

Behavioral sequelae of perinatal hypoxia in the rat

Citation for published version (APA):

Hermans, R. H. M. (1994). *Behavioral sequelae of perinatal hypoxia in the rat*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Rijksuniversiteit Limburg. <https://doi.org/10.26481/dis.19941021rh>

Document status and date:

Published: 01/01/1994

DOI:

[10.26481/dis.19941021rh](https://doi.org/10.26481/dis.19941021rh)

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.

SUMMARY

The aim of the experiments described in this thesis was to investigate the behavioral and endocrine sequelae of perinatal hypoxia in the rat.

Chapter 1 reviews the literature on the effects of perinatal hypoxia on subsequent behavior. In the rat, the late gestational and early postnatal period is of critical importance for the developing brain. This period is characterized by cellular migration, cell proliferation, differentiation, synaptogenesis, gliogenesis, myelination, and functional organization. Thus, perinatal insults during this period may profoundly impact subsequent development and behavior. Studies of hypoxia, asphyxia, and ischemia in fetal and newborn rats resulted in a wide spectrum of sequelae, particularly with respect to subsequent learning and locomotor behavior.

Chapter 2 reviews the effects of prenatal stress on sexual differentiation of the brain and behavior. The perinatal period is a critical period for the sexual differentiation of the rat brain. Complete masculinization of the rat brain requires elevated circulating testosterone concentrations, and subsequent aromatization of testosterone to estradiol. Two perinatal surges of testosterone provide the primary source of testosterone and estradiol for masculinization. In the rat fetus, a significant increase in circulating testosterone concentration occurs on days 18 and 19 of gestation. In several species, including humans and rats, a second testosterone surge peaks 2 to 12 hours after birth. The studies described provided evidence for altered perinatal androgen status, and subsequent modification of sexually dimorphic behaviors by maternal exposure to stress per se, or substances such as alcohol, nicotine or cocaine.

Chapter 3 presents the effect of acute, intermittent, mild prenatal hypoxia on neurobehavioral development, as well as on the neurochemical changes. Previous studies by our group showed that this hypoxic paradigm markedly altered polyamine concentrations and ornithine decarboxylase activity, its rate limiting enzyme in fetal and newborn rat brains. Polyamines are intimately associated with cellular growth and differentiation. Rats exposed to acute, intermittent, antenatal hypoxia displayed some functional alterations during development. However, with maturation these abnormal behaviors disappeared, which testifies to the neuroplasticity of the developing nervous system. It remains to be established whether these behavioral changes reflect the neurochemical alterations which occurred in association with hypoxia.

Subsequently, we examined the influence of intermittent hypoxic exposure during gestation on the postnatal testosterone surge and corticosterone concentrations, and subsequent development of adult reproductive and non-reproductive behaviors. Relative to normoxic controls, acute, intermittent prenatal hypoxia significantly suppressed the postnatal testosterone surge. Postpartum corticosterone levels in these animals were also suppressed. In adulthood, these animals exhibited normal masculine sexual behavior. In addition, lordosis behavior and saccharin preference (the latter being a non-reproductive sexually dimorphic behavior) were not significantly influenced by prenatal hypoxic exposure. We concluded that the degree of hormonal suppression following this prenatal hypoxic exposure regimen was not enough to interfere with normal development of sexual behavior in the male rat.

We then hypothesized whether the effects of chronic, prenatal hypoxia on perinatal androgen status and subsequent behavioral development would differ from that of acute intermittent hypoxia (chapter 5). We showed that mild, chronic, prenatal hypoxia affected several aspects of adult reproductive behavior in the absence of overt changes in either the pre- or postnatal testosterone surge. Specifically, rats exposed to chronic prenatal hypoxia had significantly increased latencies to initiate male sexual behavior and a decreased number of ejaculations compared to controls. However, other indices of masculine sexual behavior, lordosis behavior, and saccharin preference were not affected. In addition, we observed only moderate effects of chronic prenatal hypoxia on sensorimotor development.

Acute, fetal hypoxia has been shown to increase levels of endogenous opioids and N-methyl-D-aspartate excitatory amino acids. In chapter 6 we tested the hypothesis that the opioid antagonist naltrexone, or the N-methyl-D-aspartate antagonist MK-801 would affect the postnatal testosterone surge, either under normoxic control conditions or in response to prenatal hypoxia. Naltrexone treatment had no effect on the timing or magnitude of postnatal testosterone concentrations in either normoxic control or in chronically hypoxic animals. Following acute intermittent prenatal hypoxia with or without MK-801 treatment, newborn plasma testosterone concentrations were significantly decreased. However, MK-801 alone significantly increased postnatal testosterone levels compared to controls. These results demonstrated that prenatal naltrexone treatment, with presumed inhibition of endogenous opioid action, did not affect the postnatal testosterone surge. In addition, MK-801, with presumed blockage of NMDA receptor activity, failed to antagonize the suppressing effects of prenatal hypoxia on postnatal testosterone concentrations.

We do not know the mechanism by which the amplitude and onset of normal testosterone surge is regulated, nor do we know how acute hypoxia suppresses the postnatal testosterone surge. However, it has been generally assumed that this regulation involves gonadotropin stimulation of the fetal and neonatal testes, which operates in a fashion similar to that of the adult. Our data demonstrated that, in the rat, the postnatal testosterone surge is not preceded by a postnatal rise in plasma LH β (chapter 7). Administration of a GnRH antagonist resulted in transient drop in LH β level, but did not decrease the postnatal testosterone surge in the same animals. This suggests that the hypothalamo-pituitary axis may not be involved in the regulation of the postnatal testosterone surge.

In the rat, the critical brain growth spurt for the catecholaminergic neurotransmitter system takes place in the late gestational and early postnatal period. In chapter 8 we hypothesized that early postnatal hypoxia would affect the development of the catecholaminergic system and thus alter functional outcome. Animals exposed to postnatal hypoxia had significantly increased stereotypic behavior in response to apomorphine compared to controls. In addition, the corticosterone response following clonidine injection was significantly altered in these animals.

SAMENVATTING

Met de in dit proefschrift beschreven experimenten hebben we getracht de invloed van perinatale hypoxie op de perinatale hormoonhuishouding te beschrijven en de eventuele gevolgen hiervan op het latere gedrag van de rat.

Hoofdstuk 1 bevat een literatuuroverzicht over de gevolgen van perinatale hypoxie op gedrag. Het laatste deel van de zwangerschap en de vroege postnatale periode zijn cruciaal voor de ontwikkeling van de hersenen van de rat. Deze periode wordt gekarakteriseerd door cellulaire migratie, celproliferatie, differentiatie, synaptogenese, gliogenese, en de functionele organisatie van de hersenen. Daarom kunnen insulten tijdens deze periode een vergaande invloed hebben op de verdere ontwikkeling en gedrag. Blootstelling van foetus en pasgeborenen aan hypoxie, asphyxie en ischemie veroorzaakten een breed scala aan gedragsveranderingen. Vooral veranderingen in leer- en motorisch gedrag werden waargenomen.

Hoofdstuk 2 behandelt de effecten van prenatale stress op de seksuele differentiatie van de hersenen en gedrag. De perinatale periode is van groot belang voor de seksuele differentiatie van de hersenen van de rat. De masculinisatie van de hersenen van de rat vereist in die periode verhoogde testosteronconcentratie met daarop volgend aromatisatie tot estradiol. In de perinatale periode vertoont de testosteronconcentratie twee pieken die de belangrijkste bron zijn voor testosteron en estradiol bij de inductie van de masculinisatie van de hersenen. Op dag 18 en 19 van de zwangerschap treedt in de mannelijke rat foetus een significante stijging in de circulerende testosteronconcentraties op. Bij zowel de mens als de rat treedt een tweede testosteronstijging op welke een piek bereikt tussen 2 en 12 uur na de geboorte. De beschreven studies tonen aan dat maternale blootstelling aan psychogene stress of stoffen zoals alcohol, nicotine en cocaïne, de perinatale androgenhuishouding en seksueel dimorf gedrag kunnen veranderen.

Hoofdstuk 3 beschrijft de effecten van acute intermitterende milde prenatale hypoxie op de ontwikkeling van gedrag en op het verloop in de weefselconcentraties van ornithine decarboxylase in de hersenen. Voorafgaande studies door onze groep hebben aangetoond dat een dergelijke blootstelling aan hypoxie de ornithine decarboxylase en polyamineconcentraties verandert. Ornithine decarboxylase is de "rate limiting" factor bij de aanmaak van polyamines. Polyamines zijn van belang voor celgroei en -differentiatie. Ratten blootgesteld aan acute intermitterende prenatale hypoxie toonden enkele functionele ontwikkelingsveranderingen. De geobserveerde afwijkingen waren echter van tijdelijke aard, vermoedelijk vanwege de plasticiteit van de hersenen. Of deze gedragsafwijkingen gecorreleerd zijn aan neurochemische veranderingen is onduidelijk.

Vervolgens onderzochten wij de invloed van intermitterende acute prenatale hypoxie op de postnatale testosteronpiek, corticosteronconcentraties, en volwassen seksueel dimorf gedrag. Zowel de postnatale testosteronpiek als postnatale corticosteronconcentraties waren significant verlaagd in mannelijke neonaten, die als foetus waren blootgesteld aan acute intermitterende hypoxie. Volwassen dieren toonden echter een normaal mannelijk seksueel gedrag.

Bovendien bleek het lordosis gedrag en de saccharinepreferentie (een nonre-

productief sexueel dimorf gedrag) niet beïnvloed te zijn door prenatale hypoxie. Op basis van deze resultaten werd geconcludeerd, dat de mate van hormoonsuppressie volgend op acute prenatale hypoxie onvoldoende was om de sexuele differentiatie van de mannelijke rat te verstoren.

In hoofdstuk 5 bestudeerden we of chronische hypoxie de perinatale androgeenuishouding en het volwassen sexueel gedrag anders zou beïnvloeden dan acute prenatale hypoxie. Chronische hypoxie bleek geen remmende werking uit te oefenen op zowel de prenatale als de postnatale testosteronpiek. Desondanks viel het ons op dat de latentiefase, die voorafgaat aan het eerste sexueel gedrag verlaagd was en dat het aantal ejaculaties in vergelijking met controle-dieren verlaagd was. Andere aspecten van mannelijk sexueel gedrag, lordosis gedrag en de saccharinepreferentie-test waren niet significant veranderd. Tenslotte bleek chronische prenatale hypoxie de motorische ontwikkeling in geringe mate te beïnvloeden.

Tijdens acute foetale hypoxie is de concentratie van het endogene opioïd en die van N-methyl-D-aspartate (excitatory) aminozuur verhoogd. In hoofdstuk 6 onderzochten wij de invloed van de opioïd antagonist naltrexon, en die van de N-methyl-D-aspartate antagonist MK-801 op de postnatale testosteronpiek onder zowel normoxische als hypoxische condities. Maternale behandeling met naltrexon had in geen van beide groepen invloed op het tijdstip en de hoogte van de testosteronpiek. Acute prenatale hypoxie al dan niet met MK-801-behandeling resulteerde in significant verlaagde postnatale testosteronconcentraties. Behandeling met MK-801 induceerde een significant verhoogde postnatale testosteronpiek. Deze resultaten tonen aan dat prenatale naltrexonbehandeling met veronderstelde opioïd inhibitie, geen invloed uitoefent op de postnatale testosteronpiek. Bovendien bleek dat MK-801 geen effect had op de onderdrukkende werking van acute prenatale hypoxie op de postnatale testosteronpiek.

Het is onbekend welke factoren het tijdstip en de hoogte van de postnatale testosteronpiek bepalen. Eveneens is het onbekend, hoe omgevingsfactoren zoals hypoxie en stress de postnatale testosteronpiek kunnen onderdrukken. Men neemt aan dat net als bij volwassen dieren gonadotrophinen betrokken zijn bij de stimulatie van de foetale en neonatale testis. In de studies beschreven in hoofdstuk 7 werd aangetoond dat bij de rat, voorafgaande aan de postnatale testosteronpiek geen stijging optreedt van het LH β . Postnatale toediening van een GnRH antagonist resulteerde in een voorbijgaande daling van de LH β -concentratie zonder dat het tijdstip en de hoogte van de testosteronpiek werd veranderd. Deze resultaten suggereren, dat de hypothalamus en hypofyse niet betrokken zijn bij de regulatie van de postnatale testosteronpiek.

De groeispuurt van het catecholaminergische neurotransmittersysteem vindt bij de rat met name in het laatste deel van de zwangerschap en de vroege postnatale periode plaats. In hoofdstuk 8 toetsten we de hypothese, dat postnatale hypoxie de ontwikkeling van het catecholaminergische neurotransmittersysteem en daaraan gelieerd gedrag zou veranderen. Ratten blootgesteld aan postnatale hypoxie vertoonden een versterkt "stereotypisch" gedrag, na injectie met apomorphine. Bovendien was de corticosteron response na injectie met clonidine significant verandert.