T. C. SAĞLIK BAKANLIĞI

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

ŞİŞLİ HAMİDİYE ETFAL EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANA BİLİM DALI

GEBELİKTE FETAL AKCİĞER MATURASYONU AMACIYLA UYGULANAN BETAMETAZONUN İLK 24 SAATTEKİ ETKİNLİĞİ

Dr. Burak ÇAKMAK

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İstanbul / 2025

T. C. SAĞLIK BAKANLIĞI

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

ŞİŞLİ HAMİDİYE ETFAL EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANA BİLİM DALI

GEBELİKTE FETAL AKCİĞER MATURASYONU AMACIYLA UYGULANAN BETAMETAZONUN İLK 24 SAATTEKİ ETKİNLİĞİ

Dr. Burak ÇAKMAK

Danışmanlar

Prof. Dr. Alev ATIŞ AYDIN

Eğit. Gör. S. Sibel GÜLOVA

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İstanbul / 2025

T.C
İSTANBUL VALİLİĞİ
İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ
Sağlık Bilimleri Üniversitesi Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi(SUAM)
Eğitim Planlama Kurulu

Karar Tarihi: 02/02/2023

ŞİŞLİ HAMİDİYE ETFAL EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ BAŞHEKİMLİĞİNE

Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği Uzmanlık Öğrencisi Dr.Burak ÇAKMAK' ın "Gebelikte Fetal akciğer maturasyonu amacıyla uygulanan betametazonun ilk 24 saatteki etkinliği" tez konusunun ve tez danışmanının Prof.Dr.Alev ATIŞ AYDIN olarak belirlenmesi talebi incelenmiştir.

Adı geçenin talebi Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulu kararı ile uygun görülmüştür.

Prof.Dr.Kaya HORASANLI
Üroloji ABD Öğretim Üyesi

Prof.Dr.Mehmet ULUDAĞ
Genel Cerrahi Kliniği Eğitim Görevlisi

Prof.Dr.Nazan DALGIÇ
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD
Öğretim Üyesi

Doç.Dr.Sibel OBA
Anesteziyoloji ve Reanimasyon

Prof.Dr.Yüksel ALTUNTAŞ
İç Hastalıkları ABD Öğretim Üyesi
Kurul Başkan Yardımcısı

Prof.Dr.Özgür YİĞİT
Başhekim
Kurul Başkanı

BEYAN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Mevcut tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu,
- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Mevcut tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Burak Çakmak

13.06.2025

İTHAF

Bu tezimi, hayatım boyunca her koşulda yanımda olan, sevgileri, emekleri ve fedakârlıklarıyla beni hep ileriye götüren sevgili aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, histolojik incelemelerin gerçekleştirilmesinde verdikleri bilimsel destek ve özverili katkıları nedeniyle, Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı'ndan başta Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Serap Arbak olmak üzere değerli katkılarıyla çalışmamın her aşamasında yanımda olan Doç. Dr. Merve Açıkel Elmas ile ekibine teşekkürlerimi sunarım.

Deney hayvanlarının temini ve uygulamaların gerçekleştirilmesinde sağladıkları destekten dolayı, Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne; özellikle sürecin her aşamasında desteğini esirgemeyen Vet.Hek.Samed Özer başta olmak üzere emeği geçen tüm merkez çalışanlarına teşekkür ederim.

Ayrıca, asistanlık eğitimim süresince görev yaptığım kurum olan Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde üzerimde emeği olan hocalarıma, uzmanlarıma, asistan arkadaşlarıma ve diğer sağlık çalışanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

İTHAF v
TEŞEKKÜR vi
İÇİNDEKİLER vii
TABLOLAR LİSTESİ viii
ŞEKİLLER LİSTESİ ix
SİMGELER VE KISALTMALAR x
ÖZET xi
ABSTRACT xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 2
2.1. Preterm Doğum 2
2.2 Antenatal Kortikosteroidler 7
2.3 Fetal Akciğer Gelişimi 13
2.4 Hayvan Modeli Seçimi 16
3. GEREÇ VE YÖNTEM 17
3.1 Deney Hayvanlarının Temini 17
3.2 Gebelik Tayini 17
3.3 Deney Gruplarının Oluşturulması 18
3.4 Dokuların Toplanması 19
4. BULGULAR 23
4.1. Histolojik İnceleme 23
4.2. İmmunofloresan İnceleme 24
4.2. Pulmoner Surfaktan ile İlişkili Protein A1 (SP-A1) Seviyeleri 26
5. TARTIŞMA 29
5.1 Limitasyonlar 32
6. SONUÇ 34
KAYNAKLAR 36
EKLER ..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1: Tek/Çift Doz Betametazon Uygulanan Grupdaki Sürfaktan Protein A1 Düzeylerinin Kontrol Grubuyla Karşılaştırması……..……27

Tablo 2: Tek Doz ve Çift Doz Betametazon Uygulanan Gruplardaki Sürfaktan Protein A1 Düzeylerinin Birbirleriyle Karşılaştırması…….……28

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1 : Deney Planlaması……..... 20

Şekil 2 : Deney gruplarına ait akciğer doku morfolojisi……..… 24

Şekil 3 : Tüm deney gruplarına ait akciğer doku örneklerinde surfaktan pozitif hücreler….25

Şekil 4 : Saatlere ve Gruplara Göre Sürfaktan İlişkili Protein A1 Düzeylerinin Dağılımı….28

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACOG : Amerikan Kadın Hastalıkları ve Doğum Uzmanları Koleji

AKS : Antenatal Kortikosteroi

BM : Betametazon

DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü

EGF : Epitelyal Büyüme Faktörü

FIGO : Uluslararası Jinekoloji ve Obstetri Federasyonu

GR : Glukokortikoid Reseptör

GYE : Glukokortikoid Yanıtlayıcı Element

HSD : Hidroksisteroid Dehidrogenaz

NICE : İngiltere Ulusal Sağlık Ve Klinik Mükemmellik Enstitüsü

RDS : Respiratuvar Distres Sendromu

SOGC : Kanada Kadın Hastalıkları ve Doğum Uzmanları Derneği

SP-A1 : Sürfaktan İlişkili Protein A1

TGF : Dönüştürücü Büyüme Faktörü

VIP : Vazointestinal Peptid

Gebelikte Fetal Akciğer Maturasyonu Amacıyla Uygulanan Betametazonun İlk 24 Saatteki Etkinliği

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, preterm doğum riski taşıyan gebeliklerde yaygın olarak kullanılan antenatal kortikosteroidlerden (AKS) betametazonun uygulamadan sonraki ilk 24 saat içerisindeki etkinliğini değerlendirmek amaçlanmıştır. Özellikle surfaktan protein A1 düzeyleri ile histopatolojik bulgulara odaklanılarak, ilacın kısa sürede fetal akciğer matürasyonu üzerindeki etkisi araştırılmıştır.r.

Gereç ve Yöntem: Çalışma, gebeliğin geç dönemini temsil eden hayvan modelinde gerçekleştirilmiştir. Denekler rastgele olarak üç ana gruba ayrılmıştır: tek doz betametazon (TD), çift doz betametazon (ÇD) ve kontrol grubu. Her ana grup, uygulamadan sonra 6., 12. ve 24. saatlerde değerlendirilecek şekilde alt gruplara ayrılmıştır. Amniyon sıvısından elde edilen surfaktan protein A1 düzeyleri ELISA yöntemiyle ölçülmüş; akciğer doku örnekleri ise histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelenmiştir. Nicel veriler ortalama, standart sapma ve medyan değerler ile tanımlanmış, grup karşılaştırmaları bağımsız örneklem t-testi ile yapılmıştır.

Bulgular: Surfaktan protein A1 düzeyleri açısından, uygulamadan sonraki ilk 24 saat içinde ne TD ne de ÇD grubu kontrol grubuna göre anlamlı fark göstermemiştir ($p>0.05$). TD grubunun 6. saatte ortalama düzeyinin diğer gruplara kıyasla daha yüksek olmasına rağmen, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.567$). Ayrıca, TD ve ÇD grupları kendi aralarında da anlamlı fark göstermemiştir. Histopatolojik olarak ise tüm gruplarda benzer immatür alveoler morfoloji izlenmiş, surfaktan pozitif hücre dağılımı ve alveoler gelişim açısından gruplar arasında belirgin bir fark tespit edilmemiştir.

Sonuç: Betametazonun uygulamayı takip eden ilk 24 saat içerisinde fetal akciğer matürasyonuna anlamlı düzeyde katkı sağlamadığı belirlenmiştir. Bu sonuç, özellikle doğumun ilk 24 saat içinde gerçekleşeceği öngörülen olgularda antenatal kortikosteroid uygulamasının klinik etkinliğinin sınırlı olabileceğini göstermektedir. Doz farklılıklarının da bu kısa zaman aralığında etkinlik üzerinde belirgin bir avantaj

sağlamadığı görülmektedir. Bulgular, AKS uygulamasının zamanlamasının kritik önemde olduğunu ve tedavi kararının bireyselleştirilmiş risk-fayda analiziyle verilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Antenatal Kortikosteroid, Betametazon, Preterm Doğum

The Efficacy of Betamethasone Administered for Fetal Lung Maturation During Pregnancy: A 24-Hour Evaluation

ABSTRACT

Aim: This study aimed to evaluate the early effects of antenatal corticosteroid therapy, specifically betamethasone, on fetal lung maturation within the first 24 hours after administration in a pregnant rat model. The primary focus was to assess surfactant protein A1 levels and histopathological findings to determine the short-term efficacy of the treatment.

Materials and Methods: The experimental design included pregnant rats randomly assigned to three main groups: single-dose betamethasone (SD), double-dose betamethasone (DD), and a control group. Each group was further divided into subgroups based on the evaluation time points: 6-, 12-, and 24-hours post-administration. Surfactant protein A1 levels in the amniotic fluid were measured using the ELISA method. Lung tissue samples were evaluated histopathologically and immunohistochemically. Statistical analysis was performed using independent sample t-tests, and descriptive statistics were presented as mean, standard deviation, and median.

Results: There was no statistically significant difference in surfactant protein A1 levels between the betamethasone groups (SD and DD) and the control group at any of the evaluated timepoints ($p>0.05$). Although the SD group at 6 hours showed relatively higher mean values, this difference was not statistically significant ($p = 0.567$). Furthermore, no significant differences were observed between the SD and DD groups within the first 24 hours. Histopathological analysis revealed a similar immature alveolar morphology across all groups, with no significant difference found in the distribution of surfactant-positive cells or alveolar development.

Conclusion: Administration of betamethasone did not significantly enhance fetal lung maturation within the first 24 hours post-treatment. These findings suggest that the clinical benefit of antenatal corticosteroid use may be limited in cases where delivery is expected within 24 hours of administration. Additionally, varying the dosage (single vs. double) did not result in a substantial improvement in early surfactant production. The results emphasize the importance of timing in ACS administration and support a tailored, risk-benefit–based clinical approach.

Key Words: Betamethasone, Corticosteroid, Preterm Birth

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bebekler gebelik haftalarına göre, post term doğum (≥ 42 hafta), term doğum (37-42 hafta), orta ve geç preterm doğum (32-37 hafta), çok preterm doğum (28-32 hafta) ve aşırı preterm doğum (<28 hafta) olarak tanımlanmaktadır. Preterm doğan bebeklerde respiratuar sistem gelişimi tam olarak tamamlanamadığından respiratuar distres sendromu (RDS) başta olmak üzere çeşitli komplikasyonlar ortaya çıkabilir. Bu sebeple erken doğum tehdidi olan gebelere, antenatal kortikosteroid uygulaması yapılır.

Antenatal kortikosteroidler arasında en sık kullanılan betametazondur. Betametazon uygulamasının zamanı tartışmalı olmakla birlikte genellikle 23 ila 34. haftalar arasında uygulanması önerilmektedir. Bununla birlikte hekimin yönetimine bağlı olarak 37. haftaya kadar da uygulanabilir. Literatüre bakıldığında etkisinin 48. saatte başladığı, 7. günde pik yaptığı ve sonrasında giderek azaldığı görülmektedir. Fakat klinik praktiste, preterm doğum haftasında olan ve 24 saatten daha kısa bir süre içinde doğum planlanan gebelere de bazı durumlarda antenatal kortikosteroid uygulanmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ise; ilaca bağlı olarak uzun dönemde kronik hastalıklar, nörogelişimsel bozukluklar, erkeklerde kısırlık, kadınlarda artan düşük riski ve diğer reprodüktif bozukluklar gibi yan etkiler olduğu ortaya konmuştur. Bu sebeple, antenatal kortikosteroid uygulamasının hangi hastalarda ve hangi durumlarda tercih edileceği doğru planlanmalıdır.

Hipotezimiz, erken doğum tehdidi olan gebelere uygulanan betametazonun; fetal akciğer maturasyonunu sağlamaktaki etkisi 48. saatte başladığından, 24 saat içinde doğum ön görülen durumlarda uygulanmasına gerek olmayacağı şeklindedir.

Deney hayvanları üzerinde yapacağımız bu çalışmada, kontrol grubu, tek doz ve 12 saat ara ile iki doz betametazon uygulaması yapılmak üzere 18 adet gebe fare 6'şarlı olarak 3 gruba ayrılacaktır. Uygulamaları takiben sırasıyla 6.-12.-24. saatlerdeki fetal akciğer gelişimleri histolojik ve immünohistokimyasal incelencek; amniyon sıvılarından alınan örneklerdeki surfaktan Protein A1 seviyeleri ölçülecektir. Bu verilerin doğrultusunda antenatal kortikosteroid uygulamasının ilk 24 saatteki etkinliği değerlendirilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Preterm Doğum

2.1.1. Epidemiyoloji

Preterm doğum, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından, 37 haftadan önce gerçekleşen doğumlar için kullanılan bir terimdir (1). Aşırı preterm doğum (<28 hafta), çok preterm doğum (28-32 hafta) ve orta-geç preterm doğum (32-37 hafta) olarak 3 grupta incelenir. Canlı doğumların yaklaşık %11'ini preterm doğumlar oluşturur. Bu doğumları zamanlarına göre incelediğimizde, %5'i aşırı preterm, %10'u çok preterm ve %85'ini orta-geç preterm dönemde meydana gelir (2).

Viabilite sınırı ise, ülkelere göre değişkenlik göstermekle birlikte, sıklıkla 20-26 hafta veya 500 gram ağırlığı olarak belirlenmiştir. Bu haftaların veya ağırlığın altında doğan fetüsler abortus (düşük) olarak kabul edilir. Bu periviabl dönemde, hipoksik-iskemik hasara bağlı beyin hasarı ve sepsis başta olmak üzere fetüsler bir sürü komplikasyona açık haldedir. Hipoksi ve sepsisin yol açtığı birtakım reaksiyonlar dizisi sonucunda beyin kanaması, beyaz madde hasarına bağlı periventriküler lökomalazi ve yetersiz beyin gelişimi sonucu nörogelişimsel bozukluklar bu komplikasyonlardan bazılarıdır.

37.gebelik haftasının öncesinde doğan yenidoğanlarda, organ sistemlerinin tam olarak gelişimini tamamlayamaması sebebiyle, ciddi morbiditelerle karşılaşılabilir. 2007 yılında Fanaroff ve ark. tarafından yapılan ve 18000'den fazla yenidoğanın incelendiği bir çalışmada, 1000 gramın üstündeki bebeklerin veya kadınlarda 28 hafta üstü erkeklerde 30 hafta üstü yenidoğanların hayatta kalma oranları %95'in üstünde görülmüştür (3).

2.1.2 Patogenez

Preterm doğum dünyada yenidoğan mortalite ve morbiditesinin en sık sebebidir. Bu sebeple, preterm doğumun mekanizmasını anlamak ve önlemek amacıyla yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Erken doğuma sebep olabileceği düşünülen 4 adet mekanizma tanımlanmıştır

Bunlardan ilki, hipotalamo-hipofizer aksın stres bağımlı olarak prematür aktivasyonudur. Fetal stres genellikle uteroplasental akımdaki yetmezlik sonucunda

oluşur. Eğer bu yetmezlik ileri düzeyde ise preeklampsi ve intrauterin gelişme geriliği görülebilir. Kelly ve ark (2009) yaptığı bir çalışmada, spontan preterm doğum yaşayan hastaların plasental incelemelerinde, vasküler hasar, kanama, fizyolojik maternal spiral arter dönüşümünde azalma ve fetal vasküler yapılarda bozulma gibi durumların görülme ihtimalinin normal gebeliklerdekilere göre 4-7 kat arttığı bildirilmiştir (4). Bu tip durumlarda spontan preterm doğum veya tıbbi endikasyonlu erken doğum olma ihtimali daha fazladır.

Maternal stres (depresyon, post travmatik stres bozukluğu, anksiyete vb…) ise aynı fetal stres gibi hipotalamo-hipofizer aksı aktive edip erken doğuma sebep olabilir fakat bu oran daha azdır. Li ve ark 2009 yılında yaptığı prospektif bir kohort çalışmada, gebeliğin erken haftalarında depresyon semptomları olan hastalarda preterm doğumun iki kat daha fazla gözüktüğü ve depresyon semptomları arttıkça preterm doğum riskinin de arttığı ortaya konmuştur (5).

İkinci mekanizmanın ise inflamasyon olduğu düşünülmektedir. Enfeksiyona sekonder veya hücresel hasarı takiben salınan alarminlere bağlı gelişen intramniyotik enfeksiyon preterm doğuma yol açmaktadır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda genitoüriner yol enfeksiyonlarının veya değişmiş mikrobiyomun spontan preterm doğum ile ilgili olabileceği ön görülmüştür (6). Bazı bakteriler ise prostoglandin salgılanmasına sebep olan fosfolipaz A2 ve endotoksin sentezleyerek uterin kontraksiyonları arttırıp preterm doğuma sebep olabilirler.

Preterm doğuma neden olabileceği düşünülen 3. mekanizma ise desidual kanamalardır. Desidual hücrelerin hasarına bağlı olarak hücrelerden doku faktörü salınır. Bu faktör hemostazı sağlamakta görevlidir. Salgılanan doku faktörü, faktör VIIa ile birşleşir ve faktör Xa'yı aktive eder. Faktör Xa ise faktör Va ile kompleks oluşturarak trombin oluşturur. Preterm doğum eyleminde olan ve daha önce asemptomatik olup preterm doğum yapmış olan gebelerde, trombin-antitrombin kompleks seviyelerine bakıldığında trombin aktivasyonu tespit edilmiştir (7).

4.mekanizma ise patolojik uterin distansiyonlardır. Myometriumdaki gerilimin artması boş bağlantıları (gap junction), oksitosin reseptörlerini, inflamatuvar sitokinlerin salınımını ve prostoglandin üretimini arttırır. Tüm bu olaylar uterin kasılmalara neden olarak servikal dilatasyon yaparlar.

2.1.3 Risk Faktörleri

Preterm doğuma sebep olabileceği düşünülen birçok risk faktörü tanımlanmıştır. Davranışsal ve fiziksel özelliklere baktığımızda sigara kullanımı, maternal kilonun çok az veya çok fazla olması, anne boyunun kısa olması, erken veya ileri anne yaşı, depresyon, anksiyete, kronik stres, yoğun fiziksel iş ve uzun çalışma saatleri bunlardan birkaçı olarak sayılabilir. Kronik hipertansiyon, Tip 1 Diyabetes Mellitus, kronik böbrek hastalıkları, kronik anemi gibi kronik hastalıklar da aynı şekilde preterm doğumun risk faktörleri arasındadır. Demografik olarak bakıldığında ise ABD'de yapılan bir çalışmada hispanik olmayan siyahi kadınların; beyaz, asyalı veya hispanik olan kadınlara göre erken doğum riskinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (8).

Servikal ve uterin risk faktörlerine baktığımızda ise geçirilmiş dilatasyon ve küretaj işlemi, geçirilmiş soğuk konizasyon öyküsü, servikal polipler, uterin anomaliler, uterin leiomyomlar ve gebeliğin ilk haftalarında geçirilen vajinal kanamalar preterm doğum için risk faktörleridir.

Bunların haricinde periodontal hastalıkların da preterm doğumu tetikleyebileceği yapılan meta analizlerle ortaya konmuştur (9). Daha önce preterm doğum öyküsü olması, gebelikler arası sürenin 18 aydan az veya 59 aydan fazla olması ve çoğul gebelikler erken doğumu tetikleyebildiği düşünülen diğer faktörlerdir.

2.1.4 Tanı

Preterm doğumlarda da term doğumlarda olduğu gibi, servikal değişime sebep olan düzenli ağrılar mevcuttur. Bu ağrılar menstruasyon benzeri kramplar, bel ağrısı, vajinaya baskı hissi şeklinde olabilir. Ağrılar gebeliğin her döneminde düzensiz paternde olabilir. Fakat bu ağrıların düzenli olup servikal değişimlere yol açması gerçek ağrılar olarak tanımlanır. Servikal açılma, yumuşama, effasmanın artması ve serviksin öne doğru yer değiştirmesi de doğumun yaklaştığına işaret eder.

Spekulum muayenesi lubrikan kullanılmadan ıslak bir spekulumla yapılmalıdır. Çünkü lubrikanlar vajinal örnekleme amacıyla alınan spesimenleri bozabilir. Spekulum muayenesindeki amaç servikal açıklığı görmek, uterin kanama olup olmadığını görmek ve fetal membranı değerlendirmektir. Ülkemizde rutin kullanıma girmemiş olsa da servikovajinal sıvıdan alınan örnekten, bir ekstraselüler matriks glikoproteini olan, fetal

fibronektin çalışılması sonucu eğer test pozitif ise (>50 ng/mL) 7 gün içinde doğum riskinin arttığı kabul edilmektedir (10).

Transvajinal ultrasonla servikal uzunluk ölçümü preterm doğum tanısını dışlamada kullanılabilecek önemli bir yöntemdir. Toko'da 60 dakikada 6'dan fazla kontraksiyon olmasına ek olarak servikal uzunluğun 20mm'den kısa olması veya servikal uzunluğun 20mm ile 30mm arasında olması ve fetal fibronektin testinin pozitif olması veya servikal açıklığın 3 cm'den fazla olması erken doğum tehdidi olarak tanımlanır.

2.1.5 Yönetim

Preterm doğum riski olan hastalarda dikkat edilmesi gereken en önemli noktalardan biri gestasyonel haftadır. 34 haftanın üstündeki durumlarda tokoliz ve antenatal kortikosteroid uygulaması gerekmez. Eğer kontraksiyonlar artarsa veya servikal açıklık ve effasman ilerlerse hasta doğum için yönlendirilir.

34 haftanın altındaki gebeliklerde ise öncelikle servikal açıklığa bakılır. Dilatasyonun 3 cm'nin üstünde olduğu durumlarda preterm doğum riski artmış olarak kabul edilir. Tokoliz tedavisi başlanır, Grup B Streptokok (GBS) profilaksisi başlanır, antenatal kortikosteroid uygulaması yapılır ve eğer 24-32 hafta arasında ise nöroprotektif dozdan magnezyum sülfat uygulaması başlanır.

Dilatasyon 3 cm'nin altında ise transvajinal ultrason ile servikal uzunluk ölçümü yapılır. Servikal uzunluğun 20 mm'nin altında olan durumlarda preterm doğum muhtemel görülür (>%25) (11,12). Tokoliz başlanır, GBS profilaksisi başlanır, 24-32 hafta arasında ise nöroprotektif dozdan magnezyum sülfat başlanır, antenatal kortikosteroid uygulaması yapılır. Servikal uzunluğun 20mm ile 30mm arasında olduğu durumlarda fetal fibronektin bakılır. Eğer pozitif ise yine preterm doğum muhtemel görülür; GBS profilaksisi, tokoliz, antenatal kortikosteroid ve gerekir ise nöroprotektif dozdan magnezyum sülfat uygulanır. Fetal fibronektin testinin negatif olduğu durumlarda veya servikal uzunluğun 30mm'nin üstünde olduğu durumlarda preterm doğum riski azalmıştır (<%5) (11,12), 6-12 saat boyunca gözlem yapılır. Servikal dilatasyon ve effasmanda artış yok ise hasta taburcu edilir. Haftalık kontrol önerilir. Menstruasyon ağrısına benzer kramplar, pelvik veya vajinal bası hissi, bel ağrısı gibi semptomların artması durumunda tekrar başvurması önerilir.

Antenatal kortikosteroidler (AKS) ise 24 ila 34.gebelik haftası arasında olup, 7 gün içinde erken doğum ön görülen hastalara rutin olarak uygulanmaktadır. AKS'ler neonatal yaşam şansını arttırmakla birlikte kısa dönem majör morbidite riskini azaltır. Betametazon ve deksametazon olarak iki form mevcuttur. Betametazonun 24 saat ara ile 12'şer mg intramuskular olarak uygulanması önerilir. Deksametazon sodyum fosfatın ise 12 saat ara ile 4 doz 6'şar mg intramuskular şekilde uygulanması önerilir. Her iki form da geçici maternal hiperglisemi veya geçici lökositoz yapabilir.

Tokoliz tedavisinde ilaç tercihi gebelik haftasına göre değişikenlik göstermektedir. 32 haftanın altındaki gebeliklerde ilk tercih indol türevi bir non-steroid anti inflamatuvar olan indometazindir. Pozolojisi ise 50-100 mg yükleme dozu (tercihen rektal yol) ardından 4-6 saatte bir 25 mg oral şeklindedir. Günlük maksimum dozaj 200 mg'dir. İndometazin kullanımının 48 saati aşmaması önerilir (13) çünkü ciddi fetal yan etkilere sebep olabileceği düşünülmektedir. Bunlardan ilki duktus arteriozusta kapanmaya neden olmasıdır. Duktus arteriozusta yarattığı daralma sebebiyle sağ ventrikülde ard yük artışına ve pulmoner hipertansiyona sebep olur ve neonatal triküspid regürjitasyona yol açabilir. Tedavinin 48 saati aştığı durumlarda fetal ekokardiyografi yapılmalıdır. Ultrasonografik incelemede duktal daralmayı gösteren bulgular: Triküspit regürjitasyon, sağ ventrikül disfonksiyonu ve pulsalite indeksinin 1.9'dan küçük olmasıdır (14). Bir diğer yan etkisi ise oligohidramniyosa sebep olmasıdır. COX inhibitörleri, vazopresin üretimini arttırarak renal kan akımını azaltırlar. Bu durum ise fetal idrar üretimini kısıtlayarak amniyotik sıvı hacmini azaltır. Preterm doğum tehdidi olup 72 saatten fazla indometazin ve ibuprofen kullanan hastalarda yapılan bir çalışmada, indometazin kullananların %70'inde ibuprofen kullananların ise %23'ünde oligohidramniyos ultrasonografik olara tespit edilmiştir (15). İndometazin için kontraendikasyonlar ise kanama bozuklukları, karaciğer yetmezlikleri, gastrointestinal ülseratif hastalıklar ve trombosit hastalıklarıdır.

32 ile 34. Gebelik haftası arasında ise indometazin yerine nifedipin tercih edilir. Nifedipin bir kalsiyum kanal blokörüdür ve hücre içine kalsiyum girişini direkt olarak engeller. Aynı zamanda sarkoplazmik retikulumdan hücre içi kalsiyum salınımını azaltır ve de hücre dışına kalsiyum atılımını arttırır. Hücre içi kalsiyumun azalması ise kalsiyum bağımlı miyozin hafif zincir kinazın fosforilasyonunu engelleyerek myometrial kasların gevşemesine neden olur. Pozolojisi 20-30 mg oral yükleme dozunu takiben 3-8 saatte bir

10-20 mg oral idame dozu şeklindedir. 48 saat boyunca bu tedavi uygulanabilir. Maksimum dozu 180 mg/gündür. İndometazinin aksine nifedipin ciddi fetal yan etkilere sebep olmaz. Fakat periferal bir vazodilatatör olduğundan mide bulantısı, kızarma, baş ağrısı, baş dönmesi ve çarpıntı gibi yan etkilere sebep olabilir. Vasküler direncin azalması kardiyak çıkışı arttırır ve bu da kalp atım hızını yükselterek refleks taşikardiye neden olur. Kalsiyum kanal blokörleri, magnezyum sülfatla etkileşime girip musküler kontraktiliteyi azalttığından ciddi solunum depresyonu ve hipotansiyon yapma riski vardır.

Magnezyum sülfat ise erken doğum tehdidi olan gebelerde nöroprotektif olarak kullanılabilir. Nöroprotektif etkisi tam olarak anlaşılamamış olsa da kan basıncını stabilize ederek serebral dolaşımı dengelediği, oksidatif hasarı önlediği, inflamatuvar hasarı önlediği ve glutamat gibi uyarıcı nörotransmiterlerin salınımını engelleyerek nöral hasarı önlediği düşünülmektedir. Pozolojisi açısından çeşitli klinik yaklaşımlar olmasıyla beraber sıklıkla kullanılan rejim 20 dakikada 4 gr IV yükleme ardından 1 gr/saat şeklindedir. Magnezyum sülfat alan hastalarda idrar çıkışı ve derin tendon refleksleri yakından takip edilmelidir. Patellar refleks alındığı sürece idame tedavisine devam edilmelidir. İdrar çıkışı 100 ml/saatten fazla, solunum sayısı da dakikada 12'den fazla olmalıdır.

2.2 Antenatal Kortikosteroidler

2.2.1 Tanım

Antenatal kortikosteroidler, gebeliğin ileri dönemlerinde erken doğum riski taşıyan gebelere uygulanan glukokortikoidlerin sentetik formdaki preparatlarıdır. Bu ilaçlar, anne karnındaki fetusun akciğerlerinin olgunlaşmasını hızlandırarak, prematüre doğum durumunda solunum sıkıntısı riskini azaltmaya yardımcı olur. Özellikle 24. ve 34. gebelik haftaları arasında, fetal akciğerlerin maturasyonunun yetersiz olduğu durumlarda kullanımları endikedir. Kortikosteroidlerin iki ana türü, betametazon ve deksametazon, en yaygın kullanılan antenatal kortikosteroid preparatlarıdır.

2.2.2 Mekanizma

Glukokortikoidler, etkilerini glukokortikoid reseptör (GR) adı verilen hücre içi sitoplazmik reseptörlere bağlanarak gösterirler. Bu reseptörler 94-kD'lik polipeptidler olup steroid bağlayan ve DNA-bağlayan protein sarmalları vardır ve bunu kodlayan

genler 5.kromozomun uzun kolunda bulunur (16). GR'lerin alternatif kırpılma yöntemi kullanılarak alfa ve beta izoformları olduğu gösterilmiştir (17). Beta izoformu hücre çekirdeğinin içinde yer alır, fetal ve erişkin akciğer dokularında bolca bulunur ve in vivo olarak glukokortikoidleri bağlamadığı düşünülmektedir. GRb, GRa'nın etkisini antagonize ederek glukokortikoidlerin etkinliğini azaltmaktadır. GRb'nin etkinliği tam olarak anlaşılamamakla beraber; GRa'yı baskılayarak kortizolun fetal dokudaki büyümeyi önleyici etkisini engellediği varsayılmaktadır (18).

Kortikosteroidlerin yokluğunda, GR'ler ısı-şok proteinleriyle farklı kompleksler oluşturur. Bu kompleksler, kortikosteroidlerin GR'nin C-terminal bölgesine bağlanması sonucu serbest kalır ve reseptörün hücresel transportunu engeller. Aktive olan GR hücre içine girer ve birçok steroid yanıtında yer alan genlerde bulunan glukokortikoid yanıtlayıcı elementler (GYE) ile bağlanır (19). Bu, gen transkripsiyonunun aktivasyonuna veya inhibisyonuna yol açabilir. Böylece belirli mRNA moleküllerinin üretiminde artış veya azalma ile sonuçlanabilir. Kortikosteroid-GR kompleksi, diğer transkripsiyon faktörleri ile etkileşim yoluyla veya belirli mRNA moleküllerinin kararlılığını değiştirerek gen transkripsiyonunu düzenleyebilir.

Gebeliğin ikinci ayından başlayarak, kortisol fetal akciğerlere yüksek afinite ile bağlanır. Bu dönemde terminal keselerin ve bronşiyal dalların epitelyumlarında yoğun GR ekspresyonu mevcuttur. Bu dallarda 11 β HSD (Hidroksisteroid Dehidrojenaz) tip 2'nin az bulunuşu, kortizolun kortizona metabolize edilemediğini gösterir ve bu da fetal akciğerde lokal olarak yüksek düzeyde glukokortikoid olmasına yol açar (20). GR'nin fetal akciğer dokusundaki hücresel lokalizasyonu tam olarak belirlenmemiş olmasına rağmen, yetişkinlerde yapılan çalışmalar, normal akciğerin tüm hücrelerinde ve hava yollarının bazı bölümlerinde bol miktarda GR mRNA ve GR olduğunu göstermektedir. Fetüste bulunan steroid reseptör genleri, glukokortikoidlerin kritik bir düzenleyici rolü olduğunu vurgular. Yapılan çalışmalarda GR geni elimine edilen fare yavrularının akciğerlerde sürfaktan eksikliğine bağlı olarak, doğdukları andan hemen sonra solunum yetmezliğinden hayatlarını kaybettikleri izlenmiştir (16) . Yüksek GR seviyeleri özellikle hava yolu epitelyal hücrelerinde, bronşiyal damarlarda ve alveolar duvarlarda bulunurken, bunun yanı sıra mast hücreleri, eozinofiller, T-lenfositleri, dendritik hücreler ve monosit/makrofajlar gibi inflamatuar hücrelerde de yaygın olarak bulunur. Bu

hücrelerin çoğu kortikosteroidlere yanıt verir ve bu, bu ilaçların anti-inflamatuar etkilerini açıklayabilir (21).

Yenidoğanın respiratuvar distres sendromunda (RDS) en önemli patofizyolojik mekanizma, pulmoner yapıların yeterince gelişememesine bağlı olarak özellikle tip 2 alveolar hücreler tarafından yeterli surfaktan üretilememesidir (22). Glukokortikoidler, sürfaktan üretimi harici; akciğerlerin yapısal büyümesi ve gelişmesi, antioksidan üretimi, inflamatuvar mediatörlerin düzenlenmesi, akciğer dokusu büyüme faktörleri ve pulmoner sıvı emiliminin düzenlenmesi gibi çeşitli yollar ile akciğer gelişimine katkıda bulunmaktadır.

Bu konudaki hayvan modelli çalışmalar genellikle tavşan, domuz, fare ve sıçan gibi hayvanlar üzerinde yapılmıştır. Fakat primatlar ile primat olmayanlar arasında; plasentasyon, hormon biyosentezinin niteliği, fetüs ve plasentanın etkileşimi, intrauterin ve postnatal pulmoner gelişim gibi bazı önemli farklılıklar mevcuttur. İnsanlar üzerinde yapılabilecek olan hücresel ve moleküler çalışmalar ise teknik ve etik açıdan kısıtlı olmaktadır. Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar ise insanlarda glukokortikoidlerin surfaktan sentezi üzerindeki etkisini in vivo olarak ortaya koymuştur. Fetal akciğer hücrelerinde yapılan in vitro çalışmalarda ise Surfaktan Protein (SP) A-B-C-D proteinleri ve mRNA seviyelerinin kortikosteroid tedavisi sonrası arttığı gözlenmiştir (23).

Glukokortikoidlerin (GK), mekanizması her ne kadar tam olarak anlaşılamamış olsa da, fosfolipid sentezi reseptör aracılı olarak arttırdığı ve hız kısıtlayıcı enzim olan fosfoatidilkolinin etkisini arttırdığı düşünülmektedir. SP'lerin ve fosfolipidlerin GK'lere yanıt olarak artması da pulmoner surfaktan üretimini arttırmaktadır. Newnham ve arkadaşları tarafından 1999 yılında kuzular üstünde yapılan bir hayvan çalışmasında, glukokortikoid tedavisinin direkt fetüs üzerinde yapılmasının maternal tedaviye göre daha az etkili olduğu gösterilmiştir (24). Bu da glukokortikoidlerin etkisinin, sadece akciğer hücreleri üzerinde değil; plasenta gibi maturasyonu etkileme ihtimali daha fazla olan başka faktörler üzerinde de olabileceğini düşündürmektedir.

Akciğer gelişimi üzerinde glukokortikoidlerin bir diğer etki mekanizması ise yapısal değişikliklerin arttırılmasıdır. Antenatal kortikosteroidler (AKS), pulmoner epitelyal hücrelerin olgunlaşmasını sağlar ve tip 2 hücrelerin farklı tiplere dönüşmesini tetikler. GK'ler DNA sentezi inhibe ederek hücre çoğalmasını engeller ve bu mekanizma hücre farklılaşmasına yol açar. Hücre farklılaşması aynı zamanda, hücre büyümesi ve

değişmesini kontrol eden aminopeptidaz-N'nin GK bağımlı olarak artmasından da etkilenir. GK'lerin gelişen akciğerlerde yaptığı bir diğer yapısal etki ise, intrauterin akciğerlerin gelişiminin son evrelerinde alveolar duvar kalınlığını azaltarak etkili bir gaz değişimine destek olmasıdır (25). Glukokortikoidlere duyarlı büyüme faktörleri ve enzimlerin, glukokortikoidlerin interstisyel doku üzerindeki etkilerini düzenlediği düşünülmektedir. Dönüştürücü büyüme faktörü (TGF), epitelyal büyüme faktörü (EGF), vazointestinal peptid (VIP), tümör nekroz faktörü (TNF-a) gibi çeşitli büyüme faktörleri, çeşitli enzimler, ornitin dekarboksilaz ve broblast-pnömosit faktörü glukokortikoid tedavisine yanıt verirler ve bu süreçte rol oynarlar. Glukokortikoidlerin neden olduğu, bu faktörlerden bir veya daha fazlasındaki değişiklikler, akciğer parankiminde veya akciğerdeki epitelyal ve interstisyel hücreler arasındaki etkileşimde değişikliklere yol açabilir.

Yapılan bazı çalışmalar, glukokortikoidleri bir diğer etki mekanizmasının pulmoner ödemin inhibisyonu yoluyla olduğunu ileri sürmektedir. Doğumdan önce kortikosteroid tedavisi alan kuzular ve tavşanlarda, pulmoner interstisyel aralıkta ve alveollerde plazma protein birikiminde azalma görülmüştür. Pulmoner ödemdeki azalmanın, glukokortikoid ile tetiklenen ve adenil siklaz tarafından düzenlenen pulmoner vasküler dirençteki azalma sebepli olduğu düşünülmektedir (26). Venkatesh ve Katzberg, glukokortkoid bağımlı olarak düzenlenen pulmoner epitelyal sodyum kanal mRNA'larında artış tespit etmiştir (27). Bir diğer çalışmada ise antenatal kortikosteroid alan sıçanlarda akuaporin-1 kanallarının mRNA'larında artış izlenmiştir. Bu çalışamalardan çıkarılacak sonuç; GK tedavisi, pulmoner vasküler direnci ve ödemi azaltarak veya direkt olarak sıvı geri emiliminden sorumlu sistemleri etkileyerek sıvı geri emilimini düzenlemektedir (28). Bu süreçlerin ise anne karnında sıvı ile dolu olan akciğerlerin doğum sonrası normal bir şekilde alveolar gaz değişimini yapabilmesi açısından önemli olduğu varsayılmaktadır.

2.2.3 Pozoloji

Kortikosteroidlerin uygulanmasında zamanlamalarıyla ilgili birçok farklı görüş olsa da, kortikosteroid seçimi ve dozajı üstünde ortak fikirler mevcuttur.

Kortikosteroidlerden en çok kullanılan iki tanesi betametazon ve deksametazondur. Bu ikilinin diğer steroidlere göre daha çok tercih edilmelerinin sebebi,

plasental bir enzim olan 11 Beta-hidroksisteroid dehidrojenaz enzimi tarafından daha az metabolize edilmeleri ve bu sayede fetüs üzerinde daha güçlü etki göstermeleridir.

Betametazon uygulanırken doğru pozoloji 24 saat aralık ile 12 mg intramuskular olmalıdır. 1 ml betametazon çözeltisinin içinde genellikle 3 mg betametazon sodyum fosfat ve 3 mg betametazon asetat bulunur. Betametazon sodyum fosfat formu hızlı emildiği için hızlı etki gösterirken, betametazon asetat ise daha yavaş emilir ve uzun süreli etkiden sorumludur. Maternal kanda betametazonun yarılanma ömrü 6 saat iken fetal dolaşımda 12 saattir (29). Uygulama sonrası 1.saatte kord kanındaki ilaç konsantrasyonu, maternal konsantrasyonun yaklaşık %20'si civarındadır (30).

Deksametazon ise sodyum fosfat ile bulunur. 12 saat aralıklarla 4 doz 6'şar mg intramuskular olarak uygulanır. Deksametazon daha hızlı etki eder fakat etkisi daha kısa sürer bu sebeple uygulama aralığı daha sıktır ve daha çok doz uygulanır.

Eğer iki preperat da bulunamıyorsa, fetüse geçen aktif ilaç yüzdesi çok düşük olsa da son seçenek olarak hidrokortizon 12 saat aralıklar ile 500 mg 4x1 IV olacak şekilde uygulanabilir.

2.2.4 Zamanlama

Antenatal kortikosteroid uygulamasından maksimum verimi alabilmek için uygulandıktan sonraki ilk 7 gün içinde doğum olması gerekmektedir. 7 günden sonra etki azalmaya başlar. Yapılan bazı çalışmalarda kortikosteroid uygulamasının ilk uygulamadan 6 saat sonra bile fetal akciğer üzerindeki olumlu etkisinin gözlemlenebileceğini savunsa da bu konuda yeterli çalışma bulunmamaktadır.

Maternal kortikosteroid uygulaması ve zamanlaması için çeşitli kurumların çeşitli görüşleri mevcuttur. NICE (National Institute of Health and Care Excellence) kılavuzu, 24+0 ila 33+6 hafta arasında, preterm doğum eyleminde olan veya pprom tanısı alan gebelerde antenatal kortikosteroid kullanımını önermektedir. Eğer 34 haftanın öncesinde erken doğum tehdidi olan, 7 günden daha uzun bir süre önce kortikosteroid uygulanmış olan ve 48 saat içinde doğum ön görülen durumlarda ise tek doz hatırlatma uygulaması yapılmasını klinisyenin kararına bırakmıştır. ACOG (American College of Obstetricians and Gynecologists) ise 24+0 ile 33+6 haftalar arasında 7 gün içinde doğum riski var ise kortikosteroid uygulamasını önermektedir. 34+0 ile 36+6 hafta arasındaki durumlarda ise eğer daha önce kortikosteroid uygulanmadıysa ve 7 gün içinde doğum ön görülüyorsa tek

kür betametazon uygulanabileceğini önermektedir. 34 haftanın öncesinde olup, 14 günden daha uzun zaman önce antenatal kortikosteroid uygulanmış ise ve 7 gün içinde doğum ön görülüyor ise tek kür hatırlatma dozu yapılması önerilmiştir. Previabl dönem öncesi için karar klinisyen ve aileye bırakılmıştır. SOGC (Society of Obstetricians and Gynecologist of Canada), 24+0 ile 34+6 hafta arasında erken doğum tehdidi olan her gebeye tek kür kortikosteroid uygulamasını önerir. 22+0 ile 23+6 hafta arasında ise perinatal mortalite ve morbidite değerlendirmesi açısından multidisipliner bir yaklaşım ile karar verilmesini tavsiye eder. 35+0 ile 36+6 hafta arasında ise olası faydalar ve zararlar göz önünde bulundurarak uygulanmasını önermektedir. Hatırlatma dozunun yapılması gereken durumlarda ise ilk kür kortikosteroid uygulamasından sonra en az 14 gün geçmesi gerektiğini söylemektedir. FIGO (Federation of International Gynecologist and Obstetricians), 24+0 ile 34+0 haftalar arasında preterm doğum ön görülüyor ise yenidoğanın morbiditelerini azaltmak amacıyla antenatal kortikosteroid uygulamasını önerir. 34+0 ile 36+6 haftalar arasında ise rutin uygulama önerilmezken, duruma göre değerlendirebileceği tavsiye edilmektedir. DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) ise 2022 yılında yayınladığı en son kılavuzda 24+0 ile 34+0 haftalar arasında erken doğum tehdidi olan gebelerde kortikosteroid uygulamasını önermektedir. 34 hafta ile 36+6 hafta arasında sezeryan ile doğum planlanan hastalara ve koryoamniyonit ile uyumlu semptomları olup preterm doğum öngörülen olgularda ise kortikosteroid tavsiye edilmemektedir. 7 günden daha fazla süre önce bir kür antenatal kortikosteroid tedavisi almış gebelerde, eğer 7 gün içinde erken doğum ön görülüyorsa bir kür antenatal kortikosteroid hatırlatma dozu olarak uygulanabileceğini önermektedir.

2.2.5 Yan Etkiler

Betametazonun yan etkilerine bakıldığında annede geçici hiperglisemi, geçici lökositoz ve artmış uterin aktivite görülür. Fetuste ise fetal iyilik halini gösteren NST'de bazal kalp atım hızında azalma, fetal ekstremite hareketlerinde azalma görülebilir.

Yeni yapılan çalışmalarda ise uzun dönem yan etkilerine bakıldığında düşük doğum ağırlığı, bilişsel ve motor fonksiyonlarda bozukluk (31), davranış bozuklukları, psikolojik bozukluklar, gelişme gerilikleri, hipokampal nöronlarda azalma, infertilite, düşük doğum ağırlığı gibi çeşitli sorunlara yol açabileceği gösterilmiştir.

2.3 Fetal Akciğer Gelişimi

İnsanlarda embriyolojik dönemin 22.günde alt solunum yollarının gelişimi başlar; trake, akciğerler, bronşlar ve alveollerin oluşumu şeklinde devam eder. Bu farklılaşma morfolojik özelliklerine göre embriyonik faz, psödoglandular faz, kanaliküler faz, sakküler faz ve alveolar faz olarak 5 fazda incelenir. Bu süreçler fetal dönemin çok erken evrelerinde başlamalarına rağmen doğumdan sonra 8-10 yaşına kadar devam ederler (32).

2.3.1 Embriyonik Faz (3.-6. Hafta)

Solunum divertikülü, farenksin arkasında, ilkel ön bağırsak endoderminin ventral duvarında görülür. Akciğer tomurcuklarının rostralindeki ventral duvar artık dorsal duvardan ayrılarak paralel bir tüp oluşturur ve bu tüp kaudal uzamadan sonra önde trakeayı ve arkada yemek borusunu oluşturur. Gelişimin dördüncü haftasını takiben, trakeanın kaudal ucu, splanknoplörik mezodermden türetilen plevral mezenkimin bitişik tabakasına doğru büyümeye devam eden sol ve sağ primer bronş tomurcuklarını oluşturmak üzere çatallanır. Birincil bronş tomurcuklarının oluşumu dallanma morfogenezinin başlangıcını işaret eder. Beşinci haftanın sonunda, birincil bronş tomurcukları asimetrik olarak bölünerek iki solda ve üç sağda olmak üzere ikincil bronş tomurcuklarını oluşturur ve bunlar her akciğerin gelecekteki loblarını oluşturacaktır. Embriyonik aşamada dallanmanın son kısmı, gelişimin altıncı haftasının sonunda, ikincil bronş tomurcuklarının her iki taraftaki üçüncül bronş tomurcuklarına bölünmesiyle meydana gelir. Bu tomurcuklar ileriki dönemde olgun akciğerin bronkopulmoner segmentlerini oluşturacaktır.

Akciğerlerin parietal ve viseral plevrası, mezodermin somatopleurik ve splanknoplörik katmanlarından sırasıyla 5 ila 7. haftalar arasında oluşur. Bu plöroperitoneal katman daha sonra kaudale doğru genişleyerek, torasik boşluğu kapatmak ve alt kısmında yer alan karın boşluğundan ayırmak için septum transversumun arka kenarı ile birleşecektir.

Embriyonik fazın sonunda larinks, trakea, akciğer primordia, akciğer lobları ve bronkopulmoner segmentler oluşmuş olur.

2.3.2 Psödoglandüler Faz (5.-17. Hafta)

Bu aşama asıl olarak bronşiyal ağacının oluşumundan sorumludur. Küboidal epitel, akciğerlerin gelişiminin bu aşamasında, geniş plevral mezenkim içine gevşek bir şekilde gömülerek ekzokrin bezlerine benzemesini sağlar. 16. haftanın sonunda tersiyer bronş tomurcukları, insanlarda solunum ağacının ilk kısımlarını oluşturmak için kapsamlı dallanma morfogenezine uğrar (33). Proksimal hava yollarında kolumnar epitel hücrelerinin yüzeyinde silialar oluşturmak üzere solunum epitelinin farklılaşması başlar. Splanknoplörik mezodermin farklılaşması, bronşların dallanmasına benzer ancak daha geniş bir şekilde dallanan intrapulmoner arterleri, hava yollarındaki destekleyici kıkırdağı ve çevreleyen alfa aktin tabakasını oluşturur.

Bu aşamanın sonunda solunum ağacı; arteriyel sistem, kıkırdak ve düz kasın oluşmasıyla birlikte terminal bronşiyollere kadar gelişmiştir. Bu dönemde doğan bebekler, solunum bronşiyolleri henüz gelişmediği için gaz alışverişini sağlayamayacak ve dolayısıyla hayatta kalamayacaklardır.

2.3.3 Kanaliküler Faz (16.-25. Hafta)

Bu aşama, respiratuvar ağaçtaki iletken birimler ve solunum birimleri arasındaki bölünmeyi içerir. Mevcut terminal bronşiyollerin uzaması ve büyümesi, her biri 3 ila 6 alveoler kanala yol açan, solunum bronşiyollerinden oluşan bir asinüs oluşturur. Asinusu çevreleyen mezodermal dokudaki splanknik mezenkimin yoğun anjiyogenezi, kan-hava bariyerini oluşturmaya başlayan yoğun bir kılcal ağ oluşturur. 20. haftada, distal epiteli kaplayan küboidal tip II pnömositlerin sitoplazmasında lameller cisimcikler görünmeye başlar. Lamellar cisimler, alveollere ekzositotik salınmadan önce, içeriği lipidler ve sürfaktan proteinleri A-C'den oluşan pulmoner sürfaktanı depolar. Daha sonra Tip II pnömositler, az bir farklılaşma ile alveollerin yapısal epitelini oluşturacak olan skuamöz tip I pnömositlere dönüşürler (34).

Bu aşamada akciğerlerin gaz alışverişi yapan kısmının oluşması nedeniyle bir miktar solunum mümkündür; dolayısıyla bu aşamada doğan bebekler yoğun bakıma alınırsa hayatta kalabilme şansları vardır. Bununla birlikte, gaz değişimi için yeterli yüzey alanının bulunmaması ve tip II pnömositlerin sınırlı pulmoner sürfaktan üretimi nedeniyle sıklıkla hayatta kalamazlar.

2.3.4 Sakküler Faz (24.Hafta-Doğum)

Bu fazda akciğerlerin gaz alışverişi yapan yüzey alanları önemli ölçüde genişler. Terminal hava yollarının büyümesi, çevredeki mezodermal doku miktarını azaltır ve terminal keseleri veya 'sakkül' olarak bilinen genişlemiş hava boşlukları kümelerini oluşturur. Her kese, merkezi bir bağ dokusu katmanına sahip, çift kılcal ağ içeren kalın bir septa ile ayrılır. Tip II pnömositlerin tip I pnömositlere olgunlaşması ve farklılaşması ile ince duvarlı terminal keseler oluşur. Kılcal damarlar; tip I pnömositler, kılcal damarların ince bazal membranı ve endotelden oluşan kan-hava bariyerini oluşturmak için keseciklerin ince duvarlarına invaze olarak verimli gaz değişimi için işlevsel bir yüzey oluşturur.

Pulmoner sürfaktan üretimi 24. haftada başlar; ancak atelektaziyi önleyecek yeterli miktarda üretim 32. haftaya kadar gerçekleşmez. Bu nedenle 32. haftadan sonra doğan bebeklerin hayatta kalma şansı 24. haftada doğanlara göre çok daha yüksektir (35).

2.3.5 Alveoler Faz (36.Hafta-8 Yaş)

Doğumdan önce olgunlaşmamış alveoller, primer septayı istila eden keselerden çıkıntılar halinde görünür. Sakkülün boyutu artmaya devam ettikçe primer septadaki çıkıntılar büyür; bu yeni, daha uzun ve daha ince septasyonlar sekonder septa olarak bilinir ve respiratuvar ağaçtaki sakküllerin alveollere dönüşmesinden sorumludur. Septasyon; fibroblast aktivitesinin arttığı, interstisyuma kollajen ve elastin liflerinin salgılandığı bölgelerde meydana gelir. Alveol bölünmesi süreci 3 yaşına kadar devam eder ve bölünmelerin çoğunluğu ilk 6 ay içinde meydana gelir. Daha ince bir difüzyon bariyeri oluşturmak için çift katmanlı kılcal ağ, olgunlaşma ilerledikçe her biri iki alveol ile yakından ilişkili olan tek bir ağ halinde birleşir (36).

Yaşamın üçüncü yılına kadar akciğerlerin büyümesi sadece alveol sayısının artmasından kaynaklanırken, bu noktadan sonra yaklaşık 8 yaşına kadar alveollerin hem sayısı hem de boyutu matür akciğerler oluşana kadar artar.

2.4 Hayvan Modeli Seçimi

Gebelikte fetal akciğer matürasyonunu değerlendirmek amacıyla yapılan deneysel çalışmalarda sıklıkla kemirgen hayvan modelleri tercih edilmektedir. Bu çalışmada kullanılan Sprague-Dawley türü dişi sıçanlar, insan dışı memeli modelleri arasında gebelik fizyolojisi iyi tanımlanmış, fetal gelişim evreleri net olarak izlenebilen ve araştırmalarda yüksek reprodüksiyon sağlayan bir türdür. Sıçanlarda gebelik süresi ortalama 21 gündür ve fetal akciğer gelişiminin en hızlı evresi son trimesterin karşılığı olan 17–21. günler arasında gerçekleşmektedir. Bu durum, doğum öncesi dönemde yapılan müdahalelerin kısa zaman dilimlerinde etkilerini değerlendirmek açısından önemli bir avantaj sağlamaktadır. Bu nedenle, sıçan modeli hem bilimsel geçerliliği hem de etik/pratik uygunluğu nedeniyle bu çalışmada tercih edilmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Deney Hayvanlarının Temini

Bu çalışmada hayvanlar Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi'nden (DEHAM) temin edildi. Örneklem büyüklüğü G*Power Version 3.1.6 programı ile hesaplandı. Kontrol grubu, tek doz enjeksiyon grubu ve iki doz enjeksiyon grubu olmak üzere 3 adet grupta 6. saatte, 12.saatte ve 24.saatte ötenazi yapılıp akciğerleri incelenecek olan çalışma için orta etki büyüklüğünde (effect size=1,0) farkın istatistiksel olarak anlamlı olması öngörülerek 0,05 alfa anlamlılık seviyesinde %80 güç için örneklem büyüklüğü toplam 9 adet gebe sıçan (250-300 gr) olarak belirlendi.

Çalışmanın yapılabilmesi için Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul (ACU-HADYEK) 23.06.2023 tarihli ACU-HADYEK 2023/46 sayılı karar ile etik kurul izni alındı. Sıçanlara yapılan tüm uygulamalar National Institutes of Health (NIH) tarafından hazırlanmış laboratuvar hayvanlarının bakım ve kullanım rehberine uygun olarak gerçekleştirildi.

3.2 Gebelik Tayini

Deneyin ortalama ağırlığı 250-300 gram olan Sprague Dawley sıçanlar üzerinde yapılması planlanmıştır.9 adet dişi sıçan, 21-23°C'de, %60-65 bağıl nem ve gün ışığı altında tutulan bireysel kafeslere konulmuştur. 5 gün boyunca (bir östrüs döngüsü) sabah 09.00-11.00 saatleri arasında erkek sıçanlar ile çiftleşmeleri sağlanmıştır. Sıçanların gebelik tayini için günde iki kez vajinal tıpa/plak kontrolü yapılmıştır. Tıpa oluşumu gözlemlenmeyen hayvanlarda vajinal smear uygulaması yapılmış, smear bakısında sperm görüntülenen anneler gebe kabul edilmiştir. 9 adet Sprague Dawley gebe sıçan, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık siklusta, sabit 21-22°C sıcaklık ve %45-65 nem içeren bireysel havalandırmalı kafeslerde barındırılmış, su ve yem alımları serbest bırakılmıştır.

3.3 Deney Gruplarının Oluşturulması

Betametazonun fetal akciğer gelişimi üzerindeki etkisi görmek amacıyla toplam 9 gebe sıçan; Tek doz betametazon (TD) , çift doz betametazon (ÇD) ve kontrol grubu olmak üzere 3'erli 3 gruba ayrılmıştır. Her grupta bulunan 3 gebe sıçan kendi arasında 6.saatte, 12.saatte ve 24.saatte sakrifiye edilmek üzere 3 alt gruba ayrılmıştır. (Şekil 1)

Her bir gebe sıçandan elde edilen yavru sayısı farklılık göstermiştir. Ayrıca, bazı yavrulardan yeterli miktarda amniyon sıvısı elde edilememesi nedeniyle bütün gruplardaki yavruların hepsinde surfaktan protein A1 düzeyleri çalışılamamıştır. Bu nedenle her grup için analiz edilen örnek sayısı farklılık göstermektedir. Analize dahil edilen örnek sayıları şu şekildedir: Tek doz betametazon grubu: 6. saat (n=4), 12. saat (n=8), 24. saat (n=6); Çift doz betametazon grubu: 6. saat (n=4), 12. saat (n=4), 24. saat (n=6); Kontrol grubu: 6. saat (n=4), 12. saat (n=4), 24. saat (n=6)

3.3.1 Tek Doz Betametazon Uygulanan Grup

Tek doz betametazon uygulanacak olan gruba 6mg/ml'lik betametazon preparatı (Celestone Chronodose) 9 ml %0,9 NaCl eklenilerek seyreltilmiş ve 6 mg betametazon içeren 10 ml'lik solüsyon elde edilmiştir. Oluşan solüsyondan 1 ml insülin enjektörü içine çekilmiş, 0,10 mg/kg^{-1}'lık betametazon asetat olacak şekilde uygulanmak üzere hazırlanmıştır.

Tek doz uygulama yapılan gebe sıçanlardan ilkine gebeliğinin 16. gününde sabah 09:00'da tek doz BM uygulaması yapılmış, uygulama sonrası 6.saatte, gebeliğinin 16.gününde saat 15:00'da sezaryen ile doğumu planlanmıştır. İkinci gebe sıçana gebeliğinin 16.gününde sabah 09:00'da tek doz BM uygulaması yapılmış, uygulama sonrası 12.saatte, gebeliğinin 16.günü saat 21:00'da sezaryen ile doğumu planlanmıştır. Üçüncü gebe sıçana ise gebeliğinin 15.gününde sabah 09:00'da tek doz BM uygulaması yapılmış; uygulama sonrası 24.saatte, gebeliğinin 16.gününde sabah 09:00'da, sezaryen ile doğumu yaptırılmıştır.

3.3.2 Çift Doz Betametazon Uygulanan Grup

İki doz betametazon uygulanacak olan gruba 6mg/ml'lik betametazon preparatı (Celestone Chronodose) 9 ml %0,9 NaCl eklenilerek seyreltilmiş ve 6 mg betametazon içeren 10 ml'lik solüsyon elde edilmiştir. Oluşan solüsyondan 1 ml insülin enjektörü içine çekilmiş, 0,10 mg/kg^{-1}'lık betametazon asetat olacak şekilde uygulanmak üzere hazırlanmıştır. Çift doz uygulanacak olan grupta dozlar arası 12 saat olacak şekilde ayarlanmıştır.

İki doz uygulama yapılan gebe sıçanlardan ilkine gebeliğinin 15.gününde akşam 21:00'da ilk doz BM uygulaması yapılmış,16.gün sabah 09:00'da ikinci doz BM uygulaması yapılmıştır. Dozların tamamlanması sonrası 6.saatte, gebeliğinin 16.günü saat 15:00'da sezaryen ile doğumu planlanmıştır. İkinci gebe sıçana gebeliğinin 15.gününde akşam 21:00'da ilk doz BM uygulaması yapılmış, 16.gün sabah 09:00'da ikinci doz BM uygulaması yapılmıştır. Dozların tamamlanması sonrası 12.saatte, gebeliğinin 16.gününde akşam 21:00'da sezaryen ile doğumu planlanmıştır. Üçüncü gebe sıçana ise gebeliğinin 14.gününde akşam 21:00'da ilk doz BM uygulaması yapılmış, 15.gün sabah 09:00'da ikinci doz BM uygulaması yapılmıştır. Dozların tamamlanması sonrası 24.saatte, gebeliğinin 16.gününde sabah 09:00'da sezaryen ile doğumu yaptırılmıştır.

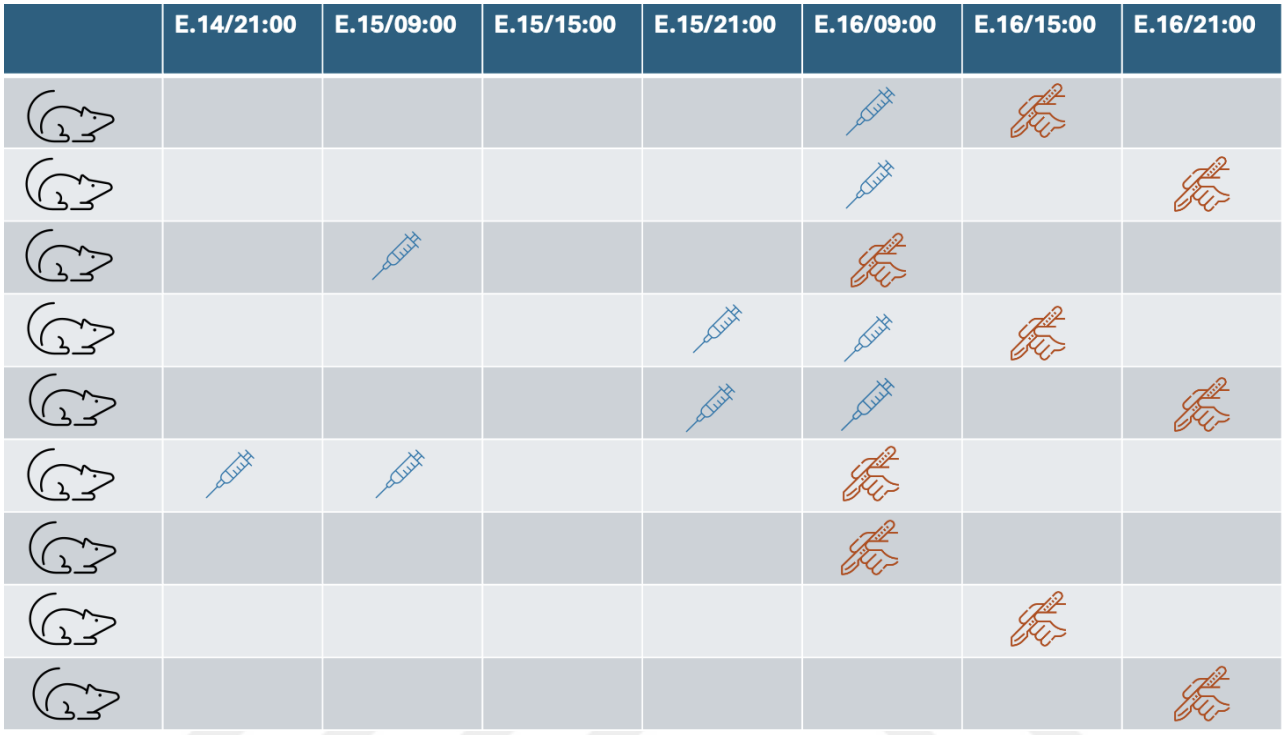
3.3.3 Kontrol Grubu

Kontrol grubunda olan 3 gebe sıçandan ilkinin, gebeliğinin 16.gününde sabah 09:00'da sezaryen ile doğumu yaptırılmıştır. İkincisinin ise gebeliğini 16.gününde saat 15:00'da sezaryen ile doğumu yaptırılmıştır. Son olarak üçüncüsünün ise gebeliğinin 16.gününde saat 21:00'da sezaryen ile doğumu yaptırılmıştır.

3.4 Dokuların Toplanması

Gebe sıçanlara yukarıda belirtilen günlerde ve saatlerde önce inhaler anestezik verilerek uyutulmuşlardır. Ardından laparatomi ile batına girilmiş, sağ ve sol uterin boynuzlardaki fetüsler vizüalize edilmiştir. Yenidoğanlar ayrı ayrı lamlara alınarak öncelikle amniyon keselerinden insülin enjektörü yardımıyla amniyosentez yapılmıştır.

Ardından kese açılarak yenidoğan yavrular kuru buz üzerinde hipotermi yöntemiyle sakrifiye edilmiştir. Akciğer ve plasenta dokuları uygun şekilde diseke edilmiştir.



Şekil 1:Deney Planlaması

3.4.1 Histolojik İnceleme

Rutin histopatolojik incelemeler amacıyla deney gruplarından alınan doku örnekleri %10'luk tamponlanmış nötral formalin fiksatifine alındı. Daha sonra örnekler doku takip cihazı kullanılarak yükselen etil alkol serisinden (%70, %90, %96, %100) geçirilmiş ve ksilenle şeffaflandırma aşamasından sonra dokular parafine gömüldü. Dokulardan, mikrotom (Thermo- Shandon™ Finesse™ ME+) ile yaklaşık 5 µm kalınlığında alınan parafin kesitler genel morfolojiyi değerlendirmek amacıyla hematoksilen–eosin (H&E) ile boyanarak incelendi. Tüm deney gruplarına ait doku örneklerinde akciğer doku lokalizasyonu bulunarak, ilgili bölge ışık mikroskobu (Zeiss A1 Axio Scope, Germany) altında 20x ve 40x büyütmelerde fotoğraflandı.

3.4.2 Surfaktan İmmünofloresan Uygulaması

Embriyolardaki akciğer dokularındaki sürfaktan lokalizasyonu belirlemek amacıyla kesitlere Anti-Surfaktan Protein A/PSAP immünhistokimyası uygulandı. %4 PFA ile fikse edilen 5 µm kalınlığındaki kesitler, ksilen içerisinde deparafinizasyon amacıyla 40 dakika bekletildi. Daha sonra azalan alkol serisinden (%100, %96) geçirildi. Kesitler daha sonra, sitrat tampon solüsyonunda (pH 6, 1x) 20 dakika 100 Watt'da mikrodalga fırında ısıtıldı ve 20 dakika oda sıcaklığında bırakılıp soğuması sağlandıktan sonra 3 kez beşer dakika PBS çözeltisinde yıkandı. Bloklama işlemi için örnekler 1 saat boyunca %5'lik keçi serumunda bekletildi. Kesitlere tavşan anti- Surfaktan Protein A/PSAP (Katalog No: ab51891, abcam, U.S.A) antikoru bloklama solüsyonu içinde 1:200 dilüe edilerek uygulandı. Tüm kesitler + 4°C'de bir gecelik inkübasyonda tutulduktan sonra, 3 kez beşer dakika PBS ile yıkandı. Sonrasında 1:500 dilüe floresan konjuge keçi anti-tavşan sekonder antikoru (Katalog No: 35552, DyLight™ 488, Invitrogen, U.S.A) kesitlere uygulanarak 1 saat oda sıcaklığında bekletildi. Tüm kesitler 3 kez beşer dakika PBS ile yıkandıktan sonra 4’6- Diamino-2-fenilidol (DAPI) içeren kapatma solüsyonu (Katalog No: ab104139, Abcam, Cambridge, U.K.) damlatılarak lamel ile kapatıldı. Kesitler konfokal mikroskobu (Zeiss LSM 700, Oberkochen, Germany) ile incelenip fotoğraflandı.

3.4.4 Biyokimyasal İnceleme

Bu çalışmada, amniyon sıvısında Pulmoner Surfaktan ile İlişkili Protein A1 (SP-A1) düzeylerinin kantitatif olarak belirlenmesi amacıyla enzim bağlantılı immünosorbent analiz (ELISA) yöntemi kullanılmıştır. Ölçümler için BT-Lab markasına ait Pulmonary Surfactant Associated Protein A1 (SP-A1) ELISA kiti kullanılmıştır.

ELISA plakaları, üretici firma tarafından önceden Rat SP-A1'e özgü antikorlar ile kaplanmıştır. Amniyon sıvısı örnekleri kuyucuklara eklendikten sonra, örnekte bulunan Rat SP-A1 antijenleri kaplanmış antikorlara bağlanmıştır. Ardından biyotin ile işaretlenmiş Rat SP-A1 antikoru eklenmiş ve örnekteki hedef protein ile bağlanma gerçekleşmiştir. Bu işlemi takiben Streptavidin-konjugatlı HRP (horseradish peroxidase) enzimi eklenmiş ve biyotinli antikora bağlanmıştır.

İnkübasyon süresinin ardından bağlanmamış Streptavidin-HRP, yıkama adımlarıyla ortamdan uzaklaştırılmıştır. Daha sonra substrat çözeltisi eklenmiş ve oluşan renk değişimi, örneklerdeki Rat SP-A1 miktarı ile doğru orantılı olarak gelişmiştir. Reaksiyon, asidik durdurma solüsyonu ile sonlandırılmış ve absorbans değerleri 450 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

Ölçümler BIO-TEK ELx800 model mikroplaka okuyucusu ile yapılmıştır. Yıkama işlemleri ise BIO-TEK ELx50otomatik strip washer cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

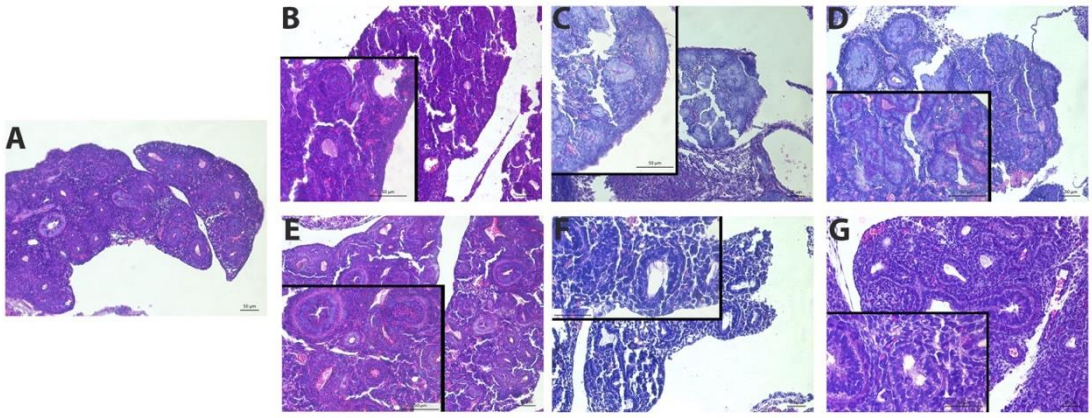
4.1. Histolojik İnceleme

Şekil 2'de, farklı deney gruplarına ait fetal akciğer doku örneklerinin morfolojik değerlendirmesi sunulmuştur. Tüm gruplarda, immatür alveol yapılarının benzer morfolojik özellikler gösterdiği izlenmiştir. Akciğer dokularında, bu embriyonik döneme özgü hava boşluğu (alveolar boşluk) oluşumlarının genişlemeye başladığı ve bu süreçte mezenkimal dokunun bu boşlukların gelişimine aktif olarak katılım sağladığı gözlenmiştir.

Kontrol grubunda (A) bu gelişimsel yapıların temel formasyon sürecinde olduğu, herhangi bir farmakolojik etkiye bağlı hızlanma veya olgunlaşma belirtisinin gözlenmediği kaydedilmiştir. Tek doz betametazon uygulamasını takiben sırasıyla 6. saat (B), 12. saat (C) ve 24. saat (D) değerlendirmelerinde, alveolar gelişim düzeyinin kontrol grubuna kıyasla belirgin bir farklılık göstermediği, immatür morfolojinin korunduğu görülmüştür.

Benzer şekilde, çift doz betametazon uygulaması sonrası 6. saat (E), 12. saat (F) ve 24. saat (G) gruplarında da immatür alveol yapılarının morfolojik özelliklerinde anlamlı bir değişiklik izlenmemiştir. Tüm bu bulgular, betametazonun ilk 24 saat içerisinde fetal akciğer histolojisi üzerinde belirgin bir olgunlaştırıcı etki yaratmadığını göstermektedir.

Histolojik değerlendirmeler hematoksilen-eozin (H&E) ile boyanmış kesitler üzerinden yapılmış olup, büyütmeler 20x ve ilgili bölgelerin inset büyütmeleri 40x düzeyinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 2).



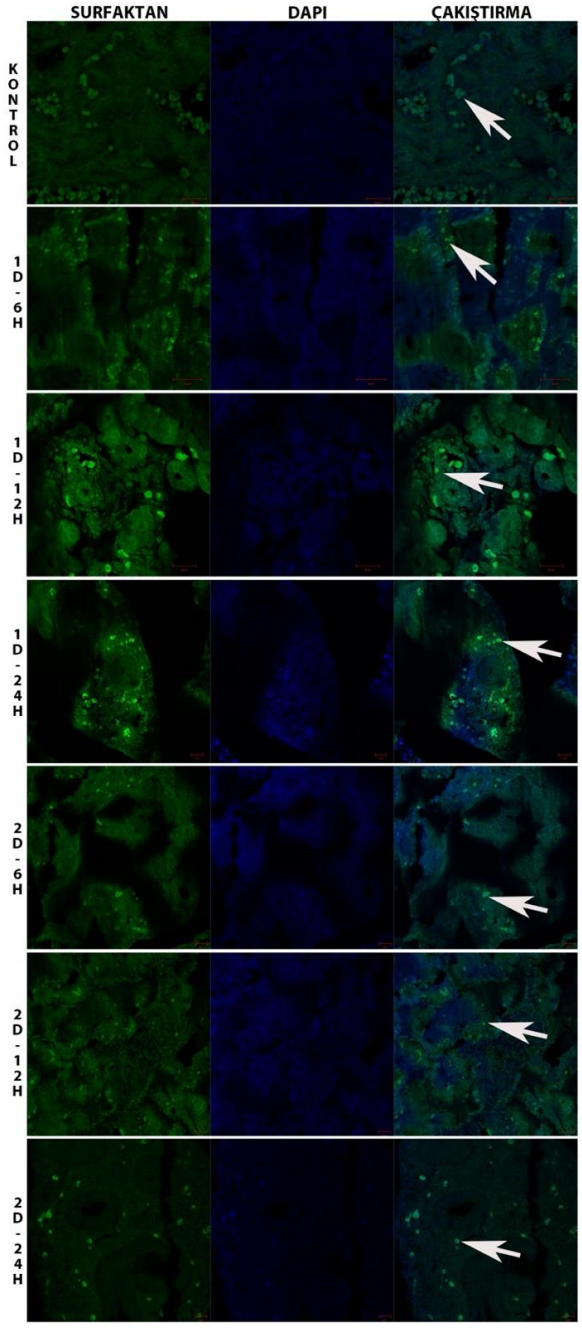
Şekil 2: Kontol grubu (A), 1Doz betametazon uygulama- 6saat sonrası uygulama grubu (B), 1Doz betametazon uygulama- 12saat sonrası uygulama grubu(C), 1Doz betametazon uygulama- 24 saat sonrası uygulama grubu (D), 2Doz betametazon uygulama- 6saat sonrası uygulama grubu (E), 2Doz betametazon uygulama- 12 saat sonrası uygulama grubu (F), 2Doz betametazon uygulama- 24 saat sonrası uygulama grubu (G). (H&E boyaması. Büyütmeler: 20x, inset büyütmeleri: 40x)

4.2. İmmunofloresan İnceleme

Şekil 3'te, tüm deney gruplarına ait fetal akciğer doku kesitlerinde yapılan immünofloresan boyama sonuçları sunulmuştur. Surfaktan protein pozitif hücreler parlak yeşil floresans ile, hücresel nükleuslar ise DAPI ile mavi renkte işaretlenmiştir. Her iki boyamanın çakıştığı bölgelerde surfaktan ekspresyonu gösteren hücreler açıkça seçilmiştir.

Surfaktan pozitif hücrelerin dağılımı, tüm gruplarda sınırlı düzeyde gözlenmiş olup, hücreler belirgin şekilde alveolar alanlarda lokalize olmuştur. Pozitif boyanma gösteren hücreler beyaz oklar ile işaretlenmiştir. Görüntüler 20x büyütme ile elde edilmiş ve her bir görselde boyamaların çakışmalı hali gösterilmiştir.

Bu bulgular, deney grupları arasında surfaktan protein ekspresyonunun dağılımında belirgin bir artış olmadığını ve betametazon uygulamasının ilk 24 saat içerisinde immünofloresan düzeyde surfaktan üretimini anlamlı şekilde arttırmadığını göstermektedir.



Şekil 3: Tüm deney gruplarına ait akciğer doku örneklerinde surfaktan pozitif hücreler (parlak yeşil) ve DAPI (mavi) ile boyanmış nükleuslar. İki boyamanın çakışmış görüntüsü. Surfaktan pozitif hücreler ayrıca beyaz ok ile gösterilmektedir. (Büyütmeler: 20x).

4.2. Pulmoner Surfaktan ile İlişkili Protein A1 (SP-A1) Seviyeleri

Bu çalışmada, antenatal kortikosteroid olarak betametazon uygulanan (TD), (ÇD) ve kontrol gruplarındaki fetal surfaktan protein A1 düzeyleri, 6., 12. ve 24. saatlerde karşılaştırılmıştır. Her bir zaman noktasında grupların ortalama, standart sapma (SD), medyan değerleri hesaplanmış ve bağımsız örneklem t-testi ile istatistiksel analiz gerçekleştirilmiştir.

Tablo 1'de, TD ve ÇD gruplarının her bir saat noktasında kontrol grubuyla karşılaştırılması yer almaktadır. Bu karşılaştırmalarda hiçbir zaman noktasında surfaktan protein A1 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$). Özellikle tek doz grubunun 6. saatte kontrole göre daha yüksek ortalama değer göstermesine karşın bu fark anlamlı bulunmamıştır ($p=0.567$). Bu durum, Şekil 4'te de görsel olarak izlenebilir; 6. saat tek doz grubunda dağılım daha geniş ve ortalama değer daha yüksek olmasına rağmen, kutu grafikte yer alan "n.s." (non-significant) etiketi, istatistiksel anlamlılık taşımadığını göstermektedir.

Tablo 2'de ise yalnızca tek doz ve çift doz uygulama gruplarının birbiriyle karşılaştırılması yer almaktadır. Bu analizde de her üç zaman noktasında (6., 12. ve 24. saat) uygulanan doz farklılıklarının surfaktan düzeyleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etki yaratmadığı görülmüştür.

Sonuç olarak, betametazonun uygulanmasını takip eden ilk 24 saatlik süreçte surfaktan üretiminin anlamlı düzeyde artmadığı ve doz farklılığının da erken dönem etkinlik açısından belirgin bir avantaj sağlamadığı görülmektedir. Bu veriler, betametazonun erken dönemde sınırlı etkinliğine işaret etmektedir.

Tablo 1: Tek/Çift Doz Betametazon Uygulanan Gruplardaki Sürfaktan Protein A1 Düzeylerinin Kontrol Grubuyla Karşılaştırılması

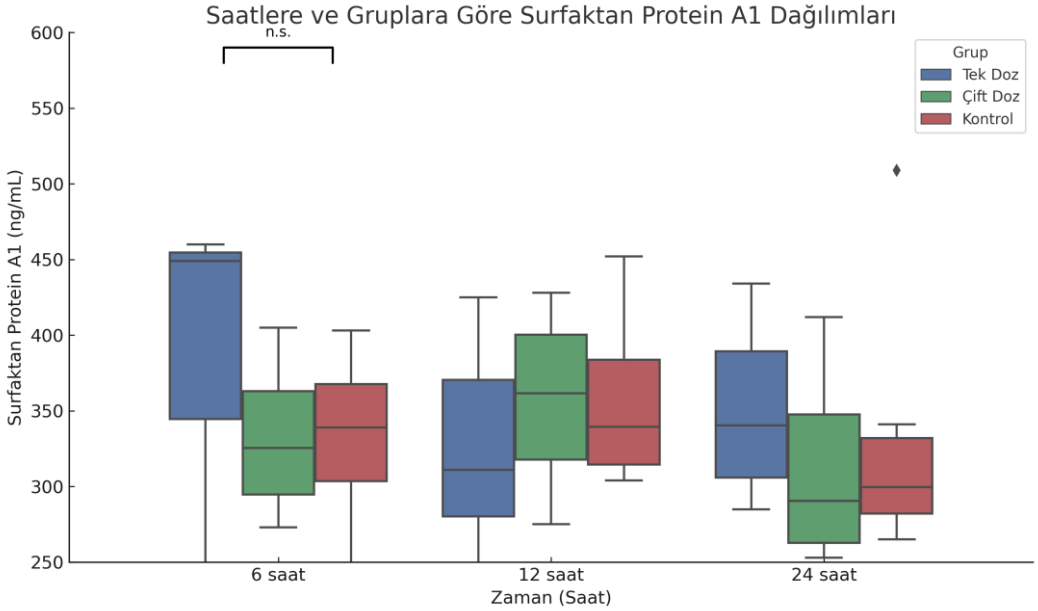
Saat	Gruplar	n	Ortalama ± SD	Medyan	p-değeri	Anlamlılık
6. saat	TD vs Kontrol	4 vs 4	383,0 ± 122,3 vs 332,3 ± 67,1	449 vs 339	0,567	Hayır
6. saat	ÇD vs Kontrol	4 vs 4	332,3 ± 57,3 vs 332,3 ± 67,1	325 vs 339	1,000	Hayır
12. saat	TD vs Kontrol	8 vs 4	323,4 ± 70,2 vs 359,0 ± 65,9	311 vs 340	0,422	Hayır
12. saat	ÇD vs Kontrol	4 vs 4	356,5 ± 69,7 vs 359,0 ± 65,9	361.5 vs 340	0,964	Hayır
24. saat	TD vs Kontrol	6 vs 6	350,0 ± 57,9 vs 332,0 ± 90,5	340.5 vs 323	0,692	Hayır
24. saat	ÇD vs Kontrol	6 vs 6	311,0 ± 62,7 vs 332,0 ± 90,5	311 vs 323	0,653	Hayır

Not: Değerler grup ortalamaları ± standart sapma (SD) şeklindedir. Anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edilmiştir. Tüm analizlerde bağımsız örneklem t-testi kullanılmıştır.

Tablo 2: Tek Doz ve Çift Doz Betametazon Uygulanan Gruplardaki Sürfaktan Protein A1 Düzeylerinin Karşılaştırılması

Saat	n (TD vs ÇD)	Ortalama ± SD (TD vs ÇD)	Medyan (TD vs ÇD)	p-değeri	Anlamlılık
6. saat	4 vs 4	383,0 ± 124,0 vs 332,2 ± 57,7	449,0 vs 325,5	0,563	Hayır
12. saat	8 vs 4	323,4 ± 68,1 vs 356,5 ± 67,2	311,0 vs 361,5	0,453	Hayır
24. saat	6 vs 6	350,0 ± 58,3 vs 311,0 ± 63,6	340,5 vs 290,5	0,294	Hayır

Not: Değerler grup ortalamaları ± standart sapma (SD) şeklindedir. İstatistiksel analizlerde bağımsız örneklem t-testi uygulanmış ve anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak alınmıştır.



Şekil 4: Saatlere ve Gruplara Göre Sürfaktan İlişkili Protein A1 Düzeylerinin Dağılımı

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, deney hayvanları modelinde, antenatal kortikosteroidlerden betametazonun uygulanmasından sonraki ilk 24 saat içerisinde fetal akciğer matürasyonuna etkisi değerlendirilmiştir. Çalışmanın en dikkat çekici yönlerinden biri, betametazonun farklı doz (tek/çift) uygulamaları sonrası, ilk 24 saat içinde üç ayrı zaman noktasında (6., 12., 24. saatlerde) analiz yapılmış olmasıdır. Bu yönüyle çalışma, betametazonun erken dönemdeki etkilerinin zamana bağlı doğasını ortaya koymayı amaçlayan literatürdeki nadir deneysel çalışmalardan biridir. Bulgularımız, amniyon sıvısında surfaktan protein A1 düzeylerinin ve fetal akciğer dokusu histopatolojik incelemelerinin, betametazonun bu erken dönemde anlamlı bir etkinlik göstermediğini ortaya koymaktadır. Betametazonun potansiyel yan etkileri göz önünde bulunduğunda, etkisinin zamanla ilişkili olduğunu ve erken doğumun 24 saat içinde gerçekleşeceği düşünülen vakalarda fayda/zarar dengesinin sınırlı kalabileceğini göstermektedir.

Dünya Sağlık Örgütü'nün 2015'te yaptığı bir çalışmada ilacın en efektif olduğu zamanın ilk 7 gün olduğu, ve bu etkinliğin en az 24-48. saatlerde başladığı belirtilmiştir (37).

Son yıllarda antenatal kortikosteroidlerin uzun dönem etkilerini inceleyen geniş ölçekli popülasyon temelli çalışmalar, bu ajanların her koşulda güvenli olmayabileceğini göstermektedir. Finlandiya'da Raikonen ve arkadaşları tarafından yapılan, 2006–2017 yılları arasında doğan 670,097 tekil çocuğun dahil edildiği prospektif kohort çalışmada, antenatal kortikosteroid (AKS) maruziyeti ile çocukluk çağında mental ve davranışsal bozukluklar arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Çalışmaya göre, AKS'ye maruz kalan çocuklarda bu tür bozuklukların kümülatif insidansı %12,01 iken, maruz kalmayanlarda %6,45 olarak bulunmuştur (mutlak fark %5,56; HR: 1,33; %95 GA: 1,26–1,41). Özellikle term doğan bebekler arasında AKS maruziyeti, bozukluk oranını %6,31'den %8,89'a çıkarmış ve bu grup için göreli risk anlamlı şekilde artmıştır (HR: 1,47; %95 GA: 1,36–1,69) (38).

Dahası, aynı annenin farklı gebeliklerinden doğan kardeş çiftleri arasında yapılan karşılaştırmalı analizlerde (discordant sibling-pair analysis), AKS'ye maruz kalan kardeşlerde mental/psikiyatrik bozukluk oranı %6,56 iken, maruz kalmayan

kardeşlerde bu oran %4,17 olarak bulunmuştur (HR: 1,38; %95 GA: 1,21–1,58). Bu bulgu, kortikosteroidlerin olası nörogelişimsel etkilerinin genetik ve çevresel faktörlerden bağımsız olabileceğini düşündürmektedir (38).

Buna karşılık, preterm doğan çocuklarda AKS'ye bağlı bozukluk oranı yüksek olsa da (%14,59 vs %10,71), bu farkın göreli riski istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (HR: 1,00; %95 GA: 0,92–1,09). Bu da, bu özel grupta AKS uygulamasının sağladığı kısa vadeli faydaların (örneğin RDS, intraventriküler hemoraji gibi komplikasyonları azaltması) uzun dönem risklerlerle dengelendiğini düşündürmektedir.

Tijsseling ve arkadaşlarının 2012 yılında gerçekleştirdiği bir çalışmada, antenatal glukokortikoid tedavisinin preterm yenidoğanların hipokampal histolojisi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Çalışmada, 24 ila 32 gestasyon haftası arasında doğmuş ve doğumdan sonraki dört gün içinde vefat eden, postnatal glukokortikoid tedavisi almamış 34 preterm bebek değerlendirilmiştir. Bebeklerin beyin otopsileri sırasında hipokampus bölgeleri histolojik olarak incelenmiş ve glukokortikoid maruziyetinin nöronal yapı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Sonuçlar, antenatal glukokortikoid tedavisi alan bebeklerde hipokampal nöron yoğunluğunda azalma ve gliosis gibi morfolojik değişikliklerin daha sık görüldüğünü ortaya koymuştur(39) .

Bu bulgular, antenatal glukokortikoidlerin preterm bebeklerde nörogelişimsel yapı üzerinde olumsuz etkiler yaratabileceğini düşündürmektedir. Özellikle hipokampus gibi öğrenme ve hafıza ile ilişkili beyin bölgelerinde gözlenen yapısal değişiklikler, uzun vadeli nörogelişimsel sonuçlar açısından endişe vericidir.

Kelly ve arkadaşlarının (2012) yürüttüğü prospektif bir çalışma, antenatal glukokortikoid (GC) maruziyetinin uzun vadeli kardiyovasküler ve metabolik etkilerini incelemiştir. Çalışmada, prenatal GC tedavisi almış bireylerin aortik fonksiyonları ve glukoz metabolizmaları, maruz kalmamış kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar, antenatal GC maruziyetinin aortik sertlikte artış ve glukoz metabolizmasında bozulma ile ilişkili olduğunu göstermiştir (40).

Ni ve arkadaşlarının (2018) gerçekleştirdiği bir deneysel çalışmada, gebelik sırasında betametazon maruziyetinin plasental 11β-hidroksisteroid dehidrogenaz tip 2 (11β-HSD2) ekspresyonu ve yavrularda uzun vadeli metabolik etkileri incelenmiştir. Çalışmada, hamile farelere betametazon uygulanmış ve plasental 11β-

HSD2 ekspresyonunun arttığı, ancak 11β-HSD1'de anlamlı bir değişiklik olmadığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, fetüslerin doğum ağırlıklarında azalma (intrauterin büyüme geriliği) tespit edilmiş, bu durumun yetişkinlikteki metabolik bozukluklarla ilişkili olduğu belirlenmiştir. Yetişkin yavrularda hiperglisemi, glukoz intoleransı, düşük insülin sekresyon kapasitesi ve hiperlipidemi gibi metabolik bozukluklar gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, antenatal betametazon maruziyetinin plasental enzim ekspresyonunu etkileyerek uzun vadeli metabolik hastalıklara yol açabileceğini göstermektedir (41).

Ho ve arkadaşlarının (2025) yürüttüğü ulusal düzeydeki retrospektif kohort çalışması, antenatal kortikosteroid (ACS) maruziyetinin zamanlamasının, erken ve tam dönem doğan çocuklarda mental sağlık bozukluklarıyla ilişkisini incelemiştir. 2010-2014 yılları arasında doğan ve 2021 yılı sonuna kadar takip edilen tüm uygun term bebekler çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmanın birincil sonucu, çocukluk dönemindeki herhangi bir mental bozukluk olup; ikincil sonuçlar arasında dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu (DEHB), otizm spektrum bozukluğu (OSB) ve gelişimsel gecikme (GG) yer almıştır. ACS maruziyeti, özellikle 34. gebelik haftasından önce gerçekleştiğinde, erken dönem doğan çocuklarda DEHB ve GG riskinde anlamlı bir artışla ilişkilendirilmiştir. Bu ilişki, tam dönem doğan çocuklarda gözlemlenmemiştir (42). Çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde, antenatal kortikosteroid tedavisinin zamanlamasının, özellikle erken dönem doğan çocuklarda, uzun vadeli nörogelişimsel sonuçlar üzerinde önemli bir etkisi olabileceğini göstermektedir.

Borges ve arkadaşlarının 2017 yılında gerçekleştirdiği iki deneysel çalışmada, antenatal betametazon maruziyetinin hem erkek hem de dişi sıçanlardaki uzun vadeli üreme sağlığı üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Çalışmalarda, gebeliğin 12, 13, 18 ve 19. günlerinde 0.1 mg/kg dozunda betametazon uygulaması yapılmıştır. Hem erkek hem de dişi yavrular doğum sonrası erişkin döneme kadar takip edilmiştir.

Erkek yavrularda betametazon maruziyeti; vücut ağırlığında azalma, sperm motilitesi ve sayısında düşüş, anormal sperm oranında artış, testis ve ventral prostat ağırlığında artış, seminal vezikül ağırlığında azalma, FSH düzeylerinde düşüş ve LH düzeylerinde artış ile ilişkilendirilmiştir. Bu bulgular, spermatogenezde bozulma ve genel fertilite kapasitesinde azalma ile sonuçlanmıştır (43).

Dişi yavrularda ise vücut ve yumurtalık ağırlığında azalma, azalmış primordial folikül sayısı, artmış atretik folikül oranı, FSH düzeylerinde düşüş ve LH düzeylerinde artış tespit edilmiştir. Bu değişiklikler, over rezervinin azalmasına ve doğurganlık potansiyelinde düşüşe işaret etmektedir (44).

Bu bulgular antenatal betametazon tedavisinin, fetal gelişim sürecinde endokrin ve gonadal farklılaşma üzerinde kalıcı değişiklikler oluşturabileceğini ve bu durumun erişkin dönemde üreme sağlığını olumsuz etkileyebileceğini ortaya koymaktadır.

Literatüre ait tüm bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, AKS uygulamasının yalnızca preterm doğum riski yüksek ve doğumun gerçekten erken gerçekleşeceği düşünülen olgularda tercih edilmesi gerektiği sonucuna varılabilir. Özellikle term doğumla sonuçlanan ve "gereksiz" AKS uygulamalarında, uzun dönem nörogelişimsel,bilişsel,metabolik ve fertilite üzerindeki etkileri açısından dikkatli olunmalıdır. Çalışmamızın sonuçları, hipotezimizi desteklemekte olup; doğumun 24 saat içinde gerçekleşeceği düşünülen olgularda AKS uygulamasının mutlak gerekliliğini sorgulamakta ve bu kararın bireysel risk/fayda dengesi gözetilerek verilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

5.1 Limitasyonlar

Çalışmamızda bazı limitasyonlar mevcuttur. Öncelikle, betametazonun etkisi yalnızca uygulamadan sonraki ilk 24 saat içerisinde değerlendirilmiş olup, bu zaman aralığı ilacın maksimum etkisini göstermesi açısından yetersiz kalabilir. Literatürde, ilacın optimal etkisinin 24 ila 48 saat sonrasında başladığı ve en az 7 gün sürdüğü belirtilmektedir.

İkinci olarak, çalışmanın deney hayvanları (rat) üzerinde gerçekleştirilmiş olması, sonuçların insan fizyolojisine doğrudan genellenmesini kısıtlamaktadır. Plasental yapı, fetal gelişim hızı ve hormonal regülasyon türler arasında farklılık göstermektedir.

Ayrıca, bir deney hayvanı çalışması olduğundan örneklem mümkün olduğunca kısıtlı tutulmaya çalışılmıştır. Sonuçların istatistiksel gücünü artırmak adına daha geniş örneklem gruplarıyla tekrarlanması gerekmektedir. Bununla birlikte, fetal

cinsiyete göre herhangi bir alt grup analizi yapılmamıştır; oysaki cinsiyete bağlı fizyolojik yanıt farklılıkları önemli olabilir.

Tüm bu sınırlılıklara rağmen, çalışmamız antenatal kortikosteroidlerin erken dönemdeki etkilerini ortaya koyarak, klinik uygulamada zamanlama faktörünün göz ardı edilmemesi gerektiğini vurgulayan özgün ve değerli bulgular sunmaktadır.

Gelecekteki çalışmalar, betametazonun 24 saat sonrasındaki etkilerini ve uzun vadeli sistemik sonuçlarını değerlendirecek şekilde tasarlanmalıdır. Ayrıca, fetal cinsiyet, epigenetik değişiklikler ve plasental enzim aktiviteleri gibi parametreler de dahil edilerek daha kapsamlı modeller geliştirilebilir.

6. SONUÇ

Bu çalışmada, antenatal kortikosteroidlerden betametazonun, erken dönemde fetal akciğer gelişimi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Çalışma, betametazonun ilk 24 saat içerisindeki etkinliğini ve doz farklarının bu etkinlik üzerindeki etkisini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Deneysel modelde, tek doz ve çift doz betametazon uygulamaları sonrası fetal akciğer dokusunda, histolojik ve immünofloresan incelemeler yapılmış ve surfaktan protein A1 düzeyleri belirlenmiştir.

Bulgularımız, her iki doz uygulaması sonrası fetal akciğer histopatolojik yapılarında anlamlı bir değişiklik olmadığını ve surfaktan üretiminde betametazonun ilk 24 saat içinde anlamlı bir artış sağlamadığını göstermektedir. Özellikle, tek doz uygulama grubu 6. saatte daha yüksek ortalama değerler göstermesine rağmen, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca, her iki dozun da surfaktan düzeyleri üzerinde anlamlı bir fark yaratmadığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar, betametazonun erken dönemde, özellikle ilk 24 saat içerisinde, fetal akciğer maturasyonunu sağlama konusunda sınırlı bir etkinliğe sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

Çalışmamızın bulguları, erken doğum riski yüksek olan ve doğumun 24 saat içinde gerçekleşmesi beklenen gebelere betametazon uygulanmasının, fetal akciğer gelişimi üzerinde önemli bir etki yaratmayabileceğini göstermektedir. Bu, antenatal kortikosteroid uygulamasının gerekliliğinin, risk/fayda dengesi gözetilerek, bireysel olarak değerlendirilmesi gerektiğini vurgulamaktadır.

Literatürde yapılan önceki çalışmalarda, antenatal kortikosteroidlerin uzun dönem nörogelişimsel, bilişsel ve metabolik etkileri hakkında endişeler dile getirilmiş ve bu etkilerin özellikle gereksiz yere yapılan uygulamalarda artabileceği bildirilmiştir. Bu bağlamda, erken doğum riski taşıyan ancak doğumun 24 saat içinde gerçekleşeceği öngörülen hastalarda, betametazon uygulamasının gerekliliği tekrar gözden geçirilmelidir.

Sonuç olarak, betametazonun erken dönemdeki etkinliği, özellikle ilk 24 saatlik süreçte sınırlı olup, bu dönemde yapılan uygulamaların uzun dönemdeki etkileri göz önünde bulundurularak dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi gereken bir

tedavi yaklaşımıdır. Gelecekte yapılacak daha geniş çaplı ve uzun süreli çalışmalar, bu tedavinin uzun vadeli etkilerini ve farklı parametrelerle olan ilişkisini daha net bir şekilde ortaya koyacaktır.

KAYNAKLAR

1. da Fonseca EB, Damião R, Moreira DA. Preterm birth prevention. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2020 Nov;69:40-49. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2020.09.003. Epub 2020 Sep 22. PMID: 33039310.
2. Torchin H, Ancel PY, Jarreau PH, Goffinet F. Épidémiologie de la prématurité: prévalence, évolution, devenir des enfants [Epidemiology of preterm birth: Prevalence, recent trends, short- and long-term outcomes]. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris). 2015 Oct;44(8):723-31. French. doi: 10.1016/j.jgyn.2015.06.010. Epub 2015 Jul 2. PMID: 26143095.
3. Fanaroff AA, Stoll BJ, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, Stark AR, Bauer CR, Donovan EF, Korones SB, Laptook AR, Lemons JA, Oh W, Papile LA, Shankaran S, Stevenson DK, Tyson JE, Poole WK; NICHD Neonatal Research Network. Trends in neonatal morbidity and mortality for very low birthweight infants. Am J Obstet Gynecol. 2007 Feb;196(2):147.e1-8. doi: 10.1016/j.ajog.2006.09.014. PMID: 17306659.
4. Kelly R, Holzman C, Senagore P, Wang J, Tian Y, Rahbar MH, Chung H. Placental vascular pathology findings and pathways to preterm delivery. Am J Epidemiol. 2009 Jul 15;170(2):148-58. doi: 10.1093/aje/kwp131. Epub 2009 Jun 9. PMID: 19509320; PMCID: PMC2727273.
5. Li D, Liu L, Odouli R. Presence of depressive symptoms during early pregnancy and the risk of preterm delivery: a prospective cohort study. Hum Reprod. 2009 Jan;24(1):146-53. doi: 10.1093/humrep/den342. Epub 2008 Oct 23. PMID: 18948314.
6. Donders GG, Van Calsteren K, Bellen G, Reybrouck R, Van den Bosch T, Riphagen I, Van Lierde S. Predictive value for preterm birth of abnormal vaginal flora, bacterial vaginosis and aerobic vaginitis during the first trimester of pregnancy. BJOG. 2009 Sep;116(10):1315-24. doi: 10.1111/j.1471-0528.2009.02237.x. Epub 2009 Jun 17. PMID: 19538417.
7. Elovitz MA, Baron J, Phillippe M. The role of thrombin in preterm parturition. Am J Obstet Gynecol. 2001 Nov;185(5):1059-63. doi: 10.1067/mob.2001.117638. PMID: 11717633.
8. Mercer BM, Goldenberg RL, Moawad AH, Meis PJ, Iams JD, Das AF, Caritis SN, Miodovnik M, Menard MK, Thurnau GR, Dombrowski MP, Roberts JM, McNellis D. The preterm prediction study: effect of gestational age and cause of preterm birth on subsequent obstetric outcome. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. Am J Obstet Gynecol. 1999 Nov;181(5 Pt 1):1216-21. doi: 10.1016/s0002-9378(99)70111-0. PMID: 10561648.
9. Vergnes JN, Sixou M. Preterm low birth weight and maternal periodontal status: a meta-analysis. Am J Obstet Gynecol. 2007 Feb;196(2):135.e1-7. doi: 10.1016/j.ajog.2006.09.028. PMID: 17306654.
10. Berghella V, Saccone G. Fetal fibronectin testing for reducing the risk of preterm birth. Cochrane Database Syst Rev. 2019 Jul 29;7(7):CD006843. doi: 10.1002/14651858.CD006843.pub3. PMID: 31356681; PMCID: PMC6663121.
11. van Baaren GJ, Vis JY, Wilms FF, Oudijk MA, Kwee A, Porath MM, Oei G, Scheepers HCJ, Spaanderman MEA, Bloemenkamp KWM, Haak MC, Bolte AC, Bax CJ, Cornette JMJ, Duvekot JJ, Nij Bijvanck BWA, van Eyck J, Franssen MTM, Sollie KM, Vandenbussche FPHA, Woiski M, Grobman WA, van der Post JAM, Bossuyt PMM, Opmeer BC, Mol BWJ. Predictive value of cervical length measurement and fibronectin testing in threatened preterm labor. Obstet Gynecol. 2014 Jun;123(6):1185-1192. doi: 10.1097/AOG.0000000000000229. PMID: 24807328.
12. Schmitz T, Maillard F, Bessard-Bacquaert S, Kayem G, Fulla Y, Cabrol D, Goffinet F. Selective use of fetal fibronectin detection after cervical length measurement to predict spontaneous preterm delivery in women with preterm labor. Am J Obstet Gynecol. 2006 Jan;194(1):138-43. doi: 10.1016/j.ajog.2005.05.074. PMID: 16389023.
13. Moise KJ Jr, Huhta JC, Sharif DS, Ou CN, Kirshon B, Wasserstrum N, Cano L. Indomethacin in the treatment of premature labor. Effects on the fetal ductus arteriosus. N Engl J Med. 1988 Aug 11;319(6):327-31. doi: 10.1056/NEJM198808113190602. PMID: 3393194.
14. Rasanen J, Debbs RH, Wood DC, Weiner S, Weil SR, Huhta JC. Human fetal right ventricular ejection force under abnormal loading conditions during the second half of pregnancy. Ultrasound Obstet Gynecol. 1997 Nov;10(5):325-32. doi: 10.1046/j.1469-0705.1997.10050325.x. PMID: 9444046.

15. Hendricks SK, Smith JR, Moore DE, Brown ZA. Oligohydramnios associated with prostaglandin synthetase inhibitors in preterm labour. Br J Obstet Gynaecol. 1990 Apr;97(4):312-6. doi: 10.1111/j.1471-0528.1990.tb01807.x. PMID: 2340255.
16. Nicolaides NC, Chrousos G, Kino T. Glucocorticoid Receptor. [Updated 2020 Nov 21]. In: Feingold KR, Ahmed SF, Anawalt B, et al., editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279171/
17. Christoph M. Bamberger, Heinrich M. Schulte, George P. Chrousos, Molecular Determinants of Glucocorticoid Receptor Function and Tissue Sensitivity to Glucocorticoids, *Endocrine Reviews*, Volume 17, Issue 3, 1 June 1996, Pages 245–261, https://doi.org/10.1210/edrv-17-3-245
18. Kino T, Su YA, Chrousos GP. Human glucocorticoid receptor isoform beta: recent understanding of its potential implications in physiology and pathophysiology. *Cell Mol Life Sci*. 2009;66(21):3435-3448. doi:10.1007/s00018-009-0098-z
19. Timmermans S, Souffriau J, Libert C. A General Introduction to Glucocorticoid Biology. *Front Immunol*. 2019;10:1545. Published 2019 Jul 4. doi:10.3389/fimmu.2019.01545
20. Garbrecht MR, Schmidt TJ, Krozowski ZS, Snyder JM. 11Beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 and the regulation of surfactant protein A by dexamethasone metabolites. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2006;290(4):E653-E660. doi:10.1152/ajpendo.00396.2005
21. Sofie Vandevyver, Lien Dejager, Jan Tuckermann, Claude Libert, New Insights into the Anti-inflammatory Mechanisms of Glucocorticoids: An Emerging Role for Glucocorticoid-Receptor-Mediated Transactivation, *Endocrinology*, Volume 154, Issue 3, 1 March 2013, Pages 993–1007, https://doi.org/10.1210/en.2012-2045
22. Yadav S, Lee B. Neonatal Respiratory Distress Syndrome. [Updated 2023 Jul 25]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560779/
23. Deterding RR, Shimizu H, Fisher JH, Shannon JM. Regulation of surfactant protein D expression by glucocorticoids in vitro and in vivo. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1994;10(1):30-37. doi:10.1165/ajrcmb.10.1.8292379
24. Newnham, J. P., Evans, S. F., Godfrey, M., Huang, W., Ikegami, M., & Jobe, A. H. (1999). Maternal, but not fetal, administration of corticosteroids restricts fetal growth. *Journal of Maternal-Fetal Medicine*, *8*(2), 81–87. https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6661(199903/04)8:2<81::AID-MFM5>3.0.CO;2-U
25. Bridges, J. P., Sudha, P., Lipps, D., Wagner, A., Guo, M., Du, Y., Brown, K., Filuta, A., Kitzmiller, J., Stockman, C., Chen, X., Weirauch, M. T., Jobe, A. H., Whitsett, J. A., & Xu, Y. (2020). Glucocorticoid regulates mesenchymal cell differentiation required for perinatal lung morphogenesis and function. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology*, *319*(2), L239–L255. https://doi.org/10.1152/ajplung.00459.2019
26. Amratia, D. A., Viola, H., & Ioachimescu, O. C. (2022). Glucocorticoid therapy in respiratory illness: bench to bedside. *Journal of investigative medicine : the official publication of the American Federation for Clinical Research*, *70*(8), 1662–1680. https://doi.org/10.1136/jim-2021-002161
27. Katzberg, H., Malhotra, S. & Venkatesh, V. Steroid Effects on Renal Epithelial Sodium Channel Gene Expression † 276. *Pediatr Res* **43** (Suppl 4), 50 (1998). https://doi.org/10.1203/00006450-199804001-00297
28. Stoenoiu, M. S., Ni, J., Verkaeren, C., Debaix, H., Jonas, J. C., Lameire, N., Verbavatz, J. M., & Devuyst, O. (2003). Corticosteroids induce expression of aquaporin-1 and increase transcellular water transport in rat peritoneum. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, *14*(3), 555–565. https://doi.org/10.1097/01.asn.0000053420.37216.9e
29. Kemp, M. W., Saito, M., Usuda, H., Molloy, T. J., Miura, Y., Sato, S., Watanabe, S., Clarke, M., Fossler, M., Scmidt, A., Kallapur, S. G., Kramer, B. W., Newnham, J. P., & Jobe, A. H. (2016). Maternofetal pharmacokinetics and fetal lung responses in chronically catheterized sheep receiving constant, low-dose infusions of betamethasone phosphate. *American journal of obstetrics and gynecology*, *215*(6), 775.e1–775.e12. https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.08.017
30. Jobe, A.H., Kemp, M., Schmidt, A. *et al.* Antenatal corticosteroids: a reappraisal of the drug formulation and dose. *Pediatr Res* **89**, 318–325 (2021). https://doi.org/10.1038/s41390-020-01249-w
31. Ninan K, Liyanage SK, Murphy KE, Asztalos EV, McDonald SD. Evaluation of Long-term Outcomes Associated With Preterm Exposure to Antenatal Corticosteroids: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Pediatr*. 2022;176(6):e220483. doi:10.1001/jamapediatrics.2022.0483

32. Rehman S, Bacha D. Embryology, Pulmonary. [Updated 2023 Aug 14]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544372/
33. Schittny JC. Development of the lung. Cell Tissue Res. 2017 Mar;367(3):427-444.
34. Laudy, J.A.M. and Wladimiroff, J.W. (2000), The fetal lung 1: developmental aspects. Ultrasound Obstet Gynecol, 16: 284-290. https://doi.org/10.1046/j.1469-0705.2000.00228.x
35. Conway, R. F., Frum, T., Conchola, A. S., & Spence, J. R. (2020). Understanding Human Lung Development through In Vitro Model Systems. *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*, *42*(6), e2000006. https://doi.org/10.1002/bies.202000006
36. Roth-Kleiner, M., Berger, T.M., Tarek, M.R., Burri, P.H. and Schittny, J.C. (2005), Neonatal dexamethasone induces premature microvascular maturation of the alveolar capillary network. Dev. Dyn., 233: 1261-1271. https://doi.org/10.1002/dvdy.20447
37. WHO. WHO Recommendations on Interventions to Improve Preterm Birth Outcomes. WHO Publication, Geneva , 2015.
38. Räikkönen K, Gissler M, Kajantie E. Associations Between Maternal Antenatal Corticosteroid Treatment and Mental and Behavioral Disorders in Children. *JAMA.* 2020;323(19):1924–1933. doi:10.1001/jama.2020.3937
39. Tijsseling, D., Wijnberger, L. D. E., Derks, J. B., van Velthoven, C. T. J., de Vries, W. B., van Bel, F., & Groenendaal, F. (2012). Effects of antenatal glucocorticoid therapy on hippocampal histology of preterm infants. *PLOS ONE*, *7*(3), e33369. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033369
40. Kelly, B. A., Lewandowski, A. J., Worton, S. A., Davis, E. F., Lazdam, M., Francis, J., Neubauer, S., Lucas, A., Singhal, A., & Leeson, P. (2012). Antenatal glucocorticoid exposure and long-term alterations in aortic function and glucose metabolism. *Pediatrics*, *129*(5), e1282–e1290. https://doi.org/10.1542/peds.2011-3175
41. Ni, L., Pan, Y., Tang, C., Xiong, W., Wu, X., & Zou, C. (2018). Antenatal exposure to betamethasone induces placental 11β-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression and the adult metabolic disorders in mice. *PloS one*, *13*(9), e0203802. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203802
42. Ho, F. C., Chung, H. W., Yu, C. H., Huang, C. Y., & Liang, F. W. (2025). Timing of antenatal corticosteroid exposure and its association with childhood mental disorders in early- and full-term births: A population-based cohort study. *European journal of pediatrics*, *184*(2), 181. https://doi.org/10.1007/s00431-025-05994-0
43. Borges, C. D., Dias, A. F., Silva, P. V., Rosa, J. L., Guerra, M. T., Silva, R. F., Kiguti, L. R., Pupo, A. S., & Kempinas, W. G. (2017). Long-term adverse effects on reproductive function in male rats exposed prenatally to the glucocorticoid betamethasone. *Toxicology*, *376*, 15–22. https://doi.org/10.1016/j.tox.2016.04.005
44. Borges, C. S., Pacheco, T. L., Guerra, M. T., Barros, A. L., Silva, P. V., Missassi, G., da Silva, K. P., Anselmo-Franci, J. A., Pupo, A. S., & Kempinas, W. G. (2017). Reproductive disorders in female rats after prenatal exposure to betamethasone. *Journal of applied toxicology: JAT*, *37*(9), 1065–1072. https://doi.org/10.1002/jat.3457