

Påverkas utvecklingen vid 4 år av tidpunkten för avnavling efter födelsen?

Målsättning

Syftet med denna studie är att undersöka om tidig jämfört med fördröjd ”klampning” av navelsträngen medför konsekvenser för utvecklingen vid 3-4 års ålder. Den övergripande målsättningen är att skapa ett vetenskapligt underlag för när ”klampning” av navelsträngen (dvs när blodflödet i navelsträngen stängs av t.ex. med peang inför avnavling och blodprovstagning) bör ske i förhållande till tid efter barnets födelse i ett land med relativt låg prevalens av järnbrist.

Det aktuella projektet inkluderar närmare 400 friska fullgångna barn, som föddes i Halmstad under perioden april 2008-maj 2009, och som randomiserades till tidig (≤ 10 s) eller fördröjd (≥ 180 s) klampning av navelsträngen. Klinisk rutin då studien genomfördes var tidig klampning. Vid 4 månaders ålder hade gruppen som randomiserades till fördröjd klampning av navelsträngen signifikant större järnförråd och en något lägre risk för järnbrist. Då järnbrist är associerat med en ökad risk för suboptimal utveckling, planerar vi nu att följa upp barnen vid 3-4 års ålder med bedömning av kognitiv funktion, psykomotorisk utveckling samt beteendeskattning. Detta kommer att ge ny viktig information om fördröjd jämfört med tidig ”klampning” av navelsträngen påverkar barns utveckling i ett land med hög socioekonomisk standard.

Bakgrund

Vid fullgången tid fördelar sig det ofödda barnets blodvolym mellan dess egen cirkulation (70 ml/kg) och moderkakan/navelsträngen (35-45 ml/kg, dvs ca. 30% av barnets totala blodvolym). Vid födelsen kommer sammandragningar av livmodern att bidra till en transfusion av upp till 35 ml/kg av detta blod från moderkakan till det nyfödda barnet. Denna transfusion avslutas inom 3 minuter om barnet hålls i höjd med livmodern och inom 1 minut när barnet hålls 20 cm under livmoderns nivå. men kan också avbrytas i förtid genom att barnmorskan klämmer av, ”klampar”, navelsträngen med till exempel en peang.

Världshälsoorganisationen (WHO) rekommenderar att fördröjd klampning bör praktiseras för att minska riskerna för järnbrist hos barn. Rekommendationen är baserad på studier som utförts i populationer med hög prevalens av järnbristanemi (1-5). Tidpunkten för klampning av navelsträngen varierar dock i Europa med en betydlig övervikt av tidig klampning (6). Vid en telefonförfrågan till alla förlossningsavdelningar i Sverige år 2006 (O Andersson, opublicerade data) tillämpades omedelbar eller tidig klampning på ca 2/3 av avdelningarna som en del av ”aktiv handläggning av förlossningen”, eller för att säkra blodprovstagning från navelsträngen för analys av syra-bas status.

Järnbrist

Adekvata järndepåer är nödvändiga för hjärnans normala utveckling (7,8). Järnbrist är associerat med suboptimal kognition, försenad motorisk utveckling, och eventuellt även med beteendepåverkan. I en fransk kohort hade 4-14 åriga barn med Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD) lägre serum-ferritin än kontroller, och mycket låga ferritin nivåer korrelerade med svårare ADHD symtom och större kognitiva defekter (9). Andra studier har dock inte visat samband mellan järnbrist och ADHD. I en kohort av isländska barn visade Gunnarsson et al (10) att järnbrist och låga järndepåer vid 1 års ålder var förknippade med försämrad motorisk utveckling vid 6 år. I en studie av spädbarn fann man ett linjärt samband mellan järnstatus och kognitiv funktion; spädbarn utan järnbrist hade bäst resultat, följt av spädbarn med järnbrist, medan barn med järnbristanemi hade sämst resultat (11).

Möjligen kan även sömnmönster förändras i samband med järnbrist. Peirano et al (12) visade att 4-årigar som tidigare lidit av järnbrist hade mer omogen nattsömn än kontroller. Forskarna spekulerade om det var förändrad dopaminhalt eller GABA neurotransmission som orsakade dessa förändringar i sömnmönstret.

Tidig järnbrist kan således eventuellt medföra irreversibla förändringar i hjärnans funktion, men det finns även data som talar för att nervsystemets utveckling kan återhämta sig när järnbrist eller järnbristanemi behandlas. Vid 9-10 månader hade barn med järnbristanemi försenad uppmärksamhet och igenkännande, enligt bedömning med Event Related Potentials (ERP) som normaliserades när barnen var 12-13 månader gamla och järnbristanemin var behandlad (13). Tidpunkten för när järnbrist eller järnbristanemi inträffar under utvecklingen verkar vara viktig för senare resultat, och det har visat sig att ferritin-nivåerna i navelsträngsblod (som speglar fostrets järnförråd) korrelerar med neurokognitiv- och språkutveckling vid 5 års ålder (14). Barn vars mödrar hade fått järntillskott under graviditeten har högre koncentrationer av ferritin i navelsträngen (15). Risken för tidig järnbrist i Sverige är liten men inte försumbar. Persson et al visade att järnbrist är vanligt hos svenska spädbarn, vid 1 års ålder var upp till 26 % drabbade (16).

Fördröjd "klampning" av navelsträngen för att förebygga järnbrist

Järnbristanemi hos spädbarn är ett stort globalt folkhälsoproblem och sedan 2007 rekommenderar WHO fördröjd klampning av navelsträngen (17,18). Vid fördröjd klampning kan den extra placenta-transfusionen om 80-100 ml blod bidra med cirka 40 mg/kg extra järn till barnet, utöver det järnförråd om ca 75 mg/kg som ett nyfött barn har i fullgången tid.

Den hittills längsta uppföljningen av barn som randomiserats till tidig eller fördröjd klampning av navelsträngen är 6 månader (4). Chaparro et al visade att fördröjd klampning i 2 minuter förbättrade järndepåerna hos fullgångna barn vid 6 månader, jämfört med direkt klampning (efter ca 10 sekunder).

I en annan studie randomiserade Cernadas et al (19) 276 nyfödda barn till tre grupper med olika tidpunkt för klampning av navelsträngen; inom 15 sekunder, efter 1 minut, respektive efter 3 minuter. Det primära effektmåttet var venös hematokrit (Hct) vid 6 timmar, och studien visade ett närmast linjärt förhållande mellan Hct-värde och tidpunkt för klampning. I gruppen där navelsträngen klampades efter 3 minuter hade 14% av barnen Hct > 65%, men inga barn hade polycytemi.

Vår egen studie visar att barnen som randomiserade till fördröjd klampning hade 45 % högre ferritin och lägre risk för järnbrist vid 4 månaders ålder än de barn där navelsträngen klampades tidigt (20). Betydelsen av dessa skillnader i ett längre perspektiv är inte kända.

Klampning av navelsträngen ur ett obstetriskt perspektiv

Tidig klampning av navelsträngen utförs således fortfarande på många sjukhus i Sverige, främst för att säkra provtagning för analys av blodgaser i navelsträngsblod som ett led i kvalitetssäkring men även för att samla in navelsträngsblod för lagring av stamceller. Tidig klampning av navelsträngen praktiseras också som en del av "aktiv handläggning av förlossningens tredje fas" vid förlossningens avslutande då placantan framföds, och innebär enligt tidigare gällande kriterier: omedelbar klampning av navelsträngen, kontrollerad dragning i navelsträngen och administration av läkemedel för uteruskontraktion. Denna strategi reducerar postpartum blödning hos modern (21) och rekommenderas av International Federation of Gynaecology and Obstetrics (FIGO) och Internationella Barnmorskeförbundet (ICM) (22), även om de följs i varierande grad i Europa (6). Numera har FIGO/ICM ändrat sina rekommendationer och tagit bort tidig klampning som en del av "aktiv handläggning".

Hypotes

Vår hypotes är att tidig klampning av navelsträngen, jämfört med fördröjd, är associerad med en ökad risk för järnbrist under spädbarnsåret, och som en följd av detta en ökad risk för suboptimal kognitiv och psykomotorisk utveckling.

Primär frågeställning:

Skiljer sig kognitiv utveckling (mätt med Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence, WPPSI-III) vid 4 års ålder hos barn födda med tidig jämfört med fördröjd avnavling (dvs direkt jämfört med fördröjd klampning)?

Sekundära frågeställningar:

- A. Skiljer sig psykomotorisk utveckling hos barn födda med tidig jämfört med fördröjd avnavling vid 4 års ålder bedömt med:
1. Subdomäner inom WPPSI-III (verbal intelligenskvot (IK), performance IK och helskale IK, samt snabbhetsindex och basalt språkindex).
 2. Utvalda items från Movement ABC
 3. Strength and Difficulties Questionnaire (SDQ)
 4. Ages and Stages Questionnaire (ASQ) och dess subdomäner
- B. Skiljer sig psykomotorisk utveckling, mätt med ASQ vid 3 år, i relation till tidpunkt för avnavling? Förändras ASQ utvecklingen mellan 36 och 48 månader?
- C. Påverkar barnets kön i kombination med avnavlingsmetod resultatet av ovanstående tester?
- D. Korrelerar järnstatus vid 4 och 12 månader med senare kognitiv och psykomotorisk utveckling och beteende?

Följande nollhypotes prövas:

Intelligenskvot (IK) vid 4 år, mätt med WIPPSI-III, skiljer sig med mindre än 5 poäng hos barn födda med tidig jämfört med fördröjd avnavling.

Metod**Redan genomförd datainsamling**

Fyrahundra fullgångna barn födda till friska mödrar efter en normal graviditet, randomiserades till tidig eller fördröjd klampning av navelsträngen (enligt rutin gjordes tidig klampning på förlossningen i Halmstad) under tidsperioden april 2008 till maj 2009. Tidig klampning av navelsträngen innebar att en peang sattes på navelsträngen inom 10 sekunder efter barnets födelse och fördröjd klampning att en peang sattes på navelsträngen tidigast 180 sekunder (3 min) efter barnets födelse medan barnmorskan höll barnet under livmoderns nivå. I båda grupperna hölls barnen initialt på en nivå ca 20 cm under moderns livmoder i 30 sekunder för att sedan placeras på sin mammas bröst. Alla andra aspekter av förlossningsvården sköttes enligt sjukhusets kliniska rutiner. Den slutgiltiga studiekohorten bestod av 189 mor-barn par i gruppen tidig klampning och 193 i gruppen fördröjd klampning. Vid 4 månader hade gruppen med fördröjd klampning 45% högre ferritin (95% CI 23 till 71) och risken för järnbrist var reducerad med 90% (från 5,7% till 0,6%). Grupperna skiljde sig inte avseende neonatala andningssymtom, polycytemi eller hyperbilirubinemi, men fördröjd klampning var associerat med lägre förekomst av neonatal anemi. (20). Data från enkäten Ages and Stages Questionnaire (ASQ) vid 4 och 12 månader, samt blod- och järnstatus vid 12 månader håller på att sammanställas.

Planerad uppföljning vid 3-4 års ålder

- A. Vid 3 års ålder ifyller del av föräldrarna det till svenska översatta ASQ formuläret för bedömning av barns utveckling och beteende (tidsåtgång cirka 15-20 minuter, endast en subgrupp kommer att hinna fylla i enkäten vid 3 år).
- B. Vid 4 år undersöks barnets utveckling med:
- Kognitiv testning med WPPSI-III (Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence), samt utvalda items från Movement ABC.
 - Beteende bedöms med SDQ (Strengths and Difficulties Questionnaire), enkät som fylls i av föräldrarna.
 - Psykomotorisk utveckling bedöms med ASQ, enkät som fylls i av föräldrarna.
- C. I de fall då föräldrarna avböjer testning av barnet vid 4 år tillfrågas de om de är villiga att medverka i uppföljningen genom att fylla i ASQ och SDQ formulären för 4 år.

Powerberäkning

WPPSI-III är ett standardtest för bedömning av kognitiv förmåga. Från testresultaten beräknas intelligenskvot (IK), som är normalfördelad och normerad till 100 med en standarddeviation på 15. Med en gruppstorlek på 142 och en signifikansnivå på 0,05 kan vi med en power av 80% finna en skillnad på 5 IK poäng mellan grupperna. I "Avnavlingsstudien" återkom 350 av de 382 barn (92%) som analyserades för undersökning vid 1 års ålder. Vi planerar att kalla alla barn som tidigare deltagit i "Avnavlingsstudien". Med ett beräknat bortfall på 20 % av dessa 350 barn, kommer gruppstorleken att bli ca 140.

Statistisk metod

Så väl bivariata som multivaria analyser kommer att användas. Relevant statistiskt test kommer att tas i beaktande beroende på om resultaten är skeva eller normalfördelade. Samtliga test kommer att vara dubbelsidiga. Signifikansnivån sätts till 0,05.

Arbetsplan

De inkluderade barnen föddes under perioden april 2008 till maj 2009, och de fyller 3-4 år under perioden april 2011 till maj 2013. Vi ansöker om ytterligare forskningsetiska tillstånd för denna uppföljning. Tillstånd att översätta och använda frågeformuläret ASQ för vetenskapliga ändamål söks från förlaget Brookes Publishing (som godkänt användning och översättning till studien vid 4 och 12 månader).

Många barn är inbokade för ett besök vid 3 års ålder i ett parallellt projekt gällande tillväxt (leg läk Josefin Roswall, Hallands sjukhus, och docent Giovanna Dahlgren, Göteborgs universitet). Vid detta besök, där antropometriska data och blodprover tas på barnet, kommer föräldrarna att bli tillfrågade om att fylla i ASQ för 3-åriga barn. De informeras även om den planerade uppföljningen vid 4 år. Föräldrar till övriga barn, de som ej ingår i tillväxtstudien får hem ett brev med enkäten, information om studien, samtycke och ett förfrankerat svarskuvert. Barnen kallas sedan vid 4 års ålder för kognitiv testning, och i samband med detta fyller föräldrarna i två enkäter, SDQ och ASQ. Undersökningarna genomförs av legitimerad psykolog med erfarenhet av testning av små barn. Samtliga undersökningar genomförs på ett lekfullt och barnanpassat sätt av legitimerad psykolog och sjukgymnast med erfarenhet av testning av små barn. I den händelse att ett barn uppvisar någon misstänkt avvikelse kommer föräldrarna att informeras och barnet remitteras för ytterligare utredning.

Betydelse

Inga studier har tidigare undersökt långsiktiga effekter på fullgångna barns kognitiva och psyko-motoriska utveckling, eller beteende, i relation till tidpunkt för avnavling eller klampning av navelsträngen. Resultaten kommer därför att vara viktiga både ur ett nationellt och internationellt perspektiv. Födelseantalet i Sverige är ca 100 000 per år och fler än 90% av barnen föds i fullgången tid efter en väsentligen normal graviditet, dvs. en situation som är mycket lik de aktuella studieförhållandena. Den aktuella studien har redan visat större järnförråd och lägre risk för järnbrist vid 4 månaders ålder hos barn som genomgått fördröjd klampning av navelsträngen, jämfört med tidig. Även om tidigare data indikerat att fördröjd avnavling är att föredra, så har många sjukhus avvaktat med att ändra sina rutiner tills våra data publicerats då det även bedömts som angeläget att säkra navelsträngsprover efter barnets födelse och då man inte varit övertygad om eventuella långtidseffekter av denna rutin.

Preliminära resultat

Obstetriska effekter av tidig jämfört med fördröjd klampning av navelsträngen (manuskript)

I den ursprungliga studiekohorten undersökte vi om tidpunkten för klampning av navelsträngen påverkade antalet valida arteriella och venösa navelsträngsblodprover för bedömning av syra-bas status, eller om moderns blödning skilde sig mellan grupperna.

Vi fann att en högre andel parade blodgasprover (artär och ven) erhöles i den tidigt klampade gruppen, det fanns dock ingen signifikant skillnad mellan andelen valida arteriella prover (enligt förbestämda kriterier av Westgate et al). De aktuella blodgasresultaten (arteriellt pCO₂ och pH) skiljde sig inte mellan grupperna. Maternell postpartum blödning eller transfusionbehov skiljde sig inte mellan grupperna.

Järnstatus och psykomotorisk utveckling vid 12 månader i relation till tidpunkt för avnavling

Vid 12 månaders ålder finner vi inga skillnader i järnstatus eller ASQ mellan de två randomiseringsgrupperna. Möjligen finns en könseffekt, att pojkar skulle kunna ha större fördel av fördröjd avnavling, men dessa data är mycket preliminära och inte färdiganalyserade.

Etiska överväganden

All forskning som involverar nyfödda och små barn kräver noggranna etiska överväganden, detta gäller i synnerhet forskning som inte är till omedelbar nytta för patienten. I den aktuella studien randomiserades förlossningar och det nyfödda barnet, till tidigt eller fördröjd klampning av navelsträngen på ett sjukhus där rutinen var att utföra tidig klampning. Data som fanns tillgängliga innan studien påbörjades indikerade att fördröjd klampning av navelsträngen skulle kunna ha positiva effekter på barnens järnstatus, men det fanns inga tidigare data från ett höginkomstland med låg prevalens av järnbrist. De inkluderade barnen erhöles således standardbehandling eller en intervention med potentiell nytta. Den första delen av studien är granskad och godkänd av etikprövningsnämnden i Lund (Dnr 41/2008). Våra data visar inga negativa neonatala effekter av fördröjd klampning och vid 4 månader hade denna grupp bättre järnförråd. Hittills har ingen studie i världen utvärderat långtidseffekter på barns utveckling i relation till tidpunkt för klampning av navelsträngen. Flera studier har visat att järnbrist medför ökad risk för påverkad kognitiv och psykomotorisk utveckling, eventuellt är dock denna risk reversibel. Av denna anledning är uppföljningsstudien oerhört viktig att genomföra då resultaten kan få stor framtida betydelse för rutiner vid förlossning. Ett etiskt bekymmer är att föräldrar till barn som randomiserades till tidig klampning kan bli oroade då data från 4 månader är publicerade och när de informeras och tillfrågas om deltagande i en uppföljningstudie. Preliminära data från 12 månader visar dock inga säkra skillnader mellan grupperna, och denna information delges föräldrarna, men en noggrannare undersökning med metoder som kan upptäcka mindre skillnader i olika utvecklingsaspekter är trots allt motiverad. Själva undersökningen inkluderar varken smärta eller stress för barnet, och den genomföres under lekfulla betingelser. Om misstänkt avvikande utveckling upptäcks, informeras föräldrarna och barnet remitteras för vidare utredning.

Medarbetare

Överläkare Ola Andersson, Barn- och ungdomsmedicinska kliniken, Hallands sjukhus, Halmstad där studien utföres, är lokalt ansvarig för att organisera undersökningen.

Leg psykolog, fil dr Barbro Lindquist, Barnhabiliteringen Halmstad, är ansvarig för genomförande och utvärdering av testningen på barnen.

Professor, öl Lena Hellström-Westas, Institutionen för kvinnors och barns hälsa. Uppsala Universitet/Akademiska Barnsjukhuset, är övergripande vetenskapligt ansvarig och Ola Anderssons handledare.

Docent, öl Magnus Domellöf, Avdelningen för Pediatrik, Umeå Universitet, är ansvarig för bedömning av tillväxt, nutrition och järnstatus samt biträdande handledare till Ola Andersson.

Professor, leg psykolog Karin Stjernqvist, Institutionen för psykologi, Lunds Universitet, är vetenskapligt ansvarig för kognitiv uppföljning och beteendeskattning.

Professor, leg psykolog Magnus Lindgren, Institutionen för psykologi, Lunds Universitet, är vetenskapligt ansvarig för neurokognitiva tester.

Kostnads kalkyl för uppföljningsstudien

Linnéa och Josef Carlssons stiftelse har för 2011-12 beviljat ett anslag på 150 000 kronor.

Hallands forskningsråd har beviljat forskningsmedel om 450 000 kr för 2012.

Lilla Barnets fond har beviljat ett doktorandbidrag till Ola Andersson om 35 000 kr.

Testmaterial, samt delar av personalkostnader beräknas kunna täckas av ALF-medel.

Budget

Den totala kostnaden (inkl LKP) för 2012/projektet beräknas till:

- 20% arbetstid Ola Andersson: 200 000/400 000 kr
- 75% arbetstid Barbro Lindqvist (april-dec 2012): 375 000/630 000 kr
- 20% sjukgymnast (april-dec 2012): 76 000/120 000 kr
- 20% forsknings sjuksköterska (april-dec 2012): 76 000/120 000 kr
- Resor för psykolog och möten inom forskargruppen: 25000/45 000 kr
- Testmaterial (WPPSI-III; Movement ABC; SDQ; ASQ): 55 000 kronor
- Presentation av resultat: 30 000 kr
- *Totalt* : 792 000/1 385 000 kr

Referenser

1. Geethanath RM, Ramji S, Thirupuram S, Rao YN. Effect of timing of cord clamping on the iron status of infants at 3 months. *Indian Pediatr* 1997;34:103-106.
2. Grajeda R, Perez-Escamilla R, Dewey KG. Delayed clamping of the umbilical cord improves hematologic status of Guatemalan infants at 2 mo of age. *Am J Clin Nutr* 1997;65:425-431.
3. Gupta R, Ramji S. Effect of delayed cord clamping on iron stores in infants born to anemic mothers: a randomized controlled trial. *Indian Pediatr* 2002;39:130-135.
4. Chaparro CM, Neufeld LM, Tena Alavez G, Eguia-Liz Cedillo R, Dewey KG. Effect of timing of umbilical cord clamping on iron status in Mexican infants: a randomised controlled trial. *Lancet* 2006;367:1997-2004.
5. van Rheenen P, de Moor L, Eschbach S, de Grooth H, Brabin B. Delayed cord clamping and haemoglobin levels in infancy: a randomised controlled trial in term babies. *Trop Med Int Health* 2007;12:603-616.
6. Winter C, Macfarlane A, Deneux-Tharaux C, et al. Variations in policies for management of the third stage of labour and the immediate management of postpartum haemorrhage in Europe. *BJOG* 2007;114:845-54.
7. Lozoff B, Beard J, Connor J, Barbara F, Georgieff M, Schallert T. Long-lasting neural and behavioral effects of iron deficiency in infancy. *Nutr Rev*. 2006;64:S34-43.
8. Thomas DG, Grant SL, Aubuchon-Endsley NL. The role of iron in neurocognitive development. *Dev Neuropsychol* 2009;34:196-222.
9. Konofal E, Lecendreux M, Arnulf I, Mouren MC. Iron deficiency in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2004;158:1113-5.
10. Gunnarsson BS, Thorsdottir I, Palsson G, Gretarsson SJ. Iron status at 1 and 6 years versus developmental scores at 6 years in a well-nourished affluent population. *Acta Paediatr* 2007;96:391-5.
11. Carter RC, Jacobson JL, Burden MJ, et al. Iron deficiency anemia and cognitive function in infancy. *Pediatrics* 2010;126: e427-34.
12. Peirano PD, Algarín CR, Garrido MI, Lozoff B. Iron deficiency anemia in infancy is associated with altered temporal organization of sleep states in childhood. *Pediatr Res*. 2007 Dec;62(6):715-9
13. Burden MJ, Westerlund AJ, Armony-Sivan R, et al. An event-related potential study of attention and recognition memory in infants with iron-deficiency anemia. *Pediatrics*.2007;120:e336-45.
14. Tamura T, Goldenberg RL, Hou J, et al. Cord serum ferritin concentrations and mental and psychomotor development of children at five years of age. *J Pediatr* 2002;140:165-70.

15. Hay G, Refsum H, Whitelaw A, Melbye EL, Haug E, Borch-Iohnsen B. Predictors of serum ferritin and serum soluble transferrin receptor in newborns and their associations with iron status during the first 2 y of life. *Am J Clin Nutr* 2007;86:64-73.
16. Persson LA, Lundström M, Lönnerdal B, Hernell O. Are weaning foods causing impaired iron and zinc status in 1-year-old Swedish infants? A cohort study. *Acta Paediatr* 1998;87:618-22.
17. Hutton EK, Hassan ES. Late vs Early clamping of the umbilical cord in full-term neonates: systematic review and meta-analysis of controlled trials. *JAMA* 2007;297:1241-52.
18. McDonald SJ, Middleton P. Effect of timing of umbilical cord clamping of term infants on maternal and neonatal outcomes. *Cochrane Database Syst Rev* 2008: CD004074.
19. Ceriani Cernadas JM, Carroli G, Pellegrini L, et al. The effect of timing of cord clamping on neonatal venous hematocrit values and clinical outcome at term: a randomized, controlled trial. *Pediatrics* 2006;117:e779-86
20. Andersson O, Hellström-Westas L, Andersson D, Domellöf M. Effect of delayed versus early umbilical cord clamping on neonatal outcomes and iron status at 4 months: a randomised controlled trial. *BMJ*. 2011;343:bmj.d7157.
21. Prendiville WJ, Harding JE, Elbourne DR, Stirrat GM. The Bristol third stage trial: active versus physiological management of third stage of labour. *BMJ* 1988;297:1295-300.
22. Lalonde A, Daviss BA, Acosta A, Herschderfer K. Postpartum hemorrhage today: ICM/FIGO initiative 2004-2006. *Int J Gynaecol Obstet* 2006;94(3):243-53.

Long term effects of delayed versus early umbilical cord clamping in Swedish children

Purpose and aims

The purpose of this study is to investigate whether the time to umbilical cord clamping after delivery of full-term infants has long-term consequences on neurodevelopment at 3-4 years of age. The aim is to provide valid data from a sufficiently large cohort of infants in a high-income country with low prevalence of iron deficiency (ID) to be able to provide recommendations for cord clamping in relation to time after birth.

The current project includes almost 400 healthy term babies, born at full-term after normal pregnancies during the time period April 2008 to May 2009 and randomized to either early (≤ 10 s) or delayed (≥ 180 s) umbilical cord clamping. Current routine at the time for inclusion to the study was early cord clamping. Infants who were subjected to delayed cord clamping (DCC) had significantly higher iron store and lower risk for ID at 4 months of age. As ID is associated with a risk of suboptimal development, we plan to assess the cognitive function, psychomotor development, and behavior of the children at the age of 3-4 years of age. This will give new important information whether the timing of umbilical cord clamping affects neurodevelopmental outcome in a high-income country.

Background

At term, the unborn child's blood volume is divided between its body's circulation (70 ml/kg) and the placental circulation (35-45 ml/kg, which is approximately 30% of the total blood volume). At birth contractions of the uterus will contribute with a transfusion of up to 35 ml/kg of the placental part of the total blood volume to the newborn child. This transfusion

ends after three minutes of the child is kept at the level of the uterus, and within one minute if the child is kept 20 cm under the uterine level, but can also be terminated in advance though umbilical cord clamping.

The World Health Organization (WHO) has recommended that delayed cord clamping should be practiced in order to decrease the risks for infant ID. The recommendation is based on studies performed mainly in populations with high prevalence of iron deficiency anemia (IDA) (1-5). The practice of delayed cord clamping is not standard treatment in Sweden and many industrialized countries (6). Recent surveys indicate that about 2/3 of births in Sweden practice early cord clamping as part of active management of labor, or for securing umbilical cord blood sampling for blood gas analysis (O Andersson, 2006, unpublished data).

Iron deficiency

Sufficient iron stores are necessary for normal brain development (7,8). Iron deficiency is associated with suboptimal cognition, delayed motor development, and some studies also demonstrate adverse behavioral effects. In a French cohort of children aged 4-14 years, Konofal et al (9) demonstrated that children with attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) had lower serum ferritin than controls and also that lower ferritin levels correlated with more severe ADHD symptoms and greater cognitive defects. Other studies, however, have not demonstrated correlations between ID or IDA and ADHD. Gunnarsson et al (10) evaluated the association between iron status at 1 and 6 years with development at 6 years in a cohort of Icelandic children. Iron deficiency and depleted iron stores at 1 year was associated with lower fine motor development scores at 6 years. A study on infants found a linear dose-response effect of iron status on cognitive function; infants without iron deficiency performed best, followed by infants with ID, while infants with IDA had the lowest scores (11).

Translation to English of project description sent to ethical review board February 2012

Also sleep patterns may be altered in iron deficient, or previously iron deficient children. Peirano et al (12) investigated nighttime sleep in 4-year old children, demonstrating a less mature sleep pattern in former iron deficient children. The investigators speculated whether altered dopamine or GABA neurotransmission caused the modulation in sleep.

Iron deficiency early in life may lead to irreversible changes in brain function, but some studies have also shown neurodevelopmental delays that recovered when ID or IDA was treated. In 9-10 months old infants with IDA, attention and recognition memory, as assessed by ERPs, was delayed in infants with IDA but had recovered when the infants were 12-13 months old (13). The timing when ID or IDA occurred during development is also important for later outcome, and it has been shown that umbilical cord ferritin levels (reflecting fetal ferritin levels) correlated with neurocognitive and language development (14). Infants born to mothers who received iron supplementation during pregnancy have higher umbilical cord ferritin concentrations (15). In Sweden, the risk for very early iron deficiency that would affect fetal iron stores is low although not negligible. Persson et al demonstrated that ID is not uncommon in Swedish infants, 26% were affected at the age of 1 year (16).

Umbilical cord clamping for preventing iron deficiency

Infant iron deficiency anemia (IDA) is a huge global public health problem, and since 2007, delayed cord clamping has been recommended by the WHO (17,18) . When cord clamping is delayed, a placental transfusion of 80-100 mL of blood will supply about 40 mg/kg of extra iron to the basal 75 mg/kg of body iron in a newborn term infants.

The longest follow up randomized controlled trials (RCTs) evaluating early versus delayed cord clamping is 6 months. Chaparro et al (4) demonstrated that a 2-minute delay in cord clamping would improve iron stores in full-term infants at 6 months of age, as compared to

Translation to English of project description sent to ethical review board February 2012

early cord clamping around 10 seconds after delivery. Of the 476 mother-infant pairs who were recruited, 358 (75%) completed the trial.

In another RCT, Cernadas et al (19) assigned 276 newborn infants into three groups according to time for umbilical cord clamping after delivery, within 15 seconds, after 1 minute and after 3 minutes, respectively. The primary outcome was venous hematocrit at 6 hours. Hematocrit was significantly higher in the two delayed cord clamping groups, and highest in the 3-minute group in which 14.1% had a hematocrit above 65%, but no infants had clinical signs of polycythemia.

Our own study demonstrated that children randomized to delayed clamping had 45% higher ferritin and lower risk of ID at 4 months of age compared to children who had their cord clamped early ¹.

Umbilical cord clamping from an obstetric perspective

Early umbilical cord clamping is still performed in many Swedish hospitals, mainly to ascertain umbilical cord blood gas analysis for quality assurance of the delivery and for medico legal reasons, but also for collecting umbilical cord blood for stem cell storage. Early umbilical cord clamping has for a long time been practiced in many hospitals as part of “active management of third stage labour”. The active management was evaluated in a RCT and was shown to reduce postpartum haemorrhage (21). It was consequently recommended by the International Federation of Obstetrics and Gynaecology (FIGO) and the International Confederation of Midwives (ICM) as well as Cochrane reports that immediate cord clamping should be performed together with controlled cord traction and administration of an uterotonic drug (22). In Europe, the compliance to these recommendations have differed substantially (6). After the last years growing support for DCC and since the timing of clamping was not

studied separately in the RCT, FIGO/ICM have changed their recommendations and withdrawn ECC as a part of active management of third stage labour.

Hypothesis

Our hypothesis is that early cord clamping, as compared to delayed, is associated with an increased risk for iron deficiency, and as a consequence increased risks for suboptimal infant development .

Primary objective

Do cognitive development (measured by Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence, WPPSI-III) differ at 4 years of age between children after early as compared to delayed umbilical cord clamping?

Secondary objectives

A. Do psychomotor development differ between children after early as compared to delayed umbilical cord clamping at 4 years of age evaluated by:

1. Subsets from WPPSI-III (Verbal and Performance IQ; the Processing Speed Quotient and a General Language Composite)
2. Selected items from Movement ABC
3. SDQ (Strengths and Difficulties Questionnaire)
4. Ages and Stages Questionnaire (ASQ), and its subdomains.

B. Do psychomotor development, assessed by ASQ at 3 years of age, differ between children after early as compared to delayed umbilical cord clamping? Do development assessed by ASQ change between 36 and 48 months?

C. Does the sex of the child in combination of time of clamping the umbilical cord affect the results of the tests mentioned above?

Translation to English of project description sent to ethical review board February 2012

D. Do iron status at 4 and 12 months correlate with later cognitive and psycho-motor development and behavior?

The following null hypothesis will be analyzed

IQ at four years of age, as assessed by WPPSI-III, will differ with less than 5 points between children born with early compared to delayed cord clamping.

Method

Performed data collection

Four hundred full-term infants, born to healthy mothers after normal pregnancies, were randomized to early or delayed cord clamping (at a hospital which practiced early cord clamping as standard practice). The infants were born during the time-period April 2008 to May 2009. The intervention in the early cord clamping (ECC) group consisted of double clamping of the umbilical cord within 10 seconds of the infant's delivery, and in the delayed cord clamping (DCC) group consisted of late (≥ 180 s) clamping of the umbilical cord while the midwife was holding the child below the level of the uterus. In both randomization groups, all children were initially kept about 20 cm below the level of the mother's uterus for 30 seconds and then placed on their mother's chest. All other aspects of obstetric care during labour and delivery were managed according to the standard practice of care at the study hospital. The final participating mother-infant pairs available for statistical analysis were 189 in the ECC group and 193 in the DCC group. At 4 months the delayed cord clamping group had 45% higher ferritin (95% CI 23-71) and the risk for iron deficiency was reduced by 90% (from 5.7% to 0.6%). The groups did not differ regarding neonatal respiratory symptoms, polycythemia, or hyperbilirubinemia, but delayed cord clamping was associated with

Translation to English of project description sent to ethical review board February 2012

lower incidence of neonatal anemia. (20). Data from the survey Ages and Stages Questionnaire (ASQ) at 4 and 12 months, as well as blood and iron status at 12 months is being compiled.

Follow up at 3 and 4 years of age

A. At a prescheduled visit at 3 years of age, parents will be asked to fill in the ASQ (Ages and Stages Questionnaire) for assessment of neurodevelopment and behavior.

B. Children will be asked to return for a follow up at 4 years of age for neurodevelopmental testing including:

- Cognitive testing with WPPSI (Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence) and selected items from Movement ABC
- Behavioral assessment with SDQ (Strengths and Difficulties Questionnaire), a questionnaire for behavioral screening which is filled in by the parents
- Assessment of psychomotor development with ASQ (Ages and Stages Questionnaire), a questionnaire that is answered by the parents

C. Under the circumstance that the parents decline having their child tested with WPPSI-III at four years of age, they will be asked to answer the ASQ and SDQ at four years.

Power Calculation

WPPSI-III is a standard test for evaluation of cognitive ability. From the test results calculated intelligence quotient (IQ), which is normally distributed and standardized to 100 with a standard deviation of 15.

With a group size of 142 and a significance level of 0.05, we can with a power of 80% find a difference of 5 IQ points between the groups. In the original "cord clamping study" 350 of

Translation to English of project description sent to ethical review board February 2012

the 382 children (92%) returned to be examined at 1 year of age. We plan to call all the children who previously attended in the original "cord clamping study". With a projected attrition of 20% of these 350 children, group size is expected to be approximately 140.

Statistical methods

Bivariate as well as multivariate analysis will be used. The relevant statistical test will be taken into account, depending on whether the results are skewed or have normal distribution. All tests will be double sided. The level of significance is set at 0.05.

Time plan

The included children were born during the time period April 2008 to May 2009, and they will become 3 to 4. years between April 2011 and May 2013. Permission to translate and use the Ages and Stages Questionnaire (ASQ) for scientific purposes, is sought from the publisher Brooks Publishing (as already approved for the previous versions at 4 and 12 months of age).

The included children are already scheduled for a visit at 3 years of age, at this time anthropometric data and blood sampling will be performed. This visit is part of another project on growth and obesity, which is run in parallel (Josefin Roswall, MD, Hospital of Halland and associate professor Giovanna Dahlgren, Göteborg University). At this visit parents will be asked to fill in the ASQ for 3-year old children. The parents will also be informed about the neurodevelopmental testing and questionnaires at 4 years of age. The reason for choosing 4 years for cognitive testing is that we want to avoid 'floor effects' of the WPPSI. Parents of those children who are not part of the growth trial receive a letter with the survey, information about the study, consent and a postage-paid reply envelope. The children are then called at age 4 for cognitive testing, and in connection with this the parents answers two surveys, SDQ and ASQ. A licensed psychologist with experience in testing of small children conducts the testing. All examinations will be carried out in a playful and child-

friendly way of a licensed psychologist and physiotherapist with experience in testing small children. In the event that a child exhibits any suspected deviation in development, parents will be informed and the child is referred for further investigation.

Significance

There are no previous studies that have investigated long-term effects on psychomotor development, cognition and behavior in relation to timing of umbilical cord clamping. Consequently the results will be important both from a national and international perspective, not least due to the large study population. The annual birth rate in Sweden is around 100,000, and a large majority (>90,000) of newborn infants are born at full-term after normal pregnancies, i.e. after a situation that is very similar to the study conditions in the current study. In the current study population, we have already demonstrated significant differences in iron stores, and an increased risk for iron deficiency anemia at 4 months of age, between early and late cord-clamped infants. Although previous data has indicated that delayed cord clamping is preferred, many hospitals have waited to change their routines until our data has been published, as it is considered equally important to secure the umbilical cord samples after birth and as the potential long-term effects of the routine of delayed cord clamping not has been convincing.

Preliminary results

Obstetric effects of early versus late umbilical cord clamping:

In the study cohort mentioned above, we examined whether early or delayed cord clamping affected the number of valid arterial and venous umbilical cord blood samples taken for assessment of acid-base status at birth, and whether maternal hemorrhage differed between groups.

Translation to English of project description sent to ethical review board February 2012

We found no difference in the proportion of valid samples in the early versus the delayed cord clamping group, and the results of blood gas analyses (arterial pCO₂ and pH) did not differ. Furthermore, DCC did not increase maternal postpartum hemorrhage or need for blood transfusion.

Neonatal outcomes and iron status at 4 months

At 12 months of age, we found no differences in iron status or ASQ between the two randomization groups. Possibly there is a gender effect, that the boys might have greater advantage of delayed cord clamping, but these data are very preliminary and not fully analyzed.

Ethical considerations

All research involving newborn infants and small children needs careful ethical considerations, mainly since the subjects themselves can't themselves agree to whether they want to participate in the study or not. In particular, research that is not immediately of benefit for the patients needs ethical consideration. The included infants were healthy full-term infants undergoing umbilical cord clamping, which is a standard procedure after birth. Previous data indicate that delayed cord clamping may be beneficial. The infants were randomized to either early or delayed cord clamping in a hospital with the routine of performing early cord clamping. Consequently, included infants were either subjected to standard care or an intervention with potential benefit. The first part of the study is reviewed and approved by the Ethical Review Board in Lund (No. 41/2008). Our data show no adverse neonatal effects of delayed cord clamping and at four months, this group had better iron stores. To date, no study in the world has evaluated the long-term effects on child development in relation to the timing of clamping the umbilical cord. Several studies have shown that iron deficiency increases the risk for affected cognitive and psychomotor development, possibly may this risk be reversible. For this reason, a follow-up study is

important to carry through, as the results may be of great future importance for routines in childbirth. An ethical concern is that parents of children who were randomized to early cord clamping may be concerned when data from four months are published and when they are informed and asked to participate in a follow-up study. Preliminary data from the 12 months, however, show no definite differences between the groups, and this information is communicated to the parents, but a closer examination of methods that can detect small differences in various aspects of development is nevertheless warranted. The planned follow up project does not include pain or stress, if abnormal development is detected parents will be informed and the infant further investigated.

Participants' role in the project

Dr Ola Andersson, MD, is senior consultant in neonatology and working at Hospital of Halland, Halmstad, where the study is carried out. The study is Dr Andersson's PhD project. Dr Andersson is locally responsible for organizing the study.

Licensed psychologist, PhD Barbro Lindquist, is responsible for the implementation and evaluation of the testing on the children.

Professor Lena Hellström-Westas MD, PhD, is scientifically responsible for the cord clamping study and the follow up.

Associate Professor Magnus Domellöf, MD, PhD, is an international authority on infant iron deficiency and nutrition and has main scientific responsibility for the assessment of iron stores in relation to umbilical cord clamping.

Professor Karin Stjernqvist, PhD, is scientifically responsible for the cognitive testing.

Associate Professor Magnus Lindgren, PhD, is scientifically responsible for the neurocognitive testing.

Part of project costs

Linnea and Josef Carlsson Foundation has for 2011-12 approved a grant of 150 000 SEK. The Scientific Council in Halland has granted research funds of 450 000 for 2012. Little Child Fund has granted a PhD student contributions to Ola Andersson of 35 000. Test materials, and parts of the personnel costs are expected to be covered by ALF funds.

Budget

The total estimated cost for the current project 2012/total cost is:

20% time Ola Andersson 200 000/ 400 000 SEK

75% psychologist (Barbro Lindqvist) 375 000/630 000 SEK

20% physiotherapist (to be recruited) 76 000/120 000 SEK

20% research nurse 76 000/120 000 SEK

Travel for psychologist and meetings within the group 25 000/45 000 SEK

Test material (WPPSI-III; Movement ABC; SDQ; ASQ) 55 000 SEK

Presentation of results, including publication costs 30 000 SEK

Total 792 000/1 385 000 SEK

References

1. Geethanath RM, Ramji S, Thirupuram S, Rao YN. Effect of timing of cord clamping on the iron status of infants at 3 months. *Indian Pediatr* 1997;34:103-106.

2. Grajeda R, Perez-Escamilla R, Dewey KG. Delayed clamping of the umbilical cord improves hematologic status of Guatemalan infants at 2 mo of age. *Am J Clin Nutr* 1997;65:425-431.

3. Gupta R, Ramji S. Effect of delayed cord clamping on iron stores in infants born to anemic mothers: a randomized controlled trial. *Indian Pediatr* 2002;39:130-135.

4. Chaparro CM, Neufeld LM, Tena Alavez G, Eguia-Liz Cedillo R, Dewey KG. Effect of timing of umbilical cord clamping on iron status in Mexican infants: a randomised controlled trial. *Lancet* 2006;367:1997-2004.
5. van Rheeën P, de Moor L, Eschbach S, de Grooth H, Brabin B. Delayed cord clamping and haemoglobin levels in infancy: a randomised controlled trial in term babies. *Trop Med Int Health* 2007;12:603-616.
6. Winter C, Macfarlane A, Deneux-Tharaux C, et al. Variations in policies for management of the third stage of labour and the immediate management of postpartum haemorrhage in Europe. *BJOG* 2007;114:845-54.
7. Lozoff B, Beard J, Connor J, Barbara F, Georgieff M, Schallert T. Long-lasting neural and behavioral effects of iron deficiency in infancy. *Nutr Rev.* 2006;64:S34-43.
8. Thomas DG, Grant SL, Aubuchon-Endsley NL. The role of iron in neurocognitive development. *Dev Neuropsychol* 2009;34:196-222.
9. Konofal E, Lecendreux M, Arnulf I, Mouren MC. Iron deficiency in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2004;158:1113-5.
10. Gunnarsson BS, Thorsdottir I, Palsson G, Gretarsson SJ. Iron status at 1 and 6 years versus developmental scores at 6 years in a well-nourished affluent population. *Acta Paediatr* 2007;96:391-5.
11. Carter RC, Jacobson JL, Burden MJ, et al. Iron deficiency anemia and cognitive function in infancy. *Pediatrics* 2010;126: e427-34.
12. Peirano PD, Algarín CR, Garrido MI, Lozoff B. Iron deficiency anemia in infancy is associated with altered temporal organization of sleep states in childhood. *Pediatr Res.* 2007 Dec;62(6):715-9
13. Burden MJ, Westerlund AJ, Armony-Sivan R, et al. An event-related potential study of attention and recognition memory in infants with iron-deficiency anemia. *Pediatrics.* 2007;120:e336-45.
14. Tamura T, Goldenberg RL, Hou J, et al. Cord serum ferritin concentrations and mental and psychomotor development of children at five years of age. *J Pediatr* 2002;140:165-70.

15. Hay G, Refsum H, Whitelaw A, Melbye EL, Haug E, Borch-Johnsen B. Predictors of serum ferritin and serum soluble transferrin receptor in newborns and their associations with iron status during the first 2 y of life. *Am J Clin Nutr* 2007;86:64-73.
16. Persson LA, Lundström M, Lönnerdal B, Hernell O. Are weaning foods causing impaired iron and zinc status in 1-year-old Swedish infants? A cohort study. *Acta Paediatr* 1998;87:618-22.
17. Hutton EK, Hassan ES. Late vs Early clamping of the umbilical cord in full-term neonates: systematic review and meta-analysis of controlled trials. *JAMA* 2007;297:1241-52.
18. McDonald SJ, Middleton P. Effect of timing of umbilical cord clamping of term infants on maternal and neonatal outcomes. *Cochrane Database Syst Rev* 2008: CD004074.
19. Ceriani Cernadas JM, Carroli G, Pellegrini L, et al. The effect of timing of cord clamping on neonatal venous hematocrit values and clinical outcome at term: a randomized, controlled trial. *Pediatrics* 2006;117:e779-86
20. Andersson O, Hellström-Westas L, Andersson D, Domellöf M. Effect of delayed versus early umbilical cord clamping on neonatal outcomes and iron status at 4 months: a randomised controlled trial. *BMJ*. 2011;343:bmj.d7157.
21. Prendiville WJ, Harding JE, Elbourne DR, Stirrat GM. The Bristol third stage trial: active versus physiological management of third stage of labour. *BMJ* 1988;297:1295-300.
22. Lalonde A, Daviss BA, Acosta A, Herschderfer K. Postpartum hemorrhage today: ICM/FIGO initiative 2004-2006. *Int J Gynaecol Obstet* 2006;94(3):243-53.