

Gebe Rat Fetüslerinde Tek ve Tekrarlanan Doz Kortikosteroid Kullanımının Akciğer Matürasyonu ve Beyin Gelişimi Üzerine Etkileri

Ayşe Kafkaslı¹, Yaprak Engin-Üstün¹, Mehmet Boz¹, Neşe Karadağ²

¹Inönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye

²Inönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye

Özet

Amaç: Tek ve tekrarlanan doz kortikosteroidlerin fetal akciğer matürasyonu, doğum ağırlığı, baş çevresi ve beyin gelişimi üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması.

Yöntem: Kırk-iki tane Sprague-Dawley cinsi rat 6 gruba ayrıldı. Gebe ratlara gebeliğin 16, 17 ve 18. günlerinde intramusküler betametason (0.5mg/kg) ve kontrol grubuna da salin solüsyonu verildi. Ratlar 19. gün (preterm) ve 22. gün (term) olarak doğurtuldu. Sezeryanla doğumu takiben doğum ağırlıkları, boy uzunlukları, baş çevreleri, tüm beyin ağırlıkları, tüm beyin en uzun ön-arka çapı ve beyin genişliklerinin ölçümü yapıldı. Histopatolojik olarak akciğer matürasyonu değerlendirildi.

Bulgular: Preterm kontrol grubu, tek doz kortikosteroid alan grup ve tekrarlanan doz kortikosteroid alan gruplar arasında doğum kilosu, boy uzunluğu, baş çevresi ve tüm beyin ağırlığı açısından anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$). Pretermelerde histopatolojik olarak tek doz kortikosteroid verilen grupta akciğer matürasyon evresi %71.4 glandüler evre, %28.6 glandüler-kanaliküler evre, tekrarlanan doz kortikosteroid alan grupta %42.9 glandüler evre, %42.9 kanaliküler evre olarak bulundu.

Sonuç: Gebe ratlarda tekrarlanan dozlarda kortikosteroid kullanımı fetal doğum ve beyin ağırlığında tek doza göre farklılık yaratmamakta ancak akciğer matürasyonunda ilerlemeye yol açmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Kortikosteroid, fetal akciğer matürasyonu, beyin gelişimi.

Comparison of the effect of single and repeated courses of corticosteroids on fetal lung maturation and brain growth in pregnant rats

Objective: To compare the effect of single and repeated courses of corticosteroids on fetal lung maturation, birth weight, head circumference and brain growth in fetal rats.

Methods: Forty two Sprague-Dawley rats were divided into 6 groups. Mature and premature pregnant rats were given intramuscular betamethasone (0.5 mg/kg) at 16 or at 16-18 days of gestation. Controls (mature and premature rats) received equivalent volumes of sterile normal saline. Rats were delivered at 19 (preterm) and 22 (term) days. After cesarean delivery, we measured birth weight, length, head circumference, weight of whole brain, maximal cerebral anterior-posterior length and evaluated the lungs histopathologically.

Results: There were no significant differences in birth weight and whole brain weights between the premature rats receiving one dose and repeated doses of corticosteroid. Lung maturation in premature rats revealed 71.4% glandular stage in the rats receiving one dose of corticosteroid where as 42.9% glandular stage and 42.9% canalicular stage in rats receiving multiple courses.

Conclusion: Administration of repeated courses of corticosteroids did not cause any significant differences in birth and brain weights, but increased maturation in lungs in comparison with one dose.

Keywords: Corticosteroids, fetal lung maturation, brain growth.

Giriş

Preterm doğumlarda antenatal kortikosteroid kullanımının neonatal ölüm, respiratuvar distres sendromu, intraventriküler hemoraji ve nekrotizan enterokolit oranlarında önemli bir azalmaya neden olduğu bilinmektedir.¹ Çoklu doz antenatal kortikosteroidlerin nöronların sayısında azalma ve hipokampustaki nöronlarda dejenerasyon ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.² Quinlivan ve arkadaşları, vücut ve organ kilolarında, term ve pretermilerin biometrik ölçümlerinde (kilo, femur uzunluğu, beyin volümü, beyin ağırlığı) kontrol grubuna göre, tekrarlanan doz kortikosteroid verilenlerde önemli bir azalma olduğunu rapor etmişlerdir.³

Bu çalışmanın amacı; kortikosteroidlerin beyin dokusu üzerine etkisinin saptanması, prematür ve matür ratlarda tek doz ve tekrarlanan doz kortikosteroidlerin akciğer matürasyonu üzerine olan etkilerinin karşılaştırılmasıdır.

Yöntem

Çalışmada denek olarak, 40 adet yetişkin dişi Sprague-Dawley rat (250-275 g) ile 15 erkek Sprague-Dawley rat kullanıldı. Ratlar çiftleştirildi. Gebelik solid, sarı vajinal plak oluşumuyla tespit edildi. Vajinal plak görülmesi gebeliğin ilk günü olarak kabul edildi. Doğan yeni nesil çalışmada kullanıldı. Ratlar Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvan Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Çalışmada kullanılan ratlar daha önce başka bir deneyde kullanılmadı. Çalışmaya başlamadan önce etik kurul onayı alındı. Hayvanların bakımları 25 gün boyunca havalandırması olan, yeterli güneş ışığı alan özel kafesler içinde yapıldı. Verilen ilaç dozlarında sorun yaşanmaması ve deney süresince gelişebilecek olası enfeksiyonların yayılmasını önlemek için her hayvan ayrı kafese konuldu. Bütün kafeslerdeki ratlar düşük sodyum içeren pellet yem ile beslendiler. Doğan yeni nesilden ilk 42'si çalışmaya dahil edildi. Altı çalışma grubu oluşturuldu:

Grup 1: Prematür, herhangi bir tedavi almayan kontrol gurubu, antenatal salin solüsyonu uygulanan gebe ratlar (n=7).

Grup 2: Prematür, tek doz antenatal betametazon alan gebe ratlar (n=7).

Grup 3: Prematür, üç doz, tekrarlanan doz betametazon alan gebe ratlar (n=7).

Grup 4: Matür, herhangi bir tedavi almayan kontrol gurubu, antenatal salin solüsyonu uygulanan gebe ratlar (n=7).

Grup 5: Matür, tek doz antenatal betametazon alan gebe ratlar (n=7).

Grup 6: Matür, üç doz, tekrarlanan doz betametazon alan gebe ratlar (n=7).

Gebe ratların gebelik süresi 21 gün olduğu gözönüne alınarak her altı gruba da preterm sezaryen ile doğum yaptırıldı.

Preterm sezaryen ile doğum öncesinde Grup 1'e tek doz, 0.5 mg/kg, intramuskuler salin solüsyonu; Grup 2'ye tek doz, 0.5 mg/kg, intramuskuler betametazon (Celestone Chronodose ampul Schering-Plough Corporation lisansı ile Eczacıbaşı İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş., İstanbul); Grup 3'e üç doz 0.5mg/kg intramuskuler betametazon uygulandı. Grup 4'e tek doz intramuskuler salin solüsyonu; Grup 5'e tek doz, intramuskuler, 0.5 mg/kg betametazon; Grup 6'ya üç doz intramuskuler 0.5 mg/kg betametazon uygulandı. Tek doz uygulanan grupta gebeliğin 16. gününde, tekrarlanan doz uygulanan gruplarda gebeliğin 16, 17 ve 18. günlerinde ilaç uygulamaları yapıldı. Prematür gruplarda 19. gün, matür gruplarda 21. gün ameliyatlar yapıldı. Gebelik günlerinin tespitinde vaginal plak oluşumu gebeliğin birinci günü olarak belirlendi ve sonraki günler sayılarak her bir rat için gebelik günleri tespit edildi. Her ratın canlı yavru sayıları ve doğum ağırlıkları belirlendi. Anestezi olarak 50 mg/kg ketamin-hidroklorid ve 5 mg/kg xylazine uygulandıktan sonra incelenen dokular uygun koşullarda çıkarıldı. Formalin içinde fikse edilerek histopatolojik incelemeye alındı. İncelemeyi yapacak histoloji uzmanının hangi dokunun hangi gruptan olduğunu bilmemesi sağlandı.

Rat fetüslerinin akciğer matürasyonunda gebeliğin 18. gününde psödoglandüler evre, gebeliğin 19-20. günlerinde kanaliküler evre ve gebeliğin 21. gününde sakküler evre tamamlanmış olmaktadır. Histopatolojik değerlendirmede akciğer maturasyonun değerlendirilmesinde gelişim evreleri olarak gelişim sırasına göre glandüler evre, kanaliküler evre ve sakküler evre ve ara evreler olarak glandüler-kanaliküler evre ve kanaliküler-sakküler evre sırası değerlendirilmedi kullanıldı.

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS Windows 10.0 programı, istatistiksel analiz yöntemi olarak uygunluğuna göre Post Hoc Çoklu Karşılaştırma, Mann Whitney-U ve Kruskal Wallis analizi kullanıldı. Sonuçlar istatistiksel anlamlılık sınırı olarak $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

Bulgular

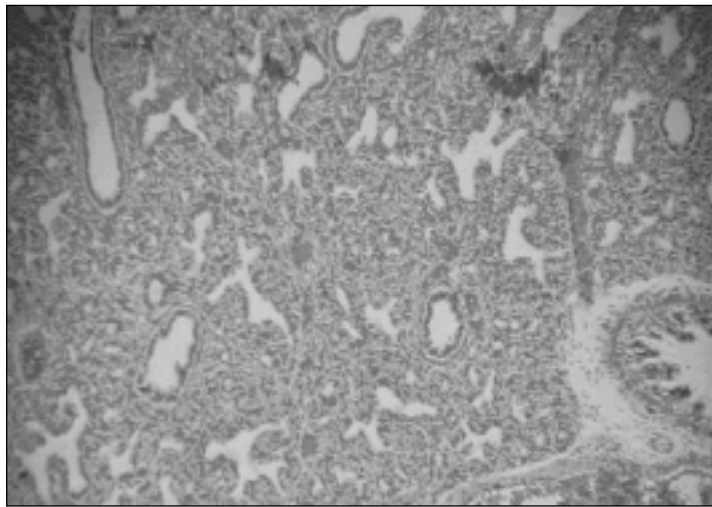
Akciğer matürasyon evrelerinin değerlendirmesinde tüm deneklerin %19'u glandüler evre (Resim 1), %23.8'i glandüler-kanaliküler evre, %42.9'u kanaliküler evre (Resim 2), %7.1'i kanaliküler-sakküler evre ve %7.1'i sakküler evre (Resim 3) olarak bulunmuştur. Matür grupta tek doz betametazon alan deneklerin %85.7'si kanaliküler evre, %14.3'ü kanaliküler-sakküler evre, tekrarlanan doz betametazon alan deneklerin %14.3'ü glandüler-kanaliküler evre, %85.7'si kanaliküler evre, salin solüsyonu alan deneklerin %14.3'ü glandüler-kanaliküler evre, %14.3'ü kanaliküler evre, %28.6'sı kanaliküler-sakküler evre, %42.9'u sakküler evre olarak bulunmuştur. Prematür grupta tek doz betametazon alan deneklerin %71.4'ü glandüler evre, %28.6'sı glandüler-kanaliküler evre, tekrarlanan doz betametazon alan deneklerin %42.9'u glandüler evre, %14.3'ü glandüler-kanaliküler evre, %42.9'u kanaliküler evre, salin solüsyonu alan deneklerin %71.4'ü glandüler-kanaliküler evre, %28.6'sı kanaliküler evre olarak tespit edilmiştir.

Prematür ratların olduğu grupta tüm beyin ağırlığı açısından tek doz (101.14 ± 32.48 mg), tekrarlanan doz betametazon (117.28 ± 51.21 mg) ve salin solüsyonu alan (171.28 ± 53.61 mg) gruplar arasında anlamlı olarak fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). Matür ratların olduğu grupta salin solüsyonu alan grup (335.00 ± 117.08 mg) ile tek (228.14 ± 45.52 mg) ve tekrarlanan doz betametazon alan (195.42 ± 61.65 mg) her iki grup arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.05$). Tek ve tekrarlanan doz betametazon alan gruplar arasında ise anlamlı fark bulunmamıştır ($p = 0.36$) (Grafik 1) (Resim 4,5).

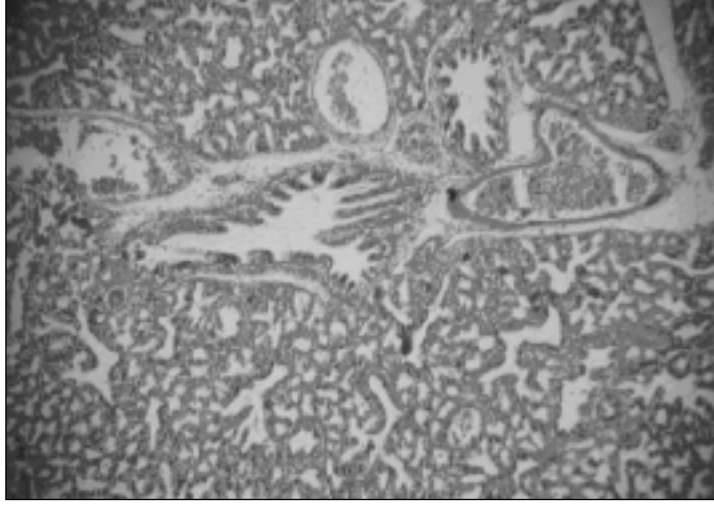
Tablo 1'de tekrarlanan doz, Tablo 2'de tek doz kortikosteroid verilen prematür ve matür rat gruplarında doğum ağırlığı, baş çevresi, boy uzunluğu, beyin ağırlığı, beyin uzunluğu ve beyin genişliği verileri izlenmektedir.

Tartışma

Tekrarlanan doz antenatal kortikosteroid kullanımının, potansiyel tehlikeleri bulunmaktadır.^{1,4} Bunlar: 1. Glukoz tolerans bozukluğu 2. Kemik erimesi 3. Adrenal baskılanma 4. Gelişme bozukluğu 5. Myelinizasyon bozukluğudur. American Collage of Obstetricians and Gynecologist (ACOG) önerisi 24-34. haftalar arasındaki pretermilere betametazon ya da deksametazon verilmesi uygundur, ancak tekrarlanan doz antenatal kortikosteroid kullanımını desteklemede yeterli kanıtların olmadığı şeklindedir.⁵ Burdan yola çıkarak yaptığımız çalışmada



Resim 1. Glandüler akciğer matürasyon evresi. H & E x 100.

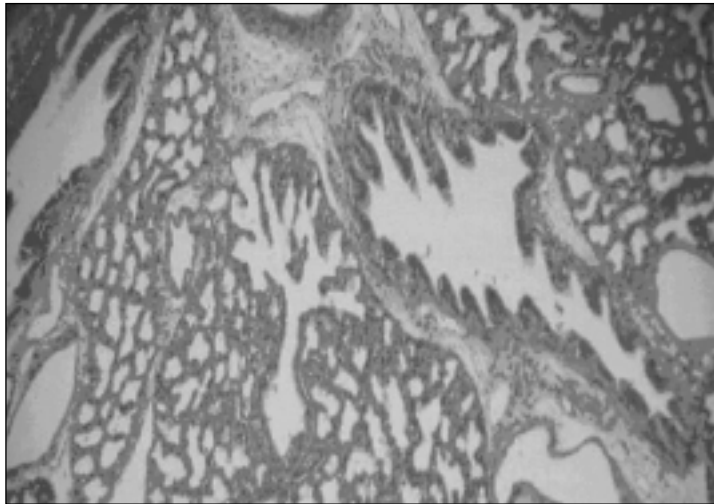


Resim 2. Kanaliküler akciğer matürasyon evresi. H&E x 100.

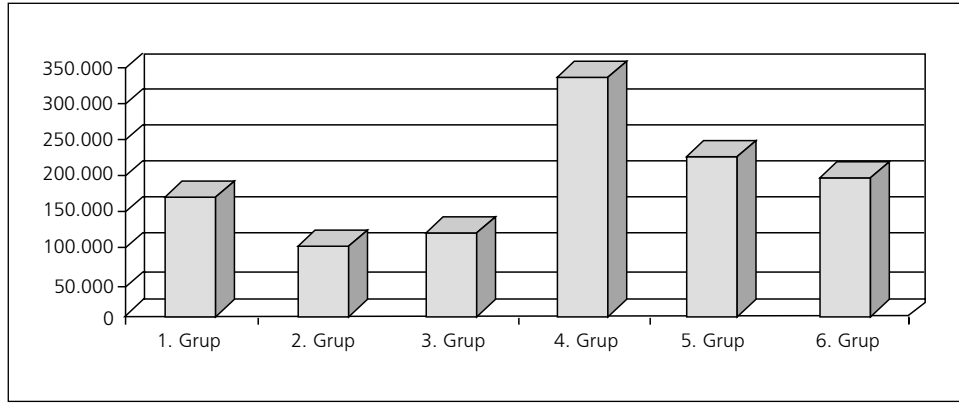
antenatal tek doz ve tekrarlanan doz betametazonun gelişme bozukluğu ve organ olgunlaşması üzerine olan etkilerini değerlendirdik. En basit gelişimsel değişken olarak yeni doğan deneklerin baş çevrelerini, boy uzunluklarını, doğum kilolarını, beyin ağırlıklarını, beyin genişliklerini ve beyin uzunluklarını belirledik.

Scheepens ve arkadaşları,⁶ betametazonun ratlarda somatik büyüme geriliği yaptığını ve beyin hücre proliferasyonunda azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir. Çalışmamızda prematür ratların olduğu grupta tüm beyin ağırlığının değerlendirilmesinde tek doz, tekrarlanan doz betametazon ve

salin solüsyonu alan gruplar arasında anlamlı olarak fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). Matür ratların olduğu grupta ise salin solüsyonu alan grup ile tek ve tekrarlanan doz betametazon alan her iki grup arasında beyin ağırlıklarında anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.05$). Çalışmamızda preterm ratlarda beyin gelişimi üzerinde anlamlı bir etkinin gözlenmemesinin nedeni; kortikosteroid yapılması ile doğum arasında yeterli süre geçmemesi olabilir. Yani, kortikosteroid kullanımının beyin gelişimi üzerinde etkisi olduğu halde bu etki gözlenmemiş olabilir. Nitekim, matür ratlarda kortikosteroid kullanımı ile kafa içi yapılar da gerilik saptanılması bu görüşü doğrulamaktadır.



Resim 3. Sakküler akciğer matürasyon evresi. H&E x 100.



Grafik 1. Deneklerin beyin ağırlığına göre (mg) dağılımı.

Sloboda ve arkadaşları⁷ gebe koyunlarda beta-metazon uygulamasının doğum ağırlığında anlamlı azalmaya yol açtığını belirtmişlerdir. Glukokortikoidlerin fetal büyümeyi hangi mekanizmayla etkiledikleri tam olarak bilinmemektedir. French ve arkadaşları,⁴ doğum ağırlığındaki azalma oranlarının glukokortikoid doz tekrarıyla ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Çalışmamızda prematür ratların olduğu grupta doğum ağırlığının değerlendirilmesinde tek doz, tekrarlanan doz betametazon ve salin solüsyonu alan gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). Matür ratların olduğu grupta

ise salin solüsyonu alan grup ile tek ve tekrarlanan doz betametazon alan her iki grup arasında doğum ağırlıklarında anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.05$).

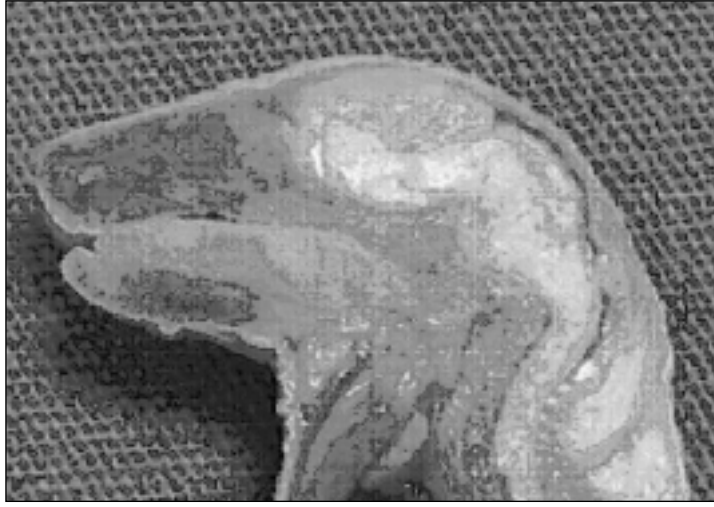
Noel ve arkadaşları ise,⁸ 1999 yılında, Batı Avustralya'da 33 haftanın altında tekrarlanan doz antenatal kortikosteroid alan gebeleri çalışmalarına dahil etmişler ve tekrarlanan doz antenatal kortikosteroid kullanımının doğum kilosu ve baş çevresine olan etkilerini incelemişlerdir. Tekrarlanan doz antenatal kortikosteroid kullanan preterm gebelerde doğum kilosu ve baş çevresinde azalma olduğunu saptamışlardır.⁸

Tablo 1. Prematür ve matür rat gruplarında tekrarlanan doz kortikosteroid verileri.

Ölçümler	Prematür			Matür		
	Kontrol (n=7)	Tekrarlanan doz (n=7)	P	Kontrol (n=7)	Tekrarlanan doz (n=7)	P
Doğum ağırlığı (g)	2.62±0.22	1.97±1.42	0.57	5.48±1.33	3.40±1.11	0.001
Baş çevresi (cm)	2.82±0.33	2.41±1.08	0.19	3.51±0.32	3.22±0.63	0.03
Boy uzunluğu (cm)	2.84±0.26	2.47±1.16	0.26	3.95±0.37	3.14±0.60	0.01
Beyin ağırlığı (mg)	171.28±53.61	117.28±51.21	0.13	335.0±117.0	195.42±61.65	0.001

Tablo 2. Prematür ve matür rat gruplarında tek doz kortikosteroid verileri.

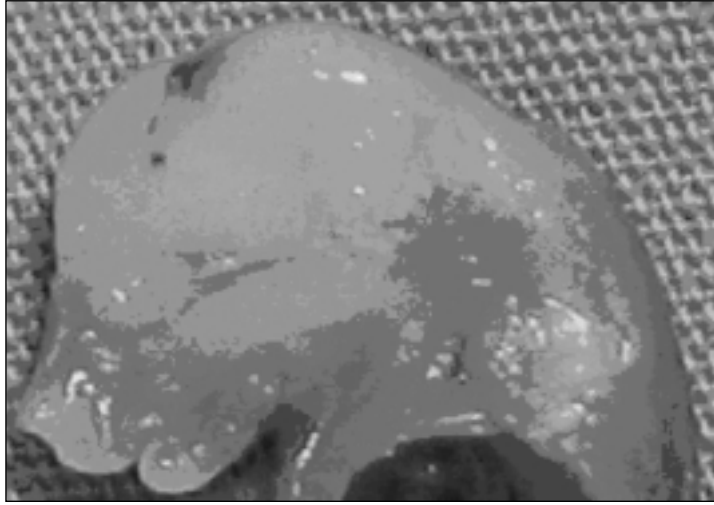
Ölçümler	Prematür			Matür		
	Kontrol (n=7)	Tek doz (n=7)	P	Kontrol (n=7)	Tek doz (n=7)	P
Doğum ağırlığı (g)	2.62±0.22	1.85±0.25	0.19	5.48±1.33	4.28±1.36	0.04
Baş çevresi (cm)	2.82±0.33	2.13±0.22	0.11	3.19±0.32	3.70±0.47	0.49
Boy uzunluğu (cm)	2.84±0.26	2.28±0.22	0.09	3.95±0.37	3.74±0.49	0.51
Beyin ağırlığı (mg)	171.28±53.61	101.14±32.48	0.05	335.0±117.08	228.14±45.52	0.005



Resim 4. Matür rat fetüs başı.

Akciğer matürasyon evrelerinin değerlendirilmesinde matür grupta tek doz betametazon alan deneklerin %85.7'si kanaliküler evre, %14.3'ü kanaliküler-sakküler evre, tekrarlanan doz betametazon alan deneklerin %14.3'ü glandüler-kanaliküler ev-

zon alan deneklerin %42.9'u glandüler evre, %14.3'ü glandüler-kanaliküler evre, %42.9'u kanaliküler evre, salin solüsyonu alan deneklerin %71.4'ü glandüler-kanaliküler evre, %28.6'sı kanaliküler evre olarak bulunmuştur. Çalışmamızda



Resim 5. Prematür rat fetüs başı.

re, %85.7'si kanaliküler evre, salin solüsyonu alan deneklerin %14.3'ü glandüler-kanaliküler evre, %14.3'ü kanaliküler evre, %28.6'sı kanaliküler-sakküler evre, %42.9'u sakküler evre olarak bulunmuştur. Prematür grupta tek doz betametazon alan deneklerin %71.4'ü glandüler evre, %28.6'sı glandüler-kanaliküler evre, tekrarlanan doz betameta-

prematür grupta tek doz betametazon alan deneklerin akciğer maturasyon evresi tekrarlanan dozlarda betametazon alan gruba göre daha düşük evrede saptandı. Ayrıca preterm ratlarda kontrol grubunda akciğer gelişiminin, tek doz kortikosteroid kullanılan gruptan daha ileri olması da dikkat çekici bir bulgudur.

Stephen ve arkadaşları, 24-34. gebelik haftaları arasında antenatal betametazon kullananlarda tek ve tekrarlanan dozların neonatal sepsis ve ölüm üzerine olan etkilerini karşılaştırmışlardır. Respiratuvar distres sendromu ve grade 3, 4 intraventriküler hemoraji görülme riski açısından her iki grupta benzer sonuçlar alındığını bildirmişlerdir.⁹

Sonuç olarak, çalışmamızda ratlarda, tekrarlanan doz betametazonun tek doza göre akciğer matürasyon evresini arttırdığını gördük. Prematür ratlarda, tek ve tekrarlanan doz kortikosteroid kullanımının beyin ve doğum ağırlığına etkilerinin farklı olmadığını belirledik. Ancak bunun nedeni, kortikosteroid yapılması ile doğum arasında sürenin az olması olabilir.

Kaynaklar

1. NIH Consensus Development Panel on the Effect of Corticosteroids for Fetal Maturation on Perinatal Outcomes. Effect of corticosteroids for fetal maturation on perinatal outcomes. *J Am Med Assoc* 1995; 273: 413-18.
2. Uno H, Lohmiller L, Thieme C, Kemnitz JW, Engle MJ, Rocker EB et al. Brain damage induced by prenatal exposure to dexamethasone in fetal rhesus macaques. I: hippocampus. *Dev Brain Res* 1990; 53: 157-67.
3. Quinlivan JA, Archer MA, Dunlop SA, Evans SF, Beazley LD, Newnham JP. Fetal growth retardation, particularly within lymphoid organs, following repeated maternal injections of betamethasone in sheep. *J Obstet Gynecol Res* 1998; 24: 173-82.
4. French NP, Evans SF, Godfrey KF, Newnham JP. Repeated antenatal corticosteroids: size at birth and subsequent development. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 114-121.
5. Bennet L, Kozuma S, McGarrigle HH, Hanson MA. Temporal changes in fetal and cardiovascular, behavioural, metabolic and endocrine responses to maternally administered dexamethasone in the late gestation sheep. *Br J Obstet Gynaecol* 1999; 106: 331-339.
6. Scheepens A, van de Waarenburg M, van den Hove D, Blanco CE. A single course of prenatal betamethasone in the rat alters postnatal brain cell proliferation but not apoptosis. *J Physiol* 2003; 552: 163-75.
7. Sloboda DM, Newnham JP, Challis JRG. Effects of repeated maternal betamethasone administration on growth and hypothalamic-pituitary-adrenal function of the ovine fetus at term. *J Endocrinol* 2000; 165: 79-91.
8. Noel P, French MB, Ronald Hagan MB. Repeated antenatal corticosteroids: Size at birth and subsequent development. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 114-21.
9. Stephen T, Vermillion MD, David E, Soper MD, Roger B, Newman MD. Neonatal sepsis and death after multiple courses of antenatal betamethasone therapy. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183: 810-4.