мг/кг/сутки). У 9 из 12 (75%) новорожденных с тяжелыми неврологическими нарушениями (Группа 2) судороги по данным аЭЭГ на третьи сутки жизни повторялись (Таб. 3).

**Таблица 3. Результаты электроэнцефалографического исследования**

Паттерны аЭЭГ в процентах от общей длительности записи	Группа 1 ГИЭ 0 + ГИЭ 1 n=20	Группа 2 ГИЭ 2 + ГИЭ 3 n=12	
1	70	30	p**<0.002
2	30	30	p>0.05
3	0	30	p=0.06
4,5	0	15	p=0.06
Судороги (% детей)	5	75	p*<0.05
ЦСБ (% детей)	45	0	p**<0.001
Макс. А (мкВ)	34.5 (±11)	34.1(±21)	p>0.05
Мин. А (мкВ)	4.85(±0.9)	3 (±1.45)	p*<0.05
Общее время записи, (ч)	48	41	p>0.05

Обозначения: Паттерны аЭЭГ: 1 - постоянная фоновая активность с нормальной амплитудой; 2 – непостоянная фоновая активность с нормальной амплитудой; 3 - паттерн "вспышка - подавление"; 4, 5 - постоянная фоновая активность с низкой и очень низкой амплитудой, соответственно; ЦСБ – циклы «сон – бодрствования»; \* -  $p \leq 0.05$  достоверность отличий между группами; \*\* -  $p \leq 0.001$  достоверность отличий между группами.

Количество повторных судорог составило в среднем 1.5 эпизода в час. У 3(25%) новорожденных с тяжелой степенью ГИЭ (ГИЭ 3 ст.) повторных судорог на третьи сутки жизни не было.

Полученные данные свидетельствуют о том, что аЭЭГ является не только достаточно аккуратным методом ЭЭГ для контроля противосудорожной терапии у новорожденных с ГИЭ в условиях реанимации и интенсивной терапии, но и методом определения степени тяжести гипоксически – ишемического повреждения головного мозга у новорожденных в первые сутки жизни. Дополнительным подтверждением последнего утверждения служат результаты, полученные во время изучения ранних и отдаленных (в возрасте 2 лет) последствий ГИЭ у исследуемых новорожденных. Те новорожденные, у которых чаще

встречались нормальные паттерны аЭЭГ при выписке (1.5 – 2 месяца жизни) обладали нормальным неврологическим статусом (Таб. 4). У половины этих новорожденных встречался паттерн «сон-бодрствование» ( $U=30$ ;  $p<0.05$ ). Несмотря на то, что патологические паттерны аЭЭГ встречались только у новорожденных с неврологическими последствиями при выписке (Группа Б), достоверной прямой связи между этими паттернами аЭЭГ и ранним неврологическим исходом обнаружено не было.

**Таблица 4. Корреляция между паттернами аЭЭГ и ранним неврологическими последствиями ГИЭ**

Паттерны аЭЭГ на 3-е сутки жизни	Группа А n=10 (%)	Группа Б n=12 (%)	U; $p^* \leq 0.05$	Spearman; $p^* \leq 0.05$
1	60	25	$U=31.5; p^* < 0.05$	$p^* < 0.05$
2	40	33	$U=58.5; p > 0.05$	$p > 0.05$
3	0	17	$U=50; p > 0.05$	$p > 0.05$
4,5	0	25	$U=45; p > 0.05$	$p > 0.05$
Макс. А (мкВ)	34.5 ( $\pm 11$ )	34.1 ( $\pm 21$ )	$U=41; p > 0.05$	$p > 0.05$
Мин. А (мкВ)	4.85 ( $\pm 0.9$ )	3 ( $\pm 1.45$ )	$U=28; p^* < 0.05$	$p^* < 0.05$
ЦСБ (% детей)	50	0	$U=30; p^* < 0.05$	$p^* < 0.01$

Обозначения: 1 - постоянная фоновая активность с нормальной амплитудой; 2 – непостоянная фоновая активность с нормальной амплитудой; 3 - паттерн "вспышка - подавление"; 4, 5 - постоянная фоновая активность с низкой и очень низкой амплитудой, соответственно; ЦСБ – циклы «сон-бодрствование». U-критерий Манна-Уитни;  $p^* \leq 0.05$ ; Spearman – коэффициент ранговой корреляции Спирмена;  $p^* \leq 0.05$ .

Тем не менее, связь между этими паттернами и ранним неврологическим исходом существует. Минимальные амплитуды на аЭЭГ отражают степень подавления ЭЭГ. В результате проведенного нами исследования было обнаружено, что при выписке у новорожденных с неврологическими нарушениями среднее значение минимальных амплитуд аЭЭГ записи на третьи сутки жизни были достоверно ниже ( $3 \pm 1.45$  мкВ;  $U=28$ ;  $p<0.05$ ). Связь заключается в том, что все вышеприведенные патологические паттерны аЭЭГ («вспышка-подавление» (3), постоянная фоновая активность с низкой (4) и очень низкой (5) амплитудой) отражают подавление электрической активности головного мозга в той или иной степени.

#### **Результаты определения уровней цитокинов на третьи сутки жизни.**

С целью определения связи между паттернами амплитудно – интегрированной электроэнцефалографии (аЭЭГ) и уровнями ИЛ-1 $\beta$  и

ИЛ-6 в сыворотки крови у исследуемых новорожденных на 3-и сутки жизни производился забор крови. Сыворотки крови до определения уровней цитокинов хранились в низкотемпературном морозильнике при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ . Из 32 проб сывороток крови уровни цитокинов ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 были определены в 30-ти.

Повышенный уровень ИЛ-1 $\beta$  был выявлен у 7 новорожденных (у 5 из первой группы и у двух из второй). Максимальное и минимальное значения уровня ИЛ-1 $\beta$  составили 55.2 пг/мл и 2.4 пг/мл, соответственно. Достоверной разницы уровня ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови разных групп новорожденных обнаружено не было ( $p>0.05$ ). Следует отметить, что уровень ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови у новорожденных второй группы был ниже, чем у первой.

Повышенный уровень ИЛ-6 выявлен у 13-ти новорожденных (у одного новорожденного из первой группы и у 12 из второй). Максимальное и минимальное значения уровня ИЛ-6 составили 558 пг/мл и 12 пг/мл, соответственно (Таб. 5). Средний уровень ИЛ-6 для первой группы составил 51 пг/мл, что незначительно выше возрастной нормы, тогда как для второй группы (ГИЭ 2 и ГИЭ 3) – 177 пг/мл, что достоверно выше, чем в группе новорожденных с легкой степенью ГИЭ ( $p^*=0.02$ ). Полученные данные свидетельствуют о том, что уровень ИЛ-6 повышается соответственно тяжести гипоксически – ишемического поражения головного мозга не только в спинномозговой жидкости новорожденных (как это было доказано раньше), но и в сыворотке крови. Тридцать новорожденных ( $n=30$ ), у которых были определены уровни ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 в сыворотке крови на 3-е сутки жизни были разделены по преобладающему паттерну аЭЭГ в соответствии с вышеприведенной классификацией. С целью определения влияния высоких уровней изучаемых нами провоспалительных цитокинов на биоэлектрическую активность ГМ, разделение пациентов по преобладающему паттерну аЭЭГ производили без учета степени ГИЭ. Учитывалось также количество новорожденных с циклами «сон-бодрствование» и повторной судорожной активностью по данным аЭЭГ (Табл. 6).

**Таблица 5. Уровни цитокинов в сыворотки крови исследуемых новорожденных на третьи сутки жизни**

Цитокины	Группа 1 n=18	Группа 2 n=12	U	p
ИЛ-1 $\beta$ (пг/мл)	21.47	2.87	86.5	p=0.2
Ил-6 (пг/мл)	51 $\pm$ 35	177 $\pm$ 51*	29	p <sup>*</sup> =0.02

Обозначение: \* - статистически значимые различия по критерию Манна - Уитни ( $p\leq 0.05$ )



Повышенный уровень ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови отмечался у 28% новорожденных с постоянной фоновой активностью головного мозга и нормальной амплитудой (1), у 14% с непостоянной фоновой активностью и нормальной амплитудой (2), а также у 22% новорожденных с циклами «сон-бодрствование» и у 11% с повторной судорожной активностью (Табл. 6). Достоверной связи между уровнем ИЛ-1 $\beta$  (пг/мл) в сыворотке крови исследуемых новорожденных на 3-е сутки жизни и паттернами аЭЭГ выявлено не было ( $p>0.05$ ).

Повышенный уровень ИЛ-6 в сыворотке крови отмечался у 17% новорожденных с постоянной фоновой активностью головного мозга с нормальной амплитудой (1), у 29% с непостоянной фоновой активностью с нормальной амплитудой (2), у 100% (у двух из двух новорожденных) с паттерном «вспышка-подавление» (3) и 67% (у двух из трех новорожденных) с постоянно сниженной фоновой активностью ГМ (4,5), а также у 11% новорожденных с циклами «сон-бодрствование» и у 89% с повторной судорожной активностью.

**Таблица 6. Связь повышения уровня цитокинов на третье сутки жизни с паттернами аЭЭГ**

Паттерны аЭЭГ*	ИЛ-1 $\beta$			ИЛ-6		
	Общее кол-во детей n=30	С повышенным уровнем	%	Общее кол-во детей n=30	С повышенным уровнем	%
1	18	5	28	18	3	17
2	7	1	14	7	2	29
3	2	0	0	2	2	100
4,5	3	0	0	3	2	67
ЦСБ	9	2	22	9	1	11
Повторные судороги	9	1	11	9	8	89

Обозначение: \* Паттерны аЭЭГ: 1 - постоянная фоновая активность с нормальной амплитудой; 2 – непостоянная фоновая активность с нормальной амплитудой; 3 - паттерн "вспышка - подавление"; 4, 5 - постоянная фоновая активность с низкой и очень низкой амплитудой, соответственно; ЦСБ – циклы «сон – бодрствования».

Выявлена достоверная связь между уровнем ИЛ-6 и повторной судорожной активностью по данным аЭЭГ ( $r=0.43$ ,  $p=0.041$ ). При этом уровень ИЛ-6 в крови у новорожденных с наличием повторных судорог был статистически значимо выше, чем у новорожденных без повторных

судорог ( $U=27$ ;  $p<0.05$ ). Подобной связи с повышенным уровнем ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови не наблюдалось ( $U=77$ ;  $p>0.05$ ).

Анализ влияния высоких уровней провоспалительных цитокинов показал наличие корреляции между повышением уровня ИЛ-6 в крови и наличием таких патологических паттернов ЭЭГ, как «вспышка-подавление» и «субклиническая» судорожная активность. Однако корреляции между концентрацией ИЛ-6 в крови и тяжестью (длительность, частота эпизодов) судорожного синдрома выявлено не было. Хотя и у 67% новорожденных с высоким уровнем ИЛ-6 в крови были зарегистрированы паттерны постоянная фоновая активность с низким и очень низким вольтажом, что указывает на подавленную электрическую активность ГМ, статистической достоверной разницы результаты не достигли ( $p>0.05$ ).

### **Результаты исследования ранних и отдаленных неврологических нарушений.**

Из 22 обследованных новорожденных с ГИЭ выписаны были 20 детей, два новорожденных с ГИЭ тяжелой степени умерли в неонатальном периоде. Средняя продолжительность госпитализации (возраст при выписке) составил 1 месяц для детей с ГИЭ (ГИЭ 1 степени) легкой степени и 2 месяца для детей с тяжелой и среднетяжелой степенью ГИЭ (ГИЭ 2-ой и 3-ей степени). Среди детей с легкой степенью ГИЭ только у двух при выписке были выявлены неврологические нарушения в виде псевдобульбарных нарушений легкой степени. Неврологический статус остальных детей из этой группы был в пределах возрастной нормы. Наиболее тяжелые нарушения неврологического статуса были выявлены у детей со среднетяжелой и тяжелой степенью ГИЭ. У четырёх из 12-ти детей из этой группы сохранялся судорожный синдром, у двоих детей – сниженный мышечный тонус: у одного – тяжелая гемиплегия, а у последнего - псевдобульбарный синдром тяжелой степени. Для дальнейшего анализа связи раннего неврологического исхода с аЭЭГ паттернами и уровнем цитокинов крови на третьи сутки жизни, выписанные дети (с ГИЭ разной степени тяжести) были разделены на две группы. В группу А были отнесены дети без выраженной неврологической патологии (неврологический статус при выписке – в пределах возрастной нормы). В группу Б были отнесены дети с псевдобульбарным синдромом, гемиплегией, сниженным тонусом и судорожным синдромом на момент выписки. Два новорожденных с летальным исходом, также были отнесены во вторую группу, т.е., с «плохим» ранним исходом. В группе А детей с нормальным неврологическим статусом при выписке достоверно чаще регистрировался паттерн аЭЭГ - постоянная фоновая активность головного мозга с нормальной амплитудой (1) ( $U=31.5$ ;  $p<0.05$ ), а также у

50 % новорожденных этой группы были зарегистрированы циклы «сон-бодрствование». При выписке у новорожденных с неврологическими нарушениями (группа Б) среднее значение минимальных амплитуд аЭЭГ записи на третьи сутки жизни были достоверно ниже, чем у детей без неврологических нарушений ( $3 \pm 1.45$  мкВ;  $U=28$ ;  $p<0.05$ ). Связь заключается в том, что все вышеприведенные патологические паттерны аЭЭГ («вспышка-подавление» (3), постоянная фоновая активность с низкой (4) и очень низкой (5) амплитудой) отражают подавление электрической активности головного мозга в той или иной степени. На основании теста Бейли из 20-ти детей с ГИЭ разной степени в период новорожденности у 7-и в возрасте 2 лет была выявлена задержка психического развития (ИПР < 85), у шестерых из них в анамнезе была ГИЭ тяжелой и среднетяжелой степени, у одного ребенка – ГИЭ легкой степени (по шкале Н. В. Samat и M. S. Samat). Отставание психомоторного развития (ИПМР < 85) в этом возрасте отмечалось у 5-х из 20 детей. Наиболее тяжелое отставание психического и психомоторного развития (ИПР и ИПМР < 69) наблюдалось у детей с такими патологическими паттернами аЭЭГ как: «вспышка-подавление» (3) и постоянная низкая фоновая активность с низким вольтажом (4). Новорожденные с паттерном «изолиния» (5) умерли в неонатальном периоде.

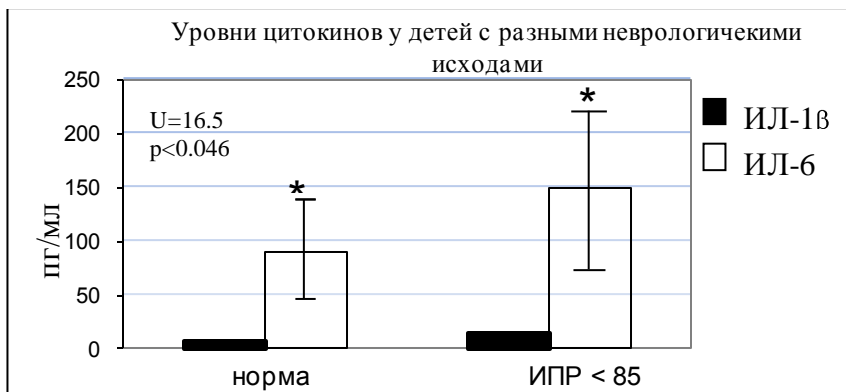


Рисунок 4. Уровни циркулирующих в крови цитокинов на 3-ий день жизни у детей с отставанием психического развития в возрасте 2-х лет. Обозначения: Уровни цитокинов на 3-е сутки жизни в пг/мл; ИПР – индекс психического развития по шкале Бейли; U – критерий Манна – Уитни,  $p^* < 0.05$

Сопоставление уровня психомоторного развития детей, перенесших ГИЭ в неонатальном периоде, в возрасте 2-х лет с уровнем циркулирующих в крови этих детей цитокинов на третьи сутки жизни

позволяет заключить, что повышение уровня ИЛ-6 в неонатальном периоде свидетельствует о «неблагоприятном» неврологическом исходе ( $r=0.43$ ;  $p=0.036$ ). Уровень ИЛ-6 в крови у новорожденных из группы с «плохим» исходом были достоверно выше, чем у детей из группы с нормальным неврологическим исходом: 150 пг/мл и 90 пг/мл, соответственно ( $U=16.5$ ,  $p<0.05$ ) (Рис. 4).

### **Заключение.**

Высокий уровень ИЛ-6 в крови у новорожденных с ГИЭ является не только отражением степени повреждения ЦНС после перенесенной асфиксии, но и, являясь инициатором «субклинической» судорожной активности, усугубляет дальнейший неблагоприятный психоневрологический исход. К тому же, как высокий уровень ИЛ-6 в крови у новорожденных с тяжелой и среднетяжелой степенью ГИЭ на 3-е сутки жизни, так и патологические паттерны аЭЭГ - «вспышка – подавление», повторная судорожная активность, и низкий вольтаж аЭЭГ записи, по результатам данного исследования, связаны с «плохим» неврологическим исходом. Из чего следует, что такие патологические процессы как эксайтотоксичность и нейровоспаление являются взаимодополняющими в конечной электрофизиологической, клинической и иммунологической картине гипоксически – ишемической энцефалопатии. Высокие уровни провоспалительных цитокинов, в частности ИЛ-6, при ГИЭ с нарушением проницаемости ГЭБ приводит к поддержанию судорожного синдрома с последующим «плохим» неврологическим исходом. Практическая значимость полученных результатов заключается в том, что повышение уровня ИЛ-6 в крови является не только показателем тяжести ГИЭ у новорожденных, но и потенциальной мишенью для раннего терапевтического вмешательства с целью улучшения психоневрологического развития у данного контингента пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии новорожденных. Однако, как было показано выше, тяжесть судорожной активности у новорожденных с ГИЭ не зависит от уровня ИЛ-6 в крови. Для того чтобы определить является ли повышенный уровень клинически значимым (наличие судорог и паттерна «вспышка-подавление» на ЭЭГ) необходимо проводить мониторинг церебральных функций. Только комплексная оценка уровня ИЛ-6 в крови и регистрация аЭЭГ у новорожденных с ГИЭ позволит в будущем использовать «терапевтическое окно» предоставленное воспалительным ответом на гипоксию/ишемию, как потенциальную мишень для терапевтического вмешательства. К тому же, нет необходимости определять уровень ИЛ-6 для этих целей в спинномозговой жидкости, что является более инвазивным вмешательством, так как была доказана корреляция повышения уровня

ИЛ-6 в крови и судорожным синдромом у этого контингента новорожденных.

#### **Выводы:**

1. Амплитудно-интегрированная электроэнцефалография (аЭЭГ) – является методом длительного мониторинга электрической активности головного мозга (ГМ) в условиях отделений интенсивной терапии и реанимации новорожденных и обладает высокой степенью диагностической и прогностической ценности при гипоксически–ишемической энцефалопатии новорожденных (ГИЭ).
2. Уровень ИЛ-6 в сыворотке крови у новорожденных при ГИЭ повышается, что коррелирует с тяжестью повреждения ГМ.
3. Судорожный синдром, трудно поддающийся лечению, как и паттерн «вспышка-по давлению», выявляемые с помощью аЭЭГ у новорожденных с ГИЭ, при сочетании с повышением уровня ИЛ-6 в сыворотке крови образуют комплекс, который может быть использован в качестве маркера процессов нейровоспаления при ГИЭ.
4. Выраженность ранних неврологических нарушений в возрасте первых 2-х месяцев жизни коррелирует с «патологическими» паттернами аЭЭГ.
5. Степень отставания психомоторного развития в возрасте 2-х лет, определенная с помощью шкалы Бейли, коррелирует с повышенным уровнем ИЛ-6 в сыворотке крови на 3-е сутки жизни, а также наличием «патологических» паттернов аЭЭГ в неонатальном периоде.
6. Определение уровня ИЛ-6 в сыворотке крови и регистрация аЭЭГ у новорожденных с ГИЭ является ценным дополнением к существующим методам определения степени тяжести ГИЭ, что позволит не только улучшить прогнозирование, но и своевременно используя «терапевтические окна» уменьшить отрицательное влияние патологических процессов запущенных гипоксией/ишемией на развивающийся мозг.

#### **Практические рекомендации:**

1. С целью определения неврологического прогноза у новорожденных с гипоксически – ишемической энцефалопатией (ГИЭ) рекомендуется выполнять регистрацию амплитудно – интегрированной электроэнцефалографии (аЭЭГ).
2. Противосудорожную терапию новорожденным с ГИЭ необходимо проводить под контролем непрерывного мониторинга электрической активности головного мозга методом аЭЭГ.
3. С целью определения степени повреждения головного мозга и психоневрологического прогноза у новорожденных с ГИЭ рекомендуем определение уровня ИЛ-6 в сыворотке крови в возрасте 48-72 часов жизни.

### **Список опубликованных работ по теме диссертации**

1. Гараев, В.Р. Мониторинг церебральной функции в неонатологии // В.Р.Гараев, А.В. Мостовой, А.П. Скоромец / Интенсивная терапия. – 2006. - № 4. – С. 242-249.
2. Гараев, В.Р. Амплитудно-интегрированная электроэнцефалография в неонатологии / В.Р. Гараев, А.П. Скоромец, В.А. Любименко, Н.П. Шабалов, А.В. Мостовой, М.В. Шумилина / Педиатрия – 2008. – Т. 87. - № 1. – С. 59–66.
3. Гараев, В.Р. Применение амплитудно-интегрированной ЭЭГ для диагностики и терапии апноэ у доношенного новорожденного. Клиническое наблюдение / В.Р. Гараев, В.А. Шашилев, А.В. Мостовой, А.П. Скоромец, В.М. Клименко // Эфферентная терапия. – 2009. – Т. 15. - № 1–2. – С. 32–35.
4. Гараев, В.Р. Связь тяжести повреждения ЦНС с повышением уровня провоспалительных цитокинов при перинатальной гипоксически-ишемической энцефалопатии / В.Р. Гараев, О.Е. Зубарева, Н.П. Шабалов, В.М. Клименко // Нейроиммунопатология. VI Российская конференция, 1–2 июня 2010. Патогенез. – 2010. – Т. 8. - № 1. – С. 35.
5. Гараев, В.Р. Нейроиммунологическая картина гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных и психоневрологический исход / В.Р. Гараев, В.М. Клименко, Н.П. Шабалов // Вестник российской военно-медицинской академии. – 2011. – Т. 33. - №1. – С. 161–162.
6. Гараев, В.Р. Влияние содержания провоспалительных цитокинов в крови на повторную судорожную активность у новорожденных с гипоксически – ишемической энцефалопатией / В.Р. Гараев, О.Е. Зубарева, М.В. Шумилина, Ю.В. Горелик, В.А. Любименко, Н.П. Шабалов, В.М. Клименко // Нейрохирургия и неврология детского возраста. – 2011. – Т. 30. - № 4. – С. 49–51.
7. Гараев, В.Р. Новые возможности терапии детей, родившихся в состоянии асфиксии, и предикторы их неврологического исхода / А.П. Скоромец, М.В. Шумилина, В.Р. Гараев, Ю.В. Горелик, А.В. Мостовой, В.А. Любименко, Н.П. Шабалов, А.В. Каган // Нейрохирургия и неврология детского возраста. – 2012. – Т. 31. - № 1. – С. 79–83.