



UNIVERSITE DE LILLE

ECOLE DOCTORALE BIOLOGIE SANTE DE LILLE

Année : 2023-2024

THESE D'UNIVERSITE

En vue de l'obtention du grade de

DOCTEUR EN PHYSIOLOGIE DE L'UNIVERSITE DE LILLE

Physiologie des échanges gazeux et de l'hémodynamique transplacentaire

lors d'une réanimation à cordon intact :

modèle expérimental d'agneau porteur de hernie diaphragmatique

Présenté et soutenue publiquement le 20 décembre 2024 par

Kévin LE DUC

Thèse dirigée par Monsieur le Professeur Laurent STORME

Co-encadrée par Madame le Dr Dyuti SHARMA

Devant le jury composé de :

Madame la Présidente du jury, le Professeur Alexandra Benachi	<i>rapporteur</i>
Madame le Professeur Isabelle Talon	<i>rapporteur</i>
Monsieur le Professeur Cyril Flamant	<i>examineur</i>
Monsieur le Professeur Pierre Tourneux	<i>examineur</i>
Monsieur le Docteur Sébastien Mur	<i>examineur</i>
Monsieur le Professeur Laurent Storme	<i>directeur</i>
Madame le Docteur Dyuti Sharma	<i>co-directeur</i>

REMERCIEMENTS

Ce mémoire est le résultat de travaux menés au sein de l'ULR 2694 – METRICS : Évaluation des technologies de santé et des pratiques médicales, axe évaluation précoce, environnement périnatal et santé, du Département Hospitalo-Universitaire de Recherche Expérimentale de l'Université de Lille, du centre de référence Hernie de Coupole Diaphragmatique et du service de Néonatalogie. Sans le soutien de l'ensemble de ces équipes, il m'aurait été impossible de mener à bien ce projet. Merci à tous.

À Madame le Professeur Alexandra Benachi : Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail et d'en être la rapporteure. J'espère que ce mémoire sera à la hauteur de vos attentes. Veuillez recevoir l'expression de mon profond respect.

À Madame le Professeur Isabelle Talon : Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail et d'en être la rapporteure. J'espère que ce mémoire sera à la hauteur de vos exigences et qu'il vous inspirera confiance pour notre future collaboration. Veuillez recevoir l'expression de mon profond respect.

À Monsieur le Professeur Cyril Flamant : C'est un honneur d'avoir le président de la Commission Scientifique des JFRN dans ce jury. Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail et d'avoir fait partie de mon Comité de Suivi Individuel de Thèse. Vos conseils ont été d'une grande aide pour améliorer son contenu scientifique. Veuillez recevoir l'expression de mon profond respect.

À Monsieur le Professeur Pierre Tourneux : Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail et d'avoir fait partie de mon Comité de Suivi Individuel de Thèse. Vos conseils ont été d'une grande aide pour enrichir son contenu scientifique. Veuillez recevoir l'expression de mon profond respect.

À Monsieur le Docteur Sébastien Mur : Quelques lignes ne suffiront pas à exprimer ce que je pense de toi. Tu es un modèle d'humanité, de savoir et de persévérance, tout en étant bienveillant envers autrui. C'est une chance de te connaître et de t'avoir à nos côtés.

À Monsieur le Professeur Laurent Storme : Les actes valent plus que des discours empreints de subjectivité. Néanmoins, permettez-moi de vous remercier. J'ai la chance d'être accompagné dans mon parcours par un homme tel que vous. Vous êtes un modèle, vous le savez.

À Madame le Docteur Dyuti Sharma : Merci à toi de m'avoir co-encadré pour ce travail de thèse. Sans ton expertise chirurgicale, ce projet n'aurait jamais vu le jour. Que notre binôme continue aussi longtemps que possible.

À Baptiste, Florian, Laure, Gauthier, ainsi qu'à tous les masters et chercheurs de l'équipe, qui m'ont permis de mener à bien ce projet. C'est un plaisir de travailler avec vous.

À Capucine, Arnold, Franck, Michel et Martin, pour vos compétences dans le domaine de l'expérimentation animale et surtout votre bonne humeur, qui rend le travail au laboratoire si agréable.

À Clémence et Riadh : Nous avons formé un trinôme qui nous a permis de tenir et, surtout, d'inspirer la génération à venir. Même si nos chemins ne suivent pas toujours la même direction, j'espère que notre amitié sincère les fera se croiser le plus souvent possible. Merci pour tout.

À Gaelle et Marine : Quel plaisir de voir ce que vous êtes devenues. Merci pour votre soutien indéfectible, même lorsque je suis loin. Sans vous, le Canada aurait probablement eu un médecin de plus à la fin de cette mobilité.

À tous les Internes, FFI, Chefs, Assistantes, PH et PUPH qui croyez en ce service, qui souhaitez vous y investir et qui vous engagez auprès des patients et de leurs familles. J'ai à cœur que nous formions, ensemble, une équipe pérenne.

À toutes les puéricultrices du service de néonatalogie et de la réanimation néonatale : Je ne peux citer ici tous vos noms, mais soyez assurées du respect que je vous porte et de la reconnaissance que j'ai pour vos compétences. Merci pour votre travail.

À mes parents, Chantal et Gérard : Il est vrai que j'aurais pu choisir un autre métier, mais il semble que l'engagement personnel et la lutte quotidienne soient héréditaires.

Aux parents des enfants hospitalisés : Merci pour cette démonstration de courage et d'élan vital qui nous pousse à repousser nos limites.

A mes amis : Les weekends sont toujours meilleurs quand on les partage avec vous.

À Claire : Nous avons tant partagé en 18 ans. 2024 a sans doute été la meilleure année, et j'ai eu la chance de vivre cela avec toi. Sans toi, rien de tout cela n'aurait de sens. Je t'aime.

À Lucien : Je suis tellement fier d'être ton papa. Tu es là, notre plus grande réussite.

RESUMES ET MOTS CLEFS

Partie 1. RESUME EN FRANÇAIS

La naissance est une période à risque qui met en jeu de multiples mécanismes qui permettent une transition de la vie foetale et la vie extra-utérine. Chaque année, dans les conséquences d'une mauvaise adaptation à la vie extra-utérine et la persistance de résistances vasculaires pulmonaires (RVP) trop élevées, 1 million de nouveau-né décède dans les 24 premières heures de vie. Dix pourcents des nouveau-nés requièrent une assistance médicale en salle de naissance. Le clampage du cordon ombilical retardé entre 60 et 180 secondes après la naissance est désormais recommandé pour toutes les situations où le nouveau-né, à terme comme prématuré, s'adapte bien à son nouvel environnement diminuant entre autres, le risque d'anémie ferriprive des premiers mois de vie. La hernie de coupole diaphragmatique (HCD) est une malformation du diaphragme responsable d'un trouble du développement cardio-pulmonaire. Elle entraîne une mortalité élevée et responsable d'un trouble de l'adaptation à la vie extra-utérine. Dans les situations de réanimation en salle de naissance, du fait du manque de données physiologiques et cliniques, il n'est pas encore recommandé de maintenir les échanges fœto-placentaires en parallèle de l'initiation de la réanimation. Dans ce travail de thèse, nous posons l'hypothèse que le placenta participe à l'oxygénation et à la décarboxylation du nouveau-né le temps que la circulation cardio-pulmonaire du nouveau-né se mette en place. Le but de ce travail était d'étudier la physiologie de l'hémodynamique et des échanges gazeux transplacentaires lors d'une réanimation à cordon intact (RCI) dans un modèle d'agneau sain et dans un modèle d'agneau porteur de hernie diaphragmatique. Les objectifs étaient (1) de présenter l'étude clinique « CHIC » évaluant l'impact de la RCI

chez le nouveau-né porteur de HCD, (2) mettre en place le modèle expérimental d'agneau HCD, (3) explorer la faisabilité et la durée maximale d'une réanimation à cordon intact chez l'agneau, (4) étudier l'évolution de l'hémodynamique et des échanges gazeux transplacentaires au cours d'une RCI dans un modèle d'agneau sain et porteur d'une HCD. Nous avons démontré que l'hémodynamique fœto-placentaire était stable (débits veineux ombilicaux, résistances vasculaires transplacentaires) jusque 1 heure après la mise en place d'une RCI. Dans un modèle d'agneau hernie diaphragmatique, où l'échangeur pulmonaire ne permet pas d'assurer normalement une augmentation rapide de la pression partielle artérielle en oxygène (PaO_2), le placenta permettait d'assurer une oxygénation et une décarboxylation tout au long de la réanimation avec un apport en oxygène par le placenta stable pendant 1 heure (2,7 [2,2-3,3] ml/kg/min). A l'inverse, dans un modèle physiologique, le maintien d'une circulation placentaire est associé à une diminution de la pression artérielle systémique de l'ordre de 20% comparé au groupe hernie diaphragmatique ($p < 0,05$). L'augmentation de la PaO_2 dans ce groupe est associée avec une diminution des apports en oxygène par le placenta. Le clampage du cordon entraînait dans ce groupe une élévation de la PaO_2 et une diminution de la capnie.

L'ensemble de ces travaux apporte une base physiologique essentielle à la pratique d'une réanimation à cordon intact et souligne l'importance de stratégies de réanimation individualisées en fonction des conditions cliniques spécifiques.

Partie 2. RESUME EN ANGLAIS

Birth is a critical period during which numerous mechanisms are engaged to enable the transition from fetal to extrauterine life. Each year, due to poor adaptation to this transition and the persistence of elevated pulmonary vascular resistance, 1 million newborns die within the first 24 hours of life. Ten percent of newborns require medical

assistance in the delivery room. Delayed umbilical cord clamping, between 60 and 180 seconds after birth, is now recommended in all situations where the newborn, whether full-term or premature, adapts well to the new environment. This practice notably reduces the risk of iron deficiency anemia in the first months of life.

Congenital Diaphragmatic Hernia (CDH) is a diaphragmatic malformation associated to an impaired cardio-pulmonary, leading to high mortality and impairing adaptation to extrauterine life. In delivery room resuscitation scenarios, the lack of physiological and clinical data has not yet allowed for the recommendation of maintaining fetoplacental circulation alongside the initiation of resuscitation.

In this thesis, we hypothesize that the placenta could contribute to oxygenation and decarboxylation of the newborn until the cardio-pulmonary circulation is established. The aim of this work was to study the physiology of hemodynamics and transplacental gas exchange during intact cord resuscitation (ICR) in a healthy lamb model and in a lamb model with CDH. The specific objectives were: (1) to present the clinical study "CHIC" evaluating the impact of ICR in newborns with CDH; (2) to establish an experimental lamb model of congenital diaphragmatic hernia; (3) to explore the feasibility and maximum duration of intact cord resuscitation in this model; and (4) to study the evolution of hemodynamics and transplacental gas exchange during ICR in both healthy and CDH lamb models.

We demonstrated that fetoplacental hemodynamics (umbilical venous flow, transplacental vascular resistance) remained stable up to one hour after the initiation of ICR. In the lamb model with diaphragmatic hernia, where the pulmonary exchange system cannot adequately increase arterial partial oxygen pressure (PaO_2), the placenta provided sufficient oxygenation and decarboxylation throughout the resuscitation, with stable placental oxygen delivery for one hour (2.7 [2.2-3.3])

ml/kg/min). Conversely, in the physiological model, maintaining placental circulation was associated with a 20% decrease in systemic arterial pressure compared to the CDH group ($p < 0.05$). The increase in PaO_2 in this group was associated with a decrease in placental oxygen delivery. Cord clamping in this group led to an increase in PaO_2 and a decrease in carbon dioxide levels.

These findings provide an essential physiological basis for the practice of intact cord resuscitation and highlight the importance of individualized resuscitation strategies based on specific clinical conditions

Partie 3. MOTS CLEFS EN FRANÇAIS

Physiologie placentaire ; adaptation à la vie extra-utérine ; Réanimation à cordon intact ; Hernie Congénitale Diaphragmatique

Partie 4. MOTS CLEFS EN ANGLAIS

Placental physiology ; transition to Extrauterine life; Intact Cord Resuscitation; Congenital Diaphragmatic Hernia

INTITULE et ADRESSE du LABORATOIRE

Travail de recherche réalisé au sein de l'ULR 2694 – METRICS : Evaluation des technologies de santé et des pratiques médicales, axe évaluation précoce, environnement périnatal et santé.

Professeur Jean-Baptiste Beuscart

CERIM, Faculté de Médecine

Faculté de Médecine (Pôle Recherche) 1 place de Verdun - 59045 Lille

Tel : +33 (0) 3-20-62-69-69

VALORISATION SCIENTIFIQUE

Partie 1. Publications

a. Acceptées

Le Duc K, Mur S, Rakza T, Boukhris MR, Rousset C, Vaast P, Westlynk N, Aubry E, Sharma D, Storme L. Efficacy of Intact Cord Resuscitation Compared to Immediate Cord Clamping on Cardiorespiratory Adaptation at Birth in Infants with Isolated Congenital Diaphragmatic Hernia (CHIC). *Children (Basel)*. 2021 Apr 26;8(5):339. doi: 10.3390/children8050339. PMID: 33925985; PMCID: PMC8146982.

Teillet B, Manœuvrier F, Rougraff C, Besengez C, Bernard L, Wojtanowski A, Ghesquieres L, Storme L, Mur S, Sharma D, **Le Duc K**. Intact cord resuscitation in newborns with congenital diaphragmatic hernia: insights from a lamb model. *Front Pediatr*. 2023 Sep 6;11:1236556. doi: 10.3389/fped.2023.1236556. PMID: 37744447; PMCID: PMC10516551.

Le Duc K, Aubry E, Mur S, Besengez C, Garabedian C, De Jonckheere J, Storme L, Sharma D. Changes in Umbilico-Placental Circulation during Prolonged Intact Cord Resuscitation in a Lamb Model. *Children (Basel)*. 2021 Apr 26;8(5):337. doi: 10.3390/children8050337. PMID: 33925880; PMCID: PMC8145708.

b. Soumises

Le Duc K, Manœuvrier F, Rougraff C, Teillet B, Maboudou P, Wojtanowski A, Besengez C, Chevalier G, Ghesquiere L, Garabedian C, Mur S, Boukhris R, Storme L, Sharma D. Umbilico-placental hemodynamics and transplacental O₂ exchanges during Intact Cord Resuscitation in newborn lambs with and without congenital diaphragmatic hernia (CDH). *Arch Dis Child* 2024

Partie 2. Communications orales

The International Congenital Diaphragmatic Hernia Symposium, Inter Continental Houston Medical Center, Houston, TX, USA, 2020

Congenital Diaphragmatic Hernia International Symposium, April 27-29th, Glasgow UK. 2022

27èmes Journées de médecine fœtale, Centre de Congrès d'Aix-en-Provence 2022

Journées Francophones de Recherche en Néonatalogie (Paris) 2021

Journées Francophones de Recherche en Néonatalogie (Paris) 2022

Congrès provincial de la Recherche Mère-Enfant du Québec (Laval) 2024

ABREVIATIONS

AMPc : Adénosine Monophosphate cyclique
CA : Canal Artériel
CO₂ : Dioxyde de Carbone
ECMO : Oxygénation par Membrane Extra-Corporelle
ENaC : Canaux sodiques épithéliaux
ET-1 : Endothéline 1
FC : Fréquence Cardiaque
FO : Foramen Ovale
ILCOR : International Liaison Committee on Resuscitation
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique
GPMc : Guanosine Monophosphate cyclique
HbF : Hémoglobine Fœtale
HCD : Hernie de Coupole Diaphragmatique
HTAPP : Hypertension Artérielle Pulmonaire Persistante du Nouveau-Né
LHR o/a : Lung Over Head Ratio observe/attendu
NO : Monoxyde d'azote
O₂ : Oxygène
OD : Oreillette Droite
OG : Oreillette Gauche
RCI : Réanimation à Cordon Intact
RVP : Résistances Vasculaires Pulmonaires
RVS : Résistances Vasculaires Systémiques
PAF : Facteur d'activation Plaquettaire
PaO₂ : Pression artérielle partielle en Oxygène
PFC : PerFluorCarbone
PO₂ : Pression partielle en Oxygène
pH : potentiel Hydrogène
SA : Semaines d'Aménorrhée
SpO₂ : Saturation pulsée en Oxygène
VCI : Veine Cave Inférieure
VO₂ placentaire : Apport en oxygène du placenta

VD : Ventricule Droit

VG : Ventricule Gauche

VLT : Ventilation Liquidienne Totale

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	2
RESUMES ET MOTS CLEFS.....	5
PARTIE 1. RESUME EN FRANÇAIS	5
PARTIE 2. RESUME EN ANGLAIS	6
PARTIE 3. MOTS CLEFS EN FRANÇAIS	8
PARTIE 4. MOTS CLEFS EN ANGLAIS	8
INTITULE ET ADRESSE DU LABORATOIRE	9
VALORISATION SCIENTIFIQUE.....	10
PARTIE 1. PUBLICATIONS.....	10
a. <i>Acceptées</i>	10
b. <i>Soumises</i>	10
PARTIE 2. COMMUNICATIONS ORALES.....	10
ABREVIATIONS	11
TABLE DES MATIERES.....	13
INTRODUCTION.....	15
PARTIE 1. RATIONNEL SCIENTIFIQUE DE LA THESE.....	15
PARTIE 2. ANATOMIE ET PHYSIOLOGIE PLACENTAIRE : DE L'EMBRYOGENESE A LA VIE EXTRA-UTERINE.....	17
a. <i>Embryogenèse et anatomie placentaire</i>	17
b. <i>Physiologie des échanges sanguins foeto-placentaires</i>	19
c. <i>Transition Physiologique à la vie extra-utérine</i>	23
PARTIE 3. L'ECHEC DE L'ADAPTATION A LA VIE EXTRA-UTERINE	31
a. <i>L'hypertension artérielle pulmonaire persistante du nouveau-né (HTAPPN)</i>	31
b. <i>L'exemple de la Hernie de Coupole Diaphragmatique</i>	34
PARTIE 4. REANIMATION A CORDON INTACT : OU EN SOMMES-NOUS ?.....	37
PARTIE 5. L'AGNEAU COMME MODELE EXPERIMENTAL DU NOUVEAU-NE HUMAIN	40
a. <i>Particularités du placenta chez le fœtus de brebis</i>	40
b. <i>L'agneau et l'ULR2694</i>	42
c. <i>Le modèle expérimental d'hernie diaphragmatique chez l'agneau</i>	42
d. <i>Modèle de réanimation à cordon intact (chez l'agneau porteur de hernie ou l'agneau sain)</i>	45
OBJECTIFS DE LA THESE ET PRESENTATION DES ARTICLES.....	49
PARTIE 1. OBJECTIFS DE LA THESE.....	49
PARTIE 2. INTACT CORD RESUSCITATION IN NEWBORNS WITH CONGENITAL DIAPHRAGMATIC HERNIA: INSIGHTS FROM A LAMB MODEL	50
PARTIE 3. CHANGES IN UMBILICO-PLACENTAL CIRCULATION DURING PROLONGED INTACT CORD RESUSCITATION IN A LAMB MODEL	60
PARTIE 4. UMBILICO-PLACENTAL HEMODYNAMICS AND TRANSPLACENTAL O ₂ EXCHANGES DURING INTACT CORD RESUSCITATION IN NEWBORN LAMBS WITH AND WITHOUT CONGENITAL DIAPHRAGMATIC HERNIA (CDH).....	68
PARTIE 5. EFFICACY OF INTACT CORD RESUSCITATION COMPARED TO IMMEDIATE CORD CLAMPING ON CARDIORESPIRATORY ADAPTATION AT BIRTH IN INFANTS WITH ISOLATED CONGENITAL DIAPHRAGMATIC HERNIA (CHIC) ..	81
.....	81
DISCUSSION GLOBALE DES RESULTATS.....	93
SUITE DU PROGRAMME DE RECHERCHE, PERSPECTIVES.....	95
PARTIE 1. SYSTEME DE MONITORING NON INVASIF DES DEBITS SANGUINS CIRCULANT A TRAVERS LE CORDON OMBILICAL AU COURS D'UNE REANIMATION A CORDON INTACT.....	95
PARTIE 2. VENTILATION LIQUIDIENNE ET REANIMATION A CORDON INTACT	96
PARTIE 3. ÉVALUER D'AUTRES EFFETS DE LA REANIMATION A CORDON INTACT EN CLINIQUE HUMAINE A TRAVERS L'ETUDE CHIC	99

PARTIE 4. SEDATION ET ANALGESIE D'UN NOUVEAU-NE LORS D'UNE REANIMATION A CORDON INTACT.....	100
PARTIE 5. PROLONGER LA REANIMATION A CORDON INTACT DANS LES FORMES DE HCD LES PLUS SEVERES	101
CONCLUSION.....	103
TRAVAUX CO-ENCADRES PENDANT LA THESE DE SCIENCE	105
REFERENCES	106
ANNEXE	117

Introduction

Partie 1. Rationnel scientifique de la thèse.

La naissance est une période à haut risque où de multiples mécanismes d'adaptation se mettent en place pour permettre la transition entre la circulation fœtale (oxygénation placentaire) et la circulation néonatale (oxygénation pulmonaire). Toute situation perturbant cette adaptation à la vie extra-utérine peut entraîner une asphyxie périnatale (3 à 8 nouveau-né pour 1000 naissances vivantes) responsable de 1 million de décès survenant dans les 24 premières heures de vie des nouveau-nés à travers le monde et 20% des cas de paralysie cérébrale dans le monde (1). Une mauvaise adaptation à la vie extra-utérine est liée à la persistance de résistances pulmonaires élevées due à l'échec de la vasodilatation des artérioles pulmonaires entraînant une hypoxie profonde avec un taux de mortalité de 30 à 40% (2). Lorsque les résistances vasculaires pulmonaires restent élevées, le débit pulmonaire n'augmente pas. Dans cette situation, le clampage immédiat du cordon entraîne une diminution brutale de la pré-charge du cœur gauche pouvant provoquer un arrêt cardiaque (3). Environ 10 % des nouveau-nés dans le monde nécessitent une assistance médicale en salle de naissance, 3 % une ventilation en pression positive et 0,1% une réanimation intensive avec compressions thoraciques et administration d'adrénaline pour achever leur transition à la vie extra-utérine (4,5). Malgré une nette diminution de la mortalité infantile à travers le monde depuis les années 1990, le taux de décès dans les premiers jours reste élevé (17,3 [16,2;19,3] décès pour 1000 naissances vivantes) Figure 1. En France, pour la première fois depuis 1960, la mortalité néonatale précoce (enfant décédé à moins de 28 jours de vie) a augmenté de 10% entre 2005 et 2021 passant de 2,47 à 2,72 pour mille naissances vivantes (6).

Investir le domaine de recherche concernant la prise en charge des nouveau-nés à la naissance et plus particulièrement la réanimation en salle de naissance doit donc être une priorité.

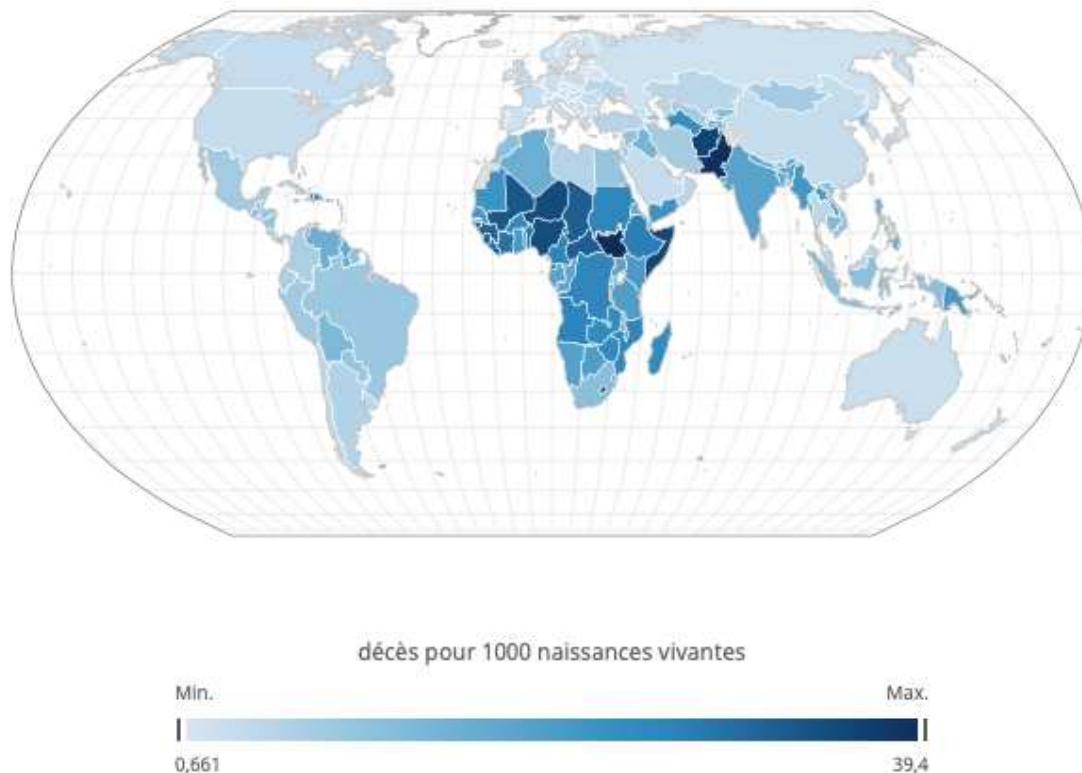


Figure 1 Nombre de décès avant 28 jours de vie pour 1000 naissances vivantes. (<https://data.who.int/fr/indicators/i/E3CAF2B/A4C49D3>)

Depuis 2015, l'International Liaison Committee on Resuscitation (ILCOR) recommande de ne pas couper le cordon avant 1 à 3 min de vie chez les nouveau-nés ne nécessitant pas de réanimation en salle de naissance (4). Cette modification de pratique permet de faciliter le transfert de sang du placenta au nouveau-né et de réduire l'anémie ferriprive du nouveau-né à terme. Chez le nouveau-né prématuré, le clampage retardé du cordon améliore la survie, et réduit la morbidité (besoins transfusionnels, hémorragie intraventriculaire, entérocolite ulcéro-nécrosante) (7).

Initier la réanimation avant de clamer le cordon ombilical pourrait permettre de maintenir une oxygénation placentaire du nouveau-né le temps que la réanimation débutée par le soignant permette à celui-ci de s'adapter à son nouvel environnement.

Toutefois, du fait du manque de données dans la littérature scientifique, que ce soit en terme d'études cliniques ou expérimentales, les institutions comme l'American Heart Association, l'American Academy of Pediatrics ou le Conseil Européen de Réanimation préconisent jusqu'ici de réserver cette technique de « clampage retardé » aux situations de bonne adaptation à la vie extra-utérine et de réaliser un clampage immédiat chez les nouveau-nés « non vigoureux ».(8,9).

Ce travail de thèse a pour but premier de participer à améliorer la compréhension des mécanismes physiologiques adaptatifs fœto-placentaires lors d'une réanimation à cordon intact.

Dans cette introduction, nous ferons un rappel de l'anatomie et de la physiologie placentaire et fœtale pendant la grossesse. Nous détaillerons les mécanismes adaptatifs à la naissance intervenant dans la transition d'une circulation fœtale à une circulation néonatale, les facteurs pouvant entraver cette bonne adaptation et leurs conséquences via un modèle pathologique de hernie diaphragmatique congénitale. Enfin, nous aborderons le clampage retardé dit « physiologique » du cordon et ses avantages démontrés dans la littérature, les recommandations internationales de réanimation en salle de naissance et les connaissances actuelles en terme de réanimation à cordon intact.

Partie 2. Anatomie et physiologie placentaire : de l'embryogénèse à la vie extra-utérine

a. Embryogenèse et anatomie placentaire

Le placenta constitue un organe transitoire essentiel et multifonctionnel durant la gestation humaine, assurant les échanges de gaz, de nutriments et de déchets entre la mère et son fœtus. Le placenta humain est une structure discoïde qui se développe

à partir du trophoblaste, une couche de cellules du blastocyste, et de l'endomètre maternel. Cette structure se compose de deux parties principales: la portion fœtale, dérivée du trophoblaste, et la portion maternelle, provenant de la décidue basale de l'endomètre. La portion fœtale forme les villosités choriales, tandis que la portion maternelle constitue les espaces intervilloux où circule le sang maternel. Cette face maternelle est divisée en 15 à 20 cotylédons, qui sont des unités fonctionnelles composées de nombreuses villosités choriales. Chez l'Homme, le placenta est hémochorial, c'est-à-dire que les villosités placentaires sont immergées dans le sang maternel de la chambre intervillouse. Le terme « Hémochorial » correspond aux structures maternelles et fœtales qui sont juxtaposées (le chorion et le sang maternel) (10). Ces villosités sont les principales structures responsables des échanges entre le sang maternel et le sang fœtal (figure 2).

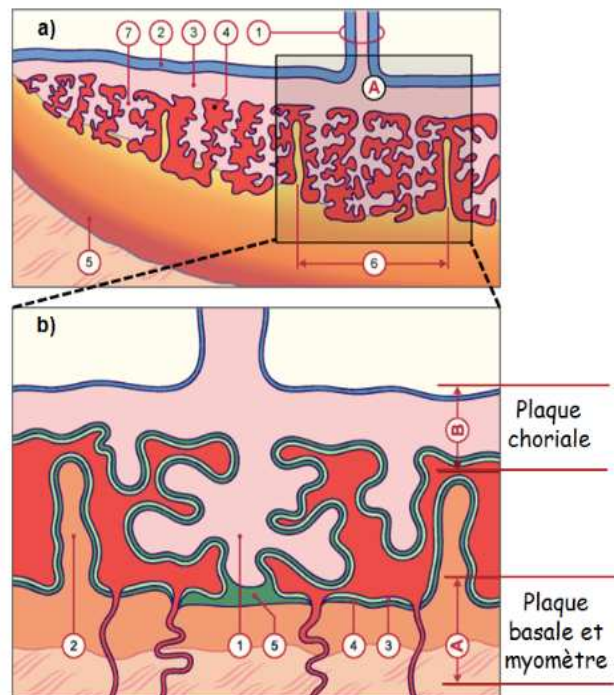


Figure 2 Représentation schématique d'un placenta humain au 4ème mois de grossesse.

a) 1. Cordon ombilical, 2. Amnios, 3. Plaque choriale, 4. Chambre intervillouse, 5. Plaque basale, 6. Cotylédon, 7. Villosité.

b) 1. Villosité crampon, 2. Septum, 3. Syncytiotrophoblaste, 4. Cytotrophoblaste, 5. Coque cytotrophoblastique
(<http://www.embryology.ch/francais/fplacenta>)

Le placenta atteint sa maturité autour du quatrième mois de grossesse. A terme, le placenta mesure environ 22 cm de diamètre avec un épaisseur de 2 à 3 cm et pèse environ 500 gr. Le cordon ombilical mesure environ 52 cm de long (11).

b. Physiologie des échanges sanguins foeto-placentaires

i. Circulation fœto-maternelle

Pour assurer les besoins du fœtus et du placenta, les femmes enceintes ont une augmentation de leur volume sanguin de 40% et du débit cardiaque de 35% (12). Le flux sanguin de l'artère utérine est multiplié par un facteur 3, passant de 95 mL/min chez la femme non gravide à 342 mL/min au terme de la grossesse (13). Le sang maternel pénètre dans les espaces intervilleux du placenta via les artères spiralées de l'utérus. Ces espaces intervilleux entourent les villosités chorales, des structures arborisées composées d'une couche de cellules trophoblastiques entourant un noyau de tissu conjonctif richement vascularisé par des capillaires fœtaux qui facilitent les échanges de gaz et de nutriments entre le sang maternel et le sang fœtal à travers la membrane placentaire (14).

Le débit sanguin placentaire est déterminé par la pression artérielle maternelle et les résistances vasculaires dans les artères utérines et les espaces intervilleux. Les résistances vasculaires utéro-placentaires, sous l'influence de vasodilatateurs produits par le placenta comme l'oxyde nitrique, les prostaglandines et l'oestrogène, diminuent progressivement au cours de la grossesse, facilitant ainsi une augmentation du débit sanguin vers le placenta passant de 50 mL/min au début de gestation à environ 500-700mL/min à terme (15).

Le débit sanguin ombilical augmente progressivement pendant la grossesse pour atteindre un débit maximal de 105 mL/kg/min à 20 semaines de gestation puis diminuera jusqu'au terme pour atteindre un débit de 65 mL/kg/min (3).

Le débit cardiaque total fœtal est stable pendant la grossesse autour de 400 mL/kg/min. Au milieu de la gestation (20SA), 30% du débit cardiaque est distribué au placenta contre 20% en fin de grossesse.

ii. Oxygénation fœtale

Les échanges entre le sang fœtal et le sang maternel se font au niveau du placenta par diffusion. L'hémoglobine fœtale (HbF) a une affinité accrue pour l'oxygène comparée à l'hémoglobine adulte, ce qui facilite le transfert d'oxygène du sang maternel vers le sang fœtal (figure 3). Le débit cardiaque est élevé et le taux d'hémoglobine moyen est de 17 g/100ml en fin de grossesse comparé à 14 g/100ml chez l'adulte.

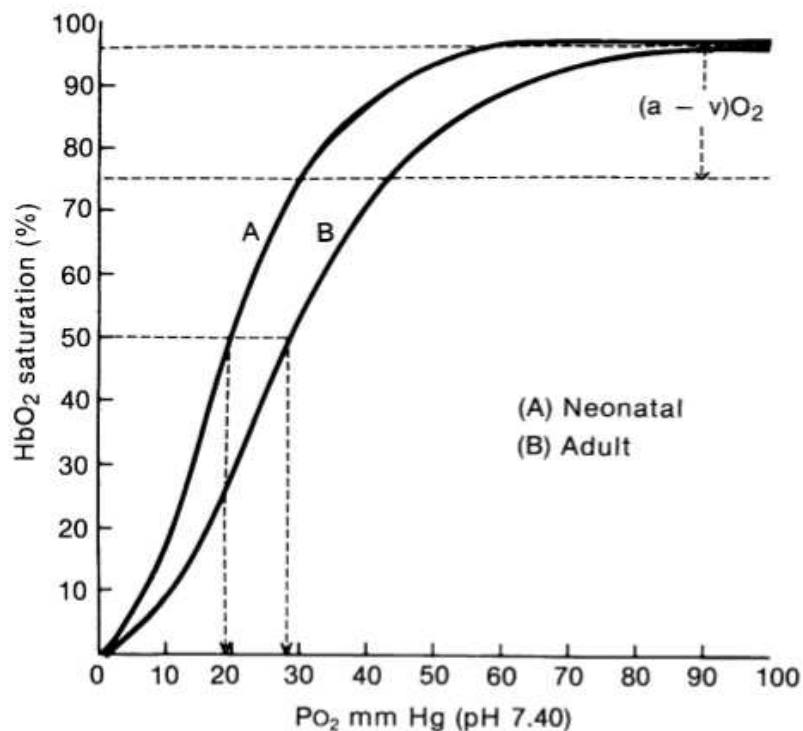


Figure 3 Courbe de dissociation de l'hémoglobine du nouveau-né (70% HbF) et de l'adulte en condition standard ($T^{\circ}= 37^{\circ}\text{C}$; pH 7.4) (Polin R, *Fetal and Neonatal Physiology* 5^{ème} édition, Figure 71-3, p.729)

L'oxygène diffuse du sang maternel riche en oxygène des espaces intervillositaires aux capillaires fœtaux dans les villosités chorionales. La pression partielle en oxygène ($p\text{O}_2$)

au niveau des espaces intervilloux est d'environ 30-50 mmHg alors que la pO_2 dans l'artère ombilicale est entre 16 et 28 mmHg (Figure 4) (16).

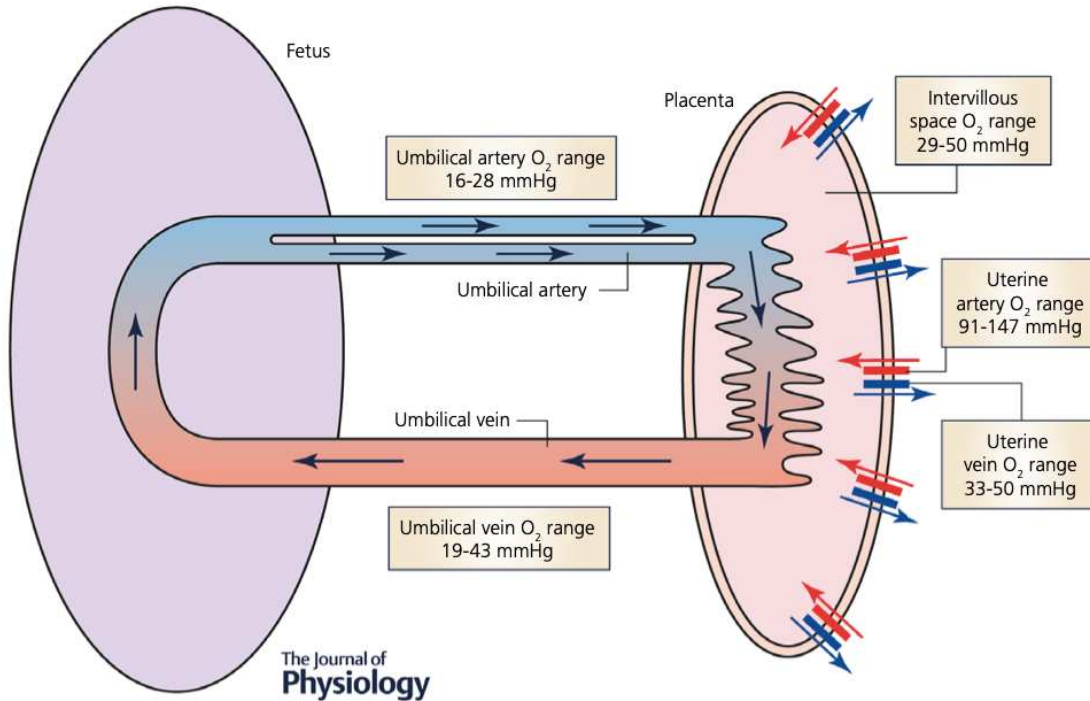


Figure 4 Pression partielle en oxygène dans les différents compartiments de l'unité fœto-placentaire [Nye GA et col Human placental oxygenation in late gestation: experimental and theoretical approaches. *J Physiol.* 2018 Dec;596(23):5523-5534].

C'est ce gradient de pression associé à la haute affinité de l'hémoglobine fœtale pour l'oxygène qui permet un transfert d'oxygène entre le placenta et la circulation fœtale (17).

Le sang qui arrive dans l'OG contient la PaO_2 la plus élevée chez le fœtus entre 25 et 28 mmHg. Lié au retour veineux de la veine cave supérieure (PO_2 à 12-14 mmHg et SpO_2 40-45%) et son flux préférentiel vers le ventricule droit, la PO_2 dans l'artère pulmonaire est de 18 mmHg avec une SpO_2 de 50% (18).

iii. Hemodynamique fœtale

La circulation pulmonaire

Les résistances vasculaires pulmonaires (RVP) évoluent pendant la gestation. A 20 semaines de grossesse (phase canaliculaire de la maturation pulmonaire), le débit pulmonaire ne représente seulement que 13% du débit d'éjection cardiaque lié à la paucité des capillaires pulmonaires et l'expression de prostaglandines vasoconstrictrices comme $F2\alpha$. Grâce à la maturation de la NO synthase et à la production de prostaglandines I2 et E2 vasodilatatrices, les résistances vont diminuer jusqu'à 30 SA permettant une augmentation du débit pulmonaire à 25-30% du débit d'éjection cardiaque pour redescendre autour de 19-20% à terme en parallèle de la maturation des capillaires pulmonaires qui se vasoconstrictent en situation d'hypoxie (19,20).

Au niveau du poumon, le liquide pulmonaire est généré par les cellules épithéliales alvéolaires. Ces cellules sécrètent des ions chlores dans la lumière de l'alvéole (21). L'acidose localisée dans l'alvéole résultant de cette sécrétion est en partie responsable de la vasoconstriction des capillaires pulmonaires (22).

La circulation systémique

Le retour sanguin veineux ombilical passe à travers le ductus venosus et le lobe gauche du foie à haute vitesse (entre 59 et 71 cm/seconde comparé à 16 cm/seconde dans la veine cave inférieure). A son arrivée dans l'oreillette droite, il est dirigé préférentiellement vers l'oreillette gauche à la configuration anatomique du foramen ovale (23). Ce mécanisme assure au coeur gauche l'existence d'une précharge par un sang au contenu artériel en oxygène plus élevé, à destination des coronaires et du cerveau. Grâce à l'existence d'un canal artériel non restrictif et de résistances

pulmonaires élevées, ce sont entre 70 et 80% de l'éjection biventriculaire qui est dirigée vers la circulation systémique .

c. Transition Physiologique à la vie extra-utérine

La transition de la circulation fœtale à la circulation néonatale implique des changements physiologiques importants et des mécanismes adaptatifs hormonaux et neuroendocriniens. La fermeture des shunts fœtaux, l'initiation de la fonction pulmonaire, la résorption du liquide pulmonaire et les réponses hormonales au stress jouent tous des rôles clés dans cette transition.

i. Transition circulatoire

Les résistances vasculaires pulmonaires :

A la naissance, lorsque l'adaptation se passe normalement, les RVP baissent rapidement, ce qui permet une diminution des pressions de 50-70 mmHg in utero à environ 15-20 mmHg après la naissance (24). Cette baisse de résistance permet une augmentation du débit sanguin pulmonaire, qui passe de 10% du débit cardiaque total avant la naissance à environ 50% après la naissance. Cette baisse des résistances est la résultante de multiples mécanismes décrit ci-dessous :

- l'augmentation des vasodilatateurs au sein de l'endothélium des capillaires pulmonaires (l'oxide nitrique par la voie de la GMPc et la prostaglandine I2 par la voie de l'AMPc) ;
- la diminution de facteurs vasoconstricteurs comme l'endothéline-1 (ET-1) et les facteur d'activation plaquettaire (PAF) ;
- L'augmentation du cortisol, des cathécholamines vasodilatatrices et des hormones thiroïdiennes (25). Le cortisol augmente de 5µg/mL pendant la période fœtale à 20 µg/mL à 36 SA pour atteindre des pics à 200 µg/mL pendant le travail (26). Il active la maturation de l'axe thyroïdien permettant la

transformation de la thyroxine en triiodothyronine. Il augmente également l'expression des récepteurs β -adrénergiques et la production de surfactant (27). Le pic de noradrénaline en lien avec le travail stimule les récepteurs adrénergiques α_2 qui ont une action vasodilatatrice pulmonaire en activant la voie de l'oxide nitrique (28). Ces hormones vont inhiber l'expression des pompes à chlore dans l'alvéole et stimuler la production des pompes $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPases}$ ainsi que les canaux sodiques épithéliaux (ENaC) situés sur les cellules épithéliales pulmonaires (29,30);

- la ventilation et le stretching des alvéoles pulmonaires ;
- le shear stress et le remodelage vasculaire. Suite à l'augmentation du débit pulmonaire, le shear stress provoqué entraîne augmentation de l'expression de l'eNOS et une dilatation des capillaires pulmonaires (31,32). L'épaisseur médiale des gros vaisseaux diminue progressivement au cours des 3 premiers mois de vie (33–36).

La circulation systémique et les shunts

Dans les minutes qui suivent la naissance, le transfert de sang continue de se faire du placenta vers le nouveau-né par la veine ombilicale encore perméable. Ce transfert se produit le plus rapidement au cours de la première minute, mais continue jusqu'à la constriction des artères ombilicales et l'arrêt des pulsations du cordon. Le volume de sang transfusé varie souvent entre 25 et 40 mL/kg et dépend de la durée du clampage, mais aussi d'une série de facteurs modificateurs, y compris la gestation, le début de la respiration, les contractions utérines et la position relative du bébé et du placenta (37–39).

Après le clampage du cordon et en l'absence de débit sanguin, le ductus venosus va se fermer progressivement et se transforme en ligament veineux hépatique. La fermeture fonctionnelle se produit en quelques jours, tandis que la fermeture anatomique prend quelques semaines (Figure 5).

Le foramen ovale, dont le shunt est orienté de l'oreillette droite vers l'oreillette gauche pendant la grossesse et permet la précharge du ventricule gauche, va se fermer progressivement. La baisse des résistances vasculaires pulmonaires et l'augmentation du retour veineux pulmonaire vont augmenter la pression dans l'oreillette gauche. Au niveau du cœur droit, la pression dans l'oreillette droite diminue suite au clampage du cordon et à la baisse du retour veineux systémique. Cette inversion du gradient de pression entre l'oreillette droite et gauche va plaquer le septum primum contre le septum secundum fermant ainsi le foramen ovale.

Grace à la conjonction de l'augmentation des résistances et des pressions vasculaires systémiques et de la baisse des résistances vasculaires pulmonaires, le canal artériel va devenir bidirectionnel puis shunter de façon exclusive de l'aorte vers l'artère pulmonaire. L'augmentation de la PaO_2 au sein du canal artériel provoquée par l'inversion du shunt va provoquer ensuite, via l'action des canaux calciques présents dans les cellules musculaires lisses, une vasoconstriction des fibres ductales. La suppression du placenta va faire baisser la concentration de prostaglandines E2 qui maintenaient le canal artériel perméable pendant la grossesse. Ces mécanismes vont progressivement mener à la fermeture du canal artériel dans un délai de 12 à 72 heures. Les pressions s'élèvent dans les cavités gauches et s'abaissent dans les cavités droites. On aboutit à une circulation post-natale en série avec haute pression systémique et basse pression pulmonaire. Chaque ventricule va se différencier

morphologiquement avec une augmentation de la masse contractile du VG (multiplié par 3 au cours des 3 premières semaines de vie).

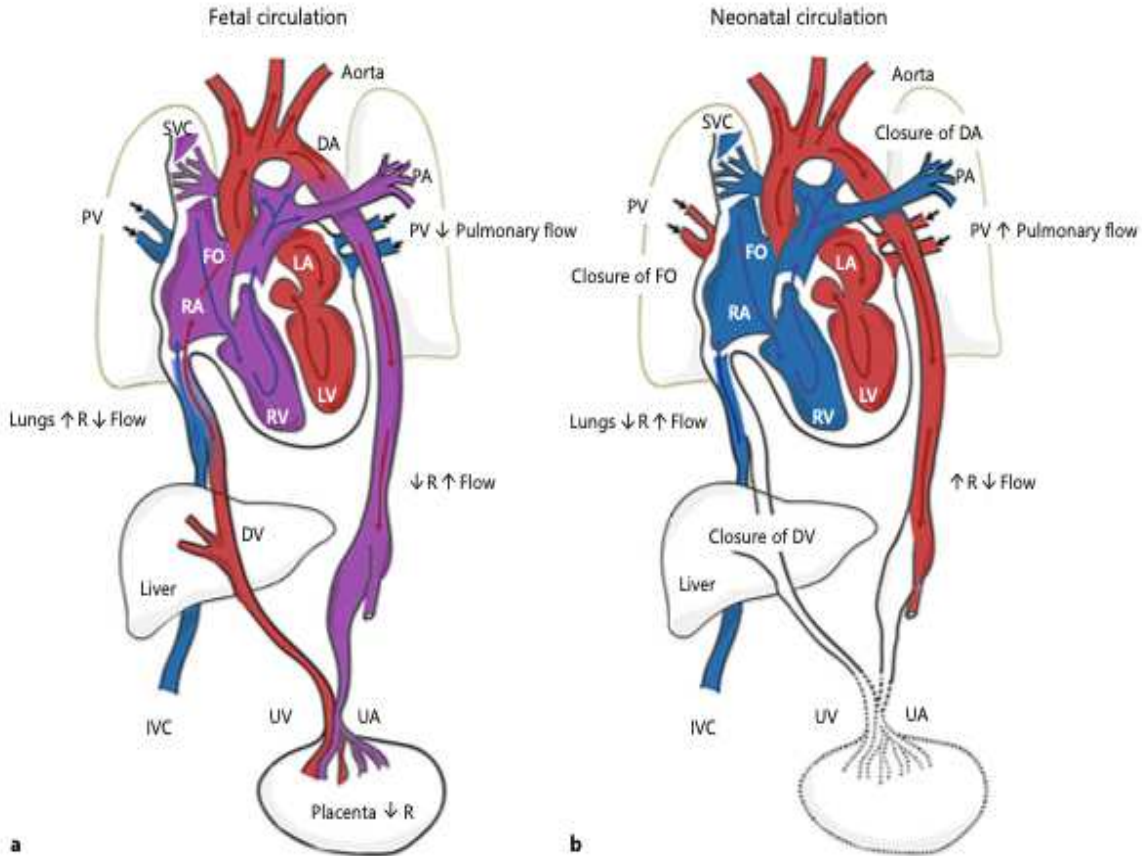


Figure 5 Schéma de la circulation fœtale et de la circulation cardiovasculaire néonatale.

a Pendant la période fœtale, l'oxygénation et les apports nutritionnels sont assurés par le placenta et transportés par la veine ombilicale. La moitié de ce sang vascularise le foie par la veine porte, l'autre est dirigé vers la VCI à travers le DV. A l'entrée du cœur, le sang de la VCI passe dans l'oreillette gauche via le FO. Le sang de la VCS est dirigé vers le ventricule droit et le tronc commun de l'artère pulmonaire. La majorité du sang éjecté par le cœur droit rejoint l'aorte par le CA qui shunt droit-gauche. Le sang de l'aorte ascendante retourne au placenta via les artères ombilicales.

b En situation physiologique à la naissance, les pressions pulmonaires basses permettant au sang éjecté par le ventricule droit de se diriger vers le poumon et se faire oxygéner. Le retour veineux pulmonaire augmente, la pression dans l'oreillette gauche augmente et le FO se ferme. Le CA se vasoconstricte à l'augmentation de la PO₂. DV, ductus venosus ; VCI, veine cave inférieure ; FO, foramen ovale ; VCS, veine cave supérieure ; CA, canal artériel

ii. Transition respiratoire

Pendant la grossesse, les pneumocytes sont au contact du liquide alvéolaire. Les pneumocytes II élaborent les corps lamellaires et synthétisent le surfactant à partir de 22-24 semaines d'âge gestationnel. La synthèse et la sécrétion de celui-ci sont stimulées par les hormones de stress du début de travail. L'expansion des alvéoles, liée aux pressions inspiratoires élevées (entre 50 et 70 cmH₂O chez l'enfant à terme) des premières inspirations va activer les pompes Na⁺K⁺ATPase et des canaux ENaC qui vont générer un gradient osmotique dirigeant le liquide pulmonaire de l'alvéole vers l'interstitium (40,41). La résorption du liquide pulmonaire à la naissance est rapide (35 L/kg/h pendant les 5 premières inspirations) principalement lors des phases d'inspiration (42,43). L'O₂ de l'air ambiant parvient aux alvéoles. La capacité résiduelle fonctionnelle (CRF) se constitue au cours des premiers cycles respiratoires et atteint ses valeurs normales de 30 ml/kg dans les 2 à 3 heures qui suivent la naissance (44). Chez un nouveau-né qui s'adapte normalement, les valeurs de SpO₂ suivent la courbe de Dawson (45) et passent de 60 % à la première minute de vie à 90 % à 10 minutes de vie comme présenté figure 6.

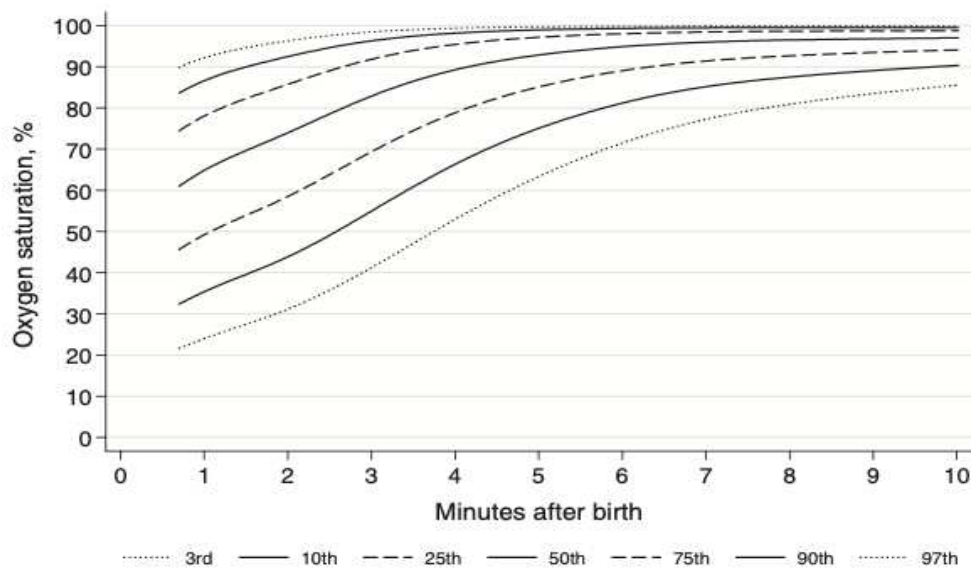


Figure 6 Courbe de Dawson

3ème, 10ème, 25ème, 75ème, 90ème et 97ème percentiles des valeurs de saturation en oxygène pour les nouveau-nés à terme ne nécessitant pas d'intervention médicale.

iii. Les conséquences du clampage du cordon avant l'instauration d'une ventilation efficace

Au moment du clampage du cordon ombilical, le placenta, qui est un système vasculaire à basse pression et à haut débit, est alors séparé de la circulation du nouveau-né. C'est alors environ 30% du volume circulant qui est soustrait à la circulation foetale entraînant une baisse de la précharge cardiaque. En clampant les artères ombilicales, les résistances vasculaires systémiques du nouveau-né vont s'élever, augmentant la post-charge du ventricule gauche. La tolérance de ces modifications hémodynamiques brutales et simultanées est directement liée avec l'instauration au préalable de la ventilation, de l'augmentation du débit sanguin pulmonaire et par conséquent, la précharge du cœur gauche via le retour veineux pulmonaire.

Les premières études dans les années 1980 par cinéradiographie montraient qu'au moment du clampage du cordon, s'il était réalisé avant d'avoir débuté une ventilation, la taille du cœur diminuait pendant les premiers cycles avant de reprendre une taille normale (46). Dans un modèle expérimental d'asphyxie périnatale chez le singe rhésus, l'occlusion bucco-nasale pour empêcher toute ventilation spontanée au moment de la naissance associée à une compression du cordon entraînait une bradycardie profonde (47). Des résultats similaires sont retrouvés chez le nouveau-né humain sans ventilation spontanée (48). Ces études suggèrent qu'au moment du clampage du cordon ombilical, si le débit sanguin pulmonaire n'a pas été instauré via la baisse des résistances vasculaires pulmonaires, la baisse brutale de précharge cardiaque entraîne un tableau similaire à une hypovolémie provoquant une bradycardie.

En 1969, Yao AC et al, en utilisant de l'albumine marquée à l'iode¹²⁵ a mis en évidence que la masse sanguine du nouveau né passait de 70 mL/Kg lorsque le cordon était clampé immédiatement à la naissance comparé à 90 mL/Kg lorsque le clampage était différé à 3 min de vie (49).

Le clampage du cordon ombilical entraîne une augmentation rapide des résistances vasculaires systémiques (RVS) et de la pression artérielle (50). Cela conduit à une augmentation transitoire du flux sanguin cérébral et en même temps peut provoquer une réduction du débit cardiaque du ventricule gauche si la précharge n'est pas suffisante. Le débit cardiaque peut rester faible jusqu'à ce que le débit sanguin pulmonaire soit établi et que la précharge du ventricule gauche soit restaurée par le retour veineux pulmonaire (51).

iv. Les bénéfices à retarder le clampage du cordon après l'instauration d'une ventilation efficace

Dans des modèles d'agneaux prématurés, la mise en place d'une pression expiratoire positive avant le clampage du cordon évite les fluctuations des débits cardiaque et cérébral décrits précédemment (52). Les nouveau-nés bénéficiant d'un clampage retardé du cordon pèsent en moyenne 96 [0,3-191] gr de plus que les nouveau-nés ayant eu un clampage immédiat du cordon (53).

L'hypothèse est posée que le placenta perfusant le nouveau-né va apporter un « excès » de volume sanguin et participe à éviter le tableau d'hypovolémie systémique à l'instauration de la circulation pulmonaire en attendant que le retour veineux pulmonaire assure la précharge ventriculaire gauche nécessaire à l'éjection cardiaque et à la perfusion cérébrale (54). Cette amélioration de la perfusion cérébrale permet d'assurer une meilleure oxygénation cérébrale chez l'agneau prématuré.

Cette technique de retarder le clampage du cordon ombilicale semble sûre dans la littérature scientifique, sans augmentation du risque d'hémorragie du postpartum, ni de la mortalité infantile ni du risque de polyglobulie chez le nouveau-né (7).

Plusieurs essais cliniques randomisés ont suivi et ont permis à plusieurs sociétés savantes d'établir des recommandations chez les nouveau-nés à terme et prématurés :

- Pour les nouveau-nés prématurés: une méta-analyse de 16 essais randomisés incluant un total de 2988 nouveau-nés montrait que le clampage retardé du cordon augmentait la survie hospitalière. Six études incluant 351 patients montraient une diminution du recours aux inotropes pendant les 24 premières heures et une diminution de 39% des besoins transfusionnels (55).
- Pour les nouveau-nés à terme: Quatre études (n=537 enfants) ne montraient pas de différence sur la mortalité entre le groupe clampage précoce vs clampage retardé, mais 15 études (n=2641 enfants) démontraient que le clampage retardé du cordon augmentait les réserves de fer et réduisait le risque d'anémie néonatale dans les 6 premiers mois de vie (56,57).

En 2014, l'Organisation mondiale pour la Santé recommandait pour les nouveau-nés prématurés et à terme, qui ne nécessitaient pas de ventilation en pression positive à la naissance, de ne pas clamer le cordon ombilical avant 1 minute après la naissance (58).

En 2015, l'ILCOR, le comité de liaison international de réanimation recommandait chez le nouveau né prématuré et à terme ne nécessitant pas de mesure de réanimation à

la naissance, de clamber le cordon ombilical après une durée minimale de 30 secondes (4).

En 2023, l' American Heart Association and American Academy of Pediatrics publiait des recommandations concernant le clampage du cordon ombilical : « Pour les nouveau-nés de plus de 34 semaines d'aménorrhée qui ne nécessitaient pas de réanimation à la naissance, un clampage retardé du cordon (30 secondes) pouvait être bénéfique par rapport à un clampage précoce » (8).

L'European Resuscitation Council : concluait que pour les nouveau-nés avec une bonne adaptation, il était désormais recommandé de retarder le clampage du cordon d'au moins 1 minute après l'accouchement, tant pour les nouveau-nés à terme que pour les prématurés. Il concluait également qu'à ce jour, il n'existe pas encore de preuves suffisantes pour recommander un délai approprié pour le clampage du cordon chez les bébés nécessitant une réanimation à la naissance (9).

Partie 3. L'échec de l'adaptation à la vie extra-utérine

a. L'hypertension artérielle pulmonaire persistante du nouveau-né (HTAPPN)

Dans la précédente section, nous avons vu que de multiples phénomènes sont intriqués et permettent au nouveau-né de réussir sa transition à la vie extra-utérine. Si l'un de ces mécanismes dysfonctionne, la circulation néonatale peut ne pas se mettre en place normalement (2,59).

Dans cette section, nous allons parcourir les principales causes de HTAPPN décrites dans la littérature scientifique:

Le remodelage des capillaires pulmonaires: Plusieurs événements pendant la grossesse peuvent entraîner un épaississement de la paroi des capillaires pulmonaire responsable de l'augmentation des résistances vasculaires pulmonaires. Par exemple, la restriction anténatale du canal artériel suite à la prise d'anti-inflammatoire non stéroïdiens pendant la grossesse provoque un débit anormalement élevé dans les capillaires pulmonaires. Cet hyperdébit entraîne une prolifération accrue des cellules musculaires lisses et une muscularisation des artères périphériques normalement dépourvues de cellules musculaires. L'intima est infiltrée par des fibroblastes et l'adventice présente une augmentation de la matrice extracellulaire, avec un dépôt de collagène et d'élastine. Ces changements entraînent un épaississement de la paroi des vaisseaux sanguins, une augmentation des RVP et une réduction de la compliance pulmonaire (60,61). La prise d'antidépresseurs comme les Inhibiteurs Sélectifs de la Recapture de la Sérotonine va augmenter le taux de Sérotonine foetal qui a une action pro-mitotique responsable d'une prolifération des cellules musculaires lisses augmentant également les résistances vasculaires pulmonaires (62).

Les anomalies de transition à la naissance : Intègrent l'ensemble des pathologies qui vont interférer dans la libération des facteurs vasodilatateurs. On y classe l'asphyxie périnatale ou la détresse respiratoire transitoire. Tous les stimuli nociceptifs, par activation des récepteurs α 1-adrenergiques entraînent une augmentation des RVP de 50% (63). On y retrouve également les facteurs environnementaux comme l'exposition au tabac pendant la grossesse qui augmente les RVP et diminue la réponse à l'oxygène à la naissance (64).

Les anomalies du parenchyme pulmonaire: La principale cause est le syndrome d'inhalation méconiale ou les sepsis entraînant une anomalie du rapport ventilation-perfusion. La diminution des résistances vasculaires systémiques liée au sepsis combinée à une élévation des RVP suite à l'hypoxémie augmente le shunt droit-gauche au niveau du FO et du CA. La production de médiateurs proinflammatoires comme les leukotrienes, les facteurs d'activation plaquettaires, le thromboxane et ET-1 sont également de puissants vasoconstricteurs pulmonaires libérés au cours d'un sepsis (65).

Les anomalies du développement pulmonaire: Les oligohydramnios secondaires à une insuffisance rénale fœtale, une rupture prolongée des membranes ou les malformations pulmonaires comme la Hernie de Coupole Diaphragmatiques (HCD) sont responsables d'une hypoplasie pulmonaire avec diminution du nombre d'alvéole et une restriction du lit vasculaire pulmonaire.

Les obstructions intravasculaires: Les résistances restent élevées par un obstacle mécanique, comme dans la polyglobulie, fréquente dans le syndrome transfuseur-transfusé.

L'hypertension artérielle pulmonaire du prématuré: Elle est souvent mixte d'une part lié au dérecrutement alvéolaire suite au défaut de production de surfactant mais aussi lié à l'immaturation de la vascularisation pulmonaire (66).

L'hypertension veineuse pulmonaire: Liée à l'ensemble des cardiopathies du cœur gauche obstructives comme le retour veineux pulmonaire anormal, la sténose de la valve mitrale, la coarctation de l'aorte.

Sur le plan épidémiologique, l'HTAPPN touche environ 2 nouveau-nés sur 1000 (0,4-6,8/1000 naissance vivante) avec une mortalité comprise entre 4 et 33% (67). La

morbidity est élevée, responsable dans 25% des cas de troubles neurodéveloppementaux (10% des enfants scolarisés ayant un quotient intellectuel inférieur à 80%), de surdité dans 23% des cas et de difficultés respiratoires dans 24% des cas (68,69).

b. L'exemple de la Hernie de Coupole Diaphragmatique

La HDC est une malformation qui affecte environ 1 nouveau-né sur 3 000 à 5 000 naissances vivantes, représentant environ 8 % des malformations congénitales majeures. Le diaphragme se ferme habituellement entre la 8^{ème} et la 10^{ème} semaine de gestation, par la fusion de trois structures embryonnaires : le septum transversum, les membranes pleuropéritonéales et le méso-œsophage. Une fusion incomplète de ces plis conduit à une communication anormale entre les cavités, permettant aux viscères abdominaux de pénétrer dans le thorax, comprimant les poumons. Dans 84% des cas, le défaut est situé au niveau postérolatéral gauche (70). Environ 30 à 50 % des cas sont associés à d'autres anomalies congénitales ce qui aggrave le pronostic et augmente la mortalité périnatale (71). Quinze pourcent des nouveau-nés porteur de HCD ont une malformation cardiaque associée à type de communication interventriculaire, communication interauriculaire ou coarctation de l'aorte (72). Malgré l'amélioration ces dernières années des options thérapeutiques, la mortalité reste estimée entre 20 et 30% dans les centres de niveau III. De plus, cette pathologie représente 30% des indications d'oxygénation par membrane extra-corporelle (ECMO) néonatales (73).

Les nouveau-nés atteints de hernie diaphragmatique congénitale présentent dans la majorité des cas, un trouble de l'adaptation à la vie extra-utérine. La HTAPPN dans la hernie de coupole diaphragmatique est probablement la plus complexe car elle intègre

3 grands mécanismes d'hypertension pulmonaire pouvant avoir des prises en charge opposées. La HCD est associée à une hypoplasie et un développement pulmonaire anormal, avec un nombre plus faible de divisions bronchiques et une restriction du lit vasculaire pulmonaire et un épaissement de la média (74). Elle est sujette également à de multiples anomalies fonctionnelles liées à la réactivité des vaisseaux pulmonaires. On retrouve une surexpression de l'endothéline 1 vasoconstrictrice et la persistance d'un taux plus élevés en phosphodiesterase de type 5 responsable de la dégradation du GMPc, l'un des effecteurs de la voie de l'oxide nitrique (75,76). La troisième cause de maladaptation dans la hernie diaphragmatique est l'hypoplasie fonctionnelle du ventricule gauche associée à une dysfonction systolo-diastolique biventriculaire. L'origine est encore mal connue mais trois grands principes sont décrits :

- la compression mécanique du cœur pendant la grossesse liée à l'ascension du contenu herniaire qui entraverait le développement du ventricule du côté ipsilatéral à la hernie (figure 7) (77).
- l'hypoplasie pulmonaire et le remodelage vasculaire des capillaires pulmonaires qui sont responsables d'une diminution du débit sanguin pulmonaire pendant la période fœtale. La baisse du retour veineux pulmonaire dans l'oreillette gauche serait responsable en partie du défaut de croissance du cœur gauche (78).
- La déviation du foie et du médiastin par le contenu herniaire vient diminuer la quantité de sang placentaire qui rejoint la veine cave inférieure par le ductus venosus. L'angle entre la VCI et le FO est lui aussi modifié, diminuant la précharge du ventricule gauche pendant la période fœtale entravant une croissance normale des cavités gauches (figure 7) (79). Au moment du clampage du cordon ombilical, l'augmentation brutale de la post-charge sur ce

ventricule hypoplasique entraîne une défaillance cardiaque avec une hypertension pulmonaire post-capillaire pouvant mettre en jeu le pronostic vital du patient (80).

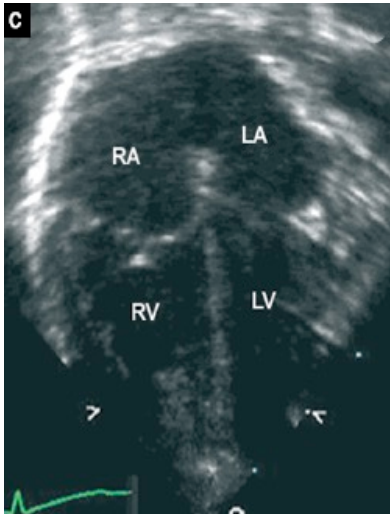


Figure 7 Coupe 4 cavité en échographie cardiaque d'un nouveau-né porteur d'HCD.



Figure 8 Radiographie de thorax d'un nouveau-né porteur d'HCD

A la persistance de résistances vasculaires pulmonaires élevées, s'ajoute un retard de résorption du liquide pulmonaire de plusieurs heures chez les nouveau-nés avec une hypoplasie pulmonaire (81) .

L'ensemble de ces mécanismes démontrent les difficultés d'adaptation à la vie extra-utérine et les difficultés ventilatoires des nouveau-né porteurs de HCD. Nous comprenons ici, l'enjeu qui existe à optimiser la prise en charge de ces nouveau-nés pour diminuer cette mortalité néonatale encore trop élevée.

Le diagnostic anténatal de l'HCD est généralement posé par échographie obstétricale entre la 18^{ème} et la 24^{ème} semaine de gestation. Les signes échographiques typiques incluent le déplacement des organes abdominaux dans la cavité thoracique, l'absence de visualisation de l'estomac dans l'abdomen, et une déviation médiastinale. Le LHR o/a (Lung Over Head Ratio observé/attendu) correspond à une estimation du volume

du poumon exprimée en pourcentage par rapport au volume attendu pour l'âge gestationnel au moment de l'échographie(82). L'imagerie par résonance magnétique (IRM) fœtale permet de façon précise d'estimer le volume pulmonaire et de le comparer au volume pulmonaire théorique pour le terme (83). Le diagnostic anténatal est essentiel pour permettre la naissance de ces nouveau-nés dans un centre spécialisé. Leur prise en charge dès les premières secondes est cruciale pour la survie et est guidée par les recommandations du consortium européen de la HCD (84). La priorité est donnée à l'intubation trachéale pour éviter toute insufflation d'air dans le tube digestif qui pourrait comprimer le poumon et la circulation pulmonaire. L'objectif de saturation en oxygène à la sortie de la salle de naissance est compris entre 80 et 95% avec des pressions de ventilation ne dépassant pas les 25 cmH₂O. Une sonde gastrique en aspiration est mis en place dès que possible pour éviter toute distension du tube digestif.

Malgré ces recommandations, la mortalité de ces nouveau-nés reste élevée dans les premières heures de vie et plusieurs équipes de recherche se posent la question, malgré l'absence de recommandations sur le sujet, de débiter la réanimation de ces nouveau-nés à haut risque tout en maintenant le cordon ombilical intact dans le but d'assurer la précharge cardiaque et un certain degré d'oxygénation le temps que les résistances pulmonaires commencent à diminuer et que le débit sanguin pulmonaire augmente.

Partie 4. Réanimation à cordon intact : où en sommes-nous ?

En 2023, l'American Heart Association a actualisé ces recommandations quant au management du cordon ombilical. Après un essai thérapeutique randomisé chez 1730 nouveau-nés nés entre 35 et 42 SA nécessitant une prise en charge médicale à la naissance, comparant le clampage immédiat du cordon à la traite du cordon (appelé

milking dans la littérature anglo-saxonne), la traite du cordon est considérée comme une alternative raisonnable au clampage immédiat (<30s) (85). Mais là encore, aucune recommandation quant au clampage retardé du cordon n'est avancée (8).

Pourtant plusieurs études ont été publiées sur le sujet et démontrent un certain bénéfice au maintien de la circulation placentaire lors d'une réanimation chez le nouveau-né à terme et prématuré.

En 2017, notre équipe de recherche clinique publiait dans *Resuscitation* un premier article sur la faisabilité d'une RCI dans la HCD. L'étude prospective de C. Lefebvre incluait 40 nouveau-nés porteurs de HCD. Vingt enfants étaient pris en charge de façon conventionnelle avec un clampage immédiat du cordon ombilical, 20 étaient réanimés à cordon intact. Le cordon était coupé une fois le nouveau-né intubé et les fonctions cardiorespiratoires stabilisées (FC > 100bpm, ventilation mécanique efficace avec une augmentation progressive de la SpO₂). Les complications maternelles étaient comparables dans les deux groupes avec 2 cas d'hémorragies de la délivrance dans chaque groupe. Le cordon ombilical était clampé à 7±3,4 min dans le groupe réanimation à cordon intact. Le score d'Apgar était significativement plus élevé à 1 et 5 min dans le groupe RCI. Une heure après la naissance, le pH artériel était meilleur et la capnie plus basse dans le groupe RCI. La pression artérielle moyenne à H12 et le recours aux inotropes étaient également en faveur d'une réanimation à cordon intact (86).

En 2023, Raina JS publiait un essai clinique randomisé dans *Journal of Pediatrics* comparant 249 nouveau-nés avec un clampage immédiat du cordon à 247 nouveau-nés avec un clampage retardé du cordon. Le risque relatif d'avoir recours à une ventilation en pression positive était de 0,79 (Intervalle de confiance 95%, 0,61 ;1,01). Le score d'Apgar à 5 et 10 minutes était meilleur dans le groupe clampage retardé. Le

nombre de transfert en réanimation néonatale était plus important dans le groupe clampage immédiat comparé au groupe clampage retardé (31 of 91 [34%] vs 14 of 71 [20%]; $p = 0,04$) (87).

En 2019, une étude népalaise publiée dans *Maternal Health, Neonatology, and Perinatology*, incluant 231 nouveau-nés ne présentant pas de ventilation spontanée à la naissance mettait en évidence que les nouveau-nés pris en charge en maintenant la circulation placentaire intact à l'instauration de la réanimation avait une meilleure saturation en oxygène à 10 minutes de vie comparés à ceux du groupe réanimé à cordon clampé. (Spo₂ à 90.4 (8.1) vs 85.4 (2.7) %, $P < 0,001$) (88). Dans le groupe réanimation à cordon intact, le score d'Apgar était significativement meilleure à 5 et 10 min et les nouveau-nés reprenaient une respiration spontanée plus rapidement comparé au groupe clampage immédiat.

Le devenir à deux ans de ces enfants était publié dans *Acta Paediatrica*. Le groupe ayant bénéficié d'une réanimation à cordon intact avait un score neurodéveloppemental (échelle IYCD) significativement plus élevé que le groupe réanimé avec clampage immédiat (89). Néanmoins, un biais majeur à l'interprétation de ces deux études était le non respect du protocole avec un délai de clampage du cordon pas toujours respecté.

En parallèle de ces études cliniques, des études expérimentales ont été publiées pour mieux comprendre les mécanismes physiologiques de la réanimation à cordon intact. Dans un modèle d'agneau porteur de hernie diaphragmatique, Kashyap AJ. mettait en évidence chez 11 agneaux réanimés à cordon intact, une augmentation du débit sanguin pulmonaire 19 fois plus importante que dans le groupe à clampage immédiat (19 ± 6.3 vs $1,0 \pm 0,5$ mL/min/kg, $p < 0,001$) associé à une baisse des RVP 3 fois plus

importante ($0,6 \pm 0,1$ vs $2,2 \pm 0,6$ mmHg/(mL/min), $p < 0,001$). Cet effet persistait au moins jusqu'à deux heures de vie (90).

Dans un modèle d'agneau à terme en arrêt cardiaque au moment de la naissance avec mise en place de compression thoracique externe, Schmolzer G. rapportait une pression artérielle moyenne et une pression diastolique plus élevée dans le groupe réanimation à cordon intact comparé au groupe réanimation à cordon clampé. Les auteurs ne pouvaient pas conclure quant à la signification de ce résultat. Il n'y avait cependant pas de différence quant à la vitesse de reprise d'une fréquence cardiaque spontanée entre les deux groupes (91).

A la lecture de ces différents articles, nous comprenons l'absence de recommandations concernant la réanimation à cordon intact. La littérature scientifique manque d'essais cliniques randomisés de bonne qualité sur le sujet mais également d'études expérimentales qui permettraient 1) de comprendre comment fonctionne la circulation fœto-placentaire lors d'une réanimation à cordon intact, 2) d'essayer de mieux évaluer les potentiels risques et bénéfiques pour nos patients. Ce travail de thèse s'inscrit dans cette problématique.

Partie 5. L'agneau comme modèle expérimental du nouveau-né humain

Les travaux présentés dans cette thèse utilisent l'agneau nouveau-né comme modèle expérimental. Nous présentons dans cette section la particularité de ce modèle et son intérêt pour appréhender la physiologie fœto-placentaire.

a. Particularités du placenta chez le fœtus de brebis

Chez la brebis, le placenta est de type cotylédonaire, contrairement au placenta discoïde des humains. Il se compose de multiples cotylédons qui s'attachent à des

caroncules sur la paroi utérine. Chaque cotylédon est une unité d'échange distincte, et leur nombre peut varier, allant de 80 à 100 chez une brebis mature (11).

La structure des villosités choriales dans le placenta de la brebis est également différente de celle des humains. Les villosités choriales de la brebis sont plus ramifiées et possèdent une surface d'échange plus large. Cette adaptation permet une efficacité accrue des échanges gazeux et des nutriments entre le sang maternel et le sang fœtal (14). La vascularisation placentaire chez la brebis suit un schéma similaire à celui des humains, avec le sang maternel entrant dans les espaces intervilloux via les artères utérines et circulant autour des villosités choriales. Cependant, en raison de la structure cotylédonaire, la distribution du sang peut être plus segmentée par rapport à la distribution plus uniforme observée chez les humains. Le débit sanguin utéroplacentaire chez la brebis est légèrement différent de celui observé chez les humains. Le débit sanguin peut atteindre environ 300 à 500 mL/min à terme, ce qui est adapté aux besoins spécifiques du fœtus de brebis (92). La résistance vasculaire utéroplacentaire est également modulée par des facteurs similaires, notamment l'oxyde nitrique et les prostaglandines. Les pressions partielles en oxygène dans les artères ombilicales et les veines ombilicales sont comparables à celles du fœtus humain avec des valeurs respectives de 22mmHg et de 35mmHg. Le transport de l'oxygène à travers le placenta de la brebis suit des principes similaires à ceux observés chez les humains, avec une diffusion facilitée par la différence de pression partielle en oxygène entre le sang maternel et le sang fœtal. Chez la brebis, la pression partielle en oxygène dans les espaces intervilloux est d'environ 40-50 mmHg (93).

b. L'agneau et l'ULR2694

Pour ces similarités avec le fœtus humain, l'agneau a donc été utilisé dans plusieurs modèles expérimentaux pour mieux appréhender la physiologie fœtale et la transition à la vie extra-utérine. Notre équipe de recherche travaille depuis plus de 20 ans sur ce modèle animal. Que ce soit pour l'étude de l'adaptation à la vie extra-utérine, la réponse du système nerveux autonome durant le travail, l'asphyxie périnatale ou de façon plus générale sur la physiologie de la circulation fœtale, ce sont plus de 40 articles qui ont utilisé l'agneau comme modèle expérimental (94–97).

c. Le modèle expérimental d'hernie diaphragmatique chez l'agneau

Pour ce travail de thèse, nos expérimentations étaient réalisées au Département Hospitalo-Universitaire de Recherche Expérimentale (DHURE) au sein du Pôle Recherche Huriez de la Faculté de Médecine de Lille, agrément D59-35010 délivré le 10 novembre 2015. Les brebis gestantes de race « île de France » provenaient de l'Institut Régional de la Recherche Agronomique. Elles étaient accueillies 7 jours avant la date de l'intervention et étaient gardées dans des box individuels au niveau de l'animalerie du DHURE. Elles avaient un accès illimité à de l'eau et au foin et bénéficiaient de 2 rations de 400 mg de granulés par jour excepté le jour précédant et le jour même de l'intervention. Une surveillance pluriquotidienne du comportement des brebis et de leur santé était réalisée par l'équipe de zootechniciens du DHURE. Le protocole expérimental a été approuvé par le comité d'éthique en expérimentation animale (CEEA) n°75 et par le Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche et de l'Innovation référencé sous le numéro APAFIS#13258-2017121218333678 v6.

Création de la hernie diaphragmatique :

Les brebis gestantes étaient opérées à J78±3 jours de gestation (durée totale de gestation de 142 à 145 jours) correspondant à la phase pseudo-glandulaire du développement pulmonaire chez le fœtus de brebis. La brebis bénéficiait d'une sédation légère par inhalation d'Isoflurane (Aerrane®, Baxter, Maurepas, France) permettant la mise en place d'un cathéter veineux jugulaire externe. Nous réalisons alors un remplissage vasculaire par 500ml de solution Ringer Lactate puis une prémédication de 0,05mg/kg de Xylazine (Sédaxylan®, CEVA Santé Animale, France, sédo-analgésie) et poursuivions la sédation par de l'Isoflurane inhalé (Aerrane®, Baxter, Maurepas, France) 5 % puis 2 % une fois une sédation complète atteinte. La brebis était alors installée en décubitus dorsal sur la table d'opération puis intubée par une sonde d'intubation oro-trachéale n°9 à ballonnet. Une sonde naso-gastrique était installée et mise en aspiration douce durant le bloc opératoire évitant le risque d'inhalation per-opératoire. Une sonde urinaire permettait de drainer les urines évitant un globe urinaire per-opératoire ou le refroidissement de la brebis en cas de miction per-opératoire. Enfin une injection intra-musculaire de Buprénorphine (Bupaq®, Virbac, France, morphinique) était réalisée permettant une analgésie efficace de la brebis et une antibioprophylaxie par Amoxicilline (Clamoxyl® LA, Zoetis, France) intra-veineux était administrée. Une fois la brebis installée, son abdomen était tondu puis lavé. Une échographie préopératoire était réalisée objectivant le nombre de fœtus, leur bonne vitalité et leur position dans l'utérus. Une aseptie à la Chlorhexidine aqueuse était ensuite réalisée et le champ opératoire stérile était installé. Si la grossesse était multiple, une hernie diaphragmatique n'était créée que chez un seul fœtus, le jumeau servant de témoin. L'opération commençait par une laparotomie (incision abdominale) médiane basse d'environ 15 centimètres permettant la mise en évidence de l'utérus.

Une hystérotomie d'environ 7 centimètres était réalisée en fonction des repères échographiques visualisés précédemment. Les membranes amniotiques étaient suturées à la paroi utérine. La patte foetale avant gauche était alors extériorisée en dehors de l'utérus permettant l'accès à l'hémithorax gauche foetal (figure 9)

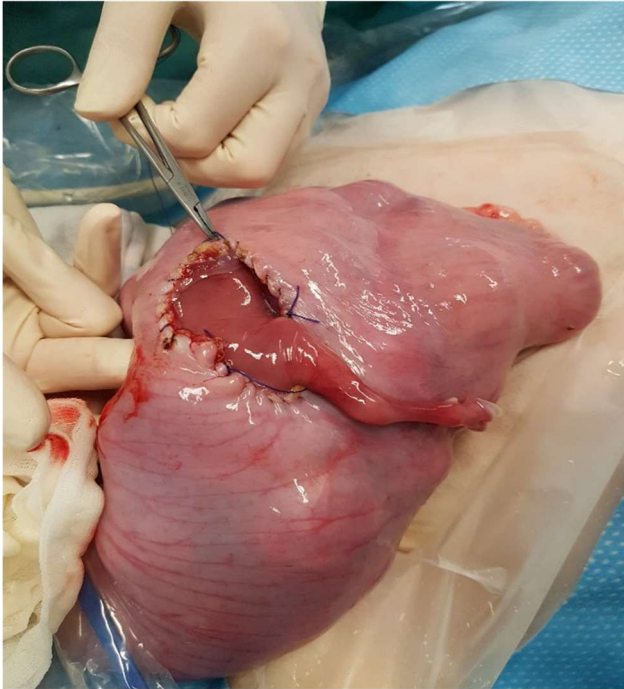


Figure 9 Extériorisation de la patte avant gauche du fœtus d'agneau après hystérotomie et suture des membranes

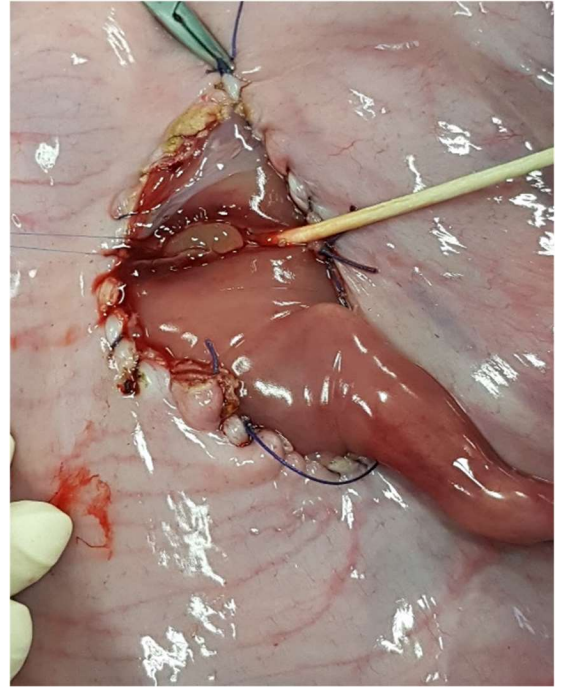


Figure 10 Thoracotomie et phrénotomie. Ascension du contenu digestif dans la cavité thoracique. 1: estomac

Une analgésie foetale était réalisée à l'aide de Buprénorphine (Bupaq®, Virbac, France) intra- musculaire et de chlorhydrate de lidocaïne sous-cutané (Xylocaïne® Astrazeneca, Reuil-malmaison, France). Une thoracotomie (incision thoracique) postéro-latérale gauche était réalisée puis une phrénotomie (incision diaphragmatique) postéro-latérale gauche d'environ 1,5 centimètre était réalisée. Cette incision permettait l'ascension du contenu digestif, en particulier d'une partie du foie et de l'estomac (Figure 10). Enfin, la paroi thoracique foetale était suturée, la patte avant gauche foetale était réinsérée dans l'utérus et le liquide amniotique écoulé au cours de la manipulation était remplacé par du sérum salé isotonique (NaCl 0,09 %) réchauffé avec de l'Amoxicilline à une dilution de 500mg d'Amoxicilline pour 500ml de

sérum salé . L'utérus était suturé en prenant bien soin de refermer correctement les membranes pour éviter toute perte de liquide amniotique puis la paroi abdominale de la brebis était refermée. A son réveil, la brebis était réinstallée dans son box et pouvait se nourrir et s'hydrater. Elle bénéficiait d'une surveillance clinique rapprochée ainsi que d'une analgésie pendant 24 heures. Elle restait dans le box sous surveillance pluriquotidienne des zootechniciens pendant environ 2 mois jusqu'à la date protocolaire pour la réanimation à cordon intact des fœtus.

d. Modèle de réanimation à cordon intact (chez l'agneau porteur de hernie ou l'agneau sain)

La brebis gestante était à nouveau opérée à $J138 \pm 3$ jours de gestation. Cette durée de gestation avait été déterminée a priori compte tenu du délai théorique de gestation totale de 142 à 145 jours, de façon à éviter toute mise à bas inopinée.

Après 12 heures de jeun, la brebis était sédaturée, installée et instrumentée selon le même protocole que lors du bloc opératoire pour la création de la hernie. La brebis bénéficiait d'une injection intra- musculaire de Buprénorphine (Bupaq®, Virbac, France, morphinique). Une échographie préopératoire était réalisée permettant de s'assurer de la bonne vitalité des fœtus, de visualiser la position intra-utérine des fœtus et d'objectiver la hernie diaphragmatique chez le fœtus porteur d'une hernie diaphragmatique. Une asepsie était ensuite réalisée et le champ opératoire stérile installé.

La cicatrice de laparotomie médiane était reprise et permettait de visualiser l'utérus grévide directement en dessous. Une nouvelle échographie réalisée à même la paroi utérine permettait de réaliser des mesures hémodynamiques et de déterminer la voie d'abord pour l'hystérotomie. Après avoir réalisé l'hystérotomie, l'objectif était d'extraire la patte arrière gauche de l'agneau en dehors de l'utérus. Après anesthésie locale de

l'agneau par Ropivacaïne (Saint Priest, France) et analgésie par Buprénorphine (Bupaq®, Virbac, France, morphinique) en intramusculaire, une incision cutanée au niveau du pli inguinal gauche puis une dissection chirurgicale permettait d'aborder les vaisseaux fémoraux. Un cathéter artériel en polychlorure de vinyle (4 Fr, Vygon Ecoen, France) était installé dans l'artère fémorale jusqu'au repère 8cm permettant à son extrémité de s'aboucher en regard de la naissance de l'artère ombilicale commune de l'aorte abdominale. (Figure 11).

Un cathéter veineux fémoral était également introduit dans la veine fémorale jusqu'au repère 20cm permettant à son extrémité de s'aboucher dans la veine cave inférieure terminale se jetant dans l'oreillette droite. Une fois les cathéters posés et sécurisés, l'abord fémoral était refermé.

La suite de l'instrumentation consistait en la mobilisation de l'agneau pour extraire la partie postéro-latérale inférieure gauche de son flanc. Cela nous permettait de réaliser une mini-lombotomie à l'issue de laquelle l'artère ombilicale commune était visualisée par voie rétropéritonéale et une sonde Doppler de débitmétrie taille 6 (Transonic Systems, USA) était positionnée autour de son tronc. L'abord rétropéritonéal était ensuite refermé (figure 12).

Une fois ces deux abords chirurgicaux réalisés, l'agneau était ensuite extrait de l'utérus permettant la visualisation du cordon ombilical. Un cathéter veineux ombilical de 20 Gauge y était installé par voie trans-cordonnale (méthode Seldinger). La perméabilité des cathéters était assurée par l'injection continue de sérum salé isotonique hépariné à 10UI/mL.

L'agneau était ensuite tondu au niveau des pattes avant et arrière droite et des capteurs de saturation transcutanée y étaient installés.

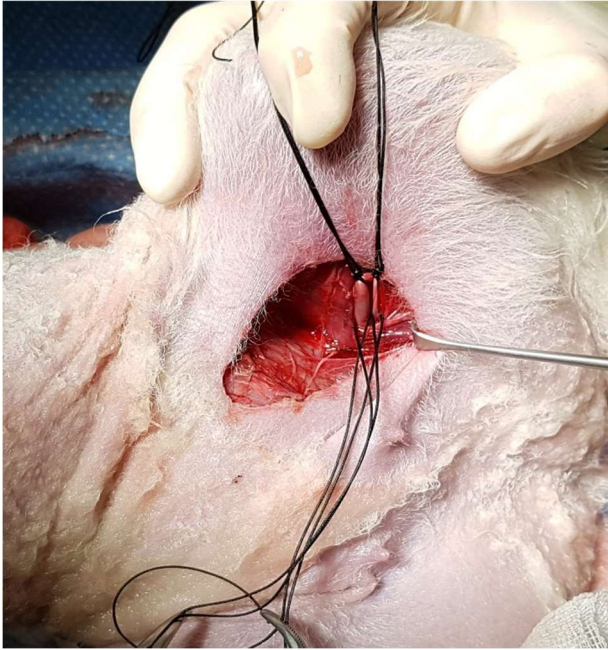


Figure 11 Abord fémoral gauche permettant de visualiser l'artère fémorale gauche (antéro-externe, 1) et la veine fémorale gauche (postéro-interne, 2)



Figure 12 Abord rétro-péritonéal permettant la mise en place du doppler (1) autour de l'artère ombilicale commune, branche de l'aorte abdominale

La réanimation à cordon intact débutait (Figure 13). L'agneau était séché et réchauffé par des langes secs et chauds, l'aide d'une lampe chauffante et d'une couverture de survie. Il était installé sur une table directement placée sur l'abdomen de la brebis. Il était intubé à l'aide d'une sonde d'intubation orotrachéale n°4,5 à ballonnet (Rüschelit®, Teleflex medical, Wayne, PA, USA). Nous commençons alors la ventilation invasive sur la sonde d'intubation. Nous débutons par une insufflation de 30 secondes à une pression de 25 cmH₂O permettant un recrutement alvéolaire. Nous réalisons ensuite une ventilation avec des paramètres définis a priori tels que la pression inspiratoire de 25 cmH₂O, une pression expiratoire positive à 5 cmH₂O, une fréquence respiratoire à 60 mouvements par minutes et une fraction inspirée en oxygène à 1. M0 correspondant au début de ventilation. La ventilation était ajustée tout au long de la réanimation en fonction de la saturation et à l'aide de paramètres issus des gaz du sang instantanés obtenus via appareil IStat®. Après une heure de réanimation à cordon intact, le cordon était clampé et la réanimation se poursuivait

encore pendant une heure en continuant le recueil des données. Si l'agneau montrait des signes de réveil, 1 mg/kg de Propofol (Diprivan®) lui était administré via son cathéter veineux fémoral. A l'issue des 2 heures de réanimation, l'agneau était sacrifié par injection intraveineuse de 0.6 ml/5Kg de T61® (Tanax®, Intervet Beaucouzé, France). Si possible, une IRM post mortem immédiate était réalisée permettant la mesure IRM du volume pulmonaire. En cas de grossesse multiple, le fœtus HCD était réanimé en premier. Après une heure de réanimation et clampage du cordon, son jumeau était à son tour opéré selon la même procédure (cathéters, doppler) puis réanimé une fois le fœtus HCD sacrifié. A la fin de l'expérimentation, la brebis était également sacrifiée par injection intra-veineuse de T61® (Tanax®, Intervet Beaucouzé, France) et les agneaux étaient autopsiés.



Figure 13 Réanimation à cordon intact, l'agneau est intubé et ventilé (1); le cordon ombilical est maintenu(2); les prélèvements sont réalisés sur les cathéters fémoraux (3) et veineux ombilical (4); le doppler artériel ombilical est en place (5)

Objectifs de la thèse et présentation des articles

Partie 1. Objectifs de la thèse

Le but de ce travail était d'étudier la physiologie des échanges gazeux et de l'hémodynamique transplacentaire lors d'une réanimation à cordon intact dans un modèle expérimental d'agneau sain et porteur de hernie diaphragmatique.

Pour cela, plusieurs objectifs ont été dressés par l'équipe de recherche de l'ULR 2694 METRICS en lien avec l'équipe du Centre de Référence de la Hernie Diaphragmatique Congénitale du CHU de Lille :

- Mise en place d'un modèle expérimental d'agneau porteur d'une hernie diaphragmatique,
- Explorer la faisabilité et la durée maximale d'une réanimation à cordon intact dans notre modèle d'agneau porteur d'une hernie diaphragmatique,
- Etudier l'évolution de l'hémodynamique et des échanges gazeux transplacentaires au cours d'une réanimation à cordon intact dans un modèle d'agneau sain et porteur d'une hernie diaphragmatique,
- Présentation de l'essai clinique randomisé multicentrique national portant sur l'impact de la réanimation à cordon intact chez le nouveau-né porteur de Hernie Diaphragmatique à l'initiative du projet de thèse.

Pour répondre à ces objectifs, 4 articles ont été rédigés. Trois ont déjà été publiés, le quatrième est soumis dans *Archive of Disease and Childhood*.

Partie 2. Intact cord resuscitation in newborns with congenital diaphragmatic hernia: insights from a lamb model

Cet article est publié dans Frontier in Pédiatrics en 2023.

Citation: Teillet B, Manceuvrier F, Rougraff C, Besengez C, Bernard L, Wojtanowski A, Ghesquieres L, Storme L, Mur S, Sharma D, Le Duc K. Intact cord resuscitation in newborns with congenital diaphragmatic hernia: insights from a lamb model. Front Pediatr. 2023 Sep 6;11:1236556. doi: 10.3389/fped.2023.1236556. PMID: 37744447; PMCID: PMC10516551.

Cet article décrit le protocole de création du modèle d'agneau porteur de HCD et son adaptation à la vie extra-utérine.

Cette étude est financée en partie par la Fondation Maladie Rare et l'Association APEHDia sous le numéro FONDATION_LAM-RD_201802.



OPEN ACCESS

EDITED BY

Jerome Rambaud,
Armand-Trousseau Hospital, France

REVIEWED BY

Florian Kipfmüller,
University Hospital Bonn, Germany
Jonathan Michael Davis,
Tufts University, United States

*CORRESPONDENCE

Baptiste Teillet
✉ 95baptiste@live.fr;
✉ baptiste.teillet@chu-lille.fr

RECEIVED 07 June 2023

ACCEPTED 08 August 2023

PUBLISHED 06 September 2023

CITATION

Teillet B, Manœuvrier F, Rougraff C,
Besengez C, Bernard L, Wojtanowski A,
Ghesquieres L, Storme L, Mur S, Sharma D and
Le Duc K (2023) Intact cord resuscitation in
newborns with congenital diaphragmatic
hernia: insights from a lamb model.
Front. Pediatr. 11:1236556.
doi: 10.3389/fped.2023.1236556

COPYRIGHT

© 2023 Teillet, Manœuvrier, Rougraff,
Besengez, Bernard, Wojtanowski, Ghesquieres,
Storme, Mur, Sharma and Le Duc. This is an
open-access article distributed under the terms
of the [Creative Commons Attribution License
\(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). The use, distribution or reproduction in
other forums is permitted, provided the original
author(s) and the copyright owner(s) are
credited and that the original publication in this
journal is cited, in accordance with accepted
academic practice. No use, distribution or
reproduction is permitted which does not
comply with these terms.

Intact cord resuscitation in newborns with congenital diaphragmatic hernia: insights from a lamb model

Baptiste Teillet^{1,2*}, Florian Manœuvrier^{2,3}, Céline Rougraff^{2,4},
Capucine Besengez², Laure Bernard^{1,2}, Anne Wojtanowski⁵,
Louise Ghesquieres^{2,6}, Laurent Storme^{1,2,7}, Sébastien Mur^{1,2,7},
Dyuti Sharma^{2,4,7} and Kévin Le Duc^{1,2,7}

¹Department of Neonatology, Pôle Femme-Mère-Nouveau-Né, Hôpital Jeanne de Flandre, Centre Hospitalier Universitaire de Lille, Lille, France, ²ULR2694-METRICS: Évaluation des Technologies de Santé et des Pratiques Médicales, Axe Environnement Périnatal et Santé, Centre Hospitalier Universitaire de Lille, Lille, France, ³Department of Pediatrics, Centre Hospitalier Universitaire d'Amiens, Lille, France, ⁴Department of Pediatric Surgery, Jeanne de Flandre Hospital, Centre Hospitalier Universitaire de Lille, Lille, France, ⁵INSERM CIC-IT 1403, Maison Régionale de la Recherche Clinique, CHRU de Lille, France, ⁶Department of Obstetrics, Jeanne de Flandre Hospital, Centre Hospitalier Universitaire de Lille, Lille, France, ⁷Center for Rare Disease Congenital Diaphragmatic Hernia with the Support of Rare Disease Foundation (Fondation Maladies Rares), Jeanne de Flandre Hospital, Centre Hospitalier Universitaire de Lille, Lille, France

Introduction: Congenital diaphragmatic hernia (CDH) is a rare condition characterized by pulmonary hypoplasia, vascular dystrophy, and pulmonary hypertension at birth. Validation of the lamb model as an accurate representation of human CDH is essential to translating research findings into clinical practice and understanding disease mechanisms. This article emphasizes the importance of validating the lamb model to study CDH pathogenesis and develop innovative therapeutics.

Material and methods: At 78 days of gestation, the fetal lamb's left forelimb was exposed through a midline laparotomy and hysterotomy, and a supra diaphragmatic thoracotomy was performed to allow the digestive organs to ascend into the thoracic cavity. At 138 ± 3 days of gestation, lambs were delivered via a cesarean section; then, with umbilical cord intact during 1 hour, the lambs were mechanically ventilated with gentle ventilation in a pressure-controlled mode for 2 h.

Results: CDH lambs exhibited a lower left lung-to-body weight ratio of 5.3 (2.03), $p < 0.05$, and right lung-to-body weight ratio of 8.2 (3.1), $p < 0.05$. They reached lower Vt/kg (tidal volume per kg) during the course of the resuscitation period with 1.2 (0.7) ml/kg at 10 min and 3 (1.65) ml/kg at 60 min ($p < 0.05$). Compliance of the respiratory system was lower in CDH lambs with 0.5 (0.3) ml/cmH₂O at 60 min ($p < 0.05$) and 0.9 (0.26) ml/cmH₂O at 120 min ($p < 0.05$). Differences between pre- and postductal SpO₂ were higher with 15.1% (21.4%) at 20 min and 6.7% (14.5%) at 80 min ($p < 0.05$). CDH lambs had lower differences between inspired and expired oxygen fractions with 4.55% (6.84%) at 20 min and 6.72% (8.57%) at 60 min ($p < 0.05$). CDH lamb had lower left ventricle [2.73 (0.5) g/kg, $p < 0.05$] and lower right ventricle [0.69 (0.8), $p < 0.05$] to left ventricle ratio.

Discussion: CDH lambs had significantly lower tidal volume than control lambs due to lower compliance of the respiratory system and higher airway resistance. These respiratory changes are characteristic of CDH infants and are associated with higher mortality rates. CDH lambs also exhibited pulmonary hypertension, pulmonary hypoplasia, and left ventricle hypoplasia, consistent with observations

in human newborns. To conclude, our lamb model successfully provides a reliable representation of CDH and can be used to study its pathophysiology and potential interventions.

KEYWORDS

pulmonary hypoplasia, congenital diaphragmatic hernia (CDH), lamb model, pulmonary hypertension, respiratory–mechanics

1. Introduction

Congenital diaphragmatic hernia (CDH), a rare condition that affects one in 3,000 live births, is characterized by a diaphragmatic defect that allows digestive organs to herniate into the thoracic cavity; this results in abnormal lung development, which leads to pulmonary hypoplasia and pulmonary hypertension (PH) (1, 2). On autopsy, a decrease in pre-acinar airway branches is seen in both lungs, and there is a severe reduction in the number of alveoli (3). Despite advances in medical and surgical management, mortality and morbidity rates remain high, at approximately 30% worldwide (4–7). Patients with CDH present with severe respiratory insufficiency and PH at birth, and immediate cord clamping can cause decreased cardiac output and subsequent organ injury (3, 8). Standard neonatal CDH care is based on European consortium guidelines, with immediate intubation before the infant's first breath to avoid digestive distension and optimize ventilation (9). Given the need to improve our understanding of CDH pathogenesis and develop new treatment strategies, animal models play a crucial role in elucidating the underlying mechanisms and allowing us to explore potential interventions.

Lambs, considered the non-primate animal model closest to human physiology, are widely used in studies of congenital diseases and perinatal environments (10–13). Among the animal models used in CDH research, the lamb has emerged as a particularly valuable tool due to its anatomical and physiological similarities to humans (14). Similar to humans, lambs have a muscular diaphragm, allowing examination of diaphragmatic defects and their associated complications. Similar lung development and functions between lambs and humans also make the former an ideal model for studying the respiratory implications of CDH (15). However, despite its widespread use, the need to validate our lamb model to accurately represent human CDH remains paramount. Validating our lamb model is important for several reasons. First, it will ensure that knowledge generated through model studies can be confidently translated into human clinical settings. A robustly validated animal model allows researchers to explore novel therapeutic interventions, assess their safety and efficacy, and optimize treatment strategies for neonatal CDH. Second, validation will facilitate a better understanding of the mechanisms underlying the development of CDH, leading to improved diagnostic and prognostic indicators.

Herein, we tried to emphasize the importance of a clinically relevant lamb model of human CDH because doing so will enhance our understanding of CDH pathogenesis and advance therapeutic approaches, ultimately improving outcomes among

infants born with the disease. As the scientific community continues to explore the intricacies of CDH, validating the lamb model has emerged as a crucial step toward a better future for affected patients and their families.

Thus, our objective herein was to better explain pulmonary physiology during the birth in newborns with CDH and pulmonary hypoplasia and to validate our lamb model of this condition.

2. Materials and methods

2.1. Experimental model

All animal procedures and protocols (experimental research protocol no. 2017121218333678) were approved by the French Ministry of Agriculture (Ministère de l'Agriculture, de la pêche et de l'Alimentation) before the study was carried out in the Department of Experimental Research at Lille University (animal experimentation agreement number D59-35010). Pregnant Ile de France breed ewes were housed in individual pens starting a week before and throughout the procedure.

As previously described by our team, at approximately 78 days of gestation (i.e., during the pseudo-glandular phase of pulmonary development), pregnant ewes were administered general anesthesia induced by xylazine (Sédaxylan, CEVA Santé Animale, Bruxelles, Belgique) and maintained with isoflurane (Aerrane, Baxter, Maurepas, France) while breathing room air and oxygen after intubation. The fetal lamb's left forelimb was exposed through a midline laparotomy and hysterotomy (16–18). The fetal lamb was administered intramuscular buprenorphine (Bupaq, Virbac, France) and subcutaneous lidocaine (Xylocaïne Astrazeneca, Reuil-Malmaison) analgesia, and a supra diaphragmatic thoracotomy was performed to allow the digestive organs to ascend into the thoracic cavity. Afterward, the thoracic cavity was closed, and the amniotic fluid was replaced with physiological serum and amoxicillin before closing the ewe's abdomen. The ewe was kept under surveillance and given analgesia for 24 h after emergence from anesthesia. The ewe remained in the laboratory under daily animal technician supervision for about 2 months until the date for the intact cord fetal resuscitation protocol (19, 20).

2.2. Surgical procedure

At 138 ± 3 days of gestation, aseptic procedures were conducted under general anesthesia induced by xylazine

(Sédaxylan, CEVA Santé Animale) and maintained with isoflurane (Aerrane, Baxter, Maurepas, France) in a mixture of room air and oxygen after intubation. The fetal lamb's left lower limb was exteriorized through a midline laparotomy and hysterotomy of the pregnant ewe. Prior to the insertion of vascular polyvinyl catheters (4FR, Vygon Ecouen, France) into the aorta via femoral dissection, fetal analgesia was performed with nalbuphine (Nalbuphine, 10 mg IM), and fetal local anesthesia was performed with lidocaine (Lidocaine, 50 mg SC). These procedures aimed to measure aortic pressure at the bifurcation of the common umbilical artery of the abdominal aorta. The left femoral vein catheter was inserted 20 cm into the right atrium.

Catheter patency was maintained by a bolus of heparinized saline, 10 UI/ml (Heparin CHOAY, 5,000 UI, Sanofi-Aventis, Paris, France). At the end of the experimental procedure, animals were euthanized using T61 (Tanax, Intervet Beaucozé, France) at 3 ml/10 kg body weight for the ewe and 0.3 ml/kg for the lamb.

2.3. Delivery and ventilation

A heat lamp was positioned above the table to limit heat loss and lamb cooling. The lamb was dried and placed on warm clothes on a table above the ewe's hooves. Special care was taken to protect the cord from drying and to prevent its stretching, kinking, or compression. The sedated pregnant ewe was not administered an oxytocin injection throughout the resuscitation phase to prevent placental delivery. The ewe was sedated with isoflurane, and the neonatal lamb was resuscitated with the cord intact. Thus, the lamb was anesthetized and sedated and did not breathe spontaneously.

As shown in **Figure 1**, after pharyngeal suctioning, the lamb was intubated with a 4.5-mm cuffed endotracheal tube (Rüschelitt, Teleflex medical, Wayne, PA, USA). First, 30 s of sustained inflation at 30 cmH₂O was performed, after which the lamb was mechanically administered gentle ventilation (Infant Star 950, Covidien, Dublin, Ireland) with a monitor (SLE 2100, Malmesbury, Wiltshire, UK) in a pressure-controlled mode [positive end-expiratory pressure: 5 cmH₂O, peak inspiratory pressure (PIP): 24 cmH₂O, FR: 60/min, FiO₂: 1 = 100%] for 2 h. After shaving the right and left frontpaw, preductal and postductal SpO₂ sensors were used to continuously record blood oxygen saturation. Mechanical ventilation was adjusted to the target 40–60 mmHg PCO₂. If PCO₂ was >60 mmHg, inspiratory pressure was increased by 5 cmH₂O. If PCO₂ was >80 mmHg, inspiratory pressure was increased by 5 cmH₂O, and the respiratory rate was increased by 20 breaths per minute, only if the increase of respiratory rate allowed sufficient expiratory time on respiratory flow curves to avoid intrinsic PEEP and achieving appropriate tidal volume (TV). PEEP was not adjusted in our experimental protocol to avoid overdistension, as it has been shown that a lower level of PEEP results in better oxygenation (21). The SpO₂ target was between 92% and 99%. FiO₂ was adjusted every 5 min to achieve the target. We did not use any curare muscle relaxant during our



FIGURE 1

Intact cord resuscitation of a newborn lamb with tracheal intubation (1), umbilical cord (2), femoral catheter (3), umbilical venous catheter (4), and ultrasonic flow probe (5).

experimentation. Rectal temperature was recorded continuously throughout the resuscitation.

2.4. Respiratory assessment

Arterial blood samples were analyzed at 20 min intervals throughout the resuscitation process. Key respiratory parameters, including TV(per kg), airway pressures [positive end-expiratory pressure (PEEP); PIP], and lung compliance and resistance, were recorded at the beginning of ventilation and then every 10 min during the 2-h resuscitation period. Peripheral oxygen saturation levels were also recorded before and after ductus arteriosus. A ventilator (Infant Star 950, Covidien, Dublin, Ireland) with a monitor (SLE 2100) was used to estimate compliance and resistance of the respiratory system through the collection of pressure and airflow data. Herein, compliance (C) is the change in lung volume (ΔV) per unit change in transpulmonary pressure (ΔP) (compliance formula: $C = \Delta V / \Delta P$). Respiratory system resistance (R) was determined as pressure difference across the airways (ΔP) divided by the flow rate (Q) (resistance formula: $R = \Delta P / Q$). Digital filtering techniques were used to calculate variations in the data. The least-square estimation algorithm was then used to estimate lung compliance and resistance in real time.

2.5. Postmortem examination

Confirmation of the presence of a defect in the diaphragm and herniation of visceral organs was made through postmortem

examination. The lungs were weighed, and the results were expressed as a ratio to the body weight (i.e., wet lung-to-body weight ratio). We examined the wet-to-dry lung ratio to estimate the presence of lung edema after the 2-h resuscitation period. The weights of the total heart and left and right ventricles were measured. Both CDH and control lamb hearts were dissected systematically by the same individual. The left and right ventricles were dissected and weighed in a standard manner as previously described (22).

2.6. Statistical analysis

Variables were collected immediately before and after starting mechanical ventilation. All statistical analyses were conducted using SPSS version 24 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA). Continuous variables are reported as mean \pm standard deviation after checking for distribution normality with the Shapiro–Wilk test. The nonparametric Friedman and Wilcoxon distribution-free tests were used to assess the significance of differences in respiratory and hemodynamic measures.

3. Results

3.1. Surgery

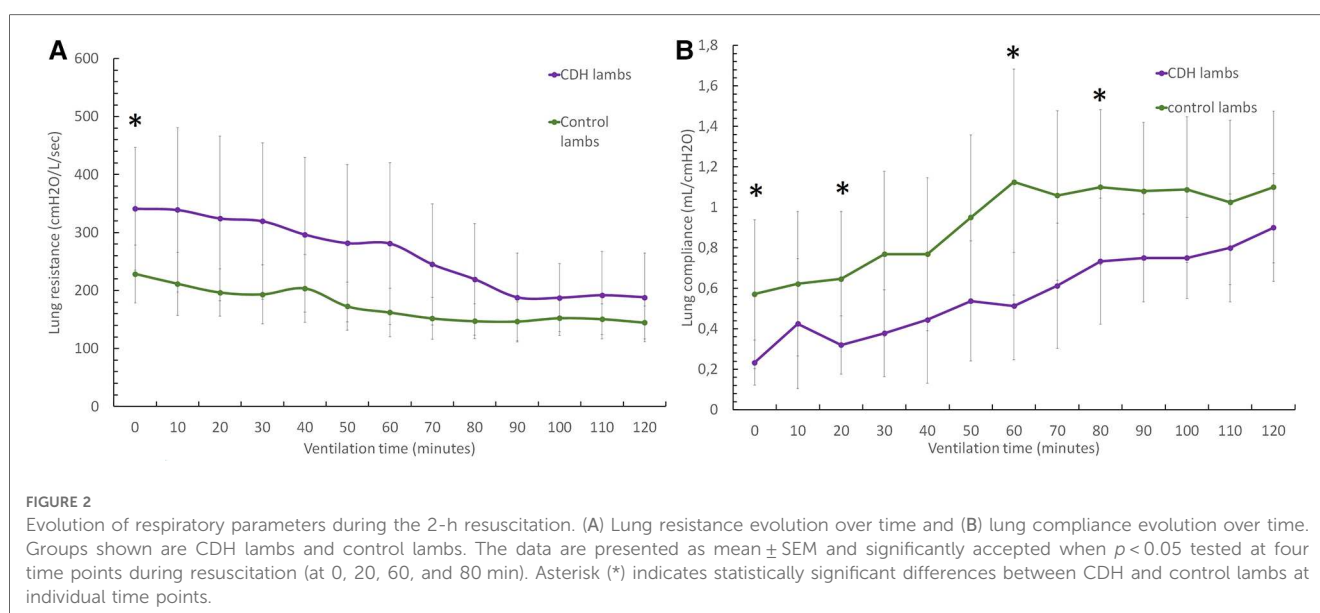
Sixteen pregnant ewes underwent surgery at approximately 78 days of gestation. Intrauterine fetal death before ventilation or preterm delivery occurred in three cases (18%). Among 16 fetuses with surgical creation of CDH, five (31%) had healed CDH and were included in the control lamb group. Five fetuses (31%) did not undergo the entire resuscitation process due to death or the inability to record appropriate data. Therefore, six lambs with CDH (37%) were subjected to a 2-h resuscitation period. Among the 19 control lambs, nine (47%) were subjected to a 2-h resuscitation period.

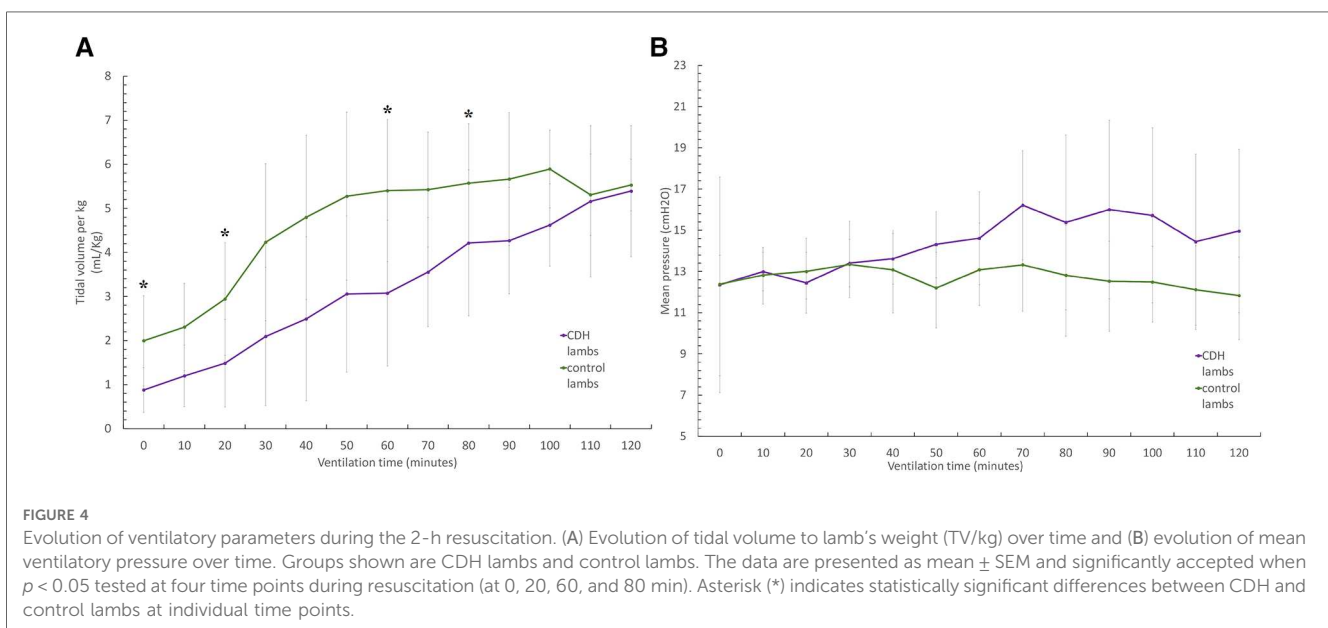
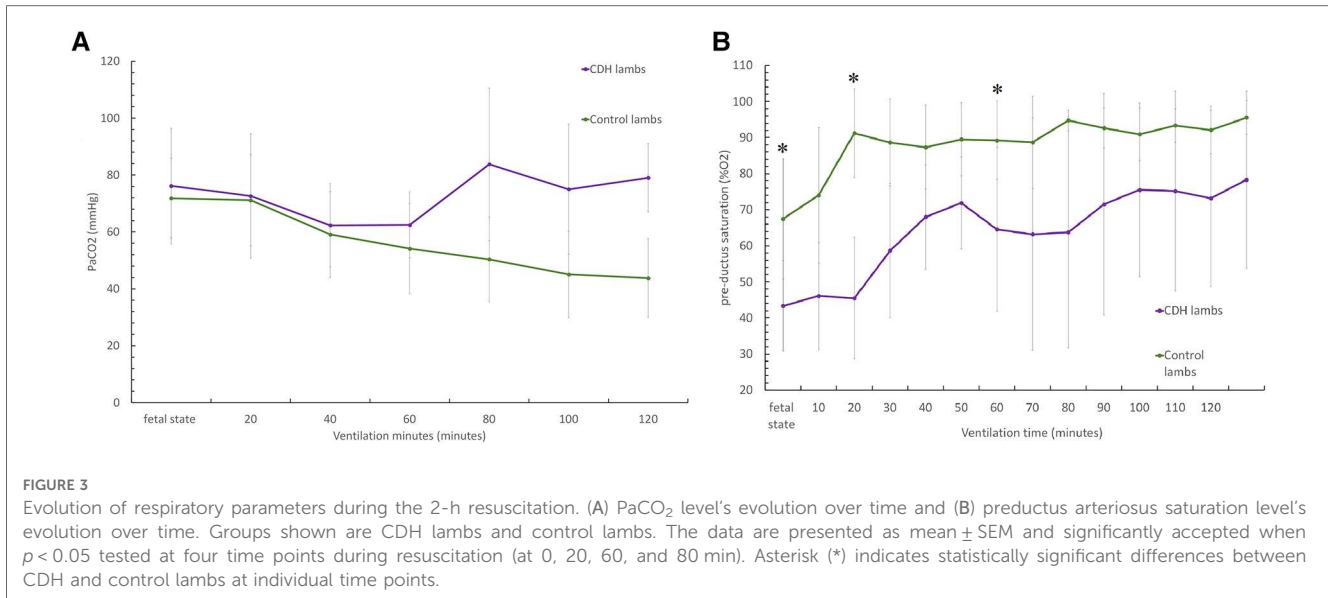
3.2. Respiratory function

The CDH lambs had higher respiratory system resistance during the first minutes of resuscitation [341 (105) vs. 228 (49) cmH₂O/L/s at 50 min ($p < 0.05$)]. As shown in **Figure 2**, lung compliance increased in both groups, although much less so in CDH lambs, and was significantly reduced after 2 h of resuscitation. We observed respiratory system compliance of 0.32 ± 0.14 ml/cmH₂O in CDH lambs and 0.64 ± 0.33 ml/cmH₂O in control lambs at 20 min ($p < 0.05$), 0.51 ± 0.26 vs. 1.12 (0.6) ml/cmH₂O at 60 min ($p < 0.05$), 0.73 ± 0.2 vs. 1.1 ± 0.38 ml/cmH₂O at 80 min ($p = 0.5$), and 0.9 ± 0.26 vs. 1.1 ± 0.375 ml/cmH₂O at 120 min ($p < 0.05$).

CDH lambs also exhibit significantly lower preductal saturation, with $43 \pm 12.5\%$ vs. $67.5 \pm 16.6\%$ at baseline ($p < 0.05$), $58 \pm 18.6\%$ vs. $88.6 \pm 12\%$ at 20 min, and $63.2 \pm 32\%$ vs. $88.7 \pm 12.8\%$ at 60 min (**Figure 3**). As shown in **Figure 4**, CDH lambs reached significantly lower Vt/kg throughout resuscitation, with 0.87 ± 0.5 vs. 2 ± 1.02 ml/kg at baseline, 1.4 ± 0.9 vs. 2.9 ± 1.2 ml/kg at 20 min, and 3.1 ± 1.8 vs. 5.4 ± 1.6 ml/kg at 60 min (all p 's < 0.05). As can be seen in **Figure 5**, there were no significant differences in the respiratory rate during our experiment. Unlike control lambs, there was no significant improvement in TV before 30 min of resuscitation in CDH lambs. At the end of the 2 h of ventilation, CDH lambs reached a similar Vt/kg at the price of greater mean ventilation pressure (14.9 ± 3.9 vs. 11.89 ± 1.9 cmH₂O; $p < 0.05$). CDH lambs showed a lower pH level at the end of resuscitation [7.12 (0.1) vs. 7.28 (0.15); $p < 0.05$].

As shown in **Figure 6**, CDH lambs exhibited a higher saturation differential at 20 ($15.1 \pm 21.4\%$ vs. $3.78 \pm 6.48\%$), 60 ($11.07 \pm 15.1\%$ vs. $3.94 \pm 7.68\%$), and 80 min of resuscitation ($6.7 \pm 14.5\%$ vs. $1.2 \pm 2.05\%$) (all, p 's < 0.05). CDH lambs exhibited significantly less difference between inspiratory and expiratory oxygen fractions, $1.1 \pm 4.2\%$ vs. $5.97 \pm 21.8\%$ at 5 min; $4.55 \pm 6.84\%$ vs. $12.58 \pm 9.76\%$ at 20 min, and $6.72 \pm 8.57\%$ vs. $11.6 \pm 8.98\%$ at 60 min (all p 's < 0.05).





3.3. Postmortem examination

Fifteen lambs were confirmed to have a diaphragmatic defect that included the stomach, small intestine, and, in some cases, the liver and spleen. It is crucial to emphasize that our analysis only included animals with clearly documented herniation in the left chest during an autopsy.

Compared with the control lambs, CDH lambs exhibited a significant reduction in the left wet lung-to-body weight ratio (5.3 ± 2.03 vs. 13.7 ± 2 g/kg; $p < 0.05$) and right wet lung-to-body weight ratio (8.2 ± 3.1 vs. 19.8 ± 3.1 g/kg; $p < 0.05$) (Table 1). In addition, as shown in Figure 7, the weight of the left heart of CDH lambs, based on lamb's weight, was significantly reduced (2.5 ± 0.5 vs. 3.5 ± 0.3 g/kg; $p < 0.05$) as was the right ventricle to left ventricle mass ratio (0.69 ± 0.8 vs. 0.52 ± 0.06 g/kg; $p < 0.05$).

4. Discussion

In this study, we successfully validated our lamb CDH model for studying neonatal adaptation to extrauterine life. CDH lambs exhibited significant differences in TV during most of the resuscitation period due to lower lung compliance and higher airway resistance, which reached the levels of control lambs at the end of resuscitation. This is consistent with previous observations that functional residual capacity and Vt recruitment are significantly slower in CDH lungs and that gas exchange improved more slowly in CDH lambs (23, 24). This lower respiratory system compliance, which is typical of infants with CDH, is associated with higher morbidity and mortality (25). To prevent any potential bias in our study, we intentionally avoided using a curare muscle relaxant during the experimentation. This

decision was based on previous research indicating that curare administration can lead to compliance changes and increased mortality in infants with CDH (26, 27).

Lung changes in CDH include decreased terminal branching of the bronchioles, leading to acinar hypoplasia with fewer alveoli, reduced gas exchange area, and increased interstitial tissue (28, 29). We can hypothesize that alveolar recruitment would eventually have matched ventilation and perfusion after prolonged ventilation.

In addition, our animal model exhibits significant loss, and there are two potential explanations for this. First, the severity of the lung hypoplasia in some CDH lambs resulted in maladaptation to extrauterine life and severe hypoxia. Second, this model has inherent mortality, with a reported perioperative mortality rate between 30% and 50% in the literature (15). Third, placements of catheters through the umbilical cord and ultrasound probe around the umbilical artery have been

associated with death or failure to obtain accurate data throughout the experiment. Nevertheless, these findings are consistent with previous reports regarding the difficulty of this model and mimic the severity of the disease (15, 30).

TABLE 1 Necropsy's examination record (values represent medians and interquartiles).

	Control lambs (n = 9)	CDH lambs (n = 6)	p (< 0.05)
Left ventricle to lamb's weight (g/kg)	3.5 (0.3)	2.57 (0.5)	0.04
Right ventricle to lamb's weight (g/kg)	1.85 (0.2)	1.76 (0.4)	0.53
Heart mass to lamb's weight (g/kg)	12.1 (9.7)	6.4 (1.05)	0.53
Left lung mass to lamb's weight (g/kg)	13.7 (2)	5.3 (2.03)	0.003
Right lung mass to lamb's weight (g/kg)	19.8 (3.1)	8.2 (3.1)	0.005

Bold values indicate significant data, p < 0.05.

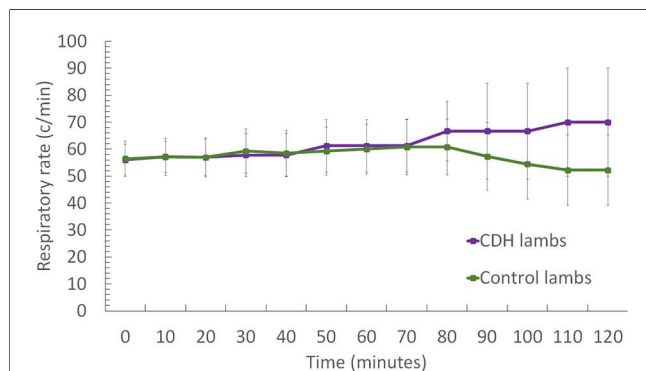


FIGURE 5 Evolution of respiratory rate during the 2-h resuscitation. Groups shown are CDH lambs and control lambs. The data are presented as median ± SEM and significance accepted when p < 0.05 tested at four time points during resuscitation (0, 20, 60, and 80 min). Asterisk (*) indicated significant differences between CDH and control lambs at individual time points.

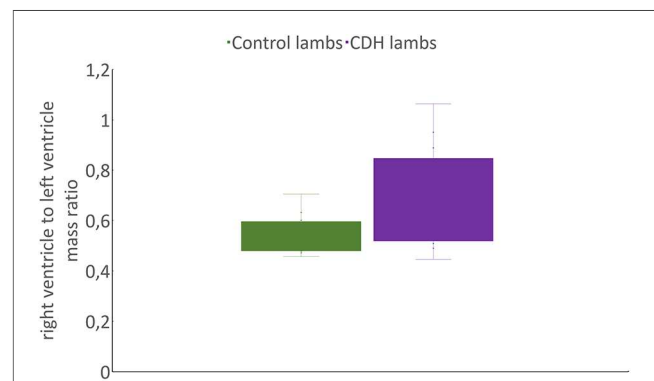


FIGURE 7 Comparison of RV/LV mass based on lamb's weight ratio between CDH and control lambs. RV, right ventricle; LV, left ventricle.

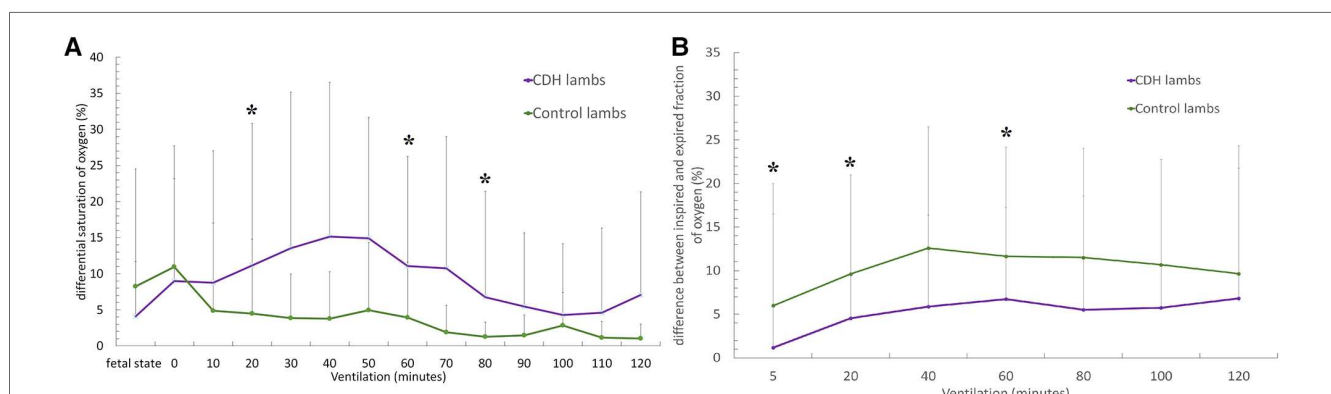


FIGURE 6 (A) Evolution of the difference between productus and postductus arteriosus oxygen saturation levels during the two hours resuscitation. (B) Evolution of the difference between inspired and expired fractions of oxygen. Groups shown are CDH lambs and control lambs. The data are presented as mean ± SEM and significantly accepted when p < 0.05 tested at four time points during resuscitation (at 0, 20, 60, and 80 min). Asterisk (*) indicates statistically significant differences between CDH and control lambs at individual time points.

Arterial blood gas status during the transition to extrauterine life is a crucial prognostic factor of long-term survival. Herein, we observed that CDH lambs required high levels of oxygen (FiO_2) and carbon dioxide (PaCO_2). CDH lambs also demonstrated higher levels of differential oxygen saturation, suggesting higher pulmonary vascular resistance (PVR) and a greater right-to-left shunt through the ductus arteriosus. This differential was initially lower in CDH lambs because of lower preductus arteriosus oxygen saturation during the initial minutes of resuscitation. The disparity in the fraction of oxygen extracted from the lungs of CDH and control lambs cannot be entirely attributed to the reduced oxygen consumption of the former. This suggests reduced perfusion of the pulmonary vessels caused by high PVR, which is essential for efficient gas exchange. We also observed lower pH in lambs with CDH, which is known to increase PVR and worsen adaptation to extrauterine life (31–33). In CDH, a reduced pulmonary vascular cross-sectional area combined with extensive hypermuscularization and neomuscularization of distal pulmonary vessels leads to higher resistance within peripheral pulmonary vessels, resulting in persistent PH (PPHN) of the newborn (8, 22, 34). In addition, altered vasoreactivity may contribute to a reversible component of PPHN due to an imbalance of autonomic innervation, impairment of endothelium-dependent relaxation, and an imbalance between vasoconstrictor and vasodilator mediators (35–37).

Herein, we successfully modeled the pulmonary hypoplasia observed in newborns with CDH (38). This model included both the right and left lungs, providing a comprehensive representation of the disease. We also discovered notable left ventricular hypoplasia evidenced by a significantly lower ratio of right to left ventricle mass in relation to the lamb weight. This finding aligns with previous reports of left ventricular hypoplasia and cardiac dysfunction in human newborns with CDH (39, 40). Moreover, our investigation revealed no differences in the lung wet/dry ratios following the 2-h resuscitation. This underscores the advantages of our gentle ventilation strategy, which is consistent with human neonatal care (9). These results emphasize the translational relevance of our lamb model, which accurately recapitulates key aspects of CDH pathophysiology and demonstrates the potential benefits of our approach to respiratory support (39).

This animal model indeed already exists in the literature; however, it remains necessary to validate our model of diaphragmatic hernia. Moreover, to our knowledge, this is the first study to investigate the pulmonary function of newborns with a diaphragmatic hernia in the context of intact cord resuscitation. The lamb model has been used extensively to study congenital diseases such as CDH. Our results are consistent with several studies showing that lamb models exhibit the main features of the CDH. Kashyap et al. showed that lambs with CDH have small, noncompliant lungs, poor cerebral oxygenation, and respiratory acidosis, reproducing the clinical features of infants with CDH (41). DeKoninck et al. then showed that tracheal occlusion (i.e., the fetoscopic endoluminal tracheal occlusion or FETO procedure) increases lung size and

pulmonary blood flow (23). Similarly, Bhatt et al. showed that delaying cord clamping after the beginning of ventilation improves cardiovascular function at birth in preterm lambs (42). These studies have led randomized clinical FETO trials to treat severe CDH in the human fetus (43), highlighting the importance of validating lamb models in the laboratory, using high-quality empirical tests, for facilitating innovative management of patients with CDH.

In our laboratory, animal experiments have led to the implementation of human clinical trials, including the study of the Efficacy of Intact Cord Resuscitation Compared to Immediate Cord Clamping on Cardiorespiratory Adaptation at Birth in Infants with Isolated Congenital Diaphragmatic Hernia (CHIC) (19, 20). However, these experiences have raised numerous questions regarding this resuscitation technique, underscoring the need to refine and validate our model to address them.

Our study has some limitations. Some of our lambs exhibited spontaneous healing during gestation, with no evidence of diaphragmatic hernia found during necropsy as shown in other studies (44). This healing process can be attributed to various factors. First, the fetus has a remarkable healing capacity due to the presence of high concentrations of growth factors, including TGF-beta and interleukin-10. Studies by Longaker et al. have demonstrated that lambs can heal diaphragmatic wounds during gestation (45, 46). Second, it is possible that during the closure of the thoracic wall and the reintegration of the fetus into the womb, there is an application of thoracic pressure, which helps reduce the occurrence of diaphragmatic hernia. Furthermore, the liver was not always elevated in the thoracic area to prevent perioperative deaths due to liver injury or the creation of an extremely severe hernia. Finally, it may be beneficial to remove a portion of the diaphragm rather than just a section to ensure a more accurate and appropriate model.

In conclusion, by validating our lamb model as an effective tool for studying CDH, we contribute to the growing evidence supporting its use in research and therapeutic development. Furthermore, our findings suggest that the lamb model may serve as a valuable resource for investigating the underlying mechanisms of CDH and evaluating potential interventions to improve clinical outcomes in affected infants. Based on these findings, our group will use this model to study the relevance of intact cord resuscitation and its optimal setting to further improve neonatal CDH outcomes.

Data availability statement

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

Ethics statement

The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the French Ministry of Agriculture (Ministère de l'Agriculture, de la Pêche et de

l'Alimentation; animal experimentation agreement number D5935010). The study was conducted in accordance with local legislation and institutional requirements.

Author contributions

Conceptualization: KLD, LS, DS, LG, FM, CR, and BT. Methodology: KLD, LS, DS, LG, FM, CR, and BT. Database collection and organization: CB, BT, FM, CR, and LB. Validation: KLD, LS, and DS. Statistical analysis: WA. Writing—original draft preparation: BT. Writing—review and editing: KLD, LS, BT, and DS. Review and editing: KLD, LS, BT, and DS. Supervision: KLD. Project administration and funding acquisition: KLD and DS. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

Funding

This research was funded by the Rare Disease Foundation (Fondation Maladies Rares) (grant number FONDATION_LAM-RD_201802).

References

- Lally KP. Congenital diaphragmatic hernia. *Curr Opin Pediatr.* (2002) 14 (4):486–90. doi: 10.1097/00008480-200208000-00022
- Greer JJ. Current concepts on the pathogenesis and etiology of congenital diaphragmatic hernia. *Respir Physiol Neurobiol.* (2013) 189(2):232–40. doi: 10.1016/j.resp.2013.04.015
- Keller RL. Antenatal and postnatal lung and vascular anatomic and functional studies in congenital diaphragmatic hernia: implications for clinical management. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* (2007) 145C(2):184–200. doi: 10.1002/ajmg.c.30130
- Flemmer AW, Thio M, Wallace MJ, Lee K, Kitchen MJ, Kerr L, et al. Lung hypoplasia in newborn rabbits with a diaphragmatic hernia affects pulmonary ventilation but not perfusion. *Pediatr Res.* (2017) 82(3):536–43. doi: 10.1038/pr.2017.91
- Jani J, Nicolaides KH, Keller RL, Benachi A, Peralta CFA, Favre R, et al. Observed to expected lung area to head circumference ratio in the prediction of survival in fetuses with isolated diaphragmatic hernia. *Ultrasound Obstet Gynecol.* (2007) 30 (1):67–71. doi: 10.1002/uog.4052
- Cannie M, Jani JC, De Keyzer F, Devlieger R, Van Schoubroeck D, Witters I, et al. Fetal body volume: use at MR imaging to quantify relative lung volume in fetuses suspected of having pulmonary hypoplasia. *Radiology.* (2006) 241(3):847–53. doi: 10.1148/radiol.2413051228
- Cannie M, Jani J, Meerschaert J, Allegaert K, Done' E, Marchal G, et al. Prenatal prediction of survival in isolated diaphragmatic hernia using observed to expected total fetal lung volume determined by magnetic resonance imaging based on either gestational age or fetal body volume. *Ultrasound Obstet Gynecol.* (2008) 32 (5):633–9. doi: 10.1002/uog.6139
- Gupta VS, Harting MT. Congenital diaphragmatic hernia-associated pulmonary hypertension. *Semin Perinatol.* (2020) 44(1):151167. doi: 10.1053/j.semperi.2019.07.006
- Snoek KG, Reiss IKM, Greenough A, Capolupo I, Urlesberger B, Wessel L, et al. Standardized postnatal management of infants with congenital diaphragmatic hernia in Europe: the CDH EURO consortium consensus—2015 update. *Neonatology.* (2016) 110(1):66–74. doi: 10.1159/000442210
- Lewis NA, Holm BA, Swartz D, Sokolowski J, Rossman J, Glick PL. Antenatal vitamin A decreases ventilation-induced lung injury in the lamb model of congenital diaphragmatic hernia. *Asian J Surg.* (2006) 29(3):193–7. doi: 10.1016/S1015-9584(09)60086-5
- Jelin EB, Etemadi M, Encinas J, Schecter SC, Chapin C, Wu J, et al. Dynamic tracheal occlusion improves lung morphometrics and function in the fetal lamb model of congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg.* (2011) 46(6):1150–7. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2011.03.049

Acknowledgments

The authors thank Thomas Hubert, Arnold Dive, Michel Pottier, Martin Fourdrinier, and Frank Stevdrart, animal caregivers of the DHURE Lille North of France, for their veterinary care and assistance for sheep anesthesiology and surgery.

Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's note

All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

- Larson AC, Didier R, Daszewska-Smith G, Chang J, Sridharan A, Agarwal D, et al. The fetal lamb model of congenital diaphragmatic hernia shows altered cerebral perfusion using contrast enhanced ultrasound. *J Pediatr Surg.* (2022) 57 (6):991–8. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2022.02.006
- Garabedian C, Aubry E, Sharma D, Bleu G, Clermont-Hama Y, Ghesquière L, et al. Exploring fetal response to acidosis in ewes: choosing an adequate experimental model. *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* (2018) 47(8):397–403. doi: 10.1016/j.jogoh.2018.04.007
- Hooper SB, Te Pas AB, Polglase GR, Wyckoff M. Animal models in neonatal resuscitation research: what can they teach US? *Semin Fetal Neonatal Med.* (2018) 23(5):300–5. doi: 10.1016/j.siny.2018.07.002
- Wilcox DT, Irish MS, Holm BA, Glick PL. Animal models in congenital diaphragmatic hernia. *Clin Perinatol.* (1996) 23(4):813–22. doi: 10.1016/S0095-5108 (18)30211-2
- Sharma D, Aubry E, Ouk T, Houeijeh A, Houfflin-Debarge V, Besson R, et al. Effects of eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) on fetal pulmonary circulation: an experimental study in fetal lambs. *Nutrients.* (2017) 9(7): E761. doi: 10.3390/nu9070761
- Houeijeh A, Aubry E, Coridon H, Moutagne K, Sfeir R, Deruelle P, et al. Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids in the fetal pulmonary circulation. *Crit Care Med.* (2011) 39(6):1431–8. doi: 10.1097/CCM.0b013e31821204fb
- Aubry E, Fayoux P, Jani J, Deprest J, Deruelle P, Houfflin-Debarge V, et al. Tracheal occlusion alters pulmonary circulation in the fetal lamb with normally developing lungs. *J Pediatr Surg.* (2013) 48(3):481–7. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2012.08.024
- Le Duc K, Mur S, Rakza T, Boukhris MR, Rousset C, Vaast P, et al. Efficacy of intact cord resuscitation compared to immediate cord clamping on cardiorespiratory adaptation at birth in infants with isolated congenital diaphragmatic hernia (CHIC). *Child Basel Switz.* (2021) 8(5):339. doi: 10.3390/children8050339
- Le Duc K, Aubry E, Mur S, Besengez C, Garabedian C, De Jonckheere J, et al. Changes in umbilico-placental circulation during prolonged intact cord resuscitation in a lamb model. *Child Basel Switz.* (2021) 8(5):337. doi: 10.3390/children8050337
- Guevorkian D, Mur S, Cavatorta E, Pognon L, Rakza T, Storme L. Lower distending pressure improves respiratory mechanics in congenital diaphragmatic hernia complicated by persistent pulmonary hypertension. *J Pediatr.* (2018) 200:38–43. doi: 10.1016/j.jpeds.2018.04.027
- Karamanoukian HL, Glick PL, Wilcox DT, O'Toole SJ, Rossman JE, Azizkhan RG. Pathophysiology of congenital diaphragmatic hernia. XI: anatomic and biochemical characterization of the heart in the fetal lamb CDH model. *J Pediatr Surg.* (1995) 30(7):925–8; discussion 929. doi: 10.1016/0022-3468(95)90314-3

23. DeKoninck PLJ, Crossley KJ, Kashyap AJ, Skinner SM, Thio M, Rodgers KA, et al. Effects of tracheal occlusion on the neonatal cardiopulmonary transition in an ovine model of diaphragmatic hernia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* (2019) 104(6):F609–16. doi: 10.1136/archdischild-2018-316047
24. Bratu I, Flageole H, Laberge JM, Kovacs L, Faucher D, Piedboeuf B. Lung function in lambs with diaphragmatic hernia after reversible fetal tracheal occlusion. *J Pediatr Surg.* (2004) 39(10):1524–31. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2004.06.024
25. Kavvadia V, Greenough A, Laubscher B, Dimitriou G, Davenport M, Nicolaides KH. Perioperative assessment of respiratory compliance and lung volume in infants with congenital diaphragmatic hernia: prediction of outcome. *J Pediatr Surg.* (1997) 32(12):1665–9. doi: 10.1016/S0022-3468(97)90502-9
26. Murthy V, D'Costa W, Nicolaides K, Davenport M, Fox G, Milner AD, et al. Neuromuscular blockade and lung function during resuscitation of infants with congenital diaphragmatic hernia. *Neonatology.* (2012) 103(2):112–7. doi: 10.1159/000342332
27. Weems MF, Grover TR, Seabrook R, DiGeronimo R, Gien J, Keene S, et al. Analgesia, sedation, and neuromuscular blockade in infants with congenital diaphragmatic hernia. *Am J Perinatol.* (2023) 40(4):415–23. doi: 10.1055/s-0041-1729877
28. George DK, Cooney TP, Chiu BK, Thurlbeck WM. Hypoplasia and immaturity of the terminal lung unit (acinus) in congenital diaphragmatic hernia. *Am Rev Respir Dis.* (1987) 136(4):947–50. doi: 10.1164/ajrccm/136.4.947
29. Pierro M, Thébaud B. Understanding and treating pulmonary hypertension in congenital diaphragmatic hernia. *Semin Fetal Neonatal Med.* (2014) 19(6):357–63. doi: 10.1016/j.siny.2014.09.008
30. Jiménez JA, Eixarch E, DeKoninck P, Bennini JR, Devlieger R, Peralta CF, et al. Balloon removal after fetoscopic endoluminal tracheal occlusion for congenital diaphragmatic hernia. *Am J Obstet Gynecol.* (2017) 217(1):78.e1–11. doi: 10.1016/j.ajog.2017.02.041
31. Fuloria M, Aschner JL. Persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Semin Fetal Neonatal Med.* (2017) 22(4):220–6. doi: 10.1016/j.siny.2017.03.004
32. Walsh-Sukys MC, Tyson JE, Wright LL, Bauer CR, Korones SB, Stevenson DK, et al. Persistent pulmonary hypertension of the newborn in the era before nitric oxide: practice variation and outcomes. *Pediatrics.* (2000) 105(1 Pt 1):14–20. doi: 10.1542/peds.105.1.14
33. Malik AB, Mewmark JM. Adrenergic mechanisms and the pulmonary vascular response to respiratory acidosis. *Respir Int Rev Thorac Dis.* (1976) 33(3):179–87. doi: 10.1159/000193732
34. O'Toole SJ, Irish MS, Holm BA, Glick PL. Pulmonary vascular abnormalities in congenital diaphragmatic hernia. *Clin Perinatol.* (1996) 23(4):781–94. doi: 10.1016/S0095-5108(18)30209-4
35. Lath NR, Galambos C, Rocha AB, Malek M, Gittes GK, Potoka DA. Defective pulmonary innervation and autonomic imbalance in congenital diaphragmatic hernia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* (2012) 302(4):L390–398. doi: 10.1152/ajplung.00275.2011
36. Schmidt AF, Rojas-Moscoso JA, Gonçalves FLL, Gallindo RM, Mónica FZ, Antunes E, et al. Increased contractility and impaired relaxation of the left pulmonary artery in a rabbit model of congenital diaphragmatic hernia. *Pediatr Surg Int.* (2013) 29(5):489–94. doi: 10.1007/s00383-012-3238-8
37. Shinkai T, Shima H, Solari V, Puri P. Expression of vasoactive mediators during mechanical ventilation in nitrofen-induced diaphragmatic hernia in rats. *Pediatr Surg Int.* (2005) 21(3):143–7. doi: 10.1007/s00383-004-1310-8
38. Chinoy MR. Pulmonary hypoplasia and congenital diaphragmatic hernia: advances in the pathogenetics and regulation of lung development. *J Surg Res.* (2002) 106(1):209–23. doi: 10.1006/jsre.2002.6390
39. Patel N, Massolo AC, Kipfmüller F. Congenital diaphragmatic hernia-associated cardiac dysfunction. *Semin Perinatol.* (2020) 44(1):151168. doi: 10.1053/j.semperi.2019.07.007
40. Siebert JR, Haas JE, Beckwith JB. Left ventricular hypoplasia in congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg.* (1984) 19(5):567–71. doi: 10.1016/S0022-3468(84)80105-0
41. Kashyap AJ, Crossley KJ, DeKoninck PLJ, Rodgers KA, Thio M, Skinner SM, et al. Neonatal cardiopulmonary transition in an ovine model of congenital diaphragmatic hernia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* (2019) 104(6):F617–23. doi: 10.1136/archdischild-2018-316045
42. Bhatt S, Alison BJ, Wallace EM, Crossley KJ, Gill AW, Kluckow M, et al. Delaying cord clamping until ventilation onset improves cardiovascular function at birth in preterm lambs. *J Physiol.* (2013) 591(8):2113–26. doi: 10.1113/jphysiol.2012.250084
43. Deprest JA, Nicolaides KH, Benachi A, Gratacos E, Ryan G, Persico N, et al. Randomized trial of fetal surgery for severe left diaphragmatic hernia. *N Engl J Med.* (2021) 385(2):107–18. doi: 10.1056/NEJMoa2027030
44. Basurto D, Sananès N, Bleeser T, Valenzuela I, De Leon N, Joyeux L, et al. Safety and efficacy of smart tracheal occlusion device in diaphragmatic hernia lamb model. *Ultrasound Obstet Gynecol.* (2021) 57(1):105–12. doi: 10.1002/uog.23135
45. Longaker MT, Whitby DJ, Jennings RW, Duncan BW, Ferguson MW, Harrison MR, et al. Fetal diaphragmatic wounds heal with scar formation. *J Surg Res.* (1991) 50(4):375–85. doi: 10.1016/0022-4804(91)90206-2
46. Larson BJ, Longaker MT, Lorenz HP. Scarless fetal wound healing: a basic science review. *Plast Reconstr Surg.* (2010) 126(4):1172–80. doi: 10.1097/PRS.0b013e3181eae781

Partie 3. Changes in Umbilico–Placental Circulation during Prolonged Intact Cord Resuscitation in a Lamb Model

Cet article est publié dans Children (Basel) en 2021

Citation: Le Duc K, Aubry E, Mur S, Besengez C, Garabedian C, De Jonckheere J, Storme L, Sharma D. Changes in Umbilico-Placental Circulation during Prolonged Intact Cord Resuscitation in a Lamb Model. Children (Basel). 2021 Apr 26;8(5):337. doi: 10.3390/children8050337. PMID: 33925880; PMCID: PMC8145708.

Cet article étudie l'évolution des pressions, des débits et des résistances à travers le placenta durant une réanimation à cordon intact chez l'agneau.

Cette étude est financée en partie par la Fondation Maladie Rare et l'Association APEHDia sous le numéro FONDATION_LAM-RD_201802.

Article

Changes in Umbilico–Placental Circulation during Prolonged Intact Cord Resuscitation in a Lamb Model

Kévin Le Duc ^{1,2,*}, Estelle Aubry ³, Sébastien Mur ², Capucine Besengez ¹, Charles Garabedian ^{1,4}, Julien De Jonckheere ^{1,5}, Laurent Storme ^{1,2} and Dyuti Sharma ^{1,3}

- ¹ Univ. Lille, ULR2694 Metrics—Perinatal Environment and Health, F-59000 Lille, France; capucine.besengez@univ-lille.fr (C.B.); Charles.garabedian@chru-lille.fr (C.G.); julien.dejonckheere@chru-lille.fr (J.D.J.); laurent.storme@chru-lille.fr (L.S.); dyuti.sharma@chru-lille.fr (D.S.)
- ² CHU Lille, Department of Neonatology, Jeanne de Flandre Hospital, F-59000 Lille, France; sebastien.mur@chru-lille.fr
- ³ CHU Lille, Department of Pediatric Surgery, Jeanne de Flandre Hospital, F-59000 Lille, France; estelle.aubry@chru-lille.fr
- ⁴ CHU Lille, Department of Obstetrics, Jeanne de Flandre Hospital, F-59000 Lille, France
- ⁵ INSERM CIC-IT 1403, CHU Lille, 59000 Lille, France
- * Correspondence: kevin.leduc@chru-lille.fr; Tel.: +33-320-446-199

Abstract: Some previous studies reported a benefit to cardiopulmonary transition at birth when starting resuscitation maneuvers while the cord was still intact for a short period of time. However, the best timing for umbilical cord clamping in this condition is unknown. The aim of this study was to explore the duration of effective umbilico–placental circulation able to promote cardiorespiratory adaptation at birth during intact cord resuscitation. Umbilico–placental blood flow and vascular resistances were measured in an experimental neonatal lamb model. After a C-section delivery, the lambs were resuscitated ventilated for 1 h while the cord was intact. The maximum and mean umbilico–placental blood flow were respectively 230 ± 75 and 160 ± 12 mL·min⁻¹ during the 1 h course of the experiment. However, umbilico–placental blood flow decreased and vascular resistance increased significantly 40 min after birth ($p < 0.05$). These results suggest that significant cardiorespiratory support can be provided by sustained placental circulation for at least 1 h during intact cord resuscitation.

Keywords: delayed cord clamping; intact cord resuscitation; umbilico–placental circulation



check for updates

Citation: Le Duc, K.; Aubry, E.; Mur, S.; Besengez, C.; Garabedian, C.; De Jonckheere, J.; Storme, L.; Sharma, D. Changes in Umbilico–Placental Circulation during Prolonged Intact Cord Resuscitation in a Lamb Model. *Children* **2021**, *8*, 337. <https://doi.org/10.3390/children8050337>

Academic Editor: Simone Pratesi

Received: 31 March 2021

Accepted: 24 April 2021

Published: 26 April 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Immediate umbilical cord clamping (ICC) affects cardiopulmonary transition at birth. ICC results in an increase in peripheral systemic vascular resistance and in a decrease in the inferior vena cava flow. Both an increase in afterload and a decrease in preload result in a decrease in systemic blood flow [1].

Conversely, delaying cord clamping between 30 and 180 s after birth increases the transfer of placental blood to the newborn, which increases the circulatory blood volume and prevents the risk of iron deficiency in infants 3 to 6 months old [2,3]. Numerous guidelines recommend delayed cord clamping (DCC) in the newborn infants who did not require immediate resuscitation in order to promote placenta to infant transfusion, although the timing of cord clamping is still debated [4–6].

Growing evidence suggests that DCC may promote cardiorespiratory adaptation in newborn infants who require resuscitation at birth. In an experimental study in newborn lambs, we highlighted that placental gas exchange can be sustained after birth, provided special care is taken to prevent compression or kinking of the umbilical cord [7]. Both arterial and venous umbilical blood flow were measured during DCC using Doppler ultrasound in uncomplicated term vaginal deliveries [8]. Venous and arterial umbilical flow were measured for longer than previously described, and this was continued in about

half of the babies until the cord was clamped after 5 min [8]. We further showed the feasibility, safety, and effects of intact cord resuscitation in newborn infants with congenital diaphragmatic hernia [9]. Apgar scores were higher and plasma lactate concentrations were lower at 1 h after birth in the infants who were resuscitated, while the umbilical cord remained intact [9]. In this study, the cord was clamped once the baby was intubated and mechanically ventilated at around 7 min. Whether or not umbilico–placental flow can be prolonged any longer is still an open question.

Therefore, we hypothesize that umbilico–placental circulation can be sustained during intact cord resuscitation, provided the cord is secured carefully. To test the hypothesis, we continuously measured the umbilico–placental blood flow and resistance after birth during resuscitation in an experimental model of newborn lambs.

2. Materials and Methods

2.1. Experimental Model

All animal procedures and protocols used in this study (experimental research protocol n° 2017121218333678) received prior approval from the French Ministry of Agriculture (Ministère de l’Agriculture, de la Pêche et de l’Alimentation) before the study was carried out in the Department of Experimental Research at Lille University (animal experimentation agreement number D59-35010). Pregnant ewes of the Ile de France breed were hosted in individual pens starting a week before and throughout the procedure.

2.2. Surgical Procedure

At 138 ± 3 days gestation (term is about 142 days), under sterile conditions and general anesthesia (induction of anesthesia in the ewe with Xylazine–Sédaxylan[®], 0.05 mg per kg and maintained with 2–5% isoflurane Aerane[®] in room air/oxygen following intubation) [10,11], the fetal lamb’s left lower limb was exteriorized through a midline laparotomy and hysterotomy of the pregnant ewe.

After fetal analgesia (10 mg IM nalbuphine) and fetal local anesthesia (50 mg SC lidocaine hydrochloride), vascular polyvinyl chloride catheters (4Fr, Vygon[®] Ecoeu, France) were advanced into the aorta after a skin incision in the groin area to measure the aortic pressure. The femoral arterial catheter was inserted to the 8 cm marker, corresponding to the bifurcation of the common umbilical artery of the abdominal aorta. The catheter in the left femoral vein was inserted up to 20 cm into the right atrium.

After a retroperitoneum section and after gentler, blunt dissection of the common umbilical artery at its root from the aorta, a flow transducer (size 6, Transonic System, Ithaca, New York, NY, USA) was placed around the vessel to measure umbilico–placental blood flow (Figure 1).

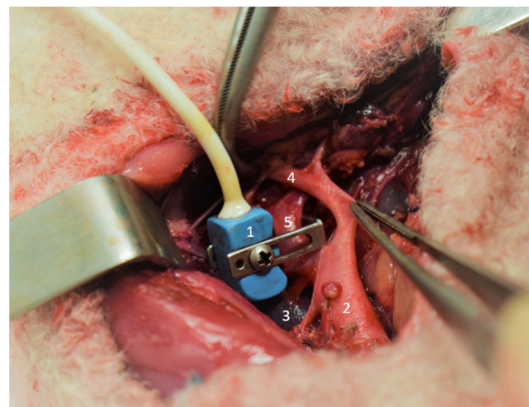


Figure 1. Setting up the probe doppler (1): aorta (2), vena cava (3), iliac artery (4), umbilical arteries (5).

Then, the lamb was exteriorized from the uterine cavity for exposure of the umbilical cord. In order to measure the umbilical vein pressure, a catheter (20 ga. Arrow) was introduced into one of the two umbilical veins at the base of the cord using the Seldinger technique.

Catheter patency was maintained by a bolus of heparinized saline, 10 UI/mL (Heparine CHOAY[®] 5000UI, Sanofi-aventis, Paris, France).

At the end of the experimental procedures, animals were euthanized using T61[®] (Tanax[®], Intervet Beaucouzé, France: 3 mL/10 kg body weight for the ewe and 0.3 mL/kg for the lamb).

2.3. Experimental Design

In order to limit the heat loss and cooling of the lamb, a heat lamp was positioned above the table. The lamb was dried and placed on dry, warm clothes on a table above the ewe's hooves. Special care was taken to protect the cord from drying and to prevent stretching, kinking, or compressing of the cord.

During the entire resuscitation phase, the sedated pregnant ewe did not receive an injection of oxytocin in order to prevent placental delivery. The ewes are sedated with Isoflurane, and the newborn lambs are being resuscitated while the cord is intact: therefore, the lambs are anesthetized and sedated and do not breathe spontaneously. After pharyngeal suctioning, the lambs were intubated with a 4.5 mm cuffed endotracheal tube (Rüschelit[®], Teleflex medical, Wayne, PA, USA). First, 20 s of sustained inflation at 35 cmH₂O was performed, and then the lambs were mechanically ventilated (Infant Star 950[®] ventilator, Covidien, Dublin, Ireland) in pressure controlled mode (PEEP 5 cmH₂O, Pmax 24 cmH₂O, FR 60/min, FiO₂ 1) for one hour. After shaving the right foreleg and the right hind leg, preductal and postductal SPO₂ sensors continuously recorded blood oxygen saturation. Mechanical ventilation was adjusted to the target of 40–60 mmHg PCO₂. If the PCO₂ was greater than 60 mmHg, inspiratory pressure was increased by 5 cmH₂O. If PCO₂ was greater than 80 mmHg, inspiratory pressure was increased by 5 cmH₂O and respiratory rate was increased by 20 breaths per minute. The SpO₂ target was between 92 and 99%. FiO₂ was adapted every 5 min to reach the target. Rectal temperature was continuously recorded during resuscitation.

2.4. Hemodynamic and Biological Analysis

The flow transducer was connected to an internally calibrated flowmeter (T201, Transonic Systemes) for continuous measurement of umbilico–placental blood flow (Qup). The zero blood flow value was defined as the flow measured immediately before the beginning of systole. The aortic and the umbilical vein catheters were connected to a pressure transducer monitoring system (Merlin, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA). Heart rate (HR) was calculated using the phasic signal from the Qup. Umbilico–placental vascular resistance (Rup) was calculated as the difference between mean aortic pressure (Pao) and mean umbilical vein pressure (Pv) divided by mean umbilico–placental blood flow (Qup).

Blood samples (0.5 mL) from the aortic catheter were taken for blood gas analysis (ABL90 FLEX, Radiometer, Copenhagen, Denmark) 5 min before ventilation, at the beginning of the ventilation, and each 20 min after starting ventilation.

2.5. Statistical Analysis

The variables were collected just before and after starting mechanical ventilation. Each lamb served as his or her own control. All statistical analyses were conducted using SPSS Statistic version 24 (IBM corporation, Armonk, NY, USA). Continuous variables were mean \pm standard deviation after checking for normal distribution of the data using the Shapiro–Wilk test. The non-parametric Friedman and Wilcoxon distribution-free test were used to assess the significance of differences in respiratory and hemodynamic measures between measurements.

3. Results

A total of five fetal lambs (mean weight: 3969 ± 488 g) were used for this experiment. One out of the five lambs was male. Blood gases during the experiment are displayed in Table 1. After 40 min of resuscitation, the blood gases improved with an increase in pH (7.1 to 7.3 at M40, $p < 0.05$) and a normalization of PaCO₂ (75 to 44 at M40, $p < 0.05$).

Table 1. Blood gas during the experiment.

Time	M0	M20	M40	M60
pH	7.1 ± 0.1	7.1 ± 0.2	7.2 ± 0.2	7.3 ± 0.1 *
PaO ₂ (mmHg)	15 ± 4	126 ± 61 *	70 ± 29 *	68 ± 12 *
PaCO ₂ (mmHg)	75 ± 17	62 ± 12	49 ± 11 *	44 ± 8 *
HCO ₃ (mEq.L ⁻¹)	23 ± 8	20 ± 5	22 ± 6	23 ± 7

Values are means \pm SD. PaO₂, arterial partial pressure of O₂; PaCO₂ arterial partial pressure of CO₂; HCO₃, bicarbonates. M0 represents the moment when mechanical ventilation was started; M60, the time at which the umbilical cord was clamped. * Significant difference accepted as $p \leq 0.05$.

Umbilical vein and arterial pressure did not change during the course of the experiment (Table 2).

Table 2. Respiratory and hemodynamic variables during the experiment.

Time	M-5	M0	M10	M20	M30	M40	M50	M60
HR (Beats/min)	147 ± 40	144 ± 35	133 ± 10	140 ± 20	132 ± 14	132 ± 13	140 ± 14	148 ± 14
PAo (mmHg)	43 ± 4	43 ± 8	48 ± 4	49 ± 4	47 ± 5	51 ± 7	53 ± 8	50 ± 6
Pv (mmHg)	7 ± 3	8 ± 2	8 ± 2	9 ± 2	9 ± 2	8 ± 2	8 ± 2	7 ± 2
Pre-ductal Spo ₂ (%)	80 ± 20	80 ± 20	98 ± 3	99 ± 2	97 ± 4	97 ± 3	98 ± 3	96 ± 2
Post-ductal Spo ₂ (%)	38 ± 23	38 ± 23	50 ± 32 *	90 ± 15 *	95 ± 6 *	93 ± 5 *	94 ± 3 *	95 ± 5 *
Qup (mL/min)	232 ± 38	234 ± 75	252 ± 107	214 ± 73	204 ± 98	186 ± 79	148 ± 33 *	158 ± 12 *
Rup (μ W)	158 ± 10	151 ± 26	179 ± 66	205 ± 58	224 ± 104	262 ± 111	280 ± 106 *	299 ± 82 *

Values are means \pm SD. HR, heart rate; PAo, mean aortic pressure; Pv, umbilical vein pressure; Pre-ductal Spo₂, pre-ductal oxygen saturation; Post-ductal Spo₂, post-ductal oxygen saturation; Qup, umbilico-placental blood flow; Rup, umbilico-placenta resistance. M0 represents the moment when mechanical ventilation was started; M60, the moment when the umbilical cord was clamped. * Significant difference accepted as $p \leq 0.05$.

Throughout resuscitation with an intact cord, a constant placental blood flow of 150 ± 22 mL·min⁻¹ at M60 persisted with a statistically significant decrease from M40 compared to M0 (234 ± 75 to 186 ± 79 mL·min⁻¹, $p < 0.05$).

Placental vascular resistance gradually increased 1 h after birth, with no statistically significant difference between M0 and M40 (158 ± 10 to 262 ± 111 μ W).

4. Discussion

Evidence suggests that starting resuscitation maneuvers while the umbilical cord is intact may promote cardiorespiratory adaptation at birth. However, the potential duration of placental circulation after birth is unknown. In the present study, changes in umbilico-placental circulation during intact cord resuscitation were assessed in experiments with fetal lambs. Although umbilico-placental blood flow was sustained until the end of the experiments at 60 min of resuscitation, umbilico-placental blood flow decreased and umbilico-placental vascular resistance increased steadily from 40 min onward. These results suggest that significant cardiorespiratory support can be provided by sustained placental circulation for at least 1 h during intact cord resuscitation.

International resuscitation guidelines currently recommend delaying cord clamping for 60 s in infants who do not need resuscitation, which is largely based on the concept of placenta to infant blood transfusion [12]. Controversies exist regarding the best timing of cord clamping in the newborn infants who need resuscitation. A previous study in newborn infants measured significant blood flow in both the umbilical artery and the

umbilical vein for at least 5 min [8]. A previous study by Lefebvre et al. explored the feasibility and effectiveness of intact cord resuscitation in newborn infants with congenital diaphragmatic hernia. In that study, the cord was clamped by 7 min after birth. Apgar scores were significantly higher in the intact cord resuscitation group than in the immediate cord clamp group at 1 min and at 5 min [9]. In a spontaneous breathing lamb model, the cord was clamped at 20 min once the lamb was found to have established a stable breathing pattern [13]. In that study, umbilical blood flow was sustained until cord clamping, although it was transiently reduced during individual breaths.

To the best of our knowledge, our study is the first to explore the potential duration of umbilico-placental circulation after birth during intact cord resuscitation. The blood flow was measured at the root of the umbilical artery before its division into two umbilical arteries. This measure represents the blood flow circulating across the placenta and returning to the lamb via the umbilical vein. The driving force of the placental blood flow is the difference between the aortic pressure and the pressure measured at the distal extremity of the umbilical vein. We found that a maximum of about 250 mL/min of blood crosses the placenta after 10 min of intact cord resuscitation, which may represent 30% of the systemic blood flow of the lamb [14–16]. A steady increase of the umbilico-placental vascular resistance beginning 40 min after starting intact cord resuscitation explains the decrease in placental blood flow, as neither aortic nor umbilical vein pressures changed during the 1 h course of the experiment. We have shown that placental blood flow is stable up to 40 min after birth. During pregnancy, the placenta participates in the oxygenation and decarboxylation of the fetus. During delayed cord clamping resuscitation, we showed that PaO₂ promptly increased and PaCO₂ decreased. It would be interesting to study the evolution of placental O₂ uptake (placental VO₂) during delayed cord resuscitation. Our results indicate that effective cardiorespiratory support can be expected for a prolonged period of time during intact cord resuscitation in the conditions of our experiment.

Oxygen pressure into umbilical arterial blood during pregnancy is around 18 mmHg. In vitro studies on umbilical artery rings indicate that an increase in PO₂ induces an increase in the vascular tone, with a maximum contraction response observed at a PO₂ around 280 mmHg [17]. These results suggest that high PaO₂ during intact cord resuscitation may promote an increase in the umbilical vascular resistance and may contribute to a rapid drop of the umbilico-placental blood flow after birth. In our study, FiO₂ was adjusted to maintain a physiological SpO₂. The PaO₂ was around 60 mmHg during the study period. Our data indicate that an increase in PaO₂ within the normal range does not impair the umbilical circulation during intact cord resuscitation. Whether or not hyperoxemia may alter the umbilico-placental circulation remains an open question.

In routine clinical practice, oxytocin is infused just after birth for its uterotonic effects in order to prevent postpartum hemorrhage [18]. Oxytocin is known to induce vasoconstriction and increase significantly the uterine and umbilical artery flow resistance during uterine contractions [19]. Furthermore, oxytocin promotes placenta delivery. In our study, oxytocin was not infused at birth to the pregnant ewe after c-section to preserve umbilico-placental resistance. It is likely that oxytocin alters the course of the umbilico-placental circulation during intact cord resuscitation.

During the experiment and the intact cord resuscitation period, the pregnant ewes were anesthetized with isoflurane. Isoflurane has been reported to reduce the contraction of the uterine muscle. Indeed, isoflurane causes uterine relaxation through inhibition of the voltage-dependent calcium channels of the uterine smooth muscle cells [20]. Isoflurane may have delayed normal placental delivery and contributed to sustained placental circulation.

Previous studies showed that gas exchange can be sustained for up to 30 min during Ex utero Intrapartum Treatment (EXIT) procedure [21,22]. EXIT surgery is performed under general anesthesia to achieve uterine relaxation. The fetus is not delivered from the uterus: only the head, neck, and upper part of the thorax is exposed for the maintenance of the uterine volume, thus decreasing the likelihood of uterine contraction and placental abruption. EXIT may be indicated in case of high suspicion of fetal airway obstruction,

such as cervical or oral tumors with a consequent high risk of severe fetal hypoxia or death of the newborn infant at birth. EXIT is a complex coordinated procedure that requires a multidisciplinary expert team, including pediatric surgeons, anesthesiologists, obstetricians, and neonatologists.

In the present study, the resuscitation maneuvers are started after birth while the cord is intact. Compared to EXIT, intact cord resuscitation can be used routinely and does not require a multidisciplinary and specialized team. To our knowledge, no study explored the change in umbilico–placental circulation after birth beyond 20 min during intact cord resuscitation.

Our study has limitations. Placenta in sheep (cotyledons) and humans (chorioallantoic) are different. The reproducibility of our physiopathological observations and therefore their extrapolation to the human newborn infants must be done with caution. The study was performed in normal lambs. Further study is required to assess the effects of prolonged intact cord resuscitation in an experimental model of impaired cardiorespiratory adaptation at birth. The present experimental study is a pre-requisite for further studies aiming at assessing the effectiveness of prolonged intact cord resuscitation in cases at high risk for abnormal cardiorespiratory adaptation at birth.

5. Conclusions

Our results indicate that effective umbilico–placental circulation can be sustained for up to one hour during intact cord resuscitation in the condition of our experiment including maternal isoflurane anesthesia and excluding oxytocin administration. Our study supports the hypothesis that the duration of intact cord resuscitation may be continued beyond 10 min in order to promote cardiorespiratory adaptation at birth. This information is interesting, because in situations with expected high perinatal mortality such as diaphragmatic hernia and severe hydrops, continuing intact cord resuscitation for up to 1 h could allow better adaptation to extrauterine life.

Author Contributions: Conceptualization, K.L.D., L.S., D.S., S.M., E.A., C.G.; methodology, K.L.D., L.S., D.S., S.M.; validation, K.L.D., L.S., D.S., C.G.; formal analysis, J.D.J. and K.L.D.; writing—original draft preparation, K.L.D.; writing—review and editing, K.L.D., L.S. and D.S.; supervision, L.S.; project administration funding acquisition, D.S., C.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Rare Disease Foundation (Fondation Maladies Rares) (grant number# FONDATION_LAM-RD_201802).

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and approved by the French Ministry of Agriculture (Ministère de l’Agriculture, de la Pêche et de l’Alimentation). Animal experimentation agreement number D5935010.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The data which we presented in the study are available from authors on request. The data are not publicly available due to privacy restrictions.

Acknowledgments: The authors would like to thank Thomas Hubert and Arnold Dive, Michel Pottier, and Martin Fourdrinier, animal caregivers of the DHURE Lille North of France, for their veterinary care and assistance for sheep anaesthesiology and surgery.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

1. Crossley, K.J.; Allison, B.J.; Polglase, G.R.; Morley, C.J.; Davis, P.G.; Hooper, S.B. Dynamic Changes in the Direction of Blood Flow through the Ductus Arteriosus at Birth: Blood Flow through the Ductus Arteriosus at Birth. *J. Physiol.* **2009**, *587*, 4695–4704. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. McDonald, S.J.; Middleton, P. Effect of timing of umbilical cord clamping of term infants on maternal and neonatal outcomes. In *Cochrane Database of Systematic Reviews*; The Cochrane Collaboration, Ed.; John Wiley & Sons, Ltd.: Chichester, UK, 2008; p. CD004074.pub2.
3. Pratesi, S.; Montano, S.; Ghirardello, S.; Mosca, F.; Boni, L.; Tofani, L.; Dani, C. Placental Circulation Intact Trial (PCI-T)-Resuscitation With the Placental Circulation Intact vs. Cord Milking for Very Preterm Infants: A Feasibility Study. *Front. Pediatr.* **2018**, *6*, 364. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Farrar, D.; Airey, R.; Law, G.R.; Tuffnell, D.; Cattle, B.; Duley, L. Measuring Placental Transfusion for Term Births: Weighing Babies with Cord Intact. *BJOG* **2011**, *118*, 70–75. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Yao, A.C.; Wist, A.; Lind, J. The Blood Volume of the Newborn Infant Delivered by Caesarean Section. *Acta Paediatr. Scand.* **1967**, *56*, 585–592. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Yao, A.C.; Lind, J. Blood Flow in the Umbilical Vessels during the Third Stage of Labor. *Biol. Neonate* **1974**, *25*, 186–193. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Viard, R.; Tourneux, P.; Storme, L.; Girard, J.-M.; Betrouni, N.; Rousseau, J. Magnetic Resonance Imaging Spatial and Time Study of Lung Water Content in Newborn Lamb: Methods and Preliminary Results. *Invest. Radiol.* **2008**, *43*, 470–480. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Boere, I.; Roest, A.A.W.; Wallace, E.; Ten Harkel, A.D.J.; Haak, M.C.; Morley, C.J.; Hooper, S.B.; Te Pas, A.B. Umbilical Blood Flow Patterns Directly after Birth before Delayed Cord Clamping. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* **2015**, *100*, F121–F125. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Lefebvre, C.; Rakza, T.; Weslinck, N.; Vaast, P.; Houfflin-debarge, V.; Mur, S.; Storme, L. Feasibility and Safety of Intact Cord Resuscitation in Newborn Infants with Congenital Diaphragmatic Hernia (CDH). *Resuscitation* **2017**, *120*, 20–25. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Houeijeh, A.; Aubry, E.; Coridon, H.; Montaigne, K.; Sfeir, R.; Deruelle, P.; Storme, L. Effects of N-3 Polyunsaturated Fatty Acids in the Fetal Pulmonary Circulation. *Crit. Care Med.* **2011**, *39*, 1431–1438. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Houfflin-Debarge, V.; Sabbah-Briffaut, E.; Aubry, E.; Deruelle, P.; Alexandre, C.; Storme, L. Effects of Environmental Tobacco Smoke on the Pulmonary Circulation in the Ovine Fetus. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2011**, *204*, 450.e8–450.e14. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. World Health Organization. Nutrition for Health and Development. In *World Health Organization Guideline*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2014; ISBN 978-92-4-150820-9.
13. Brouwer, E.; Te Pas, A.B.; Polglase, G.R.; McGillick, E.V.; Böhringer, S.; Crossley, K.J.; Rodgers, K.; Blank, D.; Yamaoka, S.; Gill, A.W.; et al. Effect of Spontaneous Breathing on Umbilical Venous Blood Flow and Placental Transfusion during Delayed Cord Clamping in Preterm Lambs. *Arch. Dis Child. Fetal Neonatal Ed.* **2020**, *105*, 26–32. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Faber, J.J.; Green, T.J. Foetal Placental Blood Flow in the Lamb. *J. Physiol.* **1972**, *223*, 375–393. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Kiserud, T.; Ebbing, C.; Kessler, J.; Rasmussen, S. Fetal Cardiac Output, Distribution to the Placenta and Impact of Placental Compromise. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2006**, *28*, 126–136. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Adamson, S.L.; Myatt, L.; Byrne, B.M.P. Regulation of Umbilical Blood Flow. In *Fetal and Neonatal Physiology*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2011; pp. 827–837. ISBN 978-1-4160-3479-7.
17. McGrath, J.C.; MacLennan, S.J.; Mann, A.C.; Stuart-Smith, K.; Whittle, M.J. Contraction of Human Umbilical Artery, but Not Vein, by Oxygen. *J. Physiol.* **1986**, *380*, 513–519. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Evensen, A.; Anderson, J.M.; Fontaine, P. Postpartum Hemorrhage: Prevention and Treatment. *Am. Fam. Physician* **2017**, *95*, 442–449. [[PubMed](#)]
19. Olofsson, P.; Thuring-Jönsson, A.; Marsál, K. Uterine and Umbilical Circulation during the Oxytocin Challenge Test. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **1996**, *8*, 247–251. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Yamakage, M.; Tsujiguchi, N.; Chen, X.; Kamada, Y.; Namiki, A. Sevoflurane Inhibits Contraction of Uterine Smooth Muscle from Pregnant Rats Similarly to Halothane and Isoflurane. *Can. J. Anesth.* **2002**, *49*, 62–66. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Novoa, R.H.; Quintana, W.; Castillo-Urquiaga, W.; Ventura, W. EXIT (Ex Utero Intrapartum Treatment) Surgery for the Management of Fetal Airway Obstruction: A Systematic Review of the Literature. *J. Pediatr. Surg.* **2020**, *55*, 1188–1195. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Bouchard, S.; Johnson, M.P.; Flake, A.W.; Howell, L.J.; Myers, L.B.; Adzick, N.S.; Crombleholme, T.M. The EXIT Procedure: Experience and Outcome in 31 Cases. *J. Pediatr. Surg.* **2002**, *37*, 418–426. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Partie 4. Umbilico-placental hemodynamics and transplacental O₂ exchanges during Intact Cord Resuscitation in newborn lambs with and without congenital diaphragmatic hernia (CDH)

Cet article est soumis dans Archive of disease and Childhood en septembre 2024.

Auteurs : Kévin le Duc, Florian Manœuvrier, Celine Rougraff, Baptiste Teillet, Patrice Maboudou, Anne Wojtanowski, Capucine Besengez, Geoffroy Chevalier, Louise Ghesquiere, Charles Garabedian, Sébastien Mur, Riadh Boukhris, Laurent Storme, Dyuti Sharma.

Cet article étudie les échanges gazeux transplacentaires lors d'une réanimation à cordon intact se prolongeant pendant 1 heure après la naissance dans une population d'agneaux porteurs de HCD et une population d'agneaux sains.

Cette étude est financée en partie par la Fondation Maladie Rare et l'Association APEHDia sous le numéro FONDATION_LAM-RD_201802.

[Annexe 1]

1 **Umbilico–placental hemodynamics and transplacental O₂ exchange during**
2 **intact cord resuscitation in newborn lambs with and without congenital**
3 **diaphragmatic hernia: an experimental animal study**

4 ***

5
6 Kévin le Duc^{1,2}, Florian Manœuvrier³, Celine Rougraff^{2,4}, Baptiste Teillet^{1,2}, Patrice Maboudou⁵, Anne
7 Wojtanowski², Capucine Besengez², Geoffroy Chevalier^{2,6}, Louise Ghesquiere^{2,6}, Charles
8 Garabedian^{2,6}, Sébastien Mur¹, Riadh Boukhris¹, Laurent Storme^{1,2}, Dyuti Sharma^{2,4}

9 *

10 ¹CHU Lille, Department of Neonatology, Jeanne de Flandre Hospital, F-59000 Lille, France

11 ²Univ. Lille, CHU Lille, ULR 2694 METRICS: Evaluation des technologies de santé et des pratiques
12 médicales - Perinatal Environment and Health, F-59000 Lille, France

13 ³Department of Pediatric Intensive Care Unit, Centre Hospitalier Universitaire d'Amiens, Amiens,
14 France

15 ⁴CHU Lille, Department of Pediatric Surgery, Jeanne de Flandre Hospital, F-59000 Lille, France.

16 ⁵Centre de Biologie-Pathologie, Univ. Lille, CHU Lille, F-59000, Lille, France

17 ⁶CHU Lille, Department of Obstetrics, Jeanne de Flandre Hospital, F-59000 Lille, France

18
19 Conflict of interest: none

20 **Corresponding author:** Kevin Le Duc

21 Jeanne de Flandre Hospital,
22 Lille University Hospital
23 1 rue Eugène Avinée
24 F-59000 Lille Cedex, France
25 Tel: +33 3 20 44 6199-
26 Mail: kevin.leduc@chu-lille.fr
27

28 **What is already know on this topic:**

- 29 - Most of the newborn infants with congenital diaphragmatic hernia experience failure of
30 normal cardiorespiratory adaptation at birth;
31 - Intact Cord Resuscitation may prevent severe hypoxia and promote pulmonary blood flow
32 compared to immediate cord clamping in CDH lambs;
33 - Umbilico-placental blood flow can be sustained for at least 1 hour during intact cord
34 resuscitation in a normal newborn lamb model.

35
36 **What this study adds:**

- 37 - Intact cord resuscitation may support oxygenation and decarboxylation for at least one hour
38 in an experimental model of congenital diaphragmatic hernia;
39 - In normal lambs, prolonged intact cord resuscitation may potentially impair both
40 hemodynamics and oxygenation, because the normal postnatal elevation of PaO₂ abolishes
41 transplacental O₂ transfer within the first minutes after birth.

42 ABSTRACT

43 **Objective:** To investigate changes in placental hemodynamics and gas exchanges during prolonged
44 resuscitation with an intact cord in lambs with and without congenital diaphragmatic hernia (CDH).

45 **Design** CDH was created in fetal lambs at 80 days gestation (term=142 days) by incising the diaphragm
46 via fetal laparotomy. At 138±3 days, the fetus was partially exteriorized through a hysterotomy.
47 Vascular catheters were inserted into the aorta after a skin incision in the groin. A flow transducer was
48 placed around the umbilical artery to measure umbilico-placental blood flow (Qup). The lamb was
49 then fully exteriorized. A catheter was inserted into an umbilical vein to measure pressure. Blood gases
50 were taken from the aorta and umbilical vein to assess arterial (CaO₂) and venous (CvO₂) O₂ content
51 and transplacental oxygen intake (Placental VO₂). Intact Cord Resuscitation (ICR) lasted 60 min,
52 followed by clamping.

53 **Results** Eight CDH and nine control lambs were included. Qup and umbilical venous PO₂ were similar
54 in both groups and remained stable. Blood pressure was 20% lower in normal lambs than in CDH lambs
55 (p<0.05). In CDH lambs, placental VO₂ was sustained during intact cord resuscitation (2.7 [2.2-
56 3.3]ml/kg/min). In contrast in control lambs, placental VO₂ dropped to 0 [-0.3-0.2] ml/kg/min within
57 20 min of starting resuscitation, coinciding with an increase in PaO₂.

58 **Conclusions:**

59 Intact cord resuscitation may support oxygenation in CDH newborns via placental gas exchange. In
60 healthy controls, prolonged intact cord resuscitation may impair hemodynamics and oxygenation due
61 to sustained placental circulation, which does not aid oxygenation.

62

63 INTRODUCTION

64 Delayed cord clamping (DCC) between 30 and 180 s after birth is beneficial for premature and
65 full-term newborn infants. DCC promotes placenta-to-infant blood transfusion [1,2]. DCC also reduces
66 hospital mortality and the incidence of intraventricular hemorrhage and necrotizing enterocolitis [3-
67 5]. Immediate umbilical cord clamping (ICC) can affect the cardiopulmonary transition at birth. ICC
68 results in an immediate increase in systemic vascular resistance because of the loss of low resistance
69 tissue in the placenta and a decrease in the inferior vena cava flow directed partly towards the left
70 atrium through the foramen ovale. Both an acute increase in afterload and decrease in left ventricle
71 preload result in a marked decrease in cardiac output [6]. During the fetal-to-extrauterine transition,
72 the decrease in pulmonary vascular resistance contributes to elevated pulmonary blood flow, which
73 enables the lungs to take over gas exchange from the placenta [7,8]. Congenital diaphragmatic hernia
74 (CDH) is a malformation usually associated with failure in the cardiorespiratory adaptation at birth that
75 can cause severe hypoxia and has a high mortality rate (30%) [9,10]. Numerous guidelines recommend
76 DCC in newborns who did not require immediate resuscitation [11]. Whether ICR promotes
77 cardiorespiratory adaptation in newborns who require resuscitation at birth remains unclear. A recent
78 study involving a CDH model has suggested that DCC following lung aeration prevents transient
79 hypoxia. This approach was associated with higher pulmonary blood flow and better cerebral tissue
80 oxygenation [12]. We have shown the feasibility of ICR in newborn infants with CDH. In that study, the
81 Apgar scores were higher and plasma lactate concentrations were lower at 1 h after birth in infants
82 who received ICR [13]. In an anesthetized pregnant ewe model, umbilico-placental circulation was
83 sustained for 1 h after birth during ICR [14]. However, the contribution of the placental circulation to
84 oxygenation during ICR is unknown. Placental O₂ transfer is dependent on both the umbilico-placental
85 blood flow (Qup) and the gradient of oxygen content between the umbilical artery and umbilical vein.
86 Therefore, the arterial partial pressure of oxygen (PaO₂) of the newborn, and thus pulmonary function,
87 may play a key role in the contribution of the placental circulation to oxygenation.

88 In the present experimental study, we hypothesized that transplacental gas exchange is highly
89 dependent on PaO₂ and pulmonary function. To test the hypothesis, we compared the placental O₂
90 transfer during ICR in newborn lambs with or without CDH.

91 MATERIALS AND METHODS

92 Experimental procedures

93 Creation of the diaphragmatic hernia

94 Pregnant *Ile de France* ewes were anesthetized at 78±2 days of gestation with xylazine (EVA Santé
95 Animale, Brussels, Belgium) and maintained with isoflurane (Aerrane, Baxter, Maurepas, France). The
96 fetal lamb's left forelimb was exposed through a cesarean section (C-section) [15]. Intramuscular
97 buprenorphine (Bupaq, Virbac, France) and subcutaneous lidocaine (Xylocaine AstraZeneca, Reuil-
98 Malmaison, France) analgesia was administered. A left thoracotomy was performed by creating a 15-
99 mm slit in the diaphragm to allow the digestive organs to ascend into the thoracic cavity. The thoracic
100 cavity was closed, and the amniotic fluid was replaced with saline before the ewe's abdomen was
101 closed. The ewe received analgesia for 24 h after surgery and was monitored in the laboratory for 2
102 months until the fetal resuscitation experiment.

103 Surgical procedure

104 At 138±3 days gestation (term ~142 days), the fetal lamb's left lower limb was exteriorized through a
105 redo C-section under sterile conditions and general anesthesia using xylazine 0.05 mg/kg, which was
106 maintained with 2–5% isoflurane (Aerrane) in room air/oxygen after intubation. The creation or
107 absence of the hernia was randomly assigned. After fetal analgesia (10mg intramuscular nalbuphine)
108 and local anesthesia (50 mg subcutaneous lidocaine), vascular catheters (4 Fr, Vygon Ecoquen, France)
109 were advanced into the post-ductal aorta via a skin incision in the groin to measure aortic pressure
110 (Pao) and to sample arterial blood gases. The femoral arterial catheter was inserted to the bifurcation
111 of the common umbilical artery. The left femoral vein catheter was advanced into the right atrium.
112 After retroperitoneal section and blunt dissection of the common umbilical artery at its root from the
113 aorta, a flow transducer (size 6, Transonic Systems, Ithaca, NY, USA) was placed around the trunk of
114 the umbilical artery to measure Qup. The lamb was then exteriorized for exposure of the umbilical
115 cord. To measure umbilical vein pressure (Puv) and to sample venous blood gases, a catheter (20 ga.
116 Arrow Seldinger Catheter, Teleflex, Wayne, PA, USA) was inserted into an umbilical vein at the cord
117 base using the Seldinger technique. Catheter patency was maintained by continuous infusion of
118 heparinized saline at a rate of 20IU/h (heparin CHOAY, 5000 IU, Sanofi-Aventis, Paris, France).

119 At the end of the procedures, animals were euthanized using T61 (Tanax, Intervet Beaucouzé, France:
120 0.3mL/kg body weight for both ewe and lamb).

121 Experimental design

122 The lamb was dried and placed on warm, dry clothes on a table above the ewe's hooves. Special care
123 was taken to protect the cord from drying, stretching, kinking or compressing. The lamb's comfort was
124 assessed throughout the procedure. Throughout the resuscitation, the sedated ewe did not receive
125 oxytocin to prevent placental delivery. The lamb was intubated with a 4.5 mm cuffed endotracheal
126 tube (Rüschelit, Teleflex Medical, Wayne, PA, USA) and then received ICR. The initial resuscitation
127 included 20s of sustained inflation at 35 cmH₂O, followed by mechanical ventilation (Infant Star 950
128 ventilator, Covidien, Dublin, Ireland) in pressure-controlled mode (positive end-expiratory pressure 5
129 cmH₂O, peak inspiratory pressure (PIP) 24 cmH₂O, respiratory rate (RR) 60/min, FiO₂ 1). After the right
130 foreleg and hind leg were shaved, preductal and post-ductal SpO₂ sensors were used to record arterial
131 blood oxygen saturation (SpO₂). Ventilation was adjusted to maintain the partial pressure of carbon

132 dioxide in arterial blood (PaCO₂) target of 45–55 mmHg. If PaCO₂ exceeded 55 mmHg, the inspiratory
133 pressure was increased by 5 cmH₂O; if PaCO₂ was >80 mmHg, both PIP and rRR were increased. The
134 SpO₂ target was 92–99%, and the FiO₂ was adjusted every 5 min. After 1 h of ICR, the umbilical cord
135 was clamped, and resuscitation was continued for 15 min after which the lamb was euthanized. This
136 procedure was used for both the CDH and control lambs.

137 Hemodynamic and biological analyses

138 The flow transducer was connected to an internally calibrated flowmeter (T201, Transonic Systems)
139 for continuous measurement of Q_{up}. The aortic and umbilical vein catheters were connected to a
140 pressure transducer monitoring system (Merlin, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA). Heart rate (HR)
141 was calculated using the phasic signal from the Q_{up}. Umbilico–placental vascular resistance (R_{up}) and
142 placental oxygen intake (placental VO₂) were calculated as followed. Blood samples (0.5 mL) from the
143 aortic catheter were collected for blood gases (ABL90 FLEX, Radiometer, Copenhagen, Denmark) at the
144 beginning and every 20 min after the start of ventilation.

145 Calculations

- 146 - $R_{up} = (P_{ao} - P_{uv}) / Q_{up}$
- 147 - $CaO_2 \text{ (mL O}_2\text{/L)} = [1.39 \times Hb \times SaO_2/100] + [0.003 \times PaO_2]$
- 148 - $CvO_2 \text{ (mL O}_2\text{/L)} = [1.39 \times Hb \times SvO_2/100] + [0.003 \times PvO_2]$
- 149 - $\text{Placental VO}_2 \text{ (mL/Kg/min)} = Q_{up} \times (CvO_2 - CaO_2)$
- 150 - $\text{Mean alveolar arterial oxygen gradient (A-aDO}_2\text{; mmHg)}: F_{iO_2} \times 713 - PaCO_2/0.8 - PaO_2$

151 Autopsy

152 An autopsy was performed systematically to ensure the presence of the diaphragmatic defect and
153 hernia contents. Lung weight was normalized to lamb weight to validate the pulmonary hypoplasia
154 (lung-to-body weight ratio). The left and right ventricle were dissected and weighed to assess left
155 ventricular development in a standard manner as previously described [16].

156 Statistical analysis

157 Variables are expressed as median [interquartile range (IQR), quartiles 1 to 3] when the data were not
158 normally distributed, and nonparametric tests were used to analyze these data. To assess differences
159 between the baseline and other times, the Friedman test was used, followed by the Wilcoxon test
160 when significant differences were detected. The Mann–Whitney *U* test was used to identify differences
161 between 2 groups for each variable. Pearson’s correlational analysis was used to identify significant
162 correlations between 2 quantitative variables. A *p* value <0.05 was considered to be significant. Data
163 were analyzed using R Software v3.6.1. (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).
164 Graphics were created using GraphPad Prism (version 10.1.1; GraphPad Software, Boston, MA, USA).

165 RESULTS

166 Baseline fetal characteristics

167 A miscarriage occurred in 6 ewes after the first surgery for CDH creation, and 17 newborn lambs were
168 included in the analysis: 8 in the CDH group and 9 in the control group. The 2 groups did not differ
169 significantly on birth weight or sex distribution. Lung-to-body weight ratio and left ventricular weight
170 indexed on lamb birth weight were lower in the CDH group than in the control group (Table 1).

171

172

Table 1 Fetal parameters

Variable	CDH group	Control group	p value
Number	8	9	
Male, n (%)	4 (50%)	6 (66%)	0.32
Birth weight (kg)	4.2 [4.0;4.6]	3.9 [3.4; 4.4]	0.18
Lung-to-body weight ratio (%)	0.12 [0.11;0.15]	0.33 [0.26;0.35]	0.003*
Indexed left ventricle weight (g/kg)	2.73 [2.39;3.26]	3.37 [3.20;3.43]	0.04*

173 *Categorical data expressed as n (%) and continuous data are expressed as median [interquartile range]. * Significant*
 174 *difference between groups at p ≤ 0.05.*

175

176 Cardiopulmonary adaptation

177 In both groups, the mean arterial blood pressure (MAP) and HR did not change significantly during the
 178 experiment. However, MAP was significantly higher by 20% in the CDH group than in the control group
 179 (Table 2).

180 In the control group, median FiO₂ decreased from 100% [100; 100] to 60% [30, 70] at M60 (p=0.014)
 181 to maintain preductal SpO₂ at 92-99%. After cord clamping (at M60), the oxygen requirement
 182 decreased from 60% to 30% in <10min in the control group. In the CDH group, the median FiO₂
 183 remained at 100% throughout the experiment.

184 Preductal SpO₂ was significantly lower in the CDH group than in the control group throughout the
 185 experiment. The pre-post ductal SpO₂ gradient was significantly higher in the CDH group.

Table 2 Comparison of cardiopulmonary variables in the CDH and control groups

Variables	Group	M0	M10	M20	M30	M40	M50	M60	M70	p value †
HR (bpm)	Control	123 [112;170]	132 [126;137]	136 [126;144]	131 [120;140]	126 [122;146]	136 [120;150]	140 [128;147]	142 [139;145]	0.62
	CDH	132 [116;144]	127 [122;135]	136 [125;146]	136 [128;154]	141 [128;147]	138 [126 ;149]	131 [118 ;156]	130 [113;172]	0.55
PAo (mmHg)	Control	41 [37;48]	43 [42;47]	45 [37;51]	43 [38 ;48]	41 [38;50]	41 [39;53]	41 [36;49]	53 [40 ;53]	0.97
	CDH	52 [47;54]	56 [50;56]	53 [47;57]	54 [47;56]	52 [48 ;55]	52 [48;54]	51 [51;54]	56 [50 ;58]	0.98
Preductal SPO ₂ (%)	Control	81 [69;90]	99 [96;100] *	98 [95;100] *	94 [90;98] *	95 [92;99] *	98 [94;100] *	95 [94;97] *	96 [95;98]*	0.04
	CDH	47 [41;57]	50 [40;57]	61 [54;71]	67 [55;79]	73 [60;81]	76 [40;85]	85 [31;91]	80 [32;94]	0.06
ΔPre-post ductal SpO ₂ (%)	Control	15 [10;18]	0 [0;13]	0 [0;12]	2 [0;3]*	2 [0;8]*	1 [0;12]*	2 [0;8]*	0 [0;3]*	0.02
	CDH	14 [0;23]	8 [0;18]	5 [0;27]	10 [3;21]	13 [6;22]	19 [8;29]	11 [6;17]	9 [14;18]	0.66
FiO ₂	Control	100 [100;100]	100 [100;100]	100 [50;100] *	80 [50;100] *	60 [30;80] *	60 [30;70] *	60 [30;70] *	30 [21;50]*	0.001
	CDH	100 [100;100]	100 [100;100]	100 [100;100]	100 [95;100]	100 [90;100]	100 [85;100]	100 [75;100]	100 [70;100]	0.07
Indexed tidal volume (mL/kg)	Control	2.1 [1.4;2.9]	2.7 [1.7;3.7]*	3.7 [2.2;4.5]*	4.2 [3;6.2]*	5.1 [3.5;7.4]*	5.5[4.1;6.9]*	5.5[4.4;6.1]*	5.8 [5;7.3]	<0.001
	CDH	0.7 [0.5;0.9]	0.9 [0.6;2]	0.9 [0.6;2.2]*	1.5 [0.7;2.9]*	2.0 [1;2.9]*	2.5 [1.9;3.7]*	2.7 [2;4.1]*	3.6 [2.9;4.7]	<0.001

186 *Results displayed as median (IQR) † significant p value at p<0.05 in the Friedman test; * significant p value at p<0.05 in the*
 187 *Wilcoxon test. The index tidal volume increased significantly into the 2 groups during the first hour of resuscitation.*

188 *HR, Heart Rate; Pao, Mean arterial pressure; SpO₂; peripheral capillary oxygen saturation; FiO₂, fraction of inspired oxygen;*
 189 *CDH, Congenital Diaphragmatic Hernia.*

190

191 Ventilatory support

192 Throughout the experiment, RR in both groups was fixed at 60 breaths per minute. PIP in the CDH
193 group increased from 24 cmH₂O to 30 [29-33] cmH₂O but did not change in the control group. The
194 mean airway pressure did not change (12 [10-12] cmH₂O) in the control group but increased in the
195 CDH group from 12 [11.5-13] cmH₂O at the baseline to 14 [13-16] cmH₂O at the end of the experiment.
196 Tidal volume indexed to body weight increased progressively during resuscitation in both groups but
197 remained about 50% lower in the CDH group than in the control group ($p<0.05$).

198 Arterial blood gases

199 Within 20 min of the start of ventilation, PaO₂ normalized in the control group. However, sustained
200 elevated FiO₂ was required throughout the experiment to reach the target pre-ductal SpO₂. Hypoxemia
201 was sustained throughout the study period in the CDH group.

202 PaCO₂ gradually decreased in both groups without a significant difference between the two groups
203 until the moment the umbilical cord was clamped (Figure 3).

204 Within the first 15 min after cord clamping in the control group, the PaO₂ increased from 45 [36-60]
205 mmHg to 79 [50–110] mmHg ($p<0.05$) despite a decrease in FiO₂ from 50% [21-70] to 30% [21-50], and
206 PaCO₂ decreased from 45 [41-50] mmHg to 36 [32–48] mmHg ($p<0.05$). In the CDH group, cord
207 clamping was associated with a decrease of PaO₂ from 32 [22-40] mmHg to 27 [17-35] mmHg and an
208 increase in PaCO₂ from 53 [50-8] mmHg to 82 [59-101] mmHg ($p<0.05$) (Figure 3) ($p<0.05$).

209 Placental hemodynamic and placental-to-fetal gas exchange

210 In both groups, Q_{up} and R_{up} did not change during the experiment. (Figure 3).

211 Despite similar baseline values, CaO₂ increased by 4 times in the control group and by 2 times in the
212 CDH group during the study period. The CvO₂ did not change during the study period. In both groups,
213 the venous partial pressure of oxygen in the umbilical vein remained stable at 30–40 mmHg and did
214 not vary during ICR.

215 Placental VO₂ was similar in the control and CDH groups at the initiation of mechanical ventilation: 2.5
216 [1.9–2.9] and 3.2 [2.2–4.4] mL/kg/min, respectively. In the control group, the placental VO₂ decreased
217 to 0 [–0.3-0.2] mL/kg/min within the first 20 min of ventilation. Of the 9 control lambs, 5 exhibited a
218 negative placental VO₂ value (Figure 3F). Conversely, in the CDH group, placental VO₂ was sustained at
219 around 2 mL/kg/min during the experiment.

220 Placental VO₂ decreased with the increase in post-ductal PaO₂ ($R^2=0.43$, $p<0.001$) and was about 0
221 when post-ductal PaO₂ values were >40 mmHg (Figure 4).

222 DISCUSSION

223 We assessed umbilico–placental hemodynamics and transplacental oxygen exchange in newborn
224 lambs with and without CDH during intact cord resuscitation for 1 h after birth. Despite similar
225 umbilico–placental blood flow, transplacental O₂ transfer decreased to 0 within 20 min in the control
226 group but was sustained for 1 hour in CDH group. Transplacental O₂ transfer decreased with increasing
227 post-ductal PO₂ and ceased when PaO₂ exceeded 40 mmHg. Cord clamping resulted in improved
228 oxygenation, decarboxylation, and blood pressure in the control group but a decrease in oxygenation
229 and decarboxylation in the CDH group. Our findings suggest that the placental circulation does not
230 contribute to oxygenation or decarboxylation during intact cord resuscitation in normal lambs. By
231 contrast, intact cord resuscitation supports oxygenation, decarboxylation, and systemic
232 hemodynamics for up to 1 h in CDH lambs.

233 Growing evidence suggests that DCC improves neonatal outcomes in newborns requiring resuscitation.
234 The short-term benefits of intact cord resuscitation were observed in newborns without spontaneous
235 respiration and included better saturation levels and Apgar scores at 10 min compared with traditional
236 methods [17]. In a lamb model with CDH, Kashyap et al. reported that delaying cord clamping until 10
237 min after initiating resuscitation could prevent transient hypoxia and facilitated a greater increase in
238 pulmonary blood flow during the first 120 min [12].

239 Our data provide new information about placental physiology during intact cord resuscitation. The first
240 new finding is the potential risk to hemodynamics in newborns without lung disease. We found a 20%
241 lower mean arterial pressure in the normal group than in the CDH group. This hypotension resolved
242 within seconds after cord clamping. We hypothesize that this may reflect the presence of 2 parallel
243 low-resistance vascular systems: the placenta and the lungs. The placenta acts as a low-resistance
244 vascular system in parallel with the fetal circulation [18].

245 In normal lambs with effective pulmonary adaptation at birth, persistent placental circulation may
246 impair neonatal oxygenation and CO₂ removal. Despite achieving a tidal volume above 5 mL/kg and no
247 pre-to-post-ductal SpO₂ gradient, indicating decreased pulmonary vascular resistance, oxygen
248 requirements must be around 50% to maintain SpO₂ above 92%. The placenta acts as a venous
249 exchanger and PaO₂ remains at 30–50 mmHg in the intervillous space [19]. During pregnancy, PaO₂ in
250 the umbilical artery ranges from 16 to 22 mmHg [20,21]. This transplacental PaO₂ gradient and the
251 high affinity of fetal hemoglobin for oxygen helps to maintain umbilical vein PO₂ between 30 and 40
252 mmHg. Once umbilical artery PaO₂ exceeds 40 mmHg (within the first 20 min of intact cord
253 resuscitation), the placenta may no longer supply oxygen and can cause retrograde oxygen transfer.
254 During pregnancy, the placental circulation accounts for 30% of fetal circulation, and low pulmonary
255 blood flow leads to higher pressure in the right atrium than in left atrium, which causes a right-to-left
256 shunt through the foramen ovale [22,23]. Right-to-left shunting likely persists as long as placental
257 venous return sustains high inferior vena cava flow, and this can contribute to arterial hypoxemia and
258 high FiO₂ requirement. After cord clamping, without modification of ventilation, PaO₂ increased from
259 45 to 75 mmHg despite a 20% decrease in FiO₂, and PaCO₂ decreased by 20%. The increase in PaO₂
260 supports this hypothesis.

261 By contrast, our findings provide additional evidence for beneficial effects of prolonged intact cord
262 resuscitation on hemodynamics and oxygenation in the presence of CDH. Previous studies have shown
263 that the transition from fetal to neonatal circulation is delayed in infants with lung hypoplasia and that
264 increases in tidal volume and pulmonary blood flow occur 15–30 min later than in lambs without
265 pulmonary hypoplasia [24]. High pulmonary artery pressure-induced right-to-left shunting through the
266 ductus arteriosus may support systemic blood flow and pressure during intact cord resuscitation.

267 Regarding gas exchange, the tidal volume in the CDH group was <1 mL/kg for the first 20 min of
268 resuscitation and then gradually increased to 3 mL/kg at 1 h of life. Despite the reduced tidal volume,
269 the PaCO₂ level stayed within the target range. An acute increase in PaCO₂ at the time of cord clamping
270 without any changes to the ventilation settings indicates that the placenta contributes to CO₂ clearance
271 during intact cord resuscitation. In newborn babies with moderate to severe CDH, PaCO₂ is around 80
272 mmHg within the first hour after birth [25]. PaO₂ in the descending aorta ranged from 20 to 30 mmHg
273 due to right-to-left shunting through the ductus arteriosus, as reflected in a pre-to post-ductal
274 saturation difference >10%. Low post-ductal PaO₂ promotes transplacental oxygen intake and
275 therefore contributes to sustained oxygenation during intact cord resuscitation. The decreased PaO₂
276 at cord clamping further supports this hypothesis.

277 Our study has some limitations. During the experiment and intact cord resuscitation, the pregnant
278 ewes were anesthetized with isoflurane, which is known to reduce uterine muscle contraction by
279 inducing uterine relaxation by inhibiting voltage-dependent calcium channels in smooth muscle cells
280 [26]. This may have delayed normal placental delivery and contributed to the sustained placental
281 circulation. Despite requiring maternal anesthesia with halogenated gases, this strategy may ensure
282 adequate fetal oxygenation and CO₂ removal in severe pulmonary hypoplasia, in which increases in
283 tidal volume and pulmonary blood flow may be delayed in the newborn infants with CDH [24].

284 CONCLUSION AND PERSPECTIVES

285 Our results indicate that placental function is sustained for up to 1 h after birth during resuscitation
286 while the umbilical cord is kept intact in CDH lambs. Effective transplacental gas exchange requires
287 that post-ductal PaO₂ is low enough to promote O₂ transfer from the intervillous chamber to the
288 umbilical circulation. By contrast, elevation of PaO₂ reduces (or even reverses) the O₂ gradient within
289 the umbilical vessels and the intervillous chamber, which limits O₂ exchange through the placenta.

290 This study underscores the need to balance the risks and benefits of initiating resuscitation with an
291 intact umbilical cord. Maintaining the cord intact for a prolonged time in newborns with normal lung
292 function may impair systemic hemodynamics and oxygenation through placental circulation-induced
293 vascular steal and possible reverse transplacental O₂ transfer. Conversely, in newborns with CDH,
294 intact cord resuscitation can effectively sustain adequate oxygenation for at least 1 h. These findings
295 highlight the importance of individualized resuscitation strategies based on the specific clinical
296 conditions and underline the potential advantages of cord management tailored to the unique
297 physiological needs of different neonatal populations.

298 **Acknowledgments:** The authors would like to thank Thomas Hubert, Arnold Dive, Franck Stevendart
299 Michel Pottier, and Martin Fourdrinier, animal caregivers of the DHURE Lille North of France, for their
300 veterinary care and assistance for sheep anaesthesiology and surgery.

301 **Contributors**

302 Conception or design of the work: LS, DS, KLD, SM. Acquisition, analysis or interpretation of data for
303 the work: KLD, DS, LS, FM, CR, BT, PM, AW, CB. Drafting the work or revising it critically for important
304 intellectual content: KLD, LS, DS, SM, RB, GC, LG, CG.

305 **Funding:**

306 This research was supported by the Rare Disease Foundation (Fondation Maladies Rares) (grant
307 number FONDATION_LAM-RD_201802) and the national association of parents of children with
308 congenital diaphragmatic hernia (APEHDia)

309 **Competing interests :** None

310 **Patient consent for publication:** Not required.

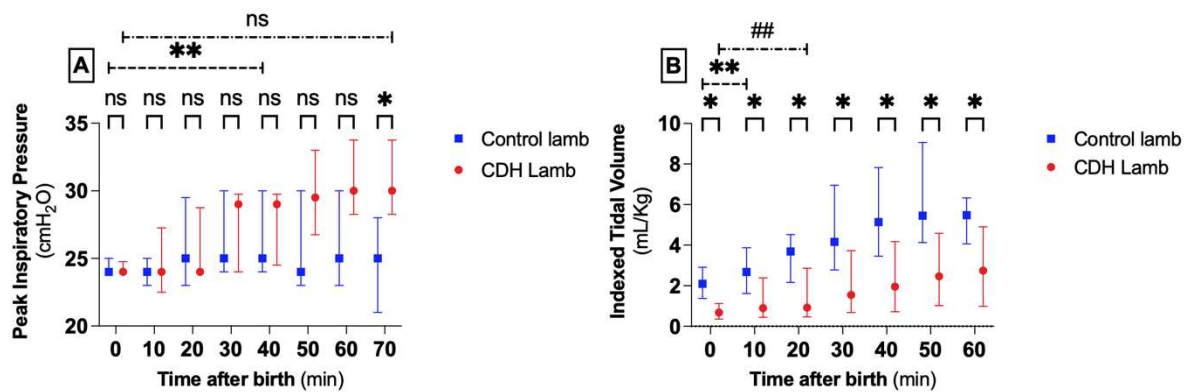
311 **Ethics approval and protocols:** All animal procedures and protocols used in this study (research
312 protocol number 13258-2017121218333678 v6) received prior approval from the French Ministry of
313 Education before the study was performed in the Department of Experimental Research at Lille
314 University (agreement number D5935010).

315

- 318 1 McDonald SJ, Middleton P. Effect of timing of umbilical cord clamping of term infants on
319 maternal and neonatal outcomes. In: The Cochrane Collaboration, ed. *Cochrane Database of*
320 *Systematic Reviews*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd 2008:CD004074.pub2.
- 321 2 Pratesi S, Montano S, Ghirardello S, *et al*. Placental Circulation Intact Trial (PCI-T)-
322 Resuscitation With the Placental Circulation Intact vs. Cord Milking for Very Preterm Infants: A
323 Feasibility Study. *Front Pediatr*. 2018;6:364. doi: 10.3389/fped.2018.00364
- 324 3 Rabe H, Gyte GM, Díaz-Rossello JL, *et al*. Effect of timing of umbilical cord clamping and other
325 strategies to influence placental transfusion at preterm birth on maternal and infant outcomes.
326 *Cochrane Database Syst Rev*. Published Online First: 17 September 2019. doi:
327 10.1002/14651858.CD003248.pub4
- 328 4 Mercer JS, Erickson-Owens DA, Vohr BR, *et al*. Effects of Placental Transfusion on Neonatal
329 and 18 Month Outcomes in Preterm Infants: A Randomized Controlled Trial. *J Pediatr*. 2016;168:50-
330 55.e1. doi: 10.1016/j.jpeds.2015.09.068
- 331 5 Fogarty M, Osborn DA, Askie L, *et al*. Delayed vs early umbilical cord clamping for preterm
332 infants: a systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol*. 2018;218:1–18. doi:
333 10.1016/j.ajog.2017.10.231
- 334 6 Bhatt S, Alison BJ, Wallace EM, *et al*. Delaying cord clamping until ventilation onset improves
335 cardiovascular function at birth in preterm lambs: Cardiovascular effects of umbilical cord clamping. *J*
336 *Physiol*. 2013;591:2113–26. doi: 10.1113/jphysiol.2012.250084
- 337 7 Storme L, Aubry E, Rakza T, *et al*. Pathophysiology of persistent pulmonary hypertension of
338 the newborn: Impact of the perinatal environment. *Arch Cardiovasc Dis*. 2013;106:169–77. doi:
339 10.1016/j.acvd.2012.12.005
- 340 8 Teitel DF, Iwamoto HS, Rudolph AM. Changes in the pulmonary circulation during birth-
341 related events. *Pediatr Res*. 1990;27:372–8. doi: 10.1203/00006450-199004000-00010
- 342 9 Harting MT, Lally KP. The Congenital Diaphragmatic Hernia Study Group registry update.
343 *Semin Fetal Neonatal Med*. 2014;19:370–5. doi: 10.1016/j.siny.2014.09.004
- 344 10 Lakshminrusimha S. The pulmonary circulation in neonatal respiratory failure. *Clin Perinatol*.
345 2012;39:655–83. doi: 10.1016/j.clp.2012.06.006
- 346 11 Farrar D, Airey R, Law GR, *et al*. Measuring placental transfusion for term births: weighing
347 babies with cord intact. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 2011;118:70–5. doi: 10.1111/j.1471-
348 0528.2010.02781.x
- 349 12 Kashyap AJ, Hodges RJ, Thio M, *et al*. Physiologically based cord clamping improves
350 cardiopulmonary haemodynamics in lambs with a diaphragmatic hernia. *Arch Dis Child - Fetal*
351 *Neonatal Ed*. 2020;105:18–25. doi: 10.1136/archdischild-2019-316906
- 352 13 Lefebvre C, Rakza T, Weslinck N, *et al*. Feasibility and safety of intact cord resuscitation in
353 newborn infants with congenital diaphragmatic hernia (CDH). *Resuscitation*. 2017;120:20–5. doi:
354 10.1016/j.resuscitation.2017.08.233
- 355 14 Le Duc K, Aubry E, Mur S, *et al*. Changes in Umbilico–Placental Circulation during Prolonged
356 Intact Cord Resuscitation in a Lamb Model. *Children*. 2021;8:337. doi: 10.3390/children8050337
- 357 15 Teillet B, Manœuvrier F, Rougraff C, *et al*. Intact cord resuscitation in newborns with
358 congenital diaphragmatic hernia: insights from a lamb model. *Front Pediatr*. 2023;11:1236556. doi:
359 10.3389/fped.2023.1236556
- 360 16 Karamanoukian HL, Glick PL, Wilcox DT, *et al*. Pathophysiology of congenital diaphragmatic
361 hernia XI: Anatomic and biochemical characterization of the heart in the fetal lamb CDH model. *J*
362 *Pediatr Surg*. 1995;30:925–9. doi: 10.1016/0022-3468(95)90314-3
- 363 17 Andersson O, Rana N, Ewald U, *et al*. Intact cord resuscitation versus early cord clamping in
364 the treatment of depressed newborn infants during the first 10 minutes of birth (Nepcord III) – a
365 randomized clinical trial. *Matern Health Neonatol Perinatol*. 2019;5:15. doi: 10.1186/s40748-019-

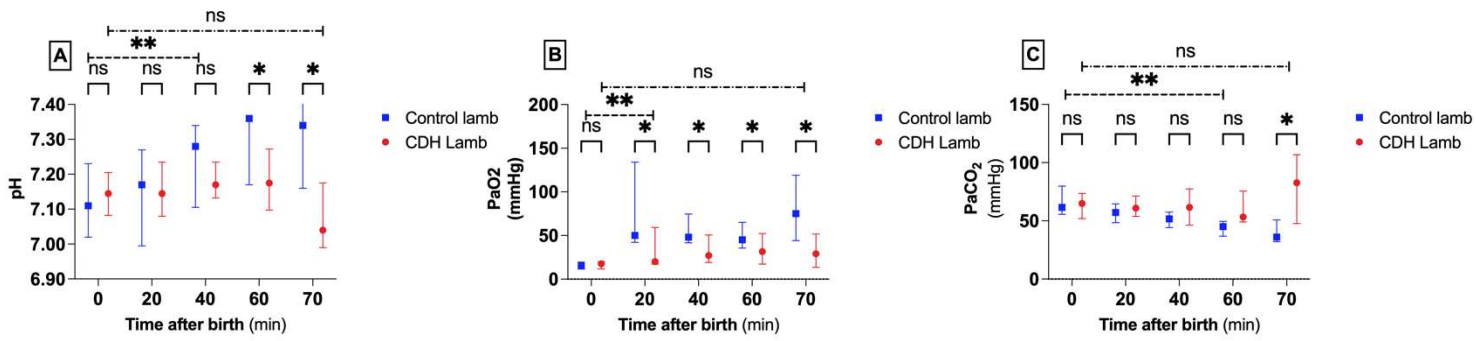
366 0110-z
367 18 Reynolds LP, Redmer DA. Angiogenesis in the Placenta1. *Biol Reprod*. 2001;64:1033–40. doi:
368 10.1095/biolreprod64.4.1033
369 19 Nye GA, Ingram E, Johnstone ED, *et al*. Human placental oxygenation in late gestation:
370 experimental and theoretical approaches. *J Physiol*. 2018;596:5523–34. doi: 10.1113/JP275633
371 20 Recher M, Prevost ALD, Sharma D, *et al*. Roles of parasympathetic outflow and sympathetic
372 outflow in the cardiovascular response to brief umbilical cord occlusion in fetal sheep. *PLoS One*.
373 2021;16:e0254155. doi: 10.1371/journal.pone.0254155
374 21 Sharma D, Aubry E, Ouk T, *et al*. Effects of Eicosapentaenoic Acid (EPA) and Docosahexaenoic
375 Acid (DHA) on Fetal Pulmonary Circulation: An Experimental Study in Fetal Lambs. *Nutrients*.
376 2017;9:761. doi: 10.3390/nu9070761
377 22 Kessler J, Rasmussen S, Hanson M, *et al*. Longitudinal reference ranges for ductus venosus
378 flow velocities and waveform indices. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet*
379 *Gynecol*. 2006;28:890–8. doi: 10.1002/uog.3857
380 23 Rudolph AM. *Congenital diseases of the heart: clinical-physiological considerations*. 3rd ed.
381 Chichester: Wiley-Blackwell 2009.
382 24 McGillick EV, Davies IM, Hooper SB, *et al*. Effect of lung hypoplasia on the cardiorespiratory
383 transition in newborn lambs. *J Appl Physiol*. 2019;127:568–78. doi: 10.1152/jappphysiol.00760.2018
384 25 Gien J, Palmer C, Liechty K, *et al*. Early Abnormalities in Gas Exchange in Infants with
385 Congenital Diaphragmatic Hernia. *J Pediatr*. 2022;243:188–92. doi: 10.1016/j.jpeds.2021.12.009
386 26 Yamakage M, Tsujiguchi N, Chen X, *et al*. Sevoflurane inhibits contraction of uterine smooth
387 muscle from pregnant rats similarly to halothane and isoflurane. *Can J Anesth Can Anesth*.
388 2002;49:62–6. doi: 10.1007/BF03020420
389

390 **Figures**

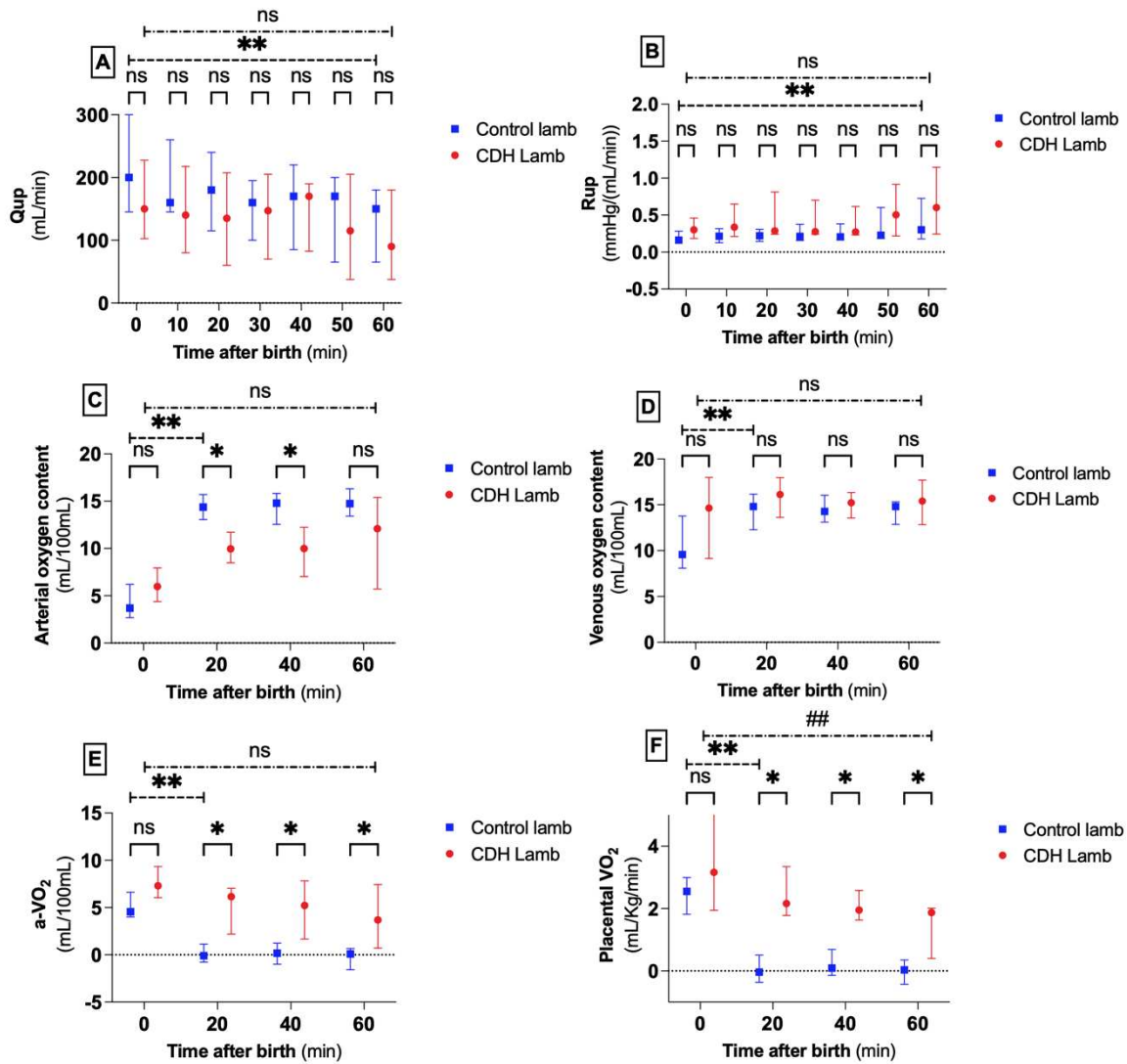


391

392 **Figure 1 Ventilatory parameters** (A) Peak inspiratory pressure, (B) Indexed to body weight tidal
393 volume. Red circles represent the CDH group (n=8) and blue squares represent the control group
394 (n=9). Results are expressed as median [IQR] * indicates significant differences between groups
395 (p<0.05), ** indicates the first significant difference between timepoints compared with 0 in the
396 control lamb (p<0.05), Double Hashtag (##) indicates the first significant difference between time
397 points compared with 0 in the CDH lamb (p<0.05).



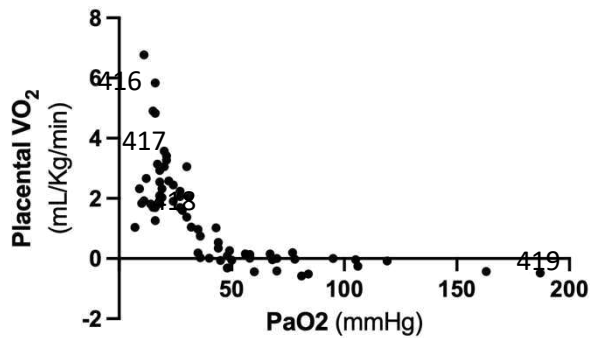
399 **Figure 2** Arterial Blood gases (A) pH, (B) PaO₂, (C) PaCO₂ over the first hour after delivery. Red circles
 400 represent the CDH group (n=8) and blue squares represent the control group (n=9). Results are
 401 expressed as median [IQR]. * indicates significant differences between groups (p<0.05), ** indicates
 402 the first significant difference between time points compared with M0 in the control lamb (p<0.05),
 403 ## indicates the first significant difference between time points compared with 0 in the CDH lamb
 404 (p<0.05).



406 **Figure 3** Placental hemodynamic and placental-to-fetal gas exchange (A) Umbilico-placental blood
407 flow (Q_{up}), (B) umbilico-placental vascular resistance (R_{up}), (C) Arterial oxygen content, (D) Venous
408 oxygen content, (E) Arteriovenous oxygen difference ($a-VO_2$), (F) Transplacental O_2 transfer
409 (placental VO_2) over the first hour after delivery. Red circles represent the CDH group ($n=8$) and blue
410 squares represent the control group ($n=9$). Results are expressed as median [IQR]. * indicates
411 significant differences between groups ($p<0.05$), ** indicates the first significant difference between
412 time points compared with 0 in the control lamb ($p<0.05$), ## indicates the first significant difference
413 between time points compared with M0 in the CDH lamb ($p<0.05$).

414

415



420

421 **Figure 4** Association between placental oxygen intake (placental VO_2) and post-ductal partial
422 pressure of arterial oxygen (PaO_2).

Partie 5. Efficacy of Intact Cord Resuscitation Compared to Immediate Cord Clamping on Cardiorespiratory Adaptation at Birth in Infants with Isolated Congenital Diaphragmatic Hernia (CHIC)




Cet article est publié dans la revue CHILDREN MDPI en 2021.

Citation: **Le Duc, K.**; Mur, S.; Rakza, T.; Boukhris, M.R.; Rousset, C.; Vaast, P.; Westlynk, N.; Aubry, E.; Sharma, D.; Storme, L. Efficacy of Intact Cord Resuscitation Compared to Immediate Cord Clamping on Cardiorespiratory Adaptation at Birth in Infants with Isolated Congenital Diaphragmatic Hernia (CHIC). *Children* **2021**, *8*, 339. <https://doi.org/10.3390/children8050339>

Cet article décrit le protocole de l'étude CHIC, financé par le PHRC-18-0234.

Study Protocol

Efficacy of Intact Cord Resuscitation Compared to Immediate Cord Clamping on Cardiorespiratory Adaptation at Birth in Infants with Isolated Congenital Diaphragmatic Hernia (CHIC)

Kévin Le Duc ^{1,2,3,*} , Sébastien Mur ^{2,3} , Thameur Rakza ^{2,3}, Mohamed Riadh Boukhris ^{2,3} , Céline Rousset ^{2,3}, Pascal Vaast ^{3,4}, Nathalie Westlynk ⁴, Estelle Aubry ^{1,3,5}, Dyuti Sharma ^{1,3,5} and Laurent Storme ^{1,2,3}

¹ ULR2694 Metrics-Perinatal Environment and Health, University of Lille, 59000 Lille, France; estelle.aubry@chru-lille.fr (E.A.); dyuti.sharma@chru-lille.fr (D.S.); laurent.storme@chru-lille.fr (L.S.)

² Department of Neonatology, Jeanne de Flandre Hospital, Centre Hospitalier Universitaire de Lille, 59000 Lille, France; sebastien.mur@chru-lille.fr (S.M.); Thameur.RAKZA@chru-lille.fr (T.R.); riadh.boukhris@chru-lille.fr (M.R.B.); Celine.rousset@chru-lille.fr (C.R.)

³ Center for Rare Disease Congenital Diaphragmatic Hernia, Jeanne de Flandre Hospital, Centre Hospitalier Universitaire de Lille, 59000 Lille, France; pascal.vaast@chru-lille.fr

⁴ Department of Obstetrics, Jeanne de Flandre Hospital, Centre Hospitalier Universitaire de Lille, 59000 Lille, France; nathalie.westlynk@chru-lille.fr

⁵ Department of Pediatric Surgery, Jeanne de Flandre Hospital, Centre Hospitalier Universitaire de Lille, 59000 Lille, France

* Correspondence: kevin.leduc@chru-lille.fr; Tel.: +33-32-044-6199



Citation: Le Duc, K.; Mur, S.; Rakza, T.; Boukhris, M.R.; Rousset, C.; Vaast, P.; Westlynk, N.; Aubry, E.; Sharma, D.; Storme, L. Efficacy of Intact Cord Resuscitation Compared to Immediate Cord Clamping on Cardiorespiratory Adaptation at Birth in Infants with Isolated Congenital Diaphragmatic Hernia (CHIC). *Children* **2021**, *8*, 339. <https://doi.org/10.3390/children8050339>

Academic Editor: Simone Pratesi

Received: 31 March 2021

Accepted: 22 April 2021

Published: 26 April 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Resuscitation at birth of infants with Congenital Diaphragmatic Hernia (CDH) remains highly challenging because of severe failure of cardiorespiratory adaptation at birth. Usually, the umbilical cord is clamped immediately after birth. Delaying cord clamping while the resuscitation maneuvers are started may: (1) facilitate blood transfer from placenta to baby to augment circulatory blood volume; (2) avoid loss of venous return and decrease in left ventricle filling caused by immediate cord clamping; (3) prevent initial hypoxemia because of sustained uteroplacental gas exchange after birth when the cord is intact. The aim of this trial is to evaluate the efficacy of intact cord resuscitation compared to immediate cord clamping on cardiorespiratory adaptation at birth in infants with isolated CDH. The Congenital Hernia Intact Cord (CHIC) trial is a prospective multicenter open-label randomized controlled trial in two balanced parallel groups. Participants are randomized either immediate cord clamping (the cord will be clamped within the first 15 s after birth) or to intact cord resuscitation group (umbilical cord will be kept intact during the first part of the resuscitation). The primary end-point is the number of infants with APGAR score <4 at 1 min or <7 at 5 min. One hundred eighty participants are expected for this trial. To our knowledge, CHIC is the first study randomized controlled trial evaluating intact cord resuscitation on newborn infant with congenital diaphragmatic hernia. Better cardiorespiratory adaptation is expected when the resuscitation maneuvers are started while the cord is still connected to the placenta.

Keywords: intact cord resuscitation; delivery room resuscitation; congenital diaphragmatic hernia

1. Introduction

Congenital Diaphragmatic Hernia (CDH) is a rare disease (1/3000 pregnancies) caused by diaphragmatic defect with ascension of the abdominal content into the thoracic cavity. Pulmonary consequences of CDH present a broad spectrum of severity [1]. Despite major improvement in neonatal intensive care, mortality and morbidity related to failure of transition at birth remain high with a mortality rate between 20 to 40% [2]. Failure of transition at birth results from persistent pulmonary hypertension (PPHN) and is almost a universal finding in CDH [3,4]. There is an urgent need for additional research in order to promote cardiorespiratory adaptation at birth.

The CDH EURO Consortium proposes intubating newborn infants with CDH immediately after birth to limit PPHN [5]. Treatment in the delivery room is directed at reaching an adequate oxygenation while avoiding high airway pressures. Low peak pressures are given to avoid lung damage to the hypoplastic and contralateral lung [4]. Resuscitation at birth remains highly challenging because of severe failure of cardiorespiratory adaptation at birth. Despite the recommendations, aggressive resuscitation is often applied because the baby is frequently cyanotic and bradycardic as soon as the umbilical cord is sectioned. Pneumothoraces—a marker of barotrauma—can occur early after starting the resuscitation maneuvers and is associated with high mortality rate [6]. A postmortem CDH study has shown that the high mortality in CDH can be partially attributed to pulmonary barotrauma causing damage to hypoplastic lungs [7]. Therefore, the immediate postnatal period of resuscitation represents a window of extreme vulnerability of the baby with CDH, conditioning the short- and long-term outcome.

Traditionally, the umbilical cord is clamped and cut immediately after birth. Clamping the umbilical cord immediately increases systemic peripheral resistance, resulting in an increase in arterial pressure (afterload). However, as the placental circulation receives 30–50% of fetal cardiac output, cord clamping transiently reduces venous return (by 30–50%), which, combined with the increase in afterload, decreases cardiac output [8]. Following cord clamping, umbilical venous return is lost and left ventricular output becomes dependent on pulmonary blood flow, as in adults. Any delay between umbilical cord clamping and the increase in pulmonary blood flow could therefore severely affect left ventricular output and potentially result in organ injury. In CDH infant, increase in pulmonary blood flow is delayed after birth because of PPHN. These changes may significantly impact on cardiac function after clamping of the cord.

In 2015, the International Liaison Committee on Resuscitation (ILCOR) recommended that the cord should not be cut for at least 1 to 3 min after birth in infants not requiring resuscitation [9]. This recommended change in practice is to facilitate blood transfer from placenta to baby to reduce iron deficiency and later anemia in the full-term newborn infant. In the same way, meta-analysis indicate that delayed cord clamping in the preterm infant increases circulating volume and improves blood pressure, reduces the need for blood transfusion, risk of intraventricular hemorrhage and necrotizing enterocolitis [10,11].

The ex-utero intrapartum treatment (EXIT) procedure has been proposed during a variety of surgical procedures, mainly cervical mass resection, performed at birth to secure the fetal airway or ensure successful transition to postnatal environment [12]. The aim of the EXIT procedure is to maintain placental gas exchange while steps are taken to optimize the transition of the newborn infant from fetal to neonatal life.

Preliminary Data Obtained

We have shown in three previous studies in normal newborn lambs and in newborn lambs with PPHN that blood gases did not change 30 min after birth despite lack of breathing compared to the blood gases obtained before birth [13–15].

We also evaluated the safety, feasibility and impacts of intact cord resuscitation (ICR) on cardiorespiratory adaptation at birth in newborn infants with CDH in a prospective pilot study [16].

Resuscitation before cord clamping was possible for all infants in the ICR group. The cord was clamped at 7 ± 3 min after birth. No increase in maternal or neonatal adverse events was observed during the period of ICR.

A multicenter randomized clinical study is required to confirm the benefit of intact cord resuscitation in CDH infants on cardiorespiratory adaptation at birth. To know whether intact cord resuscitation improves initial cardiorespiratory adaptation at birth is a major issue.

2. Materials and Methods

2.1. Objectives

2.1.1. Primary Endpoints

The primary endpoint is the rate of infants with APGAR score < 4 at 1 min or < 7 at 5 min.

This primary objective is to show the efficacy of intact cord resuscitation compared to immediate cord clamping on cardiorespiratory adaptation at birth in full term newborn infants with isolated CDH. APGAR score is used to assess cardiorespiratory adaptation at birth. APGAR score is based on clinical assessment of color, heart rate, grimace, muscle tone, and respiratory effort. It is used worldwide by neonatal caregivers, both as a measure of the infant's clinical status as well as a measure of the infant's response to resuscitation. APGAR score can be assessed during resuscitation maneuvers, including intubation. Slight inter-observer variation may exist in intubated baby mainly due to lack of standardization of scoring respiratory effort states. In order to limit inter-observer variability, we will standardize respiratory effort scoring as previously reported [17]. In order to optimize APGAR scoring, each of its five items will be recorded by two observers. A timer is switched on at birth. Apgar will be assessed at 1, 5 and 10 min.

APGAR is universally recognized as a major prognostic variable of neonatal outcome [18]. More specifically, APGAR scoring remains the main early predictor for mortality in isolated CDH infant [19]. Low APGAR score (< 7 at 5 min) is associated with an increased risk of death (OR 2.7 (1.9–4)) in a cohort of 2202 infants with CDH.

2.1.2. Secondary Endpoints

The secondary objectives of the studies are as follows:

1. To ensure maternal safety of the procedure, blood loss will be carefully monitored after birth. A graduated collector bag for blood, placed under the woman's buttocks just after delivery of the child, will be used systematically to measure the blood lost through the vagina in the immediate postpartum period. This bag will be left in place at least for 15 min. The following maternal safety endpoints will be assessed:
 - Frequency of postpartum hemorrhage (PPH) defined by blood loss ≥ 500 mL;
 - Frequency of severe PPH, defined by measured blood loss ≥ 1000 mL;
 - Blood loss volume at 15 min after birth;
 - Total postpartum blood loss volume (at bag removal);
2. To assess the effect of intact cord resuscitation compared to immediate cord clamping on cardiorespiratory adaptation of infants after birth, the following secondary endpoints will be assessed:
 - Frequency of infants with the need for epinephrine administration and/or fluid resuscitation;
 - Frequency of infants with the need for chest compressions;
 - Pre-ductal SpO₂, and heart rate at 1, 5, and 10 min after birth: a pulse oxymeter sensor will be placed at the right hand as soon as possible (within the first minute after birth), which then will be connected to a pulse oxymeter;
 - Blood gases and plasma lactate concentration at one hour after birth (H1): these quantitative variables can be considered as objective markers of early cardiorespiratory adaptation at birth.
 - Blood gases, pre- and postductal SpO₂, lactate, FiO₂ set to obtain preductal SpO₂ 90–94%, ventilatory parameters (peak inspiratory pressure, respiratory rate), heart rate, blood pressure, and urine output at H1, H24, H48, H72, D7, D28;
 - Volume of fluid resuscitation during the first 24 h;
 - Frequency of infants with the need for vasoactive drugs during the first 24 h;
 - Frequency of infants with the need for pulmonary vasodilator during the first 24 h;
 - Hemoglobin concentration at H24;
 - Echocardiographic parameters (left and right mean blood flow velocities, pulmonary artery pressure) at H6, H24, H48, D7, D28;

3. To assess the effect of intact cord resuscitation compared to immediate cord clamping on infants' mortality and morbidity, we choose to assess the number of free-days from medical support in order to address the effect of mortality on the assessment of morbidity. Because of the randomization process, we can assume that the two groups will be similar in term of severity. In the hypothesis that intact cord resuscitation decreases the mortality, it means that more severe CDH infant may survive, which may in turn increase the apparent morbidity. In case of death, the number of free-days from medical support is zero, which will not modify the number of free-days from medical support in the surviving population. Therefore, the following secondary end-points will be assessed:
 - Infant mortality rate at 90-day after birth;
 - Infant morbidity outcomes assessed within the first 90 days after birth:
 - mechanical ventilation free-days (defined as days alive and free of mechanical ventilation from birth to 90 days),
 - extracorporeal membranous oxygenation free-days (defined as days alive and free of extracorporeal membranous oxygenation from birth to 90 days)
 - pulmonary vasodilator treatment free-days (defined as days alive and free of pulmonary vasodilator treatment including inhaled NO, sildenafil, prostacyclin analog, bosentan from birth to 90 days),
 - O₂ supplementation free-days (defined as days alive and free of O₂ supplementation including non-invasive respiratory support from birth to 90 days),
 - parenteral nutrition free-days (defined as days alive and free of parenteral nutrition from birth to 90 days)
 - Total duration of hospitalization,
4. To assess parental acceptability and psychological impact of starting resuscitation while the cord is intact as compared to the immediate cord clamping group:
 - Number of refusals to participating with the protocol: the reasons for refusal will be recorded (do not want to participate to a research protocol, to not want to be randomized in the immediate cord clamping group, to not want to be randomized in the intact cord resuscitation group);
 - Anxiety and depression level assessed by Hospital Anxiety and Depression Scale, HADS. HADS is an auto-questionnaire translated in French, including seven questions to assess anxiety and seven questions to assess depression. HADS questionnaire lasts 3 to 6 min, and is mostly well accepted. Both parents will be requested to answer the questionnaire within the first 3 days after birth, in a calm and neutral room at the maternity ward. Psychologist in charge of the parents will be informed of the results of the test to adapt family support if required;
 - Semi-structured interviews will be proposed by a psychologist to the parents whatever the issue, at the end of the study period (90 ± 7 days after birth) to assess their personal experience of the resuscitating period at birth, including both early/delayed cord clamping and close/remote resuscitation maneuvers. The interviews tape recordings will be transcribed and then analyzed using thematic coding. The anonymized data will be independently coded by three researchers and compared for consistency of interpretation. The themes that emerged following the final coding will be used for a qualitative analysis of the parental verbatim;

2.2. Trial Design

This is a prospective multicenter open-label randomized controlled trial in two balanced parallel groups.

2.3. Inclusion Criteria

Antenatal diagnosis of CDH

No severe additional malformation or chromosomal diseases

Full term (>36 weeks gestational age)

No inclusion in another antenatal trial

Written informed consents from the parents

The fetuses which required Fetoscopic Endoluminal Tracheal Occlusion (FETO procedure) will also be included in the study.

2.4. Exclusion Criteria

Preterm birth before 37 weeks gestational age

Other severe malformation(s) or chromosomal diseases

Need for emergency cesarean section (“red code”)

Twin pregnancy

Postnatal diagnosis of additional severe malformation(s) or chromosomal diseases

2.5. Study Organization

After assessing the inclusion and exclusion criteria, the parents will be informed of the study protocol and the intact cord resuscitation procedure (between 22- and 36-weeks gestational age). The written parental consents are requested before 37 weeks gestational age. A web-based randomization with electronic case-report form (eCRF) system is performed at admission for delivery at the maternity ward. Prenatal o/e LHR on ultrasounds and lung volumetry on fetal MRI allow to classify patients in according the severity of the CDH (mild, moderate, severe and extremely severe) [20,21]. Randomization is stratified according to center, and four antenatal severity subgroups defined by ultrasound lung-to-head ratio Observed/Expected and liver position (Extreme <15%, Severe 15–25%, Moderate 25–45%, and Mild >45%).

The infants with CDH will be included in the study and randomized in one of the two groups. Severity subgroups is considered as a stratified factor in randomization. A dynamic randomization procedure using the Pocock and Simon minimization method is used [22]. Whatever the group of randomization, the national guidelines [23,24] for resuscitation maneuvers in the delivery room will be applied similarly in both groups. Except the timing of cord clamping, the overall management including the resuscitation maneuvers in the delivery room (intact cord resuscitation group) or resuscitation room (early cord clamping group), and organization of the follow-up will be similar in both groups. In particular, the main resuscitation maneuvers at birth are:

- The newborn infant should be intubated routinely without bag and mask ventilation, with an endotracheal tube 3.5 mm;
- Ventilation in the delivery room should be done with a peak pressure below 25 cmH₂O, and an initial FiO₂ = 1;
- The goal of treatment in the delivery room is achieving heart rate > 120 beats/min and increasing preductal SpO₂ or achieving acceptable preductal SpO₂ targets between 80 and 95%;
- An oro- or nasogastric tube with continuous or intermittent suction should be placed;
- Group 1: Immediate cord clamping with transfer to the resuscitation room

In the immediate cord clamping group, the cord will be clamped within the first 20 s after birth and the infant will be transferred to the resuscitation room. The newborn infant will be intubated and mechanically ventilated as quickly as possible on the resuscitation table as recommended in the Programme National de Soins. After cardiorespiratory stabilization (heart rate > 120/min, increasing preductal O₂ saturation or achieving acceptable preductal SpO₂ targets between 80 and 95%), the infant will be transferred to the neonatal intensive care unit (NICU). Oxytocin is infused to the mother as recommended in the local protocol (usually just after birth or cord clamping).

- Group 2: Intact cord resuscitation with resuscitation maneuvers performed on a dedicated trolley placed close to the mother

In the intact cord resuscitation group, the umbilical cord will be kept intact during the initial phase of the resuscitation. The infant will be placed on a specifically designed compact trolley with a warmed platform, suitable for commencing resuscitation between the mother’s legs in case of vaginal birth or near the operating table beside the mother in case of cesarean section. This trolley will be fully equipped for resuscitation, including a suction device, gas flowmeter/blender, ventilator, and monitoring system. Its height can be adjusted to position the infant close to the maternal perineum. The infant will be intubated and mechanically ventilated on this trolley; special care will be taken to prevent stretching, compression, or kinking of the cord. The cord will be clamped after cardiorespiratory stabilization will be obtained (heart rate > 120/min, increasing preductal O2 saturation or achieving acceptable preductal SpO2 targets between 80 and 95%) or in case of spontaneous placental expulsion. Oxytocin is infused to the mother just after cord clamping. The infant will be then transferred to the NICU. See Figure 1 “Study organization”.

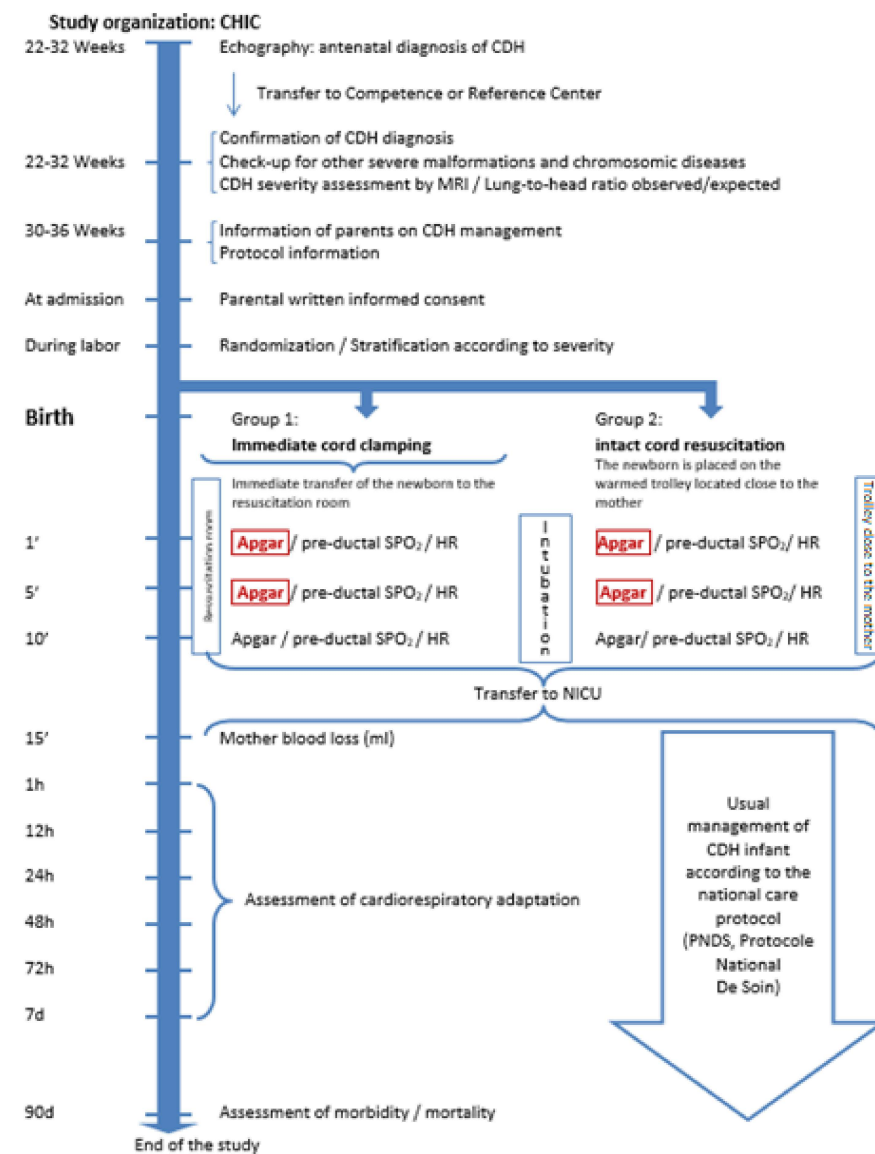


Figure 1. Study organization. Congenital Diaphragmatic Hernia (CDH); Congenital Hernia Intact Cord (CHIC); Blood oxygen saturation (SpO₂); Heart Rate (HR); Neonatal Intensive Care Unit (NICU).

2.6. Interventions

Except the timing of cord clamping, the national guidelines will be applied during the course of the prenatal and postnatal management.

Some differences with usual care during implementation of the protocol are as follows:

- Here is a photograph of the trolley (LifeStart, Inspiration Healthcare, Great Britain) (Figure 2):



Figure 2. The resuscitation table Lifestart is easily maneuverable, with ergonomic top for placement of the baby. It is equipped with a neonatal warming system, a built-in timer that tracks clamping delay, and a suction device. The baby is warmed from under the patient, ensuring that there is no impediment to resuscitation maneuvers. The electrically operated raising and lowering mechanism allows the nursing platform to be easily positioned at the optimal height for each individual situation and adjusted as necessary. All the resuscitation equipment can be positioned close to the mother and adapted for all types of delivery: natural; assisted; or caesarean section.

- In both groups, although APGAR score is routinely assessed in every baby at 1 and 5 mn, special care will be taken to optimize scoring taken into account the fact that most infants with CDH are intubated at 5 min. APGAR score can be assessed during resuscitation maneuvers, including intubation. Slight inter-observer variation may exist in intubated baby mainly due to lack of standardization of scoring respiratory effort states [22]. In order to limit inter-observer variability, we will standardize respiratory effort scoring as previously reported [22]:
- an infant who is apneic and requires intubation and ventilation should receive the minimum value of 0 for respiratory effort;
- an infant who requires artificial ventilation at birth due to irregular or shallow ventilation should score 1;
- To assess whether an artificially ventilated infant is apnoeic or not, ventilation should be stopped briefly, when possible, to check for the presence of spontaneous respiratory movements (apneic, score = 0; irregular or shallow ventilation, score 1; spontaneous effective ventilation, score 2).

- Preductal SpO₂ and heart rate are routinely assessed in every baby with CDH. They will be recorded at 1, 5 and 10 min after birth in both groups.
- Blood gases and lactate concentration are routinely assessed in every baby with CDH. These parameters will be recorded at H1, H12, H24, H48, H72, D7, D28, in both groups. Compared with usual care, no additional blood samples are required for the protocol;
- In both groups, although noninvasive echocardiography is routinely assessed in every baby with CDH, left and right mean blood flow velocities, pulmonary artery pressure will be recorded at H6, H24, H48, D7, D28. Compared with usual care, no additional echocardiography is required for the protocol;
- Acceptability by the parents and psychological impact of intact cord resuscitation will be assessed using a questionnaire and a semi-directive interview.

2.7. Criteria for Discontinuation of the Procedure

The healthcare providers (obstetrician, midwives, anesthetist, and pediatrician) in charge of the baby or the mother may stop the procedure—i.e., clamp the cord—if they judge it is required for the safety of the patient. The reason for stopping the procedure and the timing at cord clamping will be recorded. In that case, the patient is not excluded from the study and the variable is recorded as planned in the protocol. The patient data are analyzed according to intention to treat principle.

The follow-up of the infants is planned till the age of 3 months (90 days), corresponding to the last visit. If the patient is transferred in another hospital, the variable will be recorded till the age of 3 months.

2.8. Sample Size Calculation

The primary objective is to show the superiority of intact cord resuscitation (experimental group) compared to immediate cord clamping (control group) to improve cardiorespiratory adaptation at birth of CDH infant. The primary endpoint is defined as the rate of infants with low APGAR score, defined by a APGAR score < 4 at 1 min or <7 at 5 min of life. On the basis of literature, we expected that 37% of CDH infant in control arm will have a low APGAR score. To show a 50% relative reduction (corresponding to a rate of 18.5% in experimental group), with a type I error of 5% (two-sided test), and a power of 80%, we calculated that 90 subjects (mother/infant) per group are needed, which means a total of 180 subjects.

2.9. Statistical Analysis Plan

Statistical analyses will be independently performed by the Biostatistics Department of University of Lille under the responsibility of Professor Alain Duhamel. For the data analysis, statisticians will be unaware of the treatment group allocation. Data will be analyzed using the SAS software (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) and all statistical tests will be performed with a two-tailed alpha risk of 0.05. All analyses will be performed in all randomized patients based on their original group of randomizations, according to the intention-to-treat principle. No interim analysis will be performed. A detailed statistical analysis plan will be written and finalized prior to the database lock.

Baseline characteristics will be described for each group. Quantitative variables will be expressed as mean (standard deviation), or median (interquartile range) for non-Gaussian distribution. Categorical variables will be expressed as frequencies and percentages. Normality of distribution will be assessed graphically and using the Shapiro–Wilk test.

2.10. Data Safety Monitoring Board

The Data and Safety Monitoring Board (DSMB) is an independent consultative board asked to express an opinion to the sponsor of the study on the benefit/risk ratio and the management of the clinical trial.

A DSMB will be set up, composed of the following members, at least: two pediatricians, two obstetricians, one anesthetist, and one methodologist.

Its members will not participate in the study and will be independent from the investigation centers. They will be nominated by the sponsor of the study and will participate as volunteers in the respect of confidentiality of the data.

The DSMB will analyze the management of the study as well as its benefit/risk exposure and might recommend to stop the study in certain circumstances:

- If the number of Serious Adverse Event (SAE) within the first 24 h after birth is twice higher in the “intact cord resuscitation” group after the inclusion of 30 patients,
- If the DSMB judges that a reported SAE caused by the procedure requires to stop the study,
- If inclusion rate is less than 25% of the total inclusion objectives, 24 months after starting the inclusion in the study. The board will meet after the inclusion of 30, 90 and 150 patients, to address those points, but it could be summoned on other circumstances:
- If a mother’s death occurs within three months after she gave birth to her child,
- At the request of any PI involved in the study.

3. Results

Presently, 11 centers are participating to the study: two additional centers are expected to include CDH infants. The first center started enrolling patients for 6 months. At the present time, 10 patients have been recruited. For now, parental consents have been obtained in all cases. Recruitment is expected to be completed by December 2023.

4. Discussion

Resuscitation at birth of infants with congenital diaphragmatic hernia remains highly challenging because of severe failure of cardiorespiratory adaptation at birth.

The traditional approach in the delivery room is immediate cord clamping followed by intubation. Initiating resuscitation prior to umbilical cord clamping (UCC) may support this transition, to avoid the loss of venous return and decrease in left ventricle filling caused by cord clamping, ideally increase in pulmonary blood flow should precede cord clamping. This would enable pulmonary venous return to replace umbilical venous return as the primary source for left ventricle preload and to minimize swings in left ventricular output caused by cord clamping. In infants with CDH, the cord is clamped while the pulmonary blood flow is still low.

Evidence indicates that utero-placental gas exchange continues after birth when the cord is intact. A previous experimental study in newborn lambs showed that heart rates and right ventricle output were markedly decreased within 120 s of cord clamping. In contrast, if umbilical cord clamping was delayed until after ventilation had commenced, these large changes in heart rate, arterial pressures and flows were greatly reduced, resulting in a much more stable cardiovascular transition after birth [25,26]. We hypothesize that delayed cord clamping allows time for the infant to aerate its lungs and increase pulmonary blood flow before venous return from the placental circulation is lost.

Preliminary study has demonstrated the feasibility of intact cord resuscitation. Starting mechanical ventilation of the infant newborn with congenital diaphragmatic hernia before clamping the cord allowed a potential benefit to improved blood pressure at 1 h of life compared to those resuscitated traditionally [27].

Lefebvre et al. demonstrated that Intact cord resuscitation was associated with higher APGAR scores at 1 and 5 min after birth. The pH was higher and the plasma lactate concentration was significantly lower at one hour after birth in the intact cord resuscitation than in the immediate cord clamp group (pH = 7.17 ± 0.1 vs. 7.08 ± 0.2; lactate = 3.6 ± 2 vs. 6.6 ± 4 mmol/L, $p < 0.05$). Mean blood pressure was significantly higher in the intact cord resuscitation than in the immediate cord clamp group at H1 (52 ± 7 vs. 42 ± 7 mmHg), H6 (47 ± 3 vs. 40 ± 5 mmHg) and H12 (44 ± 2 vs. 39 ± 3 mmHg) ($p < 0.05$). Therefore, commencing resuscitation and initiating ventilation while the infant is still attached to

the placenta is feasible in infants with CDH. The procedure is safe, and may support the cardiorespiratory transition at birth in infants with CDH [16].

To our knowledge, CHIC trial is the first prospective multicenter randomized controlled trial to assess the impact of delayed cord clamping during resuscitation of newborn infant with congenital diaphragmatic hernia. Future publication on the primary and secondary results of the CHIC trial study will make a substantial contribution to this important orientation of research and the results will provide clear evidence on the impact of delayed cord clamping during resuscitation of the newborn infant with congenital diaphragmatic hernia.

Author Contributions: Conceptualization, L.S., T.R. and S.M.; Funding acquisition: L.S.; Project Administration, C.R.; writing—original draft preparation, K.L.D.; writing—review and editing, L.S., K.L.D., C.R. and S.M.; Investigation, S.M., K.L.D., M.R.B., L.S., T.R., P.V., N.W., E.A. and D.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received funding from DGOS (the French national medical and care ministry), grant number PHRC-18-0234.

Institutional Review Board Statement: This project was reviewed and managed by the Lille's University Public Hospital Review Board and is conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and received: CPP (Ethics Committee) approval on 09/03/2019, ANSM authorization on 07/30/2019, CNIL attestation on 06/24/2019 and contracted insurance on 05/14/2019 (Protocol code: IDRCB #3019-A01030-57). The Clinical Trials.gov identifier of this study is: NCT04429750. Recruitment starting date: October 2020. Trial status: Recruiting. Recruitment began on September 2020 and is expected to be completed September 2023.

Informed Consent Statement: For this research, a written informed consent is obtained from all subjects involved in the study.

Acknowledgments: We acknowledge the Data Safety Monitoring Board of this study; EuroCare-France for its participation and collaboration; implication and contribution of team members of all the participating hospitals including: obstetricians, anesthetists, pediatricians, surgeons, clinical research data set technicians. Florence Nosal for her help in funding acquisition. Eloise Dewuite for her help in project administration. Alain Duhamel and Julien Labreuche for their help in methodologic design of the study. Florence Flamein for her help in project management and investigation. Principal investigators engaged in this study: Beuchee Alain, Boubred Farid, Cambonie Gilles, Claris Olivier, Flamant Cyril, Kermorvant Elsa, Mokhtari Mostafa, Savey Baptiste, Tandonnet Olivier, Tourneux Pierre.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Skari, H.; Bjornland, K.; Haugen, G.; Egeland, T.; Emblem, R. Congenital Diaphragmatic Hernia: A Meta-Analysis of Mortality Factors. *J. Pediatric Surg.* **2000**, *35*, 1187–1197. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Congenital Diaphragmatic Hernia Study Group; Morini, F.; Valfrè, L.; Capolupo, I.; Lally, K.P.; Lally, P.A.; Bagolan, P. Congenital Diaphragmatic Hernia: Defect Size Correlates with Developmental Defect. *J. Pediatric Surg.* **2013**, *48*, 1177–1182. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Storme, L.; Aubry, E.; Rakza, T.; Houeijeh, A.; Debarge, V.; Tourneux, P.; Deruelle, P.; Pennaforte, T. Pathophysiology of Persistent Pulmonary Hypertension of the Newborn: Impact of the Perinatal Environment. *Arch. Cardiovasc. Dis.* **2013**, *106*, 169–177. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Bohn, D. Congenital Diaphragmatic Hernia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2002**, *166*, 911–915. [[CrossRef](#)]
- Snoek, K.G.; Reiss, I.K.M.; Greenough, A.; Capolupo, I.; Urlesberger, B.; Wessel, L.; Storme, L.; Deprest, J.; Schaible, T.; van Heijst, A.; et al. Standardized Postnatal Management of Infants with Congenital Diaphragmatic Hernia in Europe: The CDH EURO Consortium Consensus—2015 Update. *Neonatology* **2016**, *110*, 66–74. [[CrossRef](#)]
- Usui, N.; Nagata, K.; Hayakawa, M.; Okuyama, H.; Kanamori, Y.; Takahashi, S.; Inamura, N.; Taguchi, T. Pneumothoraces As a Fatal Complication of Congenital Diaphragmatic Hernia in the Era of Gentle Ventilation. *Eur. J. Pediatric Surg.* **2013**, *24*, 031–038. [[CrossRef](#)]
- Sakurai, Y.; Azarow, K.; Cutz, E.; Messineo, A.; Pearl, R.; Bohn, D. Pulmonary Barotrauma in Congenital Diaphragmatic Hernia: A Clinicopathological Correlation. *J. Pediatric Surg.* **1999**, *34*, 1813–1817. [[CrossRef](#)]

8. Crossley, K.J.; Allison, B.J.; Polglase, G.R.; Morley, C.J.; Davis, P.G.; Hooper, S.B. Dynamic Changes in the Direction of Blood Flow through the Ductus Arteriosus at Birth: Blood Flow through the Ductus Arteriosus at Birth. *J. Physiol.* **2009**, *587*, 4695–4704. [[CrossRef](#)]
9. Wyckoff, M.H.; Aziz, K.; Escobedo, M.B.; Kapadia, V.S.; Kattwinkel, J.; Perlman, J.M.; Simon, W.M.; Weiner, G.M.; Zaichkin, J.G. Part 13: Neonatal Resuscitation: 2015 American Heart Association Guidelines Update for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care. *Circulation* **2015**, *132*, S543–S560. [[CrossRef](#)]
10. Rabe, H.; Gyte, G.M.; Díaz-Rossello, J.L.; Duley, L. Effect of Timing of Umbilical Cord Clamping and Other Strategies to Influence Placental Transfusion at Preterm Birth on Maternal and Infant Outcomes. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2019**. [[CrossRef](#)]
11. Fogarty, M.; Osborn, D.A.; Askie, L.; Seidler, A.L.; Hunter, K.; Lui, K.; Simes, J.; Tarnow-Mordi, W. Delayed vs Early Umbilical Cord Clamping for Preterm Infants: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2018**, *218*, 1–18. [[CrossRef](#)]
12. Cass, D.L.; Olutoye, O.O.; Cassady, C.I.; Zamora, I.J.; Ivey, R.T.; Ayres, N.A.; Olutoye, O.A.; Lee, T.C. EXIT-to-Resection for Fetuses with Large Lung Masses and Persistent Mediastinal Compression near Birth. *J. Pediatric Surg.* **2013**, *48*, 138–144. [[CrossRef](#)]
13. Houeijeh, A.; Tourneux, P.; Mur, S.; Aubry, E.; Viard, R.; Sharma, D.; Storme, L. Lung Liquid Clearance in Preterm Lambs Assessed by Magnetic Resonance Imaging. *Pediatric Res.* **2017**, *82*, 114–121. [[CrossRef](#)]
14. Viard, R.; Tourneux, P.; Storme, L.; Girard, J.-M.; Betrouni, N.; Rousseau, J. Magnetic Resonance Imaging Spatial and Time Study of Lung Water Content in Newborn Lamb: Methods and Preliminary Results. *Investig. Radiol.* **2008**, *43*, 470–480. [[CrossRef](#)]
15. Jaillard, S.; Elbaz, F.; Bresson-Just, S.; Riou, Y.; Houfflin-Debarge, V.; Rakza, T.; Larrue, B.; Storme, L. Pulmonary Vasodilator Effects of Norepinephrine during the Development of Chronic Pulmonary Hypertension in Neonatal Lambs. *Br. J. Anaesth.* **2004**, *93*, 818–824. [[CrossRef](#)]
16. Lefebvre, C.; Rakza, T.; Weslinck, N.; Vaast, P.; Houfflin-debarge, V.; Mur, S.; Storme, L. Feasibility and Safety of Intact Cord Resuscitation in Newborn Infants with Congenital Diaphragmatic Hernia (CDH). *Resuscitation* **2017**, *120*, 20–25. [[CrossRef](#)]
17. Lopriore, E.; van Burk, G.F.; Walther, F.J.; de Beaufort, A.J. Correct Use of the Apgar Score for Resuscitated and Intubated Newborn Babies: Questionnaire Study. *BMJ* **2004**, *329*, 143–144. [[CrossRef](#)]
18. Natarajan, G.; Pappas, A.; Shankaran, S. Outcomes in Childhood Following Therapeutic Hypothermia for Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy (HIE). *Semin. Perinatol.* **2016**, *40*, 549–555. [[CrossRef](#)]
19. Bent, D.P.; Nelson, J.; Kent, D.M.; Jen, H.C. Population-Based Validation of a Clinical Prediction Model for Congenital Diaphragmatic Hernias. *J. Pediatrics* **2018**, *201*, 160–165. [[CrossRef](#)]
20. Jani, J.C.; Benachi, A.; Nicolaidis, K.H.; Allegaert, K.; Gratacós, E.; Mazkereth, R.; Matis, J.; Tibboel, D.; Van Heijst, A.; Storme, L.; et al. Prenatal Prediction of Neonatal Morbidity in Survivors with Congenital Diaphragmatic Hernia: A Multicenter Study. *Ultrasound Obs. Gynecol.* **2009**, *33*, 64–69. [[CrossRef](#)]
21. Düttemeyer, V.; Cordier, A.-G.; Cannie, M.M.; Bevilacqua, E.; Huynh, V.; Houfflin-Debarge, V.; Verpillat, P.; Olivier, C.; Benachi, A.; Jani, J.C. Prenatal Prediction of Postnatal Survival in Fetuses with Congenital Diaphragmatic Hernia Using MRI: Lung Volume Measurement, Signal Intensity Ratio, and Effect of Experience. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* **2020**, 1–9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Pocock, S.J.; Simon, R. Sequential Treatment Assignment with Balancing for Prognostic Factors in the Controlled Clinical Trial. *Biometrics* **1975**, *31*, 103–115. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Storme, L.; Boubnova, J.; Mur, S.; Pognon, L.; Sharma, D.; Aubry, E.; Sfeir, R.; Vaast, P.; Rakza, T.; Benachi, A.; et al. Review Shows That Implementing a Nationwide Protocol for Congenital Diaphragmatic Hernia Was a Key Factor in Reducing Mortality and Morbidity. *Acta Paediatr.* **2018**, *107*, 1131–1139. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. *Hernie de Coupole Diaphragmatique*; Haute Autorité de Santé: Saint-Denis, France, 2020.
25. Bhatt, S.; Alison, B.J.; Wallace, E.M.; Crossley, K.J.; Gill, A.W.; Kluckow, M.; Pas, A.B.T.; Morley, C.J.; Polglase, G.R.; Hooper, S.B. Delaying cord clamping until ventilation onset improves cardiovascular function at birth in preterm lambs. *J. Physiol.* **2013**, *591*, 2113–2126. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Hooper, S.B.; Binder-Heschl, C.; Polglase, G.R.; Gill, A.W.; Kluckow, M.; Wallace, E.M.; Blank, D.; Pas, A.B.T. The timing of umbilical cord clamping at birth: physiological considerations. *Matern. Health Neonatol. Perinatol.* **2016**, *2*, 4. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Foglia, E.; Ades, A.; Hedrick, H.L.; Rintoul, N.; Munson, D.A.; Moldenhauer, J.; Gebb, J.; Serletti, B.; Chaudhary, A.; Weinberg, D.D.; et al. Initiating resuscitation before umbilical cord clamping in infants with congenital diaphragmatic hernia: a pilot feasibility trial. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* **2020**, *105*, 322–326. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Discussion globale des résultats

Ce travail de thèse, expliqué à travers ces quatre articles, a tout d'abord montré la validité de notre modèle expérimental.

La création de la hernie diaphragmatique était une réussite avec une morphologie cardio-pulmonaire comparable au nouveau-né humain. Les agneaux atteints d'une hernie de coupole diaphragmatique présentaient une hypoplasie pulmonaire significative avec un poids de poumon gauche rapporté au poids du corps à 5.3 ± 2.03 g/kg vs. 13.7 ± 2 g/kg. Le ventricule gauche était lui aussi hypoplasique avec un poids indexé de 2.5 ± 0.5 g/kg comparé à 3.5 ± 0.3 g/kg dans le groupe témoin. Le volume courant indexé après 1 heure de réanimation était quant à lui 2 fois plus faible dans le groupe hernie diaphragmatique comparativement au groupe contrôle.

Nous avons montré également que l'hémodynamique transplacentaire, le débit ombilical et les résistances vasculaires placentaires pouvaient être stables pendant au minimum 50 min dans une situation de réanimation à cordon intact chez l'agneau anesthésié né à terme. Après 50 min, l'augmentation des résistances vasculaires placentaires entraînait une baisse significative du débit sanguin ombilical.

L'un des points essentiels de ce travail de thèse est la démonstration de la capacité du placenta à maintenir une oxygénation fœtale au cours d'une réanimation à cordon intact chez un agneau avec une hypoplasie pulmonaire. Dans ce groupe, le placenta maintenait un apport en oxygène au fœtus autour de 2,5 mL/kg/min tout au long de la réanimation. A l'inverse, chez l'agneau indemne de toute pathologie pulmonaire, la baisse de la VO_2 placentaire était corrélée à une augmentation de la PaO_2 secondaire à l'oxygénation du sang par le poumon. La VO_2 placentaire était nulle pour des valeurs de $PaO_2 > 40$ mmHg. Dans ce groupe, le clampage du cordon ombilical était suivi d'une amélioration brutale de l'oxygénation, de la décarboxylation et de la pression artérielle.

Nous avons également observé que le maintien d'une circulation placentaire à basse résistance lors d'une adaptation cardio-respiratoire physiologique pouvait être responsable d'une diminution de la pression artérielle. Lors d'une réanimation à cordon intact chez un modèle d'agneau présentant un trouble de l'adaptation à la vie extra-utérine dans le cadre d'une Hernie de Coupole Diaphragmatique, le placenta assure l'oxygénation du nouveau-né jusqu'à une heure après la naissance. Cependant, dans un modèle d'agneau sain et dès que la PaO₂ augmente, le placenta ne participe plus (voire devient délétère) à l'oxygénation du nouveau-né et peut entraîner des troubles hémodynamiques. Ces résultats s'appliquent au modèle d'agneau né à terme par césarienne, sans travail spontané. L'absence de délivrance du placenta en lien avec l'anesthésie générale maternelle par gaz halogéné, et l'absence d'injection d'ocytocine chez la mère nous a permis de démontrer que les échanges gazeux transplacentaires pouvaient durer jusqu'à 1 heure après la naissance mais d'autres études complémentaires et une analyse de la balance bénéfice-risque pour la mère est essentielle avant d'étendre ces résultats en clinique humaine.

Suite du programme de recherche, perspectives

Pendant ces 4 années de recherches, l'équipe s'est spécialisée en réanimation à cordon intact.

De cette expertise découle plusieurs projets de recherche que nous souhaitons investir dans les prochaines années :

Partie 1. Système de monitoring non invasif des débits sanguins circulant à travers le cordon ombilical au cours d'une réanimation à cordon intact

Nous avons montré le potentiel de la réanimation à cordon intact chez l'agneau porteur de hernie diaphragmatique congénitale. Cependant, il manque de nombreuses étapes avant de pouvoir recommander cette technique de réanimation en pratique clinique.

A la naissance, en présence d'un prolapsus ou d'un circulaire du cordon ombilical, une compression du cordon ombilical peut survenir sans que l'obstétricien ou la sage-femme ne s'en rendent compte. Les artères ombilicales à parois musculaires rigides, restent perméables et permettent au sang du fœtus de rejoindre le placenta, mais le retour du sang du placenta vers le fœtus dans la veine ombilicale à parois fines peut être limité par la compression. Par conséquent, une partie du volume sanguin circulant entre le fœtus et le placenta peut être séquestrée par le placenta, entraînant une hypovolémie brutale avec une perte de précharge cardiaque, une diminution des performances cardiaques et une hypoperfusion coronaire et cérébrale.

Notre objectif à long terme est de concevoir un dispositif permettant le suivi continu des échanges fœtaux-placentaires durant la réanimation à cordon intact, assurant ainsi une mise en œuvre sécurisée de cette stratégie pour les nouveau-nés vulnérables. Pour cela nous souhaitons démontrer la faisabilité de la détection d'évènement pouvant compromettre la RCI via la mesure doppler des flux fœto-

placentaires à travers le cordon ombilical (Figure 14). Une demande de financement pour mener à bien ce protocole a été déposée dans le cadre d'un projet Start Airr, organisé par la Région Hauts-de-France.

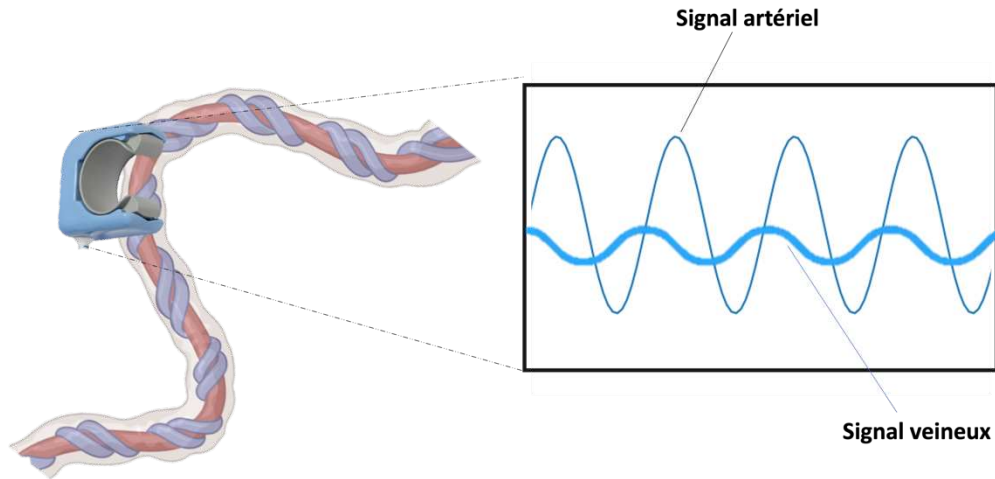


Figure 14 Exemple du signal doppler recueilli à travers le cordon ombilical à l'aide d'une sonde de débitmétrie

Partie 2. Ventilation liquidienne et réanimation à cordon intact

Dans le cadre d'une mobilité internationale, j'ai collaboré avec les Professeurs Etienne Fortin-Pellerin, Philippe Micheau et Jean-Paul Praud. Ils travaillent à la faculté de médecine et d'ingénierie de Sherbrooke, Québec, Canada. Depuis plus de 15 ans, ingénieurs et médecins collaborent au sein de l'équipe Inolivent pour avancer les connaissances dans le domaine de la ventilation liquidienne totale (VLT) appliquée au nouveau-né. En VLT, le poumon est complètement rempli d'un perfluorocarbure (PFC) liquide. Un ventilateur dédié permet l'échange d'un volume courant liquidien, éliminant ainsi complètement l'interface air-liquide (Figure 15)(98).

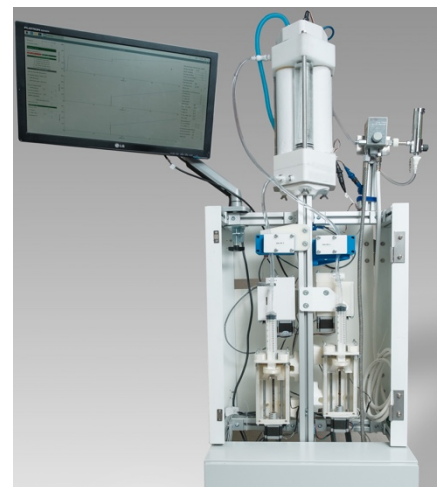


Figure 15 Ventilateur Liquidien Inolivent 8.0

Le bromure de perfluorooctyle (PFOB), le PFC utilisé dans leur laboratoire, peut dissoudre une grande quantité d'oxygène (53 ml O₂/100 ml de liquide) et de CO₂ (210 ml CO₂/100 ml de liquide) et a une très faible tension de surface (18 dynes/cm), agissant comme un surfactant synthétique (99). Le PFOB est inerte et très dense (2000 fois la densité de l'air), lui permettant ainsi de recruter facilement les régions pulmonaires dépendantes. En raison de leurs effets biomécaniques, les PFC favorisent la croissance pulmonaire (100,101). Ils diminuent également l'infiltration tissulaire par les cellules inflammatoires et la production de cytokines et de dérivés oxydatifs de l'oxygène (102,103). L'équipe de recherche de Sherbrooke a pour objectif final de tester la VLT chez l'extrême prématuré où la ventilation mécanique conventionnelle est en échec. Remplir le poumon de PFOB dès la naissance, en évitant la transition liquide-air lors de la résorption du liquide pulmonaire et la constitution de la CRF aurait pour avantage d'éviter le dérecrutement pulmonaire, limitant les effets néfastes des atélectasies et des lésions de barotraumatismes secondaires aux manœuvres de recrutement pulmonaire pourvoyeur de dysplasie bronchopulmonaire (104,105). Une étude publiée en 2024 a démontré la faisabilité d'instaurer une VLT lors d'une réanimation à cordon intact chez un modèle d'agneau prématuré et a montré une meilleure adaptation à la vie extra-utérine en termes de saturation et d'oxygénation cérébrale (Figure 16) (106).

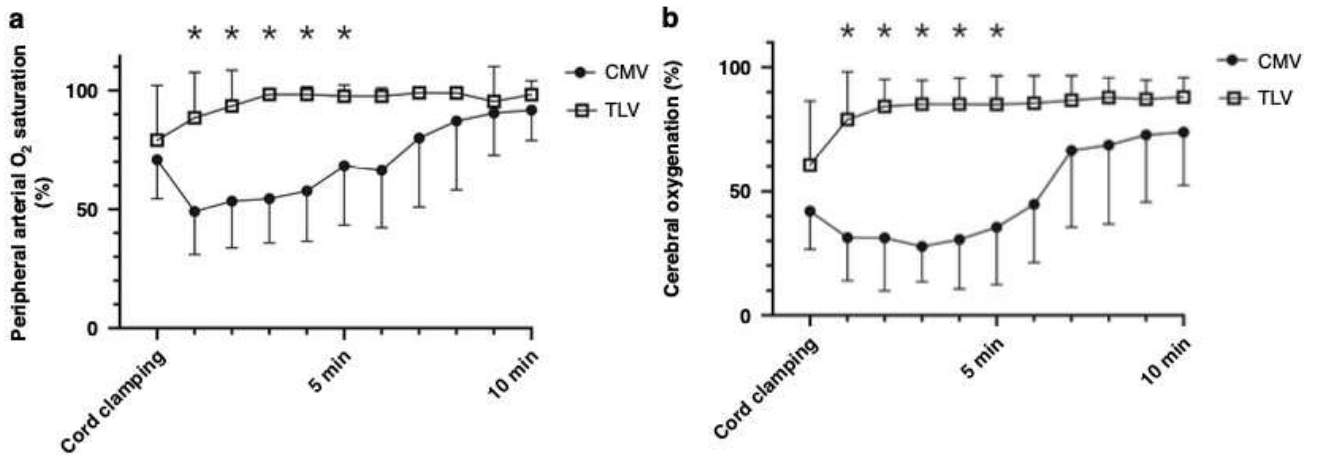


Figure 16 Saturation périphérique en oxygène, oxygénation tissulaire cérébrale pendant les 10èmes minutes suivant le clampage du cordon

a Spo2 b NIRS. Data présentée en Moyenne \pm DS. TLV, Ventilation liquidienne totale, CMV, Ventilation mécanique conventionnelle. * $p < 0.05$ (Mann-Whitney U)

Morin et al *Pediatric Research* (2024) 95:974–980

De rares études préliminaires suggèrent un potentiel bénéfique à la ventilation liquide partielle (instillation de PFOB + ventilation mécanique conventionnelle) chez des nouveau-nés porteurs de hernie diaphragmatique, améliorant les fonctions pulmonaires et le recrutement pulmonaire (107). Une étude de 1997 avait démontré dans un modèle d'agneau avec hypoplasie pulmonaire, un bénéfice à l'instillation du PFOB dans le cadre d'une ventilation liquidienne partielle, améliorant la décarboxylation, l'oxygénation et la compliance pulmonaire (108). Une étude sur un modèle d'agneau avec un syndrome de détresse respiratoire sévère avait montré la bonne tolérance hémodynamique, en particulier sur la fonction cardiaque gauche d'une ventilation liquidienne totale comparée à une ventilation mécanique conventionnelle (109).

Devant les potentiels bénéfiques de la ventilation liquidienne dans la hernie de coupole diaphragmatique et fort de l'expertise de l'équipe Inolivent, nous allons mettre en place une collaboration pour mener à bien un projet de recherche portant sur la ventilation

liquidienne totale instaurée lors d'une exit procédure, dans un modèle d'agneau avec hernie diaphragmatique. Nous étudierons l'impact d'une telle ventilation sur l'augmentation du volume pulmonaire, l'adaptation à la vie extra-utérine et la baisse des résistances vasculaires pulmonaires, la stabilité cardio-respiratoire lors des 2 premières heures de vie et l'inflammation pulmonaire comparée à une ventilation mécanique conventionnelle.

Partie 3. Évaluer d'autres effets de la réanimation à cordon intact en clinique humaine à travers l'étude CHIC

Concernant l'avancement de l'étude, nous en sommes aujourd'hui à 127 inclusions sur les 180 attendues. Une demande de prolongation a été obtenue en septembre 2024 pour une durée de 6 mois. Le tableau ci-dessous reprend en détail les centres participant à l'étude et le nombre d'inclusion par centre.

Numéro de Centre	Ville	Date de la Mise en Place de l'étude dans le centre	Nombre d'inclusions au 28/09/24
01	Lille	19/09/2020	21
02	Bicêtre	09/03/2021	15
03	Montpellier	11/02/2021	13
04	Nantes	01/10/2020	19
05	Bordeaux	10/03/2021	16
06	Rennes	22/02/2021	5
07	Trousseau	13/12/2022	0
08	Amiens	09/03/2021	4
09	Lyon	29/01/2021	12
10	Necker	28/01/2021	11
11	Marseille	07/05/2021	3
12	Debré	01/04/2022	5
13	Toulouse	13/09/2023	1
14	Grenoble	14/10/2022	2

Dans la suite de l'étude CHIC, nous souhaitons étudier différents aspects de la réanimation à cordon intact chez le nouveau-né porteur de hernie diaphragmatique.

- Un Volet « Etat Psychologique des parents ».

L'objectif est d'évaluer l'impact psychologique d'une réanimation à cordon intact comparé au groupe clampage immédiat. Cette étude se base sur l'évaluation de l'état d'anxiété parental par le formulaire STAI, l'impact traumatique potentiel de la réanimation par l'échelle d'impact des événements (IES-R) et le niveau de tolérance des parents à l'incertitude évaluée par l'échelle d'intolérance à l'incertitude (EII).

- Un Volet « Hémodynamique».

Il s'agit d'une étude longitudinale du profil hémodynamique et de la fonction cardiaque des nouveau-nés présentant une hernie diaphragmatique congénitale réanimés à cordon intact par rapport à ceux réanimés après le clampage immédiat du cordon.

Nous cherchons ici à évaluer l'effet à moyen terme de la technique de la réanimation à cordon intact par rapport à un clampage immédiat du cordon sur la fonction cardiaque et circulatoire par l'intermédiaire de mesures itératives des paramètres hémodynamiques et écho-cardiographiques.

Partie 4. Sédation et analgésie d'un nouveau-né lors d'une réanimation à cordon intact

Lors de la réanimation d'un nouveau-né en salle de naissance, se pose la question de la mise en place d'une sédation-analgésie avant de débiter la réanimation.

L'intubation est reconnue comme étant un geste douloureux (110). L'utilisation d'une sédation augmente le taux de réussite de ce geste, la douleur provoquée au patient ainsi que certaines complications hémodynamiques comme les bradycardies d'origines vagues (63,111,112). La SFN vient de publier des recommandations sur la prémédication à administrer avant l'intubation d'un nouveau-né hospitalisé en réanimation néonatale (110). En situation de réanimation en salle de naissance, la voie d'urgence à utiliser est la veine ombilicale. Lors d'une réanimation à cordon intact, où chaque seconde compte, se pose alors la question 1) de la faisabilité de

l'administration d'une sédation analgésie sans toucher à la veine ombilicale d'un enfant présentant des troubles de la perfusion périphérique 2) de l'efficacité des posologies administrées alors que le volume circulant total est 30% plus important que lors d'une réanimation conventionnelle et que les sédations habituelles passent la barrière fœto-placentaire.

Lors du master 2 de Gauthier Bonjour, nous avons mis en place le modèle expérimental et continuerons par la suite à étudier ces différentes hypothèses.

Partie 5. Prolonger la réanimation à cordon intact dans les formes de HCD les plus sévères

Lors de notre projet de recherche, les brebis gestantes étaient opérées sous anesthésie générale par l'administration d'un gaz halogéné. L'isoflurane est connu pour réduire les contractions du muscle utérin. En effet, l'isoflurane provoque une relaxation utérine par inhibition des canaux calciques voltage dépendants des cellules musculaires lisses utérines (113). Dans les études en clinique humaine, où la mère est éveillée et consciente, la délivrance du placenta arrive dans les 10 minutes suivant la naissance (86). L'utilisation d'un gaz halogéné pourrait alors retarder l'expulsion normale du placenta et contribuer à maintenir une circulation placentaire. Cette stratégie, bien qu'elle nécessite une anesthésie maternelle avec des gaz halogénés, pourrait aider à assurer une oxygénation fœtale adéquate et une élimination du dioxyde de carbone dans les formes les plus sévères d'hypoplasie pulmonaire, où l'augmentation du volume courant et du débit sanguin pulmonaire est décalée dans le temps de 15 à 30 minutes par rapport aux patients sans hypoplasie pulmonaire (114). Nos résultats sont comparables à ces observations où l'amélioration du rapport ventilation/perfusion et l'augmentation du flux sanguin pulmonaire survient après 30 minutes de réanimation.

Nos résultats objectivant que le placenta est capable de soutenir l'oxygénation et la décarboxylation foetale jusqu'à une heure après le début de la ventilation, il semble licite de poser la question de l'effet d'une sédation par gaz halogéné sur la délivrance placentaire et de son potentiel bénéfique lors de la réanimation anticipé d'un nouveau-né ayant un diagnostic anténatal d'une hypoplasie pulmonaire particulièrement sévère à condition que cela n'augmente pas le risque d'hémorragie de la délivrance pour la mère.

Conclusion

Ce travail de thèse a participé à une meilleure compréhension de la physiopathologie des échanges gazeux et de l'hémodynamique transplacentaire au cours d'une réanimation à cordon intact. Nos résultats indiquent que la fonction placentaire est maintenue jusqu'à 1 heure après la naissance pendant la réanimation, tant que le cordon ombilical reste intact chez les agneaux atteints de hernie diaphragmatique congénitale.

Un échange gazeux transplacentaire efficace nécessite que la PaO_2 post-ductale soit suffisamment basse pour favoriser le transfert d' O_2 de la chambre intervillieuse à la circulation ombilicale. En revanche, une élévation de la PaO_2 de l'agneau réduit (voire inverse) le gradient d' O_2 entre les vaisseaux ombilicaux et la chambre intervillieuse, ce qui limite l'échange d' O_2 à travers le placenta.

Ce travail de thèse souligne la nécessité de peser la balance bénéfice/risque à l'initiation d'une réanimation avec un cordon ombilical intact. Maintenir le cordon intact pendant une période prolongée chez les nouveau-nés avec une fonction pulmonaire normale peut altérer l'hémodynamique systémique et l'oxygénation par un phénomène de "vol vasculaire" induit par la circulation placentaire et un possible transfert inverse d' O_2 transplacentaire. À l'inverse, chez les agneaux atteints de HCD, la réanimation à cordon intact peut permettre de maintenir une oxygénation adéquate pendant au moins 1 heure chez l'agneau.

Nos résultats soulignent l'importance de stratégies de réanimations individualisées en fonction des conditions cliniques spécifiques et mettent en avant les avantages potentiels d'une gestion du cordon adaptée aux besoins physiologiques uniques de différentes populations néonatales. D'autres projets de recherche, menés par notre

équipe, sont en cours pour mieux comprendre cette nouvelle technique de réanimation.

Travaux co-encadrés pendant la thèse de science

Pendant ces 4 années de thèses, j'ai eu la chance de pouvoir encadrer et co-encadrer 5 étudiants qui ont tous participé à l'avancée de ce travail autour de la réanimation à cordon intact.

- Tuteur du mémoire de Master 1 de Mr Baptiste Teillet année 2020-2021:
Evaluation de la corrélation entre la mesure du volume pulmonaire estimé en IRM et le volume pulmonaire réel à l'autopsie dans un modèle animal de hernie diaphragmatique congénitale
- Co-encadrant du Mémoire de Master 2 de Mr Florian Mancœuvrier année 2020-2021 : *Réanimation à cordon intact chez un modèle ovin de hernie de coupole diaphragmatique*
- Tuteur du Mémoire de Master 1 de Mme Laure Bernard année 2021-2022 :
Evaluation de la corrélation entre l'hypoplasie du ventricule gauche et l'hypoplasie pulmonaire dans un modèle expérimental d'hernie diaphragmatique congénitale
- Co-encadrant du Mémoire de Master 2 de Mr Baptiste Teillet année 2022-2023 :
Study of Intracardiac Hemodynamic During Cord Clamping Resuscitation in a lamb model of congenital diaphragmatic hernia
- Tuteur du Mémoire de Master 1 de Mr Gauthier Bonjour année 2022-2023 :
Mise en place d'un modèle ovin porteur de hernie diaphragmatique congénitale pour étudier l'adaptation à la vie extra-utérine des fonctions respiratoires.
- Tuteur du Mémoire de Master 2 de Mme Laure Bernard année 2023-2024 :
Intracardiac hemodynamic during intact cord resuscitation in a physiologic lamb model

REFERENCES

1. Lawn JE, Cousens S, Zupan J, Lancet Neonatal Survival Steering Team. 4 million neonatal deaths: when? Where? Why? *Lancet Lond Engl*. 5 mars 2005;365(9462):891-900.
2. Storme L, Aubry E, Rakza T, Houeijeh A, Debarge V, Tourneux P, et al. Pathophysiology of persistent pulmonary hypertension of the newborn: Impact of the perinatal environment. *Arch Cardiovasc Dis*. Mars 2013;106(3):169-77.
3. Kiserud T, Ebbing C, Kessler J, Rasmussen S. Fetal cardiac output, distribution to the placenta and impact of placental compromise. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. Août 2006;28(2):126-36.
4. Wyckoff MH, Aziz K, Escobedo MB, Kapadia VS, Kattwinkel J, Perlman JM, et al. Part 13: Neonatal Resuscitation: 2015 American Heart Association Guidelines Update for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care. *Circulation*. 3 nov 2015;132(18 Suppl 2):S543-560.
5. Pemberton C, Howarth C. Resuscitation Council UK: review of updated 2021 neonatal life support guideline. *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. Févr 2023;108(1):38-42.
6. Papon S. Depuis 2015, la mortalité infantile en France est supérieure à la moyenne européenne [Internet]. Insee, statistiques de l'état civil; 2023 juin. Report No.: 301. Disponible sur: <https://www.insee.fr/fr/statistiques/7627069#consulter>
7. Rabe H, Gyte GM, Díaz-Rossello JL, Duley L. Effect of timing of umbilical cord clamping and other strategies to influence placental transfusion at preterm birth on maternal and infant outcomes. *Cochrane Pregnancy and Childbirth Group*, éditeur. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 17 sept 2019 [cité 7 févr 2021]; Disponible sur: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD003248.pub4>
8. Yamada NK, Szyld E, Strand ML, Finan E, Illuzzi JL, Kamath-Rayne BD, et al. 2023 American Heart Association and American Academy of Pediatrics Focused Update on Neonatal Resuscitation: An Update to the American Heart Association Guidelines for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care. *Circulation* [Internet]. 2 janv 2024 [cité 15 mars 2024];149(1). Disponible sur: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIR.0000000000001181>
9. Wyllie J, Bruinenberg J, Roehr CC, Rüdiger M, Trevisanuto D, Urlesberger B. European Resuscitation Council Guidelines for Resuscitation 2015. *Resuscitation*. Oct 2015;95:249-63.

10. Enders AC, Carter AM. Review: The evolving placenta: Different developmental paths to a hemochorial relationship. *Placenta*. Févr 2012;33:S92-8.
11. Benirschke K, Burton GJ, Baergen RN. Examination of the Placenta. In: *Pathology of the Human Placenta* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2012 [cité 4 oct 2024]. P. 1-11. Disponible sur: https://link.springer.com/10.1007/978-3-642-23941-0_1
12. Ueland K. Maternal cardiovascular dynamics. VII. Intrapartum blood volume changes. *Am J Obstet Gynecol*. 15 nov 1976;126(6):671-7.
13. Thaler I, Manor D, Itskovitz J, Rottem S, Levit N, Timor-Tritsch I, et al. Changes in uterine blood flow during human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. Janv 1990;162(1):121-5.
14. Moore KL. *The Developing Human: Clinically Oriented Embryology*, 9e. 9ème. Elsevier;
15. Reynolds LP, Redmer DA. Angiogenesis in the Placenta¹. *Biol Reprod*. 1 avr 2001;64(4):1033-40.
16. Soothill PW, Nicolaidis KH, Rodeck CH, Gamsu H. Blood gases and acid-base status of the human second-trimester fetus. *Obstet Gynecol*. Août 1986;68(2):173-6.
17. Nye GA, Ingram E, Johnstone ED, Jensen OE, Schneider H, Lewis RM, et al. Human placental oxygenation in late gestation: experimental and theoretical approaches. *J Physiol*. Déc 2018;596(23):5523-34.
18. Rudolph AM. Aortopulmonary transposition in the fetus: speculation on pathophysiology and therapy. *Pediatr Res*. Mars 2007;61(3):375-80.
19. Lakshminrusimha S, Saugstad OD. The fetal circulation, pathophysiology of hypoxemic respiratory failure and pulmonary hypertension in neonates, and the role of oxygen therapy. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc*. Juin 2016;36 Suppl 2:S3-11.
20. Berhrsin J, Gibson A. Cardiovascular system adaptation at birth. *Paediatr Child Health*. Janv 2011;21(1):1-6.
21. Bland RD. Lung Fluid Balance During Development. *Neoreviews*. 1 juin 2005;6(6):e255-67.
22. Lumb AB, Slinger P. Hypoxic pulmonary vasoconstriction: physiology and anesthetic implications. *Anesthesiology*. Avr 2015;122(4):932-46.

23. Kessler J, Rasmussen S, Hanson M, Kiserud T. Longitudinal reference ranges for ductus venosus flow velocities and waveform indices. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. Déc 2006;28(7):890-8.
24. Hooper SB, te Pas AB, Lang J, van Vonderen JJ, Roehr CC, Kluckow M, et al. Cardiovascular transition at birth: a physiological sequence. *Pediatr Res*. Mai 2015;77(5):608-14.
25. Jaillard S, Houfflin-Debargé V, Riou Y, Rakza T, Klosowski S, Lequien P, et al. Effects of catecholamines on the pulmonary circulation in the ovine fetus. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol*. 1 août 2001;281(2):R607-14.
26. Vogl SE, Worda C, Egarter C, Bieglmayer C, Szekeres T, Huber J, et al. Mode of delivery is associated with maternal and fetal endocrine stress response. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. Avr 2006;113(4):441-5.
27. Padbury JF, Ervin MG, Polk DH. Extrapulmonary effects of antenatally administered steroids. *J Pediatr*. Févr 1996;128(2):167-72.
28. Magnenant E, Jaillard S, Deruelle P, Houfflin-Debargé V, Riou Y, Klosowski S, et al. Role of the alpha2-adrenoceptors on the pulmonary circulation in the ovine fetus. *Pediatr Res*. Juill 2003;54(1):44-51.
29. Barker PM, Olver RE. Invited review: Clearance of lung liquid during the perinatal period. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. Oct 2002;93(4):1542-8.
30. Katz C, Bentur L, Elias N. Clinical implication of lung fluid balance in the perinatal period. *J Perinatol*. Avr 2011;31(4):230-5.
31. Wedgwood S, Mitchell CJ, Fineman JR, Black SM. Developmental differences in the shear stress-induced expression of endothelial NO synthase: changing role of AP-1. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. Avr 2003;284(4):L650-662.
32. Storme L, Rairigh RL, Parker TA, Cornfield DN, Kinsella JP, Abman SH. K⁺-channel blockade inhibits shear stress-induced pulmonary vasodilation in the ovine fetus. *Am J Physiol*. Févr 1999;276(2):L220-228.
33. Gao Y, Raj JU. Regulation of the Pulmonary Circulation in the Fetus and Newborn. *Physiol Rev*. Oct 2010;90(4):1291-335.
34. Abman SH, Accurso FJ. Acute effects of partial compression of ductus arteriosus on fetal pulmonary circulation. *Am J Physiol*. Août 1989;257(2 Pt 2):H626-634.

35. Cornfield DN, Chatfield BA, mcqueston JA, mcmurtry IF, Abman SH. Effects of birth-related stimuli on L-arginine-dependent pulmonary vasodilation in ovine fetus. *Am J Physiol*. Mai 1992;262(5 Pt 2):H1474-1481.
36. Tiktinsky MH, Morin FC. Increasing oxygen tension dilates fetal pulmonary circulation via endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol*. Juill 1993;265(1 Pt 2):H376-380.
37. Yao AC, Hirvensalo M, Lind J. Placental transfusion-rate and uterine contraction. *Lancet Lond Engl*. 24 févr 1968;1(7539):380-3.
38. Yao AC, Lind J. Effect of gravity on placental transfusion. *Lancet Lond Engl*. 6 sept 1969;2(7619):505-8.
39. Philip AGS, Teng SS. Role of Respiration in Effecting Placental Transfusion at Cesarean Section. *Neonatology*. 1977;31(3-4):219-24.
40. Vyas H, Field D, Milner AD, Hopkin IE. Determinants of the first inspiratory volume and functional residual capacity at birth. *Pediatr Pulmonol*. Juill 1986;2(4):189-93.
41. Perks AM, Cassin S. The rate of production of lung liquid in fetal goats, and the effect of expansion of the lungs. *J Dev Physiol*. Juin 1985;7(3):149-60.
42. Siew ML, Wallace MJ, Kitchen MJ, Lewis RA, Fouras A, Te Pas AB, et al. Inspiration regulates the rate and temporal pattern of lung liquid clearance and lung aeration at birth. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. Juin 2009;106(6):1888-95.
43. Hooper SB, Kitchen MJ, Wallace MJ, Yagi N, Uesugi K, Morgan MJ, et al. Imaging lung aeration and lung liquid clearance at birth. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. Oct 2007;21(12):3329-37.
44. Milner AD, Saunders RA, Hopkin IE. Is air trapping important in the maintenance of the functional residual capacity in the hours after birth? *Early Hum Dev*. Juill 1978;2(2):97-105.
45. Dawson JA, Kamlin COF, Vento M, Wong C, Cole TJ, Donath SM, et al. Defining the reference range for oxygen saturation for infants after birth. *Pediatrics*. Juin 2010;125(6):e1340-1347.
46. Peltonen T. Placental transfusion--advantage an disadvantage. *Eur J Pediatr*. Oct 1981;137(2):141-6.
47. Dawes GS, Jacobson HN, Mott JC, Shelley HJ, Stafford A. The treatment of asphyxiated, mature foetal lambs and rhesus monkeys with intravenous glucose and sodium carbonate. *J Physiol*. Nov 1963;169(1):167-84.

48. Brady JP, James LS. Heart rate changes in the fetus and newborn infant during labor, delivery, and the immediate neonatal period. *Am J Obstet Gynecol.* 1 juill 1962;84:1-12.
49. Yao AC, Moinian M, Lind J. Distribution of blood between infant and placenta after birth. *Lancet Lond Engl.* 25 oct 1969;2(7626):871-3.
50. Hooper SB, Polglase GR, Te Pas AB. A physiological approach to the timing of umbilical cord clamping at birth. *Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed.* Juill 2015;100(4):F355-60.
51. Van Vonderen JJ, Roest AAW, Siew ML, Walther FJ, Hooper SB, Te Pas AB. Measuring Physiological Changes during the Transition to Life after Birth. *Neonatology.* 2014;105(3):230-42.
52. Bhatt S, Alison BJ, Wallace EM, Crossley KJ, Gill AW, Kluckow M, et al. Delaying cord clamping until ventilation onset improves cardiovascular function at birth in preterm lambs: Cardiovascular effects of umbilical cord clamping. *J Physiol. Avr* 2013;591(8):2113-26.
53. Andersson O, Hellstrom-Westas L, Andersson D, Domellof M. Effect of delayed versus early umbilical cord clamping on neonatal outcomes and iron status at 4 months: a randomised controlled trial. *BMJ.* 15 nov 2011;343(nov15 1):d7157-d7157.
54. Bhatt S, Polglase GR, Wallace EM, Te Pas AB, Hooper SB. Ventilation before Umbilical Cord Clamping Improves the Physiological Transition at Birth. *Front Pediatr [Internet].* 20 oct 2014 [cité 4 oct 2024];2. Disponible sur: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fped.2014.00113/abstract>
55. Ghavam S, Batra D, Mercer J, Kugelman A, Hosono S, Oh W, et al. Effects of placental transfusion in extremely low birthweight infants: meta-analysis of long- and short-term outcomes. *Transfusion (Paris).* Avr 2014;54(4):1192-8.
56. Strauss RG, Mock DM, Johnson KJ, Cress GA, Burmeister LF, Zimmerman MB, et al. A randomized clinical trial comparing immediate versus delayed clamping of the umbilical cord in preterm infants: short-term clinical and laboratory endpoints. *Transfusion (Paris).* Avr 2008;48(4):658-65.
57. Rabe H, Reynolds G, Diaz-Rossello J. A systematic review and meta-analysis of a brief delay in clamping the umbilical cord of preterm infants. *Neonatology.* 2008;93(2):138-44.
58. World Health Organization. Guideline: delayed umbilical cord clamping for improved maternal and infant health and nutrition outcomes [Internet]. Geneva: World

Health Organization; 2014 [cité 4 oct 2024]. 28 p. Disponible sur: <https://iris.who.int/handle/10665/148793>

59. Sharma V, Berkelhamer S, Lakshminrusimha S. Persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Matern Health Neonatol Perinatol*. 2015;1:14.

60. Haworth SG, Hislop AA. Lung development-the effects of chronic hypoxia. *Semin Neonatol SN*. Févr 2003;8(1):1-8.

61. Le Duc K, Gilliot S, Baudalet JB, Mur S, Boukhris MR, Domanski O, et al. Case Report: Persistent Pulmonary Hypertension of the Newborn and Narrowing of the Ductus Arteriosus After Topical Use of Non-Steroidal Anti-Inflammatory During Pregnancy. *Front Pharmacol*. 2021;12:756056.

62. Chambers CD, Hernandez-Diaz S, Van Marter LJ, Werler MM, Louik C, Jones KL, et al. Selective serotonin-reuptake inhibitors and risk of persistent pulmonary hypertension of the newborn. *N Engl J Med*. 9 févr 2006;354(6):579-87.

63. Debarge VH, Sicot B, Jaillard S, Gueorgiva I, Delelis A, Deruelle P, et al. The Mechanisms of Pain-Induced Pulmonary Vasoconstriction: An Experimental Study in Fetal Lambs. *Anesth Analg*. Avr 2007;104(4):799-806.

64. Houfflin-Debarge V, Sabbah-Briffaut E, Aubry E, Deruelle P, Alexandre C, Storme L. Effects of environmental tobacco smoke on the pulmonary circulation in the ovine fetus. *Am J Obstet Gynecol*. Mai 2011;204(5):450.e8-450.e14.

65. Dobyens EL, Wescott JY, Kennaugh JM, Ross MN, Stenmark KR. Eicosanoids decrease with successful extracorporeal membrane oxygenation therapy in neonatal pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. Avr 1994;149(4 Pt 1):873-80.

66. Kumar VH, Hutchison AA, Lakshminrusimha S, Morin FC, Wynn RJ, Ryan RM. Characteristics of pulmonary hypertension in preterm neonates. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc*. Avr 2007;27(4):214-9.

67. Walsh-Sukys MC, Tyson JE, Wright LL, Bauer CR, Korones SB, Stevenson DK, et al. Persistent pulmonary hypertension of the newborn in the era before nitric oxide: practice variation and outcomes. *Pediatrics*. Janv 2000;105(1 Pt 1):14-20.

68. Konduri GG, Vohr B, Robertson C, Sokol GM, Solimano A, Singer J, et al. Early Inhaled Nitric Oxide Therapy for Term and Near-Term Newborn Infants with Hypoxic Respiratory Failure: Neurodevelopmental Follow-Up. *J Pediatr*. Mars 2007;150(3):235-240.e1.

69. Rosenberg AA, Lee NR, Vaver KN, Werner D, Fashaw L, Hale K, et al. School-age outcomes of newborns treated for persistent pulmonary hypertension. *J Perinatol*. Févr 2010;30(2):127-34.

70. Pober BR. Overview of epidemiology, genetics, birth defects, and chromosome abnormalities associated with CDH. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 15 mai 2007;145C(2):158-71.
71. Torfs CP, Curry CJ, Bateson TF, Honoré LH. A population-based study of congenital diaphragmatic hernia. *Teratology*. Déc 1992;46(6):555-65.
72. Montalva L, Lauriti G, Zani A. Congenital heart disease associated with congenital diaphragmatic hernia: A systematic review on incidence, prenatal diagnosis, management, and outcome. *J Pediatr Surg*. Mai 2019;54(5):909-19.
73. Harting MT, Lally KP. The Congenital Diaphragmatic Hernia Study Group registry update. *Semin Fetal Neonatal Med*. Déc 2014;19(6):370-5.
74. Wynn J, Krishnan U, Aspelund G, Zhang Y, Duong J, Stolar CJH, et al. Outcomes of congenital diaphragmatic hernia in the modern era of management. *J Pediatr*. Juill 2013;163(1):114-119.e1.
75. Mous DS, Buscop-van Kempen MJ, Wijnen RMH, Tibboel D, Rottier RJ. Changes in vasoactive pathways in congenital diaphragmatic hernia associated pulmonary hypertension explain unresponsiveness to pharmacotherapy. *Respir Res* [Internet]. Déc 2017 [cité 13 févr 2019];18(1). Disponible sur: <https://respiratory-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12931-017-0670-2>
76. De Lagausie P, de Buys-Roessingh A, Ferkdadji L, Saada J, Aisenfisz S, Martinez-Vinson C, et al. Endothelin receptor expression in human lungs of newborns with congenital diaphragmatic hernia. *J Pathol*. Janv 2005;205(1):112-8.
77. Byrne FA, Keller RL, Meadows J, Miniati D, Brook MM, Silverman NH, et al. Severe left diaphragmatic hernia limits size of fetal left heart more than does right diaphragmatic hernia. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. Déc 2015;46(6):688-94.
78. Bravo-Valenzuela NJM, Peixoto AB, Araujo Júnior E. Prenatal diagnosis of total anomalous pulmonary venous connection: 2D and 3D echocardiographic findings. *J Clin Ultrasound*. Mars 2021;49(3):240-7.
79. Stressig R, Fimmers R, Eising K, Gembruch U, Kohl T. Preferential streaming of the ductus venosus and inferior caval vein towards the right heart is associated with left heart underdevelopment in human fetuses with left-sided diaphragmatic hernia. *Heart*. 1 oct 2010;96(19):1564-8.
80. Patel N, Massolo AC, Kipfmueller F. Congenital diaphragmatic hernia-associated cardiac dysfunction. *Semin Perinatol*. Juill 2019;151168.

81. Flemmer AW, Thio M, Wallace MJ, Lee K, Kitchen MJ, Kerr L, et al. Lung hypoplasia in newborn rabbits with a diaphragmatic hernia affects pulmonary ventilation but not perfusion. *Pediatr Res*. Sept 2017;82(3):536-43.
82. Russo FM, Cordier AG, De Catte L, Saada J, Benachi A, Deprest J, et al. Proposal for standardized prenatal ultrasound assessment of the fetus with congenital diaphragmatic hernia by the European reference network on rare inherited and congenital anomalies (ERNICA). *Prenat Diagn*. Août 2018;38(9):629-37.
83. Jani J, Nicolaidis KH, Benachi A, Moreno O, Favre R, Gratacos E, et al. Timing of lung size assessment in the prediction of survival in fetuses with diaphragmatic hernia. *Ultrasound Obstet Gynecol*. Janv 2008;31(1):37-40.
84. Snoek KG, Reiss IKM, Greenough A, Capolupo I, Urlesberger B, Wessel L, et al. Standardized Postnatal Management of Infants with Congenital Diaphragmatic Hernia in Europe: The CDH EURO Consortium Consensus - 2015 Update. *Neonatology*. 2016;110(1):66-74.
85. Katheria AC, Clark E, Yoder B, Schmölzer GM, Yan Law BH, El-Naggar W, et al. Umbilical cord milking in nonvigorous infants: a cluster-randomized crossover trial. *Am J Obstet Gynecol*. Févr 2023;228(2):217.e1-217.e14.
86. Lefebvre C, Rakza T, Weslinck N, Vaast P, Houfflin-debargue V, Mur S, et al. Feasibility and safety of intact cord resuscitation in newborn infants with congenital diaphragmatic hernia (CDH). *Resuscitation*. Nov 2017;120:20-5.
87. Raina JS, Chawla D, Jain S, Khurana S, Sehgal A, Rani S. Resuscitation with Intact Cord Versus Clamped Cord in Late Preterm and Term Neonates: A Randomized Controlled Trial. *J Pediatr*. Mars 2023;254:54-60.e4.
88. Andersson O, Rana N, Ewald U, Målvqvist M, Stripple G, Basnet O, et al. Intact cord resuscitation versus early cord clamping in the treatment of depressed newborn infants during the first 10 minutes of birth (Nepcord III) – a randomized clinical trial. *Matern Health Neonatol Perinatol*. Déc 2019;5(1):15.
89. Isacson M, Gurung R, Basnet O, Andersson O, Kc A. Neurodevelopmental outcomes of a randomised trial of intact cord resuscitation. *Acta Paediatr*. Févr 2021;110(2):465-72.
90. Kashyap AJ, Hodges RJ, Thio M, Rodgers KA, Amberg BJ, mcgillick EV, et al. Physiologically based cord clamping improves cardiopulmonary haemodynamics in lambs with a diaphragmatic hernia. *Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed*. Janv 2020;105(1):18-25.

91. Schmölder GM, Roberts CT, Blank DA, Badurdeen S, Miller SL, Crossley KJ, et al. Single versus continuous sustained inflations during chest compressions and physiological-based cord clamping in asystolic lambs. *Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed.* Sept 2022;107(5):488-94.
92. Carter AM. Placental Gas Exchange and the Oxygen Supply to the Fetus. *Compr Physiol.* 1 juill 2015;5(3):1381-403.
93. Pardi G, Marconi AM, Cetin I. Placental-fetal Interrelationship in IUGR Fetuses—A Review. *Placenta.* Avr 2002;23:S136-41.
94. Ghesquière L, De Jonckheere J, Storme L, Garabedian C. Measurement of fetal parasympathetic activity during labor: a new pathway for evaluation of fetal well-being? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 1 avr 2021;320(4):R467-8.
95. Recher M, Garabedian C, Aubry E, Sharma D, Butruille L, Storme L, et al. Opioid effect on the autonomic nervous system in a fetal sheep model. *Arch Gynecol Obstet.* Juill 2021;304(1):73-80.
96. De Bie FR, Sharma D, Lannoy D, Allegaert K, Storme L, Deprest J, et al. Transplacental Transfer and Fetal Pharmacodynamics of Sildenafil in the Pregnant Sheep Model. *Fetal Diagn Ther.* 2021;48(6):411-20.
97. Aubry E, Fayoux P, Jani J, Deprest J, Deruelle P, Houfflin-Debarge V, et al. Tracheal occlusion alters pulmonary circulation in the fetal lamb with normally developing lungs. *J Pediatr Surg.* Mars 2013;48(3):481-7.
98. Foust R, Tran NN, Cox C, Miller TF, Greenspan JS, Wolfson MR, et al. Liquid assisted ventilation: an alternative ventilatory strategy for acute meconium aspiration injury. *Pediatr Pulmonol.* Mai 1996;21(5):316-22.
99. Sarkar S, Paswan A, Prakas S. Liquid ventilation. *Anesth Essays Res.* 2014;8(3):277.
100. Herber-Jonat S, Vuckovic A, Mittal R, Hilgendorff A, Jani JC, Flemmer AW. Intrapulmonary instillation of perfluroctylbromide improves lung growth, alveolarization, and lung mechanics in a fetal rabbit model of diaphragmatic hernia. *Pediatr Crit Care Med J Soc Crit Care Med World Fed Pediatr Intensive Crit Care Soc.* Nov 2014;15(9):e379-388.
101. Nobuhara KK, Fauza DO, difiore JW, Hines MH, Fackler JC, Slavin R, et al. Continuous intrapulmonary distension with perfluorocarbon accelerates neonatal (but not adult) lung growth. *J Pediatr Surg.* Févr 1998;33(2):292-8.
102. Khalighi Z, Rahmani A, Cheraghi J, Ahmadi MRH, Soleimannejad K, Asadollahi R, et al. Perfluorocarbon attenuates inflammatory cytokines, oxidative stress and

histopathologic changes in paraquat-induced acute lung injury in rats. *Environ Toxicol Pharmacol.* Mars 2016;42:9-15.

103. Rotta AT, Steinhorn DM. Partial liquid ventilation reduces pulmonary neutrophil accumulation in an experimental model of systemic endotoxemia and acute lung injury. *Crit Care Med.* Oct 1998;26(10):1707-15.

104. Dou C, Yu YH, Zhuo QC, Qi JH, Huang L, Ding YJ, et al. Longer duration of initial invasive mechanical ventilation is still a crucial risk factor for moderate-to-severe bronchopulmonary dysplasia in very preterm infants: a multicenter prospective study. *World J Pediatr WJP.* Juin 2023;19(6):577-85.

105. Katira BH. Ventilator-Induced Lung Injury: Classic and Novel Concepts. *Respir Care.* Juin 2019;64(6):629-37.

106. Morin C, Simard É, See W, Sage M, Imane R, Nadeau C, et al. Total liquid ventilation in an ovine model of extreme prematurity: a randomized study. *Pediatr Res.* Mars 2024;95(4):974-80.

107. Greenspan JS, Fox WW, Rubenstein SD, Wolfson MR, Spinner SS, Shaffer TH. Partial liquid ventilation in critically ill infants receiving extracorporeal life support. Philadelphia Liquid Ventilation Consortium. *Pediatrics.* Janv 1997;99(1):E2.

108. Major D, Cadenas M, Cloutier R, Leclerc S, Fournier L, Shaffer TH, et al. Morphometrics of normal and hypoplastic lungs in preterm lambs with gas and partial liquid ventilation. *Pediatr Surg Int.* Févr 1997;12(2-3):121-5.

109. Sage M, Nadeau M, Forand-Choinière C, Mousseau J, Vandamme J, Berger C, et al. Assessing the impacts of total liquid ventilation on left ventricular diastolic function in a model of neonatal respiratory distress syndrome. *Plos One.* 2018;13(1):e0191885.

110. Durrmeyer X, Walter-Nicolet E, Chollat C, Chabernaude JL, Barois J, Chary Tardy AC, et al. Premedication before laryngoscopy in neonates: Evidence-based statement from the French society of neonatology (SFN). *Front Pediatr.* 2022;10:1075184.

111. Durrmeyer X, Daoud P, Decobert F, Boileau P, Renolleau S, Zana-Taieb E, et al. Premedication for neonatal endotracheal intubation: results from the epidemiology of procedural pain in neonates study. *Pediatr Crit Care Med J Soc Crit Care Med World Fed Pediatr Intensive Crit Care Soc.* Mai 2013;14(4):e169-175.

112. Houfflin-Debarge V, Delelis A, Jaillard S, Larrue B, Deruelle P, Ducloy AS, et al. Effects of nociceptive stimuli on the pulmonary circulation in the ovine fetus. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol.* Févr 2005;288(2):R547-53.

113. Yamakage M, Tsujiguchi N, Chen X, Kamada Y, Namiki A. Sevoflurane inhibits contraction of uterine smooth muscle from pregnant rats similarly to halothane and isoflurane. *Can J Anesth Can Anesth*. Janv 2002;49(1):62-6.
114. Mcgillick EV, Davies IM, Hooper SB, Kerr LT, Thio M, dekoninck P, et al. Effect of lung hypoplasia on the cardiorespiratory transition in newborn lambs. *J Appl Physiol*. 1 août 2019;127(2):568-78.

Annexe

Annexe 1 : Justification de soumission dans Archive of disease and childhood

30-Sep-2024

Dear Dr. LE DUC:

Your manuscript entitled "Umbilico–placental hemodynamics and transplacental O₂ exchange during intact cord resuscitation in newborn lambs with and without congenital diaphragmatic hernia: an experimental animal study" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in Archives of Disease in Childhood. Your manuscript ID is archdischild-2024-328084.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <https://mc.manuscriptcentral.com/adc> and edit your user information as appropriate.

Author names will be taken directly from the information held in ScholarOne and not from the article file. Please check that all names are correctly entered as this will be the name displayed on the final published article and in any indexes affiliated with the journal. You can view the status of your manuscript at any time by entering your manuscript ID archdischild-2024-328084 into Where Is My Paper <https://whereismypaper.bmj.com/>, our fast and easy-to-use manuscript tracking tool or by checking your Author Center after logging in to <https://mc.manuscriptcentral.com/adc>.

Any individuals listed as co-authors on this manuscript are copied into this submission confirmation email. If you believe that you have received this email in error, please contact the Editorial Office.

Thank you for submitting your manuscript to Archives of Disease in Childhood.

Kind

regards,

Editor in Chief, Archives of Disease in Childhood