

Novel treatment strategies for the protection of the preterm brain

Citation for published version (APA):

Ophelders, D. R. M. G. (2017). *Novel treatment strategies for the protection of the preterm brain: re-balancing inflammation and regeneration*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20170317do>

Document status and date:

Published: 01/01/2017

DOI:

[10.26481/dis.20170317do](https://doi.org/10.26481/dis.20170317do)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Document license:

Unspecified

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

Brain damage is a major contributor to mortality and morbidity in preterm infants and is mostly caused by lack of oxygen (hypoxia-ischemia) and / or intra-amniotic infection (chorioamnionitis). At present there is no cure for brain damage in this vulnerable group of children and current therapies are aimed at treatment of symptoms and stabilizing vital functions. It is, therefore, important that new treatment strategies be developed for the protection of the premature brain.

The aim of this thesis was to test new therapies for brain damage caused by oxygen deprivation or treat an amniotic fluid infection in preterm infants.

CELL-BASED THERAPY

Systemic and local immune activation are causally involved in the pathophysiology of brain injury, regardless of its cause. However, activation of immune cells is also necessary for regeneration of injured tissue and an imbalance in these two properties leads to brain injury in preterm infants.

Therefore, we hypothesized that therapeutic strategies should possess (1) anti-inflammatory and (2) regenerative properties. Stem cells meet both of these characteristics.

In **chapter 2** we investigated the neuroprotective effects of Multipotent Adult Progenitor Cells (MAPCs), which are bone marrow-derived stromal cells with strong anti-inflammatory and regenerative capabilities, in our preclinical ovine model of hypoxia-ischemia.

Administration of MAPCs improved brain function by reducing the number and duration of convulsions. Also, blood pressure regulation in the brainstem was protected.

In addition to functional protection, administration of MAPCs also resulted in a reduced neuroinflammatory response and prevented damage to the cerebral white matter, which is characteristic for brain injury in premature babies).

The mechanisms by which bone marrow-derived stromal cells exert their immune modulatory actions are unclear, but paracrine mechanisms, mediated in part through release of extracellular vesicles (EVs) are suggested to be responsible for these effects.

In **chapter 3**, we therefore, investigated the protective effects of mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles (MSC-EVs) in the same preclinical model of preterm hypoxic-ischemic brain injury. Systemic administration of MSC-EVs improved brain function by reducing the total number and duration of seizures, and by preserving baroreceptor reflex sensitivity. These functional protections were associated with a tendency to prevent hypomyelination. Cerebral inflammation remained unaffected by the MSC-EV treatment.

ANTIMICROBIAL TREATMENT

In **chapter 4** we investigated the effects of intra-amniotic *Candida albicans* (*C. albicans*) infection on the preterm brain. Furthermore, we investigated the effects of reducing the fungal load by intra-amniotic antifungal treatment with Fluconazole.

Intra-amniotic exposure to *C. albicans* caused a severe systemic inflammatory response, illustrated by a robust increase of plasma IL-6 concentrations. Cerebrospinal fluid cultures were positive for *Candida albicans* in the majority of the group of 3 day *C. albicans*-exposed animals whereas no positive cultures were present in the group of 5 day *C. albicans*-exposed and Fluconazole treated animals. *C. albicans* was not detected in the brain parenchyma. A neuroinflammatory response in the hippocampus and white matter was however detected which was characterized by increased microglial and astrocyte activation. The neuroinflammatory changes were accompanied by structural white matter injury. Intra-amniotic Fluconazole reduced fetal mortality, but did not attenuate either neuroinflammation or white matter injury.

In summary, this thesis demonstrated that modulation, rather than attenuation, of immune reactions with cell-based or anti-microbial treatment protected against injury of the preterm brain following global hypoxia-ischemia or intra-uterine infection. The therapies tested in this thesis show great promise and will form the basis of additional research and clinical trials, leading to improved neurodevelopmental outcomes after HI or intra-uterine infection.

Samenvatting

Hersenschade heeft een belangrijke bijdrage aan de sterfte en morbiditeit bij vroeggeboren kinderen en wordt voornamelijk veroorzaakt door zuurstoftekort (hypoxie-ischemie) en / of een vruchtwaterinfectie (chorioamnionitis). Op dit moment is er geen behandeling voor hersenschade in deze kwetsbare groep kinderen. Huidige therapieën zijn dan ook gericht op het behandelen van de symptomen en het stabiliseren van de vitale functies. Het is daarom belangrijk dat nieuwe behandelingsstrategieën voor de bescherming van het brein van vroeggeborenen worden ontwikkeld.

Het doel van dit proefschrift was het testen van nieuwe therapieën om hersenschade, veroorzaakt door zuurstoftekort of een vruchtwaterinfectie, in vroeggeboren kinderen te behandelen.

STAMCEL THERAPIE

Activatie van immuun cellen zowel in als buiten het brein is betrokken bij de ontwikkeling van hersenschade. Echter, deze ontstekingsreactie is ook nodig om beschadigd weefsel te herstellen. Een dysbalans in deze twee eigenschappen leidt ertoe dat hersenschade in vroeggeboren kinderen niet herstelt.

Daarom hypothesiseerden wij dat een therapie de (1) de ontstekingsreactie moet remmen (anti-inflammatoir) en (2) weefselherstel moet stimuleren. Stamcellen voldoen aan beide kenmerken.

In **hoofdstuk 2** onderzochten we daarom de beschermende effecten van Multipotent Adult Progenitor Cells (MAPCs) op hersenschade na zuurstof tekort. Dit onderzochten wij in een translationeel diermodel voor premature breinschade ontstaan door zuurstoftekort. MAPCs zijn stamcellen uit het beenmerg met sterke ontstekingsremmende en weefselherstellende capaciteiten.

Toediening van MAPCs verbeterde de hersenfunctie door het aantal en de duur van convulsies te verminderen. Tevens werd de regulatie van de bloeddruk, welke geregeld wordt vanuit de hersenstam, beschermd. Naast functionele bescherming, resulteerde toediening van MAPCs ook in een verminderde ontstekingsreactie in het brein en werd schade aan de witte stof (kenmerkend voor hersenschade in vroeggeborenen) voorkomen.

De mechanismen waarop stamcellen het immuun systeem kunnen beïnvloeden zijn grotendeels onbekend. Een voorgesteld mechanisme is door uitscheiding van extracellulaire (EVs) waarin immuun modulerende moleculen verpakt zitten. Om de bijdrage van EVs aan de beschermende effecten van stamcellen op het premature brein te onderzoeken hebben we in **hoofdstuk 3** de effecten van extracellulaire vesikels uit mesenchymale stamcellen (MSC-EV) na zuurstof tekort onderzocht in ons translationeel diermodel

Toediening van MSC-EVs verbeterde de hersenfunctie door vermindering van het totale aantal en de duur van de convulsies, en door het behoud van bloeddruk regulatie vanuit de hersenstam. Deze functionele bescherming werd geassocieerd met een neiging om witte stof schade te voorkomen voorkomen. De ontstekingsreactie in het brein werd niet verbeterd door behandeling met MSC-EVs.

ANTIMICROBIËLE BEHANDELING

In **hoofdstuk 4** onderzochten we de effecten van een vruchtwaterinfectie met *Candida albicans* (*C. albicans*) op het premature brein. Tevens onderzochten we welk effect een eenmalige toediening van anti-schimmel medicatie (Fluconazol) in het vruchtwater had op hersenschade.

Een vruchtwaterinfectie met *C. albicans* veroorzaakt een ernstige systemische ontstekingsreactie in de foetus, gekenmerkt door een sterke toename van de IL-6 concentratie in het bloed. Daarnaast werd *C. albicans* na drie dagen terug gevonden in de hersenvloeistof (cerebrospinale vloeistof) van de foetus en leidde het tot foetale dood 5 dagen na infectie. Daarnaast veroorzaakte de vruchtwaterinfectie een ontstekingsreactie in het foetale brein die gepaard ging met schade aan de witte stof.

Behandeling met Fluconazol voorkwam foetale dood en verminderde de aanwezigheid van *C. albicans* in de hersenvloeistof en het hersenweefsel 5 dagen na de infectie. Ook de ontstekingsreactie in het bloed werd tijdelijk geremd. Echter, de ontstekingsreactie en schade aan het premature brein werden niet voorkomen.

Samengevat, in dit proefschrift hebben we aangetoond dat sturing van immuun reacties, in plaats van remming, met stamcellen of antimicrobiële behandeling beschermend kunnen werken tegen hersenschade bij vroeggeboren kinderen. De geteste therapieën in dit proefschrift zijn veelbelovend en zullen de basis vormen voor toekomstig onderzoek en klinische studies leidend tot een behandeling voor hersenschade na zuurstoftekort, vruchtwaterinfecties en vroeggeboorte.