

The maternal brain in pregnancy and preeclampsia : physiologic adaptations and neurologic complications

Citation for published version (APA):

Schreurs, M. P. H. (2015). *The maternal brain in pregnancy and preeclampsia : physiologic adaptations and neurologic complications*. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20150227ms>

Document status and date:

Published: 01/01/2015

DOI:

[10.26481/dis.20150227ms](https://doi.org/10.26481/dis.20150227ms)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Nederlandse Samenvatting

Malou Schreurs

Het brein is een van de meest doorbloede organen van het menselijk lichaam. De hersenen hebben, om optimaal te functioneren, een hoge metabole vraag. De brandstofvoorziening van het brein heeft daarom een strikt gereguleerd transportsysteem van voedingsstoffen en zuurstof die daarnaast ook potentiële toxines snel af voert of buiten de hersenen houdt. Om dit regulatiesysteem goed te laten werken hebben de hersenen enkele unieke kenmerken in tegenstelling tot de perifere vasculaire vaatbedden. Ten eerste hebben de cerebrale vaten een unieke endotheliale cellaag die de bloed-hersen barriere (BBB) vormt. De BBB is een nauwkeurige regulator van het transport van voedingsstoffen en vormt een sterke beschermend systeem om formatie van vasogeen cerebraal oedeem te voorkomen. Vasogeen oedeem is betrokken bij veel pathologische neurologische condities waaronder epileptische aanvallen. Daarnaast heeft het cerebrale vaatbed de intrinsieke capaciteit om een relatief constante bloedstroom te behouden ondanks schommelingen in de perfusiedruk.

De vroege zwangerschap gaat gepaard met een plotselinge daling in perifere vaatweerstand. Dit resulteert in eerste instantie in een daling van de bloeddruk en vervolgens een compensatoire stijging van het plasma volume en het hart-minuut volume. Daarnaast is er sprake van een stijging van vaso-actieve permeabiliteitsfactoren. Echter, tijdens een normale zwangerschap is er, ondanks de aanwezigheid van meer permeabiliteitsfactoren, geen sprake van een verhoogde BBB permeabiliteit waardoor zwangere vrouwen normaliter geen neurologische symptomen zullen vertonen. Of en hoe de BBB en de cerebrale vaten zich aanpassen aan zwangerschaps-gerelateerde veranderingen is niet duidelijk.

Er wordt gedacht dat hypertensieve complicaties in de zwangerschap zoals preeclampsie worden veroorzaakt door cardiovasculaire risicofactoren die de placentaire en endotheliale celfunctie negatief beïnvloeden. Deze cardiovasculaire risicofactoren, waarvan velen ook tot het metabool syndroom behoren, zijn vaak aanwezig tijdens preeclampsie en veroorzaken substantiële oxidatieve stress in de vaatwanden wat kan leiden tot endotheliale celdysfunctie.

In het cerebrale vaatstelsel kan oxidatieve stress potentiële beschadigingen veroorzaken zoals BBB disruptie, vasogeen oedeem en levensbedreigende neurologische complicaties. Om vrouwen tegen neurologische complicaties van preeclampsie te beschermen worden vrouwen primair of secundair preventief behandeld met Magnesiumsulfaat ($MgSO_4$). Het exacte werkingsmechanisme van $MgSO_4$ is echter niet volledig bekend. Dit manuscript concentreert zich op de adaptatie van de BBB in de zwangerschap en mogelijke mechanismes van BBB disruptie en cerebrale cardiovasculaire dysfunctie in preeclampsie.

Hoofdstuk 1 geeft een algemene introductie van het manuscript weer. Het beschrijft het cerebraal vaatsysteem en de impact van de veranderingen van het cerebraal vaatsysteem tijdens de normale zwangerschap en zwangerschappen gecompliceerd door preeclampsie. Daarnaast beschrijft **Hoofdstuk 1** de doelstellingen/hypotheses van het manuscript:

1. Vaststellen wat de impact is van gestegen angiogene en anti-angiogene factoren op de BBB permeabiliteit tijdens de normale zwangerschap.
2. Onderzoeken of en hoe hogere lipiden spiegels het cerebraal vaatsysteem kan beïnvloeden tijdens de zwangerschap in vergelijking met de situatie buiten de zwangerschap.
3. Bepalen wat de mogelijke effecten zijn van geoxideerd low density lipoproteïne (oxLDL) op de BBB tijdens preeclampsie.
4. Onderzoeken wat het mechanisme is van oxLDL-geïnduceerde BBB permeabiliteit en het effect van oxLDL op de cerebrale vaatreactiviteit.
5. Het vaststellen van mogelijke verschillen van de bloeddruk en metabole circulerende factoren in een groot cohort tussen vrouwen die een preeclampsie gecompliceerd door eclampsie of louter een preeclampsie hebben doorgemaakt.

In **Hoofdstuk 2** werd er dieper ingegaan op de eerste doelstelling van dit manuscript. We hebben onderzocht hoe het maternale brein en specifiek de BBB zich tijdens de zwangerschap aanpast aan hoge concentraties van de permeabiliteitsfactor vascular endothelial growth factor (VEGF). Daarnaast hebben we gekeken naar de invloed van sFlt1 op de VEGF-geïnduceerde effecten op de BBB, wetende dat BBB doorbraak en het daaropvolgende vasogeen cerebraal oedeem belangrijke factoren zijn in het ontstaan van neurologische symptomen tijdens preeclampsie. Als laatste hebben we het potentiële BBB-inducerende effect van placental growth factor (PLGF) onderzocht. We vonden dat zowel VEGF als PLGF de mogelijkheid bezitten om de BBB permeabiliteit significant te laten stijgen, maar wel door verschillende VEGF-receptor activatie. PLGF verhoogde de BBB permeabiliteit door activatie van VEGF-receptor 1 (Flt) terwijl VEGF zowel VEGF-receptor 1 (Flt) als VEGF-receptor 2 (Flk) moest binden om effect te hebben op de BBB. Daarnaast vonden we dat circulerende factoren die aanwezig zijn in het bloedplasma van zwangere ratten VEGF-geïnduceerde BBB permeabiliteit voorkwamen en de beschermende functie van de BBB behielden. BBB permeabiliteit was gelijk in zowel de zwangere als niet-zwangere ratten, ondanks het feit dat cerebrale venen van zwangere ratten verhoogd VEGF mRNA expressie vertoonden. Exogeen toegevoegde VEGF initieerde een significante stijging van de BBB permeabiliteit in een niet-zwanger rattenmodel, terwijl het in een zwanger rattenmodel geen veranderingen veroorzaakte. Daarnaast bleef de BBB ook onaangetast als VEGF werd toegevoegd in plasma van zwangere ratten blootgesteld aan een cerebrale vene van een niet-zwangere rat, wat suggereert dat de VEGF-geïnduceerde BBB permeabiliteit werd voorkomen door circulerende factoren die vrijkomen in het bloed tijdens de zwangerschap. Verder lieten we zien dat sFlt1 de VEGF-geïnduceerde BBB permeabiliteit op dezelfde wijze beïnvloedde als het plasma van zwangere ratten. De observatie dat verhoogd sFlt1 de BBB beschermt tegen VEGF-geïnduceerde BBB permeabiliteit creëert nieuwe vragen over de rol van sFlt1 in het ontstaan

van neurologische complicaties bij preeclampsie. Omdat hoge concentraties sFlt1 de BBB lijken te beschermen, zijn er misschien andere pro-inflammatoire circulerende factoren betrokken bij het ontstaan van BBB disruptie en cerebraal vasogeen oedeem tijdens preeclampsie.

Omdat onze experimenten niet direct lieten zien dat sFlt1 de BBB schaadde maar zelfs beschermde, hebben we ons focus verlegd van angiogene/anti-angiogene imbalance naar de effecten van hyperlipidemie op het maternale brein tijdens preeclampsie. Tijdens de normale zwangerschap is er sprake van een fysiologische hyperlipidemie die in preeclampsie verder doorstijgt en schade kan aanrichten aan het cerebrale en perifere vasculaire stelsel. Dit kan in het cerebrale vaatbed leiden tot dysregulatie van de cerebrale bloedstroom wat kan resulteren in neurologische complicaties in vrouwen met preeclampsie. In **Hoofdstuk 3** onderzochten we de tweede doelstelling van dit manuscript en bekeken of hyperlipidemie tijdens de zwangerschap andere effecten heeft op het cerebrale vaatbed in vergelijking tot buiten de zwangerschap. Voor deze experimenten gebruikten we zwangere en niet-zwangere ratten en creëerden een “in vivo” hoog-cholesterol rattenmodel. Daarnaast onderzochten we ook het effect van peroxynitriet op de cerebrale vaatfunctie, omdat peroxynitriet geproduceerd wordt bij hoge lipiden concentratie. Peroxynitriet wordt gevormd door superoxide en stikstofmonoxide en is een bekende beschadiger van de endotheliale functie. We lieten zien dat een excessieve hyperlipidemie de spiertonus in zowel de cerebrale vaten van zwangere en niet-zwangere ratten verlaagde maar dat dit effect groter was in de cerebrale arteriën van zwangere ratten en dat dit toegeschreven was aan peroxynitriet. Deze bevindingen werden bevestigd door vorige studies die demonstreerde dat peroxynitriet een sterke vasodilator kan zijn in het cerebrale vaatbed. Daarnaast zagen we dat een excessieve hyperlipidemie een grotere inflammatoire respons veroorzaakte in cerebrale arteriën van zwangere ratten in vergelijking

tot de arteriën van niet-zwangere ratten door middel van een 12 maal grotere expressie van iNOS.

Een van de vele circulerende factoren die zijn verhoogd tijdens preeclampsie en is geassocieerd met hyperlipidemie is geoxideerd LDL (oxLDL). Het is bekend dat oxLDL in staat is endotheelschade te veroorzaken in vele ziektebeelden zoals hypertensie, diabetes en cerebrale vasculaire ziekten. Echter, of oxLDL ook betrokken is bij de pathogenese van preeclampsie is onbekend. In **Hoofdstuk 4** hebben we onderzocht of oxLDL en LOX-1 (de oxLDL-receptor) activatie een mogelijk onderliggend mechanisme kan zijn in het ontstaan van BBB disruptie in preeclampsie. Daarnaast hebben we gekeken of er verschillen zijn in het ontstaan van BBB disruptie bij vroege preeclampsie (gediagnosticeerd < 34 weken) of late preeclampsie (gediagnosticeerd > 34 weken). We hebben nieuwe aanwijzingen gevonden dat er mogelijk sprake is van een verschillende etiologie tussen vroege en late preeclampsie en we onthullen een potentieel nieuw mechanisme in het ontstaan van BBB disruptie bij vrouwen gediagnosticeerd met vroege preeclampsie. Circulerende factoren aanwezig in het bloedplasma van vrouwen met vroege preeclampsie veroorzaakten een stijging van de BBB permeabiliteit in tegenstelling tot vrouwen met een late preeclampsie. Wanneer LOX-1 werd geblokkeerd werd de stijging in BBB permeabiliteit ongedaan gemaakt. Dit fenomeen van LOX-1 afhankelijke stijging van de BBB permeabiliteit werd bevestigd “in vivo” in zwangere ratten met pathologische LDL concentraties. Circulerend oxLDL, een van de belangrijkste bindingsfactoren van de LOX-1 receptor, was 260% hoger in plasma van vrouwen met een vroege preeclampsie in vergelijking met plasma van vrouwen met late preeclampsie. We bevestigde de potentie van oxLDL om de BBB permeabiliteit te verhogen door middel van experimenten met geïsoleerd oxLDL (in vergelijkbare levels van plasma van vrouwen met vroege preeclampsie) welke een vergelijkbare significante stijging van de BBB permeabiliteit lieten zien. Daarnaast toonde we aan dat de selectieve peroxy-nitriet decompositie catalyst

FeTMPyP de oxLDL-geïnduceerde BBB permeabiliteit afremt. Hiermee bevestigen we de betrokkenheid van de formatie van peroxynitriet in oxLDL-afhankelijke BBB disruptie. Onze resultaten laten voor de eerste maal zien dat verhoogd circulerend oxLDL in het bloedplasma van vrouwen met vroege preeclampsie de BBB permeabiliteit verhoogt via LOX-1 activatie en vervolgens formatie van peroxynitriet.

Na deze bevindingen wilden we het mechanisme van oxLDL-geïnduceerde BBB permeabiliteit verder onderzoeken en tevens bekijken welke effecten oxLDL heeft op de cerebrale vaatreactiviteit. In **Hoofdstuk 5** onderzochten we de effecten en onderliggende mechanismen van geïsoleerd oxLDL op de BBB permeabiliteit en vaatreactiviteit van cerebrale arteriën. In **Hoofdstuk 4** vonden we dat oxLDL een stijging veroorzaakte in de formatie van peroxynitriet, maar het onderliggende mechanisme was nog onduidelijk. Omdat magnesiumsulfaat de primaire behandeling is in het voorkomen van neurologische complicaties tijdens ernstige preeclampsie, bekeken we in **Hoofdstuk 5** ook de potentiële beschermende effecten van magnesiumsulfaat ($MgSO_4$) op oxLDL-geïnduceerde verandering van de BBB permeabiliteit en cerebrale vaatreactiviteit. We lieten zien dat oxLDL een daling van de spiertonus in cerebrale arteriën veroorzaakte dat kon worden voorkomen door apocynin (een antagonist voor NADPH oxidase). Niet-geoxideerd LDL toonde deze effecten niet. Dit suggereert een rol voor NADPH oxidase activiteit en superoxide. Behandeling met $MgSO_4$ beschermde de BBB en voorkwam oxLDL-geïnduceerde BBB disruptie. $MgSO_4$ had geen invloed op de oxLDL-geïnduceerde veranderingen in de cerebrale vaattonus. Deze resultaten suggereren dat oxLDL BBB disruptie en cerebrovasculaire vaattonus dysregulatie veroorzaakt door middel van activatie van NADPH oxidase. We speculeren dat oxLDL de NADPH oxidase activiteit verhoogt met als gevolg een toegenomen productie van superoxide dat bindt met stikstof monoxide en peroxynitriet vormt, resulterend in endotheelschade en

vasculaire dysfunctie. Daarnaast bewijst $MgSO_4$ dat het de BBB beschermt, maar niet veel invloed heeft op de cerebrale vaatreactiviteit.

In **Hoofdstuk 6** hebben we een groot cohort van vrouwen vergeleken die preeclampsie (n=698) of eclampsie (n=88) hebben doorgemaakt. We vergeleken de bloeddrukken en circulerende factoren die onderdeel zijn van het metabool syndroom van deze vrouwen buiten de zwangerschap. Dit grote cohort liet zien dat vrouwen die een eclampsie hadden doorgemaakt buiten de zwangerschap een lagere bloeddruk hadden dan vrouwen die alleen een preeclampsie hadden doorgemaakt. Tevens lieten deze data zien dat er sprake was van een negatieve correlatie tussen de bloeddruk en het ontstaan van eclampsie. Verder vonden we dat 60% van alle eclamptische insulten voor de bevalling ontstonden en 40% na de bevalling. Deze observaties zijn van klinisch belang gezien het algemeen bekend is dat een groot deel van de vrouwen die een eclamptisch insult doormaken voorafgaand geen hypertensie volgens strikte criteria hebben (<140/90 mm Hg). We speculeren dat vrouwen met een lagere uitgangsbloeddruk meer kans hebben om een eclamptisch insult te ontwikkelen. Het feit dat 40% van de eclampsie postpartum ontstaat stipt het belang aan om ook in het kraambed goede controles van de bloeddruk te verrichten en goede te letten op de prodromale symptomen van eclampsie. Als laatste keken we naar de metabole factoren om te bepalen of vrouwen met een voorgaande zwangerschap gecompliceerd met eclampsie misschien al aan een vorm van een onderliggend metabool syndroom zouden kunnen lijden. Uit onze data komen echter geen verschillen tussen de 2 subgroepen voor.

Hoofdstuk 7 geeft een algemene discussie van de meest belangrijke bevindingen in dit manuscript. De discussie wordt afgesloten met de volgende conclusies:

1. De zwangerschap stelt het brein voor een unieke uitdaging. Terwijl andere maternale organen veranderingen ondergaan om de bloedstroom

te vergroten, past het brein zich zodanig aan dat de bloedstroom gelijk blijft om de BBB te beschermen.

2. De BBB adapteert in de normale zwangerschap om een toename van de BBB permeabiliteit, BBB disruptie, cerebraal vasogeen oedeem en neurologische complicaties te voorkomen. Ondanks dat veel circulerende permeabiliteitsfactoren zoals VEGF zijn verhoogd tijdens de zwangerschap, verandert de BBB permeabiliteit niet. Buiten de zwangerschap veroorzaakt VEGF interessant genoeg wel een significante toename van de BBB permeabiliteit. Het lijkt dat sFLT1 belangrijk is in het reguleren van de VEGF-geïnduceerde BBB permeabiliteit tijdens de zwangerschap.
3. BBB disruptie in de zwangerschap kan leiden tot levensbedreigende neurologische complicaties zoals stuipen, cerebraal oedeem, cerebrale bloedingen en coma. Vooral vroege preeclampsie lijkt een risico factor te zijn voor het ontwikkelen van neurologische complicaties.

Fysiologische hyperlipidemie in de normale zwangerschap kan bij een toename van oxidatieve stress omgezet worden in oxLDL wat ook significant verhoogd is tijdens vroege preeclampsie. oxLDL verlaagt de spiertonus van cerebrale arterien dat mogelijk meewerkt aan cerebrovasculaire dysfunctie en verstoring van de cerebrale autoregulatie. Daarnaast verhoogt oxLDL significant de BBB permeabiliteit middels productie van superoxide en daaropvolgende formatie van peroxynitriet. Dit laat zien dat oxLDL niet alleen een onderliggend mechanisme is in het ontstaan van neurologische

complicaties, maar mogelijk ook een belangrijke therapeutische target is in de behandeling van ernstige vroege preeclampsie.

4. Magnesium sulfaat (MgSO_4) beschermt de oxLDL- geïnduceerde BBB permeabiliteit rechtstreeks zonder de oxLDL-gerelateerde verlaging van de vaattonus te beïnvloeden. Dit suggereert dat MgSO_4 voornamelijk direct de BBB beschermt zonder veel invloed te hebben op de myogene veranderingen in de cerebrale vaten.
5. Vrouwen die een eclampsie hebben doorgemaakt, hebben buiten de zwangerschap een significant lagere bloeddruk in vergelijking met vrouwen die een preeclampsia hebben doorgemaakt. Er bestaat een negatieve correlatie tussen de bloeddruk en het voorkomen van eclampsie. Omdat eclampsie niet vaak wordt voorafgegaan door hypertensie en de prevalentie van eclampsie toeneemt in het kraambed, is routine bloeddrukcontrole in het kraambed geïndiceerd.