



T.C.

S.B. ANKARA DIŞKAPI YILDIRIM

BEYAZIT EĞİTİM VE

ARAŞTIRMA HASTANESİ

BEYİN CERRAHİSİ KLİNİĞİ

İDARİ VE EĞİTİM SORUMLUSU: Prof. Dr. Behzat Rüçhan ERGÜN

**FLURBİPROFENİN ERKEN DÖNEM CİVCİV
EMBRİYOSUNDA ANENSEFALİ OLUŞUMUNA ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr.Ersin ÖZEREN

UZMANLIK TEZİ

ANKARA

2012



T.C.

S.B. ANKARA DIŞKAPI YILDIRIM BEYAZIT EĞİTİM VE

ARAŞTIRMA HASTANESİ

BEYİN CERRAHİSİ KLİNİĞİ

Klinik şefi: Prof. Dr. Behzat Rüçhan ERGÜN

**FLURBİPROFENİN ERKEN DÖNEM CİVCİV
EMBRİYOSUNDA ANENSEFALİ OLUŞUMUNA ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Ersin ÖZEREN

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Op. Dr. M. Engin ŞENVELİ

ANKARA

2012

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bizlere bilgi, beceri ve deneyimleriyle yol gösteren, tecrübelerini sevgiyle aktaran, her istediğimizde bize zaman ayırabilen ve iyi çalışma ortamı sağlayan sayın hocam Prof.Dr. Murad Bavbek'e, Prof. Dr.Zeki Şekerci'ye, Prof.Dr. Behzat Rüçhan Ergün'e, Prof. Dr.Deniz Belen'e,

Tez çalışmam boyunca beni yönlendiren, çalışmamın her aşamasında bana destek olan ve bana yeni bir bakış açısı kazandıran, tez danışmanım Op. Dr. M.Engin Şenveli' ye,

Asistanlığım süresince birlikte çalışmaktan gurur duyduğum Op. Dr Levent Gürses'e Doç. Dr.Uygur Er'e, Doç Dr. Hakan Seçkin'e, Doç. Dr Serkan Şimşek'e, Op. Dr. Mehmet Sorar'a,

Birlikte çalıştığım değerli asistan arkadaşlarıma, Beyin Cerrahi Kliniği'nde yoğun tempoyla birlikte çalıştığımız tüm hemşire, sağlık memuru ve personel arkadaşlara,

Büyük emek ve sevgiyle beni bugünlere getiren aileme, benimle her türlü güzelliği, zorluğu paylaşan, hayatımın her anında yanımda hissettiğim sevgili eşim Funda'ya ve biricik kızım Rüya'ya,

Teşekkür Ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
TABLolar DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ.....	vii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. TARİHÇE.....	3
2.2. İNSAN EMBRİYOLOJİSİ.....	7
2.2.1. Embriyonik dönem	7
2.3. NÖRAL TÜP DEFEKTLERİ.....	15
2.3.1. Normal Tüp Birleşmesinde Kapanma Bölgeleri.....	17
2.3.2. Nöral Tüp Defekti Sınıflandırması	18
2.3.2.1. Nörülasyon defektleri.....	18
2.3.2.1.1. Meningomyelosel	18
2.3.2.1.2. Myelosel	19
2.3.2.2. Nörülasyon aşamasından sonra meydana gelen defektler.....	19
2.3.2.2.1. Kranial	19
2.3.2.2.1.1. Mikrosefali.....	19
2.3.2.2.1.2. Hidranensefali.....	19
2.3.2.2.1.3. Haloprozensefali	19
2.3.2.2.1.4. Lizenensefali (bkz 21)	20
2.3.2.2.1.5. Porensefali	20
2.3.2.2.1.6. Korpus kallosum agenezisi	20
2.3.2.2.1.7. Serebellar hipoplazi/Dandy Walker sendromu	20
2.3.2.2.1.8. Megaloensefali.....	20
2.3.2.2.2. Spinal.....	21
2.3.2.2.2.1. Diastometamyeli, diplomyeli.....	21

2.3.2.2.2. Hidromyeli/sirengomyeli	21
2.3.3. Migrasyon Anomalileri	21
2.3.3.1. Lizenfali	21
2.3.3.2. Heterotropi	22
2.3.3.3. Şizenfali	22
2.3.4. Anenfali	22
2.3.4.1. Anenfali tipleri	24
2.4. TAVUK EMBRİYOSU GELİŞİMİ	26
2.4.1. Kuluçka Makinasında Embriyo Gelişimi	27
2.4.2. Kuluçkalık Yumurta Seçimi	28
2.4.2.1. Dış özellikleri	29
2.4.2.2. İç özellikleri	29
2.4.3. Kuluçkalık Yumurtaların Saklama Koşulları	30
2.4.4. Kuluçka Koşulları	30
2.4.4.1. Sıcaklık	30
2.4.4.2. Nem	31
2.4.4.3. Havalandırma	31
2.4.4.4. Çevirme	31
2.4.5. Özel Patojen Bulunmayan (Spf - <i>Specific Patogen Free</i>) Yumurta	32
2.4.6. Hamburger - Hamilton Sınıflaması	32
2.5. FLURBİPROFEN	33
2.5.1. Farmakodinamik Özellikleri	33
2.5.2. Farmakokinetik Özellikler	34
2.5.2.1. Emilim	34
2.5.2.2. Dağılım	35
2.5.2.3. Eliminasyon	35
2.5.2.4. Kullanım şekli	35
2.5.2.5. Gebelik ve laktasyon	36
2.5.2.6. İstenmeyen etkiler	36
2.5.2.7. Kontrendikasyonlar	37
2.5.2.8. İlaç etkileşimleri	38
2.5.2.9. Doz aşımı ve tedavisi	39

3.GEREÇ VE YÖNTEM	40
3.1. DENEY MATERYALİ	40
3.2. DİĞER GEREÇLER	40
3.3. YÖNTEM	41
3.4. PARAFİN DOKU TAKİBİ	44
3.5. HEMATOKSİLEN – EOZİN BOYAMASI	45
4. BULGULAR	46
4.1. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	51
5. TARTIŞMA	52
ÖZET	56
ABSTRACT	58
KAYNAKLAR	60
EKLER	72
Ek-1. Carneige evrelemesi (O’Rahilly R)	72
Ek-2. Bazı ilaçlar ve enfeksiyon ajanlarının teratojenik etkileri	73
Ek-3. Hamburger Hamilton sınıflaması	74
Ek-4. ABD Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration, FDA)'nce 1979'da ortaya konmuş sınıflamasıdır.	75

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 1. Blastokistin şematik görünümü.....	8
Şekil 2. İmplantasyon aşamasındaki blastokist	8
Şekil 3. Cıvciv embriyonik gelişiminde gastrulasyon aşaması.....	10
Şekil 4. Beyin gelişiminin yandan görünümü.	14
Şekil 5. İnsan embriyosunda nörulasyon;	15
Şekil 6. Çoklu kapanma defektlerine örnekle	17
Şekil 7. Flurbiprofen'in enantiomeri ile yapısal formülü;	33
Şekil 8. NSAİD'ların prostaglandin oluşumunda inhibisyon basamağı	34

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 1. Nöral tüp birleşmesindeki kapanma bölgeleri ve etkileyen faktörler.....	18
Tablo 2. Çalışma grupları	43
Tablo 3. Hematoksilen eosin boyama aşamaları.....	45



RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No:

Resim 1.	Leonardo da Vinci'nin uterus içinde fetus çizimi	4
Resim 2.	Girolamo Fabricius'un <i>De Formato Foetu</i> '' adlı kitabından.	4
Resim 3.	Bilaminar embriyo formasyonu	9
Resim 4.	Somitlerin elektron mikroskopik ve ışık mikroskopik görünümü	9
Resim 5.	İnsan embriyosunun 26-27.günü elektron mikroskopik resmi.	11
Resim 6.	Nöral plağın kıvrımlarının nöral tüp oluşturacak şekilde kıvrılması	12
Resim 7.	Embriyonun tipik C şeklini aldıktan sonraki görünümü.....	13
Resim 8.	Carnegie evre 13, median histopatolojik kesiti.	14
Resim 9.	Anensefalili hasta bebek.....	23
Resim 10.	Anensefalili doğmuş yenidoğan.....	25
Resim 11.	İnsan embriyosunda kraniyal NTD (Anensefali) sınıflaması.....	26
Resim 12.	Kuluçka makinası	28
Resim 13.	Deney aşamaları.	42
Resim 14.	48.saatteki civciv embriyosunun şematik çizimi ve ışık mikroskopik görüntüsü.....	46
Resim 15.	Kapalı nöral tüp görünümü	47
Resim 16.	Normal serebral gelişimini sürdüren embriyonun 48. saat ışık mikroskopik görüntüsü.....	48
Resim 17.	Civciv embriyosunun Torakal bölgesinin 48. Saatteki görüntüsü	49
Resim 18.	Civciv embriyosunun lumbosakral bölgenin 48. Saatteki görüntüsü.....	49
Resim 19.	Anensefalik ve normal civciv embriyosun ışık mikroskopik görüntüleri	50
Resim 20.	Anensefalik ve normal civciv embriyosun ışık mikroskopik histopatolojik görüntüleri.	50

1.GİRİŞ

Konjenital anomaliler; bir fetusün yapısı ve şeklinin anormal olması ya da standart tipten herhangi bir şekilde sapmasıdır. Konjenital anomaliler başlıca majör ve minör olmak üzere ikiye ayrılır. Major anomaliler, normal yaşam beklentisini azaltacak ya da fonksiyonları kısıtlayacak kadar ciddi deforme el bileği, ekstremiteler defekti, nörofibromlar gibi anatomik anomalilerdir. Minör anomali ise tanınal önemine rağmen, bireye daha az kısıtlama getiren klinodaktili, uzun kemerli burun, tek palmar çizgi gibi müdahale gerektirmeyen ya da basit müdahale ile kalıcı hasar bırakmadan düzeltilebilen yapısal değişikliklerdir (79).

Konjenital malformasyon ise bir organın bir kısmının ya da vücudun büyük bir kısmının, başlangıçtan itibaren anormal gelişimi sonucu ortaya çıkan morfoloji defektidir. Buna en iyi örnek nöral tüp defektidir (NTD) (79).Doğumsal santral sinir sistemi anomalileri, konjenital kardiyovasküler anomalilerden sonra en sık görülen anomalilerdir (109). NTD, santral sinir sisteminin heterojen ve kompleks konjenital malformasyonudur. Konjenital malformasyonların sebepleri multifaktöryel olup, büyük bir kısmının nedeni bilinmemektedir. Bilinen en sık nedenler ise genetik etmenler, çevresel etmenler ve teratojen ilaçlardır.

Anensefali NTD'nin en ciddi türlerinden biridir. Nöral tüp; beyin, kafatası ve omurga oluşumunu sağlayan bir yapıdır. Nöral tüpün sefalik kısmının, fetal gelişim sırasında düzgün kapanamaması durumunda anensefali oluşur. Anensefali, beyin ve kafatasının bir kısmının ya da tamamının olmaması ile sonuçlanan bir patolojidir. Anensefali olan bebekler genellikle doğum sırasında ya da yaşamın ilk birkaç saat veya gününde ölürlür. Günümüzde, anensefali için kesin olarak hiçbir neden ve tedavi yöntemi bilinmemektedir. Akraba evliliği oranı yüksek olan bazı toplumlarda, özellikle anensefalinin yaygın olduğu bildirilmiştir. Bazı çalışmalar, annenin diyeti ve vitamin alımı ile birlikte çevrenin de rol oynayabileceğini göstermiştir (3,123).

Türkiye'de NTD, konjenital anomalilerinin en ağırlarından olup epidemiyolojik bulgular, prevalansın bölgesel ve demografik özelliklere göre değiştiğini göstermektedir. Nöral tüp defekti ile ilgili Türkiye'de çeşitli illerde yapılmış çalışmaların sonuçlarına göre NTD sıklığı binde 3-5.8 arasında değişmektedir (98,109). Bu değerler, Avrupa (%0.1) ve Amerika Birleşik Devletleri (ABD) (%0.1) değerlerinden yüksektir. Bir çalışmada da nöral tüp defektleri içinde, spina bifida ve anensefali oranına bakılmış ve oran 1.20 olarak bulunmuştur (98).

Embriyonun erken dönemlerinde (ilk 28 gün), nöral tüpün kapanması gerekmektedir.

Anne tarafından gebelikten önce ya da gebelik sırasında, fetüste yapısal ya da işlevsel bozukluklara neden olan ilaç veya kimyasal madde alımı, enfeksiyon ya da radyasyon gibi faktörlerin tümü teratojen etki yapabilir. Bunlardan gebelerde ilaç ya da radyasyona bağlı teratojenik etki riskinin, yaklaşık %1 oranında olduğu bildirilmektedir. Teratojenik etki riski tam olarak bilinmeyen çok sayıda ilacın kullanıma girmesi, gebe ve fetüs sağlığı için tehdit oluşturmaktadır. Dolayısıyla çoğu kadın, daha hamile olduğunu bilmeden önce NTD riskiyle karşı karşıyadır (67).

NSAİD'lar sanayileşmiş ülkelerde en çok kullanılan ilaçlardır (20,46).

NSAİD'ların, infertilite tedavisinde endometriuma implantasyonu kolaylaştırdığı ile ilgili birtakım yayınlar mevcuttur. Buna ek olarak, uterusun kontraktilite azalmasına neden olduğu için invitro fertilizasyon (IVF) uygulamalarındaki tedavi protokollerinde yer alabilmektedirler (14,36,37,72).

Nörolasyon aşamalarının gerçekleştiği bu dönemde kullanılan NSAİD'ların konjenital malformasyon, düşük doğum ağırlıklı bebek ve erken doğum eylemine sebep olduğu bilinmektedir.

Yapılan bu çalışmada; nonselektif siklooksijenaz (COX) enzim inhibitörü olan analjezik -antienflamatuar etkili, nonsteroidal bir ilaç olan flurbiprofen'in, kranial nöral tüp defektlerinin en sık görülen tipi olan anensefali oluşumuna etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TARİHÇE

Nöral tüp defektinin varlığına dair kanıtlar, iskelet araştırmalarından elde edilen spinal kemikler üzerinde bulunan patolojik bulgulardan anlaşıldığı kadarıyla, tarih öncesi zamana dayanmaktadır (MÖ.10000).

Bilinen ilk yazılı embriyoloji bilgisi Hindu yazıtlarında saptanmıştır. Embriyoloji ile ilgili eski kısa Sanskritçe risalenin, M.Ö.1416'da yazıldığı düşünülmektedir. Garbha Upanishad, anne rahmindeki cenin gelişimini kabaca tarif etmiştir (69).

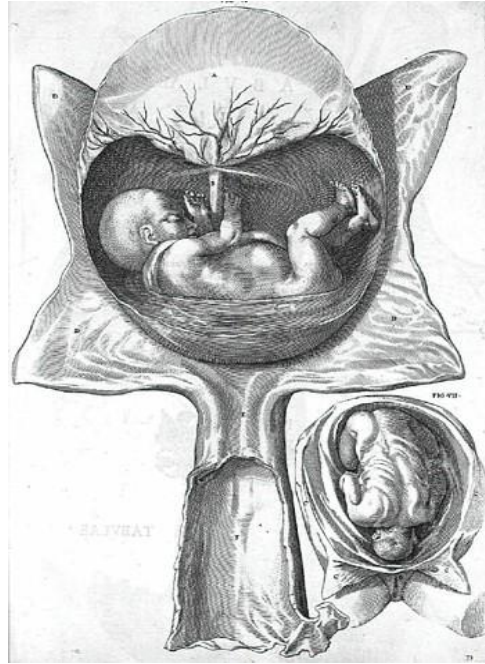
Tıbbın babası olarak kabul edilen Hipokrat'ın (M.Ö. 460-377) embriyolojiye büyük katkıları olmuştur. Kuluçkada bulunan yumurtaları inceleyerek, kuşların gelişimi ile benzer bir sürecin insanda da olduğunu belirtmiştir. Aristo (M.Ö. 384-322), civciv ve diğer embriyoların gelişimini tanımlayarak, bu konu ile ilgili bir tez yazmıştır böylece embriyolojinin babası sıfatını kazanmıştır. Onun tezi de Garbha Upanishad'ın teorisinde olduğu gibi, biçimsiz kitle gelişimi ile aynı hatalı fikri içermekteydi. Galen (M.Ö. 201-130), 'Fetüsün Oluşumu' adlı kitabında fetal membranları tanımlamıştır (33,34,49,69,83)

Orta Çağ'da kayda değer bilgileri; Constatinus Africanus (M.S. 1020-1087) "*De Humana Natura*" adlı kitabında, ay ay gebeliğin gelişimini tanımlayarak vermiştir. Rönesans'ın büyük âlimi Leonardo da Vinci, prenatal büyüme hakkında ölçüm yaparak embriyolojiye kandidatif bir yaklaşım getirmiştir (33,88). Uterus içindeki fetus çizimi bu çalışmalardan biridir (Resim 1).



Resim 1. Leonardo da Vinci'nin uterus içinde fetus çizimi

Girolamo Fabricius (1537-1619) “*De Formato Foetu*” adlı kitabında embriyo ve fetusa ait zengin çizimler yapmıştır (Resim 2). Öğrencilerinden Wiliam Harvey (1578-1657),1651’de yayınladığı “*De Generaitone Animalium*” adlı kitabında, spermin uterusa girerek yumurta ile birlikte bir değişime uğradığını öne sürmüş ve embriyolojide önemli bir aşama kaydetmiştir (33,34,69).



Resim 2. Girolamo Fabricius’un *De Formato Foetu*” adlı kitabından.

De Graaf, 1672’de ilk kez mikroskop kullanarak, tavşan uterusunda graff follikülleri görmüş ve bunları uterusun değil overlerin salgıladığını söylemiştir. Yaptığı çalışmalarla fallop tüplerinin işlevini anlamaya çalışmıştır. Marcello Malpighi civciv embriyolarını mikroskop ile incelemiştir. Civciv embriyolojisi adı altında, 1673 yılında yazdığı tarihi eserlerde, nöral kıvrımlar ve somitleri keşfetmiştir (17b). Hamm ve Leeuwenhoek 1677’de mikroskop ile sperm ve spermatozoayı incelemiştir (33,70). Caspar Friedrich Wolff, 1759’da yayınladığı “*Theoria Generationis*” adlı tezinde germ tabakası teorisi temelini atmıştır. Zigotu tanımlamış ve yeni bir dönem başlatmıştır. Heinrich Cristian Pander (1794-1865), civciv embriyoları üzerinde çalışmıştır. Belirli bir organ sistemini doğuran 3 farklı germ yaprağını keşfetmiştir. Étienne Geoffroy Saint-Hilaire (1772-1844) teratolojinin kurucusu olarak anılmıştır (41). O, Mısırdaki anensefalik mumyalar bulmuş ve bu mumyaları incelemiştir. Bunun yanında insanlarda çeşitli malformasyonlar, örneğin; anensefali, spina bifida ve yapışık ikizler ile ilgili çalışmalar yaptı. Étienne Geoffroy Saint-Hilaire, malformasyonlu civciv embriyolarının gelişimde gecikmeler olduğunu tespit etmiştir (42,70,61). İskoç kadın doğum uzmanı olan John William Ballantyne (1861-1923), embriyo ve fetüs hastalıkları patolojisi üzerinde etkili iki ciltlik bir kitap yazdı. Konjenital anomalileri önlemek için doğum öncesi bakımın öncü bir savunucusu oldu (7,16,26).

Karl Ernst von Baer, 1826 yılında memeli yumurtasını keşfetti (16).

Baer 1827’de, tuba uterinada bölünen zigotu ve uterus içinde blastokisti incelemiştir. Beynin morfolojik segmentlerini ve nöromerlerini tarif etmiştir. Dokuların ve organların gelişimi ile ilgili verdiği bilgiler O’nu modern embriyolojinin babası yapmıştır. 19. yüzyılda Alman bilim adamları Theodor Schwann ve Matthias Schleiden’in ayrı ayrı çalışmaları hücre teorisini doğurmuştur. Schleiden, 1838’de yayınladığı incelemesinde, hücrelerin nasıl oluştuğunu açıklamaya çalışmış ve hücrenin gelişmesinde çekirdeğin temel rol oynadığına ilişkin bir hipotez ileri sürmüştür (70). Alman fizikçi ve biyolog olan Rudolf Virchow 1858’de hücrelerin daima hücre bölünmesi ile çoğaldıkları fikrini genelleştirmiştir. Virchow’un bildirisi Lâtince “*omnis cellula a cellula*” olarak söylenir ve her

hücrenin başka bir hücreden geldiği anlamındadır. 3 Temel Bileşenli Hücre Teorisi artık tamamlanmıştır;

- 1- Bütün organizmalar bir veya daha fazla hücreden oluşur (Schleiden ve Schwann) (1838-1839).
2. Hücre tüm canlıların ve yaşamın temel birimidir (Schleiden ve Schwann) (1838-1839).
3. Tüm hücreler, hücrelerin önceden bölünmesi ile elde edilir (Virchow) (1858).

Wilhelm His (1831-1904), doku ve embriyo incelemesi için tespit, kesim ve boyama ile ilgili öncül teknik bilgiler vermiştir. Franklin P. Mall (1862-1917), “*Carnegie Koleksiyonu*” adlı ilk insan embriyo koleksiyonunu toplamıştır (70,82).

Gregor Mendel, 1865’de kalıtım ile ilgili temel bilgileri açıklamıştır. 1879’da Alman biyolog Walther Flemming, geliştirilmiş mercekler takılı mikroskopla, hücre bölünmesinde çekirdekte meydana gelen olayları izleyebilmiştir. Olaya iplik şeklindeki kromozomlar nedeniyle mitoz adını vermiştir. Flemming’in kromozomları inceleyerek, döllenmede rolü olduklarını ileri sürmesi ile embriyoloji ile genetik bilimi yakınlaşmaya başlamışlardır. Sutton ve Boveri, 1902’de germ hücrelerinin oluşumunda ve döllenmede kromozomların Mendel yasalarına uyduğunu söylemişlerdir. Wilhelm Roux, amfibilerin gelişim fizyolojisi üzerine analitik deneyleri başlatmış, ardından 1928 yılında bir ilk olarak amfibi embriyoları kullanarak somatik hücre nükleer transferini gerçekleştirmiştir. Bu çalışma, klonlama yolunda bir ilk hamledir (75). ve 1935 yılında Nobel Ödülü’ne layık görülmüştür (2,70).

Tijo ve Levan 1956’da insanda 46 kromozom olduğunu bildirdiler. Kromozomları oluşturan DNA’ların ortaya konmasının ardından Watson ile Crick tarafından heliks modeli tanımlandı. Genetik bilimindeki bu gelişme ile Edward B.Lewis, Christiane Nüsslein-Volhard ve Eric F. Wieschaus, embriyonik gelişimin genetik kontrolüne ilişkin keşifleri için 1995 Nobel Fizyoloji ve Tıp Ödülü

almışlardır. Bu keşif, diğer bilim adamlarının insanlarda doğum kusurlarını açıklamasına ve genleri bulmalarına yardımcı olmuştur (27).

Son bilimsel ve klinik ilerlemelere rağmen, doğru teşhis, klinik tanı ve genetik danışmanlık için gerekli olan bilgiler hala karmaşıklığını sürdürmektedir. Klinik, embriyolojik, genetik ve moleküler biyoloji ile ilgili birçok keşiflere rağmen ne yazık ki gen ekspresyonu ve hücre soyu ile ilgili çalışmalar yetersizdir (9).

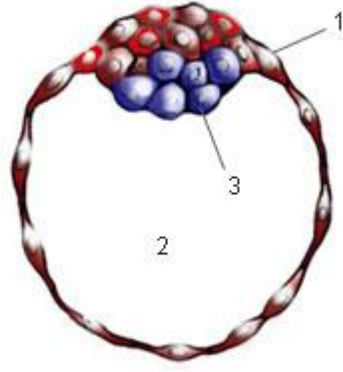
2.2. İNSAN EMBRİYOLOJİSİ

Embriyoloji, canlıların döllenmeyle oluşan zigot evresinden (döllenmiş yumurta halinden) erişkin bir canlı oluncaya kadar geçirdiği gelişim aşamalarını inceleyen bilim dalıdır. İnsan vücudunun tüm organlarının nasıl şekillendiğini, hayatın başlangıcının en erken aşamasında neler olduğunu bilmek önemlidir. Bu süreç genelde iki dönem halinde incelenmektedir. Bunlar embriyonik ve fetal dönemlerdir. Embriyonik dönem, gelişimin ilk 8 haftalık periyoduna verilen isimdir. Bu dönemi, morfolojik olarak insan formuna daha yakın olan, hızlı büyüme ve farklılaşmanın olduğu 9.haftadan doğuma kadar olan süreci kapsayan fetal dönem (3-9 ay) takip etmektedir (70). Bir hücrenin (fertilize ovum) insan organizması gibi mükemmel bir organizmaya dönüşmesi karmaşık ve uzun bir süreçtir.

2.2.1. Embriyonik dönem

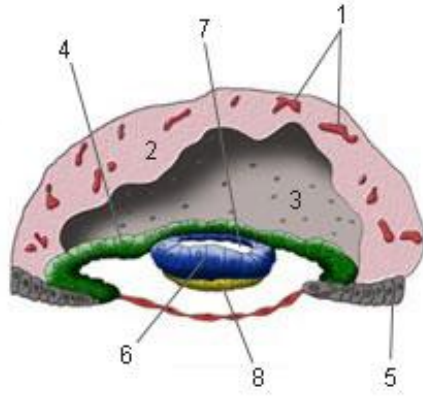
Klinik pratikte, gestasyonel yaş için sıklıkla son menstrual periodun ilk günü esas alınmaktadır. Embriyonik dönem, döllenmeden sonraki ilk 8 haftayı kapsamaktadır. Carnegie evrelemesi ise insanda embriyolojik periyodun ilk 8 haftasını 23 evreye ayırmıştır (83). (bkz; Ek-1). Embriyonik period sıklıkla 4 fazda incelenmektedir:

İlk hafta: Postfertilizasyon haftasıdır. Blastokist oluşumu tamamlanır (Carnegie evre2-4). Bu ilk haftada; gametogenez, döllenme, bölünme ve implantasyon gerçekleşir. Bu döneme aynı zamanda preimplantasyon fazı da denebilir.



1. Dış hücre kitlesi
2. Blastokist boşluğu
3. Embryoblast da deneni iç hücre kitlesi

Şekil 1. Blastokistin şematik görünümü (97).



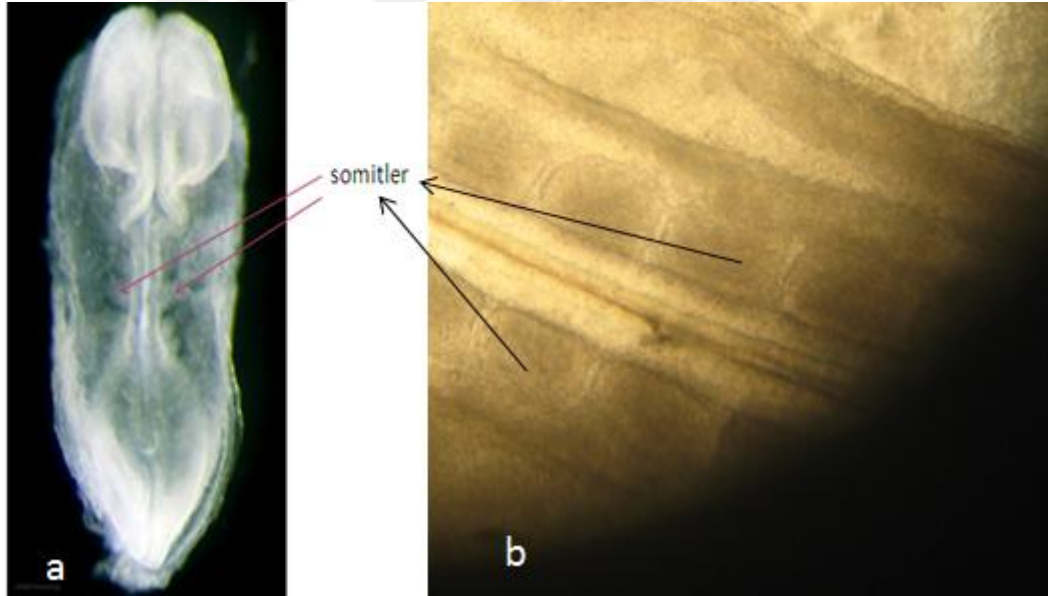
1. Kan gölcükleri
2. Endometrial stroma
3. Sinsisyotrofoblast
4. Sitotrofoblast
5. Yüzey epiteli
6. Epiblast
7. Amniotik kavite
8. Hipoblast

Şekil 2. İmplantasyon aşamasındaki blastokist (97).

İkinci hafta: İmplantasyonun gerçekleşmesi ile 2. haftaya girilir (evre5-6).Derin implantasyon devam etmektedir. İlkel çizgi belirir. Bilaminar embriyo formasyonu oluşur. Bu durum gastrulasyonun başlangıcıdır. Bu tabakalardan üsttekine epiblast, alttakine hypoblast denir. Hipoblast endoderme dönüşür. Epiblast ise ektoderm ve mezoderm olacak şekilde form alacaktır (3.hafta). Yine bu haftada iki yeni kavite oluşur. Bunlara amniotik ve koryonik kaviteler denir. Trofoblast farklılaşması başlar. Uteroplesental dolaşım başlar. Notokord ve nörülasyon oluşum süreci başlar (Evre 7-10).

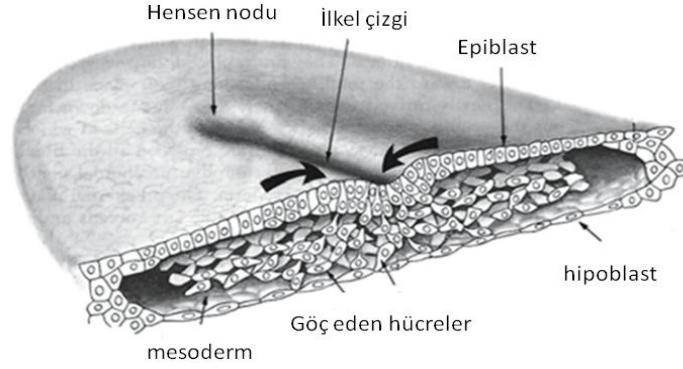


Resim 3. Bilaminar embriyo formasyonu (carnegie evre 6) (64)



Resim 4. Somitlerin elektron mikroskopik ve ışık mikroskopik görünümü

a; Carnegie evre 9 elektron mikroskopik görüntü. Somitler izlenmeye başlar. (3.hafta yaklaşık 19.ve21.günler), (64). **b;** Bizim çalışmamızdaki ışık mikroskopik somitlerin görünümü.



Şekil 3. Cıvıv embriyonik gelişiminde gastrulasyon aşaması

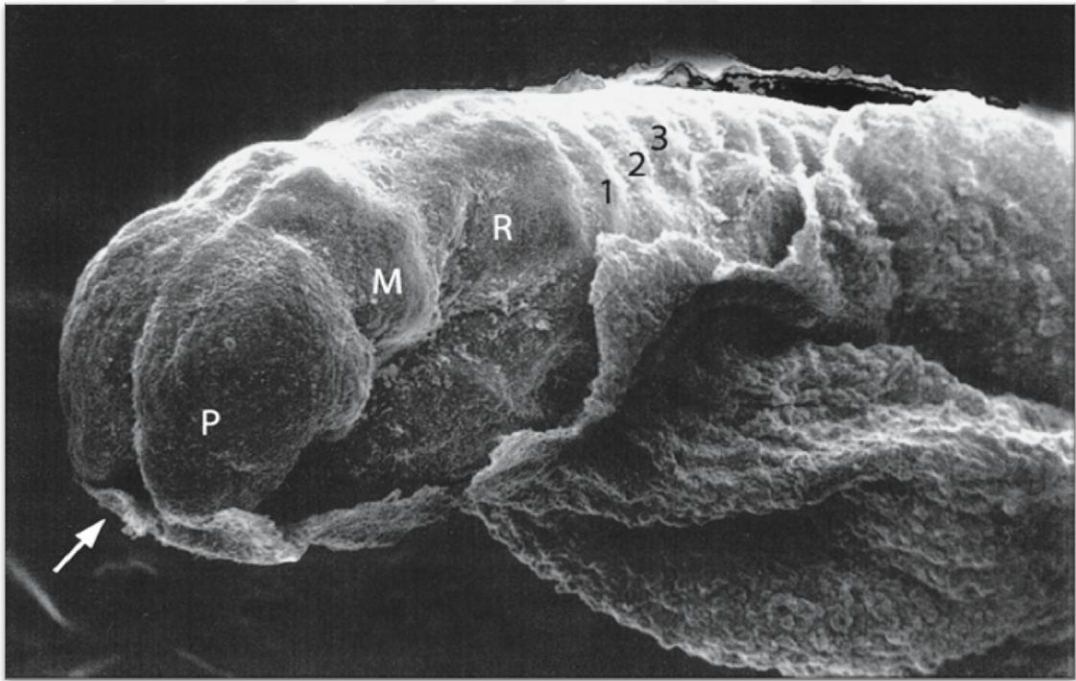
Mesoderm ve endodermin orta hattın içeriye doğru girmesi. Böylelikle ilkel çizgi oluşur. Proliferasyona uğrayan ve göç eden hücreler izlenmektedir. Sonradan mesodermi ve endodermi oluşturacak hücreler ilkel çizgi üzerinden göç etmektedirler. Endodermal hücreler hipoblast hücrelerinin yerini alır. İlkel çizginin sefalik kısmında hensen düğümü şekillenir (Balinsky 1965).

Üçüncü hafta: İlkel çizgi, notokord ve nöral tüp gelişmeye başlar. Gastrulasyon, ilkel çizginin belirmesi ile başlar. Primitif çizginin sefalik ucu genişleyerek primitif düğümü (Hensen düğümü) yapar. Epiblast hücreleri ilkel çizgi ve hensen düğümü boyunca invajine olarak endodermal ve mesodermal hücreler katlanır. Trilaminar embriyo oluşur (gastrulasyon). Üç germ yaprağı endoderm, mesoderm ve ektoderm olarak adlandırılır. Nöral plağın hücreleri nöroektodermi oluşturur (58,96).

Carnegie evrelemesine göre, evre 9'da koryonik villusler ve somitler izlenmeye başlar. Evre 10'da nöral katlantılar birleşmeye başlar. Farklı görünüşteki bu hücreler, nöroektodermin izoprizmatik biçimli diğer hücrelerinden daha yukarıya doğru yükselir. Tabaka halindeki bu oluşum, embriyonun dorsalinde gebeliğin 15.ve 16. gününde belirir ve 17. günde kenarlarındaki hücre proliferasyonu sonucu nöral oluk haline gelir. Her iki kenarda bulunan paraaksiyal mezoderm ve epitel dokusunun itme etkisi ile nöral yapılar katlanmakta ve nöral kanalı oluşturmak üzere hazırlanmaktadır.

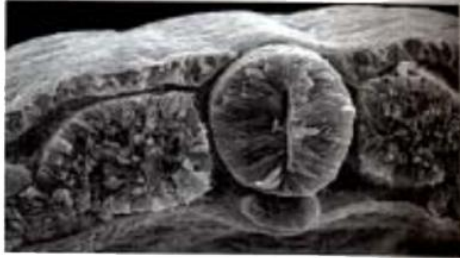
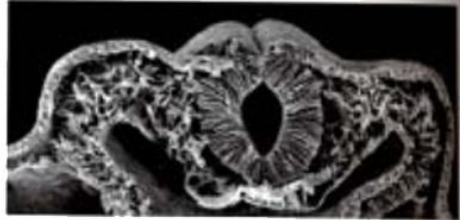
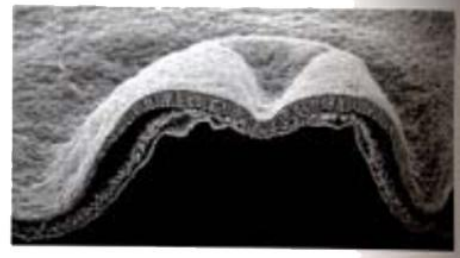
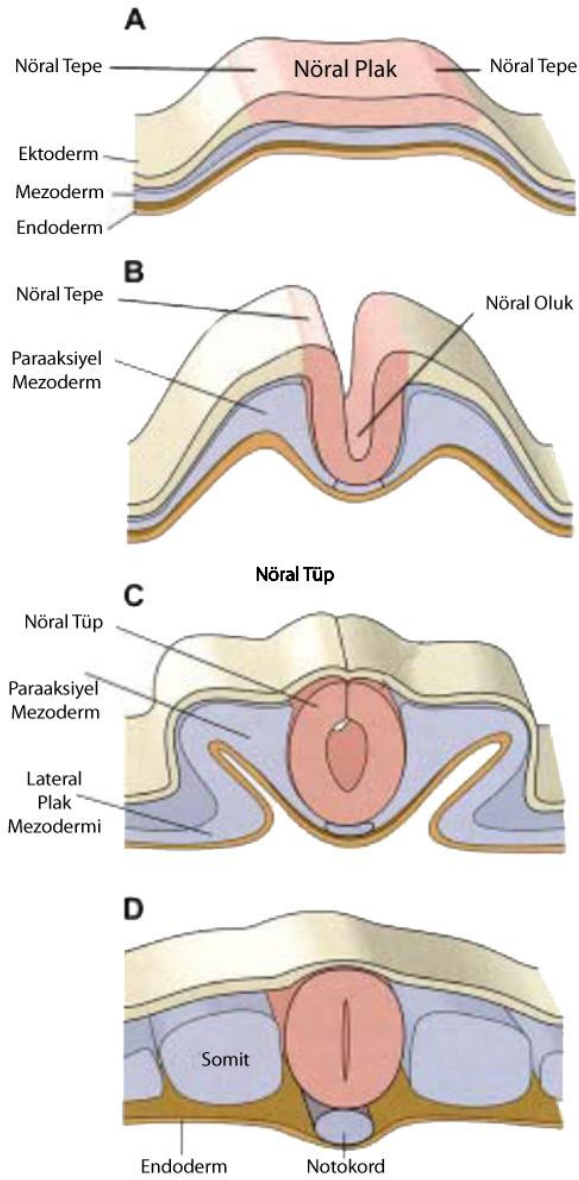
Burada aktin ve miyozin benzeri kontraktil proteinlerin, katlanmış olan tabakanın sürekliliğine yardımcı olduğu düşünülmektedir (58). Nöral plak döneminden nöral tüp ortaya çıkıncaya kadar geçen sürece nörolasyon adı verilmektedir.

Nöral tabakanın katlanması, yanlardaki hücre gruplarının her iki taraftan yükselerek katlanmasıyla oluşmaktadır. Birleşme 4.somit bölgesinden başlar. Kaudale ve rostrale doğru ilerler. Nöral tüp 19-21.günlerde şekillenir. Rostral ve kaudal nöroporlar (anterior nöropor ve posterior nöropor olarak ta isimlendirilebilirler) açıktır. Dördüncü hafta içinde, sırasıyla evre 11 (24-25. günlerde anterior nöropor) ve evre 12 (25-26. Günlerde posterior nöropor) de kapanırlar. Bu haftada meydana gelen patolojilerde beyin ve spinal kord kapanma defekleri meydana gelmektedir. Bu defekler; spinal kord, meniskler vertebral arkus, muskuler tabaka ve cildin de içinde olduğu kapanma defektleridir. Posterior nöropor kapanma defekti spina bifida, anterior nörolasyonun kapanma başarısızlığı ile sonuçlanan defekt ise anensefalidir. Anterior kapanma defekti ölümcül bir durumdur.



Resim 5. İnsan embriyosunun 26-27.günü elektron mikroskopik resmi.

Evre 11 açık rostral nöropor ok işareti ile gösterilmiş. P:porzensefalon (ön beyin),M: mesensefalon (orta beyin), R:rombensefalon (arka beyin) 1-2-3 somitler. (53).

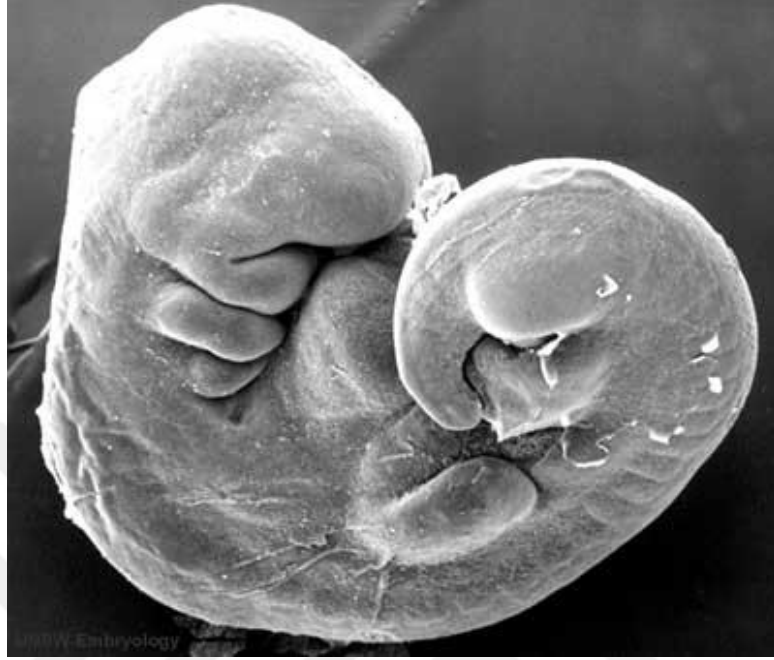


Resim 6. Nöral plağın kıvrımlarının nöral tüp oluşturacak şekilde kıvrılması (G. Schoenwolf tarafından hazırlanan civciv embriyolarının elektron mikroskopik resimleri)

- A. Nöral plak ile onun altında sıralanan ektoderm, mesoderm ve endoderm ilişkisi
- B. Nöral oluk oluşurken nöral plağın katlanması.
- C. Nöral tüpün kapanmaya devam etmesi, nöral tepelerin (neural crest) birleşimi.
- D. Nöral tüp oluşumunun tamamlanması, notokord ve paraaksiyel mesodermden kaynaklanan somitlerin pozisyonu (52).

Dördüncü ve sekizinci haftalar: İlk 5 hafta sonunda embriyo karakteristik insan şeklini alır. 3 hafta boyunca embriyo düz bir haldedir. 4. hafta içinde embriyo

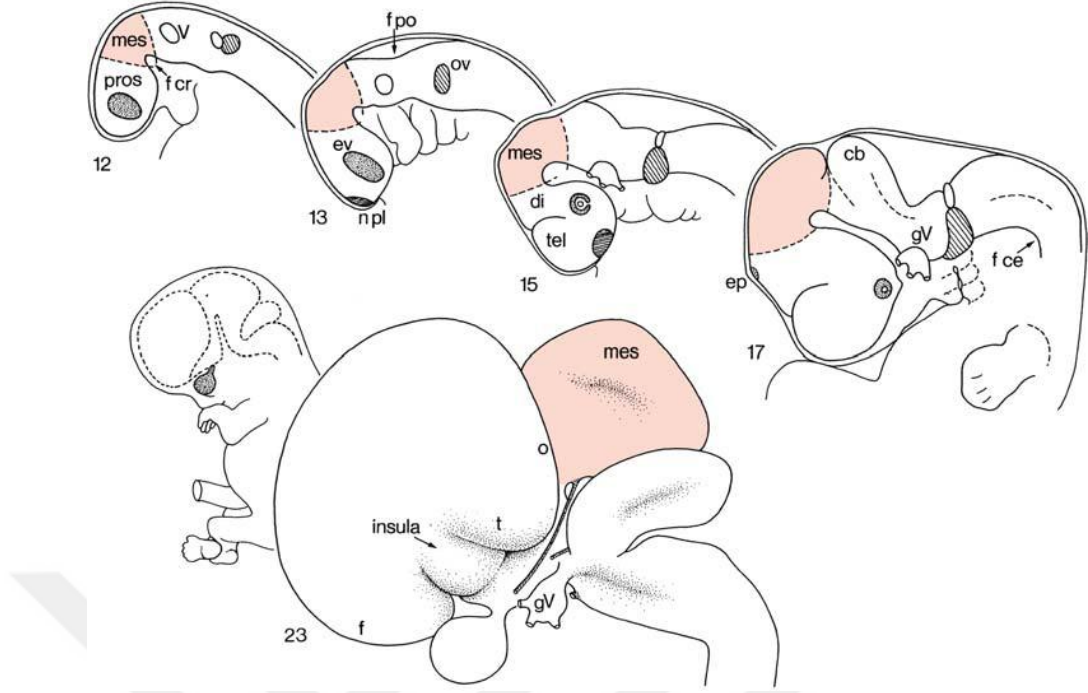
çok hızlı büyür ve silindirik olur. Omurgalı embriyolarının karakteristik C şekilli formunu alır. Bu dönemde primer organogenezis başlar (Resim 7).



Resim 7. Embriyonun tipik C şeklini aldıktan sonraki görünümü (Carnegie evre 13) (64).

Embriyolojik ilk dört hafta blastogenezis periodu, altıncı ve yedinci hafta da organogenezis periodu olarak tanımlanır (81).

Embriyonik periyotta, germ yapraklarının ayrılması ve formasyonu, takiben dorsal ve ventral indüksiyon fazları gerçekleşir. Dorsal indüksiyon fazında nöral tüp şekillenir ve kapanır. Beyin (prosensefalon, mesensefalon ve rombensefalon) nöromerleri 3 primer bölüme ayrılır. Ventral indüksiyon fazında (telensefalizasyon); serebral hemisferler, göz vezikülleri, koku tomurcuğu, pitüiter bez ve yüzün bir kısmı şekillenir. Nörogenezis, fetal dönemde büyük ölçüde oluşur. Beyin gelişiminin herhangi bir aşamasında meydana gelen aksaklıklarda patolojik durumlar ortaya çıkmaya başlar. Germ yapraklarının ayrılması esnasında enterojen kistler ve fistüller meydana gelebilir. Dorsal indüksiyon fazında meydana gelen bir aksaklık sonucu nöral tüp defekti gelişebilir. Ventral indüksiyon fazında meydana gelen bir aksaklık sonucu ise beyin hemisferinin ayrılamaması ya da kısmi ayrılma ile yüz anomalileriyle sonuçlanan, haloprozensefali gibi anomaliler ortaya çıkar. Yine bu dönemde mikrosefali, megalosefali gibi anormal nöronal proliferasyon anomalileri ve lissensefali gibi nöronal migrasyon anomalileri meydana gelebilir.



Şekil 4. Beyin gelişiminin yandan görünümü.

Carnegie evre 12, 13, 15 ve 23. Mesensefalon (mes) pembe renkle boyanarak gösterilmiştir. Serebellum (cb), diensefalon (di), epifiz (ep), göz vezikülü (ev), frontal lob (f), fleksura servikalis (f ce), fleksura kranialis (f cr), fleksura pontina (f po), trigeminal ganglion (gV), nasal plak (npl), occipital lobe (o), prosencephalon (pros), temporal lobe (t), telencephalon (tel). (84).



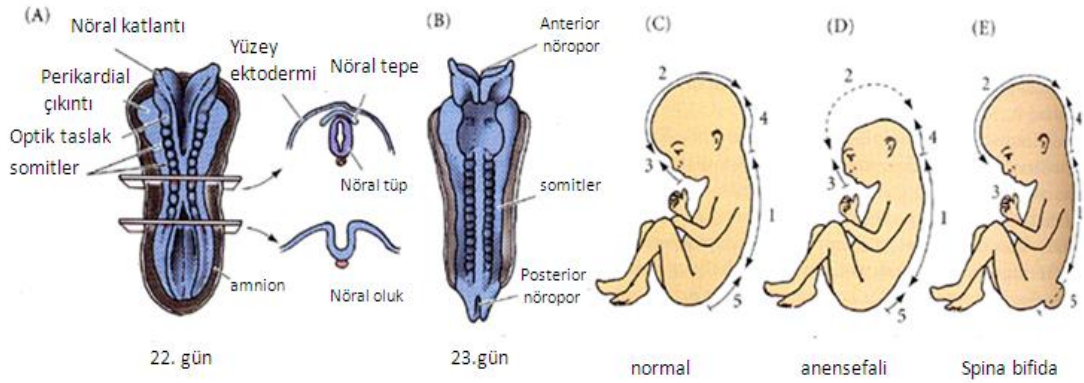
Resim 8. Carnegie evre 13, median histopatolojik kesiti.

Entral çıkıntındaki 2, 4 ve 6 numara ile gösterilen bölgeler rombomer olarak kabul edilebilir. Cerebellum (cb), isthmus (is), mesomeres (M1, M2), rathke kesesi (Rp), synencephalon (syn), telencephalon (tel), dördüncü ventrikül (v4) (82).

2.3. NÖRAL TÜP DEFEKTLERİ

İzole veya sendromik olmayan NTD'ler, kardiyak defektlerden sonra en sık görülen konjenital yapısal anomalilerdir (63). Nöral tüp defektlerinin belirgin coğrafi varyasyonları, Guatemala, Kuzey Çin, Meksika ve İngiltere'nin bazı bölgelerinde kaydedilmiştir. İspanyol ve İspanyol olmayan beyazlar, Afrika kökenli kadınlara oranla daha sık etkilenir (15).Tüm dünyada insidansı 1000 canlı doğumda 1,4-2 arasındadır (29). Her yıl Birleşik Devletler'de yaklaşık 2500 NTD'li bebek doğmaktadır.

(Spina bifida ve anensefali). Ülkemizde hastalığın prevalansı, 3-9,5:1000 olarak bildirilmiştir (116,119). 1995'te Himmetoğlu ve arkadaşlarının yaptığı insidans çalışmasında, Türk popülasyonunda NTD insidansı %0.27 olarak bulunmuştur (47). Bunlarda da en sık spina bifidaya, 2. sıklıkta da anensefaliye rastlanmıştır. Bunun yanında aslında malformasyonlu olan çok sayıda fetus, spontan düşük sonucu ölmektedir.



Şekil 5. İnsan embriyosunda nörolasyon;

- (A) 22. günde nörolasyonun başlaması. Dorsal ve enine kesitler. Anterior ve posterior nöroporlar açık.
- (B) 23.gün. Posterior nöropor açık kalırken anterior nöropor bölgesi kapanıyor.
- (C) Genetik bulgular ışığında nöral tüp kapanma çoklu kapanma bölgeleri
- (D) 2 numaralı bölgede, nöral tüpün kapanmasındaki bir hata sonucu anensefali meydana gelir.
- (E) 5 numaralı bölgedeki kapanma hatası sonucu ise spina bifida malformasyonu meydana gelir (ya da posteriyör nöropor kapanma kusuru sonucu) (113).

Nöral tüp defekti bir nörolasyon defektidir. Nörolasyon, primer ve sekonder olarak ikiye ayrılmaktadır. Primer nörolasyon embriyonik dönemin 3. haftasında başlamaktadır. Nöral ektodermin ve yüzey ektoderminin mezenşim ile ayrılmasıyla primer nörolasyon tamamlanmaktadır. Primer nörolasyon döneminde nöral oluk, rostralde ve kaudalde açıktır. Kaudal (posterior) nöropor kapanma defekti sonucu spina bifida (meningomyelosel, myosel), rostral (anterior) nöropor kapanma defektinde ise anensefali gibi patolojiler meydana gelir. Bu gelişim sırasında kaudal uçta mezoderminden gelişen bir takım tomurcuklar kordun alt kısmına eklenir (kuyruk tomurcuğunun rekanalizasyonu). Bu olaya da sekonder nörolasyon adı verilmektedir. Bu gelişimin hatalarında da, genelde üzeri normal deri ile örtülü olduğu için okült disrafizm adı verilen gelişimsel bozukluklar ortaya çıkar.

Erken gelişme döneminde kord tüm omurga kanalını doldururken, omurganın daha hızlı gelişimi sonucu konus giderek yükselir. Yenidoğanda 3. bel omuru hizasında olan konus, yetişkinde 1-2. omurlar hizasına kadar yükselir. Eğer sekonder nörolasyonda bir hata olursa omurilik alt ucu aşağıda kalır ve ileride gergin omurilik sendromu (Tethered kord) adı verilen klinik tablo oluşabilir.

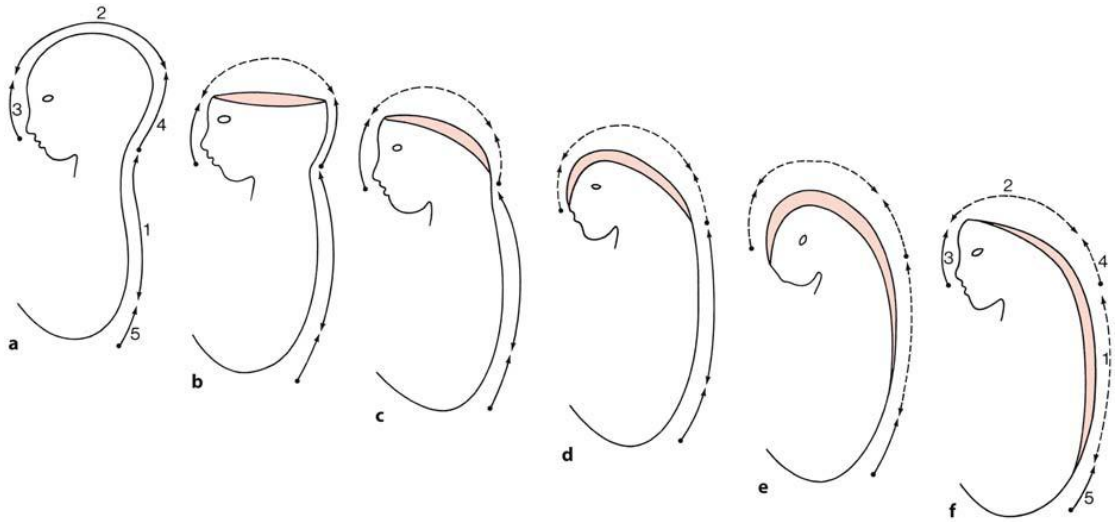
NTD ile ilgili risk faktörleri araştırıldığında anomali sıklığının annenin yaşına, eğitim düzeyi ve yaşadığı bölgeye göre farklılık gösterdiği görülmüştür. Sosyokültürel eğitim düzeyi düşük, 3 ya da daha fazla doğum yapmış ve de küçük yaşta kadınların çocuklarında, NTD'nin daha sık görüldüğü bildirilmektedir (71,110). Ayrıca NTD sıklığı başta beslenme olmak üzere sosyoekonomik duruma, coğrafi bölgelere, ırklara ve çevresel etkenlere bağlı olarak farklılık göstermektedir (54). Teropatik ilaçlar, çevresel kontaminanlar, enfeksiyöz ajanlar, maternal hipertermi, gebelik esnasında bazı antiepileptik ilaçların kullanılması, mutlak gerekli olan nutrisyonel maddelerin eksikliği, anneye ait kronik hastalıklar (diabetes mellitus vb.) gibi nedenler de NTD insidansını artırır (125,126). En sık bilinen teratojen ajanlar Ek-2'de gösterilmiştir.

İnsan NTD'sinde genetik geçişin olduğuna dair çalışmalar mevcuttur. Ancak NTD'inden tek başına sorumlu gen varlığı henüz bilinmemektedir.

Nöral plak, gebeliğin üçüncü haftasında görünür ve orta hatta nöral tüp oluşturacak şekilde bu nöral kıvrımları meydana getirir. Mutasyonların, metiyonin sentaz ve metionin gibi folat yolunun gen polimorfizmini etkileyen etmenler ile genel NTD riskini arttırdığı bazı çalışmalarda gösterilmiştir (112,121,122). 1991 den bu yana da diyetle folik asit desteğinin, NTD sıklığını azalttığını gösteren birçok çalışma yapılmıştır (6,15,23,30,48,56,92,115).

2.3.1. Normal Tüp Birleşmesinde Kapanma Bölgeleri

Van Allen ve arkadaşlarının hipotezlerine göre nöral tüp sınıflamasında, kranial bölge için 3 tane, spinal bölge için ise 2 tane olmak üzere toplam 5 ayrı kapanma bölgesi tanımlanmıştır. 2,4 ve 1 numaralı kapanma bölge defekleri kranioraşizis denilen malformasyonu meydana getirir. 2 numaralı kapanma bölgesi defekti merokrani, 2 ve 4 numaralı kapanma bölgesi defekti ise halokrani denilen anensefali alt tipini oluşturur. 3,2 ve 2,4 numaralı kapanma bölgesi defektleri, frontal ve parietal ensefaloselle sonuçlanan kranial kapanma defektine neden olur (113).



Şekil 6. Çoklu kapanma defektlerine örnekler

a normal; b merokrani (2 numaralı bölge); c halokrani (2ve 4 numaralı bölgeler); d fasyokranyoşizis (2,3 ve 4 numaralı bölgeler); e fasyokranyoraşizis (3,2,4 ve 1 numaralı bölgeler); f kranioraşizis (2,4 ve 1 numaralı bölgeler) (113).

Tablo 1. Nöral tüp birleşmesindeki kapanma bölgeleri ve etkileyen faktörler (108).

Bölgeler	Etkileyen faktörler	Gelişen malformasyon
1. Kapanma bölgesi	Metabolik teratojenlere ve folik asit eksikliğine duyarlı olabilir.	Spina bifidaS (meningosel, myelosel, meningomyelosel)
2.Kapanma bölgesi	Hipertermi, folik asit eksikliği ve metabolik teratojenlere duyarlı olabilir.	Anensefali (2.Bölge; merokrani) (2. ve 4. Bölge; halokrani)
3.Kapanma bölgesi	Genellikle teratojenlere dirençlidir.	Yarık damak
4.Kapanma bölgesi	Yüksek ateşe duyarlı olabilir.	Sefalosel, Ensefalosel
5.Kapanma bölgesi	Valporik asite maruz kalındığında duyarlı olabilir.	Sakral meningosel

2.3.2. Nöral Tüp Defekti Sınıflandırması

NTD ilgili birçok sınıflandırma sistemi vardır. Lemire'e göre (62);

2.3.2.1. Nörülasyon defektleri

Nöral tüpün kapanmaması ile ilgili patolojilerdir.

- A- Total disrafizm: Birçoğu spontan düşük sonucu ölür.
- B- Anensefali (bkz, sf 22)
- C- Meningomyelosel

2.3.2.1.1. Meningomyelosel

Daha çok lomber, lumbosakral ve sakral bölgelerde olmaktadır. Dorsalde bulunan kese ve bu kesenin içinde nöral elemanların bulunması ile karakterizedir. Bu anomali cerrahi olarak düzeltilmesi gereken bir gelişim kusurudur. Defekt, sıklıkla bir kıllanma, angioma, gamze veya pigmente nevüs ile lokalize edilebilir (102).

2.3.2.1.2. Myelosel

Myelosel (myelocle), omurga kemiklerinin ortasındaki kanalı oluşturan kemik halkasının eksik oluşumuna bağlı olarak omurilik zarlarının dışarı doğru fıtıklaşmasıdır.

2.3.2.2. Nörülasyon aşamasından sonra meydana gelen defektler

Ciltte kapalı lezyonlara neden olur.

2.3.2.2.1. Kranial

2.3.2.2.1.1. Mikrosefali

Fizyopatolojisinde azalmış proliferasyon, artmış apoptoz suçlanmaktadır (9). Ortalama cinsiyet ve doğum yaşına göre kafa çevresinin 2 standart sapmadan daha aşağıda olmasıdır. Genel popülasyondaki sıklığı %0.06-0.16'dır. Nöbet, gelişme geriliği ve mental retardasyon ile kendini gösterir.

2.3.2.2.1.2. Hidranensefali

Postnörülasyon defektidir. Serebrumun total ya da totale yakınının yokluğu ile karakterizedir. İlerleyici makrokranî mevcuttur. Sıklıkla doğumda baş çevresi normaldir.

2.3.2.2.1.3. Haloprozensefali

Telensefali vezikülünün, iki serebral hemisfere bölünmesinde hata vardır. Bölünmedeki hatanın derecesi, ağır lobar görünümünden yarı lobar görünüme kadar

değişir. Fasioserebral displazi sıklıdır. Yenidoğan döneminde yaşam şansı azdır. Yaşayanların büyük çoğunluğu retardedir (43).

2.3.2.2.1.4. Lizenfali (bkz 21)

2.3.2.2.1.5. Porenfali

Serebral hemisfer içinde kavite veya kist oluşum ile kendini gösteren çok nadir görülen santral sinir sistemi hastalıdır. Kist veya kavitelerin içinde genelde yıkım ürünleri kalıntıları mevcuttur. Spastik parazi, hipotoni nöbet, makro ya da mikrosefali mental retardasyon bulguları verir.

2.3.2.2.1.6. Korpus kallosum agenezisi

Nadir görülen bir doğumsal anomalidir. Korpus kallozum kısmen veya tamamen gelişmemiştir. Zeka geriliğı, yüz anomalileri ve epilepsi ile bulgu verir.

2.3.2.2.1.7. Serebellar hipoplazi/Dandy Walker sendromu

Embriyolojik 3-4. haftalarda, nöral tepe (neural crest) hücrelerinin göçü esnasında gerçekleşen patolojiler sonucu olduğı düşünölmektedir. Embriyolojik arka beyin gelişiminin durması sonucu meydana gelir. Kistik posterior fossa malformasyonu da denebilir. Serebellar hipoplazi, vermisin yokluğu, genişlemiş 4. ventriköl ve mega sisterna magna oluşumu şeklinde kendini gösterir.

2.3.2.2.1.8. Megaloenfali

Artmış proliferasyon, azalmış apoptoz neden olarak düşünölmektedir (9).

2.3.2.2.2. Spinal

2.3.2.2.2.1. Diastometamyeli, diplomyeli

Yarılmış kord malformasyonu ile kastedilen spinal kordun, sagittal planda iki simetrik veya asimetrik hemikorda ayrılması kastedilir. Her bir hemikordun santral kanalı, bir dorsal kökü, bir ventral kökü vardır. Kordun tüm kalınlığını veya yalnızca kordun anterior veya posterior yarısını içerebilir.

2.3.2.2.2.2. Hidromyeli/sirengomyeli

Syringomyeli, spinal kord içinde çoğunlukla santral kanalın posterionunda olmak üzere bir kistin (syrinx) oluştuğu ender bir durumdur. Kavite gliozisle örtülüdür (astrozitler). En sık, servikal spinal kordda görülür ama medullaya da uzanabilir (syringobulbia). Hidromyeli, dilate santral kanalın BOS içerdiği ve epandimle örtülü olduğu vakaları ifade etmek için kullanılan bir terimdir.

2.3.3. Migrasyon Anomalileri

Farklı bir sınıflandırma yöntemine göre de aşağıdakiler nöronal migrasyon anomalileri olarak sınıflandırılmaktadır:

2.3.3.1. Lizenfali

En ağır nöronal migrasyon anomalisidir. Muhtemelen kortikal gelişmenin erken fetal yaşta duraksamasıdır. Normalde 3-4 mm olan korteks kalınlığı ileri derecede artar. Lizenfali görülme sıklığı 11.7/1.000.000 olarak bildirilmiştir. Erkek ve kızlarda yaklaşık eşit oranda görülür (94). Tutulum tek veya iki taraflı olabilir. Yenidoğanlar retardedir. Genellikle 1-2 yıldan fazla yaşamazlar.

A- Agiri: Tamamen düz beyin yüzeyi

B- Pakigri: Sığ sulkuslar ile birlikte az sayıda geniş ve düz giyrus.

C- Polimikrogiri: Sığ sulkuslar ile birlikte küçük giyruslar.

2.3.3.2. Heterotropi

Radial migrasyonun durmasıyla, subkortikal beyaz cevherden ventriküllerin subepandimal kısımlarına kadar herhangi bir yerde yerleşebilen anormal hücre topluluklarıdır.

Üç alt grubu mevcuttur:

- Subepandimal heterotopi
- Fokal subkortikal heterotopi
- Bant heterotopi

2.3.3.3. Şizensefali

Hemisferde ventrikülün epandimal yüzeyinden korteksin pia örtüsüne kadar uzanan, gri madde ile çevrili bir yarıktır. Gri madde normal olabileceği gibi pakigirik veya polimikrogirik de olabilir. %60'ı tek taraflı, %40'ı çift taraflıdır. Tipik olarak nöbet, hemiparezi, tetraparezi ve değişik derecelerde gelişme geriliği saptanır.

2.3.4. Anensefali

Nöral tüp defektlerinin en ciddi tipi olan anensefalide, beyin, kafatası ve skalpin önemli bir kısmının konjenital yokluğu söz konusudur. Prenatal dönemde en sık saptanabilen nöral tüp defektidir. Beyin hemisferleri gelişebilir ancak bazı etkilerle yıkılır. Nöronlar ve glial doku fibrotik kitlelere dönüşür ve hemoraji ile fonksiyonel korteks ortadan kalkar. Beyin sapı ve serebellum korunabilir. Beynin bu ciddi anomalilerine karşın, yüz kemikleri ve kafatası tabanı hemen hemen normaldir. Tüm vakalarda frontal kemik yoktur ve beyin dokusu anormaldir. (29,35).

Anensefalili pek çok infant, ölü doğar. Canlı doğanlar ise ancak birkaç saat yaşayabilmektedir. Etkilenen infantların üçte ikisi kızdır 8). %10 kadarına, açık spina bifida eşlik eder (35).



Resim 9. Anensefalili hasta bebek.

Zübeyde Hanım Çocuk ve Kadın Sağlığı Hastanesi. Afyonkarahisar. (78).

Anensefali bebeklerde serebral korteks olmadığından bilinç yoktur ancak beyin sapı fonksiyonları farklı derecelerde mevcuttur. Fetuslar komatömatöz durumda değildir. Hasta yenidoğanlar ekstremitelerini spontan hareket ettirebilir. Uyarıldığında myoklonik tepki verir. Kas tonusları ve derin tendon refleksleri artmıştır. Tipik davranış şekli, alt ve üst ekstremitelerde ekstensor tonusun arttığı, spontan veya uyarıyla ortaya çıkan aksial myoklonustur. Dış uyaranlara yanıt olarak, beslenme ve solunumla ilgili ilkel refleks cevapları vardır.

Anensefali vakalarının çoğunda, birden fazla gen etkileşiminin yanı sıra, çevresel faktörler de sorumlu tutulmuştur. Kalıtımı multifaktöryeldir denilebilir.

Doğumsal defektlerin prevalansı ile ilgili 976 çocukla yapılan bir çalışmada anensefali sıklığı için %0.69 sonucu elde edilmiştir. Bu çalışmada sonuç olarak;

düşük anne yaşı (<20), alkol, akraba evliliği, annenin düşük sosyokültürel yapısı, çoklu gebelikler ve kırsal alanda yaşam, malformasyon sıklığını artıran etmenler arasında sayılmıştır (120).

Anensefalik fetusların vücut ağırlıkları, haftasına göre normaldir. İzole anensefalide intrauterin gelişme geriliği sıklıkla görülmez. Diğer bir ultrasonografi bulgusu da polihidramniyozdur ve gebeliğin 28. günü tespit edilebilmektedir. Anensefali tanısı; birinci trimesterde normal gelişim gösteren serebral hemisferlerin etrafında kalsifiye kalvarium yapısının olmaması ile ikinci trimesterde ise ultrasonografik olarak serebral hemisferlerin ve kalvarium kemiklerinin yokluğu ile karakterizedir. Yine 2. ve 3. trimesterlerde, ultrasonografik olarak kafa kaidesi üzerindeki kranial kemiklerin (özellikle supraorbital alanda) ve her iki hemisferin yokluğunda protrüde olmuş gözler ile birlikte tipik kurbağa görüntüsü mevcuttur (28,118). M.Jaquier ve ark.'nın sunduğu verilere göre anensefalik gebeliklerin yaklaşık %15'i in utero ölümlere neden olurken, canlı doğumların yaklaşık %67'si ilk 24 saat içinde ve yaklaşık %3 kadarı da 3-6 gün içerisinde ölümle sonuçlanmaktadır (51). En fazla 2 ay yaşayan anensefalik bebek bildirilmiştir.

Yaşam beklentisi bu kadar düşük olan bu malformasyonun erken dönemde taranması, ailelerin, gebeliğin erken dönemlerinde gebeliği sonlandırma veya bilinçli olarak gebeliği devam ettirmesine olanak sağlayacaktır.

2.3.4.1. Anensefali tipleri

- Haloanensefali.

Holoakrani (Haloanensefali): En sık görülen tiptir. Beyin tamamen yoktur (95). Foramen magnum seviyesine kadar defekt uzanır (31).

- Meroanensefali

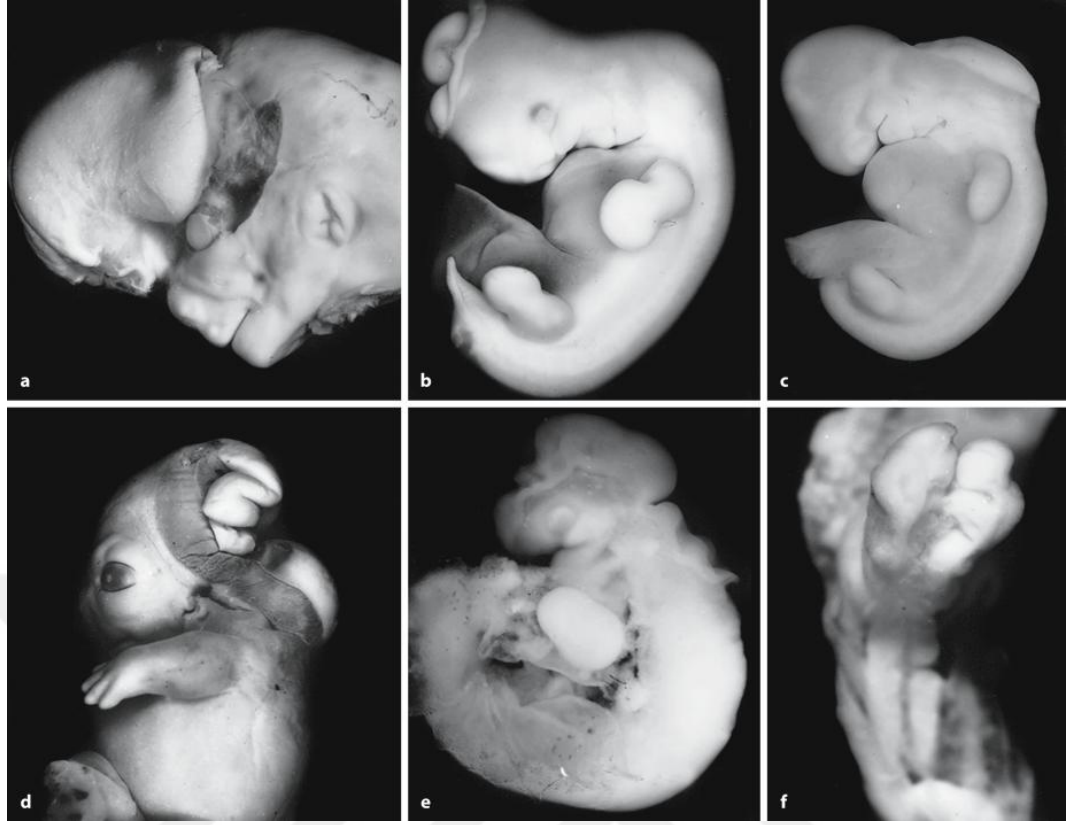
Meroakrani (meroanensefali):Nadir görülen anensefali şeklidir. Hafif formudur. Defektin foramen magnum seviyesine kadar uzanmadığı

formlara verilen isimdir (31). Kranial kılıfta serebrovasküler yapıyla kaplı küçük bir defekt vardır.



Resim 10. Anensefalili doğmuş yenidoğan (31).

Anensefalik fetuslar ciddi malformasyonlu olduğundan yaşayamamaktadırlar. Hasta yenidoğanlar ise doğumda veya hemen sonrasında öldüklerinden kalıtım şekli belirlenememiştir (89). Özellikle anensefalinin yüksek akrabalık oranları ile birlikteliği sıktır (3,124). Bu nedenle ebeveynden çocuğa geçiş belirlenememektedir. Anensefalinin kardeşlerde tekrarlama olasılığı %2-5'tir. Bu oran, Mendel'in resesif ve dominant kalıtlımlarda sırasıyla beklenen %25 ve %50 oranının altındadır. Yine de anensefalinin çevresel etkilerle birlikte otozomal resesif genleri içerdiğini gösteren çalışmalar bildirilmiştir (78).



Resim 11. İnsan embriyosunda kranial NTD (Anensefali) sınıflaması:

- a Tip 1** : Nöral tüp kafanın frontal kısmında açıktır. (Carnegie stage 23);
- b Tip 2** : Nöral tüp paryetalde açıktır. (Carnegie stage 16);
- c Tip 3** : Nöral tüp 4.ventrikülün üst kısmından itibaren açıktır. (Carnegie stage 15);
- d Tip 4** : Nöral tüp mesensefalonun üzerinde itibaren açık (Carnegie stage 20);
- e Tip 5** : Nöral tüp frontalden boyun bölgesine kadar açıktır. (Carnegie stage 14);
- f Tip 6** : Total disrafizm, beyin ve tüm spinal kanalı içine alan bir açıklık (Carnegie stage11); (74).

2.4. TAVUK EMBRİYOSU GELİŞİMİ

Memeli hayvanlarda embriyonal gelişim anne karnında görülürken, kanatlılarda ve dolayısıyla tavuklarda, tamamen vücut dışında gerçekleşir. Cıvcıv, embriyonal gelişimini, oluşumu için gerekli bütün besin maddelerinin depolandığı yumurta içinde tamamlar. Yumurtadan cıvcıv gelişimi için bazı çevre koşullarına ihtiyaç duyulur. Günümüzde bu işlem yumurtaların kuluçka makinalarına konması ile de sağlanabilmektedir (12, 13, 45, 100).

Tavuklarda normal kuluçka dönemi 21 gündür. Ancak bu sürede bazı farklılıklar görülebilir. Irk, cinsiyet, mevsim, yumurtanın bekleme süresi, büyüklüğü

ve kabuk kalitesi ile kuluçkada uygulanan koşullara bağlı olarak kuluçka süresi değişebilmektedir.

Dölllenmiş yumurtalar, tavuk ve horozların çiftleşmesi ile elde edilir. Ancak, yapay yolla horozlardan ejakulat alınarak, tavuklarında yapay döllenmesinin sağlanması da bugün uygulanan bir yöntemdir. Çiftleşme sırasında sperm, yumurta kanalında hızla yol alarak 30 dakikada infundibulumu ulaşır. Ovülasyondan 15 dakika sonra yumurta sperm tarafından döllenir ve zigot denilen fertilize yumurta meydana gelir (12). Zigot oluşumundan sonra embriyonik yapı gelişmeye başlar. Yaklaşık 4 saat sonra ilk hücre bölünmesi meydana gelir. Yumurta, istmusa girdikten 1 saat sonra embriyo 16 hücreden ibarettir. Uterusa eriştikten 4 saat sonra ise 256 hücreye bölünür. Yumurtada embriyo, ovipozisyon olayı ile yumurtlamadan kısa bir süre öncesine kadar “blastoderm” adı verilen tek katlı bir hücre kümesinden ibarettir. Hücre farklılaşmasının görüldüğü bu aşamaya “gastrulasyon” adı verilir. Yumurta sarısının yüzeyinde bulunan bu hücre tabakasına paralel olarak daha altta yani yumurta sarısının içine doğru, diğer bir hücre tabakası oluşmaya başlar. Bunlardan yüzeyde ve dışta olana “ektoderm”, içte olana “endoderm” adı verilir. Dölllenmiş yumurta, yumurtlama anında bu iki tabakadan oluşmaktadır (45). Bir çiftleşmeden yaklaşık 23-26 saat sonra döllenmiş yumurta alınabilir.

Yumurta kuluçka makinesine konuncaya kadar embriyo uyku evresindedir. Embriyonal gelişmenin kuluçka makinesinde ihtiyaç duyduğu optimum sıcaklık $37,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ’dir. Ancak 24°C üzerindeki sıcaklıklarda da embriyo gelişebilir. Yumurtlama sonrasında embriyonal gelişmeyi tam olarak durdurmak için $15-18^{\circ}\text{C}$ arasında bir çevre sıcaklığı sağlanmalıdır. Bu amaçla kuluçkalık yumurtaların kuluçka makinesine konmadan önce muhafaza edildikleri yerin sıcaklığının bu optimum sınırlar içerisinde olmasına dikkat edilmelidir (13).

2.4.1. Kuluçka Makinasında Embriyo Gelişimi

Dölllenmiş yumurta $37,5^{\circ}\text{C}$ sıcaklıktaki kuluçkaya konduğunda embriyonal gelişim kaldığı yerden devam eder. Hücre bölünmesi hızla oluşurken farklılaşma da

devam etmekte, ektoderm ile endoderm tabakalarından 3. tabaka olan “mezoderm” oluşmaktadır. Embriyonal gelişmenin daha ileri aşamalarında, her tabakadan farklı doku ve organ sistemlerinin meydana geldiği görülür (12,13).Ektoderm tabakasından; deri, tüyler, gaga, tırnaklar, sinir sistemi, gözün mercek ve retina tabakaları ile ağızın mukoza tabakası meydana gelir. Bunlar hemen hemen vücudun bütün dış kısımlarını oluşturur. Endoderm tabakasından; sindirim, solunum ve endokrin sistemleri oluşur. Mezoderm tabakasından; kas, kemik, kan, üreme sistemi ve boşaltım sistemi gelişir. Embriyonun 21 günlük kuluçka periyodu boyunca, bu üç tabakadan doku ve organ sistemleri meydana gelir (12,13,100).

Kuluçka makinasında embriyo gelişimini izlemenin birçok avantajı vardır. Öncelikli olarak birim alanda daha fazla yumurta alırlar. Makinanın içerisindeki sıcaklık ve nemi kontrol eden otomatik sistem ve termostatlar mevcuttur. Makinanın içerisindeki raflar ve diğer düzenekler çıkarılabilir. İstendiğinde dezenfekte edilebilir özelliktedir. Ayrıca kuluçka makinası içindeki yumurtaların belli aralıklarla çevrilebilmesi için özel düzenekler yerleştirilmiştir.



Resim 12. Kuluçka makinası

2.4.2. Kuluçkalık Yumurta Seçimi

Yumurta kalitesi kuluçka sonuçlarını etkileyen önemli bir faktördür. Kuluçkalık yumurta seçiminde dikkate alınacak hususlar aşağıda verilmiştir.

2.4.2.1. Dış özellikleri

Yumurta Ağırlığı: Normali 55-60 g. arasında, ortalama 58 g. kadardır. Yumurta ağırlığında aranan özellik yumurtaların benzer olmasıdır. Bunu sağlamak için bazı formüller geliştirilmiştir.

Şekil İndeksi: Şekil indeksi=Yumurta genişliği/Yumurta uzunluğu x100'dür. Hedef 74'tür.

Kabuk Kalınlığı: Yumurtanın dış kalitesi veya kabuk kalitesinin en önemli kriteri kabuk sertliğidir. Damızlık yumurta: 0,33 ile 0,35 mm arasında olmalıdır.

Kabuk Kalitesi: Pürüzlü ve ince kabuklu yumurtalar, kuluçkaya konmamalıdır. Ayrıca ince kabuklu ve çok gözenekli yumurtalar inkübasyon döneminde aşırı su kaybı nedeniyle uygun değildirler. Çatlak, üzeri kirli, pislik bulaşmış yumurtalar da yoğun bakteri kaynağı olmaları nedeniyle kuluçkaya konmazlar.

Kırılma Direnci: Normal değeri 2.7 – 3.6 kg / cm²

Özgül Ağırlık: Kabuk kalitesini ölçmeye yarayan en önemli yöntemlerden biridir. Yumurtalar ilk olarak özgül ağırlığı 1.060 olan tuz çözeltisine ve daha sonra sırasıyla diğerlerine batırılır. İlk yüzmeye başladığı çözeltinin özgül ağırlığı, yumurtanın özgül ağırlığını verir. Genellikle taze yumurtaların özgül ağırlıkları 1.070-1.090 arasında değişir ve sırasıyla 70 ve 90 olarak gösterilir

2.4.2.2. İç özellikleri

a-Haugh Birimi (HU): Raymond Haugh tarafından 1937 yılında geliştirilmiştir. Yumurta akının yüksekliğine dayanılarak belirlenen bir yöntemdir. Ham yağ yüksekse HU düşer.

b-Hava kesesi yüksekliği: Hava kesesinin büyüklüğü yumurtanın tazeliği hakkında fikir veren en iyi göstergelerden biridir. Hava kesesinin kontrolü lamba kontrolü ile yapılabilir. Beyaz kabuklu yumurtalarda daha kolay olur.

c-Sarı rengi

2.4.3. Kuluçkalık Yumurtaların Saklama Koşulları

Embriyo Optimum depolama şartlarında 26-28 güne kadar canlılığını muhafaza edebilir. Ancak bu depolama süresinde kuluçka randımanı %20'ye kadar düşer. Çünkü bu dönemde embriyolar süratle canlılıklarını kaybederler. Kısa süreli depolamalarda bile embriyonun canlılığının devamı için sıcaklık ve nispi nem gibi iki önemli faktör vardır. Dolayısıyla yumurta depolama süresine göre uygun sıcaklık derecesi de değişmektedir. Literatürde, embriyonik gelişmenin tam olarak durdurulabilmesi için yumurta bekletme odası sıcaklığının 18°C olması gerektiği bildirilmektedir. Kuluçkalık yumurtalar 14 günden daha az bekletilecekse, 18°C'den daha düşük sıcaklık sağlanmasının kuluçka randımanını düşüreceği, 14 günden daha uzun süre ile bekletilecekse, 10-12°C'de muhafaza etmenin yararlı olduğu bildirilmektedir. Ayrıca yumurtaların depolanması sırasında, direkt güneş ışığından ve çevre kontrollü şartlarda tutularak aşırı hava cereyanından korunması gereklidir. Yumurta kabuğundaki gözenekler vasıtasıyla yumurta içindeki su, buharlaşma yoluyla sürekli kaybolur. Buharlaşma hızı, yumurtaları çevreleyen havanın nispi neminin etkisi altındadır. Yumurta bekletme odasında, yumurtaların bulunduğu kasa veya tablaların tipi ne olursa olsun havanın nispi neminin %75-80 olması gerekir. Bu sınır, yumurtadan buharlaşmayı önleyeceği gibi yumurta kasalarında bozulma ve çürümeyi de önleyecektir.

2.4.4. Kuluçka Koşulları

2.4.4.1. Sıcaklık

Kuluçka döneminde sıcaklık kontrolü en kritik faktördür. Çünkü gelişen embriyo, çevre ısısına oldukça hassastır. Her embriyonun gelişmesini en iyi şekilde tamamlayabileceği optimum bir sıcaklık derecesi vardır. Optimum gelişim sıcaklığı bütün yumurtalar için aynı değildir. Bu sıcaklık aşağıdaki faktörlere bağlıdır:

- Yumurta büyüklüğü
- Kabuk kalitesi
- Genetik faktörler

- Kuluçkaya konan yumurtaların yaşı
- Depolama süresi
- Gelişim dönemindeki havanın nemi

Yumurtalar farklı özelliklerde olabileceklerinden, genellikle 37.5-37.7°C arasındaki ortalama inkübasyon sıcaklığı uygulanır. Bu uygun sıcaklık şartlarının üzerinde veya altında bulunan koşullarda embriyo gelişebilir fakat tam sağlıklı olmaz (12,13,100).

2.4.4.2. Nem

Kuluçka makinesindeki havanın nem miktarı, normal embriyonik gelişmeyi ve kuluçka sonuçlarını etkileyen önemli bir faktördür. Eğer yumurta içeriği çok çabuk su kaybederse civciv büyüklüğü normalden küçük, eğer yumurta içeriği normalden geç olarak kurur ise civciv daha iri olur. Su kaybını kontrol edebilmek için yumurtayı çevreleyen havanın rutubetini kontrol etmek gerekir. İnkübatördeki nem oranının %50-55 olması gerekir (12,13,100).

2.4.4.3. Havalandırma

Büyümekte olan embriyo, sabit bir oksijen düzeyine, karbondioksit ve suyun atılmasına ihtiyaç duyar. Normal embriyonik gelişim için karbondioksit konsantrasyonunun kuluçka makinesinde %0.1-0.4 arasında ve kuluçka odasında %0.5 düzeyinde olması gerekir. Aşması durumunda aynı zamanda nem oranı da yükseleceği için embriyo ölümü söz konusu olur. Aşırı havalandırma ise nem oranının düşmesine ve hatta sıcaklığın azalmasına neden olur (12,13,100).

2.4.4.4. Çevirme

Gelişen embriyonun yumurta kabuğuna yapışarak ölmesini engellemek için yumurtaların inkübasyon sırasında 19. güne kadar düzenli olarak çevrilmesi gerekir.

Kuluçka makinelerinde yumurtalar küt uçlar yukarı gelecek şekilde yerleştirilir. Çevirme, embriyonun kabuk membranlarına yapışmasını önlemek ve yumurta içerisinde hareket edebilmesi için gereklidir. Bu sebeple yumurtaların günde 6-8 defa çevrilmeleri istenir (12,13,100).

2.4.5. Özel Patojen Bulunmayan (Spf - *Specific Patogen Free*) Yumurta

***Specific Patogen Free* (SPF):** SPF; listesi yapılmış patojenlerin olmadığı ve spesifiye edilmiş antijenlerin yokluğunun çeşitli testlerle doğrulandığı hayvan demektir (107). Deneysel araştırma konusu; insanda nörülasyon olduğunda, tavuk embriyoları, insan nörülasyon paterni ile benzer özellikler gösterdiğinden bu tip çalışmalarda tercih edilen bir denek grubudur. (11,44,101,106). Canlı tavuk yumurtalarının gelişimi, embriyolojide oldukça gelenekselleşmiştir. Tavuk embriyosu, evcil kümes hayvanlarından elde edildikleri için, istenilen dönemlere ait embriyoların sağlanabilmesi ve inkübasyon peryotlarının kısa olması açısından, vertebralıların özellikle de memelilerin gelişimi için çok iyi bir model olmaktadır.

2.4.6. Hamburger - Hamilton Sınıflaması

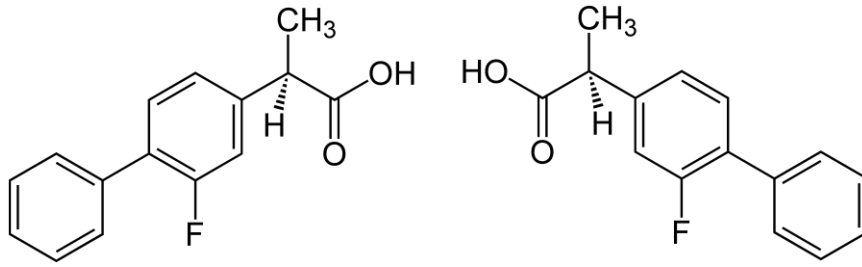
Dölllenmiş yumurtadan tavuk oluşumu 21 günlük inkübasyon süresi ile tamamlanır. Bu inkübasyon süreci boyunca embriyonun gelişimi üzerine çeşitli sınıflamalar yapılmıştır.

1900'lü yılların başlarında Keibel ve Abraham, tavuk embriyolarının morfolojik karakterlerine göre bir evreleme tanımlamışlardır (45). Ancak 1951 yılında Hamburger ve Hamilton tarafından tarif edilen gelişimsel evreleme kabul edilmiş olup günümüzde geçerliliğini korumaktadır (12,13).

Hamburger-Hamilton'a göre tavuk gelişimi 46 seri kronolojik sınıflamadan oluşmaktadır (45). Bu sınıflama Ek-3'de yer almaktadır.

2.5. FLURBİPROFEN

Flurbiprofen bir propiyonik asit türevi olup güçlü anti-inflamatuar etkisine ek olarak antipiretik ve analjezik aktiviteye sahip Nonsteroid Antienflamatuar Etkili (NSAID) bir maddedir (38).



Şekil 7. Flurbiprofen'in enantiomeri ile yapısal formülü;

Sistemik adı	: (RS)-2- (3-fluoro-4-fenil-fenil)propanoik asit
Kimyasal formül	: C ₁₅ H ₁₃ FO ₂
Moleküler ağırlık	: 244,261 g/mol
ATC kodu	: M01 AE09

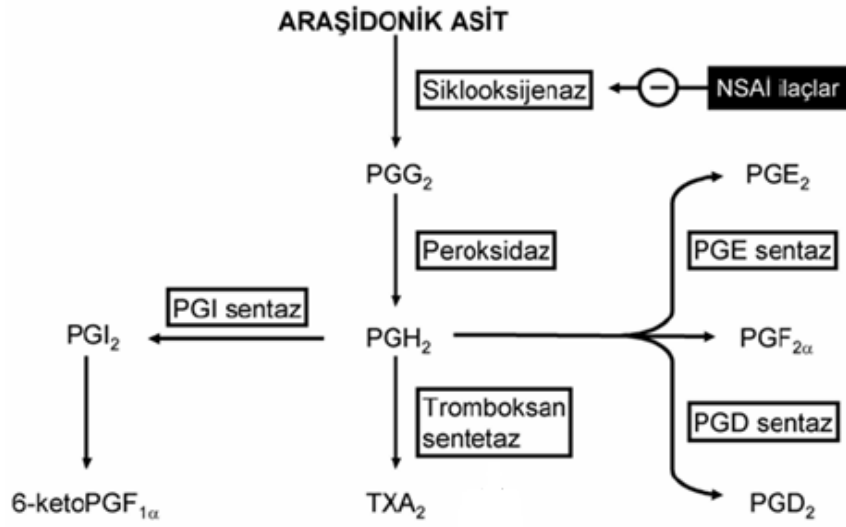
2.5.1. Farmakodinamik Özellikleri

Flurbiprofen, özellikle analjezik, antipiretik ve antienflamatuar etkilere sahip, propiyonik asit türevi güçlü bir nonsteroidal antienflamatuar ilaçtır (19,20).

Antienflamatuar etki, daha yüksek dozlarla elde edilen bir etkidir. Analjezik etkisi ise siklooksijenaz enzimini bloke ederek prostaglandin sentezini inhibe etmesine bağlıdır (Şekil 8). Aynı zamanda lökosit migrasyonunu da inhibe eder. Diğer benzer ilaçlar gibi tromboksan A₂ yapımını engelleyerek geçici antiagregan etki gösterir. In vitro trombin ve kollajene karşı trombosit yanıtını inhibe eder. Adenozin difosfat ve adrenalinin yaptığı trombosit agregasyonunu ikinci fazda durdurur. Flurbiprofenin diğer bir özelliği, plazma denge derişiminin oldukça altında bile etkili olduğunun gösterilmiş olmasıdır. Flurbiprofen kullanımına bağlı olarak gözlenen yan etkilerin insidansı oldukça düşüktür. Çoğu hafif ve geçici yan etkilerdir. Sağlıklı deneklerde renal fonksiyon üzerine çok az etkilidir. Flurbiprofen ya da diğer nonsteroidal

antienflamatuar ilaçlar gastrik prostaglandin sentezinin inhibisyonuna bağlı olarak, gastrik ve duodenal ülserlerin oluşmasına yol açabilirler (87).

Flurbiprofenin çok iyi bir güvenlik profili vardır. Sağlıklı, yaşlı bireylerde güvenli tolere edilebilen bir ilaç olduğu ve doza bağımlı olarak santral sinir sistemine geçebildiği gösterilmiştir (39). Postoperatif ağrı kontrolünde de güvenilir etkili bir ilaçtır (68,105).



Şekil 8. NSAİD’ların prostaglandin oluşumunda inhibisyon basamağı

2.5.2. Farmakokinetik Özellikler

2.5.2.1. Emilim

Flurbiprofen, oral yolla alındıktan sonra hızlı bir şekilde gastrointestinal sistemden absorpsiyona uğrar ve yaklaşık 1.5 saat içinde kanda tepe seviyelerine ulaşır. İlacın oral biyoyararlanımı %96’dır. Gıda ve antiasitlerle birlikte alınması ilacın biyoyararlanımını değiştirmez. Eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 6 saattir.

2.5.2.2. Dağılım

Hem R- hem de S- flurbiprofenin görünen dağılım hacmi yaklaşık olarak 0.12 L/Kg'dır. Her iki flurbiprofen enantiomeri de %99'dan fazla oranda plazma proteinlerine bağlanmaktadır. Karaciğerde, sitokrom P450 2C9 enzimi ile metabolize edilir. %20'si serbest ya da konjuge formda, yaklaşık %50'si ise hidroksillenmiş metabolitleri halinde idrarla atılır. Flurbiprofenin metabolitleri olarak plazmada ve idrarda en sık karşımıza çıkan metabolitleri 4' hidroksi- Flurbiprofen, 3',4'-dihidroksi- Flurbiprofen, 3'- hidroksi-4' metoksi- Flurbiprofen'dir.

2.5.2.3. Eliminasyon

Flurbiprofenin yaklaşık %3'ü değişmeden idrarla atılır. İdrarda elimine olan dozun yaklaşık %70'ini ana ilaç ve metabolitleri oluşturur. Böbrek yolu ile atılım, metaboliterin ana eliminasyon yolu olduğundan, böbrek yetmezliği bulunan hastalarda, flurbiprofen metabolitlerinin birikimini önlemek için doz ayarlaması yapmak gerekebilir. Az miktarda anne sütüne geçmektedir (38). Günde 200mg flurbiprofen kullanan bir annenin sütünden, bebeğe günde yaklaşık 0.10mg flurbiprofen geçebileceği gösterilmiştir.

2.5.2.4. Kullanım şekli

Önerilen günlük doz; bölünmüş dozlar halinde 150-200 mg'dır. Semptomların şiddetine göre günlük doz toplam 300 mg'a çıkarılabilir. Maksimum günlük doz 300 mg'dır. Çocuklarda etkinliği ve güvenliği kanıtlanmadığı için 12 yaşın altındaki çocuklarda kullanılmamalıdır.

Geriatrik grupta flurbiprofen ile tedavi, papiller nekroz ve diğer böbrek hasarlarına yol açmıştır. Yaşlı hastalarda doz ayarlaması gerekmektedir.

2.5.2.5. Gebelik ve laktasyon

Gebelik kategorisi: C/D'dir. I.ve II. Trimestir için gebelik kategorisi C, III. Trimestir için ise D'dir (104). Bunun için ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) 1979'da ilaçları, hamilelikte kullanımları ve olası fetal riskler açısından ek-4'de belirtildiği gibi sınıflandırmıştır. Bu sınıflamada farmakolojik maddenin gebelik kategorisi, o maddenin gebe anne tarafından kullanılması halinde, fetüste ortaya çıkacak teratojenik etkilerin ciddiyeti açısından hasar oluşturma riskinin bir göstergesidir. Gebelik kategorileri, anne sütüne geçen farmakolojik maddeler ya da metabolitlerinin oluşturduğu riskleri içermez. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar ilacın gebelik, embriyonal gelişim, fetal gelişim, doğum ve doğum sonrası gelişim üzerindeki etkileri bakımından yetersizdir. A kategorisi, normal dozlarında herhangi bir teratojenik etkiye sahip olması beklenmeyen ilaçları temsil eder. X kategorisi ise teratojenik etkiye sahip olma olasılığı son derece yüksek olan, bu nedenle gebelikte hiçbir şekilde kullanılmaması gereken ilaçları içermektedir (104).Hamilelikte kullanılacak ilaçlar mümkün olduğunca A ve B kategorisinden seçilmelidir. Bu tabloya göre flurbiprofen gibi propiyonik asit türevlerinden olan NSAİD'lar, gebeliğin I. ve II. trimesterlerinde (C), son trimesterde ise (D) kategorisinde sınıflandırılırlar. Flurbiprofen ve diğer NSAİD ilaçların, gebelikte fetal kardiovasküler sistem (ductus arteriosus'un kapanması)üzerindeki bilinen etkilerinden dolayı, gebeliğin geç evrelerinde (6. Aydan itibaren) kullanımından kaçınılmalıdır.

2.5.2.6. İstenmeyen etkiler

Sinir sisteminde yaygın olarak; baş ağrısı, sinirlilik, anksiyete, uykusuzluk, refleks artışı, tremor, amnezi, asteni, depresyon, yoğunluk hali izlenebilir. Yine yaygın olarak görme bozuklukları, vertigo, kulak çınlaması, rinit, görülebilir. Gastrointestinal sistemle ilgili olarak; karın ağrısı, kabızlık, ishal, dispepsi, şişkinlik bulantı, kusmaya rastlanabilir. Karaciğer enzimleri yükselebilir. Ciltte yaygın olarak döküntü görülebilir.

2.5.2.7. Kontrendikasyonlar

Flurbiprofen, içindeki herhangi bir maddeye karşı aşırı duyarlılığı olduğu bilinen hastalarda kullanılmamalıdır. Flurbiprofen, aspirin veya başka bir nonsteoid antiinflamatuvar ilaç kullanımı sonrasında, astım, üritiker veya alerjik tipte reaksiyonlar gelişmiş hastalarda kullanılmamalıdır. Koroner arter bypass greft ameliyatı sürecinde ağrı kesici olarak kullanılmamalıdır. Aktif peptik ve/veya daha önceden peptik ülser rahatsızlığı olan hastalarda kullanılmamalıdır. Şiddetli kalp yetmezliği olanlarda kullanılmamalıdır. Selektif ve selektif olmayan NSAİD ilaçlar ile yapılan klinik çalışmalarda, ölümle sonuçlanabilecek kardiovasküler trombotik olaylar, myokard enfarktüsü ve felç riski sıklığında artış görülmüştür. Yine benzer çalışmalarda, COX-2 selektif ve selektif olmayan NSAİD ilaçların, koroner arter bypass greft operasyonunun ilk 10-14. gününe kadar ki dönemde perioperatif ağrı kesici olarak kullanılmasının, myokardial enfarktüs ve kalp krizi riskini arttırdığı tespit edilmiştir. NSAİD ilaçlar, hipertansiyonun ortaya çıkmasına ya da varolan hipertansiyonun ağırlaşmasına yol açabilirler. NSAİD'ler, birlikte alınmaları halinde tiazid grubu veya loop diüetiklerin etkinliğini azaltırlar. NSAİD kullanan bazı hastalarda sıvı tutulumu ve ödem gözlenmiştir. NSAİD kullananlarda, mide ince bağırsak veya kalın bağırsakta inflamasyon, kanama, ülserasyon veya perforasyon gibi gastrointestinal şikayetler meydana gelebilir. NSAİD'lerin uzun süreli tedavi gören hastalarda, renal papiller nekroz ve diğer böbrek hastalıklarına yol açma ihtimali yüksektir. Klinik çalışmalarda böbrek yetmezliği olan hastalarda, flurbiprofen eliminasyon yarı ömründe değişiklik olmamıştır. Flurbiprofenin metabolitleri böbrekler yoluyla elimine olmaktadır. Bu nedenle ağır böbrek yetmezliği olanlarda flurbiprofen kullanımı önerilmez.

Flurbiprofen de dahil olmak üzere NSAİD ilaç kullanan hastaların %15'inde bir veya daha fazla sayıda yapılan karaciğer testinde, sınır seviyede yükselmeler meydana gelmiştir. Karaciğer hastalığından şüphelenilecek bulgu ve belirtilerin gelişmesi durumunda (örneğin döküntü, eosinofili) ilaç kesilmelidir.

Flurbiprofen kullanımı sonucu bazen anemi izlenebilir. Düzenli aralıklarla tedavi alan hastalarda, hemoglobin ve hematokrit seviyelerinin de düzenli olarak

kontrol edilmesi gerekir. Astma hastalarında, Aspirin ve diğer NSAİD ilaçlardan birine karşı duyarlı olduğu bilinen hastalarda flurbiprofen kullanılmamalıdır. Flurbiprofen kullanan hastalarda, görmede bulanıklık ve/veya görmede azalma vakaları bildirilmiştir. Bu tür hastalar, görme muayenesi ile yakından takip edilmelidir.

2.5.2.8. İlaç etkileşimleri

Varfarin ve NSAİD ilaçların gastrointestinal sistem kanaması üzerine etkileri sinerjiktir. Her iki ilacı birlikte kullanan hastalarda görülen ciddi kanama riski, her iki ilaçtan birini kullananlara göre daha yüksektir.

Aspirinle beraber flurbiprofen kullanılması, serum flurbiprofen konsantrasyonlarını düşürür.

Beta blokerlerde ise flurbiprofen propanololün antihipertansif etkisini azaltmakta ama etanolün etkisini değiştirmemektedir. Flurbiprofen kullanımı bazı hastalarda, furosemid ve tiyazidlerin natriüretik etkisini azaltabilmektedir. Bu etkisi prostaglandin sentezi inhibisyonuna bağlanmıştır.

Lityum düzeyi artışına yol açabilmektedirler. Renal lityum klirensinde azalmaya yol açarlar. Bu yüzden flurbiprofenle beraber lityum kullanan hastalarda, lityum toksisitesi yönünden dikkatli olunmalıdır.

Metotreksatla beraber flurbiprofen kullanıldığında, diğer NSAİD larda olduğu gibi metotreksatın kan düzeyi artmaktadır. Bunu da renal eliminasyonu azaltarak yaptığı ilgili hayvan deneylerinde gösterilmiştir.

Antiplatelet ilaçlar, flurbiprofenle beraber kullanıldıklarında GİS kanaması riskini artırabilmektedirler. Yine selektif serotonin reuptake inhibitörleri ile beraber GİS kanama riskini arttırmaktadırlar. Siklosporinle beraber alındığında nefrotoksosite riskini arttırmaktadırlar. Steroidlerle birlikte alındığında GİS kanama riskini artırır. Diğer analjezik ve siklooksijenaz-2- selektif inhibitörleriyle beraber alındığında yan

etki ihtimali daha da artmaktadır. NSAİD ilaçlar mifepriston kullanımında, 8-12 gün sonra mifepristonu etkileyeceği için kullanılmamalıdır.

Takrolimusla beraber flurbiprofen alındığında, nefrotoksisite riski vardır.

Zidovudinin NSAİD larla birlikte alındığında hematolojik toksisite riski yüksektir. Simetidin ve ranitidinin flurbiprofenin absorpsiyon hızı ve derecesi üzerine herhangi bir etkisi olmadığı gösterilmiştir. Antiasitler de flurbiprofenin etkinliğini azaltmamış ancak emilimini geciktirmiştir.

Digoksin kullanan hastalarda flurbiprofen, digoksinin kan düzeyini değiştirmemektedir.

Oral hipoglisemik ilaçlarla beraber flurbiprofen verilen hastalarda, kan şekeri düzeyinde hafif düşme dışında hipoglisemik semptomlarda bir değişiklik izlenmemiştir.

2.5.2.9. Doz aşımı ve tedavisi

Diğer ilaçlarda olduğu gibi, flurbiprofen kullanımında da etkin en düşük dozu vermeye çalışmak gerekir. Doz aşımı sonrası semptomlar genellikle; letarji, uyuşukluk, bulantı, kusma ile sınırlı olup, destekleyici tedavi ile geçmektedir. GİS kanaması meydana gelebilir. Nadir de olsa hipertansiyon, akut böbrek yetmezliği, solunum depresyonu ve koma meydana gelebilir. NSAİD kullanımı sonucu anaflaktoid reaksiyonlar bildirilmiştir. Bunlar doz aşımı sonrası da meydana gelebilir.

Aşırı dozda, spesifik bir tedavi yoktur. İlaç alımından sonraki 4 saat içinde emezis veya aktif kömür (yetişkinlerde 60-100gr arası, çocuklarda 1-2g/kg) endike olabilir. Proteinlere yüksek bağlanma oranı nedeniyle; zorlu diürez, idrar alkalinizasyonu, hemodializ veya hemoperfüzyon işe yaramayabilir.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroşirurji Kliniği Mikroşirurji Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Bunun için T.C. Tarım Bakanlığı Ankara Tavukçuluk Enstitüsü'nden temin edilen, spesifik patojen içermeyen, fertil, sıfırıncı gün Atabey® yumurtaları kullanılmıştır. Çalışmanın histopatolojik incelemesi, Yıldırım Beyazıt Dışkapı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji servis labratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

3.1. DENEY MATERYALİ

Deneysel erken dönem civciv embriyo modeli, embriyolojide oldukça sık kullanım alanına sahiptir. Kümes hayvanlarından elde edildikleri için istenilen dönemlere ait embriyoların rahatlıkla elde edilebilmesi ve inkübasyon periyodlarının kısa olması açısından vertebralıların, özellikle memelilerin, erken omurga gelişimi için tavuk embriyosu çok iyi bir model olmaktadır.

Deneysel araştırma konusu; insanda nöral tüp kapanma defektleri olduğunda, civciv erken dönem embriyoları; insan embriyolojik gelişim paterni ile benzer özellikler gösterdiğinden nöral tüp kapanma defektleri ile ilgili deneysel çalışmalarda tercih edilen bir denek grubudur.

Çalışmada, T.C. Tarım Bakanlığı Ankara Tavukçuluk Enstitüsü'nden temin edilen, ağırlıkları 65 ± 5 gr arasında, 30 adet, spesifik patojen içermeyen, fertil, sıfırıncı gün Atabey® beyaz tavuk yumurtası kullanılmıştır.

3.2. DİĞER GEREÇLER

Çalışmamızda kuluçka makinası, ışık mikroskobu (markası), fotoğraf makinası (Canon EOS60D, canon powershoot A450), büyük cam kap, petri kutusu,

saat camı, penset, doku makası, mikromakas, gaz tampon, insülin enjektörü, Hamilton mikrosiringa, flaster, pudrasız steril eldiven, araştırılan etken maddenin istenilen dilüsyon oranının sağlanması için hassas terazi, lup ve steril drape, batikon, elde edilen embriyoların saklanması için %5'lik formol, %70 etanol kullanılmıştır.

3.3. YÖNTEM

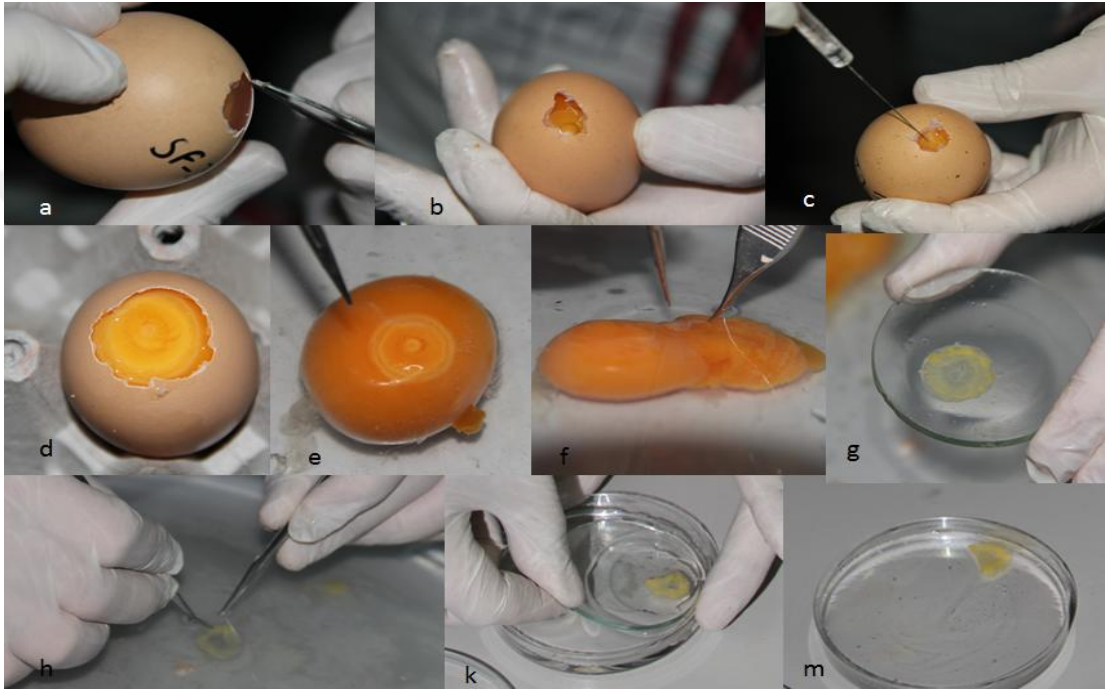
Çalışmamızda kullanılan döllenmiş 40 adet yumurta, sıfırıncı gün embriyolarının devamlılığının sağlanması için, labratuvarda bulunan kuluçka makinasına konuldu. Kuluçka makinesinde, $37,8 \pm 0.2$ °C lik sabit bir sıcaklık aralığı sağlayan bir termostat ve sıcaklığın kuluçka makinası içinde eşit bir şekilde dağılımını sağlayan bir fan mevcuttu. Ortam nemi ise %60–70 civarında olacak şekilde ayarlandı. Kuluçka makinası, içindeki ortam şartları istenilen düzeye gelinceye kadar boş çalıştırıldı. Kuluçka makinasına konulan yumurtaların sivri kısımları aşağıda olacak şekilde yerleştirildi. İnkübasyon sırasında yumurtalar, her iki saatte bir düşey eksen ile 45° açı yapacak biçimde cihaz tarafından otomatik olarak çevrildi.

Kuluçka makinasına konulan yumurtalardan 10 tanesine herhangi bir işlem yapılmadan, 48 saat boyunca inkübasyona devam edildi. Yumurtalardan 30 tanesi ise inkübasyonun 28. saatinde (Hamburger-Hamilton evrelendirmesine göre 8. evre) kuluçka makinasından alındı. 2 adet yumurta çalışma dışı bırakıldı (yumurtaların kabuğunun çatlak olduğu görüldüğünden ayrıldı).

Yumurta kabuğu üzerine batikon ve sonrasında %70 etanol dökülerek sterilizasyon sağlandı. Sonrasında steril şartlar altında pencere açma tekniği uygulandı (4,32,111). Bu teknik ile yumurta kabuğu kırılarak 0.5–1 cm yarıçapında bir pencere açıldı (Resim 13a). Daha sonra kabuk membranı açıldı. Halka şeklindeki embriyoner disk görüldü (Resim13d,e). Daha önceden hazırladığımız ölçü ve dozlardaki serum fizyolojik ve flurbiprofen, subblastodermik olarak Hamilton mikrosiringa yardımı ile 10 mikrolitre solüsyon şeklinde enjekte edildi (Resim13c).

Enjeksiyon sonrası yumurta üzerindeki açık pencere, steril drape ile kapatıldı. Daha sonra yumurtalar 180 derece çevrilerek kuluçka makinasına tekrar kondu.

Normal doz grubundan bir yumurta embriyonel diskinde enjeksiyon yapılırken embriyonel disk yırtıldı. Bu yumurta çalışmadan çıkarıldı. Yüksek doz grubundan bir yumurta da standardizasyon açısından rastgele çalışmadan çıkarıldı. Toplam 4 yumurta çalışma dışı bırakılmış oldu.



Resim 13. Deney aşamaları.

a,b; Pencere yöntemi ile açılan yumurta. **c;** Mikro enjektör ile embriyonel diske ilaç enjeksiyonu. **d, e;** Embriyonel diskin makroskopik görünümü. **f;** Mikromakas kullanılarak embriyonik zarlardan vitellin membranın yolk üzerinden kesilmesi. **g,h;** Saat camı ile blastodermin kaptan çıkartılması. **k;** Saat camından petri kabına aktarma işlemi. **m;** Histopatolojik olarak incelenmek üzere petri kabına alınan embriyonel disk materyali.

İnkübasyonun 48.saatinde yumurtalar sırasıyla kuluçka makinasından çıkartıldı. Yumurta sarısı, yumurta kabuğu kırılarak içerisinde steril serum fizyolojik (%0.9 NaCl) bulunan cam bir kaba konuldu (Resim 13e). Saat camı, kabın içine yerleştirildi. Sonrasında ince forsepsler ve mikromakas kullanılarak embriyonik zarlardan olan vitellin membran yolk üzerinden kesildi (resim13f). Vitellin membran her iki uçtan dikkatlice tutularak yolktan ayrıldı (Resim13h). Blastoderm, serum

fizyolojik içinde ilerletilerek saat camı içerisine kaydırıldı. Sonrasında saat camı, üzerinde blastoderm olacak şekilde kaptan çıkartıldı (Resim g). Bu aşamadan sonra, embriyolar ışık mikroskobu altında inceleme altına alındı. X10 büyütme ile gelişimi, nöral tüp defekti ve anensefali durumu incelendi. Sonrasında örnekler histopatolojik inceleme için, içinde formol olan petri kaplarına alındı.

Çalışma için tablo 2’de gösterildiği gibi 4 grup oluşturuldu.

Tablo 2. Çalışma grupları

GRUPLAR	ÖZELLİKLERİ
A	Kontrol grubu (embriyoya müdahale yapılmadı)
B	Serum fizyolojik (SF) grubu (10 mikrolitre %0.9 luk SF enjekte edildi)
C	Normal doz grubu (10 mikrolitre içinde flubriprofenin yetişkin terapötik dozuna eşdeğer doz verildi)
D	Yüksek doz grubu (10 mikrolitre içinde flubriprofenin yetişkin terapötik dozunun on katına eşdeğer doz verildi)

Oluşturulan gruplardan ilki olan grup A (kontrol grubu)’daki embriyolar 48 saat boyunca herhangi bir işlem yapılmadan inkube edildi.

Diğer yumurtalar ise inkübasyonun 28. saatinde (Hamburger-Hamilton evrelendirmesine göre 8. evre) pencere açma yöntemi ile açıldı ve embriyolara 10 µL hacim içerisinde kontrol ve ilaç uygulamaları yapıldı.

Grup B (SF grubu)’ye sadece serum fizyolojik verildi.

Grup C (normal doz grubu)’ye flubriprofenin terapötik indeks içerisinde kullanılan dozdan (300 mg/70kg) 0,3 mg (yumurtalar ortalama 70 gr olarak alınmıştır) flurbiprofen (serum fizyolojik içinde çözünmüş olarak) verildi.

Grup D (yüksek doz grubu)’ye flurbiprofenin terapatik indeks içerisinde kullanılan dozun 10 katına eşdeğer (3000mg/70kg) dozdan hesaplanarak 3 mg flubriprofen (serum fizyolojik içinde çözünmüş olarak) verildi.

Tüm embriyolar 48. saatte (Hamburger-Hamilton evrelelendirmesine göre 12.evre) yumurtadan çıkartıldı. Bu aşamadan sonra embriyolar, Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroşirurji Kliniği Mikroşirurji Laboratuvarında ışık mikroskobu altında morfolojik olarak incelendi. Daha sonra tüm embriyolar, %10 formol eklenmiş olan petri kaplarına aktarıldı. Sonrasında histopatolojik olarak incelenmek üzere Yıldırım Beyazıt Dışkapı Eğitim ve Aratırma Hastanesi Patoloji servis labratuvarlarına nakledildi.

3.4. PARAFİN DOKU TAKİBİ

Parafin doku takibine alınacak embriyolar elde edildikten sonra %10'luk formol solüsyonu içerisine 24-48 saatleri boyunca tespit edildi. Fiksatiflerin uzaklaştırılması için 5 dakika distile su ile yıkandı. Dehidratasyon amacı ile 30'ar dakika %65,%85 ve %95'e kadar artan etil alkol serilerinden geçirildi. Embriyoların parafin bloklar içinde ve kesit aşamasında görünürlüğünü sağlamak için preparatlara bir damla eozin boyası ilave edildi. Takiben 30 dakika şeffaflaştırma amacı ile ksilene tabi tutuldu. 60 °C'lik etüv içerisinde 1 saat bekletildi. Doku gömme cihazında parafin blok haline getirildi. Sonra buzlukta soğutuldu. Oluşan bloklardan mikrotom aracılığı ile 3µ luk seri kesitler, histopatolojik inceleme amacı ile lamalara alındı.

3.5.HEMATOKSİLEN – EOZİN BOYAMASI

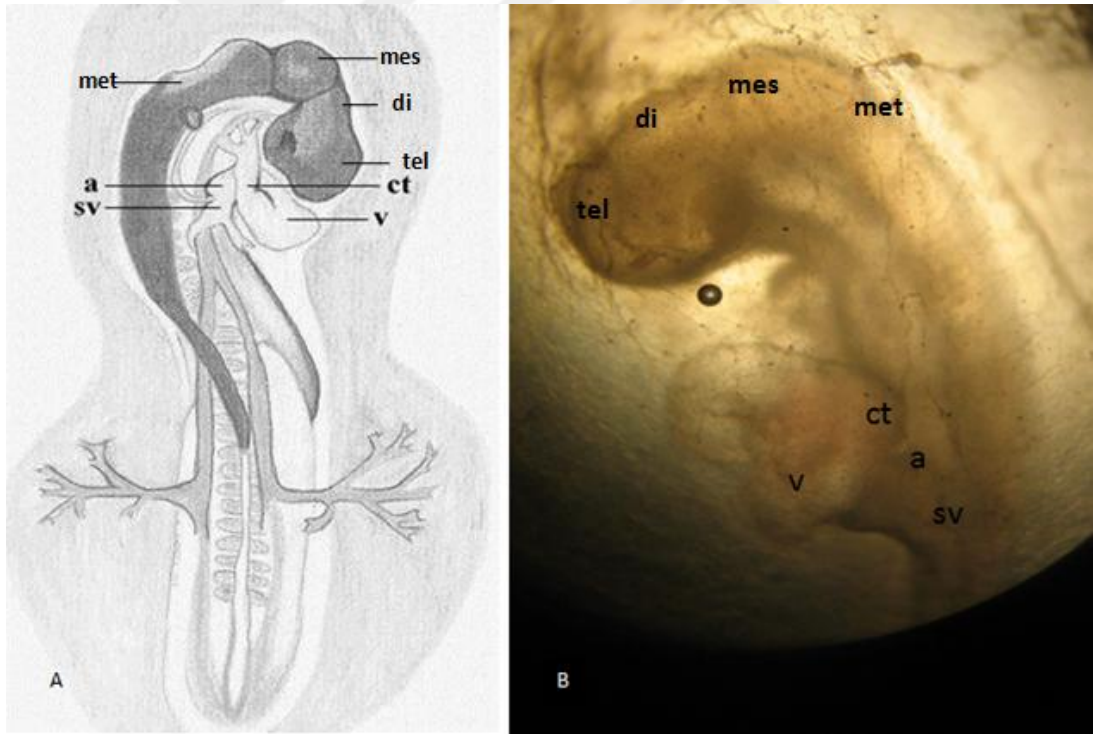
Tablo 3. Hematoksilen eosin boyama aşamaları

İşlem	Kullanılan madde	Süre
Deparafinizasyon	1-60°C'deki etiv	60 dakika
	2-1.ksilen	5 dakika
	3-2.ksilen	5 dakika
	4-3.ksilen	5 dakika
Hidrasyon	1-1.alkol (%95)	5 dakika
	2-2. alkol (%85)	5 dakika
	3-3.alkol (%70)	5 dakika
	4-Akan su	3 dakika
Boyama	1-Harris hematoksilen	6 dakika
	2- Akan su	1 dakika
	3-Asit alkol	1 dip (Daldır çıkar).
	4-Akan su	30 saniye
	5-Amonyaklı su	30 saniye
	6-Akan su	1 dakika
	7-Eosin	3 dakika
	8-Akan su	1 dakika
Dehidrasyon	1-alkol (%70)	3 dakika
	2-alkol (%80)	3 dakika
	3-alkol (%95)	3 dakika
Berraklaştırma	1-Kurutma	
	2-1.ksilen	5 dakika
	3-2.ksilen	5 dakika
	4-3.ksilen	5 dakika

İşlemlerinden sonra preparatlar mikroskop altında incelendi.

4. BULGULAR

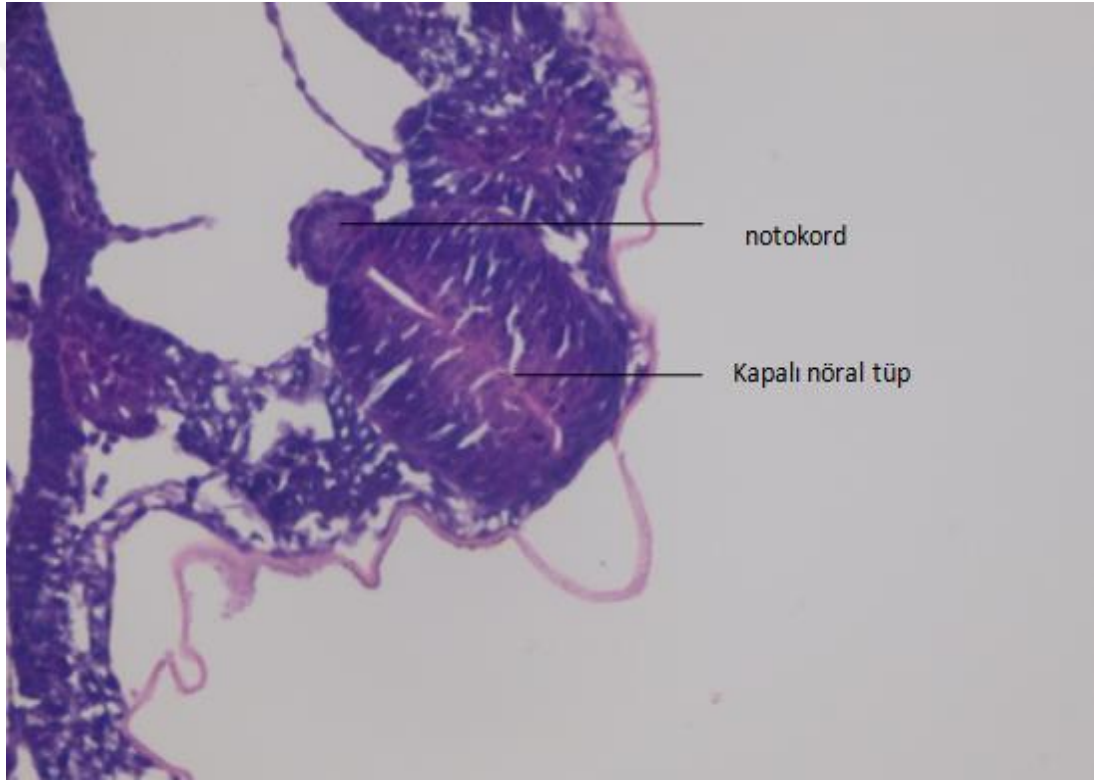
A (kontrol) grubunda, 10 adet embriyonlu yumurta ile çalışıldı. Hiçbir işlem uygulanmadan enkübasyona devam edilerek 48.saatte tüm yumurtalar açıldı ve tüm embriyolar yumurtadan çıkartıldıktan sonra ışık mikroskop ile değerlendirildi. Cıvcıv embriyolarından 8 tanesinin, Hamburger-Hamilton sınıflamasına göre olmaları gereken embriyonel basamakta oldukları gözlemlendi. Bu embriyolarda nöral tüp kapalıydı. 2 adet embriyoda ışık mikroskobu ile nöral tüpün açık olduğu izlendi. Hamburger-Hamilton sınıflamasına göre olmaları gereken zamanda olmayıp 28-29.saatle uyumlu oldukları tespit edildi.



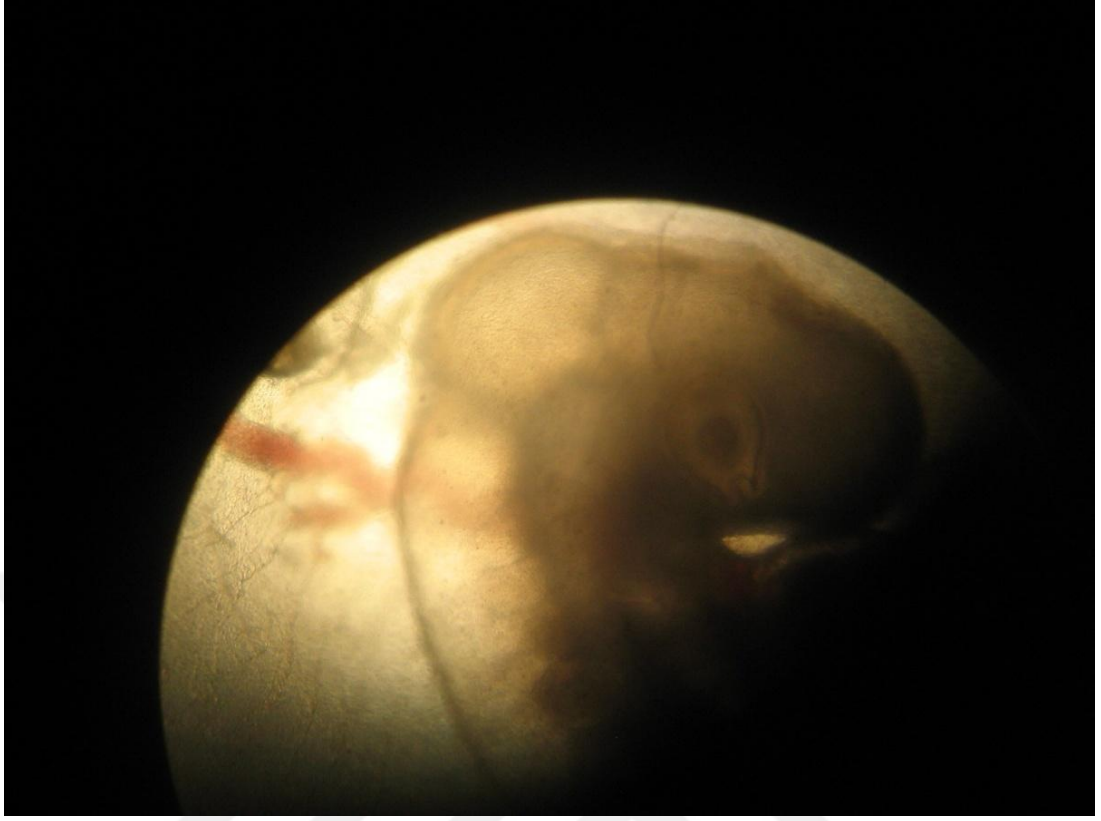
Resim 14. 48.saatteki cıvcıv embriyosunun şematik çizimi ve ışık mikroskopik görüntüsü

A; 48 saatlik cıvcıv embriyosunun sağdan görünümünün çizimi. Ventrikül (v), sinus venosus (sv), atrium (a) ve conotruncus (ct). Telensefalon (tel), diensefalon (di), mesensefalon (mes), metensefalon (met) (66). **B;** bizim çalışmamızda resimlediğimiz 48 saatlik cıvcıv embriyosunun soldan görünümü.

B (SF) grubunda, 10 adet embriyonlu yumurta ile çalışıldı. 48. saatte tüm yumurtalar açıldı ve tüm embriyolar yumurtadan çıkartıldıktan sonra ışık mikroskop ile değerlendirildi. Bir adet embriyo nöral tüp kapanma safhasında idi. Hamburger – Hamilton sınıflamasına göre 32. saatle uyumluydu. Bir adet embriyoda nöral tüp kapanmamıştı. Hamburger – Hamilton sınıflamasına göre 28-29. saatle uyumluydu. Geriye kalan 8 adet embriyonun, normal gelişimlerine devam ettikleri ve Hamburger – Hamilton sınıflamasına göre olmaları gereken embriyonel basamakta oldukları gözlemlendi. Bu embriyoların tümünde nöral tüpün kapandığı görüldü (Resim 15). Herhangi bir malformasyon veya gelişim geriliğine rastlanmadı (Resim 16).



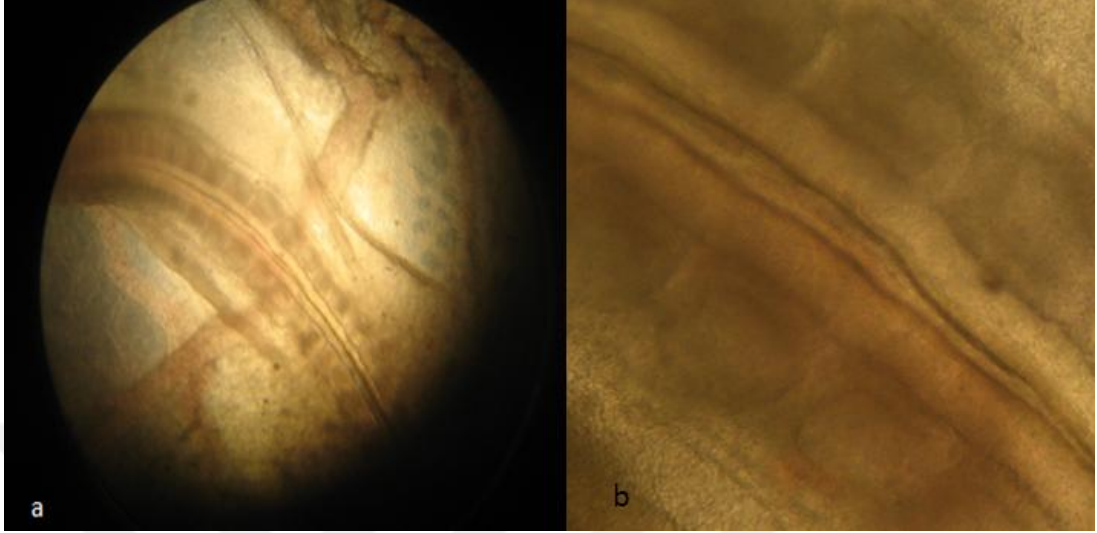
Resim 15. Kapalı nöral tüp görünümü



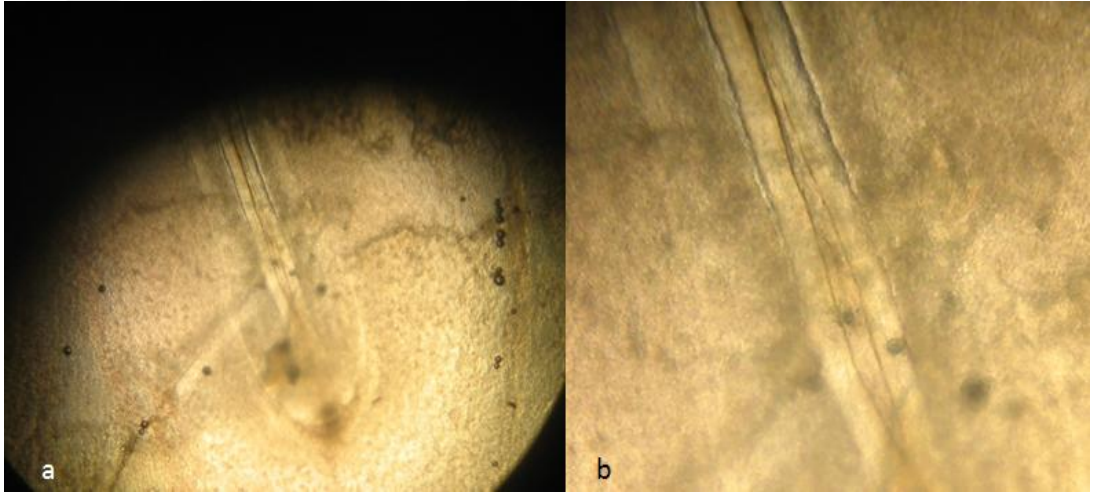
Resim 16. Normal serebral gelişimini sürdüren embriyonun 48.saat ışık mikroskopik görüntüsü.

C (normal doz) grubunda, 8 adet embriyonik yumurta ile çalışıldı. 28. saatte civciv embriyolarına, flurbiprofenin teropatik indeks içerisinde kullanılan dozuna eşdeğer (300 mg/70kg/gün) doz, usulüne uygun olarak enjekte edildi. Yumurtaların tümü 48. saatte açıldı ve embriyolar yumurtadan çıkartıldıktan sonra ışık mikroskop ile değerlendirildi. Bir adet embriyoda, embriyo diskinin gelişmediği ve embriyonun ölü olduğu görüldü. Bunun, erken dönemde kuluçka makinasına konulduktan sonra, embriyolojik gelişimin sürdürülememesine bağlı olduğu düşünüldü. Dört embriyoda nöral tüpün açık olduğu tespit edildi. Bunlardan üç tanesinde lumbosakral düzeyde açıklık (resim 18a ve 18b) tespit edilirken bir tanesinde torakal düzeyde açıklık görüldü. (resim 17a ve 17b) Bir embriyoda kranial malformasyon (anensefali) izlendi. Diğer iki embriyoda nöral tüpün kapalı olduğu, embriyoların normal gelişimlerine devam ettikleri ve Hamburger – Hamilton sınıflamasına göre olmaları

gereken embriyonel basamakta oldukları gözlemlendi. Herhangi bir malformasyon veya gelişim geriliğine rastlanmadı.



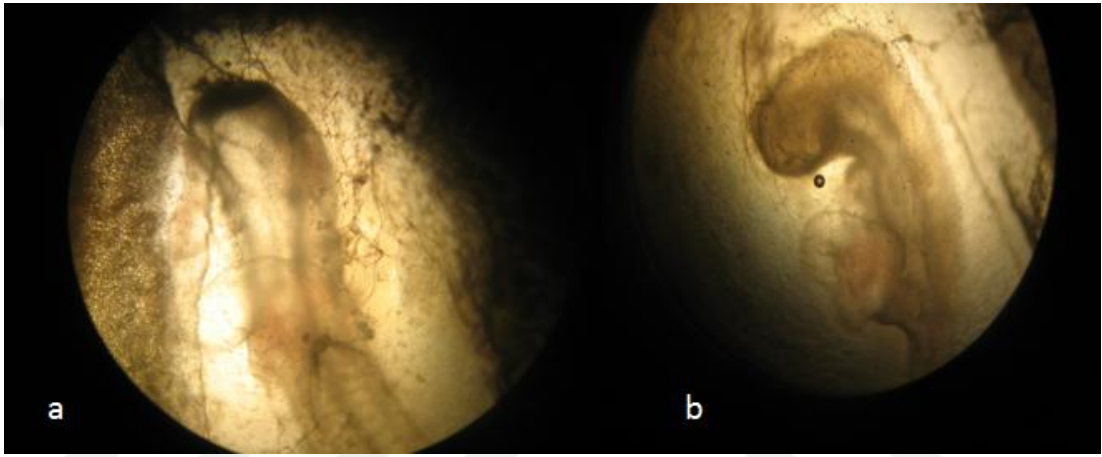
Resim 17. Cıvciv embriyosunun Torakal bölgesinin 48. Saatteki görüntüsü
a; Torakal düzeyde nöral tüp açıklığı izlenmektedir. **b;** a'daki resmin büyütülmüş görüntüsü.



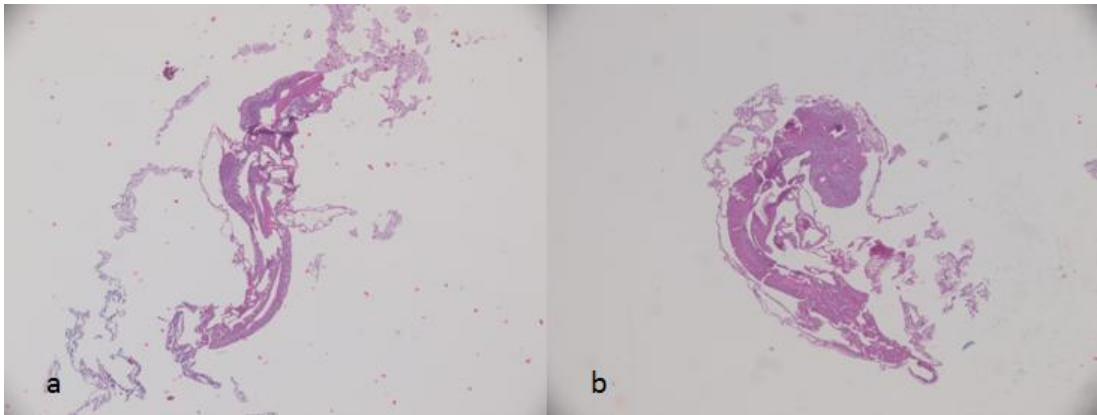
Resim 18. Cıvciv embriyosunun lumbosakral bölgenin 48. Saatteki görüntüsü.
a; Lumbosakral düzeydeki nöral tüp açıklığı. **b;** a'daki resmin büyütülmüş görüntüsü.

D (yüksek doz) grubunda ise 8 embriyo ile çalışıldı. 28. saatte cıvciv embriyolarına, flurbiprofenin teropatik indeks içerisinde kullanılan dozunun 10

katına eşdeğer (3000 mg/70kg /gün) dozu verildi. Tüm yumurtalar 48.saatte açıldı, ardından embriyolar ışık mikroskop ile değerlendirildi. Dört adet embriyonun anensefalik olduğu görüldü (resim 19a). Üç embriyonun nöral tüpünün açık olduğu izlendi. Bunlardan iki tanesinin lumbosakral düzeyde, bir tanesinin ise multipl düzeyde açılığı vardı. Bir embriyoda hem anensefali ve hem de nöral tüp defekti geliştiği izlendi. Bu embriyodaki nöral tüp defekti de multipl düzeydeydi. Bu gruptaki embriyoların hiçbirinde normal gelişimlerine devam eden embriyoya rastlanmadı. Histopatolojik olarak da teyit edildi (Resim 20a).



Resim 19. Anensefalik ve normal civciv embriyoların ışık mikroskopik görüntüleri
a;Anensefalik embriyo. **b;** Normal embriyo



Resim 20. Anensefalik ve normal civciv embriyoların ışık mikroskopik histopatolojik görünüşleri.

a;Anensefalik embriyonun histopatolojik resmi. **b;** Normal embriyo.

4.1. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Çalışmamızda, A ve B grubunda nöral tüp yapıları normaldi. Kranial malformasyon izlenmedi.

C grubunda ise, (4/8) %50 oranında nöral tüp açıklığı tespit edildi. Yine bu grupta, %12.5 (1/8) anensefali tespit edildi.

D grubunda, dört embriyonda, (4/8) %50 oranında anensefali izlendi.%37.5 (3/8) oranında nöral tüp defekti olan embriyo mevcuttu.%12.5 oranında da anensefali ve nöral tüp defekti birlikteliği vardı.

Gruplar arası uygulanan non parametrik testlerden Mann Whitney U testine göre kontrol grubu ile serum fizyolojik grubu arasında istatistiki bir anlamlılık saptanamazken ($p=0,542$) kontrol grubu ile normal doz grubu arasında ($p=0,023$) ve kontrol grubu ile yüksek doz grubu arasında ($p=0,001$) istatistiki anlamlılık olduğu saptanmıştır.

Serum fizyolojik grubu ile normal doz ($p=0,006$) ve yüksek doz arasında ($p=0,000$) uygulanan testlerde ise yine her ikişerli grup arasında istatistiki olarak anlamlılık olduğu görülmektedir.

Ancak normal doz ile yüksek doz grubu arasında ($p=0,143$) istatistiki anlamlı farklılık saptanamamıştır. Ancak biyolojik deformasyon saptanan embriyo gelişimindeki geriliklerin şiddeti göz önüne alınır ise normal doz ile yüksek doz arasında da doz ile artan bir ilişkiden bahsedilebilir.

Kontrol grubu ile serum fizyolojik uygulanan gruplar arasında, istatistiksel bir farklılık olmaması beklenen bir sonuçtur. Girişimsel bir işlemin embriyo gelişimine etkisinin az olması veya olmaması, uygulanan prosedürlerin embriyo üzerine etkisinin minimum düzeyde olduğunun göstergesidir. Buna karşılık olarak uygulanan ilacın embriyo gelişimine etkili olduğu söylenebilir. Bu çalışmada net olarak gösterilememiş olsa da ilişkinin doz arttırımı ile doğrudan şiddetini arttırdığı saptanmıştır. Buna rağmen normal doz ile yüksek doz uygulanan ilacın embriyo üzerine olan etkilerinin istatistiksel olarak gösterilememiş olmasının çalışmanın kısıtlılıklarından kaynaklandığı söylenebilir. Daha geniş serilerde ve basamaklı olarak uygulanacak çalışmalarda doz ilişkisi daha net olarak ortaya konulabilecektir.

5. TARTIŞMA

Günümüzde NSAİD'ların çok yaygın olarak kullanıldığı bir gerçektir. Gebelik döneminde belli kısıtlamaların ve uyarıların olmasından dolayı daha dikkatli kullanılmaktadırlar. Ancak anne adayının gebe olduğunu öğreninceye kadar ki sürede, embriyonik dönemin önemli bir kısmı geçmektedir. İşte bu sürede kullanılan NSAİD'lar konjenital malformasyon yapma potansiyeline sahiptir.

İnfertilite tedavisinde; özellikle embriyo transferi esnasında uterin kontraksiyonların olduğu tespit edilmiştir (21). Bunun sonucunda embriyo implantasyonu gerçekleşmemektedir. (90). Bu kontraksiyonları azaltmak için uterin gevşetici olarak farklı NSAİD'lar denenmektedir. Klinik pratikte de bazı tedavi protokollerinin içinde yer almaktadır (14,36).

Nöral tüp defektleri, santral sinir sisteminin en sık görülen konjenital malformasyonudur. Etyolojisi henüz bilinmemekle beraber çoğunlukla multifaktöriyel sebepler suçlanmaktadır.

Anormal nörolasyon nedeni ile oluşan NTD'leri, embriyonik veya fetal dönemde ölümle sonuçlanabilen; medikal, ekonomik ve sosyal sorunlara da yol açan önemli konjenital malformasyonlardır (106).

NTD sıklığı her 1000 doğumda 0.3 ila 3 arasında değişmektedir. Dünya çapında her yıl 324 bin etkilenen olduğu tahmin edilmektedir (56,65).

Başlıca NTD modelleme yöntemleri arasında; memeli, kanatlı, amfibiler ve bilgisayar modellemeleri yer almaktadır. Bu modellemelerin birbirlerine göre avantaj ve dezavantajları vardır. Erken dönem tavuk embriyosu modeli de, memelilerin embriyonel gelişiminin ilk ayna uyduğu için ideal bir modeldir (11).

Günümüzde in vivo ve in vitro çalışmalarla, omurgalılarda nörolasyonun moleküler mekanizmaları aydınlatılmakla beraber insanda nöral tüpün morfolojik gelişimi hala çok anlaşılabilmiş değildir (85,86).

Embriyonel gelişimin erken döneminde, embriyonun maruz kaldığı kimyasalların ve çevresel etmenlerin, gelişim kusurlarına neden oldukları bilinmektedir (11,22,45). Bu kritik dönem, üç germ yaprağının organizasyonu ile dokuların organları oluşturmak üzere farklılaştığı dönemdir.

Çevresel nedenlerin, gebeliğin 16. haftasından önce nöronal migrasyon bozukluklarına neden oldukları bilinmektedir. Özellikle CMV gibi intrauterin kazanılmış enfeksiyonlar, iyonize radyasyon ve metilmerkürüyle karşılaşma, anneye ait fizik travma sonucu plasental dolaşımın bozulmasına bağlı iskemi, karbonmonoksit zehirlenmesi, erken gebelik döneminde vajinal kanama gibi nedenler nöronal göçün bozulmasından sorumlu olabilir. Fetal hipoksik zedelenmeye neden olan ikizden ikize transfüzyon sendromu ve feto-maternal kanamalar, kronik maternal hastalıklar, maternal hipertermi, diabetes mellitus, gebelik sırasında alkol kullanımı (fetal alkol sendromu), vitamin A, kokain, organik civa ve ergotaminler gibi toksinlere bağlı hasarlanmaların kortikal displazilerin gelişiminde önemli olduğu gösterilmiştir. Geelen ve arkadaşları, 1980’de yayınladıkları çalışmada gebe sıçanlarda hipervitaminöz A’nın anensefali yapabileceği sonucuna varmıştır (40).

Bunun yanında erken dönem tavuk embriyolarında yapılan deneysel çalışmalarda ise sitokalazinler, ionofor A23187, papaverin, diazepam, kafein, etanol, metotreksat ve aminopterin gibi folat antagonistleri, fenitoin ve valproik asit gibi antiepileptikler ve lokal anesteziklerin nöral tüp kapanma defektlerine neden oldukları gösterilmiştir (11,44,59,60,99,114).

Lee ve arkadaşları 500 µg/ml kafeinin, erken dönem tavuk embriyolarında NTD gelişim insidansını belirgin bir şekilde arttırdığını bildirmişlerdir (59,60).

Ünlü ve arkadaşlarının civciv embriyolarında yaptığı çalışmada, verapamil-HCl verilen embriyolarda NTD olduğu gösterilmiştir.

Barutçuoğlu ve arkadaşları bir çalışmalarında, düşük doz etanol konsantrasyonlarında bile embriyonun gelişimsel olarak kontrol grubuna göre belirgin şekilde geri kaldığını ve NTD oluştuğunu göstermişlerdir (11).

Bunun yanında Güvenç ve arkadaşlarının civciv embriyolarında levatresetamin nöral tüp defekti yapıcı etkisini araştırdığı çalışmada, normal ve yüksek doz gruplarında nöral tüp yapıcı etkisine rastlanmamıştır.

Nagele ve arkadaşları 400 µg/ml diazepam ile in vitro kültür ortamında yaptıkları çalışmada, elektron mikroskopik olarak tavuk embriyolarının yaklaşık %80'inde, özellikle orta beyin bölgesinde NTD ile karşılaşmışlardır (73). Tinkal ve arkadaşlarının yaptığı benzer bir çalışmada, meloksikamın, yüksek dozlarda, erken dönem tavuk embriyosunda nöral tüp defekti insidansını arttırdığı sonucuna ulaştıkları ifade edilmiştir.

Anensefali en ciddi ve genellikle ölümlü sonuçlanan serebral disrafizm türüdür. Kafatasını örten cildin ve beyin bir kısmının yokluğu ile karakterizedir (42,61,76,57,91).

Anensefali ile ilgili olarak ise Chandler AL. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, bazı klinik ve etnik gruplarda, artmış folat, tiyamin, betaine, demir ve vitamin A alımının anensefali riskini azalttığı ile ilgili sonuçlara ulaşılmıştır (25).

Nakatsu ve arkadaşlarının 2000 yılında 47 insan embriyosu üzerinde yaptığı çalışmada defektin seviyesi 6 grup olarak sınıflandırılmıştır. Çalışmanın sonunda, NTD seviyesinin hastalığın ciddiyetini ve intrauterin sağkalımı etkilediği tespit edilmiştir. Total disrafik grup (hem kranial ve hem de spinal tüp defekti olan grup),Carneige evrelemesine göre en kısa intrauterin yaşam süresine sahiptir (74).

Bizim çalışmamızda, normal doz grubunda %63 oranında NTD tespit edilirken, bunun %20 sinin anensefali olduğu görülmüştür. Özellikle yüksek doz grubunda, tüm embriyoların NTD' li olduğu görüldü. Bunların %63'ünü anensefalili embriyolar oluşturmaktaydı.

48.saat embriyonun mikroskop altında incelemesinde, embriyonun Hamburger Hamilton sınıflamasına göre saatle uyumlu olduğunu tespit ettik. Ancak yine HamburgerHamilton'a göre evre 10 a uyan 33-38. saatlerde kranial eğimin (büklümün) net bir şekilde izlenebiliyor olması gerekirken, bizim anensefali olarak gördüğümüz gruplarda, embriyoların hiçbirinde bu normal kafa şekli görülmedi. Bunun yanında tüm anensefalili embriyolarda kalp gelişimi izlendi. İki odacıklı kalpte düzenli kan akışı mevcuttu. Kalp gelişiminin ortalama 25-30. saatleri arasında kalp vezikülleri bir tüp şekline girmeye başlar. Oluşan bu tüp, yaklaşık 33.saatte eğilerek belirgin bir şekilde S şeklini alır. Kan akımı başlar (66).

Bizim yaptığımız bu çalışmanın sonunda, flubiprofen kullanımının normal doz düzeyinde bile NTD sıklığını artırdığı tespit edildi. Flubiprofenin, kranial nöral tüp defekti olan anensefali oranını anlamlı bir şekilde artırdığı görülmüştür. Bu çalışma, erken dönem embriyonun morfolojik gelişiminde rol alan biyokimyasal süreçleri anlamada bir basamak olabilir.

Bizim de çalışmamızda gösterdiğimiz gibi, çok yaygın olarak kullanılmakta olan NSAİD'ların, özellikle gebelik öncesi ve erken gebelik evresinde kullanımına çok dikkat edilmesi gerekmektedir.

Literatür incelendiğinde, benzer çalışmaların hemen hemen hiçbirinde, flurbiprofen ile oluşabilecek nöral tüp defektinin alt grupları çalışılmamıştır. Bizim yaptığımız bu çalışmanın sonunda, flubiprofen kullanımının normal doz düzeyinde bile NTD sıklığını artırdığı tespit edildi. Flubiprofenin, kranial nöral tüp defekti olan anensefali oranını anlamlı bir şekilde artırdığı görülmüştür. Bu çalışma sonunda nöral tüp defekti ile ilgili yapılan çalışmaları ayrıntılandırdığımıza inanıyoruz.

Teknik imkânlar arttığında ve daha geniş denek gruplarıyla çalışıldığında, özellikle kranial nöral tüp defektinde, morfolojik olarak embriyo gelişiminin hangi aşamada sekteye uğradığı daha iyi anlaşılabilir.

ÖZET

Ozeren E. Flurbiprofenin erken dönem civciv embriyosunda Anensefali oluşumuna etkisinin araştırılması. Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği, Uzmanlık Tezi, Ankara, 2009

Günümüzde flurbiprofen etken maddeli NSAİD'lar, gebelerde ağrı kesici, ateş düşürücü ve romatizma ilacı olarak en sık kullanılan ajanlardandır. NSAİD'ların gebelikte kullanımı; konjenital malformasyon, erken doğum ya da düşük doğum ağırlığı ile ilişkilidir

NSAİD'ların, infertilite tedavisinde endometriuma implantasyonu güçlendirdiği ile ilgili birtakım yayınlar mevcuttur. Buna ek olarak, uterin kontraktilite azalmasına neden olduğu için invitro fertilizasyon (IVF) uygulamalarındaki tedavi protokollerinde yer alabilmektedir.

Biz bu çalışmada, flurbiprofenin erken dönem civciv embriyolarında anensefali oluşumuna etkilerini araştırmayı amaçladık. Flurbiprofenin embriyonal dönemde anensefali oluşumuna etkileri ile ilgili literatürde bulabildiğimiz bir çalışma yoktur.

Çalışmada 36 adet embriyonlu yumurta ile 4 grup oluşturduk. 10 adet embriyonlu yumurta ile kontrol grubu, 10 adet embriyonlu yumurta ile serum fizyolojik grubu, 8 adet embriyonlu yumurta ile normal doz grubu ve 8 adet embriyonlu yumurta ile de yüksek doz grubu oluşturuldu.

Kontrol grubunda; 48. saat incelemesinde 2 adet embriyonun, Hamburger Hamilton'a göre ışık mikroskopik inceleme ile 28.29. saatle uyumlu oldukları gözlemlendi. Nöral tüpleri açıktı. Bu gruptaki diğer embriyolar normaldi.

SF (Serum fizyolojik) grubunda; 48. saat incelemesinde, bir adet embriyonun kapanma safhasında olduğu görüldü. Bir adet embriyoda nöral tüp kapanmamıştı.

Hamburger Hamilton’a göre 28.29. saatle uyumlu oldukları gözlemlendi. Geri kalan 8 embriyonun normal gelişimlerine devam ettikleri gözlemlendi.

Normal doz grubunda; bir adet embriyoda embriyo diskinin gelişmediği ve embriyonun ölü olduğu görüldü. Dört embriyoda nöral tüpün açık olduğu tespit edildi. Bir embriyoda, kranial malformasyon (anensefali) izlendi. İki embriyoda nöral tüpün kapalı olduğu, embriyoların normal gelişimlerine devam ettikleri ve Hamburger – Hamilton sınıflamasına göre olmaları gereken embriyonel basamakta oldukları gözlemlendi. Herhangi bir malformasyon veya gelişim geriliğine rastlanmadı.

Yüksek doz grubunda, dört adet embriyonun anensefali olduğu görüldü. Üç embriyonun nöral tüpünün açık olduğu izlendi. Bir embriyoda hem anensefali ve hem de nöral tüp defekti geliştiği izlendi. Bu gruptaki embriyoların hiçbirinde normal gelişimine devam eden embriyoya rastlanmadı.

Bizim de çalışmamızda gösterdiğimiz gibi, çok yaygın olarak kullanılmakta olan NSAİD’ların, özellikle gebelik öncesi ve erken gebelik evresinde kullanımına çok dikkat edilmesi gerekmektedir.

Literatür incelendiğinde, benzer çalışmaların hemen hemen hiçbirinde, flurbiprofen ile oluşabilecek nöral tüp defektinin alt grupları çalışılmamıştır. Bizim yaptığımız bu çalışma ile flubriprofen kullanımının normal doz düzeyinde bile NTD sıklığını artırdığı tespit edildi. Flubiprofenin, kranial nöral tüp defekti olan anensefali oranını anlamlı bir şekilde artırdığı görülmüştür. Bu çalışma sonunda nöral tüp defekti ile ilgili yapılan çalışmaları ayrıntılandırdığımıza inanıyoruz.

Teknik imkânlar arttığında ve daha geniş denek gruplarıyla çalışıldığında, özellikle kranial nöral tüp defektinde, morfolojik olarak embriyo gelişiminin hangi aşamada sekteye uğradığı daha iyi anlaşılabilir.

Anahtar kelimeler: Anensefali, nöral tüp defekti, civciv embriyo, flurbiprofen, İn vitro fertilizasyon.

ABSTRACT

xOzeren E. The effect of flurbiprofen on the development of anencephaly in early stage chicken embryos. Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Training and Research Hospital, Department of Neurosurgery, Dissertation, Ankara, 2009

Currently, flurbiprofen is the non steroidal anti inflammatory drugs (NSAID) of choice during pregnancy because of its analgesic, antipyretic and anti-inflammatory properties. Intrauterine exposure to NSAID is associated with increased risk for major congenital malformations, premature labor, and low birth weight.

There are several publications which suggest that NSAIDs improve the success of implantation in the endometrium in infertility treatment. On the other hand, the relaxing effect of NSAIDs on uterine contractility enables them to participate in in vitro fertilization (IVF) protocols.

We aimed to investigate the effect of flurbiprofen on the development of anencephaly in early stage chicken embryos. We haven't found any research study related to the effect of flurbiprofen on the development of anencephaly in embryonal period in the literature.

We reviewed 4 groups including 36 embryos. The control group included 10 eggs with embryo, whereas the normal saline group, normal dose group and high-dose group were comprised of 10, 8 and 8 eggs with embryo, respectively.

Two embryos in the control group, studied with light microscopy at 48 hours, were consistent with 28-29 hours' incubation in Hamburger and Hamilton System. They had open neural tubes. The other embryos in this group were considered as normal.

One embryo in the normal saline group was on the occlusion stage at 48 hours. Only one embryo showed an open neural tube. They were compatible with the 28-29 hours' incubation in Hamburger Hamilton system. The remaining 8 embryos continued the normal development.

In the normal-dose group, one embryo involved under development of the embryonic disc, and the embryo was dead. In four embryos the neural tubes were not occluded. One cranial malformation was found that was complicated with anencephaly in one embryo. In two embryos the neural tubes were closed, as they showed normal development, and they have reached their expected stages according to Hamburger – Hamilton classification. There was no malformation or growth retardation.

Four experimental embryos were anencephalic in high-dose group, and three embryos had open neural tubes. One embryo exhibited both anencephaly and a neural tube closure defect. None of the embryos in this group showed normal development.

As we have shown in our study, NSAIDs should be used with caution before and during early pregnancy.

The studies in the literature have not identified the subgroups of neural tube closure defects resulted from flurbiprofen. We concluded in our study that even the usual therapeutic doses of flurbiprofen increased the risk of neural tube defect. Flurbiprofen was found to significantly increase the risk of anencephaly, a cranial neural tube defect. We believe that we have enlarged on the topic of neural tube defects with this investigation.

The provision of improved technical materials and the studies with larger sample sizes will reveal the stage of morphological disruption during the development of embryo, especially in cranial neural tube defects.

Key words: Anencephaly, neural tube defect, chicken embryo, flurbiprofen, in vitro fertilization.

KAYNAKLAR

- 1- Albert Levan: The effect of colchicine on root mitoses in allium. In: Hereditas. 24, 1938, S. 471–486, doi:10.1111/j.1601-5223.1938.tb03221.
- 2- Allen G.E: Inducers and Organizers: Hans Spemann and Experimental Embryology; Pubbl Stn Zool Napoli – 15:229, 1993
- 3- Al-Gazali LI, Sztriha L, Dawodu A. Pattern of central nervous system anomalies in a population with a high rate of consanguineous marriages. Clin Genet.1999; 55:95–102
- 4- Andacht T, Hu W, Ivarie R. Rapid and improved method for windowingeggs accessing the stage X chicken embryo. Mol Reprod Dev; 69 (1):31- 4, 2004
- 5- W.M.Ankum^{1,3}, H.L.Houtzager² and O.P.Bleker¹ Reinier De Graaf (1641–1673) and the Fallopian tube European Society for Human Reproduction and Embryology Human Reproduction Update 1996, Vol. 2, No. 4 pp. 365–369
- 6- Bailey LB, Rampersand GC, Kanwell GP. Folic acid supplements and fortification affect the risk for neural tube defects, vascular disease and cancer: evolving science. J Nutr 2003; 133: 1961S-1968S
- 7- Ballantyne JW. Manual of Antenatal Pathology and Hygiene. 2 vols. Edinburgh: William Green & Sons, 1902-04.
- 8- Baltacı V. Bölüm 5. Genetik In: Çiçek MN, Akyürek C, Çelik Ç, Haberal A (eds) Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi (2. Baskı). Ankara, 2006: 75-101..
- 9- Barkovich A:J. Guerrini R. Kuzniecky R.I.Jackson G.D. Dobyns W.B. A developmental and genetic classificationfor malformations of cortical development: update 2012 Brain 2012; 135: 1348–1369
- 10- Barth PG. Disorders of neuronal migration. Can J Neurol Sci 1987; 14: 1-16.
- 11- Barutçuoğlu M. Selçuki, M., Vatansever, S., Umur, A.Ş., İnan, S., Erken dönem tavuk embryonal tüp gelişiminde etanolün etkisi, Türk Nöroşirürji Dergisi, 11:32-36, 2001.

- 12- Bellairs, R. Osmond M., The atlas of chick development. Academic Press: 1-17,1998.
- 13- Bellairs, R. Osmond, M., The Atlas of Chick Development, 2nd Edition, Elsevier, Academic Press, California, USA, 2005.
- 14- Bernabeu, R., M. Roca, A. Torres and J. Ten, 2006. Indomethacine effect on implantation rates in oocyte recipients. Hum. Reprod., 21: 364-369.
- 15- Berry RJ, Li Z, Erickson JD, et al. Prevention of neural-tube defects with folic acid in China. China-U.S. Collaborative Project for Neural Tube Defect Prevention. N Engl J Med. Nov 11 1999;341 (20):1485-90. [Medline].
- 16- J. Betteridge (1981). "An historical look at embryo transfer". Reproduction. The Journal of the Society for Reproduction and Fertility 62: 1–13.
- 17- Brent RL, Oakley GP, Md J. The unnecessary epidemic of folic acid-preventable spina bifida and anencephaly. Pediatrics. Oct 2000;106 (4):825-7. [Medline].
- 18- Brody LC, Conley M, Cox C. A polymorphism, R653Q, in the trifunctional Enzyme methylenetetrahydrofolate dehydrogenase/methylenetetrahydrofolate cyclohydrolase/ formyltetrahydrofolate synthetase is a maternal genetic risk factor for neural tube defects: Report of the Birth Defects Research Group. Am J Hum Genet. 2002;71: 1207–1215.
- 19- Brooks PM, Day RD. Normal anti-inflammatory drugs: Differences and similarities. N Eng J Med 1991;324:1716-25
- 20- Brooks, P., 1998. Use and benefits of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Am. J. Med., 104: 9-13.
- 21- Bulletti, C., D. De Ziegler, V. Polli, L. Diotallevi, E. Del Ferro and C. Flamigni, 2000. Uterine contractility during the menstrual cycle. Hum. Reprod., 15: 81-89.
- 22- Bupp Becker, SR., Shibley, IA., Teratogenicity of ethanol in different chicken strains, Alcohol Alcohol, 33 (5), 457-464, 1998.

- 23- Caudill MA, Thia Le MS, Moonie SA, Setareh Torabian Esfahani MS, Cogges EA. Folate status in women of childbearing age residing in Southern California after folic acid fortification. *J Am Coll Nutr* 2001; 20: 129- 134.
- 24- Cetinkal A, Ahmet Colak, Kıvanç Topuz, Mehmet Nusret Demircan, Hakan Simsek, Ufuk Berber, Ahmet Sukru Umur, Mehmet Selcukı, H. Seda Vatansever The Effects of Meloxicam on Neural Tube Development in the Early Stage of Chick Embryos. *Turkish Neurosurgery*, Vol: 20, No: 2, 111-116, 2010
- 25- Chandler AL, Hobbs CA, Mosley BS, Berry RJ, Canfield MA, Qi YP, Siega-Riz AM, Shaw GM; National Birth Defects Prevention Study. Neural tube defects and maternal intake of micronutrients related to one-carbon metabolism or antioxidant activity. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2012 Aug 29 doi: 10.1002/bdra.23068
- 26- Charon P. Etienne Geoffroy Saint-Hilaire (1772-1844) and anencephaly: Contribution of one naturalist to medical knowledge *Hist Sci Med*. 2004 Jul-Sep;38 (3):365-83.
- 27- Nüsslein Christiane Volhard—Autobiography, NobelPrize.org,<http://nobelprize.org/medicine/laureates/1995/nusslein-volhard-autobio.html> (May 17, 2005).
- 28- Cullen MT, Green J, Whetham J. Transvaginal USG:detection of congenital anomalies. *Am J Obstet Gynecol*1990; 163: 466-76.
- 29- Cunningham FG, Leveno JK, Bloom LS, Hauth CJ, Gilstrap III CL, Wenstrom DK, Williams Obstetrics 22 nd ed. New York, 2005:285-312.
- 30- Czeizel AE. Primary prevention of neural tube defects and some other major congenital abnormalities: recommendations for the appropriate use of folic acid during pregnancy. *Paediatr Drugs* 2000; 2: 437-449.
- 31- Donkelaar H. J. Lammens M, Hori A. Clinical Neuroembryology Development and Developmental Disorders of the Human Central Nervous SystemCarnegie 2006.p:161

- 32- Drake VJ, Koprowski SL, Lough J, Hu N, Smith SM. Gastrulating Chick Embryo as a Model for Evaluating Teratogenicity: A Comparison of Three Approaches. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* ;76 (1):66-71, 2006
- 33- Drews U; *Color Atlas of Embryoloji*; 1st edit. Theime, New York, 1995
- 34- Dunstan G.R; *The Human Embryo. Aristotle and The Arabic and The European Traditions*, Exeter, Universty of Exeter Press, 1990
- 35- Ermiş BH, Erdoğan C. Bölüm 11a Merkezi Sinir Sistemi Anomalileri. In: Bektaş MS, Demir N, Koç A, Yüksel A *Obstetrik Maternal-Fetal tıp & Perinataloji*, Ankara, 2001:283-299.
- 36- Fanchin, R., C. Righini, F. Olivennes, S. Taylor, D. de Ziegler and R. Frydman, 1998. Uterine contractions at the time of embryo transfer alter pregnancy rates after in vitro fertilization. *Hum. Reprod.*, 13: 1968-1974.
- 37- Firouzaabadi R.D. Sedighe Ghandi and Naeimeh Tayebi, 2007. Effect of Administration of Single Dose Piroxicam Before Embryo Transfer on Implantation and Pregnancy Rates in IVF Cycles. *Journal of Biological Sciences*, 7: 123-126.
- 38- Flurbiprofen. In: *Therapeutic Drugs*. Second Edition. Ed. Dollery C. Churchill Livingstone 1999.
- 39- Galasko DR, Graff-Radford N, May S, Hendrix S, Cottrell BA, Sagi SA, et al. Safety, tolerability, pharmacokinetics, and Abeta levels after short-term administration of R-flurbiprofen in healthy elderly individuals. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2007; 21:292
- 40- Geelen JA, Langman J, Lowdon JD. The influence of excess vitamin A on neural tube closure in the mouse embryo. *Anat Embryol (Berl)*. 1980;159 (2):223-34.
- 41- Geoffroy Saint-Hilaire E. *Philosophie anatomique: Des monstruosités humaines*. Paris: J.B. Baillière, 1822
- 42- Giroud A (1977) Anencephaly. *Handb Clin Neurol* 30: 173–208
- 43- Greenberg Mark S *handbook of neurosurgery* 2010;p:244

- 44- Güney, Ö, Canbilen, A., Konak, A., Acar, O., The effects of folic acid in the prevention of neural tube development defects caused by phenytoin in early chick embryos, *Spine*, 28 (5): 442-445, 2003.
- 45- Hamburger V, H L Hamilton A series of normal stages in the development of the chick embryo. Reprinted from the journal *morphology* Vol. 88, No. 1, January 1951. *Dev. Dyn.*: 1992, 195 (4);231-72 PMID:1304821
- 46- Hernandez, D., S. Garcia and L.A. Rodriguez, 2001. Epidemiologic assessment of the safety of conventional nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am. J. Med.*, 110: 20-27.
- 47- Himmetoglu O, Tiras MB, Gursoy R, Karabacak O, Sahin I, Onan A. The incidence of congenital malformations in a Turkish population. *Int J Gynaecol Obstet.*1996;55:117-21
- 48- Honein MA, Paulozzi LJ, Mathews TJ, Erickson JD Wong L-YC. Impact of folic acid fortification of the US food supply on the occurrence of neural tube defects. *JAMA* 2001; 285: 2981-2986.
- 49- Horder T.J, Witkowski J.A, Wylie C.C ve ark: A History of Embryology.Cambridge, Cambridge Universty Press, 1986
- 50- Isada NB, Qureshi F, Jacques SM, Holzgreve W, Tout MJ, Johnson MP, Evans MI. Meroanencephaly: pathology and prenatal diagnosis. Source department of Obstetrics and Gynecology, Hutzel Hospital/Wayne State University, Detroit, Mich. 48201 *Fetal Diagn Ther.* 1993 Nov-Dec;8 (6):423-8.
- 51- Jaquier M, Klein A, Bolthausen E. Spontaneous pregnancy outcome after prenatal diagnosis of anencephaly. *BJOG* 2006; 13: 951-3.
- 52- Jessell & Sanes, E. Kandel Principles of Neuroscience 4th edition, 2002)
- 53- Jirásek JE (2004) An Atlas of Human Prenatal Developmental Mechanisms. Anatomy and staging. Taylor & Francis, London,
- 54- Kılıç M, Taşkın E, Doğan Y, Aygün AD. Yenidoğan ünitesinde izlenen nöral tüp defektli bebeklerin değerlendirilmesi. *Çocuk Dergisi*; 3: 131- 5, 2003.

- 55- Kibar Z, Torban E, McDearmid JR, Reynolds A, Berghout J, Mathieu M. Mutations in VANGL1 associated with neural-tube defects. *N Engl J Med*. Apr 5 2007;356 (14):1432-7. [Medline].
- 56- Kondo A, Kamihira O, Ozawa H. Neural tube defects: prevalence, etiology and prevention. *Int J Urol*. 2009 Jan;16 (1):49-57.
- 57- Larroche J-C, Encha-Razavi F, de Vries F (1997) Central nervous system. In: Gilbert-Barness E (ed) *Potter's Pathology of the Fetus and Infant*. Mosby, St. Louis, MI, pp 1045–1056
- 58- Larsen W.J. *Human Embryology*; 2nd Edition, Churchill Livingstone, New York: 19-106, 1997.
- 59- Lee, H., Nagele, R.G., Pietrolungo, J.F., Toxic and teratologic effects of caffeine on explanted early chick embryos, *Teratology*, 25 (1); 19-25, 1982.
- 60- Lee, H., Bush, K.T., Nagele, R.G., Time-lapse photographic study of neural tube closure defects caused by xylocaine in the chick, *Teratology*, 37 (3); 263-269, 1988
- 61- Lemire RJ, Beckwith JB, Warkany J (1978) *Anencephaly*. Raven, New York
- 62- Lemire RJ Neural tube defects. *JAMA*. 1988 Jan 22-29;259 (4):558-62.
- 63- Manning N, Archer N, Treatment and outcome of serious structural congenital heart disease. *Semin Neonatol* 6: 37–47, 2001
- 64- Dr Mark Hill 2012, *UNSW Embryology* ISBN: 978 0 7334 2609 4 - UNSW CRICOS Provider Code No. 00098G
- 65- Mastroiacovo P, Leoncini E. More folic acid, the five questions: why, who, when, how much, and how. *Biofactors*. 2011 Jul;37 (4):272-9. doi: 10.1002/biof.172. Epub 2011 Jun 14.
- 66- McLaughlin, S. J. and E. R. McCain. 1998. In vivo and in vitro development of the chicken heart. Pages 331-332, in *Tested studies for laboratory teaching*, Volume 19 (S. J. Karcher, Editor). *Proceedings of the 19th Workshop/Conference of the Association for Biology Laboratory Education (ABLE)*, 365 pages

- 67- Melvin EC, George TM, Worley G, Franklin A, et al. (2000). Genetic studies in neural tube defects. *Pediatr. Neurosurg.* 32: 1-9.
- 68- Mikawa K, Nishina K, Maekawa N, Shiga M, Obara H: Dose-response of flurbiprofen on postoperative pain and emesis after paediatric strabismus surgery. *Can J Anaesth* 1997, 44: 95-98.
- 69- Moore K. L, Persaud T.V.N: *The Developing Human: Clinically Oriented Embryology*, 6th edit. W. B. Saunders, 1998
- 70- Moore KL. *Before we are born: basic embryology and birth defects* (Third Edition) 1989; Saunders, Philadelphia. pp 306
- 71- Mortimer EA. The puzzling epidemiology of neural tube defects. *Pediatrics*; 65: 63640, 1980
- 72- Moon, H.S., S.H. Park, J.O. Lee, K.S. Kim and B.S. Joo, 2004. Treatment with piroxicam before embryo transfer increases the pregnancy rates after in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil. Steril.*, 82: 816-820.
- 73- Nagele RG, Bush KT, Hunter ET, Kosciuk MC, Lee H. Biomechanical basis of diazepam-induced neural tube defects in early chick embryos: a morphometric study. *Teratology*. 1989 Jul;40 (1):29-36.
- 74- Nakatsu T, Uwabe C, Shiota K (2000) Neural tube closure in humans initiates at multiple sites: Evidence from human embryos and implications for the pathogenesis of neural tube defects. *Anat Embryol (Berl)* 201:455-466
- 75- Nobel Lectures, Physiology or Medicine 1922-1941, Elsevier Publishing Company, Amsterdam, 1965
- 76- Norman MG, McGillivray BC, Kalousek DK, Hill A, Poskitt KJ (1995) *Congenital Malformations of the Brain. Pathological, embryological, clinical, radiological and genetic aspects.* Oxford University Press, New York
- 77- Oakley GP Jr. The scientific basis for eliminating folic acid-preventable spina bifida: a modern miracle from epidemiology. *Ann Epidemiol.* Apr 2009;19 (4):226-30. [Medline].

- 78- Onrat S.T., H. Seyman, M. Konuk-. (Incidence of neural tube defects in Afyonkarahisar, Western Turkey) *Genetics and Molecular Research* 8 (1): 154-161 (2009)
- 79- Opitz JM, Wilson GN. Causes and pathogenesis of birth defects. In: Gilbert-Barness EG, ed. *Potter's Pathology of the Fetus and Infant*, St. Louis; Mosby; p.44-51
- 80- Opitz JM (1993) Blastogenesis and the "primary field" in human development. *Birth Defects* 29:3-37
- 81- Opitz JM, Wilson GN, Gilbert-Barness E (1997) Abnormalities of blastogenesis, organogenesis, and phenogenesis. In: Gilbert-Barness E (ed) *Potter's Pathology of the Fetus and Infant*. Mosby, St. Louis, pp 65-105
- 82- O'Rahilly R (1975) *A Color Atlas of Human Embryology*. A slide presentation. Saunders, Philadelphia, PA
- 83- O'Rahilly R, Muller F: *Developmental Stages in Human Embryos*, Washington DC, Carnegie Institution of Washington, 1987
- 84- O'Rahilly R, Müller F (1999) *The Embryonic Human Brain*. An atlas of developmental stages, 2nd ed. Wiley, New York
- 85- Padmanabhan R. Etiology, pathogenesis and prevention of neural tube defects. *Congenit Anom*, Kyoto. 2006;46:55-67.
- 86- Padmanabhan R. Etiology, pathogenesis and prevention of neural tube defects review article *Congenital Anomalies* 2006; 46, 55-67
- 87- Paradkar A, Maheshwari M, Tyagi AK, Chauhan B, Kadam SS.: Preparation and Characterization of Flurbiprofen Beads by Melt Solidification Technique, *AAPS PharmSciTech*, 2003
- 88- Persaud T.V.N: *Early History of Human Anatomy*. Springfield, Charles C. Thomas, 1984
- 89- Pinar H. Postmortem findings in term neonates. *Semin Neonatol*. 2004;9: 289-302.

- 90- Poindexter, A.N., D.J. Thompson, W.E. Gibbons, W.E. Findley, M.G. Dodson and R.L. Young, 1986. Residual embryos in failed embryo transfer. *Fertil. Steril.*, 46: 262-267
- 91- Potter EL, Craig JM (1975) *Pathology of the Fetus & the Infant*, 3rd ed. Year Book, Chicago, IL, pp 522–547
- 92- Ray JG, Meier C, Vermeulen MJ, Boss S, Wyatt PR, Cole DE. Association of neural tube defects and folic acid food fortification in Canada. *Lancet* 2002; 360: 2047-2048
- 93- Reverón R. R. Marcello Malpighi (1628-1694), Founder of Microanatomy *International Journal of Morphology* versión ISSN 0717-9502 *Int. J. Morphol.* 29 (2):399-402, 2011.
- 94- de Rijk-van Andel JF, Arts WF, Hofman A, Staal A, Niermeijer MF. Epidemiology of lissencephaly type I. *Neuroepidemiology* 1991; 10:200-204.
- 95- Ronald, J., Lemire, Joseph R. Siebert. *Neuroembryology*. Neurosurgery Wilkins R.H., Rengachary S.S (eds), 2nd Edition, 346 (3411-3444), 1996.
- 96- Sadler, T.W., *Langman's Medical Embryology*; (Prof. Dr. A. Can Başaklar) 7. Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara: 39-88, 1996.
- 97- Saraga M.-Babic, M.D., Ph. D. Sapunar D.M.D., Ph. D Professor of Histology and Embryology. Department of Histology and Embryology University of Split Medical School Human Embryology. Developed by: CHRONOLAB AG, Vision Grup.
- 98- Say B, Tunçbilek E, Balcı S, et al. Incidence of congenital malformations in a sample of the Turkish population. *Hum Hered* 1973; 23: 434-441.
- 99- Schmitt S. From eggs to fossils: epigenesis and transformation of species in Pander's biology *Int. J. Dev. Biol.* 49: 1 - 8 (2005) doi: 10.1387/ijdb.041908ss
- 100- Senköylü N. 3. Baskı. *Modern Tavuk Üretimi* 3: Baskı. Anadolu Matbaa, İstanbul: 109-131, 2001.
- 101- Selçuki, M. Vatansever, S., Umur, A.Ş., Temiz, C., Sayın, M., Apoptosis seems to be the major process while surface and neural ectodermal layers detach during neurulation, *Childs Nerv Syst*, 24 (5): 577-580, 2008.

- 102- Shimamura, K, Hartigan, D.J., Martinez, S., Puellas, L., Rubenstein, J.L., Longitudinal organization of the anterior neural plate and neural tube, *Development* 121 (12): 3923-3933, 1995.
- 103- Smith, J.L, Schoenwolf, G.C., Neurulation: coming to closure, *Trends Neurosci*, 20 (11): 510-517, 1997.
- 104- Süzer, Ö. (çev.): Goodman & Gilman Tedavinin Farmakolojik Temelleri, Nobel Tıp Kitabevi. Hadımköy/İstanbul. 2009.
- 105- Tarkkila P, Saarnivaara L: Ketoprofen, diclofenac or ketorolac for pain after tonsillectomy in adults? *Br J Anaesth* 1999, 82: 56–60.
- 106- Temiz, C, Temiz, P., Demirel, A., Sayın, M., Umur, A.Ş., Özer, F.D., Effect of sodium phenytoin concentration on neural tube development in the early stages of chicken embryo development, *J Clin Neurosci*, 16 (2): 307- 311, 2009.
- 107- TIBDAM. Hayvan seçimini belirleyenler. [http:// lokman.cu.edu.tr / tibdam / hayvansecimi. html](http://lokman.cu.edu.tr/tibdam/hayvansecimi.html) [08/04/2009].
- 108- Tinkle MB, Sterling BS. Neural tube defects: a primary prevention role for nurses. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs*. 1997 Sep-Oct;26 (5):503-12.
- 109- Tunçbilek E, Boduroğlu K, Alikasıfoğlu M. Neural tube defects in Turkey: prevalence, distribution and riskfactors. *Turk J Pediatr* 1999; 41: 299-305.
- 110- Tunçbilek E. Türkiye'deki yüksek nöral tüp defekti sıklığını ve önlemek için yapılabilecekler. *Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2004; 47: 79-84
- 111- Ünlü A. Methods of developmental research. *Acta Neurochir Suppl*. 83:71-8, 2002
- 112- Van der Put NM, van Straaten HW, Trijbels FJ and Blom HJ (2001). Folate, homocysteine and neural tube defects: an overview. *Exp. Biol. Med*. 226: 243-270.
- 113- Van Allen MI, Kalousek DK, Chernoff GF, Juriloff D, Harris M, McGillivray BC, Yong S-L, Langlois S, MacLeod PM, Chitayat D, et al. (1993) Evidence for multi-site closure of the neural tube in humans. *Am J Med Genet* 47:723–743

- 114- Vatansever, H.S., Umur, A.Ş., İnan, V.S., Selçuki, M., The effects of methotrexate on the development of neural tube defects in the chick embryo, Turk J Vet Anim Sci, 27 (5): 1119-1125, 2003.
- 115- Villarreal LM, Perez JZ, Vazquez PA, Herrera RH, Campos MA. Decline of neural tube defects cases after folic acid campaign in Nuevo-Leon, Mexico. Teratology 2002; 66: 249-256.
- 116- De Wals P, Tairou F, Van Allen MI, et al. Reduction in neural tube defects after folic acid fortification in Canada. N Engl J Med 2007; 357: 135-142.
- 117- Whitsel, A.I., Johnson, C.B., Forehand, C.J., An in ovo chicken model to study the systemic and localized teratogenic effects of valproic acid, Teratology, 66 (4): 153-163, 2002.
- 118- Whiting S, Duchowny M. Clinical spectrum of cortical dysplasia in childhood: diagnosis and treatment issues. J Child Neurol 1999; 14: 759-771.
- 118- Wilkins-Haug L, Freedman W. Progression of exencephaly to anencephaly in the human fetus-an ultrasound perspective. Prenat Diagn 1991; 11: 227-33
- 119- Zeyrek D, Soran M, Cakmak A, Kocyigit A, Iscan A. Serum Copper and Zinc Levels in Mothers and Cord Blood of their Newborn Infants with Neural Tube Defects: A Case-control Study. Indian Pediatr 2009; pii: S097475590800132-1
- 120- Zhang X, Su L, Wu S, Hao X, Guo S, Suzuki K, Yokomichi H, Yamagata Z. Prevalence of birth defects and risk-factor analysis from a population-based survey in inner Mongolia, China. BMC Pediatr. 2012 Aug 18;12 (1):125.
- 121- Zhu H, Wicker NJ, Shaw GM, Lammer EJ, et al. (2003). Homocysteine remethylation enzyme polymorphisms and increased risks for neural tube defects. Mol. Genet. Metab. 78: 216-221.
- 122- Zhu H, Wicker NJ, Volcik K, Zhang J, et al. (2004). Promoter haplotype combinations for the human PDGFRA gene are associated with risk of neural tube defects. Mol. Genet. Metab. 81: 127-132.
- 123- Zlotogora J. Genetic disorders among Palestinian Arabs: 1. Effects of consanguinity. Am J Med Genet. 1997;68:472-475.

- 124- Zlotogora J (1997b) Genetic disorders among Palestinian Arabs: 2. Hydrocephalus and neural tube defects. Am J Med Genet 71: 33–35.
- 125- Zohn IE. Mouse as a model for multifactorial inheritance of neural tube defects. Birth Defects Res C Embryo Today. 2012 Jun;96 (2):193-205. doi: 10.1002/bdrc.21011.
- 126- 2006 The Author Journal compilation Etiology, pathogenesis and prevention of neural tube defects, © 2006 Japanese Teratology Society, Congenital Anomalies; 46, 55–67, 2006



EKLER

Ek- 1.Carneige evrelemesi (O’Rahilly R)

evre	yaklaşık günler	Gerçekleşen olaylar
1	1	fertilize oosit, pronukleus
2	2-3	hücre bölünmesi ile sitoplazma hacminde azalma, iç ve dış hücre kütlesi oluşumu.
3	4-5	zona pellucida kaybı, blastokist oluşumu
4	5-6	blastokistin eklenmesi
5	7-12	implantasyon
6	13-15	ekstraembriyonik mezoderm ve ilkel çizgi oluşumu
7	15-17	gastrulasyon, notokord oluşumu
8	17-19	ilkel çukur ve notokordal kanal oluşumu
9	19-21	somit sayısı 1-3,nöral kıvrım ve baş katlantısı, kardiak taslak
10	22-23	somit sayısı 4 nöral kıvrım birleşir. Nöral tüp oluşur.
11	23-26	somit sayısı 13-20 anterior nöropor kapanması
12	26-30	somit sayısı 21-29 posterior nöropor kapanması
13	28-32	somit sayısı 30, bacak taslakları göz taslakları faringeal arkus izlenmesi
14	31-35	göz çukuru oluşumu
15	35-38	göz tomurcuğu oluşumu, burun çukuru ve el taslağının görülmesi
16	37-42	burun çukurunun öne doğru hareketi. Kulak kabarıklığının oluşması.
17	42-44	parmakların ışınsal izleri
18	44-48	ossifikasyonun başlaması
19	48-51	gövdenin belirginleşmesi
20	51-53	üst ekstremité uzamış ve dirsek bükülmüş
21	53-54	ellerin ve ayakların içe dönmesi
22	54-56	göz kapakları ve dış kulak oluşumu
23	56-60	baş yuvarlağının ve gövde ve uzuvların izlenmesi.

Ek-2.Bazı ilaçlar ve enfeksiyon ajanlarının teratojenik etkileri (Gilbert-Barness and Van Allen 1997; Laxova 1997;Moore et al. 2000).

ETKEN	ETKİ MEKANİZMASI	EN SIK KONJENİTAL ANOMALİLER
alkol	artmış hücre ölümü	fetal alkol sendromu,IUGR; CNS anomalileri, karakteristik yüz görünümü.
aminopterin ve antifolatlar	hücre bölünmesinin bozulması	IUGR; CNS anomalileri, iskelet anomalileri
kokain	vazokonstrüksiyon	IUGR; prematürite, mikrosefali, serebral infarkt
isotretinoin	aşırı hücre ölümü	kraniofasiyal malformasyonlar, NTD, kardiovasküler defektler.
lityum karbonat		sağ kalp kusurları, artmış NTD insidansı
metotreksat	artmış hücre ölümü	multipl anomaliler, hidrosefali meningo-myelosele, yarık damak
fenitoin	artmış hücre ölümü	fetal hidanton sendromu, IUGR, mikrosefali mental retardasyon. yarık dudak ve damak
talidomid	anormal hücre bölünmesi	anormal gelişen uzuvlar
valproik asit		kraniofasiyal malformasyonlar, NTD
warfarin	bozulmuş kalsiyum ve vitamin k metabolizması	fetal warfarin sendromu, nasal hipoplazi göz anomalileri, mental retardasyon.
steptomisin		sağırılık
tetrasiklin		diş eti hipoplazisi
metilmercury (metil civa)		serebral palsy, mikrosefali, mental retardasyon.
Polychlorated biphenyls (endüstriyel kimyasal)		IUGR, ciltte renk değişikliği
sitomegalovirus		mikrosefali hidrosefali, serebral palsy, sensorinöral işitme kaybı, mental retardasyon.
herpes simplex virus		koryoretinitis, hidranensefali
HIV		mikrosefali, basık burun, hipertelorizm gelişme geriliği
rubella		IUGR, kalp anomalileri, işitme kaybı
toxoplasma gondii		mikrosefali, mental retardasyon
tropenema pallidum		mental retardasyon, konjenital sağırılık, hidrosefali
varisella zoster		hidrosefali, mental retardasyon, nöbet

Ek-3. Hamburger Hamilton sınıflaması

Evre	Yaklaşık zaman	Gerçekleşen olaylar
1		İlkel çizgi oluşumu. Blastodermin arka yarısına doğru hücreler birikir.
2	6-7. saat	İlkel çizginin 0.3-0.5 mm uzunluğuna ulaşması
3	12-13 saat	Orta derecede ilkel çizgi görünümü
4	18-19 saat	İlkel çizginin 1.88 mm uzunluğa ulaşması
5	19-22 saat	Kafanın oluşmaya başlaması
6	23-25 saat	Kafa katlantısının oluşması
7	23-26 saat	1 somit ve nöral katlantının izlenmesi
8	26-29 saat	4 somit ve kan adacıklarının izlenmesi
9	29-33 saat	7 somit izlenir. İlk göz tomurcuğunun belirmesi
10	33-38 saat	10 somit görülür. Kranial bükümün ilk göstergesi ilk 3 primer beyin vezikülü net bir şekilde görülebiliyor.
11	40-45 saat	13 somit görülür. Anterior nöropor kapanmıştır Arka beynin nöromerlerinin izlenir.
12	45-49 saat	16 somit ve telensefalon izlenir. Kalp hafifçe S şeklindedir.
13	49-52 saat	19 somit izlenir. Kafa kısmen dönüktür. Atriyoventriküler kanal izlenir.
14	50-54 saat	22 somit izlenir. Gövdenin bükülmesi tamamlanır. Ve visseral arkların görülür.
15	50-55 saat	24-27 somit; ön beyin arka beyin ventral konturları belirgindir. Göz çukuru tamamlanmıştır.
16	51-56 saat	26-28 somit kanat taslağı oluşur.
17	52-64 saat	29-32 somit bacak taslağı oluşur. Epifiz izlenir
18	3 gün	30-36 somit bacak taslağının gelişiminin ilerlemesi.
19	3.0-3.5 gün	37-40 somit kuyruk içine doğru uzanan somitler izlenir.
20	3.0-3.5 gün	40-43 somit rotasyon tamamlanır. Göz pigmenti izlenir.
21	3.5 gün	43-44 somit; gövde c şeklini almaya başlar.
22	3.5-4 gün	Somitler kuyruğa kadar uzanır.
23	4 gün	Beyinden kuyruğa kadar omurga c şeklini alır.
24	4.5 gün	Ayak parmağı taslağı izlenir.
25	4.5-5gün	Dirsek ve diz eklemleri izlenmeye başlar.
26	5 gün	Birinci ve üç parmak görülür.
27	5.0- 5.5 gün	Gaga izlenir.
28	5.5- 6 gün	4 parmak izlenir.
29	6.0-6.5 gün	5. parmak rudimentedir.
30	6.5-7 gün	İlk tüy folikülleri izlenir. Yumurta dişi izlenmeye başlar
31	7.0-7.5 gün	Birinci ve ikinci parmak arasında perde görülür.
32	7.5 gün	Mandibulanın anterior ucu gagaya ulaşmıştır.
33	7.5-8.0 gün	Kanatın radial kenarında perde görünümü
34	8 gün	Göz kapağı membranı
35	8.5-9.0 gün	Ayak parmaklarında falankslar izlenir.
36	10 gün	3. Ayak parmağı uzunluğu ort.2.5mm gaga uzunluğu ort 5.4 mm
37	11 gün	3. ayak parmağı uzunluğu ort. 7.4mm; gaga uzunluğu ort.3,0 mm
38	12 gün	3. ayak parmağı uzunluğu ort. 8.4mm; gaga uzunluğu ort.3,0 mm
39	13 gün	3. ayak parmağı uzunluğu ort. 9.8mm; gaga uzunluğu ort.3,1 mm
40	14 gün	3. ayak parmağı uzunluğu ort. 12.7mm; gaga uzunluğu ort.4 mm
41	15 gün	3. ayak parmağı uzunluğu ort. 14.9mm; gaga uzunluğu ort.4.5mm
42	16 gün	3. ayak parmağı uzunluğu ort. 16.7mm; gaga uzunluğu ort.4.8mm
43	17 gün	3. ayak parmağı uzunluğu ort. 18.6mm; gaga uzunluğu ort.5mm
44	18 gün	3. ayak parmağı uzunluğu ort. 20.4mm; gaga uzunluğu ort.5.7mm
45	19-20 gün	Amniotik sıvı azalır. Vitellusun büyük bir kısmı emilmiştir.
46	20-21.gün	Yumurtadan yeni çıkmış civciv.

Ek-4. ABD Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration, FDA)'nce 1979'da ortaya konmuş sınıflamasıdır.

Kategorisi	Açıklaması
A	Yeterli ve iyi kontrollü çalışmalarla, ilacın gebeliğin ilk trimesterindeki fetüs için bir risk oluşturduğu gösterilememiştir ve diğer iki trimestere ilişkin kanıt yoktur.
B	Hayvan üreme çalışmalarında ilacın fetüs için bir risk oluşturduğu gösterilememiştir ve gebe kadınlarda yeterli ve iyi kontrollü çalışmalar yapılmamıştır. Bir başka deyişle; hayvan çalışmalarında bir yan etki ortaya çıkmıştır ama gebe kadınlarda yapılan yeterli ve iyi kontrollü çalışmalarla herhangi bir trimesterde fetüs için bir risk olduğu gösterilememiştir.
C	Hayvan üreme çalışmalarıyla fetüs üzerinde bir yan etki olduğu gösterilmiştir ve insanlarda yeterli ve iyi kontrollü çalışmalar yapılmamıştır ama olası yararlar göz önüne alındığında, muhtemel risklere rağmen, ilaç gebe kadınlarda kullanılabilir.
D	Araştırma veya pazarlama deneyimlerinden ya da insanlardaki çalışmalardan elde edilen yan etki verilerine göre, ilacın insan fetüsü için risk oluşturduğu yönünde kanıtlar vardır ama olası yararlar, olası risklere rağmen, ilacın gebe kadınlarda kullanılmasını haklı kılabilir.
X	Hayvan ya da insanlardaki çalışmalar, fetal anomalilikler göstermiştir ve/veya araştırma ya da pazarlama deneyimlerinden elde edilen yan etki verilerine göre, ilacın insan fetüsü için risk oluşturduğu yönünde kanıtlar vardır. Söz konusu risklerin, ilacın gebe kadınlarda kullanılmasındaki olası yararlarından daha fazla olduğu görülmüştür.