

Chick embryo as a model in fetal physiology

Citation for published version (APA):

van Golde, J. M. C. G. (1999). *Chick embryo as a model in fetal physiology*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Universiteit Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.19990128jg>

Document status and date:

Published: 01/01/1999

DOI:

[10.26481/dis.19990128jg](https://doi.org/10.26481/dis.19990128jg)

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.

Chapter X

Summary and conclusions

This thesis is a compilation of work directed to gather information for further understanding of the cardiovascular development and responses to changes in oxygenation before birth. This knowledge allows to comprehend the strategy of the fetus for survival during reduced oxygenation and the preparation to face the moment of birth, when it becomes an independent individual. In the majority of cases exposure to an air breathing world enriched with oxygen happens when the fetus is totally mature. However, in 5 to 8% (depending on the area of the world) of the newborn infants, the fetus is obligated to make this step very prematurely, when responses or defense mechanisms are not prepared for this challenge. The chick embryo shows many advantages as a fetal model (Chapter 1), this peculiar model was used in this thesis as an alternative for other animal models in fetal physiology. The work in this thesis was conducted with the following aims: (1) to judge the suitability of the developing chick embryo as a fetal preparation to study fetal physiology; (2) to study the cardiovascular development and responses to changes in fetal oxygenation; (3) to determine the inducibility of the AOE activity and (4) to study the effects of periods of reduced oxygenation and reperfusion under normoxic or hyperoxic condition on the gastrointestinal tract.

Suitability of the model

It is clear that the chick embryo belongs to a different species, it is not a mammalian but there are several similarities, which are described in this thesis. The study of questions related to fetal physiology in the chick embryo, reduces the number of animals used to half since there is no mother animal as it is the case in the mammalian fetus. This animal model offered the possibility to induce independent and reproducible changes in blood gases. This offered the advantage of avoiding new variables, as maternal factors, elicited by the experimental situation such as hypoxia or hyperoxia. More advantageous is that the chick embryo can be exposed to acute or chronic hypoxia without interfering with the nutrient supply to the embryo since gas exchange and nutrition are separately provided. This experimental situation is more difficult to achieve in a mammalian fetus since the placenta provides both functions. The total incubation time of the chick embryo is 21 days, this is a relative short gestation which allowed to have in

a short period of time observation of the changes in the cardiovascular responses. The relative non-invasive techniques necessary to achieve blood gas changes such as, acute hypoxia or hyperoxia, are described in Chapter 2. Technological development such as, 0.5 mm transonic flow probe (0.5VB39, Transonic Systems Inc., Ithaca NY) and 15 μm fluorescent microspheres technique, made it possible to perform measurements of chorioallantoic artery blood flow (CABF), heart rate and cardiac output (CO) distribution. These parameters helped us to characterize the cardiovascular development and the fetal responses to changes in fetal oxygenation.

Cardiovascular development and responses to blood gas changes

Chapter 3 and 4 describes the normal development of the CABF (comparable to the umbilical blood flow in mammals), heart rate and the CO distribution in the developing chick embryo during the last 50% of the total incubation period. The CABF increased 10-fold, from 0.35 ml/min on day 9 to 3.13 ml/min on day 16. Heart rate also increased during this incubation period. This increase correlated to the rapid development of the chick embryo, a large increase in body mass and oxygen consumption. The CO in the chick embryo was similarly distributed to the mammalian fetus. The fraction of the CO distributed to the CAM is 52% on days 10-13 and 41% on days 17-19. Also the fraction of the CO to the yolk sac decreased, as the incubation time advanced, whereas the fraction of the CO to the heart, brain, liver, intestine and carcass increased. This shift of the fraction of the CO from extra-embryonic tissue to embryonic tissue (CAM or placenta) is also observed in the mammalian fetus.

Acute hypoxia, a decrease in arterial Po_2 from 25-30mmHg to 8-10mmHg, elicits cardiovascular adaptations which are "meant" to be protective, but can also cause damage. Acute hypoxia was chosen as intervention because it is a possible situation, which the fetus could encounter during gestation or during delivery. The chick embryo will not be exposed to labor and delivery, but it is exposed to periods of hypoxia in the last days of incubation and it is obligated to start pulmonary ventilation before external hatching. The mammalian fetus presents bradycardia, systemic hypertension and redistribution of cardiac output when exposed to acute hypoxia. However, the development of the response at increasing incubation time (gestational age) is not well characterized. In the chick embryo the initial response to hypoxia (5 min 100% N_2) showed a significant decrease in

CABF (30% at stage 34 and 60% at stage 42) and a significant decrease in heart rate (4% on day 9 and 40% on day 16). This response was observed within 100 seconds (Chapter 5). The CO during the hypoxic period was redistributed in favour of the brain and the heart at expense of the intestine, liver, yolk sac and carcass (Chapter 6). This response maintains the oxygenation to the brain and the heart during a period of advanced differentiation when there is more susceptibility for tissue damage. The percentage changes in CABF and heart rate as well as the fraction of the CO to the vital organs increased with advancing incubation time. This is interpreted as “maturation of the reflex”.

In future studies the contribution of neural or endocrinological or peripheral (vasomotor) mechanisms involved in the mediation of the response to hypoxia will be characterized. Although it is not possible to abolish the chemoreflex by cutting the carotid nerves in the chick embryo, adrenergic and cholinergic receptors can be blocked pharmacologically. Furthermore, it is possible to measure the plasma levels of different vasoactive mediators released during different fetal oxygenation levels. The strength of the response is not only determined by (para)sympathetic activation and the level of released vasoactive mediators, but also by the receptor density or sensitivity or ion channel density in vascular smooth muscle cells. Since the (para)-sympathetic is not completely functional before day 16 of the incubating chick embryo, other mechanisms could also be responsible for the observed bradycardia, decreased CABF and CO redistribution. As described in chapter 1, adrenergic receptors and catecholamines or other endocrine factors probably play an important role in the regulation of cardiovascular responses before optimal (para)sympathetic innervation. The adrenal medulla can be activated directly by hypoxia, causing an increased release of (nor)adrenaline and dopamine. The level of released catecholamines might explain the increase in the strength of response to hypoxia. To test if the peripheral vasoconstriction reflex is mediated by α -adrenergic receptors, an α -adrenergic blockade (phentolamine) can be performed. The remaining increased peripheral resistance after blockade of the α -adrenergic receptors might be explained by the release of α -adrenergic independent endocrine factors such as, arginine vasopressin, renin-angiotensin II, neuropeptide Y and endothelin-1. This information could lead to the following questions: Is hypoxia/reperfusion more damaging early in incubation, when the protective mechanisms are not mature yet? Which organs are most vulnerable at a determined developmental stage?

The capacity for vasoconstriction is an important developmental step since it is a crucial component for the maintenance of the oxygenation of the most vulnerable organs. It is already discussed how chemoreflex and endocrine mechanisms in fetal cardiovascular responses to hypoxia can produce vasoconstriction. Hyperoxia, present after birth, produces also vasoconstriction in different organ systems. Vasoconstriction in response to hyperoxia might serve two goals (1) to limit the oxygen delivery to the tissue and (2) to protect the tissue from an increased oxidative stress due to increased release of ROS. However, it is not known how early in development this vasoconstriction response is present. Changes in the fraction of the cardiac output distributed to the different organs after exposure to 100% O₂ were studied during the last half of the incubation period (Chapter 7). Hyperoxia caused a decrease in fraction of CO to the brain, heart, intestine, liver and carcass, only in chick embryos of 18-19 days old. This observation indicates that local mechanisms responsible for vasoconstriction due to hyperoxia develops late, after 85% of incubation time in the developing chick embryo. It could be speculated that high arterial oxygen stimulates chemically the endothelium to release vasoconstrictive substances such as endothelin-1, angiotensin II, thromboxane A₂ and prostaglandin F_{2α}. These mediators cause increase influx of Ca²⁺ and contraction of the smooth muscle. Thus, the capacity of vasoconstriction depends on the capacity to produces these vasoconstrictive mediators, the ion channel density and the smooth muscle density. The produced ROS might enlarge this vasoconstriction response, by inhibiting vasodilator mediators such as prostacyclin or nitric oxide. However, the exact mediation of this response has to be explored in future studies.

Oxidative stress and antioxidant enzyme system

Not only the reduced oxygenation of the fetus might cause fetal stress and potentially pathological effects, but also the sudden exposure to a relative hyperoxic environment compared to the intra-uterine oxygenation level at the time of premature birth might cause an increase in oxidative stress. The theory maintains that under hyperoxic conditions there occurs an increased release of highly reactive O₂ metabolites that include, superoxide radical, hydrogen peroxide, hydroxyl radical and singlet oxygen. These reactive O₂ metabolites might overwhelm the immature AOE system and interact with and damage important components of the cell (lipids, proteins or DNA). In the developing chick embryo the AOE system matures late in incubation, superoxide dismutase (SOD) and

glutathione peroxidase (GPx) enzyme activity increased in all selected organs (brain, heart, liver, intestine and lungs) during the last 20-30% of the normal incubation period. The catalase enzyme activity showed no significant changes during normal development. The increase in AOE activity during the final part of the incubation might be interpreted as a preparation for postnatal life (Chapter 8). The developing chick embryo is premature exposed to relative hyperoxic conditions (60% O₂ during 48 hours) at different incubational ages (days 10-11, 14-15 and 18-19). The SOD activity increased a two to ten fold after 24-48 hours of hyperoxia in all organs, except in the brain. This temporary increase was stronger in the more developed chick embryo. The GPx and catalase enzyme activity was only induced in chick embryos exposed to 60% O₂ during 48 hours on day 10. Despite the observed induced AOE activity it is not known whether these increased enzyme levels are sufficient to detoxify ROS. Furthermore, the fact that mainly SOD enzyme activity is increased leads to an increased production of hydrogen peroxide and hydroxyl radicals. It might be hypothesized that this induced imbalance in the ratio SOD to GPx and catalase results in an increased oxidative stress. In future studies the regulation of the different AOE gene expression in relation to detoxification of ROS in the developing chick embryo will give information about the time in development and which organ is predisposed to develop tissue damage.

Effects of hypoxia or hyperoxia on the gastrointestinal tract

Necrotizing enterocolitis (NEC) has a multifactorial basis, a variety of factors have been identified which are important in the pathological process such as bacterial colonization, inflammatory mediator(s), feedings and circulatory instability. In our model the pathogenetic effects of hypoxia or hyperoxia on developing intestinal tract are studied (Chapter 9). Chick embryos were exposed to repetitive hypoxia (100% N₂, 6 times during 5 minutes), from day 11 until day 20, recovered under normoxic conditions (21% O₂) (test group 1 (TG1) or under hyperoxic conditions (100% O₂) (test group 2). Chick embryos recovered under hyperoxic conditions were previously incubated under hyperoxic conditions (100% O₂). Histological evaluation of the ileum was performed at different time points after the intervention (2, 4, 8, 16 and 24 hours). In both groups, chick embryos younger than 19 days did not show intestinal damage. Intestinal histology on day 19, showed vasodilation of villus capillaries (10% in TG1 and 15% in TG2), necrosis in topper villi (29% in TG1 and 30% in TG2), and necrosis with preservation of crypts and

transmucosal necrosis (2% in TG1 and 2% in TG2). The fact that only late gestation embryos presented damage could be explained by a simultaneous “maturation” of vasoconstriction response to acute hypoxia in the peripheral organs with increasing incubation time as described in chapter 6. Recovery under hyperoxic conditions did not cause an increased intestinal damage.

Samenvatting en conclusies

Dit proefschrift is samengesteld uit een aantal onderzoeken die de prenatale cardiovasculaire ontwikkeling en reacties op verandering in foetale oxygenatie bestuderen. Kennis van de foetale ontwikkeling van het cardiovasculaire systeem vergroot het inzicht in de adaptatieprocessen van de foetus voor overleving tijdens verminderde oxygenatie en bij zijn voorbereidingen op het extra-uterine leven. Meestal is de ontwikkeling van de foetus voltooid bij de geboorte, wanneer hij voor zijn gasuitwisseling afhankelijk is van de ademhaling. Echter, in 5 tot 8% van de gevallen wordt de foetus prematuur geboren en moet zich aanpassen wanneer diverse beschermende mechanismen nog niet volledig functioneel zijn. Om deze mechanismen te bestuderen biedt het kippenembryo veel voordelen. Daarom is dit model gebruikt als een alternatief diermodel voor foetaal fysiologisch onderzoek. De vraagstellingen in dit proefschrift zijn: (1) beoordeling van het zich ontwikkelende kippenembryo als alternatief dier-experimenteel model in onderzoek van de foetale fysiologie; (2) bestudering van cardiovasculaire ontwikkeling en reacties op veranderingen in foetale oxygenatie (3) bestudering van de induceerbaarheid van het antioxidant enzym systeem tijdens de foetale ontwikkeling; en (4) onderzoek naar de effecten van repetitieve periodes van verminderde oxygenatie gevolgd door normoxische of hyperoxische condities op de tractus digestivus.

Bruikbaarheid van het model

Ofschoon het kippenembryo geen zoogdier is, vertoont het toch een aantal fysiologische overeenkomsten die in dit proefschrift beschreven zijn. Door het gebruik van het kippenembryo voor foetaal fysiologisch onderzoek, kan het gebruik van proefdieren met 50% gereduceerd worden. Omdat het embryo zich onafhankelijk van het moederdier ontwikkelt, zijn diverse maternale factoren uitgesloten. Het kippenembryo biedt bovendien het voordeel dat veranderingen in toevoer van nutriënten en/of het blootstellen aan acute of chronische hypoxie separaat van elkaar kunnen worden uitgevoerd. Deze experimentele condities zijn moeilijker te bewerkstelligen bij zoogdieren. Door de korte incubatietijd van het kippenembryo (21 dagen) is het mogelijk om in korte periode cardiovasculaire ontwikkeling en reacties te bestuderen. De relatieve non-invasieve technieken noodzakelijk om bloedgas veranderingen te induceren, zoals hypoxie of hyperoxie, zijn beschreven in Hoofdstuk 2. Technologische vooruitgang zoals fabricatie van 0.5 mm transonic flow probes en 15µm fluorescerende microsfeers maken het mogelijk chorioallantois arteriële bloedflow (CABF), hartslag en cardiac output

(CO) distributie. Met behulp van deze parameters kunnen we de cardiovasculaire ontwikkeling en reacties op veranderingen in foetale oxygenatie bestuderen.

Cardiovasculaire ontwikkeling en reacties op bloedgas veranderingen

In hoofdstuk 3 en 4 worden de normale ontwikkeling van CABF, hartslag en de CO distributie gedurende de laatste 50% van de incubatietijd van het zich ontwikkelende kippenembryo beschreven. De CABF neemt met een factor 10 toe van 0.35 ml/min op dag 9 tot 3.13 ml/min op dag 16. De hartslag neemt ook toe. Deze toename correleert aan de snelle ontwikkeling van het kippenembryo, de toename in lichaamsgewicht en de zuurstof consumptie. De distributie van de CO in het kippenembryo is vergelijkbaar met die in het foetale zoogdier. Het CAM ontvangt 52% van de CO op dag 10-13 en 41% aan het einde van de incubatie periode. De fractie van de CO naar de dooierzak neemt gedurende de ontwikkeling af, terwijl de fracties naar hart, hersenen, lever, darmen en skelet toenemen. Deze herverdeling van de CO van het extra-embryonale weefsel (CAM of placenta) naar het embryo is vergelijkbaar met wat er gebeurt bij het foetale zoogdier.

Een acute afname van de arteriële P_{O_2} van 25-30mmHg tot 8-10mmHg, veroorzaakt cardiovasculaire aanpassingen ter bescherming tegen deze hypoxie. Voor acute hypoxie als perinataal insult werd gekozen, omdat dit de situatie nabootst die de foetus kan ondergaan tijdens de zwangerschap of de bevalling. Het kippenembryo ondergaat welliswaar niet de ontsluitings en uitdrijvings fase, maar wordt blootgesteld aan een fysiologische hypoxie gedurende de laatste dagen van de incubatie. Daarom start het kippenembryo rondom de 19^e dag met longventilatie ('internal pipping') voordat hij uit zijn ei komt ('hatching'). De reactie op acute hypoxie bij het foetale zoogdier wordt gekenmerkt door bradycardie, systemische hypertensie en redistributie van de CO. Echter de maturatie van deze reacties op hypoxie gedurende de ontwikkeling is nog niet bekend. Wij vonden dat initiële reactie op hypoxie (5 min 100% N_2) een significante daling van de CABF toonde van 30% op dag 9 en van 60% op dag 16 en tevens een significante daling van de hartslag van 4% op dag 9 en van 40% op dag 16. Deze reactie tradt binnen 100 seconden (Hoofdstuk 5). De CO gedurende de hypoxische periode werd geredistribueerd ten voordele van de hersenen en het hart en ten koste van darmen, lever, dooierzak en skelet (Hoofdstuk 6). Deze reactie onderhoudt de oxygenatie van de hersenen en het hart gedurende de periode van gevorderde differentiatie wanneer er sprake is van mogelijke weefsel beschadiging als gevolg van hypoxie. De procentuele veranderingen in CABF, hartslag en fractie van de CO naar de vitale organen is groter bij langere een incubatietijd. Dit kan geïnterpreteerd worden als "rijping van de reflex".

Toekomstige studies zullen worden gericht op het karakteriseren van neuronale, endocriene of perifere vasomotorische mechanismen die betrokken zijn bij de mediatie van de reactie op hypoxie. Ofschoon het in het kippenembryo niet mogelijk is de chemoreflex uit te sluiten door carotis denervatie kunnen we wel gebruik maken van farmacologische adrenerge of cholinerge receptor blokkades. Ook is het mogelijk om bij verschillende niveaus van oxygenatie de afgifte van vasoactieve mediators in het bloedplasma te meten. De reactie op hypoxie wordt niet alleen bepaald door (para)sympathische activatie en het niveau van circulerende vasoactieve mediators, maar ook door dichtheid en sensitiviteit van receptoren en/of ionenkanalen. Omdat de (para)sympathicus niet volledig functioneel is voor dag 16 zijn er in deze periode mogelijk andere mechanismen betrokken bij de reactie op hypoxie. Zoals beschreven in Hoofdstuk 1, spelen de adrenerge receptoren en catecholamines een belangrijke rol bij de regulatie van cardiovasculaire reacties op hypoxie. Hypoxie kan het bijniemerg direct aanzetten tot afgifte van (nor)adrenaline en dopamine. De sterkte van een cardiovasculaire reactie wordt bepaald door de mate van afgifte van deze catecholamines. Met behulp van de α -adrenerge receptor agonist fentolamine kan de betrokkenheid van α -adrenerge receptoren bij de perifere vasoconstrictie worden bestudeerd. De eventueel resterende perifere weerstand na blokkade van α -adrenerge receptoren zou bepaald kunnen worden door α -adrenerge onafhankelijke factoren zoals: arginine, vasopressine, renine-angiotensine II, neuropetide Y en endotheline-1. Meer kennis van deze mechanismen kan de volgende vragen oproepen: Leidt hypoxie/reoxygenatie tot meer schade vroeg in de ontwikkeling, wanneer beschermende mechanismen nog niet matuur zijn? Welke organen zijn het meest kwetsbaar tijdens bepaalde stadia in de ontwikkeling?

Niet alleen tijdens hypoxische condities is het noodzakelijk de oxygenatie van de diverse weefsels te bewaken, maar ook op het moment van de geboorte wanneer de foetus blootgesteld wordt aan een relatief hyperoxische omgeving. Het pasgeboren kind vertoont vasoconstrictie in diverse orgaan systemen. Vasoconstrictie als reactie op hyperoxie heeft de volgende functies: (1) regulatie van het zuurstof aanbod en (2) bescherming van het weefsel tegen oxidatieve stress ten gevolge van toegenomen afgifte van reactieve zuurstof radicalen. Het is onbekend vanaf welk tijdstip vasoconstrictie als reactie op hyperoxie aanwezig is. In hoofdstuk 7 wordt beschreven vanaf welk tijdstip vasoconstrictie optreedt in het zich ontwikkelende kippenembryo. De CO redistributie ten gevolge van blootstelling aan 100% O₂ is bestudeerd gedurende de laatste 50% van de incubatie tijd (dag 10-19). Een afname van de fractie van de CO naar de hersenen, hart, tractus digestivus, lever en carcass wordt alleen in kippenembryos waargenomen op dag 18 en 19. Hieruit

kan geconcludeerd worden dat lokale mechanismen die vasoconstrictie veroorzaken pas laat in de ontwikkeling functioneel zijn (na 85% van de totale incubatie tijd). Verder onderzoek op dit gebied is noodzakelijk teneinde een beter inzicht te krijgen in de mediators van deze constrictoire reacties op hyperoxie. Mogelijk stimuleert een hoge arteriële zuurstofspanning het vasculaire endotheel, waardoor er een verhoogde afgifte van vasoconstrictieve mediators plaatsvindt, zoals endotheline-I, angiotensine-II, thromboxane A₂ en prostaglandine F_{2α}. Deze mediators veroorzaken een contractie van het gladde spierweefsel door toename van de Ca²⁺ influx. De capaciteit van vasoconstrictie is dus afhankelijk van afgifte van mediators, dichtheid van ionenkanalen en hoeveelheid glad spierweefsel. Bovendien zouden de geproduceerde reactieve zuurstofradicalen de vasoconstrictieve kunnen versterken door blokkade van de vasodilatatoire mediators, zoals prostacycline of nitriet oxide.

Oxidatieve stress en het antioxidant enzym systeem

Niet alleen periodes van gereduceerde foetale oxygenatie, maar ook plotselinge blootstelling van een prematuur geborene aan een relatief hyperoxische omgeving veroorzaakt een situatie van foetale stress en potentiële pathologische effecten. Hyperoxie leidt tot een toegenomen afgifte van reactieve zuurstof radicalen zoals, superoxide radicaal, waterstofperoxide en het hydroxylradicaal. Het immature antioxidant enzym (AOE) is mogelijk niet toereikend om deze reactieve zuurstof radicalen te detoxificeren, waardoor zij verschillende celcomponenten kunnen beschadigen (lipiden, eiwitten of nucleïnezuren). Gedurende de foetale ontwikkeling bereidt het AOE systeem zich voor op een eventuele blootstelling aan verhoogde oxidatieve stress. In hoofdstuk 8 is beschreven hoe het AOE systeem zich ontwikkelt gedurende de laatste 50% van de totale incubatietijd van het zich ontwikkelende kippenembryo. De superoxide dismutase (SOD) en glutathione peroxidase (GPx) enzym activiteit in de hersenen, hart, lever, darm en longen neemt toe gedurende de laatste 20-30% van de totale incubatietijd. Echter, de catalase enzym activiteit verandert niet tijdens de ontwikkeling. Het kippenembryo werd vervolgens blootgesteld aan 60% O₂ gedurende 48 uur op drie verschillende tijdstippen in de incubatieperiode (dag 10-11, 14-15 en 18-19). De SOD enzym activiteit nam toe met een factor 2-10 in alle organen, met uitzondering van de hersenen. De GPx en catalase enzym activiteiten waren alleen verhoogd in die embryos die op dag 10-11 aan hyperoxie was blootgesteld. In dit model hebben we weliswaar de induceerbaarheid van het AOE systeem aangetoond, maar het niet bekend of dit voldoende hoog was om alle reactieve zuurstof radicalen te detoxificeren. Het feit dat voornamelijk SOD enzyme activiteit verhoogd wordt kan leiden tot een toegenome productie van

waterstofperoxide en hydroxylradicalen. Deze disbalans tussen SOD enerzijds en GPx en catalase enzym activiteit anderzijds kan mogelijk resulteren in verhoogde oxidatieve stress. In toekomstige studies zal de expressie van de verschillende componenten van het AOE systeem worden onderzocht in relatie tot detoxificatie van reactieve zuurstof radicalen in het kippenembryo. Hierdoor zal ons inzicht worden vergroot ten aanzien van de ontwikkeling van het AOE systeem en de gevoeligheid van diverse organen voor oxidatieve stress.

Effecten van hypoxie of hyperoxie op de tractus digestivus

Verschillende oorzakelijke factoren worden gerelateerd aan het optreden van necrotiserende enterocolitis, zoals bacteriële colonisatie, inflammatoire mediators, enterale voeding en circulatoire instabiliteit. In ons model zijn kippenembryos op verschillende tijdstippen in de incubatie (dag 11, 15 of 19) blootgesteld aan repetitieve hypoxie (6 maal 100% N₂, gedurende 15 minuten). Recovery in test groep 1 (TG1) vond plaats onder normoxische condities en in test groep 2 (TG2) onder hyperoxische condities. De kippenembryos in TG2 zijn reeds gedurende 24 uur aan hyperoxie blootgesteld voorafgaand aan de hypoxie interventies. Op verschillende tijdstippen na de insulten (2, 4, 8, 16 en 24 uur) is er histologisch onderzoek verricht van het ileum. Beschadiging van de villi is alleen in de meest mature kippenembryos geconstateerd. Deze beschadiging wordt gekarakteriseerd door vasodilatatie van capillairen in de villi (10% in TG1 en 15% in TG2), necrose van de villustoppen (29% in TG1 en 30% in TG2), en een uitgebreidere necrose met behoud van de crypten en transmurale necrose (2% in TG1 en 2% in TG2). De mate van beschadiging is in beide test groepen gelijk. Herstel onder hyperoxische condities na een periode van hypoxie leidt dus niet tot ernstigere beschadiging van de darm. De fractie van de CO die tijdens een periode van hypoxie naar de tractus digestivus gaat is lager naar mate de incubatietijd langer is. Het is mogelijk dat door een "maturing" van deze vasconstrictoire reactie de tractus digestivus gepredisponerd wordt voor het ontwikkelen van weefselbeschadiging.