

Umbilical cord occlusions in fetal sheep

Citation for published version (APA):

Keunen, J. E. G. M. (2000). *Umbilical cord occlusions in fetal sheep: the effect of asphyxia on fetal heart and brain*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Universiteit Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20000929jk>

Document status and date:

Published: 01/01/2000

DOI:

[10.26481/dis.20000929jk](https://doi.org/10.26481/dis.20000929jk)

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 8

Summary and discussion

Summary and discussion

The assumption that asphyxia during the perinatal period is the major cause of non-progressive neurologic impairment such as cerebral palsy has recently been challenged. Epidemiological studies have shown that cerebral palsy, long thought to result mainly from intrapartum asphyxia, can be ascribed to such an event in only 8- 10% of cases. Therefore, the causative event must occur during fetal life at an earlier gestational age.

In chapter 1 asphyxia and cerebral palsy are defined in their clinical context. Several parameters of asphyxia are described and their individual and combined ability to predict cerebral palsy are discussed. Evidently, individually these parameters fail even to predict asphyxia, let alone the neurological outcome of the compromised fetus. The objectives of the present study is to seek new parameters of fetal asphyxia and brain damage in particular. This study comprises experimental setups in the chronically instrumented sheep fetus. The fetal sheep model proved in the past to be a useful experimental model to clarify several aspects of fetal pathophysiology during asphyxia. Regarding the high incidence of non-progressive neurologic impairment in immature human neonates, the objectives concern predominantly immature sheep fetuses.

In chapter 2 the pathophysiology of fetal asphyxia in general and the effect of asphyxia on the fetal brain and heart in particular is discussed. Compensatory mechanisms of the compromised fetus are outlined when subjected to obstruction of the umbilical circulation. Mechanisms by which hypoxic-ischemia results in fetal brain damage are summarized. Furthermore, the effect of fetal age on subsequent brain damage and specific factors of brain damage in the immature fetus are discussed.

The present study was conducted to study the effect of asphyxia, induced by umbilical cord occlusion, on the fetal heart and brain of immature fetuses in particular. Therefore, we used the chronic instrumented fetal sheep preparation in immature (chapters 3, 5,6 and 7) and mature sheep fetuses (chapter 4). Subsequently, fetuses were subjected to either a single total umbilical cord occlusion lasting to a maximum of 20 minutes (chapters 3 and 4) or short repetitive total umbilical cord occlusions (chapters 5,6 and 7). We studied the effects of asphyxia on cardiovascular parameters (chapters 3 and 5), histological outcome (chapters 3,4 and 6), production of nitric oxide (chapter 4), the fetal EEG (chapter 6) and ECG (chapter 7). For this purpose, surgery was performed on immature and mature fetuses. Under general

anesthesia a midline abdominal incision was performed. The uterus was incised, and the fetus was partly exteriorized to allow access to the umbilical cord. A reversible cord occluder was placed around the umbilical cord. Further fetal instrumentation involved, depending on the effects to be studied, placement of catheters in the femoral and carotid artery, superior sagittal sinus, and amniotic cavity. Electrodes were placed bilaterally on the parietal cortex to measure fetal electrocorticogram, and implanted subcutaneously at the level of the cardiac apex and both forelimbs to record fetal electrocardiogram. All catheters were exteriorized through a small incision in the flank of the ewe. Following a recovery period of approximately three days, fetal asphyxia was induced by inflation of the balloon occluder around the umbilical cord. After a hypoxic-ischemic event it may take three days before histological brain damage becomes evident. Therefore, three days after the insult a relaparotomy was performed under general anesthesia. Subsequently, the fetal brain was preserved for histological examination through *in situ* perfusion fixation via the fetal heart and additional immersion fixation following removal of the fetal brain. Light microscopic examination was performed on three brain regions: parietal cortex, hippocampus and cerebellum.

In contrast to mature sheep fetuses, no neuronal damage was described following total umbilical cord occlusion of 10 minutes in immature fetal sheep. The question remained whether prolonging the duration of the occlusion would result in neuronal damage in immature fetal sheep. Therefore, we performed total umbilical cord occlusion of 10, 15 or 20 minutes duration in chronically instrumented midgestation fetal sheep and evaluated histological neuronal damage three days after the insult (chapter 3). During the experiment, fetal blood pressure (MAP) and heart rate were continuously recorded. Fetal blood gas analyses were performed at regular intervals before, during and after the occlusion. Total umbilical cord occlusion resulted in hypotension, bradycardia, severe mixed acidemia, hypoxia and hypercapnia. All fetuses survived the occlusion. No neuronal damage nor macroscopic intraventricular and/or germinal matrix hemorrhages were observed in either group. Prolonging the duration of total umbilical cord occlusion in midgestation fetal sheep resulted in an increase in the severity of asphyxia, not in neuronal damage.

Since nitric oxide (NO) was discovered as a novel neurotransmitter, vasodilator and cytotoxic agent, several investigators studied its potential pathophysiological role in perinatal

Summary and discussion

neuronal damage. So far, most studies were conducted in neonatal rat pups, i.e. in an *ex utero* environment. *In utero*, a surge of citrulline (a by-product of NO synthesis) was measured by microdialysis in the parasagittal cortex after 30 minutes global cerebral ischemia in a chronic fetal sheep preparation. However, in clinical asphyxia, the whole fetus rather than the brain alone is compromised. Therefore, experimental models with better resemblance to the pathophysiological circumstances of human fetal asphyxia are needed. For instance, in contrast to immature sheep fetuses, total umbilical cord occlusion is known to produce selective neuronal damage in the hippocampus in mature fetuses. To investigate the effect of total umbilical cord occlusion on cerebral arterio-venous difference for nitrite (a stable end product of nitric oxide) and neuronal outcome we occluded the umbilical cord totally for 10 minutes in 14 late gestation (gestational age 113-120 days) sheep fetuses. Arterial (carotid artery) and venous (superior sagittal sinus) blood samples were taken at regular intervals for determination of acid-base status, glucose, lactate and nitrite plasma levels. Three days after the occlusion period the fetal brain was perfusion fixed and the parietal cortex, hippocampus and cerebellum were scored for neuronal damage. Three fetuses died shortly after the occlusion period. Total umbilical cord occlusion resulted in a combined respiratory and metabolic acidosis as observed in carotid arterial blood gas samples, bradycardia and hypotension. Selective brain damage was observed in the hippocampus in 10 of the 11 surviving fetal sheep. No changes in arterial, venous and cerebral arterio-venous difference for nitrite plasma levels were observed. Total umbilical cord occlusion of 10 minutes in mature fetal sheep results in hippocampal damage but not in changes of cerebral arterio-venous difference for nitrite plasma levels, a stable end product of NO.

In clinical practice, periparturient asphyxic periods are often repetitive, e.g. during recurrent uterine contractions. The detrimental effects of repeated periods of fetal compromise differ both in quality and quantity compared to a single period of fetal asphyxia. Repeated brief periods of asphyxia or ischemia result in more extensive brain damage in different brain regions when compared with a single period of asphyxia. Furthermore, clinical and experimental studies suggest that fluctuations in arterial blood pressure combined with an insufficient autoregulation of cerebral blood flow can result in intracranial hemorrhages. Various experimental studies have shown that hemodynamic, metabolic, endocrinologic and

neuropathologic consequences of intrauterine asphyxia may change with the maturity of the fetus. Therefore, we described the hemodynamic (chapter 5), electrocardiographic (chapter 7) electroencephalographic and neuropathologic (chapter 6) consequences of brief repeated umbilical cord occlusions in immature sheep fetuses.

We performed brief repeated total umbilical cord occlusions, 2 out of every 5 minutes, in 14 immature sheep fetuses (at 90 days of gestation), until fetal mean arterial pressure dropped below 50% of baseline value during 2 successive occlusions. Fetal blood gas analyses were performed at regular intervals just before cord occlusions. Progressive acidemia and hypotension developed with ongoing occlusions. After a transient hypertensive period during and between the first occlusions, a biphasic response developed during successive occlusions, characterized by an initial increase and subsequent decrease in fetal MAP eventually resulting in hypotension during an occlusion. The degree of hypotension during occlusions increased with ongoing occlusions. The minimum fetal arterial blood pressure during occlusions correlated well with the progressive acidemia. Six fetuses died at the end of the repetitive occlusion period. In the non-survivors, acidemia was more severe and paCO_2 gradually increased during the entire repetitive occlusion period. In the survivors group, a period of transient hypoxia and hypotension was observed with a nadir 60 minutes following the final occlusion.

The CFAM is a system of integrated electroencephalogram which has been shown to be predictive of gestational age and the neurological status of the asphyxiated newborn. The use of CFAM as an on-line monitor might offer the possibility to detect critical changes in fetal cortical activity during asphyxia. CFAM parameters (mean amplitude distribution and bandwidth in microvolts) were calculated by the computer. Two epochs of 10 minutes were used to calculate baseline CFAM values. CFAM parameters during occlusions were obtained at the first and last occlusion, and at the occlusion halfway the entire repetitive occlusion period (e.g. at the 12th occlusion when a total of 24 occlusions was used). At every time point one epoch of 3 minutes before and after an occlusion and an epoch during the 2-minute occlusion were processed. All CFAM parameters demonstrated a significant decrease during the entire repetitive occlusion period compared to baseline. Decrease of all CFAM parameters except CFAM width started during the first occlusion and remained depressed throughout the

Summary and discussion

entire repetitive occlusion period. Of the surviving fetuses, all CFAM parameters recovered to baseline values at 2 hours after the final occlusion. Repetitive umbilical cord occlusion resulted in severe asphyxia and repetitive periods of hypotension. In comparison to mature fetuses subjected to a similar insult, neuronal damage was not observed. Furthermore, macroscopic inspection showed no evidence for intraventricular-germinal matrix hemorrhages (IVH-GMH). Although a decrease in CFAM parameters occurred, these changes in CFAM parameters were not predictive for neuronal damage nor the severity of fetal compromise in this experimental set-up.

The analysis of time constants (PR interval) of the fetal electrocardiogram (FECG) waveform may be useful for the detection fetal compromise during labor. Changes in PR interval-fetal heart rate relationship during fetal compromise are reported both in clinical and experimental studies. It has been suggested that fetal maturity significantly influences the FECG waveform morphology changes during acute hypoxia. It is not known whether fetal maturity influences the changes in the PR interval- fetal heart rate relationship during fetal compromise. To evaluate the relationship of the PR interval and fetal heart rate during repetitive umbilical cord occlusions in immature sheep fetuses. We analyzed continuous fetal electrocardiogram recordings during repetitive cord occlusions for 2 out of every 5 minutes in seven immature sheep fetuses until fetal mean arterial pressure dropped to 50% of baseline value. PR interval-fetal heart rate correlation coefficients (R-values) were measured on consecutive blocks of 2.5 minutes. Repetitive cord occlusions resulted in acidosis and hypotension. Two fetuses died at the end of the repetitive occlusion period. Four out of 7 fetuses showed a significant change from a negative relationship between the PR interval and fetal heart rate during baseline to a predominantly positive relationship during the repetitive occlusion period.

In summary, prolonging the duration of total umbilical cord occlusion in immature fetal sheep resulted in an increase in the severity of asphyxia, not in neuronal damage. In contrast, total umbilical cord occlusion of 10 minutes in mature sheep fetuses results in hippocampal damage but not in changes of cerebral arterio-venous difference for nitrite plasma levels, a stable end product of NO. Repetitive umbilical cord occlusions in immature sheep fetuses resulted in a transient hypertensive period during and between the first occlusions, followed by a biphasic response during successive occlusions, characterized by an initial increase and

subsequent decrease in fetal MAP resulting in hypotension during an occlusion. The degree of hypotension during occlusions increased with ongoing occlusions. The minimum fetal arterial blood pressure during occlusions correlated well with the progressive acidemia. CFAM used as fetal electrocorticogram analysis demonstrated a significant decrease of CFAM parameters during the first occlusion which remained depressed throughout the entire repetitive occlusion period. In comparison to mature fetuses subjected to a similar insult, neuronal damage was not observed. Furthermore, macroscopic inspection showed no evidence for intraventricular-germinal matrix hemorrhages (IVH-GMH). Although a decrease in CFAM parameters occurred, these changes in CFAM parameters were not predictive for neuronal damage nor for the severity of fetal compromise. Fetal ECG analysis by means of measurements of the PR-FHR interrelationship was inconclusive regarding the relation between the PR-FHR correlation coefficient, the onset of fetal compromise and subsequent degree of fetal asphyxia. The studies in this thesis failed to result in fetal brain damage in immature sheep fetuses despite severe fetal asphyxia induced by single or repetitive umbilical cord occlusions. The ontogenetic difference in the observed brain damage is probably multifactorial. The distribution of excitotoxic amino acids receptors, dependency on growth factors, susceptibility to free radical damage and apoptosis, metabolic demands, the acquisition of aerobic metabolism and the vascular responses all change during development. The focus of these studies was directed to short-term histological evidence of neuronal damage three days after the insult. When immature fetal sheep were subjected to a reduction of fetal arterial oxygen content by approximately 50 % for 6 to 12 hours, histological analysis revealed retarded neuronal migration and the growth of neural processes in the hippocampus one week after the insult. However the effect of the asphyxic events implied in this thesis on the development and differentiation of the immature brain is not known. Recently, it has been proposed that hypoxia-ischemia is *a*, not *the* pathophysiological mechanism of non-progressive neurological impairment. Specifically, epidemiologic studies have demonstrated an association between infection, preterm labor and periventricular leucomalacia. In addition, experimental studies propose a prominent role of cytokines such as TNF- α and interleukins as mediators of brain injury. Future research should be directed upon the pathophysiological mechanisms by which these cytokines may act. Combined with more *classic* paradigms measuring the hemodynamic

Summary and discussion

responses, these scientific endeavours may lead us to a higher level of understanding why some brains of premature infants become injured and others do not.

Hoofdstuk 8

Samenvatting en discussie

Samenvatting en discussie

De veronderstelling dat asfyxie tijdens de bevalling de voornaamste oorzaak is van cerebrale parese is sedert kort aan discussie onderhevig. Recente epidemiologische studies wijten cerebrale parese slechts in 8-10% van de gevallen aan asfyxie tijdens de bevalling. Een asfyctische periode eerder in de zwangerschap lijkt daarom een plausibel alternatief voor de pathogenese van cerebrale parese.

In hoofdstuk 1 worden de begrippen asfyxie en cerebrale parese gedefiniëerd in hun klinische context. Meerdere asfyxie parameters worden beschreven met de nadruk op hun individuele en gezamenlijk voorspellend vermogen t.a.v. het optreden van cerebrale parese. Hieruit blijkt dat deze parameters tekort schieten in hun vermogen om zowel het optreden van asfyxie als cerebrale parese te voorspellen.

Het doel van dit proefschrift is nieuwe parameters van asfyxie en de daaruit resulterende hersenschade te onderzoeken. Hiertoe werd gebruik gemaakt van chronisch geïnstrumenteerde foetale lammeren. Het chronisch foetaal schaapmodel is een internationaal bekend en gangbaar model waarmee in het verleden meerdere experimentele studies betreffende de foetale (patho)fysiologie zijn beschreven. Gezien de hoge incidentie van cerebrale parese bij immature/premature humane pasgeborenen, richt deze studie zich voornamelijk op immature foetale lammeren.

In hoofdstuk 2 wordt de pathofysiologie van foetale asfyxie in het algemeen, en het effect van asfyxie op het foetale hart en brein besproken. Vervolgens worden de compensatiemechanismen van de foetus in reactie op een obstructie van de umbilicale circulatie beschreven. Tot slot volgen de pathofysiologische mechanismen waarmee een hypoxisch-ischaeemisch event resulteert in foetale hersenschade, het effect van de maturiteit van de foetus hierop en de specifieke factoren welke hierbij een rol spelen bij de immature foetus.

Deze studie werd verricht om de effecten van asfyxie, teweeggebracht door middel van complete navelstrengcompressies, op het foetale brein en hart bij met name immature foetale lammeren te bestuderen. Derhalve maakten we gebruik van het chronisch foetale schaapmodel met immature (hoofdstukken 3,5,6 en 7) en mature (hoofdstuk 4) foetale lammeren. De foetus werd blootgesteld aan een éénmalige complete navelstrengocclusie van 10 tot maximaal 20 minuten (hoofdstukken 3 en 4), of aan korte, repetitieve complete navelstrengocclusies met

ieder een duur van 2 minuten (hoofdstukken 5,6 en 7). We bestudeerden het effect van asfyxie op cardiovasculaire parameters (hoofdstukken 3 en 5), histologische aanwijzingen voor foetale hersenschade (hoofdstukken 3,4 en 6), de vorming van stikstofmonoxide (hoofdstuk 4), het foetale EEG (hoofdstuk 6) en ECG (hoofdstuk 7). Hiertoe werden zwangere schapen bij een zwangerschapsduur van 90 dagen (voldragen bij een zwangerschapsduur van 145 dagen) op de volgende wijze geïnstrumenteerd.

Onder algehele anaesthesie werd in de mediaanlijn de onderbuik geïncideerd. De baarmoeder werd geopend en vervolgens werd de foetus ten dele geëxtraheerd. Een opblaasbare ringballon werd om de navelstreng geplaatst. Afhankelijk van de studie werden de volgende instrumentaties hieraan toegevoegd. Catheters werden geplaatst in de beenslagader, beenader, halsslagader, sinus saggitalis superior, en amnionholte. Electroden werden bilateraal geplaatst ter hoogte van de parietale cortex voor de registratie van het electrocorticogram, en tevens subcutaan geïmplanteerd ter hoogte van de hartpunt en beide voorpoten voor de registratie van het foetale electrocardiogram (FECG). De foetus werd vervolgens teruggeplaatst in de uterus, de uterus werd gesloten waarna alle catheters en electroden, via een opening in de flank van het moederdier, naar buiten werden geleid. Na het sluiten van de maternale buikwand volgde een herstelperiode van drie dagen. Hierna werd het experiment gestart waarin de foetus werd blootgesteld aan asfyxie door middel van het vullen van de ringballon met een tijdens de operatie vastgestelde hoeveelheid fysiologische zoutoplossing om dusdanig een complete occlusie van de navelstreng te bewerkstelligen. Na de asfyctische periode volgde wederom een herstelperiode van drie dagen. Uit voorgaande studies bij foetale lammeren bleek een herstelperiode van drie dagen na een hypoxisch-ischaemisch event noodzakelijk om histologisch aantoonbare hersenschade te detecteren. Na de herstelperiode van drie dagen werd onder algehele anaesthesie nogmaals de foetus geëxtraheerd en via de linker hartkamer het foetale brein *in situ* gefixeerd. Na aanvullende immersiefixatie werd het foetale brein aangeboden voor histologisch onderzoek. Histologisch onderzoek werd verricht op drie hersengebieden: de pariëtale cortex, de hippocampus en de kleine hersenen.

Uit recent onderzoek blijkt dat in tegenstelling tot mature foetale lammeren er geen hersenschade optreedt bij immature foetale lammeren na tien minuten navelstrengocclusie. Onbekend bleef of, en zo ja wanneer er hersenschade optreedt bij immature foetale lammeren

Samenvatting en discussie

indien de duur van de navelstrengocclusie wordt verlengd. Daarom occludeerden wij de navelstreng bij immature foetale lammeren gedurende 10, 15 en 20 minuten en verrichtten drie dagen na het asfyctisch event histologisch onderzoek van de foetale hersenen (hoofdstuk 3). Tijdens het experiment werden de foetale bloeddruk en hartfrequentie continu gemeten. Met regelmatige tijdsintervallen werd zowel vóór, tijdens als na de navelstrengocclusie een foetale bloedgasanalyse verricht. Complete navelstrengocclusie resulteerde in hypotensie, bradycardie, ernstige acidemie, hypoxie en hypercapnie. Alle foetale lammeren overleefden de navelstrengocclusie. De occlusies resulteerden niet in hersenschade of intra-/periventriculaire bloedingen hetzij na 10, 15 of 20 minuten complete navelstrengocclusie. Samengevat resulteerde de verlenging van de duur van de occlusie wel in een toename van de ernst van de asfyxie echter niet in het optreden van hersenschade.

Recent werd stikstofmonoxide (NO) ontdekt als zijnde een endotheel afhankelijke vaatverwijder, neurotransmitter en cytotoxische stof. Sindsdien hebben meerdere onderzoekers de mogelijke rol van NO in de pathofysiologie van perinatale hersenschade onderzocht. Tot dusver werden de meeste van deze experimenten verricht met rattenpups, dat wil zeggen in een *ex utero* omgeving. *In utero* werd in het verleden bij mature foetale lammeren met behulp van microdialyse elektroden in de pariëtale hersenschors een toename van citrulline (een bijproduct van NO synthese) gemeten na 30 minuten cerebrale ischaemie. Echter, in geval van asfyxie beperkt de hypoxie-ischaemie zich niet alleen tot de hersenen. Reeds eerder werd een selectieve hersenschade van de hippocampus beschreven na asfyxie in de vorm van 10 minuten complete navelstrengocclusie bij mature foetale lammeren. Wij onderzochten het effect van een gelijksoortige navelstrengocclusie op het cerebrale arterio-veneuze verschil in nitrietconcentratie (een stabiel eindproduct van NO) en histologische hersenschade bij 14 mature foetale lammeren (zwangerschapsduur 113-120 dagen, voldragen bij 145 dagen).

Hiertoe werden met regelmatige tussenpozen bloedmonsters afgenomen uit de halsslagader (arterieel) en de sinus sagittalis superior (veneuze afvloed van de hersenen). Naast nitriet werden hierin ook de concentraties bepaald van glucose en lactaat. Tevens werd het zuur-base evenwicht onderzocht. Drie dagen na de navelstrengocclusie werden de foetale hersenen gefixeerd waarna histologisch onderzoek werd verricht naar het voorkomen van schade van de

zenuwcellen in de hersenschors, hippocampus en de kleine hersenen. Drie foetale lammeren overleden kort na de navelstrengocclusie. De complete navelstrengocclusie resulteerde in een gemengde respiratoire en metabole acidose, bradycardie en hypotensie. In 10 van de 11 overlevende foetale lammeren werd een selectieve hersenschade in de hippocampus vastgesteld. Er konden echter geen cerebrale arterio-veneuze verschillen in nitrietconcentratie worden gemeten.

In de klinische praktijk treedt asphyxie vaak op in de vorm van korte, repeterende episoden van foetale nood gedurende de contracties van de baarmoeder. De schadelijke gevolgen van korte, repeterende perioden in vergelijking tot een éénmalige lange periode van foetale nood verschillen zowel in kwantitatiet als kwaliteit. Korte, repetitieve perioden van cerebrale ischaemie resulteert bijvoorbeeld in meer hersenschade in andere hersengebieden. De hierbij beschreven bloeddrukfluctuaties kunnen, gevoegd bij een insufficiënte autoregulatie van de bloeddorstroming naar de hersenen, leiden tot hersenbloedingen. Voorts hebben experimentele studies ons getoond dat de hemodynamische, metabole, endocrinologische en neuropathologische gevolgen van intrauteriene asfyxie onder andere afhangen van de maturiteit van de foetus tijdens de asfyctische periode.

Derhalve beschrijven wij in dit proefschrift de hemodynamische (hoofdstuk 5), electrocardiografische (hoofdstuk 7) en electroencefalografische cq. neuropathologische (hoofdstuk 6) gevolgen van korte, repetitieve occlusies van de navelstreng bij immature foetale lammeren.

Wij verrichtten bij 14 immature foetale lammeren (zwangerschapsduur 90 dagen, voldragen bij 145 dagen) korte, repetitieve navelstrengocclusies van 2 minuten gevolgd door 3 minuten rust. De repetitieve navelstrengocclusies werden gecontinueerd totdat de gemiddelde foetale bloeddruk daalde tot minder dan 50% van de uitgangswaarde gedurende minimaal twee opeenvolgende navelstrengocclusies. Met regelmatige tussenpozen werden metingen verricht van de foetale bloedgassen en het zuur-base evenwicht. Met het voortschrijden van de navelstrengocclusies werden de foetale lammeren in toenemende mate acidaemisch en hypotensief. Na een initiële hypertensieve periode tijdens en tussen de eerste navelstrengocclusies ontstond een bifasische respons in de daaropvolgende occlusies. Deze respons bestond uit een aanvankelijke stijging gevolgd door een daling van de gemiddelde

Samenvatting en discussie

foetale bloeddruk tijdens een navelstrengocclusie, uiteindelijk resulterend in hypotensie. De mate van hypotensie tijdens de occlusie nam toe met de voorschrijdende navelstrengocclusies en correleerde goed met de mate van acidaemie. Zes foetale lammeren overleden aan of kort na het einde van de gehele repetitieve occlusieperiode. In deze overleden foetale lammeren bleek de acidaemie ernstiger en werd een gestage toename van de $p_a\text{CO}_2$ gedurende de gehele repetitieve occlusieperiode gemeten. In de overlevenden foetale lammeren werd een voorbijgaande periode van hypotensie en hypoxie waargenomen in de herstelperiode na de laatste navelstreng occlusie. De mate van hypotensie en hypoxie bereikte z'n dieptepunt 1 uur na de laatste occlusie.

De Cerebral Function Analysing Monitor (CFAM) is een systeem van een geïntegreerd electroencefalogram. In de klinische praktijk blijkt dat de metingen die met dit systeem worden verricht een goede weergave zijn van de neurologische toestand van een pasgeborene in geval van asfyxie. Het toepassen van CFAM tijdens de bevalling zou een mogelijkheid kunnen zijn om kritieke veranderingen van de hersenschorsactiviteit reeds bij de asfytische foetus te detecteren. Hiertoe werden immature foetale lammeren blootgesteld aan repetitieve navelstrengocclusies zoals reeds eerder beschreven. Voorts werden de lammeren uitgerust met elektroden welke geplaatst werden op de pariëtale hersenschors. Het dusdanig verkregen electrocorticografisch signaal werd off-line omgezet naar een CFAM signaal waaruit de volgende CFAM parameters werden gedestilleerd: amplitude verdeling en bandbreedte in microvolts.

Twee episoden van 10 minuten werden gebruikt om CFAM uitgangswaarden te meten. Verder werden CFAM parameters tijdens de eerste, laatste en middelste (bijvoorbeeld de twaalfde occlusie bij in totaal 24 occlusies) navelstrengocclusie gemeten. Voor CFAM metingen tijdens occlusies werden CFAM parameters berekend gedurende de twee minuten durende occlusie en tevens gedurende een tijdsperiode van drie minuten zowel juist voor als na de desbetreffende occlusie. Alle CFAM parameters toonde een significante daling ten opzichte van de uitgangswaarden. De daling van de CFAM parameters trad reeds op tijdens de eerste occlusie. Een verdere daling van de CFAM parameters tijdens de gehele occlusieperiode werd niet waargenomen. Alle CFAM parameters herstelden tot het niveau van de uitgangswaarden binnen twee uur na de laatste occlusie in de overlevende foetale lammeren. Drie dagen na de

repetitieve occlusieperiode werden geen aanwijzingen voor schade aan zenuwcellen of hersenbloedingen gevonden met behulp van histologisch onderzoek.

De analyse van de tijdconstanten (PR interval) van het foetale electrocardiogram signaal (FECG, bestaande uit P Q R S en T-toppen) is mogelijk nuttig voor het opsporen van foetale nood tijdens de bevalling. Zowel klinische als experimentele studies wijzen op veranderingen in de verhouding tussen het PR interval van de foetale hartfrequentie (FHR). Voorts wordt in experimentele studies gesuggereerd dat de mate van maturiteit van de foetus de veranderingen van het FECG signaal tijdens foetale hypoxie beïnvloedt. Het is onbekend welke de invloed is van de maturiteit van de foetus op de verhouding tussen PR interval en de foetale hartfrequentie tijdens asfyxie. Hiertoe werden zeven immature foetale lammeren uitgerust met onderhuids geplaatste FECG elektroden en vervolgens blootgesteld aan het hierboven beschreven repetitieve navelstrengocclusie regime. PR interval-FHR correlatiecoëfficiënten werden gemeten over aanéénsluitende tijdsperioden van 2,5 minuten gedurende het gehele experiment. Twee foetus overleden aan het eind van de gehele repetitieve occlusieperiode. Bij vier van de zeven foetale lammeren veranderde de negatieve correlatie tussen PR interval en FHR gemeten vóór de repetitieve navelstrengocclusieperiode in een positieve correlatie tijdens de gehele occlusieperiode.

Samenvattend resulteerde het verlengen van de navelstrengocclusieperiode van tien naar twintig minuten bij immature foetale lammeren in een toename van de asfyxie echter niet in schade van de zenuwcellen. Tien minuten navelstrengocclusie bij mature foetale lammeren resulteerde nochtans in selectieve schade in de hippocampus maar niet in cerebrale arterio-veneuze verschillen in nitrietconcentratie, een stabiel eindproduct van stikstofmonoxide (NO). Repetitieve navelstrengocclusies bij immature foetale lammeren leidden tot een voorbijgaande hypertensieve periode tijdens en tussen de eerste occlusies, gevolgd door een bifasische respons in de daaropvolgende occlusies bestaande uit een initiële stijging gevolgd door een daling van de gemiddelde foetale bloeddruk tijdens een navelstrengocclusie, resulterend in repetitief hypotensieve perioden. De mate van hypotensie tijdens de occlusie nam toe met de voortschrijdende navelstrengocclusies en correleerde goed met de mate van acidaemie. Analyse van het foetale electroencefalogram door middel van CFAM toonde een daling van de CFAM parameters tijdens de eerste occlusie. Een verdere daling van de CFAM parameters

Samenvatting en discussie

tijdens de gehele occlusieperiode werd niet waargenomen. Na histologisch onderzoek werden noch neuronale schade noch hersenbloedingen waargenomen. Analyse van het FECG door middel van de PR interval-FHR correlatiecoëfficiënt bracht geen verband aan het licht tussen veranderingen in de PR interval-FHR correlatiecoëfficiënt en het optreden van en mate van foetale nood.

De experimentele studies in dit proefschrift verricht bij immature foetale lammeren slaagden er niet in hersenschade te induceren ondanks ernstige asfyxie na een langdurige éénmalige of korte repetitieve navelstrengocclusies. Het ontogenetisch verschil ten opzichte van de mature foetale lammeren is waarschijnlijk van meerdere factoren afhankelijk. De distributie van excitotoxische aminozuurreceptoren, afhankelijkheid van groeifactoren, vatbaarheid voor schade ten gevolge van zuurstofradicalen en apoptose, metabole behoefte en de autonome regulatie van het cardiovasculair systeem veranderen tijdens de ontwikkeling van de foetus.

De experimentele studies in dit proefschrift waren gericht op korte termijn histologische veranderingen na een asfyctische periode, drie dagen na de navelstrengocclusie(s). Andere studies onderwierpen immature foetale lammere aan chronische hypoxie hetgeen resulteerde in een vertraagde neuronale migratie en groei van neurale processen in de hippocampus één week na de hypoxische periode. De effecten van de navelstrengocclusies in dit proefschrift op de ontwikkeling en differentiatie van het foetale brein is niet bekend.

Recent is geopperd dat hypoxie-ischaemie slechts één maar niet hét pathofysiologisch mechanisme is welke ten grondslag ligt aan het fenomeen cerebrale parese. Met name epidemiologische studies brengen een verband aan het licht tussen het optreden van een intra-uterien infect, vroeggeboorte en periventriculaire leucomalacie. Bovendien wijzen *in vitro* en *in vivo* experimentele studies op de prominente rol van cytokines als mediators van hersenschade. Geïmplementeerd in een klassieke experimentele opstelling zoals beschreven in dit proefschrift kan deze nieuwe kennis ons inzicht en begrip vergroten ten aanzien van de vraag waarom sommige te vroeg geboren pasgeborenen hersenschade hebben opgelopen en andere niet.