

**METRONİDAZOL'UN ERKEN DÖNEM
CİVCİV EMBRİYOLARINDA
NÖRAL TÜP GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Emrah ERYILMAZ
Yüksek Lisans Tezi
Danışman: Prof. Dr. İsmail TÜRKMENOĞLU
Nisan, 2024

Tez No:2024-017
Afyonkarahisar

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

METRONİDAZOL'UN ERKEN DÖNEM CİVCİV EMBRİYOLARINDA
NÖRAL TÜP GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Hazırlayan
Emrah ERYILMAZ

Tez Danışmanı:
Prof. Dr. İsmail TÜRKMENOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez No:2024-017

AFYONKARAHİSAR/2024

Bu tez çalışması; Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAPK) Tarafından Desteklenmiştir. Proje No: "23.SAĞ.BİL.08"

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

ENSTİTÜ ONAYI

Öğrencinin	Adı- Soyadı	Emrah ERYILMAZ
	Numarası	223311101
	Anabilim Dalı	Veteriner Anatomi
	Programı	Tezli Yüksek Lisans
	Program Düzeyi	<input checked="" type="checkbox"/> Yüksek Lisans <input type="checkbox"/> Doktora
Tezin Başlığı	Metronidazol ‘un Erken Dönem Cıvciv Embriyolarında Nöral Tüp Gelişimi Üzerine Etkisi	
Tez Savunma Sınav Tarihi	19.04.2024	
Tez Savunma Sınav Saati	11.00	

Yukarıda bilgileri verilen öğrenciye ait tez, Afyon Kocatepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek oy birliği / oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... / /tarih ve
.....sayılı kararıyla onaylanmıştır.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Esmâ KOZAN
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilimsel Yayın Etiği İlkeleri ve Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Afyon Kocatepe Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

16/05/2024

İmza

Emrah ERYILMAZ

ÖZET

METRONİDAZOL'UN ERKEN DÖNEM CİVCİV EMBRİYOLARINDA NÖRAL TÜP GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Nöral tüp defekti, konjenital kalp hastalıklarından sonra en sık görülen ikinci doğumsal anomali çeşididir. Kesin neden net olarak bilinmemesine rağmen çevresel ve genetik faktörlerin etkisi olduğu görülmüştür. Metronidazol antibiyotik olarak kullanılmasıyla beraber merkezi sinir sistemine ve çevresel sinir sistemine etkisi olan bir ilaçtır. Bu çalışmanın amacı memelilerde ilk ay gelişimiyle benzerlik gösteren civciv embriyo modelinde farklı metronidazol dozlarının nöral tüp gelişimine etkilerini araştırmaktır. Bu çalışmada 60 ± 5 gr. arasında olan 100 adet, beyaz, fertil ve 0 günlük SPF (specificpatogenfree) yumurtalar kullanıldı. Uygun ısı ve nem koşulları sağlanan bu yumurtalar 24 ila 28 saat inkübe edildikten sonra kontrol grubu dahil dört gruba ayrıldı. Metronidazol subblastodermik olarak Hamilton mikro enjektörü yardımıyla farklı dozlarda uygulandı.

Tekrar inkübasyona alınan yumurtalar 48. saatin sonunda açıldı, makroskopik ve mikroskopik olarak değerlendirildi. Farklı dozlarda metronidazol enjeksiyonunun nöral tüp gelişimi üzerindeki etkileri araştırıldı ve elde edilen bulgular analiz edildi. Kontrol grubunda 22 embriyo incelenirken, düşük doz, orta doz ve yüksek doz grubunda sırasıyla 24,23,24 embriyo incelendi. Embriyoların morfolojik özellikleri, nöral tüpün açık ya da kapalı olması, baş-kıç uzunlukları, embriyolojik gelişimler ve somit sayıları ışık mikroskobu ve stereo mikroskop altında incelenerek ele alındı. Elde edilen veriler istatistiksel analizlerle tablolar halinde sunuldu.

Kontrol grubundaki 18 embriyodan (%72) nöral tüpün kapalı olduğu, 4 embriyodan (%16) nöral tüpün açık olduğu ve 3 embriyoda (%12) gelişim geriliği tespit edildi. Düşük doz metronidazol enjekte edilen grupta, 16 embriyodan (%64) nöral tüpün kapalı olduğu, 8 embriyodan (%32) nöral tüpün açık olduğu ve 1 embriyoda (%4) gelişim geriliği gözlemlendi. Orta doz metronidazol enjekte edilen grupta ise, 16 embriyodan (%64) nöral tüpün kapalı olduğu, 7 embriyodan (%28) nöral tüpün açık olduğu ve 2 embriyodan (%8) gelişim geriliği saptandı. Yüksek doz metronidazol enjekte edilen grupta ise, 14 embriyodan (%56) nöral tüpün kapalı olduğu, 9 embriyodan (%36) nöral tüpün açık olduğu ve 2 embriyodan (%8) gelişim geriliği görüldü. Bu bulgular, metronidazol dozunun artmasıyla nöral tüp kapanmasını etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Kontrol grubunda, baş-kıç uzunluğunun ortalama değeri $6,28 \pm 0,28$ mm olarak ölçüldü ve somit sayısı ortalama olarak $18,20 \pm 0,73$ olarak belirlendi. Ayrıca, embriyoların Hamburger Hamilton skalasına göre 11 ile 13. evre aralığında olduğu tespit edildi.

İkinci olarak incelenen düşük doz grup için, baş-kıç uzunluğu ortalama olarak $6,98 \pm 0,14$ mm, somit sayısı ise ortalama olarak $20,40 \pm 0,61$ olarak ölçüldü. Embriyoların Hamburger Hamilton skalasına göre 11-12. evrede bulunduğu belirlendi.

Üçüncü olarak incelenen orta doz grup için, baş-kıç uzunluğu ortalama olarak $6,46 \pm 0,09$ mm, somit sayısı ise ortalama olarak $19,40 \pm 0,66$ olarak bulundu. Embriyoların Hamburger Hamilton skalasına göre 11-12. evre aralığında olduğu gözlemlendi.

Dördüncü olarak incelenen yüksek doz grubu için, baş-kıç uzunluğu ortalama olarak $6,35 \pm 0,23$ mm, somit sayısı ise ortalama olarak $17,81 \pm 0,68$ olarak belirlendi. Embriyonun Hamburger Hamilton skalasına göre 11-12. evre aralığında olduğu saptandı. Verilere göre, deney grupları ile kontrol grubu arasında somit sayısı ve baş-kıç uzunlukları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

Bu sonuçlar, metronidazol 'ün belirtilen dozlarda embriyo gelişimi veya somit sayısı üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Cıvciv Embriyo Modeli, Nöral Tüp, Santral Sinir Sistemi, Metronidazol

SUMMARY

EFFECT OF METRONIDAZOLE ON NEURAL TUBE DEVELOPMENT IN EARLY CHICK EMBRYOS

Neural tube defect is the second most common type of congenital anomaly after congenital heart diseases. Although the exact cause is not clearly known, environmental and genetic factors have been shown to have an impact. Metronidazole is a drug that is used as an antibiotics and has effects on the central nervous system and peripheral nervous system. The aim of this study is to investigate the effects of different doses of metronidazole on neural tube development in a chick embryo model, which is similar to first month development in mammals. In this study, 60 ± 5 gr. 100 white, fertile and 0-day-old SPF (specific pathogen free) eggs were used. These eggs, provided with appropriate temperature and humidity conditions, were incubated for 24 to 28 hours and then divided into four groups, including the control group. Metronidazole was administered subblastodermically at different doses with the help of a Hamilton microinjector.

The eggs, which were incubated again, were opened at the end of the 48th hour and evaluated macroscopically and microscopically. The effects of different doses of metronidazole injection on neural tube development were investigated and the findings were analyzed. While 22 embryos were examined in the control group, 24, 23, 24 embryos were examined in the low dose, medium dose and high dose groups, respectively. The morphological characteristics of the embryos, whether the neural tube was open or closed, fore-aft lengths, embryological developments and somite numbers were examined under a light microscope and a stereo microscope. The data obtained were presented in tables with statistical analysis.

It was determined that the neural tube was closed in 18 embryos (72%) in the control group, the neural tube was open in 4 embryos (16%), and developmental delay was detected in 3 embryos (12%). In the group injected with low dose metronidazole, the neural tube was observed to be closed in 16 embryos (64%), the neural tube was open in 8 embryos (32%), and developmental delay was observed in 1 embryo (4%). In the group injected with medium dose metronidazole, the neural tube was found to be closed in 16 embryos (64%), the neural tube was open in 7 embryos (28%), and developmental delay was detected in 2 embryos (8%). In the group injected with high doses of metronidazole, the neural tube was observed to be closed in 14 embryos (56%), the neural tube was open in 9 embryos (36%), and developmental delay was observed in 2 embryos (8%). These findings suggest that increasing metronidazole dosage may affect neural tube closure.

In the control group, the average value of fore-aft length was measured as 6.28 ± 0.28 mm and the average number of somites was determined as 18.20 ± 0.73 . In addition, it was determined that the embryos were between stages 11 and 13 according to the Hamburger Hamilton scale.

Secondly, for the low dose group examined, the fore-and-aft length was measured as 6.98 ± 0.14 mm on average, and the number of somites was measured as 20.40 ± 0.61 on average. The embryos are 11-12 on the Hamburger Hamilton scale. It was determined that it was in the phase

Thirdly, for the medium dose group examined, the average fore-and-aft length was found to be 6.46 ± 0.09 mm, and the average number of somites was 19.40 ± 0.66 . The embryos are 11-12 on the Hamburger Hamilton scale. It was observed that it was in the range of stages.

Fourthly, for the high dose group examined, the average fore-aft length was determined as 6.35 ± 0.23 mm, and the average number of somites was 17.81 ± 0.68 . The embryo is 11-12 on the Hamburger Hamilton scale. It was found to be in the stage range. According to the data, there was no statistically significant difference between the experimental groups and the control group in terms of somite number and fore-aft lengths ($p > 0.05$). These results showed that metronidazole had no effect on embryo development or somite number at the indicated doses.

Keywords: Chick Embryo Model, Neural Tube, Central Nervous System, Metronidazole

ÖNSÖZ

Tez çalışması ile ilgili yardımları, bilimselliği, etik değerleri ve insanlığı için saygı değer hocam sayın Prof. Dr. İsmail TÜRKMENOĞLU'na, Doç.Dr. Mehmet Aydın AKALAN'a, ilaç solüsyonu embriyo açılması ilaç verilmesi ve deney çalışmalarına katkı ve destekleri için Doç. Dr. Abdülkadir BİLİR ve Doç .Dr. Emre ATAY hocama, araştırmayı mali yönden destekleyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyonu Başkanlığına, Değerli arkadaşım Havva AÇAR KAYA hocama, ikizim Ergün ERYILMAZ ve bu dönemde beni destekleriyle onurlandıran sevgili kızım, oğlum ve eşime teşekkür ederim.

Emrah ERYILMAZ

Afyonkarahisar

2024

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZET	I
SUMMARY	III
ÖNSÖZ SAYFASI	V
İÇİNDEKİLER	VI
KISALTMALAR	VIII
ÇİZELGELER	IX
ŞEKİL LİSTESİ	X
RESİM LİSTESİ	XI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. NÖRAL TÜP DEFEKTİ	2
2.2. NÖRAL TÜPÜN EVRİMİ	3
2.2.1. EMBRİYOLOJİK GELİŞİM	3
2.2.2. EMBRİYONİK DİSKİN OLUŞUMU	3
2.2.3. NÖRÜLASYON	5
2.2.4. KANALİZASYON	5
2.3. NÖRAL TÜP DEFEKTLERİNİN ETİYOLOJİSİ	7
2.3.1. GENETİK FAKTÖRLER	7
2.3.2. ÇEVRESEL FAKTÖRLER	7
2.3.2.1. Coğrafi Faktörler	7
2.3.2.2. Teratojen Faktörler	8
2.4. NÖRAL TÜP DEFEKTLERİNİN KLİNİK TİPLERİ	9
2.4.1. ANENSEFALİ/AKRANI	9
2.4.2. ENSEFALOSEL	10
2.4.3. İNİENSEFALİ	11
2.4.4. MENİNGOSEL	12
2.4.5. MENİNGOMYELOSEL	13
2.4.6. SPİNA BİFİDA OKKULTA	14
2.4.7. NÖROENTERİK KİST	15
2.4.8. LİPOMENİNGOMYELOSEL	15
2.5. TAVUK EMBRİYONİK GELİŞİMİ	15
2.6. METRONİDAZOL	19
3. MATERYAL ve METOT	20
3.1. DENEY GRUPLARININ OLUŞTURULMASI	20
3.1.1. EMBRİYOLARIN ELDE EDİLMESİ	21
3.1.2. DENEY SIRASINDA KULLANILAN KİMYASALLAR	22

4.GEREÇ ve YÖNTEM	22
4.1. DENEY HAYVANI	22
4.1.1. Laboratuvar Koşulları	22
4.1.2. İnkübatör	22
4.2.YÖNTEM	23
4.2.1. Pencere Açma Tekniği	23
4.3. EMBRİYOLARIN MAKROSKOBİK VE MİKROSKOBİK İNCELENMESİ	24
5. BULGULAR	26
5.1.VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ	27
6. TARTIŞMA	28
7. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	32
8. KAYNAKLAR	

KISALTMALAR

FDA: ABD Gıda ve İlaç Dairesi

HE: Hematoksilen – eozin

IM: İntramuskuler

NTD: Nöral Tüp Defekti

SPF: Özel patojen bulunmayan (specificpatogenfree)

SSS: Santral Sinir Sistemi

MSS: Merkezi sinir sistemi

µG: Mikrogram

ML: Mililitre

MG: Miligram

KG: Kilogram

MM: Milimetre

ÇİZELGELER

SAYFA

Çizelge 1.1.Nöral Tüp Kapanma Defektler	2
Çizelge 3.2. Deney grupları ve uygulanan ilaçların dozları	20
Çizelge 5.1. Kontrol ve farklı doz gruplar için nöral tüpün açık veya kapalı olma durumu	25
Çizelge 5.2: Kontrol ve farklı doz seviyelerine göre somit âdeti ve baş-kıç ölçümleri	26

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. İnsanda embriyonik gelişim. Fertilizasyonun ilk 3 haftasında Zigottan nörolasyona kadar uzanan gelişimi ve oluşan her 3 germ yaprağını göstermektedir.	4
Şekil 2.2. a. Yarıklanma, b. Gastrulasyon, c. Erken organogenezis	5
Şekil 2.3.Nöral tüp oluşumu	6
Şekil 2.4.Nöral tüp oluşumununun elektron mikroskop ile görüntüsü	6
Şekil 2.5. Embriyonik Gelişim aşamaları	16

Resim 2.1.Nöral Tüp Kapanma Defektleri	9
Resim 2.2.Anensefali	10
Resim 2.3.Oksipital ensefalosel görünümü	11
Resim 2.4.Meningosel, miyelomeningosel, spinabifida occulta görünümü	14
Resim 2.5. Tavuk embriyo gelişiminin birinci dönemi	17
Resim 2.6. Tavuk embriyo gelişiminin dönemi	17
Resim 2.7 Hamburger ve Hamilton civciv embriyo gelişim evreleri	18
Resim 4.8. Başlıca kullanılan malzemeler	22
Resim 4.9. Kullanmış olduğumuz inkübatör makinesi.	23
Resim 4.10.Pencere açma tekniği ile kabuk kaldırıldıktan sonra embriyonerdisk.	23
Resim 4.11.Mikroşırınga yardımı ile blastoderm altına enjeksiyon işlemi.	23
Resim 4.12. Pencere açma işleminden sonra yumurtaların drape ile kapatılması.	24
Resim 4.13.İşık mikroskobuna alınan ve 40X büyütmede incelen embriyolar	24
Resim 4.14. Hamburger Hamilton evrelemesine göre Evre 11-13 arası embriyolar	27

GİRİŞ VE AMAÇ

Nöral tüp gelişiminde, hem genetik yatkınlık hem de çevresel etmenler önemli bir rol oynar. Nöral tüp defekti (NTD) yaklaşık olarak her 10.000 gebelikten altısında görülür. En sık karşılaşılan NTD tipleri arasında anensefali ve spina bifida bulunmaktadır. Yenidoğanlarda doğumsal defektler %3-5 oranında gözlemlenirken, NTD'ler doğumla ilgili defektlere bağlı yenidoğan ölümlerinin %7'sini oluşturur (Cragan vd., 1995). Nöral Tüp Defekti, embriyonik gelişimin erken aşamalarında nöral tüpün kapanma sürecinde ortaya çıkan santral sinir sistemi anormalliklerini içeren bir grup doğumsal hastalıktır (Fuchs, 1997). Embriyonun gelişimini etkileyen faktörler sonucunda nöral tüpün çeşitli bölgelerinde kapanma eksikliği meydana gelir. Kapanma sürecindeki aksaklıkların zamanlaması ve şiddeti, kranial ve kaudal uçlarda defektlerin ortaya çıkmasına neden olabilir. Örneğin, 23 ila 26. gün arasındaki hasarlar genellikle kranial nöroporu etkiler ve anensefali gibi durumlara yol açar; ancak 26. gün sonrasındaki hasarlar genellikle kaudal nöroporu etkiler ve sonuç olarak meningo-myelosele gibi durumlarla ilişkilendirilir (French, 1990).

Metronidazol (FLAGYL® % 0.5 enjeksiyonluk çözelti (hidroksietil, metil, nitroimidazol) antibiyotik grubuna ait bir ilaçtır. Hayvanlarda ve insanlarda anaerobik bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonları iyileştirmek için tercih edilir (Baggot vd.1998). Vücudun enfeksiyona neden olan bakteri ve parazitlerin yaşamını sonlandırır. Protozoaya karşı aktiftir. Proteinlerin nitro gruplarını bloke eder ve protozoa hücrelerinde okside edici restorasyon dengesini tahrip eder bu da toksik ürünlerin birikmesine neden olur. Protozoanın DNA'sı ile reaksiyona girer ve ölümlerine neden olur, iyi ve hızlı bir şekilde emilir ve kanda birikir. Ağırıklı olarak idrar yoluyla kısmen atılır. Metronidazolün en önemli yan etkisi sinir sistemi ile alakalı olan etkileridir. Santral sinir sistemine olan toksik etkileri ve periferik nöropati yan etkisi de vardır. Bu etkiler tedavi süresinin uzunluğu, ilacın yüksek doz kullanımı ya da ikisinin aynı anda varlığı söz konusu olduğunda rastlanır (Coxon ve Pallis, 1976; Duffy vd., 1985; Frey ve Hauser, 2003).

Farklı ajanların nöral tüp defektlerine olan etkileri çeşitli çalışmalarla incelenmiştir. Ancak, Metronidazol 'ün nöral tüp gelişimine olan etkileri hakkında özel olarak tavuk embriyolarında yapılmış spesifik bir araştırmaya rastlamadık. Bu çalışmada, Metronidazol

'ün civciv embriyolarında nöral tüp üzerindeki etkilerini histopatolojik olarak inceleyerek farklı dozlardaki Metronidazol 'un nöral tüp gelişimine etkilerini araştırmayı hedefledik.

2. GENEL BİLGİLER

Nöral Tüp Defekti

Embriyogenezin erken aşamalarında normal olarak kapanması gereken nöral tüpün kapanma eksiklikleri sonucunda ortaya çıkan, santral sinir sistemi (SSS) anomalilerini içeren doğuştan gelen bir hastalık grubudur (Fuchs, 1997). Nöral tüp defektleri bazen ölümcül seyredebilirken, genellikle kalıcı kusurlara yol açabilen doğuştan gelen bozukluklardır.

NTD'ler, bazen ölümcül olabilen, bazı durumlarda ise kalıcı deformitelere yol açabilen doğumsal anomalilerdir (Duffy vd., 1985). Canlı doğumların %1'inde santral sinir sisteminin (SSS) doğumsal anomalileri gözlemlenir, bu anomalilerin çoğu, vücudun arka-orta hattında nöral tüpün kapanma veya gelişimindeki bozukluklar sonucunda meydana gelir (Fuchs, 1997; French, 1990). Nöral tüp, gebeliğin ilk dört haftasında omurilik ve beyin gelişimini başlatır. Nöral tüplerin tam olarak oluşmamasının nedeni henüz kesin şekilde bilinmese bile, genetik ve çevresel faktörlerin bir arada etkili olduğu düşünülen durumlar vardır (Grossman ve Loftus, 1999). NTD olarak adlandırılan malformasyonlar arasında anensefali, ensefalosel, spina bifida okkulta, meningosel ve meningomyelosel bulunmaktadır.

1.Nöral Tüp Kapanma Defektleri

- Anensefali
- Ensefalosel
- Spina bifida okkulta: Nöroenterik kist, Lumbosakral lipom, Spinal
- Meningosel
- Myelomeningosel

Çizelge 1.1. Nöral Tüp Kapanma Defektleri

2.2. Nöral Tüpün Evrimi

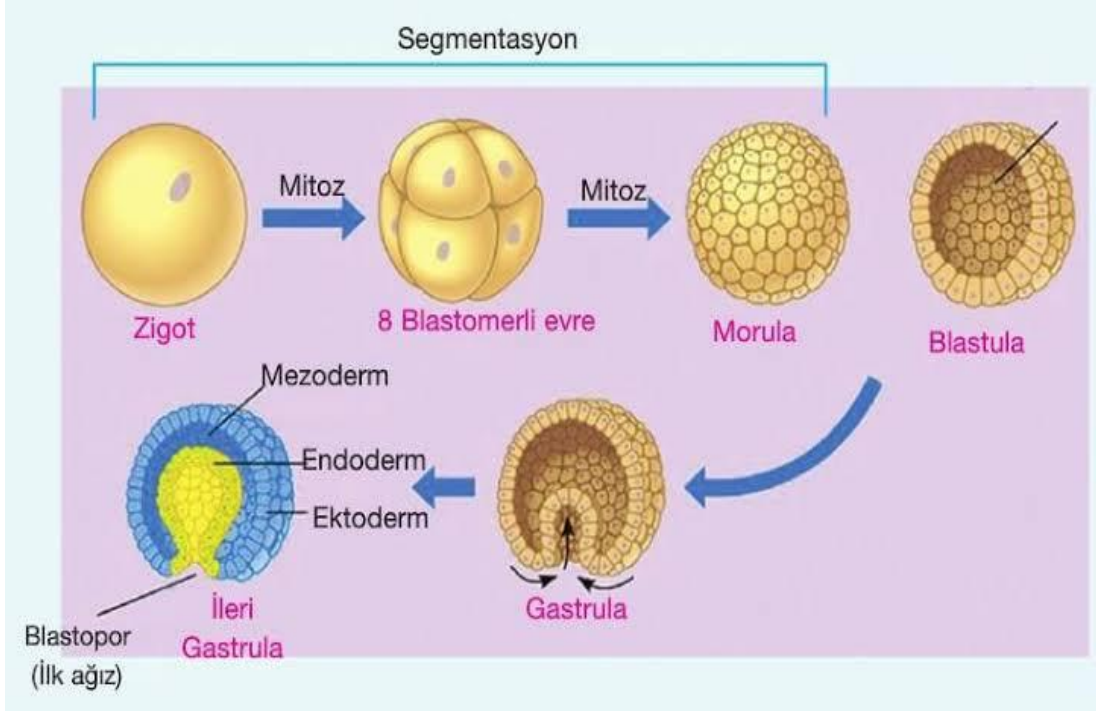
2.2.1. Embriyolojik gelişim

Doğum sonrası süreç ve fetal dönemden oluşur.

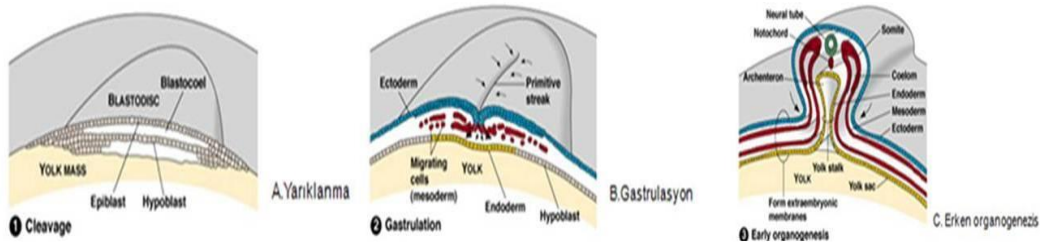
2.2.2. Embriyonik diskin oluşumu

Fertilizasyonu takiben oluşan zigot hızla bölünmeye başlar. Bu mitotik bölünmelerden sonra zigot, dış ve iç tabakalardan oluşan blastomer adı verilen hücre topu halini alır. Embriyo yeniden bölünerek “morula (dut)” denilen 16 hücreli yapıya ulaşır (Sadler, 1996). Fertilizasyondan 3 veya 4 gün sonra, morula adı verilen hücre topluluğu uterus boşluğuna ilerlerken içinde bir boşluk oluşur. Boşluğa sıvı dolmasıyla birlikte embriyo blastokist adını alırken, içinde oluşan boşluk blastosel olarak adlandırılır. Embriyonun üçüncü haftasında ise en önemli gelişmelerden biri olan gastrulasyon gerçekleşir (**Şekil 2.1.**). Embriyonun 14. gününde, farklılaşma süreci başlayarak oval ve düz bir disk oluşur. Gastrulasyon, embriyonik diskin kaudal ucunda primitif çizginin oluşmasıyla ilk adımı atar ve oluğun sefalik ucunda primitif nod ortaya çıkar. Primitif çizginin sefalik ucu genişleyerek primitif düğümü oluşturur. Bu andaki embriyonik diskin dış tarafında ektoderm, iç tarafında ise endoderm tabakası bulunur (Larsen, 1997; Persaud, 2002; Schoenwolf ve Smith, 1990). Primitif çizginin oluşmasıyla birlikte hücreler, iç kısımlara doğru hareket gerçekleştirerek, endoderm ile ektoderm arasında bulunan paraaksiyel intraembriyonik mezodermi oluştururlar (Sadler, 2005). Sefalik bölgede büyük, kaudalde ise küçük ve yassı bir disk şeklinde olan ektodermal germ yaprağı, primitif nodundan köken alan yüzeyel hücrelerin sefalik yönde ilerlemesiyle, endoderm ve ektoderm arasında notokord oluşumunu başlatır (Schoenwolf ve Smith, 1990; Sadler, 2005). Böylece Notokord fertilizasyonun ortalama 17. gününde (3. haftanın başı) oluşmaya başlar (Padmanabhan, 2006). Notokordun ve prekordal mezodermin meydana çıkmasıyla bu yapıların üzerini kaplayan ektoderm kalınlaşır ve böylece nöral plak oluşur. Nöral tüp, santral sinir sisteminin geliştiği temel yapıdır (**Şekil 2.2.**). Gebeliğin 18. gününde, notokord alttaki endoderm tabakadan ayrılarak bir silindir halini alır. Bu süreçle birlikte gastrulasyon sonucunda üç germ yaprağı taşıyan embriyoda nöral tüp gelişimi başlar. Bu gelişim süreci, 28. günde tamamlanan "primer nörolasyon" ile başlar ve ardından 28 ile 40. gün arasında

gerçekleşen "kuyruk tomurcuğunun kanalizasyonu" veya "sekonder nörulasyon" ile devam eder. 40. günden sonra ise intrauterin ömür boyunca süren "regresyon veya dediferansiyon" aşaması başlar, böylece nöral tüp evrimi üç ayrı bölüme ayrılmış olur (Larsen, 1997). Gastrulasyon döneminden sonra nöral tüpün gelişimi, nörulasyon, kanalizasyon ve regresyon olmak şartıyla 3 aşamada incelenir.



Şekil 2.1. İnsanda Embriyonik gelişim. Fertilizasyonun ilk 3 haftasında, zigottan nörulasyona kadar uzanan gelişimi ve oluşan her 3 germ yaprağını göstermektedir.



Şekil 2.2. a. Yarıklanma, b. Gastrulasyon, c. Erken organogenezis

2.2.3. Nörulasyon

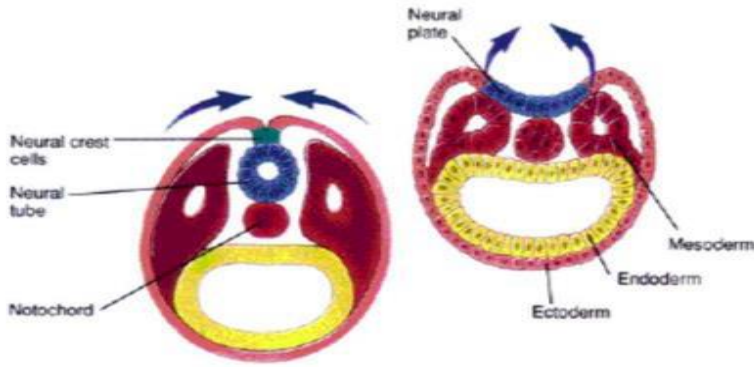
Bu dönem konjenital malformasyonların oluştuğu önemli bir dönemdir. Burada konjenital malformasyonların oluşmasında temel etkenlerden birisi bu dönemin fertilizasyonun 18-28. günlerine bir diğer ifadeyle menstrual siklusun son aşamasına tekabül etmesi nedeniyle gebelik oluşumunun farkına varılamamasıdır (Frey vd., 2003).

Üçüncü embriyolojik haftada, nöral tabakanın oluşmasını ektoderm kalınlaşarak tetikler. Nöral tabakanın bitişiğinde oluşan yükselteler, ortalarında uzanan çukurumsu oluğa sebep olur. Bu yükselteler nöral katlantı (neural fold) olarak adlandırılırken, ortadaki oluk ise nöral oluk (neural groove) olarak tanımlanır (**Şekil 2.3.**). Nöral plağın gelişimi sırasında aynı zamanda paraksiyal mezoderm büyür ve somit ismi verilen ikililer oluşur. 27.günden hemen sonra yaklaşık olarak 30 somit oluşur. Bu somitler, miyosöl ismi verilen kaviteleri oluşturur. Sonraki aşamalarda nöral plağın dış kısımları yükselerek nöral kıvrımları oluştururken, ortada nöral oluk bulunur (Rhoads ve Mills, 1986; Colas ve Schoenwolf, 2001; Detrait vd., 2005). Nöral kıvrımlar, servikal bölgeden başlayarak kranial ve kaudal kısımlara doğru kapanarak nöral tüpü oluşturur. Gebelikte 23-25. günlerde, ön ve arka bölümlerin kapanması tamamlanır ve yüzeyel ektoderm nöral tüpten koparak orta hatta bir araya gelir (de Bakker vd., 2017). Mezenkimal hücreler, nöral tüpten notokord ve cilt arasına geçerek meninksler, paraspinal kaslar ve vertebral yapılar oluşturur. Nöralasyon, spinal kordun L1-L2 seviyesine kadar olan bölümünü oluşturur ve nöroporların kapanmasıyla tamamlanır. Spinal kord, birkaç dilatasyon ve beyin keseciklerinin bulunduğu kapalı bir tübüler sinir sistemi, sefalik bölgede geniş ve kaudal bölgede dardır. Bu sırada embriyo yaklaşık 3 ila 5 mm boyundadır. Bu evredeki bozukluklar, bahsedilen sistemlerin anomalilerine yol açabilir (Duband vd., 1995; O’Rahilly ve Müller, 2007).

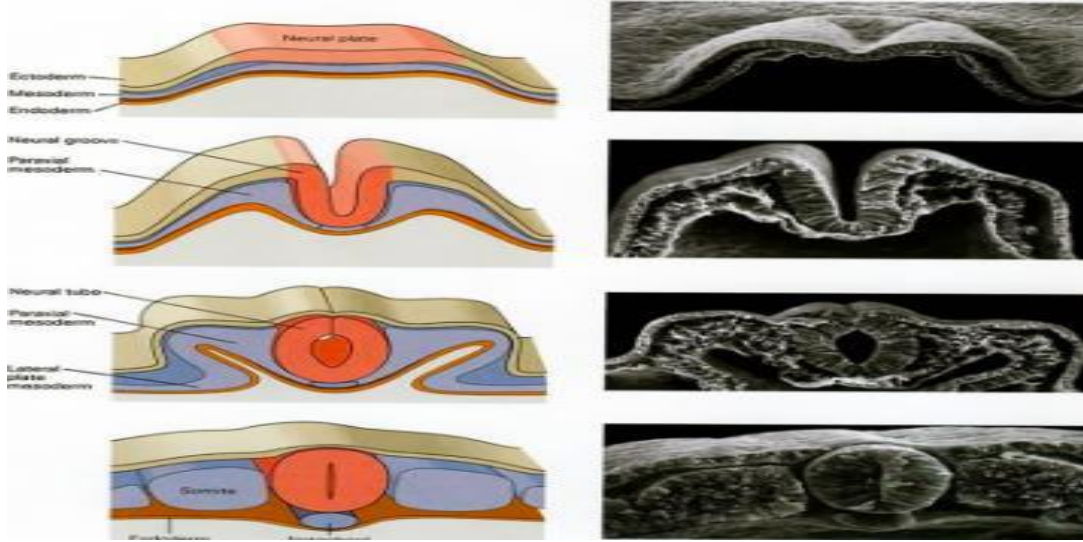
2.2.4. Kanalizasyon

Gestasyonun 28-40. günleri arasında bulunur. Bu dönemde, spinal kanalın kaudal kısmının oluşumu, nöral tüpün kapanma döneminin aksine sağlam ektoderm altında gerçekleşir (Fuchs, 1997; French, 1990). İntrauterin yaşamının 30. gününde, oluşan hücre grubunda vakuolizasyon yaşanır. Vakuollerin birleşmesiyle hücre grubunda tek bir kavite

oluşur, bu olaya "kanalizasyon" denir (Şekil 2.5.). 38. günde, bu hücre grubu ile nöral tüpün üst medulla spinalis seviyesinde birleşmesi ve füzyonu gerçekleşir (Persaud, 2002). Nöral tüp defektleri, embriyolojik yaşamın ilk dört haftasında nöral tüpün çeşitli kısımlarının yetersiz kapanması sonucunda ortaya çıkar. Kapanmanın zamanı ve derecesine göre hem kranial hem de kaudal uçlarda defektler meydana gelebilir. 24 ile 25. günlerde meydana gelen hasarlar genellikle kranial nöropor etkilenmesinden kaynaklanan anensefaliye yol açarken, 26. gün sonrasında ortaya çıkan hasarlar genellikle kaudal nöropor kapanmasını etkileyen meningomyelosel gibi durumlara neden olur (Ermış ve Erdoğan, 2001) (Şekil 2.4.).



Şekil 2.3. Nöral tüp oluşumu.



Şekil 2.4. Nöral tüp oluşumunun elektron mikroskop ile görüntüsü.

2.3. Nöral Tüp Defektlerinin Etiyolojisi

Tam anlamıyla açıklığa kavuşturulan bir etiyojisi bulunmamaktadır. NTD'nin gelişmesinde rol oynayan faktörler genetik ve çevresel kökenli faktörler olarak düşünülmektedir. Etiyojistik açıdan, NTD'ler genellikle iki kategoride ele alınmaktadır.

2.3.1. Genetik Faktörler

Tek gen mutasyonları ve kromozomal anomaliler önemli rol almaktadırlar. Nöral tüpün gelişiminde birçok genin etkili olduğu düşünülse de hücresel düzeyde etkinliği açıkça belirlenmiş olan gen sayısı oldukça azdır (Mitchell vd., 2004).

2.3.2. Çevresel Faktörler

NTD'nin ebeveynin coğrafi bölgeye göre farklı insidans göstermesi, sosyoekonomik durumuna, mevsimsel değişikliklere ve çevresel faktörlere bağlı olabilir. Nöral tüp gelişimi sırasında belirli kritik aşamalarda gen-çevre etkileşiminin rol oynadığı bilinmektedir. NTD'ye yönelik yapılan epidemiyolojik ve deneysel çalışmalarda, X-ışını, stres, hipertermi gibi fiziksel etmenlerin; thalidomide, folat antagonistleri, androjenik hormonlar, Ahipervitainozu, valproat ve karbamazepin gibi ilaçların; alkol ve diğer bağımlılıklarının; kurşun, civa gibi kimyasal maddelerin; sifiliz, rubella, sitomegalovirus, toksoplazma gibi maternal enfeksiyonların; diyabet, fenilketonüri ve kretinizm gibi maternal metabolik durumların merkezi sinir sisteminde doğuştan gelen bozukluklara yol açabileceği tespit edilmiştir

2.3.2.1 Coğrafi Faktörler:

NTD frekansı dünyanın çeşitli bölgelerine göre farklılık göstermektedir. Ülkemizde NTD'lerin sıklığı 3/1000 civarında olup dünya genelinin üstündedir. Ülkemizde coğrafi dağılıma göre en sık Doğu Anadolu (4.54/1000), ikinci olarak Kuzey Anadolu'da (4.32/1000) ve Doğu Anadolu'da (4.54/1000), en düşük olarak Batı Anadolu'da (2.17/1000) görülmektedir (Tunçbilek vd., 1999). Batı dünyasında en yüksek 11 prevalans 10/1000 oranına sahip İzlanda ve İskoçya'dır (Pitkin, 2007). Çin'in kuzey bölgelerinde

NTD güney bölgelerinden altı kat daha yüksektir (Frey vd., 2003). Kuzey İran'da yenidoğanlarda anensefali sıklığı Avrupa'daki yenidoğanlara göre daha yüksektir ve en sık görüldüğü mevsim kıştır (Golalipour vd., 2010). NTD sıklığı en düşük olarak bildiren ülke %0,58 ile İsveç'tir (Grossman ve Loftus, 1999).

2.3.2.2. Teratojen Faktörler:

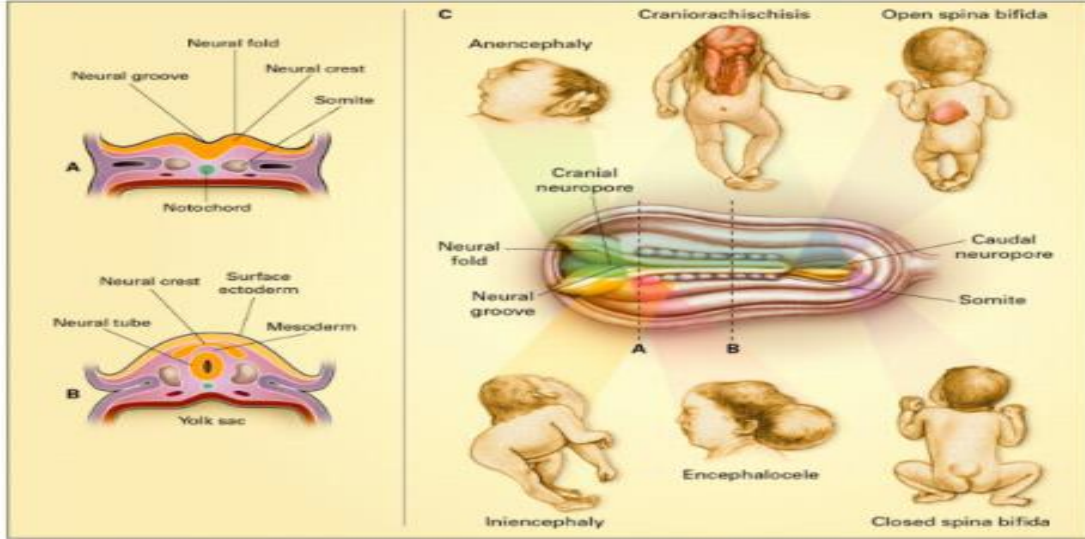
Gebeliğin erken aşamalarında, nöral tüpün henüz kapanmadan önce, fetusu etkileyen bazı kimyasal maddeler ve çevresel faktörler nöral tüp defektlerine (NTD) neden olabilir. Bu tür maddelerin ve etkenlerin başında anne adayının kullandığı ilaçlar gelir. Bazı araştırmalar, annenin hamilelik sürecinde kullandığı ilaçların folat seviyelerini olumsuz etkileyerek doğuştan gelen anomalilere, özellikle de NTD'ye yol açabileceğini ortaya koymuştur (Gammill vd., 2002; Mitchell vd., 2004; Berg vd., 2007).

Ayrıca, belirli meslek grupları da NTD riskini artırabilir. Özellikle hemşireler, içecek ve gıda üretimi çalışanları, çiftçiler, tekstil boyama ve deri endüstrisi çalışanları, tarım ilacı uygulayıcıları gibi meslek grupları, çeşitli kimyasallara maruz kalarak NTD riski altında olabilirler (Shaw vd., 2002; Munoz vd., 2005; Guirguis vd., 1990; Whorton vd., 1977). Bu kimyasallar arasında organik solventler, anestezi ajanları, sterilizan maddeler, virüsler, pestisitler, boyalar, x-ray ışınları ve anestezi gazları bulunmaktadır.

Özellikle pestisitler ve çözücü maddelerin yoğun olduğu iş ortamlarında çalışan kadınların bebeklerinde anensefali riski daha yüksektir. Bu, bu tür kimyasal maddelere maruz kalan gebelerin ve çalışan kadınların dikkatli olmaları gerektiğini vurgular (Shaw vd., 2002; Munoz vd., 2005; Guirguis vd., 1990; Whorton vd., 1977). Bu nedenle, hamilelik döneminde çevresel etkenlere ve kimyasal maddelere dikkat etmek, nöral tüp defektlerinin önlenmesinde önemli bir adımdır (Tinkle, 1997). Karbontetraklorid, trikloretilen ve benzenle kontamine içme sularına maruz kalmanın, NTD ve majör kardiyak defekt riskini artırdığı rapor edilmiştir (Padmanabhan, 2006). Ayrıca, solunan hava ve suya polivinil klorid ve atık çöp sahalarından kaynaklanan kirli maddelere maruz kalmanın olumsuz etkileri tespit edilmiştir (Padmanabhan, 2006; Vrijheid vd., 2002; Morris vd., 2003). Gebelik sırasında aşırı miktarda alınan vitaminler, büyüyen bebeğe zarar verebilir.

A vitamininin fazla kullanımının NTD riskini artırdığı bildirilmiştir. Yayınlanan veriler, aşırı A vitamini alımının kraniofasial, kardiyak, timik ve santral sinir sistemi gibi doğuştan gelen anomalileri artırabileceğini desteklemektedir (Rothman vd., 1993).

2.4. Nöral Tüp Defektlerinin Klinik Tipleri



Resim 2.1. Nöral Tüp Kapanma Defektleri

2.4.1. Anensefali/Akrani

Döllenmeden sonraki 23-26 günler arasında nöral tüpün başa yakın kısmındaki kapanma bozukluğu sonucunda ortaya çıkan anensefali, beyin, kafatası ve kafatası derisinin büyük bir kısmının eksik olduğu ciddi bir doğuştan anomalidir. Bu durum, nöral tüp defektlerinin en şiddetli formudur ve prognozu oldukça kötüdür. Genellikle doğan bebeklerin çoğu ilk birkaç gün içinde kaybedilir. Anensefali, defektif bir kafatası içinde serebrum ve serebellumun eksik olduğu bir durumu ifade eder. Bu hastalıkla doğan bebeklerin kız-erkek oranı 4:1 olarak bildirilmiştir.

Anensefaliye sahip bebeklerin ön beyni yoktur ve mevcut olan beyin dokusu kemik ve deriyle kaplı değildir. Bu bebekler genellikle kör, sağır ve bilinçsiz bir şekilde doğarlar. Ayrıca, sinir sistemi eksikliği nedeniyle acı hissetme yetenekleri olmayabilir. Anensefali, hem fiziksel hem de zihinsel açıdan büyük bir engel oluşturur ve etkilenen bebeklerin

yaşam kalitesi oldukça düşüktür. Bu durum, anne adaylarına ve sağlık uzmanlarına erken tanı ve müdahalenin önemini vurgular, ancak ne yazık ki anensefali genellikle hayatın ilk aşamalarında ölümlle sonuçlanır (Fenichel, 2005; Kadanalı, 1992; Neyzi ve Ertuğrul, 2002; Gökalp ve Erongun, 1988) (**Resim 2.2**).



Resim 2.2. Anensefali

2.4.2. Ensefalosel

Beyin ve beyin zarlarının kafatasındaki bir açıklıktan dışarı doğru fitiklaşmasıyla karakterize edilen ensefalosel, nöral tüp defektlerinin bir çeşididir. Bu durumun ciddiyeti, fitiklaşan kısmın büyüklüğüne ve lokalizasyonuna bağlı olarak değişir. Ensefalosel, kranial orta hattın bir defekti olarak kabul edilir. Beyin ve zarlarının kafatasındaki kemik defektinden kaynaklanan kistik bir fitiklaşmayı ifade eder.

Ensefalosel, nöral tüp defektlerinin nadir görülen bir türüdür. Doğum sonrasında gerçekleştirilen onarıcı cerrahi işlem, bu durumun etkilerini hafifletmek için tek etkili tedavi yöntemidir. Ensefalosel sıklığı dünya çapında yaklaşık olarak 2/5000 olarak rapor edilmiştir (Drapkin, 1990; Engel ve Buchan, 1974; French, 1982).

Ensefalosel durumunda, hem meninks (beyin zarları) hem de nöral doku fitiklaşırken, kranial meningeselde ise sadece meninks fitiklaşması meydana gelir. Bu durumlar, beyin kafatası dışına çıkmasına neden olur ve genellikle ciddi tıbbi müdahale gerektirir. Ensefalosel ve kranial meningesel, doğum öncesi tanı ve uygun cerrahi müdahale ile yönetilebilir, ancak bu durumların tedavisi genellikle karmaşıktır ve uzun

sürebilir. Bu durum genellikle en sık oksipital bölgede görülse de parietal, frontal ve nazofarengal bölgelerde de oluşabilir. Ensefalosel vakalarının yaklaşık olarak üçte ikisinde hidrosefali tespit edilir ve hidrosefali varlığında prognoz genellikle kötüdür. Ensefalosel vakalarında maternal AFP seviyelerinde sıklıkla yükseklik görülür (Beksaç vd., 2001). Lezyonun konumu ve görünümüne dayanarak doğumda tanı kesinlikle konur. Lezyonun karakteristiği, serebrospinal sıvı sızıntısı varlığı ve lezyonun üstündeki örtü, cerrahi müdahalenin ne zaman yapılacağını belirler. Tamamen iyileşen (epitelize olan) lezyonlar, genellikle planlı bir şekilde cerrahi olarak ele alınırken, ince bir membrana sahip lezyonlar acil cerrahi gerektirebilir. Lezyonun tamamen iyileşip iyileşmediği ve serebrospinal sıvı sızıntısının olup olmadığı, cerrahi müdahalenin zamanlamasında kritik rol oynar. Tamamen iyileşen lezyonlar, sıklıkla elektif olarak cerrahi olarak düzeltilir çünkü bunlar genellikle ciddi acil durumlar olmaktan çıkar. Ancak, ince bir membrana sahip lezyonlar, özellikle serebrospinal sıvı sızıntısı varsa, hızlı bir şekilde müdahale edilmesi gereken acil durumlar olabilir. Bu nedenle, cerrahi müdahalenin zamanlaması, lezyonun iyileşme durumu, sızıntıların varlığı ve lezyonun üstündeki örtü gibi faktörlere bağlı olarak dikkatle belirlenmelidir. Hem planlı hem de acil cerrahi durumlar için uygun tedavi protokolleri ve prosedürler uygulanmalıdır. Bu, lezyonun etkilerini minimize etmek ve hastanın sağlığını en iyi şekilde korumak için önemlidir (Turan vd., 2000) (**Resim 3**).



Resim 2.3. Oksipital ensefalosel görünümü

2.4.3. İniensefali

Bu bir NTD türüdür ve başın arkaya doğru büküldüğü anlamına gelir. Bebekler, genellikle kısa ve vücuda oranla büyük kafaya sahiptir. Kafası arkaya bükülmüş olduğundan, gözler yukarı bakmakta ve yüzünü kaplayan deri göğüs derisi ile sırt derisi arasında birleşmiştir. Normalde boyun yoktur. Oksipital kemik defekti, servikal disrafizm ve başın fikse hiperekstansiyon triadı ile karakterize, nadir görülen ölümcül bir anomalidir.

Embriyonun retrofleksiyon persistansına bağlı olarak servikal veya üst torakal spinada açıklık vardır (Pungavkar vd., 2004) (**Resim 2.1**).

2.4.4. Meningosel

Posterior meningosel, nadir görülen bir spina bifida türüdür. Bu durumda, bazı omurların dış yüzeyleri açık ve omuriliği çevreleyen zarlar bu açıklıktan dışarı doğru fitiklaşır. Bu fitiklaşma sırasında, beyin ve omuriliği çevreleyen serebrospinal sıvı da dışarı taşınabilir. Bu kistik yapıların boyutları değişkenlik gösterebilir ve normal büyüme desteklemek için cerrahi olarak çıkarılabilir. Posterior meningosel, spina bifida'nın daha nadir ve genellikle daha hafif bir şeklidir. Omurganın arkasındaki bu açıklık, omuriliği çevreleyen zarların dışarı fitiklaşmasına yol açar. Bu fitiklaşma, beyin ve omuriliği koruyan serebrospinal sıvıyı içerebilir. Ancak, bu kistik yapılar genellikle daha küçüktür ve bebeğin normal gelişimini olumsuz etkileme eğilimindedir. Cerrahi müdahale, genellikle bu kistik yapıların çıkarılması ve omuriliği koruyan zarların yeniden düzenlenmesini içerir. Bu, omuriliği ve beyini çevreleyen sıvının normal dolaşımını sağlamak ve gelecekte olası sorunları önlemek için önemlidir. Posterior meningosel, zamanında tanı ve uygun cerrahi müdahale ile genellikle başarılı bir şekilde tedavi edilebilir ve etkilenen kişilerin yaşam kalitesini artırabilir. Bu tür spina bifida vakalarında, omur kemiklerindeki bir defekten ziyade, meninksin kistik bir kesecik oluşturması söz konusudur. Bu kesecikte nöral yapılar ve serebrospinal sıvı sızıntısı yoktur. Dışarı doğru bakan meninks duvarı araknoid ve epidermis tabakalarından oluşur. Açık spina bifida vakalarının %10'unda meningosel vardır. Bu tür vakalar genellikle lomber ve lumbosakral segmentlerde görülse de, vertebral kolonun herhangi bir segmentinde olabilir. Spinal kanal genellikle normaldir, ancak bazı durumlarda tethered kord, diastometamiyeli veya sirengomiyeli gibi ek problemler görülebilir. Kesecik deri ile örtülü olduğunda, cerrahi işlem genellikle planlanır; ancak beyin omurilik sıvısı sızıntısı varsa cerrahi müdahale geciktirilmez. Bazı vakalarda hidrocefali, bu duruma eşlik edebilir veya ameliyat sonrasında gelişebilir (Elwood vd., 1992; Gökalp ve Erongun, 1988).

2.4.5. Meningomyelosel (Spina Bifida Cystica)

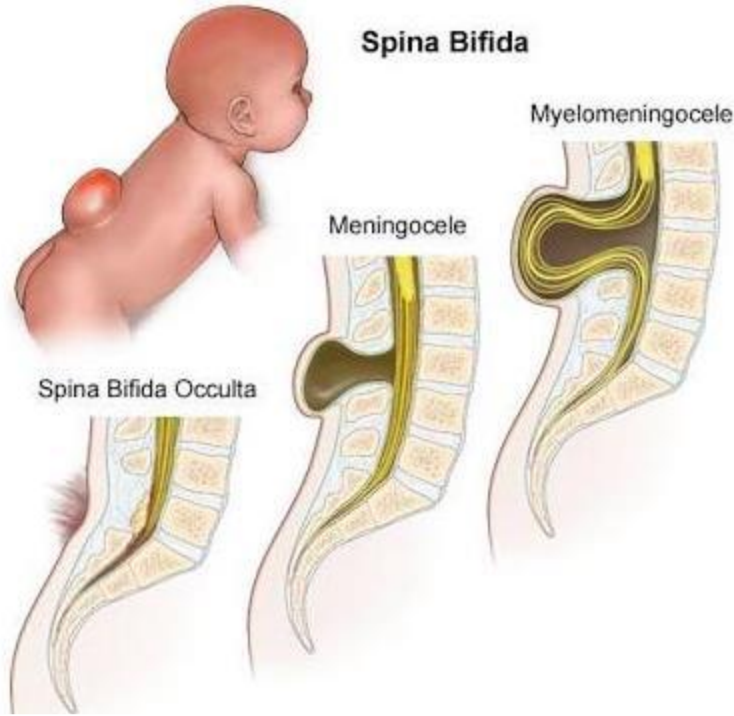
Spina bifida, en yaygın ve en kötü türüdür. Sinir kökleri ve omuriliğin kendisi, fıtıklaşan kistin içinde bulunabilir. Zaman zaman omurilik tamamen fıtıklaşabilir, ancak kist oluşmayabilir. Omurilikteki sıvı dışarı kaçabilir. Etkilenen bebekler, açıklık cerrahi olarak kapatılmadıkça enfeksiyon kapabilirler. Bazı bebeklerde cerrahi tedaviye rağmen bacak felci, idrar ve gayta tutamama sorunları olabilir.

Spinal kemik defektine ek olarak, meninkslerle birlikte nöral dokunun da bir kese şeklinde protrüze olması spinal meningomyelosele durumunu karakterize eder. Bu vakaların çoğu genellikle lumbosakral bölgede görülür. Spinal meningomyelosele iki ana tipte meydana gelir: açık ve kapalı. Açık tip durumunda, spinal kordon dışarıdan görülebilirken, kapalı tip durumunda spinal kordon deri altında kapalıdır. Bu vakaların büyük bir kısmında sağkalım oranı yüksektir ancak nörolojik, ürolojik ve ortopedik komplikasyonlar sıkça görülür. Yaklaşık olarak olguların yarısında hidrosefali gibi nörolojik komplikasyonlar meydana gelir ve hidrosefalinin temel nedeni genellikle Chiari anomalisinin eşlik etmesidir. T12 seviyesindeki myelomeningosele vakalarda alt ekstremitelerde flak pareziler görülebilirken, sakral bölgeye lokalize olgularda üriner inkontinans ve pareteziler görülebilir. L1-L5 ve S1-S2 seviyelerindeki yaralanmalar ise çeşitli ortopedik sorunlara neden olabilir. Doğum sonrası, lezyonun korozif unsurlardan uzak tutulması ve steril serum fizyolojik ile nemlendirilmesi gerekir. Cerrahi planlama, sistemik malformasyonların varlığı dikkate alındıktan sonra yapılır. Ancak bazı vakalarda cerrahi müdahaleye rağmen nörolojik, mesane, pulmoner enfeksiyonlar, şant disfonksiyonu ve Chiari malformasyonu gibi komplikasyonlar ortaya çıkabilir. Kifoz gelişimi, skolyoz ve siringomyeli oluşumu ile tethered cord sendromu, nörolojik performansı etkileyen diğer komplikasyonlar arasındadır. Meningomyelosele tedavisi multidisipliner bir yaklaşım gerektirir, nöroşirürjik, ortopedik ve ürolojik sorunların düzeltilmesi ve rehabilitasyon sürecinin yönetimi için uzun süreli bir takip ve tedavi gerekebilir (Hall vd., 1988; Mapstone, 1994; Riegel, 2001).

2.4.6. Spina Bifida Okkulta

Latince'de "occulta" gizli anlamına gelir ve spina bifida'nın en hafif formudur. Genellikle belirgin belirtiler göstermez. Omurgayı oluşturan kemiklerde bir veya birkaç küçük defekt bulunabilir, ancak omurilik ve sinirler normaldir. Tek belirti, defektin olduğu bölgede (genellikle belde) cilt üzerinde aşırı kıllanma, gamze, lipom veya doğum lekesi

gibi belirtiler olabilir. Spina bifida occulta'da defekt geniş bir spektrumda olabilir, spinöz süreçteki küçük bir lezyondan pediküller arasındaki kemiğin tamamen yokluğuna kadar değişebilir. Bu durumda spinal kord veya spinal köklerin fonksiyonel bozuklukları nadiren görülür. Ancak, kas güçsüzlüğü, ayaklarda deformiteler ve yürüme bozuklukları olabilir. Bazı vakalarda vertebra anomalileri ortaya çıkabilir. Nörolojik bozukluklar varsa cerrahi müdahale önerilebilir. Ancak, spina bifida occulta'da nörolojik bulgular yoksa cerrahi tedavi gerekli değildir ve genellikle prognoz iyidir (Kadanalı, 1992; Turan vd., 2000).



Resim 2.4. Meningosel, miyelomeningosel, spina bifida occulta görünümü

2.4.7. Nöroenterik Kist

Nöroenterik kistler, endoderm tabakasının, nöral dokuya ilerlemesiyle oluşan ve spinal kanala uzanan kanal ve kistlerdir. Bu kistler genellikle kuboidal veya kolumnar epitelle döşelidir. Genellikle C5-T2 segmentleri boyunca sıkça görülürler. Spinal kordun sıkışması, araknoidit ve mediastinal kitle baskısına bağlı solunum problemleri gibi komplikasyonlarla ilişkilendirilebilirler. Doğrudan grafilerde ve tomografilerde, posterior

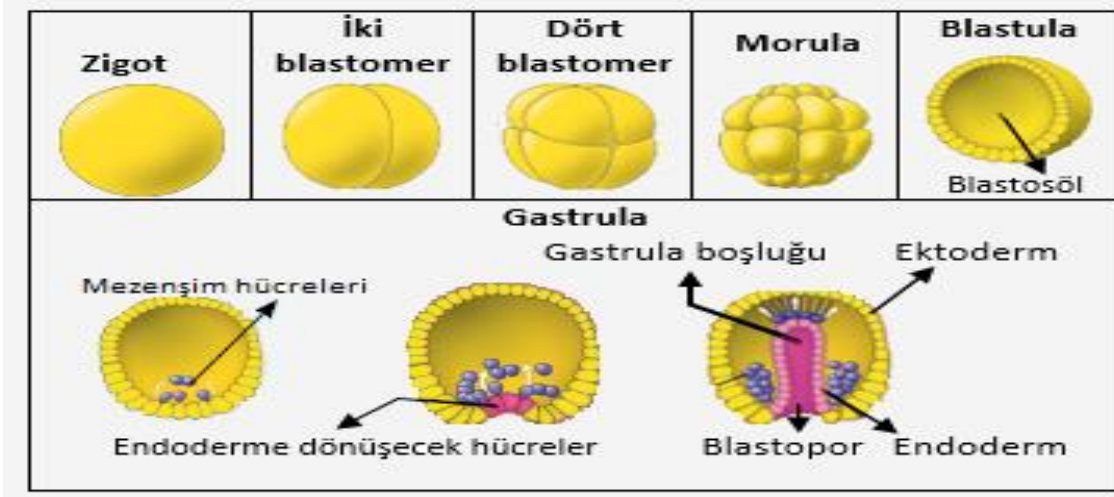
mediastinal kitleye ek olarak vertebra korpusunun ön yüzünde defektler ve hemivertebra veya vertebral füzyon gibi anomaliler gözlemlenebilir (Turan vd., 2000).

2.4.8. Lipomeningomyelose

Lipomyelomeningose olgularının dorsal ve mikst (transisyonel) tiplerinde, ortak özellik anormal subkutan yağ kütesinin spinal kord dokusuna dorsal defekt aracılığıyla invaze olmasıdır (Riegel, 2001; Gupta, 2004). Bu durum, sekonder nörolasyon kusuruyla cilt ektodermi altında oluşan kemik ve dura defektiyle birlikte mezenkimal kökenli anormal yağ dokusunun gelişim kusuruyla ilişkilendirilir. Ayrıca, primer nörolasyonla ilişkili kapanma defektiyle birlikte görülür. Lipomların yerleşim şekline bağlı olarak dorsal, kaudal ve transisyonel olmak üzere üç tipi vardır. Bu olgularda, spinal kordun lipomatöz yapıyla bütünlük oluşturması, kordun vertebral kanal içinde hareket etmesini engeller ve sonuç olarak gergin omurilik sendromu belirtileri meydana çıkar (Türk Nöroşirurji Derneği yayınları, 1985).

2.5. Tavuklarda Embriyonik Gelişim

Döllenme, embriyonik gelişimin ilk aşamasıdır ve gelişimin yaklaşık % 4,5'ini yumurta kanalında tamamlar. Bölünme yarıklanma şeklinde meydana gelir. Zigotun ilk bölünmesi yumurtanın isthmusa girdiği anda gerçekleşir ve ikincisi yirmi dakika sonra gerçekleşir. Embriyo isthmusta üçüncü kez bölünür ve 8 hücrelidir. Embriyo uterin kabuğunda 16 hücrelidir (Romanoff, 1997; Türkoğlu ve Sarıca, 2004). Binlerce hücre tabakası gastrulayı oluşturmak için her yirmi dakikada bir bölünür (Romanoff, 1997).



Şekil 2.5.Embriyonik Gelişim aşamaları

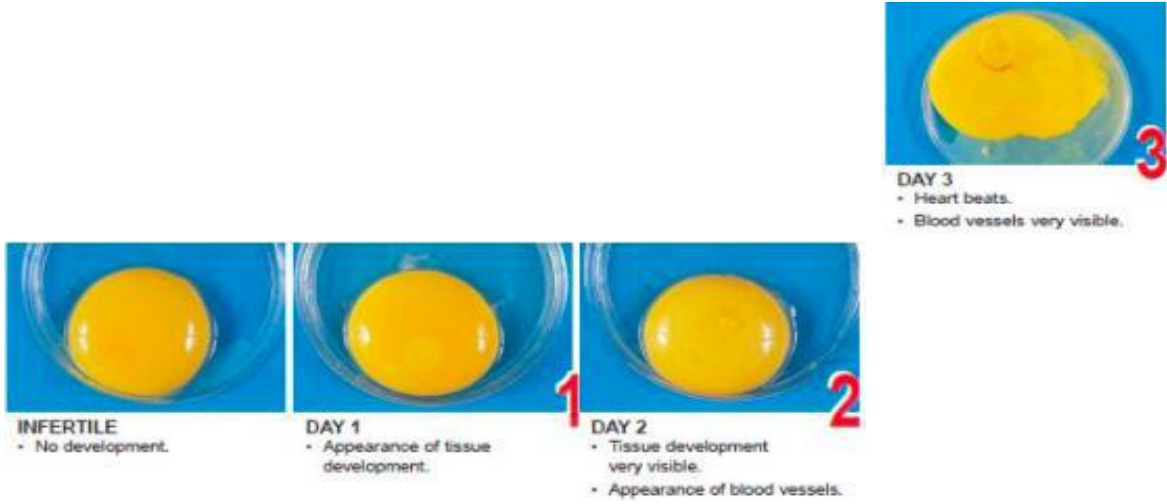
Yumurta yumurtladığı anda gastrulasyonun tamamlandığı düşünülmektedir (Türkoğlu ve Sarıca, 2004). Embriyo büyümeye başladığında, kalınlaşan hücre tabakası embriyonun kuyruk kısmında belirlemeye başlar. Bu eski çizgi adını alıyor.

Tavuk embriyosunun gelişimi dört aşamada gerçekleşir:

1-5. günler, iç organların büyümeye başladığı ve kalp atışlarının meydana geldiği birinci dönemdir (**Resim 2.5.**).

Bir çizgi ilk günde oluşur (Türkoğlu ve Sarıca, 2004). Kan adacıkları görülür, embriyonun başı ayırt edilebilir, sindirim sisteminin öncüsü ön barsak gelişir ve nöral oluğu oluşturacak yarık oluşur (Romanoff, 1997; Özparlak, 2006). 2 gün sonra kalp gelişmeye ve atmaya başlar. Kulak yolu, göz çukuru ve kuyruk oluşmaya başlar (Türkoğlu ve Sarıca, 2004). Nöral oluklar gelişir. Baş bölgesi büyür. Göz merceği ve kulaklar gelişmeye başlar. 3 günlük embriyoda laringo-trakealuluk gelişir ve faringeal bölgenin posterioründe vaginasyon meydana gelir. Bu yapı daha sonra trake olarak kaudale doğru büyür. Trake özofagusu ile yaklaşık olarak aynı yöndedir. Akciğer tomurcukları, trakeal büyüme ilerledikçe kaudal kısım ikiye ayrılır. (Romanoff, 1997; Özparlak, 2006). Kuluçkanın dördüncü gününde de fleksiyon ve torsiyon devam eder. Embriyonun vücudu 90 derece döndükten sonra vitellusun üzerinde sol tarafa kayıyor. Embriyonun baş ve kuyruğu

birbirine yaklaşır ve "C" şeklini alır. Kuluçkanın dördüncü günü, embriyo yaşamak için gerekli tüm organlara sahiptir ve tüm parçaları tanımlanabilir (Romanoff, 1997; Özparlak, 2006). İlk kritik dönem, kalp atışlarının başladığı ve dolaşımın yeterli seviyeye ulaştığı zamana kadar olan bir ila üç gün arasında embriyo gelişimi için geçerlidir (Türkoğlu ve Sarıca, 2004) .



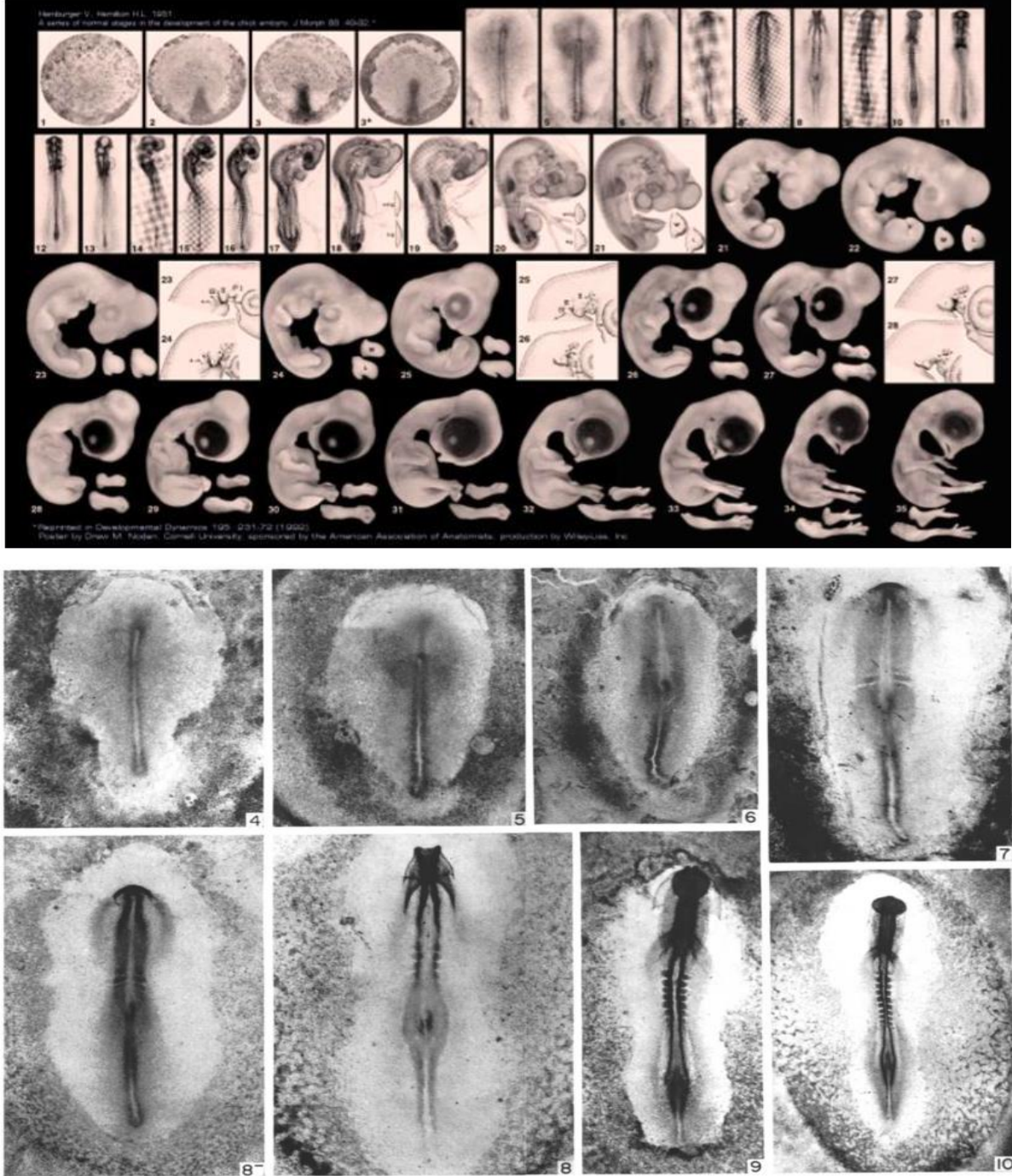
Resim 2.5. Tavuk embriyo gelişiminin birinci donemi.



Resim 2.6. Tavuk embriyo gelişiminin donemi.

Cıvciv çıkışının meydana geldiği gün, Türkoğlu ve Sarıca'ya (2004) göre dördüncü dönemdir. 21 günün sonunda, yumurta dişi ve boynun arkasındaki kaslar yumurtanın kabuğunu kırmak için yardım eder. Cıvciv yumurtadan çıktıktan sonra göbek açıklığı kapanır ve kurur. Cıvciv yumurtadan çıktıktan birkaç gün sonra gaga üzerindeki

boynuzumsu yapı ortadan kalkar. Vitellus, yumurtadan çıktıktan sonra civciv için saatlerce besin sağlayabilir. Protein, yağ, vitamin, mineral ve su açısından oldukça zengindir. Bu sayede yumurtadan çıkan civciv 72 saat boyunca hiçbir şey yemez(Romanoff, 1997; Özparlak, 2006; Hamburger ve Hamilton, 1951).



Resim 2.7 Hamburger ve Hamilton civciv embriyo gelişim evreleri



2.6.METRONİDAZOL

Metronidazol (hidroksietil,metil,nitroimidazol) antibiyotik grubuna ait bir ilaçtır. Hayvanlarda, insanlarda ve tek hücreli hayvanlarda anaerobik bakterilerin neden olduğu enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılır. Vücudunuzda enfeksiyona neden olan bakteri ve parazitleri öldürür. Protozoaya karşı aktiftir. Proteinlerin nitro gruplarını bloke eder ve protozoa hücrelerinde okside edici restorasyon dengesini tahrip eder bu da toksik ürünlerin birikmesine neden olur. Protozoanın DNA'sı ile reaksiyona girer ve ölümlerine neden olur, iyi ve hızlı bir şekilde emilir ve kanda birikir. Ağırlıklı olarak idrar yoluyla kısmen atılır. Metronidazol 'ün en ciddi yan etkisi sinir sistemi üzerine olan etkileridir. Santral sinir sistemine olan toksik etkileri ve periferik nöropati yan etkisi de vardır. Bu etkiler tedavi süresinin uzunluğu, ilacın yüksek doz kullanımı ya da her iki durumun birden varlığı söz konusu olduğunda görülür.

3.MATERYAL ve METOT

Araştırma için, AKÜ Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu'ndan (AKUHADYEEK-96-22) alınan 11.10.2022 tarihli ve 49533702/104 sayılı kararla etik kurul izni sağlanmışır (EK-1). Araştırmanın tüm aşamaları, etik kurul yönergelerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Deneyin tamamı, Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1.Deney Gruplarının Oluşturulması

SPF yumurtaları, bir kontrol ve üç deney olmak şartıyla dört farklı kategoriye ayrılmıştır. İdeal ısı ve nem koşulları sağlanan SPF yumurtaları, inkübatörde 48 saat boyunca izlenmiştir. Bu süre sonunda embriyo gelişim geriliği gözlemlenen yumurtalar çıkarılmışır. Kontrol grubunda 22 adet, düşük doz grubunda 24 adet, orta doz grubunda 23 adet ve yüksek doz grubunda 24 adet embriyo incelenmiştir.

Çizelge 3.2: Deney grupları ve uygulanan ilaçların dozları.

Gruplar	Kullanılan Etken Madde ve Dozları	Veriliş Yolu ve Hacmi
Grup 1	Kontrol	Sham
Grup 2	Düşük Doz Metronidazol 5 mg/kg	Subblastodermik alana 0.03 ml
Grup 3	Orta Doz Metronidazol 10 mg/kg	Subblastodermik alana 0.03 ml
Grup 4	Yüksek Doz Metronidazol 20 mg/kg	Subblastodermik alana 0.03 ml

Deney ve kontrol grupları	Grup başına hayvan âdeti	Tekrar sayısı	Kullanılan toplam hayvan sayısı/grup
Kontrol grubu(48 Saatlik)	25	1	25 yumurta
Metronidazol 5 mg/kg (48 Saatlik)	25	1	25 yumurta
Metronidazol 10 mg/kg (48 Saatlik)	25	1	25 yumurta

Metronidazol 20 mg/kg (48 Saatlik)	25	1	25 yumurta
------------------------------------	----	---	------------

Yumurtaların inkübatörden çıkarılmasından sonra, SPF yumurtaların kabukları batikon ve %70 etil alkol ile temizlendi. Steril forcepsler kullanılarak yumurta kabuğu üzerinde yaklaşık 0.5 cm'lik pencereler açılarak embriyolar tespit edildi. Açılan pencerelerden Hamilton mikroenjektörü yardımıyla yaklaşık 45°'lik açı verilerek belirlenen dozlardaki Metronidazol (FLAGYL %0.5 Enjeksiyonluk Çözelti, 0.5 g/100 ml metronidazol içeren 100 ml'lik setli ve setsiz Medifleks Aventis Pharma S.A./Fransa lisansı ile EiP Eczacıbaşı ilaç Pazarlama A.Ş.) subblastodermik alana enjekte edildi. Kontrol grubuna ise steril fizyolojik tuzlu su (FTS) enjekte edildi. Enjeksiyonun ardından yumurtalardaki pencereler steril drape yardımıyla kapatılıp 180° derece çevrilerek inkübatöre tekrar yerleştirildi.

3.1.1. Embriyoların Elde Edilmesi

Inküasyonun sonunda (44-48. saatler arası), inkübatörden çıkarılan yumurtalar oda sıcaklığına alındı ve soğutuldu. Oda sıcaklığına gelen yumurtalar, povidon iyot ve %70 etil alkol ile dezenfekte edildi. Steril forcepsler kullanılarak yumurtaların üzerinde açılan daha büyük pencerelerden ince koryoallantoik membranlar tespit edildi. Forceps yardımıyla koryoallantoik membranlar kaldırılarak altında embriyonal diskler tespit edildi. Embriyonal disklerin lateral çevrelerinden diseksiyon makası yardımıyla yaklaşık 0.5 cm civarında kesitler atıldı. Bir kez kullanımlık steril kaşık, kesit bölgesinden embriyonun alt kısmına girerek vitellin membranı ile embriyonal diskten ayrıldı. Embriyo bu şekilde çıkarıldı ve distile su içeren petri kabına alındı. Embriyolar daha sonra %10 formaldehit solüsyonunda saklandı.

3.1.2. Deney Sırasında Kullanılan Kimyasallar

- Metronidazol ($C_6H_9N_3O_3$)
- Parafin
- Batikon
- Ethanol %99
- Methanol

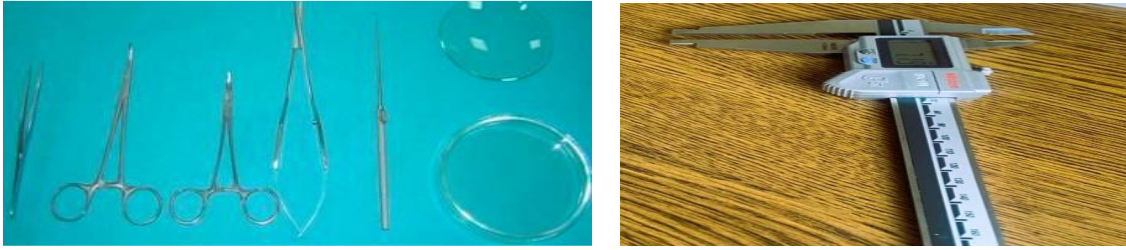
- Ksilen
- Formaldehit
- Entellan

4. GEREÇ ve YÖNTEM

4.1. Deney Hayvanı

Deney aşamasında kullanılan SPF (specific patogen free) yumurtalar 60 ± 5 gr arası ağırlıklarda, beyaz, fertil ve 0 günlüktü.

4.1.1. Laboratuvar Koşulları

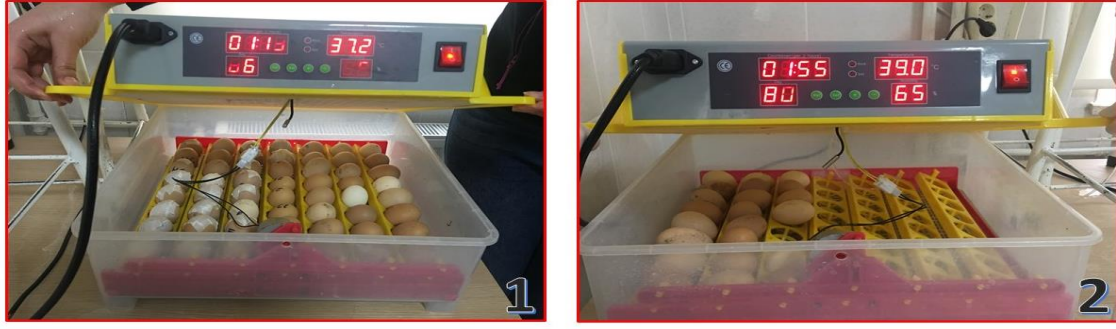


Resim 4.8. Başlıca kullanılan malzemeler

AKÜ Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda, inkübatörler ve bahsedilen kimyasalların yanı sıra çeşitli boyutlarda cam kaplar, petri kutuları, steril şeffaf kaşıklar, pensetler, forcepsler, makaslar, gaz tamponları, Hamilton mikro enjektörü, ipek flaster, parafilm, distile su, plastik kapaklı kaplar, hassas teraziler, baticonlar, alkol, mikropipetler, enjektörler ve embriyoların saklanması için formaldehit solüsyonlarından faydalanıldı.

4.1.2. İnkübatör

Bu çalışmada, standartlaştırılmış Cimuka marka otomatik inkübatör, AKÜ Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda kullanıldı. Yumurtalar, 60 ± 5 bağıl nem oranı ve $37.5\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ sabit ortam sıcaklığında inkübe edildi. İnkübatör, belirtilen sıcaklık ve bağıl nem oranına ulaşana kadar boş olarak çalıştırıldı ve yumurtalar sivri uçları aşağı bakacak şekilde inkübatör içine yerleştirildi. Yumurtalar, inkübatör içinde otomatik olarak her 2 saatte bir 45° açıyla döndürüldü (**Resim 4.9.**).



Resim 4.9. Kullanmış olduğumuz inkübatör makinesi

4.2. YÖNTEM

4.2.1. Pencere Açma Tekniği



Resim 4.10. Pencere açma tekniği ile kabuk kaldırıldıktan sonra embriyonerdisk.



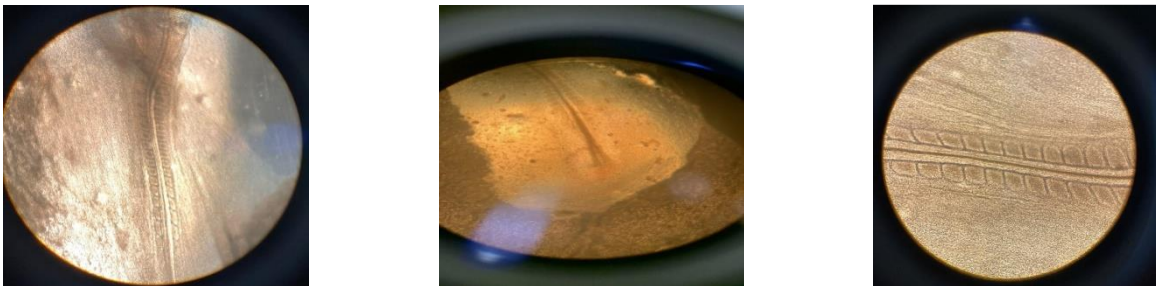
Resim 4.11. Mikroşırınga yardımı ile blastoderm altına enjeksiyon işlemi



Resim 4.12. Pencere açma işleminden sonra yumurtaların drape ile kapatılması.

4.3. Embriyoların Makroskobik ve Mikroskobik İncelenmesi

Embriyolar, parafin doku takibi için öncelikle %10'luk formaldehit solüsyonunda 48 saat bekletildi. Daha sonra, bekletilen embriyolar %5 formaldehit içine alınarak burada da 48 saat bekletildi. Bu sürenin sonunda, diseksiyon forsepsi kullanılarak lamlara alınan embriyoların üzerine Pastör pipeti ile distile su dökülerek yıkama işlemi gerçekleştirildi. Ardından, ışık mikroskobuna alınan ve 40X büyütmede incelen embriyolar (**Resim 4.13.**), Hamburger-Hamilton Tavuk Embriyo Sınıflandırma Sistemi'ne göre incelendi. Nöral tüpün açık veya kapalı olması, baş-kıç mesafesi ve somit sayıları belirlenerek kayıt altına alındı



Resim 4.13. Işık mikroskobuna alınan ve 40X büyütmede incelen embriyolar

5.BULGULAR

Çalışmada, farklı dozlarda metronidazol enjeksiyonunun nöral tüp gelişimi üzerindeki etkileri araştırıldı ve elde edilen bulgular analiz edildi. Kontrol grubunda 22 embriyo incelenirken, düşük doz, orta doz ve yüksek doz grubunda sırasıyla 24,23,24 embriyo incelendi. Embriyoların morfolojik özellikleri, nöral tüpün açık ya da kapalı olması, başkık uzunlukları, embriyolojik gelişimler ve somit sayıları ışık mikroskopu ve stereo mikroskop altında incelenerek ele alındı. Elde edilen veriler istatistiksel analizlerle tablolar halinde sunuldu.

Çalışmanın sonucunda gruplar arası nöral tüp açık veya kapalı olması olayı aşağıdaki çizelgede yer almıştır.

Çizelge 5.1:Kontrol ve farklı doz gruplar için nöral tüpün açık veya kapalı olma durumu.

Parametreler	Kontrol	Düşük Doz	Orta Doz	Yüksek Doz
Nöral Tüp Açık	4	8	7	9
Nöral Tüp Kapalı	18	16	16	14

Kontrol grubundaki 18 embriyodan (%72) nöral tüpün kapalı olduğu, 4 embriyodan (%16) nöral tüpün açık olduğu ve 3 embriyoda (%12) gelişim geriliği tespit edildi. Düşük doz metronidazol enjekte edilen grupta, 16 embriyodan (%64) nöral tüpün kapalı olduğu, 8 embriyodan (%32) nöral tüpün açık olduğu ve 1 embriyoda (%4) gelişim geriliği gözlemlendi. Orta doz metronidazol enjekte edilen grupta ise, 16 embriyodan (%64) nöral tüpün kapalı olduğu, 7 embriyodan (%28) nöral tüpün açık olduğu ve 2 embriyodan (%8) gelişim geriliği saptandı. Yüksek doz metronidazol enjekte edilen grupta ise, 14 embriyodan (%56) nöral tüpün kapalı olduğu, 9 embriyodan (%36) nöral tüpün açık olduğu ve 2 embriyodan (%8) gelişim geriliği görüldü. Bu bulgular, metronidazol dozunun artmasıyla nöral tüp kapanmasını etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Çizelge 5.2: Kontrol ve farklı doz seviyelerine göre somit âdeti ve baş-kıç ölçümleri.

Gruplar	Somit Sayısı	Baş-Kıç(mm)
	MEANS ±SE	MEANS ±SE
Kontrol	18,20 ± 0,73	6,28 ± 0,28
Düşük Doz	20,40 ± 0,61	6,98 ± 0,14
Orta Doz	19,40 ± 0,66	6,46 ± 0,09
Yüksek Doz	17,81 ± 0,68	6,35 ± 0,23
P Değeri	0,036	0,037

p>0,05 : Kontrol grubuna nazaran anlamlı olarak farklılık yoktur

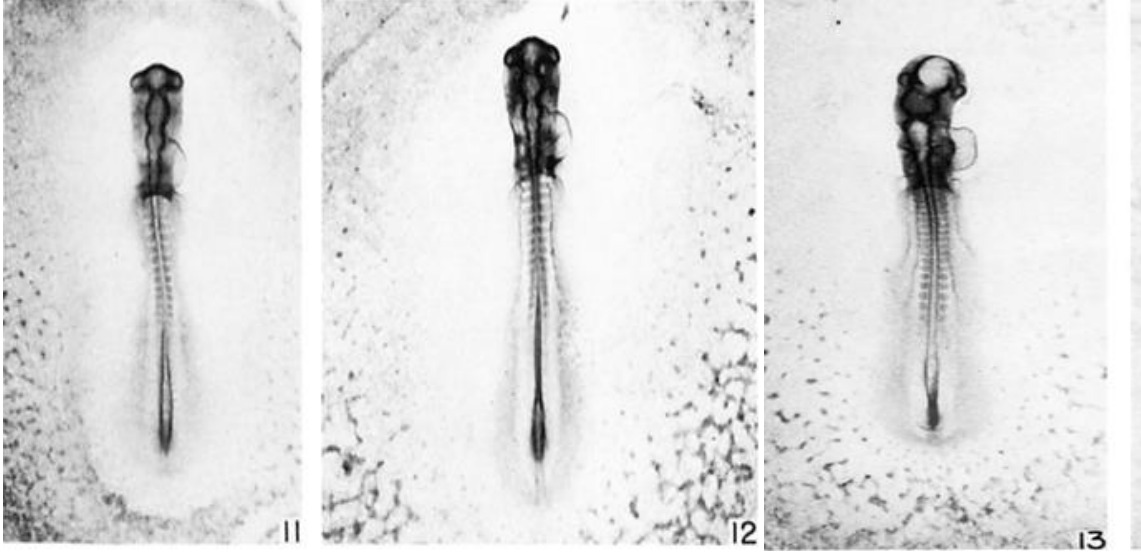
Kontrol grubunda, baş-kıç uzunluğunun ortalama değeri $6,28 \pm 0,28$ mm olarak ölçüldü ve somit sayısı ortalama olarak $18,20 \pm 0,73$ olarak belirlendi. Ayrıca, embriyoların Hamburger Hamilton skalasına göre 11 ile 13. evre aralığında olduğu tespit edildi (**Çizelge 3.2**).

İkinci olarak incelenen düşük doz grup için, baş-kıç uzunluğu ortalama olarak $6,98 \pm 0,14$ mm, somit sayısı ise ortalama olarak $20,40 \pm 0,61$ olarak ölçüldü. Embriyoların Hamburger Hamilton skalasına göre 11-12. evrede bulunduğu belirlendi.

Üçüncü olarak incelenen orta doz grup için, baş-kıç uzunluğu ortalama olarak $6,46 \pm 0,09$ mm, somit sayısı ise ortalama olarak $19,40 \pm 0,66$ olarak bulundu. Embriyoların Hamburger Hamilton skalasına göre 11-12. evre aralığında olduğu gözlemlendi.

Dördüncü olarak incelenen yüksek doz grubu için, baş-kıç uzunluğu ortalama olarak $6,35 \pm 0,23$ mm, somit sayısı ise ortalama olarak $17,81 \pm 0,68$ olarak belirlendi. Embriyonun Hamburger Hamilton skalasına göre 11-12. evre aralığında olduğu saptandı.

Çizelge 3.2'deki verilere göre, deney grupları ile kontrol grubu arasında somit sayısı ve baş-kıç uzunlukları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Bu sonuçlar, metronidazol'ün belirtilen dozlarda embriyo gelişimi veya somit sayısı üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığını düşündürmektedir.



Resim 4.14. Hamburger Hamilton evrelemesine göre Evre 11-13 arası embriyolar

5.1.Verilerin Değerlendirilmesi

Verilerin istatistiksel analizi için Statistical Package for the Social Sciences veya SPSS 20 programı kullanıldı. Mann-Whitney U, One Sample Custom, Kruskal-Wallis ve Simirnov testleri, embriyoların somit sayısını ve baş-kıç uzunluğunu ölçmek için kullanıldı. İstatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilen değerler için p değeri <0.05 idi. Veriler ortalama olarak gösterildi ve \pm standart sapma ile gösterildi.

6.TARTIŞMA

Nöral tüp defekti, topluma getirdiği sıkıntılarının yanı sıra önlenabilir olmasından dolayı ciddi araştırma konusu olmuştur. Spina Bifida' dan Anensefali'ye kadar herhangi bir kapanma defekti aşamasında incelenen NTD' lerin ABD istatistik verilerine göre 1/1000 sıklığında görülmektedir (Selçuki vd., 2008). “Türkiye’de Konjenital Malformasyon Sıklığı, Dağılımı, Risk Faktörleri ve Yeni doğanların Antropometrik Değerlendirmesi Arastırması-1993’’sonucunda ülkemizde 3/1000 sıklığında görüldüğü saptanmış ve NTD'nin Türkiye’de sık görülen konjenital anomaliler olduğu belirtilmiştir Çoğunlukla, ülkemizde ortalama 5000 adet bebek bu hastalıkla dünyaya gelmektedir (Tunçbilek vd. 1999). (Tunçbilek vd., 1996). Yine de Nöral tüp defektlerinin günümüzde azalma göstermesinin yanı sıra yenidoğanlarda en sık görülen konjenital anomaliler arasındadır. Disabilite, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları, iskelet bozuklukları, böbrek anomalileri, beslenme intoleransları yaşam kalitesini olumsuz etkileyen faktörler arasındadır. Ebeveynlerinde nöral tüp defekti olanlar, önceki çocukta nöral tüp defekti olanlar, folik asit eksikliği olanlar, sosyoekonomik düzeyi düşük olanlar, annenin kullandığı karbomezepin, valproat gibi antiepileptikler, annede kötü kontrollü diyabetes mellitus, gestasyonel hipertermi, ateş, sosyoekonomik durumun düşük olması nöral tüp defektinin sıklığını etkilemektedir (Özcan, 2019).

NTD'ler, sinir dokusunun tam veya kısmi olarak kapanamaması nedeniyle ortaya çıkar. NTD modellemesi için çeşitli yöntemler mevcuttur, bunlar arasında memeli, kuş, amfibi ve bilgisayar modellemeleri bulunmaktadır. Her birinin avantajları ve dezavantajları vardır. Örneğin, memeli modelleri olan fare ve sıçanlar daha karmaşık ve uzun süreli çalışma gerektirirken, kuş ve amfibi modelleri daha kolay ve pratiktir. Erken dönem tavuk embriyosu modellemesi, genellikle ilk 48 saatlik süreyi kapsar ve bu süreç, memelilerdeki embriyonel gelişimin ilk ayına benzeyen bir model sunar. Bu model, çeşitli kimyasalların embriyonel gelişim üzerindeki etkilerini incelemek için önemli bir araçtır (Turecivd.2011).

Tavuk embriyo modelinin kullanıldığı NT'nin gelişimi üzerine birçok çalışma vardır (Yerby, 2003; Ertekin vd., 2019; Dady ve Duband, 2017; Mete vd., 2016). Tavuk embriyosunun özellikle ilk 48 saatlik gelişimi memeli omurgasının embriyonik gelişiminin ilk ayına benzer. Bu nedenle civciv embriyolarının kullanımı nöral tüp bozukluğuna neden olabileceği düşünülen maddeler için oldukça uygundur.

Vatansever vd. (2003) civciv embriyo modeli deneyinde günlük alım dozu olarak in ovo yöntemiyle enjekte edilen metotreksatin nöral tüp gelişimi üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Araştırma sonuçlarına göre, 48-72 saatlik inkübasyon süresinin ardından embriyolarda nöral tüpün kapanmasında kusurların olduğu gözlemlenmiştir.

Whitsel vd. (2002), epilepsi tedavisinde kullanılan valproik asitin embriyoya 24. saatte blastositin altına farklı dozlarda uygulanmasının teratojenik etkilerini araştırdılar. Yapılan çalışmada, büyümede gerileme, göz dokusu ve iskelet sistemi anomalileri bulunmuştur.

Lee ve ekibinin (1982) çalışmasına göre, erken dönem tavuk embriyolarında 500 µg/ml kafeinin nöral tüp defekti gelişim sıklığını önemli ölçüde artırdığı rapor edilmiştir. İnsanlar, giderek artan miktarlarda embriyotoksik ve teratojenik potansiyele sahip ilaçlar, endüstriyel yan ürünler ve çevre kirleticilere maruz kalmaktadır. Bu tür maddelerin etkilerinin değerlendirilmesi için genellikle sıçanlar, fareler veya tavşanlar gibi kemirgenler üzerinde detaylı testler yapılması gerekmektedir, ancak bu tür testler her zaman gerçekleştirilmemektedir.

Ertekin vd. (2019) Non steroid al antiinflamatuar ilaçlardan diklofenak sodyumun civciv embriyosunda nöral tüp üzerinde doza bağlı olarak baş-kıç mesafesi ve somit adedini kayda değer derecede düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Bu çalışma, diklofenak sodyum uygulamasından sonra tavuk embriyolarında nöron gelişiminin etkilendiğini göstermiştir. Kesin teratojenik diklofenak sodyumun mekanizması net değildir; bu nedenle araştırılmalıdır.

Çetinkal vd. (2010) erken dönem civciv embriyo modelinde meloksikamın nöral tüp gelişimine etkilerini belirlemek için yaptıkları çalışmada, her grupta 25 adet olmak üzere 100 adet olan 65 ± 5 gr ağırlığında SPF yumurtalara 2,2 mg/kg, 5,5 mg/kg ve 11 mg/kg

olarak üç farklı dozda meloksikamı embriyonik disk sahasının alt kısmına enjekte etmişlerdir. Meloksikamın yüksek dozlarda erken dönem tavuk embriyosunda nöral tüp defekti insidansını arttırdığını ve embriyolojik gelişimi yavaşlattığını saptamışlardır. Ancak düşük dozlarda kullanımı ile ilgili daha geniş denek sayısına ve daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu belirterek net bir sonuç ortaya koymamışlardır.

Sunulan bilgiler ışığında, Metronidazol adlı bir antibiyotiğin nöral tüp gelişimine olan etkilerini araştırmak ve tezimizi desteklemek amacıyla bir çalışma yürütmek istedik. Yapılan deneyimizde 25 yumurta kullanılmış olup, bu sayı diğer benzer çalışmalardan farklı olarak genellikle 8-10 yumurta arasında değişmektedir. Kanatlı yumurtaları üzerinde gerçekleştirilen bu tür çalışmalarda, test maddesinin uygun bir çözücüde çözünmesi kritik bir öneme sahiptir. Bu nedenle, steril distile su çözücü olarak tercih edilmiştir. Yapılan literatür taraması, deneyimizin önceki araştırmalarla benzerlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu durum, kullanılan yöntemin geçerliliğini ve güvenilirliğini desteklerken, elde edilen sonuçların daha geniş bir bağlamda değerlendirilmesini sağlamaktadır.

Nöral tüp defektlerine neden olan çeşitli ajanlar, farklı yöntemlerle araştırılmıştır. Antibiyotik grubuna ait metronidazol 'ün nöral tüp gelişimine etkileri hakkında yapılan ilk spesifik tavuk embriyo çalışmasıdır.

7. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmada kullanılan metronidazol 'ün civciv embriolarında nöral tüp defektine sebep olmadığı kanısına varılmıştır. Bulgular, deney grupları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığını göstermiştir ($p>0.05$). Bu bulgular sonucu belirtilen dozlarda metronidazol 'ün embriyo gelişimi veya somit sayısı üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı saptandı. Diğer birçok çalışmadan farklı olarak, bu çalışma metronidazol 'ün doz arttıkça nöral tüp kapanması üzerine etkisi olduğunu göstermektedir. Gelecekte, gelişim sürecinin uzatılması ve aynı maddenin etkilerinin daha detaylı bir şekilde incelenmesiyle daha nitelikli sonuçlar elde edilebileceği düşünülmektedir. Dolayısıyla, bu çalışmanın sonuçlarına göre, metronidazol 'ün embriyotoksik risk oluşturma potansiyelinin düşük olduğu söylenebilir. Çalışmanın civciv embriyo modelinde gelişim sürecinin uzatılarak takip edilip aynı maddenin etkileri incelenirse daha nitelikli sonuçlar elde edileceği düşünülmektedir.

8. KAYNAKLAR

- Aksoy, K., & Temel, N. (2005). *Nöroşirürji*. (2005). TND Yayınları.
- Andacht, T., Hu, W., & Ivarie, R. (2004). Rapid and improved method for windowing eggs accessing the stage X chicken embryo. *Molecular Reproduction and Development*, 69(1), 31-34.
- Au, K. S., Koch, A. A., & Northrup, H. (2010). Epidemiologic and genetic aspects of spina bifida and other neural tube defects. *Developmental Disabilities*, 16, 6-15.
- Baggot, J. D., Wilson, W. D., & Hietala, S. (1988). Clinical pharmacokinetics of metronidazole in horses. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 11(5), 417-420.
- Beksaç, M. S., Demir, N., Koç, A., & Yüksel, A. (2001). *Maternal-Fetal Tıp ve Perinatoloji Ders Kitabı*, 292-295.
- Berg, K. F., Oppen, A. C. C. V., Holthe, W., & Schielen, P. C. J. I. (2007). Neural tube defects associated with prenatal exposure to antiepileptic drugs. *Reproductive Toxicology*, 24, 57-80.
- Boothby, L. A., & Doering, P. L. (2001). FDA labeling system for drugs in pregnancy. *Annals of Pharmacotherapy*, 35(11), 1485-1489. doi:10.1177/106002801103501124.
- Cheng, B., Li, F. T., & Lin, L. (2012). Diastematomyelia: A retrospective review of 138 patients. *Journal of Bone and Joint Surgery. British Volume*, 94(3), 365-372.
- Colas, J. F., & Schoenwolf, G. C. (2001). Towards a cellular and molecular understanding of neurulation. *Developmental Dynamics*, 221(2), 117-145.
- Committee on Developmental Toxicology, National Research Council. (2000). *Scientific Frontiers in Developmental Toxicology and Risk Assessment*. National Academic Press.
- Copp, A. J., Brook, F. A., Estibeiro, J. P., Shum, A. S., & Cockroft, D. L. (1990). The embryonic development of mammalian neural tube defects. *Progress in Neurobiology*, 35, 363-403.
- Coxon, A., & Pallis, C. A. (1976). Metronidazole neuropathy. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 39(4), 403-405.
- Cragan, J. D., Roberts, H. E., Edmonds, L. D., Khoury, M. J., Kirby, R. S., Shaw, G. M., ... & Williamson, R. A. (1995). Surveillance for anencephaly and spina bifida and the impact of prenatal diagnosis: United states. *Surveill Summ*, 44(4), 1-13.
- Çelik, I., Oguz, H., Demet, Ö., Boydak, M., Dönmez, H. H., Sur, E., & Nizamlioglu, F. (2000). Emryotoxicity assay of aflatoxin produced by *Aspergillus parasiticus* Nrrl 2999. *British Poultry Science*, 41(4), 401-409.

- Daly, S., & Scott, J. M. (1998). The prevention of neural tube defects. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 10(2), 85-89.
- Davies, W. J., & Freeman, S. J. (1995). Chick embryotoxicity screening test (CHEST I and II). *Methods in Molecular Biology*, 43, 307-310.
- de Bakker, B. S., Driessen, S., Boukens, B. J. D., van den Hoff, M. J. B., & Oostra, R. J. (2017). Single-site neural tube closure in human embryos revisited. *Clinical Anatomy*, 30(7), 988-999.
- Detrait, E. R., George, T. M., Etchevers, H. C., Gilbert, J. R., Vekemans, M., & Speer, M. C. (2005). Human neural tube defects: Developmental biology, epidemiology, and genetics. *Neurotoxicology and Teratology*, 27(3), 515-524.
- Drapkin, A. J. (1990). Rudimentary cephalocele or neural crest remnant. *Neurosurgery*, 26, 667-674.
- Duband, J. L., Monier, F., & Delannet, M. (1995). Epithelium-mesenchyme transition during neural crest development. *Acta Anatomica*, 154, 63-78.
- Duffy, L. F., Daum, F., Fisher, S. E., et al. (1985). Peripheral neuropathy in Crohn's disease patients treated with metronidazole. *Gastroenterology*, 88(3), 681-684.
- Elwood, J. M., Little, J., & Elwood, J. H. (1992). *Epidemiology and control of neural tube defects*. Oxford University Press, 442-444.
- Engel, R., & Buchan, G. C. (1974). Occipital encephaloceles with and without visual evoked potentials. *Archives of Neurology*, 30, 314-318.
- Ermiş, B. H., & Erdoğan, C. (2001). Bölüm 11a: Merkezi Sinir Sistemi Anomalileri. In M. S. Beksaç, N. Demir, A. Koç, & A. Yüksel (Eds.), *Obstetrik Maternal-Fetal Tıp & Perinataloji* (pp. 283-299). Ankara.
- Fenichel, M. G. (2005). Disorders of cranial volume and shape. *Clinical Pediatric Neurology*, 5th Edition, 364-367.
- Fishman, M. A. (2000). Birth defects and supplemental vitamins. *Current Treatment Options in Neurology*, 2, 117-122.
- French, B. N. (1982). Midline fusion defects and defects of formation. In Youmans JR (Ed.), *Neurological Surgery* (pp. 1236-1380). Philadelphia: WB Saunders Co.
- French, B. N. (1990). Midline fusion defects and defects of formation. In J. R. Youmans (Ed.), *Neurological Surgery* (3rd ed., pp. 1081-1095). W.B. Saunders Company.

- Frey, L., & Hauser, A. W. (2003). Epidemiology of Neural Tube Defects. *Epilepsia*, 44(3), 4-13.
- Fuchs, H. E. (1997). Congenital abnormalities. In D. C. Sabiston (Ed.), *Textbook of Surgery* (15th ed., pp. 1374-1381). W.B. Saunders Company.
- Gammill, L. S., & Bronner-Fraser, M. (2002). Genomic analysis of neural crest induction. *Development*, 129, 5731-5741.
- Golalipour, M. J., Najafi, L., & Keshtkar, A. A. (2010). Prevalence of anencephaly in Gorgan, Northern Iran. *Archives of Iranian Medicine*, 13(1), 34-37.
- Gökalp, H. Z., & Erongun, U. (1988). Spinal disrafizm. *Nöroşürüjî ders kitabı*, 295-313.
- Grossman, R. G., & Loftus, C. M. (1999). *Principles of neurosurgery* (2nd ed.). Lippincott-Raven.
- Guirguis, S. S., Pelmeur, P. L., Roy, M. L., & Wong, L. (1990). Health effects associated with exposure to anesthetic gases in Ontario hospital personnel. *British Journal of Industrial Medicine*, 47, 490-497.
- Gupta, P. (2004). Neural tube defects and Folic Acid. *Indian Pediatrics*, 41(5).
- Hall, W. A., Albright, A. L., & Brunberg, J. A. (1988). Diagnosis of tethered cords by magnetic resonance imaging. *Surgical Neurology*, 30, 60-64.
- Hamburger, V., & Hamilton, H. L. (1951). A series of normal stages in the development of the chick embryo. *Developmental Dynamics*, 195(4), 231-272.
- Hamilton, J. V., Denison, M. S., & Bloom, S. E. (1983). Development of basal and induced aryl hydrocarbon (benzo(a)pyrene) hydroxylase activity in the chick embryo in ovo *Proc Natl Acad Sci USA*, 80, 3372-3376.
- Jelinek, R. (1977). The chick embryotoxicity screening test (CHEST). In D. Neubert, H. J. Merker, & T. E. Kwasigroch (Eds.), *Methods in prenatal toxicology* (pp. 381-386). Stuttgart: Thieme.
- Jelinek, R., & Marhan, O. (1994). Validation of the chick embryotoxicity screening test (CHEST): A comparative study. *Functional Developmental Morphology*, 4, 317-323.
- Kadanalı, S. (1992). *Uzmanlık Tezi. Türkiye’de Nöral Tüp Defekti İnsidansı*.
- Larsen W.J., *Human Embryology; 2nd Edition*, Churchill Livingstone, New York: 19-106, 1997.
- Larsen, W. J. (1997). *Human Embryology* (2nd ed.). Churchill Livingstone.

- Loeken, M. R. (2005). Current perspectives on the causes of neural tube defects resulting from diabetic pregnancy. *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics*, 135C(1), 77-87.
- Luepke, N., & Kemper, F. (1986). The HET-CAM test: An alternative to the Draize eye test. *Food & Chemical Toxicology*, 24, 495–496.
- Lundberg, Y. W., Wing, M. J., Xiong, W., Zhao, J., & Finnel, R. H. (2003). Genetic dissection of hyperthermia-induced neural tube defects in mice. *Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology*, 67(6), 409-413.
- Mapstone, T. B. (1994). Management of tethered spinal cord. *Neurosurgery Quarterly*, 4(2), 82-91.
- Miller, L. D. (1962). The distribution, metabolism, and excretion of phenylramidol in the dog. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 4, 190-199.
- Mitchell, L. E., Adzick, S. N., Melchionne, J., et al. (2004). Spina bifida. *The Lancet*, 364, 1885-1895.
- Molloy, A., Daly, S., Mills, J. L., et al. (1997). Thermolabile variant of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase associated with low red-cell folates: Implications to folate intake recommendations. *Lancet*, 349, 1591-1593.
- Morris, S. E., Thomson, A. O., Jarup, L., de Hoogh, C., Briggs, D. J., & Elliott, P. (2003). No excess risk of adverse birth outcomes in populations living near special waste landfill sites in Scotland. *Scottish Medical Journal*, 48, 105–107.
- Munoz, J., Lacasana, M., Borja Aburto, V. H., Torres Sanchez, L. E., Garcia, A. M., & Lopez Carrillo, L. (2005). Socioeconomic factors and the risk of anencephaly in a Mexican population: A case-control study. *Public Health Reports*, 120, 39–45.
- Neyzi, O., & Ertuğrul, T. (2002). Merkezi sinir sisteminin gelişim bozuklukları. *Pediatri*, 3. Baskı (Ed. Apak, S.), 1338-1341.
- Nishigori, H., Mizumura, M., & Iwatsuru, M. (1992). The hen's fertile egg screening test (HEST): A comparison between the acute toxicity for chick embryos and rodents of 20 drugs. *Cellular Biology and Toxicology*, 8(4), 255-265.
- O'Rahilly, R., & Müller, F. (2007). The development of the neural crest in the human. *Journal of Anatomy*, 211(3), 335-351.
- Öznurlu, Y., Celik, I., Sur, E., Ozaydin, T., Oğuz, H., & Altunbaş, K. (2012). Determination of the effects of aflatoxin B1 given in ovo on the proximal tibial growth plate of broiler chickens:

- Histologic, histometric and immunohistochemical findings. *Avian Pathology*, 41(5), 469-477.
- Özparlak, H. (2006). Yumurtaya Verilen Organik İnkstisit Fipronil'in Tavukların Embriyonik ve Kuluçka Sonu Erken Dönem Gelişim Üzerindeki Zararlı Etkilerinin Belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi, Doktora Tezi. Konya.
- Özcan İ. H., 2019, Konjenital Nöral Tüp Defektli Bebeklerin Retrospektif Olarak İncelenmesi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi / Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi / Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, Uzmanlık Tezi, 41s, Erzurum.
- Padmanabhan, R. (2006). Etiology, pathogenesis and prevention of neural tube defects. *Congenital Anomalies*, 46, 55–67.
- Padmanabhan, R. (2006). Etiology, pathogenesis and prevention of neural tube defects. *Congenital Anomalies*, 46(2), 55-67.
- Persaud, M. (2002). İnsan Embriyolojisi (6. Baskı). Nobel Tıp Kitabevi.
- Pitkin, R. M. (2007). Folate and neural tube defects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 85(1), 285.
- Prelusky, D. B., Hamilton, R. M. G., Foster, B. C., Trenholm, H. L., & Thompson, B. K. (1987). Optimization of chick embryotoxicity bioassay for testing toxicity potential of fungal metabolites. *Journal of the Association of Analytical Chemists*, 70(6), 1049-1055.
- Pungavkar, S. A., Sainani, N. I., Karnik, A. S., Mohanty, P. H., Lawande, M. A., et al. (2004). Antenatal diagnosis of iniencephaly: Sonographic and MR correlation: A case Report. *Korean Journal of Radiology*, 8, 351-355.
- Radmanesh, F., Nejat, F., & El Khashab, M. (2010). Dermal sinus tract of the spine. *Child's Nervous System*, 26(3), 349-357. doi:10.1007/s00381-009-0962-z
- Ray, J. G., Vermeulen, M. J., Meier, C., & Wyatt, P. R. (2004). Risk of congenital anomalies detected during antenatal serum screening in women with pregestational diabetes. *QJM*, 97, 651–653.
- Rhoads, G. G., & Mills, J. L. (1986). Can vitamin supplements prevent neural tube defects? Current Evidence an Ongoing investigations. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 29, 569-576.
- Riegel, D. H. (2001). Myelomeningocele repair. In *Pediatric Neurosurgery, Surgery of the developing Nervous System* (pp. 261-265). Fourth ed. W.B. Saunders Company.

- Romanoff, A. L. (1997). Life in Twenty-one Days. Extension Bulletin, 205. Retrieved from <http://www.msstate.edu/dept/poultry/avianemb.htm>
- Rothman, K. J., Moore, L., & Singer, R. M. (1993). Teratogenicity of high vitamin A intake. The New England Journal of Medicine, 333(21), 1369-1373.
- Sadler, T. W. (1996). Langman's Medikal Embriyoloji (7. Baskı). Palme Yayıncılık.
- Sadler, T. W. (2005). Embryology of neural tube development. American Journal of Medical Genetics. Part C, Seminars in Medical Genetics, 135C(1), 2-8.
- Schoenwolf, G. C., & Smith, J. L. (1990). Mechanism of neurulation: Traditional viewpoint and recent advances. Development, 109(2), 243-270.
- Shaw, G. M., Nelson, V., & Olshan, A. F. (2002). Paternal occupational group and risk of offspring with neural tube defects. Paediatric and Perinatal Epidemiology, 16, 328-333.
- Shepard, T. H., Brent, R. L., & Friedman, J. M. (2002). Update on new developments in the study of human teratogens. Teratology, 65, 153-161.
- Sur, E., & Celik, I. (2003). Effects of aflatoxin B1 on the development of the bursa of Fabricius and blood lymphocyte acid phosphatase of the chicken. British Poultry Science, 44(4), 558-566.
- Tinkle, M. B., & Sterling, B. S. (1997). Neural tube defects: A primary prevention role for nurses. Journal of Obstetric, Gynecologic, and Neonatal Nursing, 26(5), 503-523.
- Tinkle, M. B., & Sterling, B. S. (1997). Neural tube defects: A primary prevention role for nurses. Journal of Obstetric, Gynecologic, and Neonatal Nursing, 26(5), 503-523.
- Tunçbilek, E., Boduroğlu, K., & Alikasıfoğlu, M. (1996-1999). Neural tube defects in Turkey: prevalence, distribution and risk factors. Turkish Journal of Pediatrics, 41, 299-305.
- Tureci, E., Asan, Z., Eser, M., Tanriverdi, T., Alkan, F., & Erdinçler, P. (2011). The effects of valproic acid and levetiracetam on chicken embryos. Journal of Clinical Neuroscience, 18(6), 816-820.
- Turan, J. M., Say, L., & Bulut, A. (2000). Nöral tüp defektlerinin folik asit kullanımı. Sürekli tıp eğitim dergisi, Ağustos, 1-650.
- Türk Nöroşirurji Derneği yayımları (1985). Temel Nöroşirurji Cilt 2. Editör: Kaya AKSOY.
- Türkoğlu, M., & Sarıca, M. (2004). Tavukçuluk Bilimi. Bey Ofset, 336. Ankara.

- Ünlü, A. (2002). Methods of developmental research. *Acta Neurochirurgica Supplement*, 83, 71-78.
- Veselý, D., & Veselá, D. (1991). Use of chick embryos for prediction of embryotoxic effects of mycotoxins in mammals. *Veterinary Medicine (Praha)*, 36(3), 175-181.
- Vrijheid, M., Dolk, H., & Armstrong, B. (2002). EUROHAZCON collaborative group. Hazard potential ranking of hazardous waste landfill sites and risk of congenital anomalies. *Occupational and Environmental Medicine*, 59, 768-776.
- Whorton, D., Krauss, R. M., & Marshall, S. (1977). Infertility in male pesticide workers. *Lancet*, 2, 1259-1261.
- Wolf, T., & Luepke, N. P. (1997). Formation of micronuclei in incubated hen's eggs as a measure of genotoxicity. *Mutation Research*, 394(1-3), 163-175.
- Yerby, M. S. (2003). Clinical care of pregnant women with epilepsy: Neural tube defects and folic acid supplementation. *Epilepsia*, 44(Suppl. 3), 33-40.