



**METOKLOPRAMİD'İN CİVCİV EMRİYO
MODELİNDE NÖRAL TÜP GELİŞİMİ
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Fatma Özlem ŞİRİN

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. İsmail TÜRKMENOĞLU
Ağustos, 2022

Tez No: 2022-043
Afyonkarahisar

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**METOKLOPRAMİD’İN CİVCİV EMRİYO MODELİNDE NÖRAL
TÜP GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Hazırlayan
Fatma Özlem ŞİRİN**

**Danışman
Prof. Dr. İsmail TÜRKMENOĞLU**

Tez No: 2022-043

AFYONKARAHİSAR

**Bu tez çalışması; Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi (BAPK) Tarafından Desteklenmiştir. Proje No: “21.SAĞ.BİL.12”**

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Anatomi Anabilim Dalı'nda** **Fatma Özlem ŞİRİN** tarafından hazırlanan “Metoklopramid’in Cıvciv Embriyo Modelinde Nöral Tüp Gelişimi Üzerine Etkisi” adlı tez çalışması Afyon Kocatepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca 03/11/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği / oy çokluğu** ile **YÜKSEK LİSANS TEZİ TEZİ** olarak kabul edilmiştir

Başkan

Unvan, Ad, Soyad

İmza

Üye

Unvan, Ad, Soyad

İmza

Üye

Unvan, Ad, Soyad

İmza

Üye

Unvan, Ad, Soyad

İmza

Üye

Unvan, Ad, Soyad

İmza

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

Prof. Dr. Esmâ KOZAN

Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

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

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

beyan ederim.

03/11/2021

İmza

Fatma Özlem ŞİRİN

ÖZET

METOKLOPRAMİD’İN CİVCİV EMBRİYO MODELİNDE NÖRAL TÜP GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Nöral tüp defekti, konjenital kalp hastalıklarından sonra en sık karşılaşılan doğumsal anomali çeşididir. Kesin neden net olarak bilinmemesine rağmen çevresel ve genetik faktörlerin etkisi olduğu görülmüştür. Metoklopramid antiemetik olarak kullanılmasıyla beraber merkezi sinir sistemine ve çevresel sinir sistemine etkisi olan bir ilaçtır. Bu çalışmada memelilerin ilk ay gelişimiyle benzerlik gösteren civciv embriyo modelinde farklı metoklopramid dozunun nöral tüp gelişimine etkilerini araştırmak amaçlanmıştır. Çalışmada 60±5 gr. arasında olan, beyaz renkli, fertil ve 0 günlük 100 adet SPF (specific patogen free) yumurtalar kullanıldı. Uygun ısı ve nem koşulları sağlanan bu yumurtalar 24 ila 28 saat inkübe edildikten sonra kontrol grubu dahil olmak üzere dört adet gruba ayrıldı. Metoklopramid Hamilton mikro enjektörü yardımıyla subblastodermik şekilde değişik miktarlarda uygulandı.

Tekrar inkübasyona alınan yumurtalar 48. saatin sonunda açıldı, makroskobik ve mikroskobik olarak değerlendirildi. Değerlendirmeye göre kontrol grubunda 22 embriyoda nöral tüpün kapalı olduğu (%88), 1 embriyoda nöral tüpün açık olduğu (%4), 1 embriyoda gelişim geriliği olduğu (%4), 1 embriyoda ise embriyonel diskin oluşmadığı (%4) ve açma hatası olmadığı (%0) belirlendi. Baş-kıç uzunluğunun $5,86 \pm 0,15$ mm, somit sayısının $27,00 \pm 1,09$ olduğu, embriyoların Hamburger Hamilton skalasına bakıldığında 11-12. evre aralığında olduğu tespit edildi. Düşük doz grubunda ($0,05 \mu\text{g}/\text{kg}$ / $1,5 \mu\text{g}/\text{yumurta başı}$) metoklopramid enjeksiyonundan sonra 18 adet embriyoda nöral tüpün kapalı olduğu (% 72), 3 embriyoda nöral tüpün açık olduğu (% 12), 1 embriyoda gelişim geriliği olduğu (% 4) ve 2 embriyoda diskin oluşmadığı görüldü (% 8), 1 embriyoda ise açma hatası olduğu saptandı (% 4), baş-kıç uzunluğunun $5,87 \pm 0,17$ mm olduğu, somit sayısının $27 \pm 1,09$ olduğu görüldü, embriyoların Hamburger Hamilton skalasına göre 11-12. evre aralığında olduğu tespit edildi. Orta doz grubunda ($0,1 \mu\text{g}/\text{kg}$ / $7,5 \mu\text{g}/\text{yumurta başı}$) metoklopramid enjeksiyonundan sonra 19 embriyoda nöral tüpün kapalı olduğu belirlendi (% 76), 3 embriyoda nöral tüp açıklığı (% 12), 1 embriyoda gelişim geriliği (% 4), 1 adet embriyoda diskin oluşmadığı (% 4) ve 1 embriyoda ise açma

hatası olduğu (% 4) saptandı, baş-kıç uzunluğunun $6,27 \pm 0,13$ mm olduğu, somit sayısının $28,33 \pm 0,64$ olduğu, embriyoların Hamburger Hamilton skalasına göre 11-12. evre aralığında olduğu görüldü. Yüksek doz grubunun ($0.15 \mu\text{g/kg}/15 \mu\text{g/yumurta başı}$) metoklopramid enjeksiyonu sonrası 18 embriyoda nöral tüpün kapalı olduğu (% 72), 3 embriyoda nöral tüpün açık olduğu (% 12), 1 embriyoda gelişim geriliği olduğu (% 4), 2 embriyoda diskin oluşmadığı tespit edildi (% 8), 1 embriyoda ise açma hatası olduğu (% 4) görüldü, baş-kıç uzunluğunun $6,71 \pm 0,95$ mm olduğu, somit sayısının $29,54 \pm 0,47$ olduğu, embriyonun Hamburger Hamilton skalasına göre 11-12. evre aralığında olduğu saptandı. Bulgular doğrultusunda somit sayısı bakımından kontrol grubu ile deney grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı ($p>0.05$). Aynı tabloya göre baş-kıç uzunlukları ortalaması kontrol grubu (5,86 mm) ile düşük doz (5,87 mm) grubuyla benzer iken, orta doz grubunda 6,27 mm'ye, yüksek doz grubunda ise 6,71 mm'ye yükseldiği ve aradaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($P<0.05$). Bu bulgu metoklopramid'in orta ve yüksek dozunun embriyo boyutunda artışa neden olabileceğini düşündürdü.

Anahtar Kelimeler: Cıvciv Embriyo Modeli, Metoklopramid, Nöral Tüp, Antiemetik.

SUMMARY

EFFECT OF METOCLOPRAMIDE ON NEURAL TUBE DEVELOPMENT IN CHICK EMBRYO MODEL

Neural tube defect is the most common congenital anomaly type after congenital heart diseases. Although the exact cause is not clearly known, it has been observed that environmental and genetic factors have an effect. Metoclopramide is a drug that is used as an antiemetic and has an effect on the central nervous system and peripheral nervous system. In this study, it was aimed to investigate the effects of different metoclopramide doses on neural tube development in a chick embryo model, which is similar to the first month development of mammals. In the study, 60±5 gr. 100 SPF (specific pathogen free) eggs of 0 days, white, fertile, were used. These eggs, which were provided with suitable heat and humidity conditions, were incubated for 24 to 28 hours and then divided into four groups, including the control group. Different amounts of metoclopramide were administered subblastodermically with the aid of a Hamilton micro-injector.

Eggs that were re-incubated were opened at the end of the 48th hour and evaluated macroscopically and microscopically. According to the evaluation, in the control group, the neural tube was closed in 22 embryos (88%), the neural tube was open in 1 embryo (4%), there was developmental delay in 1 embryo (4%), and no embryonal disc was formed in 1 embryo (4%) and there was no opening error. (0%) was determined. The fore-aft length was 5.86 ± 0.15 mm, the somite number was 27.00 ± 1.09 , and the Hamburger Hamilton scale of the embryos was 11-12. was found to be in the range. After metoclopramide injection in the low dose group (0.05 µg/kg/1.5 µg/egg head), 18 embryos had closed neural tube (72%), 3 embryos had open neural tube (12%), 1 embryo had developmental delay (% 4) and 2 embryos (8%), opening error was found in 1 embryo (4%), fore-aft length was 5.87 ± 0.17 mm, somite number was 27 ± 1.09 . Hamburger ranks 11-12 on the Hamilton scale. was found to be in the range. In the medium dose group (0.1 µg/kg/7.5 µg/egg head), after metoclopramide injection, the neural tube was found to be closed in 19 embryos (76%), neural tube patency in 3 embryos (12%), developmental delay in 1 embryo (4%) It was determined that disc did not form in 1 embryo (4%) and opening error occurred in 1 embryo (4%), fore-aft length was 6.27 ± 0.13 mm, somite count was 28.33 ± 0.64 11-12 on the Hamilton scale. was found to be in

the range. After metoclopramide injection of the high dose group (0.15 µg/kg/15 µg/egg head), 18 embryos had closed neural tube (72%), 3 embryos had open neural tube (12%), 1 embryo had developmental delay (4%), It was determined that disc did not form in 2 embryos (8%), opening error was observed in 1 embryo (4%), the length of fore-aft was 6.71 ± 0.95 mm, the number of somites was 29.54 ± 0.47 , the embryo was Hamburger. 11-12 on the Hamilton scale. was found to be in the range. According to the findings, it was determined that the difference between the control and experimental groups in terms of somite number was not statistically significant ($p>0.05$). According to the same table, while the mean fore and aft lengths were similar to the control group (5.86 mm) and the low dose (5.87 mm) group, it increased to 6.27 mm in the medium dose group and to 6.71 mm in the high dose group. and the differences were found to be statistically significant ($P<0.05$). This finding suggested that medium and high doses of metoclopramide may cause an increase in embryo size.

Keywords: Chick Embryo Model, Metoclopramide, Neural Tube, Antiemetic.

ÖNSÖZ

Bu çalışmanın yürütülmesi esnasında mesleki bilgi ve deneyimleriyle büyük desteğini gördüğüm, ahlaki ve etik değerleriyle örnek edindiğim değerli hocam Prof. Dr. İsmail TÜRKMENOĞLU'na, Dr. Mehmet Aydın AKALAN'a, araştırmayı mali yönden destekleyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyonu Başkanlığına. Her zaman yanımda olan emeklerini ödemeye gücümün yetemeyeceği annem Elif ŞİRİN, babam Ali ŞİRİN ve çalışma sürecinde beni cesaretlendiren, mesleki bilgileriyle aydınlatan kardeşim Vet. Hekim Özer ŞİRİN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Fatma Özlem ŞİRİN

Afyonkarahisar

2022

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
KABUL VE ONAY SAYFASI	II
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI	III
ÖZET	IV
SUMMARY	VI
ÖNSÖZ SAYFASI	VIII
İÇİNDEKİLER	IX
SİMGELER VE KISALTMALAR	X
ÇİZELGELER	XI
RESİMLER	XI
1. GİRİŞ	1
1.1. İnsanda Nöral Dokunun Embriyolojik Gelişimi	3
1.2. Tavuk Embriyosu Gelişimi	7
1.3. Nöral Tüp Defektleri	12
1.4. Metoklopramid	14
1.4.1. Metoklopramidin Farmakokinetik Özellikleri	14
1.4.2. Metoklopramidin Farmakolojik Özellikleri	15
1.4.3. Metoklopramidin Kullanım Şekli ve Yan Etkileri	15
2. MATERYAL ve METOT	17
2.1. Deney Sırasında Kullanılan Kimyasallar	17
2.2. Deney Materyali	17
2.3. Laboratuvar Koşulları	17
2.4. İnkübatör	18
2.5. Deney Gruplarının Oluşturulması	18
2.6. Embriyoların Elde Edilmesi	19
2.7. Embriyoların Makroskopik ve Mikroskopik Olarak İncelenmesi	19
2.8. Verilerin Değerlendirilmesi	20
3. BULGULAR	21
4. TARTIŞMA	23
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	27

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

NTD: Nöral tüp defekti

NT: Nöral tüp

MSS: Merkezi sinir sistemi

DM: Diabetes mellitus

SPF: Spesific pathogen free (içermeyen)

IV: İntravenöz

GİS: Gastrointestinal sistem

TGF: Transforming growth factor (dönüştürücü büyüme faktörü)

µg: mikrogram

ml: mililitre

mg: miligram

kg: kilogram

mm: milimetre

ÇİZELGELER

	SAYFA
Çizelge 2.1. Deney grupları ve uygulanan ilaçların dozları.	18
Çizelge 3.1. Gruplar arası nöral tüp açık-kapalılık durumu.	21
Çizelge 3.2. Gruplara göre somit sayısı ve baş-kıç ölçümlerinin dağılımı.	22

RESİMLER

	SAYFA
Resim 1.1. Nörülasyon ve nöral tüpün oluşumu	4
Resim 1.2. 45 saatlik bir civciv embriyosunda notokord ve somit gelişimi	5
Resim 1.3. Hamburger Hamilton evrelemesine göre Evre 1-4 arası embriyolar	8
Resim 1.4. Hamburger Hamilton evrelemesine göre Evre 5-10 arası embriyolar	9
Resim 1.5. Hamburger Hamilton evrelemesine göre Evre 11-13 arası embriyolar	11
Resim 1.6. NTD alt tipleri kapanış aşama görseli	13

1. GİRİŞ

Nöral tüp defekti (NTD), merkezi sinir sistemi (MSS) anomalisidir, embriyogenesis sırasında medulla spinalis ve columna vertebraliste defekt olması sonucu ortaya çıkar. Cranium bölgesi dahil vertebrae cervicalesden os sacruma kadar hemen her lokasyonda görülebilmektedir, anatomik olarak yerleşim yerine bakıldığında en sık pars lumbalisde görülür (Back, 2005). Nöral tüp defektlerinin hemen hepsi, embriyogenesis esnasında orta hat kapanmasında gerçekleşen bozukluk ile karakterizedir, nöral dokunun etrafındaki kemik doku, mazenşimal doku ve cilt arasındaki organize bütünlük bozulur (Catala, 2008; Özbakır, 2021). Nöral tüp defekti, konjenital kalp hastalıklarından sonra en sık görülen ikinci doğumsal anomali çeşididir (Şimşek, 2010). Türkiye’de yapılmış olan bir araştırmaya göre görülme sıklığı 3/1000 canlı doğum olarak saptanmıştır, NTD’nin bölgelere göre dağılımı ise Kuzey Anadolu ve Doğu Anadolu’da en yüksek, Batı Anadolu’da en düşük oranda, Avrupa genelinde ise 1/1000, ABD’de 2/1000 oranında olduğu belirtilmiştir, ayrıca pek çok gebeliğin de nöral tüp defekti nedeniyle abortus ve ölü doğum ile sonuçlandığı düşünülmüştür (Tomatır vd., 2014). Normal popülasyona göre abortus ve ölü doğumlardaki NTD vakaları daha yüksektir. Son yıllarda bazı bölgelerde insidans sabit kalırken bazı bölgelerde ise azalma eğilimindedir (Mcdonnel vd., 1999; Busby vd., 2005). Bu azalmada defektlerin ultrasonografik görüntüleme, erken dönemde tespiti ve folik asit gibi NTD sıklığını azalttığı tespit edilen preparatların gebelik öncesinde ve erken gebelikte kullanılması etkili olur (Şimşek, 2010). Nöral tüp defekti vakalarıyla ilgili uzun yıllardır, derinlemesine yapılan epidemiyolojik, klinik ve deneysel çalışmalara rağmen etiyojisi karmaşıktır. Kesin neden henüz net olarak anlaşılamamıştır. Ancak sebep olarak çok sayıda çevresel faktörler ve genetik altyapının olduğu kabul görmüştür (Özgür, 2012). Genetik risk faktörleri Meckel Gruber Sendromu veya Waardenburg Sendromu gibi gen veya Trizomi 13-18 gibi kromozal bozuklukken, çevresel risk faktörleri olarak kişide NTD öyküsü, NTD’li partner, obezite, antiepileptik ilaç kullanımı, anne yaşı, tip1 diabetes mellitus (DM), alkol ve sigara tüketimi, folik asit eksikliği olduğu düşünülmektedir (Becerra vd., 1990; Edwards vd., 1998; Mclone, 2003). Bazen gebelikte mecburi olarak kullanılması gereken ilaçların bu türde konjenital malformasyonlara neden olduğu düşünülür. Günümüzde yeni geliştirilen ilaçların gebelik kategorisi ve ne türde malformasyonlara neden olabileceği yapılan

Çalışmaların yeterli miktarda olmaması nedeniyle tam olarak bilinmemektedir (Tureci vd., 2011; Song vd., 2012).

Metoklopramid, kusmanın engellenmesi amacıyla antiemetik olarak kullanılan merkezi sinir sistemi ve çevresel sinir sisteminde etkili bir ilaçtır, buna ek olarak GİS motilitesini arttırmak ve mide boşaltımını hızlandırmak için prokinetik ajan olarak kullanılan antidopaminerjik etkili bir ilaçtır (Kantar, 2020). İlaç IV yoldan 1-3 dakikada, oral yoldan 15-20 dakikada etki gösterir. Yan etkileri ise konstipasyon, diyare, ağızda kuruluk, ajitasyon, ciltte alerjik döküntü, halsizlik, dilde ve orbitada ödemdir. Ayrıca parkinsonizm, akatizi, maling nöroleptik sendrom, tardif diskinezi gibi ekstrapiramidal sisteme ait yan etkiler de görülür (Brunton, 1996). Metoklopramid ilk olarak ABD’de kullanılmaya başlanmış ve günümüzde pek çok ülkede yaygın olarak kullanılan bir ajandır. Gastroparezi tedavisi için de çokça kullanıldığı bilinen metoklopramid’i iki milyondan fazla Amerikalının kullandığı ve bu sıklığın % 10-15 olduğu ortaya konulmuştur (Parkman vd., 2004).

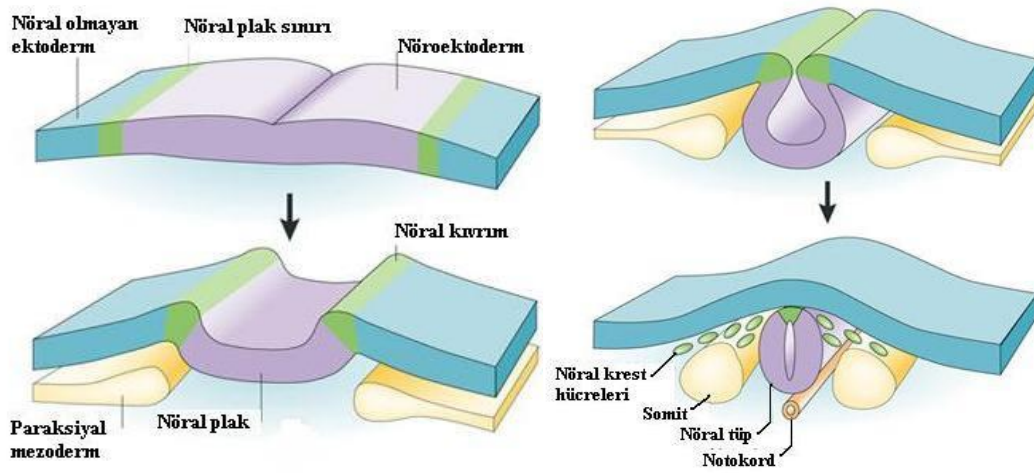
Civciv embriyo modeli, memelilerin columna vertebralisinde embriyonal gelişiminin ilk ayıyla benzerlik göstermesi sebebiyle bu çalışma kapsamında civciv embriyosunun erken dönemde gösterdiği gelişimin metoklopramid’in sinir sisteminin etkilerini değerlendirmek için civciv embriyo modeli kullanıldı. Döllenmiş olan yumurtanın kuluçkadaki süresi ortalama 21 gündür, bu 21 günlük sürede civciv embriyosunun gelişim basamaklarını Hamburger ve Hamilton tarafından 46 evrede incelenmiştir, belirledikleri gelişim evrelerine göre 8. evrede nöral plak gelişmiş ancak açıklık tespit edilmiştir, modelin 13. evresinde ise nrlasyona denk olarak nöral tüp kapanır (Hamburger vd., 1951).

Nöral tüp defektine neden olan ajanları araştırdığımızda günlük hayatta antiemetik olarak sıkça kullanılan metoklopramid’in NTD gelişimine etkileri hakkında yapılmış spf civciv embriyo çalışmasına rastlamadık dolayısıyla biz bu çalışmada metoklopramid’in civciv embriyosunda orta hat kapanmasındaki etkilerini makroskobik, mikroskobik ve histolojik olarak incelemeyi amaçladık.

1.1. İnsanda Nöral Dokunun Embriyolojik Gelişimi

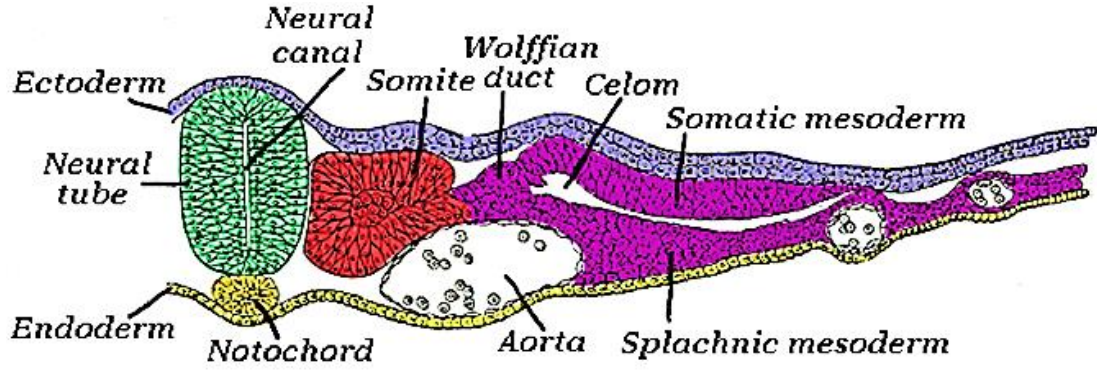
İnsan gelişimi oosit ve spermin fertilizasyonu sonucunda oluşan zigot ve bunu takiben ardışık süreçlerle devam eder. Bu süreçte sırasıyla hücrenin bölünmesi, hücrenin göçü, hücrenin programlı ölümü ve hücrenin büyümesi gerçekleşir ve çok hücreli bir insan yapısına dönüşür. Doğum öncesi bu dönem prenatal dönem olarak adlandırılır. İnsanda “emrionik dönem” ve “fetal dönem olarak iki aşamada incelenir. Emrionik dönem gelişimin ilk 8 haftasını, fetal dönem ise 57. günden itibaren fetüsün doğumuna kadar devam eden süreyi kapsar ve bunu fenogenez dönem olarak tanımlamak da mümkündür (Rahilly vd., 1987 ; Moore vd., 2019). Ovulasyondan sonra fertilizasyonu takiben oluşan zigot hızlı bir şekilde büyüme gerçekleşmeden bölünmeye başlar. Bu dönemde sayısı artan ve seri bir bölünme ile daha ufak hale gelen blastomerler oluşur. Üç adet bölünme gerçekleştikten sonra iç ve dış tabakaları olan, birbirine sıkı bir şekilde tutunan hücre topu halinde bir araya gelerek embriyo yeniden bölünmeye başlar ve 16 hücreli “morula (dut)” şekline gelir (Rakip, 2021). Fertilizasyondan yaklaşık 4 gün sonra morula uterus boşluğunda ilerler ve bir kavite oluşmaya başlar. Oluşan kavitenin içi su ile dolar, sonrasında içi boş bir yapı oluşur buna blastokist denilir. Blastokistin, dış kısmı trofoblastlardan iç kısmı ise embriyoblastlardan oluşur. Bu periyotta embriyoya “blastokist”, boşluğa da “blastosel” denir.

Primitif çizgisinin belirmesi ile gastrulasyon süreci başlar. Primitif çizgisinin sefalik ucunun genişlemesiyle primitif düğümü oluşur. Epiblast hücreleri primitif çizgi ve düğüm boyunca invagine olarak “endoderm” ve “mezoderm” denilen iki yeni hücre tabakasını oluşturur. İntroembriyonik mezodermal germ tabakasının hücreleri yolk kesesi ve amniyonu örten ekstraembriyonik mezodermle ilişki kurana kadar diğer iki germ tabakasının arasına göç eder (Schoenwolf vd., 1990; Schoenwolf vd., 2014).



Resim 1.1: Nörülasyon ve nöral tüpün oluşumu (İnt. Kay. 1, 2021).

Primitif çukurdayken invajine olmuş prenotokordal hücreler ilerler ve prokordal plağa ulaşırlar ve sonrasında notokordal plak halinde endodermle karışırlar. Sonraki evrelerde notokordal plak ve endoderm ayrılır, gebeliğin 17. günlerinde solid bir kordon görünümüne sahip notokordu oluşturur. Aksiyal iskeletin çatısı embriyonun orta hat eksenini oluşturan notokord'dur (Sadler, 1996; Schoenwolf vd., 2014). Notokord oluştuktan sonra ektodermden nöral tüp gelişimini sağlarken, aynı zamanda iki tarafında bulunan mezodermi etkileyerek, segmentlere ayrılmaya zorlar. Öncelikle mezodermin dorsalinde yarık oluşur. Daha sonra ufak mezoderm parçalarından somitler gelişir. Somitler, öncelikle embriyonun ilerde oluşacak olan oksipital bölgesinde meydana gelir. Somitlerin oluşması, henüz primitif çizginin arkasına gelmeden sona erdiği için embriyonun kaudal kısmında mezoderm yarıklanma olmadan kalır (Resim 1.2). Yarıklanma, mezodermin dorsal kısmında görülür. İlk segmentin önündeki mezodermden yarıklanma görülmez. İnsanda ilk somit çifti gelişimin 20. gününde embriyonun pars cervicalisinde oluşur (Sadler, 1996; Schoenwolf vd., 2014).



Resim 1.2: 45 saatlik bir civciv embriyosunda notokord ve somit gelişimi (İnt. Kay. 2, 2021).

Embriyolojik gelişimin üçüncü haftasında, embriyonun dorsal kısmının orta hattında yer alan ektoderm kalınlaşır ve nöral tabaka meydana gelir. Ektodermin indüksiyonunda özellikle TGF (transforming growth factor - dönüştürücü büyüme faktörü) içerisinde yer alan aktivin, fibroblast büyüme faktörü, bunun dışında retinoik asit ve çeşitli nörotransmitterler gibi sinyal molekülleri görev almaktadır (Sadler, 1996; Colas vd., 2001; Ronald vd., 1996). Nöral tabakanın laterali yükselerek ortada boylu boyunca uzanan oluk oluşturur. Tabakanın lateralinde oluşan yükselti nöral katlantı, ortadaki oluk ise nöral oluktur. Oluşan nöral oluk, lateralinde yükselen nöral katlantıların mediale doğru birleşmesi ile silindirik görünümünde kapanır ve nöral tüpü oluşturur. Kaynaşma ilerde vertebrae cervicalesin oluşacağı 4. somitten başlar, kaudal ve sefalik yönde devam eder. Kaynaşma tamamlanıncaya kadar nöral tüpün kaudal ve sefalik uçları, amnion boşluğu ile sırasıyla kranial ve kaudal nöroporlar yoluyla ilişki halindedir. Kranial nöropor 25. gün (18-20 somitli evre) civarında kapanırken, posterior nöropor ise 27. gün civarında (25 somitli evre) kapanır. Nöroporlar kapanınca nörolasyon tamamlanır. Sinir sistemi, kaudal kısmı dar, sefalik kısmı geniş, spinal kordu olan, beyin keseciklerinin yer aldığı kapalı bir tübüler yapı haline gelmiştir. Bu evrede embriyo yaklaşık 3-5 mm boyundadır (Schoenwolf vd., 2014). Üç tabakalı embriyonun oluştuğu gastrulasyon dönemi sonrası embriyoda MSS (merkezi sinir sistemi) gelişimi, 28. günde tamamlanan “primer nörolasyon” olarak adlandırılır. Artık spinal kordun distal kısımları olan cauda equina ve liflerinin oluşumu başlayacak bununla beraber sekonder nörolasyon evresi oluşacaktır. Sekonder nörolasyon evresinde tüm nöral tüpün üzeri yüzey ektodermi ile kapanmış durumdadır. İntrauterin hayatın 30. gününde oluşan bu hücre grubunda vakuolizasyon gelişir. Vakuollerin birbirleri ile birleşmesi sonucu hücre grubu içinde tek

bir kavite oluşur. Bu olaya “kanalizasyon” denmektedir. Embriyolojik gelişimin 38. gününde bu hücre grubu ile nörolasyonun sonucunda oluşmuş olan üst medulla spinalis ile L1-2 hizasında birleşir ve füzyon oluşur (Moore vd., 2019). Nöral tüpün distalindeki hücre kütlesi kuyruğa benzer şekilde uzar. Bu oluşum esnasında lümen ve epandimal topluluklar organize olur ve distal conus medullaris oluşur. İntrauterin hayatın 38. gününde oluşan spinal kordda, kaudal nöral tüpün lümeninde azalma ile kuyruk tomurcuğunun regresyonu başlar. En kaudal kısımda olan hücre grubu 6. ve 7. haftada regresyona uğrar ve ileride filum terminale olacak olan fibröz bir bant oluşur (Schoenwolf vd., 2014).

Birleşmeden sonra gelişen, kontrollü ve planlı hücre ölümü ile bu dönemde nörolasyon ve nöral dokunun üzerinin cilt ile kapanması tamamlanmıştır. Nörolasyon, nöral plağın nöral tüpe dönüşme sürecidir (Bursalı, 2010).

Blastula basit hücre kütesiyken, embriyonun katmanlardan oluşan organize bir yapıya dönüşür. Ektoderm, mezoderm ve endoderm denen üç germ tabakası gelişir, yapı artık trilaminardır, notokord embriyonun ilkel eksenini oluşturur ve ona diklik sağlar. Başlangıçta nöral plak pars cervicalisde dar, sefalik bölgede daha geniş olarak gözlenir.

Hipoblast ve prenekordal hücrelerin karışmasıyla embriyonun orta hattı kısa süreliğine notokordal plaktan oluşur. Hipoblastın yerini primitif çizgide içe doğru hareket eden endoderm hücreleri alırken, notokord plağın hücreleri de artarak endodermden ayrılırlar. Daha sonra nöral tüpün altını döşeyen notokordu oluştururlar. Notokord uzaması aktif bir süreçtir. Öncelikle kranial uç oluşur sonrasında kaudal bölgelerde primitif çizgi kaudal duruş kazanarak yapıya eklenir.

Posterior nöroporun bulunduğu bölge, gelişmiş olan fetüste T11-L4 segmentleri arasına denk gelir ve burası myelodisplazinin en sık karşılaşıldığı bölge olarak bilinir (Aksoy, 2005). Posterior nöroporun kapanması ile birlikte piamater, araknoid ve duramater gelişmeye başlar. Santral sinir sistemi (SSS) 40. gününde ventral yüzde belirmeye başlayan duramater, 52. günde tüm sistemi sarar (Schoenwolf vd., 2014; Aksoy, 2005). Vertebral kanalın oluşumu 3 evrede tamamlanır. İlk evrede membranöz yapıda olan ventral subkordal ve dorsal subkordal zonlar nöral tüpün lateralinden göç eden mezenkim hücreleri tarafından oluşur. Bu süreç 25. günde başlar. Ventral ve dorsal subkordal

zonların ikisinin de medial ve lateral gruplara ayrılması sonucunda medial gruplar vertebra oluşumunu, lateral gruplar ise paraspinal kas gruplarının oluşumuna yol açarlar. Ayrıca bir grup mezenkim topluluğu hemen sonra nöral tüpün posterioruna uzanarak posterior nöral ark ve meninkslerin oluşumunda da etkinlik gösterir. Vertebral kolon oluşumunun diğer evreleri, yukarıda bahsettiğimiz zonların bilateral ve simetrik olarak çalışması ile vertebral kolonun ve disk aralıklarının farklılaşması yani kondrifikasyon evresi ve vertebra oluşumunun tamamlanmasını içeren ossifikasyon evreleridir. Vertebral kolonun kaudal oluşum evresi ileri derecede organize olmayıp sakrum ve koksiks oluşumu seri regresyonu da barındırır. Bu aşamalardaki disorganizasyon lipomlar, teratomlar gibi kaudal regresyon anomalilerinin oluşumuna yol açabilirler (Moore vd., 2019; Schoenwolf vd., 2014; Botto vd., 1999).

1.2. Tavuk Embriyosu Gelişimi

Embriyonal gelişim memelilerde dişinin karnında gözlenirken, kanatlılarda ise farklı olarak vücut dışında gerçekleşir. Cıvcıv, embriyo gelişiminde gerekli olan tüm besin maddelerini yumurta içinde tamamlar. Yumurtadan cıvcıv gelişimi olması için belirli çevre koşullarına ihtiyaç vardır. Bu durum yumurtaların inkübatöre konulmasıyla da sağlanır (Aksoy, 1999; Şenköylü, 2001). Ortalama kuluçka süresi 22 gündür bunun 1 günü tavuk vücudunda, 21 günü kuluçkada gerçekleşir. Embriyogenesisin olması için inkübatörün ideal sıcaklığı 37.5°C olmalıdır. Ancak sıcaklık 24°C üzeri olduğunda da embriyo gelişir. Yumurtlama sonrasında embriyonik gelişmeyi durdurmak için ideal sıcaklık 15-18°C arasında olmalıdır. Yumurtaların inkübatöre yerleştirilmeden önce muhafaza edildikleri yerin sıcaklığının bu sınırlar içerisinde olmasına özen gösterilir. Vücudun tüm organ ve kısımları endoderm, ektoderm ve mezoderm denen hücre tabakalarından meydana gelir ve bu tabakalar farklılaşarak gelişmeye başlar (Güvenç, 2011). Embriyo döneminden cıvcıv gelişimine kadar 46 evre bulunur, embriyo gelişimi çeşitli evreleri içerir (Hamburger vd.,1951). Çalışmada cıvcıv embriyolarının 44-48 saatlik dönemi incelendiğinden Evre-13'e kadar olan bölüm anlatılmıştır.

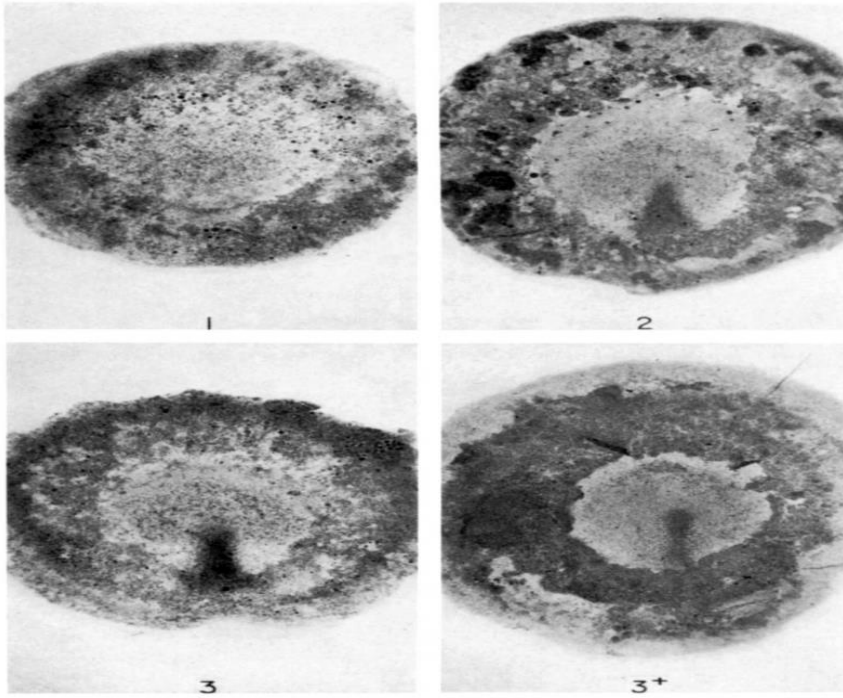
Evre-1 (İlk çizgi): İlkel çizgi oluşur. Hücrelerin blastodermin arka kısmına doğru göç etmesi sonucu embriyonik katlantı görülür.

Evre-2 (Başlangıç çizgisi): İnkübasyondan yaklaşık 6-7 saat sonraki dönemi kapsar ve geçici bir evredir.

Evre-3 (Ara çizgi): 12-13 saatlik embriyoda ilkel çizgi görülür. Embriyo posterior kenardan pellucid merkezine doğru uzanmıştır ve boyuna göre daha geniştir. İlkel oluk henüz oluşmaz.

Evre-4 (Tam çizgi): İlkel çizgi 18-19 saatlik embriyoda en fazla uzunluğa ulaşır. İlkel oluk, ilkel çekirdek ve Hensen's nodu oluşur. Zona pellucida alan ve uzunluk olarak artar.

İlk dört evreye ait görüntü Resim 1.3'te gösterilmiştir.



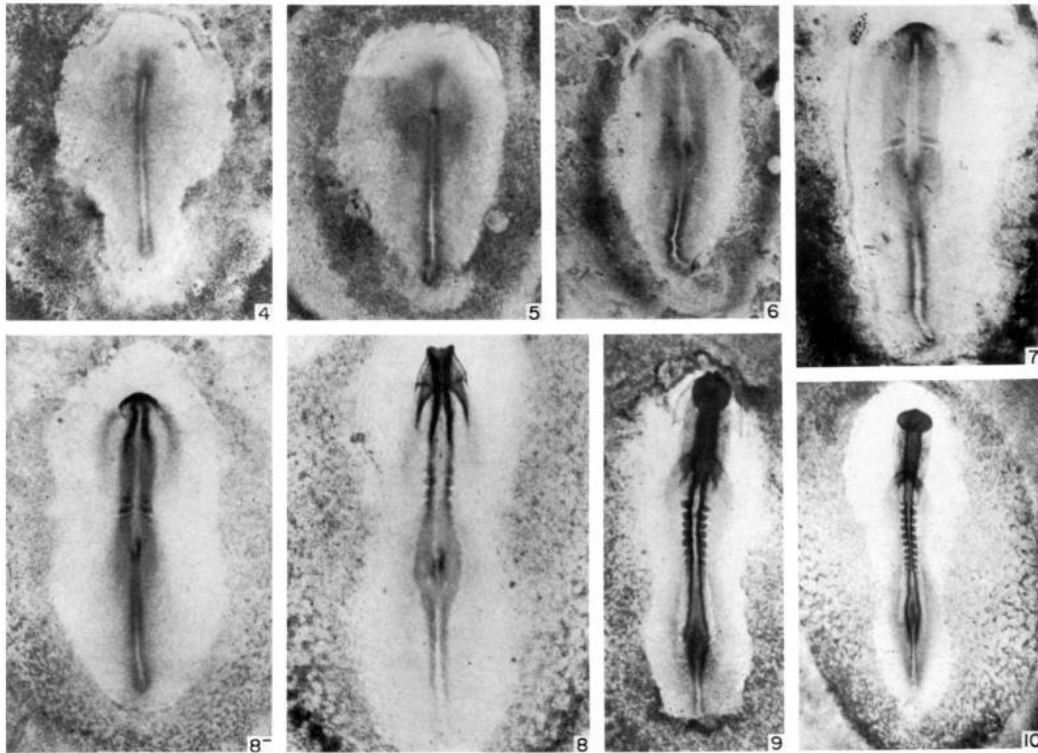
Resim 1.3: Hamburger Hamilton evrelemesine göre Evre 1-4 arası embriyolar (Petorak, 1984).

Evre-5: (19-22 saat) Hensen's nodunun ön köşesinden uzanan ve yoğunlaşan mezodermin bir çubuğu şeklinde notokord veya baş oluşumu görülmeye başlar, başa ait katlantı henüz görülmez.

Evre-6: (22-25 saat): Blastodermin katlantısı embriyonun ön ucunda belirginleşir ve Notokorda doğru olan blastodermin katlantısı embriyonun ön ucunda belirginleşir.

Evre-10 (On somit): (33-38 saat) Embriyoda 10 somit görülür. Baştaki somit dağınık yerleşimlidir ve bu evreden sonra sayıya dahil edilmez. Üç adet olan ilk beyin keseciği açık şekilde görülür. Optik kesecikler net görülmez . Kalp hafif sağa doğru yerleşimli görülür.

Evre 5-10 arasına ait görüntü Resim 1.4'te gösterilmiştir.



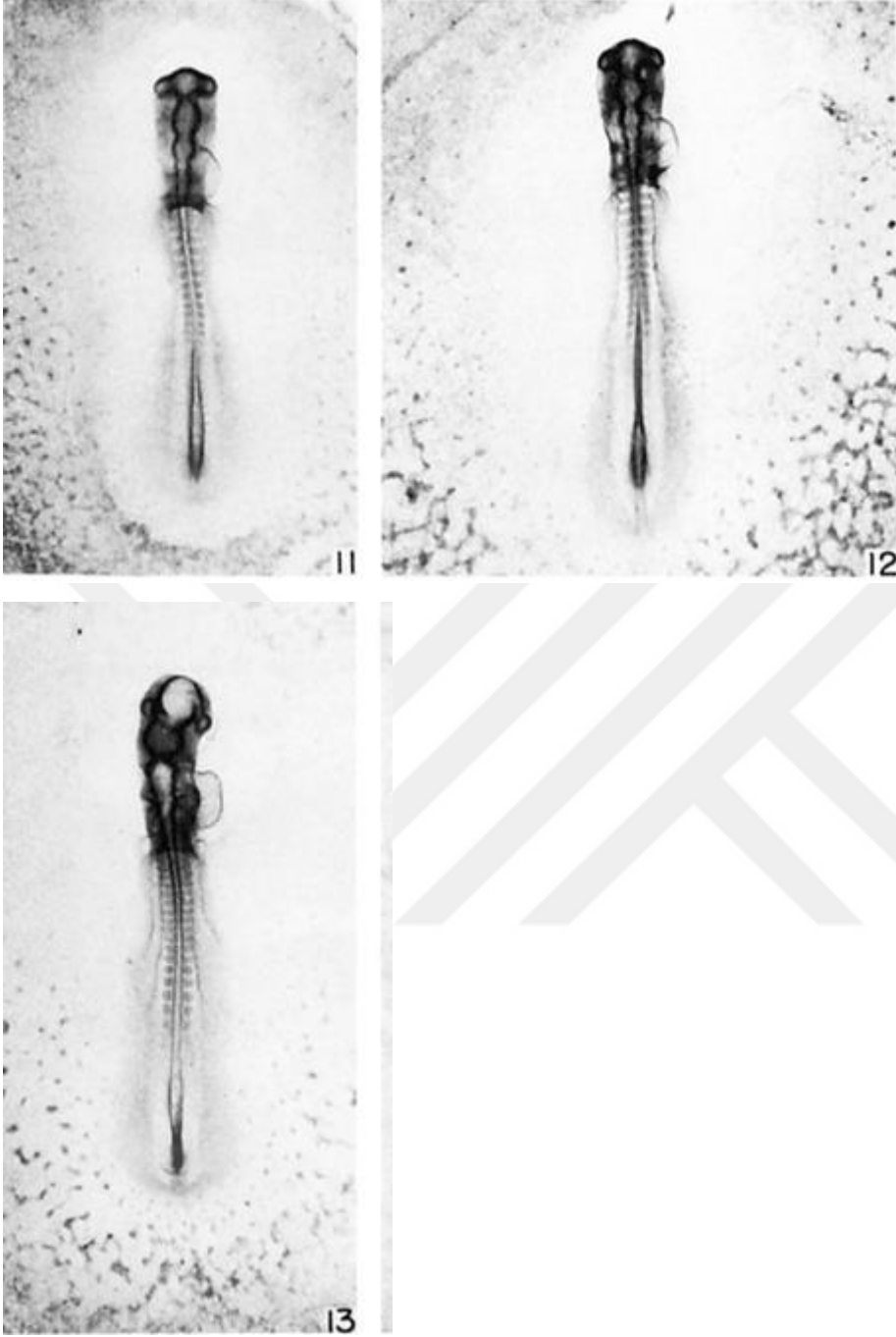
Resim 1.4: Hamburger Hamilton evrelemesine göre Evre 5-10 arası embriyolar (İnt. Kay. 3, 2021).

Evre-11 (On üç somit): (40-45 saat) Bu evrede 13 somit vardır. Hafif kranial katlantı görülür ve arka beyin 5 nöromere ayrılır. Ön nöropor kapanmaya başlar. Optik kesecikler daha belirgindir. Kalp tam olarak sağ tarafa yerleşir.

Evre-12 (On altı somit): (45-49 saat) Kafa sol tarafa döner. Artık ön nöropor tamamen kapanır. Telensefalon görülmeye başlar. Primer optik kesecikler ve optik sak net olarak görülür. Kulak çekirdeği açık ve derindedir. Kalp hafif bir S şeklini alır. Amniyonun baştaki katlantısı ön beyin girişini kaplar. Somit sayısı bu evrede 16'dır.

Evre-13 (On dokuz somit): (48-52 saat) Kafa tamamen sola döner. Kranial ve servikal katlantı eğim yapar. Telensefalonun genişlemesi belirgindir. Kulak çekirdeğinin açıklığı daralır. Hipofize ait bir belirti yoktur. Atrioventriküler kanal daralır ve belirgin görülür. Amniyonun baştaki katlantısı ön, orta ve arka beyin ön kısmını kaplar. Burada 19 somit vardır.

Evre 11-13 arasına ait görüntü Resim 1.5'te gösterilmiştir.



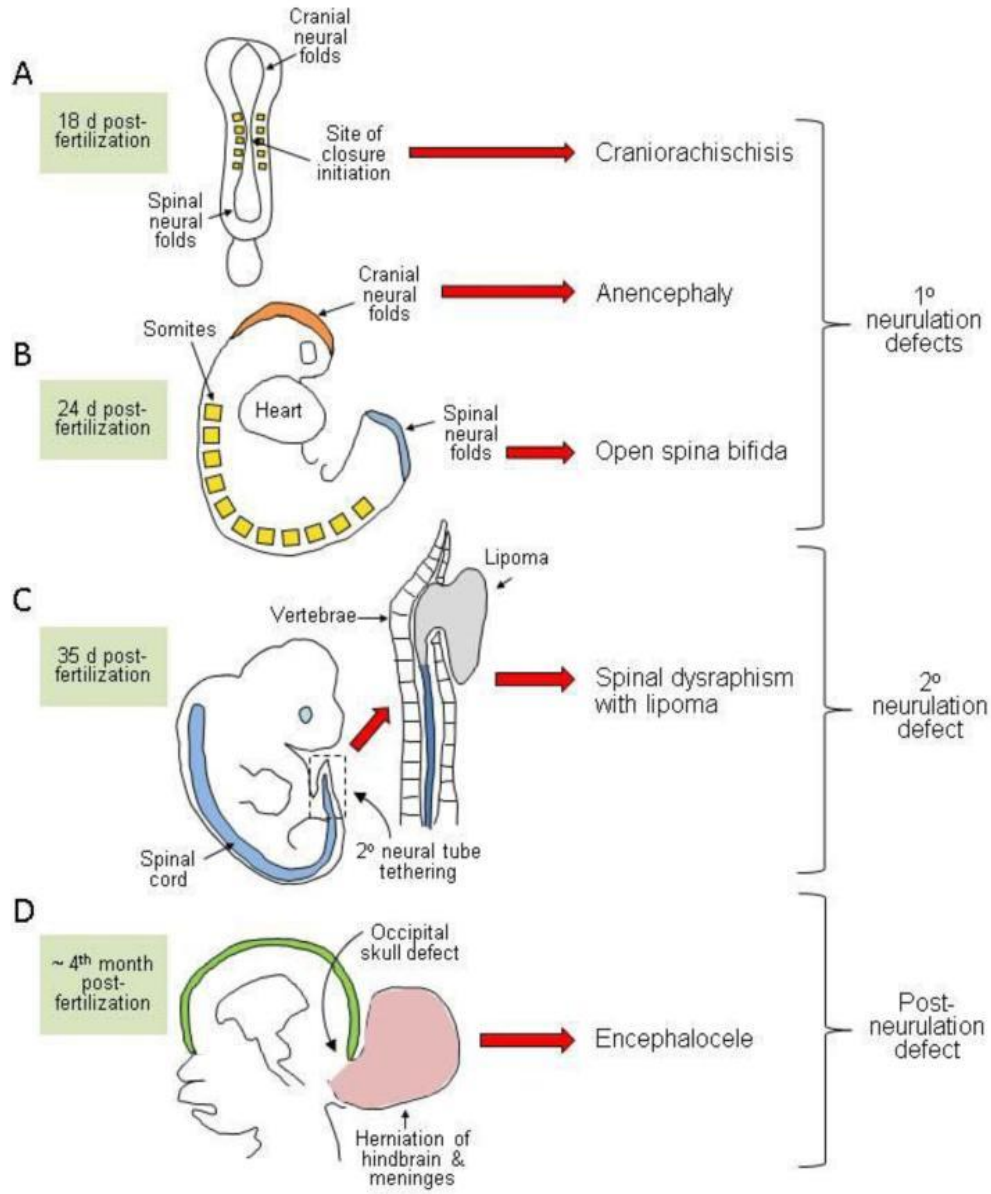
Resim 1.5: Hamburger Hamilton evrelemesine göre Evre 11-13 arası embriyolar(İnt. Kay. 4, 2021).

1.3. Nöral Tüp Defektleri

Nöral tüp oluşumu embriyoyu etkileyen çeşitli faktörlerin sonucunda nöral tüpün bazı kısımlarının kapanmasındaki yetersizliktir. Bu oluşum kapanma dönemini kapsayan embriyolojik yaşamın ilk dört haftasında görülür.

Cranial ve caudal uçlarda defekt oluşması kapanmanın miktarına ve zamanına bağlıdır (Ermiş ve Erdoğan, 2001). Bu defekt insanda nöral tüp kapanmasındaki döllemeden sonraki 23 ve 28. günler arasında oluşur ve en kritik zamandır. Nöral tüp defektleri merkezi sinir sisteminin heterojen ve kompleks konjenital anomalileridir. Nedeni net olarak bilinmemesine rağmen çevresel ve genetik faktörlerin bir arada rol oynadığı düşünülür. Dünyada NTD'lerin tüm formlarının insidansı 1000 canlı doğumda 1,4-2 arasındadır. Nöral tüp defekti tipine ve bulunduğu bölgeye göre ağırlık olarak farklılık gösterebilir. Herhangi bir bozukluğa sebep olmayacak kadar basit de olabilir, ağır bir nörolojik hasara yol açabilen, yaşamla bağdaşmayacak derecede ağır ve karmaşık da olabilir. Konjenital malformasyonlar tedavi edilmesi zor, masraflı, aileye ve topluma büyük maddi ve manevi yükü olan halk sağlığı sorunlarıdır. Prekonsepsiyonel dönemde erken tanı ve tedaviyle gerekli önlemlerin alınması, konjenital malformasyonlara yol açan faktörlerin belirlenmesi büyük önem arz eder (Copp vd., 2010; Liu vd., 2017). Nöral tüp defektlerinin beraberinde görülen ortopedik, ürolojik ve nöroşirurjik patolojiler sebebiyle oluşturulan multidisipliner tedavi yaklaşımlarında dahi morbidite ve mortalite oranları yüksektir (Blencowe vd., 2010; Yi vd., 2011).

Ülkemizde her yıl yaklaşık olarak 5000 çocuğun bu hastalıkla doğduğu görülür. Risk faktörleri araştırıldığında annenin yaşı, eğitim düzeyi ve yaşadığı bölgeye göre farklılık gösterdiği, eğitim düzeyi düşük, üç ve üzeri doğum yapmış ve küçük yaşta kadınlarda daha sık görüldüğü bilinir. Ayrıca NTD sıklığı başta beslenme, coğrafi bölge, ırk ve çevresel etkenlere bağlı farklılık gösterir (Tunçbilek vd., 1999).



Resim 1.6: NTD alt tipleri kapanış aşama görseli (Greene ve Copp, 2014)

İnsanlarda yaygın olarak nöral tüp defektleri olarak sınıflandırılan malformasyonların gelişimsel kökeni Resim 1.6’da gösterilmiştir. Resim 1.6’ya göre A ve B primer nörolasyon bozuklukları arasında, nöral tüpün kapanmayı başlatamadığı durumu gösterir. Beynin çoğu ve tüm omurganın açık kaldığı duruma kraniorakşizis (A) adı verilir. Kapatma başarılı bir şekilde başlatılırsa, kraniyal ve / veya spinal nöral kıvrımlar (B) kapanamaz. (C) İkincil nörolasyon bozuklukları, nöral tüpün bitişik dokulardan tamamen ayrılmaması, böylece bağlama ve hareketliliğin azalmasını içerir. Omurilik cilt tarafından kaplanır ve genellikle henüz bilinmeyen mekanizmalar yoluyla yağ dokusu birikimi

(lipoma) ile ilişkilidir. (D) İskelet sonrası kemik yapısı tam olarak gelişmediğinde, postnörülasyon sonrası kusurlar ortaya çıkabilir. Beyin dokusu olsun olmasın, meninkslerin bir kafatası defekti yoluyla fıtıklaşması ensefalosel üretirken, spinal bölgedeki benzer bir kusur meningosel üretir (Greene ve Copp, 2014).

1.4. Metoklopramid

Metoklopramid 1960'lı yılların başında dopamin inhibitörü olarak geliştirildi. İlk kullanımı ise 1964 yılında J. Besancon tarafında yapıldı. Avrupa' da yaygın olarak 1968 yılında özellikle gebeliğe bağlı bulantı ve kusmalarda kullanıldı. Metoklopramid'in ilk olarak geliştirilme amacı gebelik esnasında oluşan bulantının tedavisi olmasına rağmen, kemoterapiye bağlı olan bulantı ve kusmada da etkisinin olduğu görülmüştür. Radyolojik uygulamalarda da ince bağırsakların görüntülenmesini kolaylaştırdığı anlaşıldı ayrıca metoklopramid'in bazı formlarının santral sinir sistemi tümörü ve büyük hücreli akciğer kanserinin tedavisinde radyasyona duyarlı bir ajan olduğu tespit edildi. Metoklopramid'in kullanımına 1979'da A.B.D. Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından izin verildi (Keşküş, 2002). Metoklopramid, günümüzde enfeksiyon hastalıklarından sonra oluşan sindirim düzensizliklerinde, dispepside, kanser kemoterapisi ve radyasyon nedenli bulantı ve kusmalarda, mide ve ince barsakta radyolojik tetkikler yapılacağı zaman mide boşaltılması ve baryumun barsağa geçişini kolaylaştırmada, ince bağırsağa tüp yerleştirilmesi gerektiğinde tüpün pylorus'tan geçirilemediği durumlarda gevşetici olarak, gastroözofageal reflü ve mide ülserlerinde kullanılan benzamid türevi dopamin antagonisti antiemetik olarak kullanılır (Ommaty, 2006).

1.4.1. Metoklopramidin Farmakokinetik Özellikleri

Metoklopramid oral uygulandıktan 1 saat içinde plazmada maksimum konsantrasyona ulaşır ortalama 20,00 ve 40,00 mg doz uygulandıktan 1 saat sonra sırasıyla yaklaşık 40 ve 80 mg/mL konsantrasyona ulaşır. Ancak karaciğerde ilk geçiş etkisinden dolayı bireyler arasında farklılık gösterebilir. Metoklopramidin oral yolla alımından 2 saat sonra, plazmadaki konsantrasyonunun aşırı yükselmesi durumunda, anne sütüne kolaylıkla geçer. Oral dozun %80'i ya değişikliğe uğramadan ya da konjuge olarak 24 saat içinde atılır. Atılma sağlıklı bireylerde 2 ila 5 saat, orta şiddette böbrek yetmezliği olan hastalarda ise yaklaşık 14 saate olur. (Harrington vd., 1983)

1.4.2. Metoklopramid'in Farmakolojik Özellikleri

Metoklopramid benzamid türevi antagonistidir. Düşük dozda santral sinir sisteminde ve periferde dopamin D2 reseptörlerini bloke eder. Yüksek dozda daha belirgin olmak üzere, serotonin 5-HT₃ reseptörlerini bloke eder. 5-HT₄ reseptörlerin agonistidir, onları aktive eder. Terapötik doz aralığının alt kısmına uyan dozlarda mide bulantısı giderici etkisi antidopaminerjik etkinliğine dayanır. Ağız yolundan verildiğinde tamamına yakını absorbe edilir. Fakat biyoyararlanımı bireyler arasında belirgin farklılık gösterir. Oral biyoyararlanımın %32 ve % 98 arasında değiştiği saptanmıştır. Bu durum, barsaktan absorbe edildikten sonra ilk geçişte karaciğerdeki eliminasyon hızının bireyler arasında fazla değişkenlik göstermesine bağlıdır. Absorbsiyonu hızlıdır; oral alımından 30 dk sonra maksimum plazma düzeyine ulaşır. Karaciğerde metabolize olur ve alınan dozun yaklaşık %20'si böbrekten değişmeden atılır. Eliminasyon yarılanma ömrü 2,6-5,4 saattir. Böbrek yetmezliğinde bu değer 14 saate kadar yükselir. Böbrekten değişmeden atılan fraksiyonun fazla olmamasına rağmen, bu durum böbrek yetmezliğinde eliminasyonun yavaşlaması; bu organdan atılmasını yavaşlatan konjugat şeklindeki metoklopramid metabolitlerinin enterohepatik siklusa girmesi ile açıklanır (Kayaalp, 2002).

1.4.3. Metoklopramidin Kullanım Şekli ve Yan Etkileri

Metoklopramid genellikle ameliyattan sonra oluşabilen bulantı ve kusmanın önlenmesinde kullanılmakla birlikte, migren tipi baş ağrısı, diyabetik mide tembelliği gibi çeşitli durumlarda etkin bir şekilde kullanıldığı belirtilmiştir. Acil servislerde bulantı-kusma tedavisinde sıklıkla kullanılan ajanlardan biri olan metoklopramid, vertigonun tedavisinde de kullanılabildiği belirtilmiştir. Ağrı kesici, kusma önleyici ve peristaltik hareketleri arttırarak yemeklerin ince bağırsığa iletimini kolaylaştırıcı özellikleri olduğu bildirilir (Yıldız, 2017). Antiemetik olarak, ameliyat sonrasında, radyasyona, kemoterapiye ve kronik böbrek yetmezliğine bağlı kusmalarda, endoskopi incelemelerinde, anestezi esnasında, auralı migren tedavisinde genellikle oral yolla günde 4 kez 10,00 mg aç karnına ve yatarken verilir (Reynolds, 1993). Metoklopramid'in günlük dozunun 500 µg/kg'ı aştığı durumlarda bazı yan etkiler görülür. Bu yan etkilere uykusuzluk, halsizlik, ağızda ve ciltte kuruluk, hipotansiyon yada hipertansiyon olarak

örnek verilir. Bununla birlikte aşırı hassasiyet reaksiyonları ve idrar yapmada zorlanma da olabilir.

Sodyum bikarbonat, kloramfenikol ve sefalosporinlerle geçimsizlik gösterirken, cisplatin, metotreksat sodyum ve doksorubisin hidroklorür ile kullanıldığında ise ilacın sıcaklığına ve pH'ına dikkat edilmesi gerekir (Gilman vd., 1991).



2. MATERYAL ve METOT

Bu çalışma için Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan(AKUHADYEK-96-22) tarih ve 49533702/216 sayılı kararı ile etik kurul izni alındı (EK-1). Çalışmanın her aşamasında yapılan tüm işlemler etik kurul yönergesine göre kurallara uygun şekilde gerçekleştirildi. Çalışmanın tüm deney aşaması Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

2.1. Deney Sırasında Kullanılan Kimyasallar

- Metoklopiramid ($C_{14}H_{22}ClN_3O_2$)
- Hematoksilen
- Eosin
- Parafin
- Baticon
- Ethanol %99
- Methanol
- Ksilen
- Formaldehit
- Entellan

2.2. Deney Materyali

Ağırlıkları 60 ± 5 gr arasında, beyaz, fertil ve 0 günlük 100 adet SPF (specific patogen free) yumurtalar kullanıldı. Kullanılan yumurtalar İzmir Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü'nden getirildi.

2.3. Laboratuvar Koşulları

Deneyde Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Laboratuvarında bulunan inkübatör ve belirtilen kimyasallara ek olarak, büyük cam kap, petri kutusu, steril şeffaf kaşık, penset, forceps, makas, gaz tampon, Hamilton mikro enjektörü, ipek flaster, parafilm, distile su, plastik kapaklı kap, hassas terazi, baticon,

alkol, mikropipet, enjektör ve elde edilen embriyoların saklanması için %10'luk formaldehit solüsyonu kullanıldı.

2.4. İnkübatör

Çalışmada Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Laboratuvarında standardizasyonu yapılmış olan Cimuka marka otomatik inkübatör kullanıldı. İnkübatör standardizasyonu 60 ± 5 bağıl nem oranı ve $37.5\pm0.5^{\circ}\text{C}$ sabit ortam sıcaklığı olarak belirlendi. İnkübatör ideal olan ortam sıcaklığına ve ideal bağıl nem oranına ulaşıncaya kadar 1 saat boş bir şekilde çalıştırıldı. Yumurtalar inkübatöre sivri kısmı aşağı doğru olacak şekilde yerleştirildi ve 45° açıyla 2 saatte bir otomatik olarak inkübatör tarafından döndürüldü.

2.5. Deney Gruplarının Oluşturulması

SPF yumurtalar aşağıda belirtilen bir kontrol , üç deney olmak üzere dört farklı gruba ayrıldı. Kontrol grubunda 23 adet, düşük doz grubunda 21 adet, orta doz grubunda 22, yüksek dozda ise 21 embriyo incelendi. Yumurtalar için ideal görülen $37.5\pm0.5^{\circ}\text{C}$ ısı ve 60 ± 5 bağıl nem koşulları sağlandıktan sonra spf yumurtalar inkabatörde 48 saat boyunca takip edildi.

Çizelge 2.1 : Deney grupları ve uygulanan ilaçların dozları.

Gruplar	Kullanılan Etken Madde ve Dozları	Veriliş Yolu ve Hacmi
Grup 1	Metoklopiramid 0.05 mg/kg	Subblastodermik alana 0.03 ml
Grup 2	Metoklopiramid 0.1 mg/kg	Subblastodermik alana 0.03 ml
Grup 3	Metoklopiramid 0.15 mg/kg	Subblastodermik alana 0.03 ml
Grup 4	Kontrol	Sham

Çalışmanın 24 ve 28. saatleri arasında döllenmiş spf yumurtalar inkübatörden çıkarıldı. Yumurta kabuğu baticon ve %70 etil alkol ile dezenfekte edilerek steril şartlar sağlandı ve yine steril forcepsler yardımıyla yaklaşık 0.5 cm'lik pencereler açıldı ve açılan pencerelerden embriyolar görüldü. Sonrasında pencereden Hamilton mikroenjektörü ile yaklaşık 45° açı verilerek daha önce hazırlanmış, çalışma prosedüründe belirtilen

dozlardaki Metoklopiramid (Vomepram 2ml/10mg ampul,Vem ilaç San. ve Tic. A.Ş.) steril şartlarda serum fizyolojikte çözülerek tüm gruplara 30 µl olacak şekilde subblastodermik alana enjekte edildi. Kontrol grubuna herhangi bir ajan enjekte edilmedi. Enjeksiyondan sonra yumurtalardaki pencereler steril drape ile kapatıldı ve kapatılan yumurta 180⁰ derece çevrilerek uygun koşullardaki inkübatöre tekrar yerleştirildi.

2.6.Embriyoların Elde Edilmesi

İnkübasyonun 44-48. saatinde yumurtalar inkübatörden çıkarılarak, oda sıcaklığında soğutuldu. Yumurtanın üzerine povidon iyodür ve sonrasında %70 etil alkol dökülerek dezenfekte edildi. Yumurtalar steril forcepslerin yardımıyla kırılarak daha büyük bir pencereler açıldı. Açılan pencerelerin ardından görülen ince koryoallantoik membran yine forceps yardımıyla kaldırıldı. Kaldırılan karyoallantoik membranın altında embriyonal disk tespit edildi. Embriyonal diskin lateral çevresinden yaklaşık 0.5 cm kesiler atıldı bu kesiler diseksiyon makası yardımıyla sağlandı. Sonrasında tek kullanımlık steril şeffaf kaşık yardımı ile embriyonun altına girilerek embriyonal disk ve vitellin membrandan birbirinden ayrıldı. Ayrılan embriyo daha önce hazırlanan, içerisinde distile su bulunan petri kabına alındı. Petri kabındaki distile su içindeki embriyolar %10 formaldehit çözeltisi içerisine alındı.

2.7. Embriyoların Makroskopik ve Mikroskopik İncelenmesi

Elde edilen embriyolar % 10 formaldehit solüsyonu içinde 48 saat bekletildikten sonra % 5 formaldehit içine alınarak 48 saat boyunca da burada bekletildi. Sonrasında diseksiyon forsepsi yardımıyla lam üzerine alınan embriyolar pipet içine alınan distile su ile yıkayıp Hamburger-Hamilton Tavuk Embriyo Sınıflandırma Sistemi esas alınarak, ışık mikroskopunda 40'lık büyütme yapılan embriyolar değerlendirildi. Nöral tüpün açıklığı-kapalılığı, baş-kıç uzunluğu, somit sayıları belirlendi ve embriyolar sınıflandırıldı. Toplamda 33 embriyoda açma hatası, 3 embriyonun boş olması nedeniyle çalışma dışı tutuldu. Mikroskopik inceleme yapmak için embriyolar lamlara alınarak şeffaflaştırma işlemi yapıldı, sonrasında eosin ve hemotoksilen ile boyama yapılan embriyolar entellan ile kapatıldı.

2.8.Verilerin Değerlendirilmesi

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS 20 (Statistical Package for the Social Sciences) programı ile yapıldı. Embriyoların somit sayısı ve baş-kıç uzunluğu, Mann-Whitney U, One Sample Custom, Kruskal-Wallis ve Simirnow testleri kullanılarak değerlendirildi. $P<0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde gösterildi.



3. BULGULAR

Çalışmamızda değişik dozlarda kullanılan metpamid'in nöral tüpün gelişimi üzerine etkileri araştırıldı ve metoklopramid enjekte edilen gruplar düşük doz, orta doz, yüksek doz ve kontrol grubuna ait bulgular sunuldu. Kontrol grubunda 23 embriyo incelenirken, düşük doz grubunda 21, orta doz grubunda 22 ve yüksek doz grubunda 21 adet embriyo incelendi. Morfolojik değerlendirmede nöral tüpte açıklık veya kapalılık, embriyonun baş-kıç uzunluğu, embriyolojik gelişimin olup olmaması ve somit sayıları ışık mikroskobu ve stereo mikroskop yardımıyla değerlendirildi ve istatistiksel analizler tablo şeklinde ifade edildi.

Çalışmanın sonucunda gruplar arası nöral tüp açık-kapalılık durumu Tablo 3.1.' de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1: Gruplar arası nöral tüp açık-kapalılık durumu.

Parametreler	Kontrol	Düşük Doz	Orta Doz	Yüksek Doz
Nöral Tüp Açık	1	3	3	3
Nöral Tüp Kapalı	22	18	19	18

Tablo 3.1'e göre kontrol grubunda 22 embriyoda nöral tüpün kapalı olduğu (%88), 1 embriyoda nöral tüpün açık olduğu (%4), 1 embriyoda gelişim geriliği olduğu (%4), 1 embriyoda diskin oluşmadığı (%4) ve açma hatası olmadığı (%0) belirlendi. Düşük doz (0.05 µg/ kg /1,5 µg/yumurta başı) metoklopramid enjekte edildikten sonra 18 embriyoda nöral tüpün kapalı olduğu (% 72), 3 embriyoda nöral tüpün açık olduğu (% 12), 1 embriyoda gelişim geriliği olduğu (% 4), 2 embriyoda diskin oluşmadığı (% 8) ve 1 embriyoda ise açma hatası olduğu (% 4) görüldü. Orta doz (0.1 µg/kg/7,5 µg/yumurta başı) metoklopramid enjeksiyonu sonrası 19 embriyoda nöral tüpün kapalı olduğu (% 76), 3 embriyoda nöral tüpün açık olduğu (% 12), 1 embriyoda gelişim geriliği olduğu (% 4), 1 embriyoda diskin oluşmadığı (% 4) ve 1 embriyoda ise açma hatası olduğu (% 4) saptandı. Yüksek doz (0.15 µg/kg/15 µg/yumurta başı) metoklopramid enjeksiyonu sonrası 18 embriyoda nöral tüpün kapalı olduğu (% 72), 3 embriyoda nöral tüpün açık olduğu (% 12), 1 embriyoda gelişim geriliği olduğu (% 4), 2 embriyoda diskin oluşmadığı (% 8) ve 1 embriyoda ise açma hatası olduğu (% 4) görüldü.

Çizelge 3.2: Gruplara göre somit sayısı ve baş-kıç ölçümlerinin dağılımı.

Gruplar	Somit Sayısı MEANS $\pm$ SE	Baş-Kıç(mm) MEANS $\pm$ SE
Kontrol	27,00 $\pm$ 1,09	5,86 $\pm$ 0,15 ^a
Düşük Doz	27,68 $\pm$ 0,88	5,87 $\pm$ 0,17 ^a
Orta Doz	28,33 $\pm$ 0,64	6,27 $\pm$ 0,13 ^b
Yüksek Doz	29,54 $\pm$ 0,47	6,71 $\pm$ 0,95 ^c
P Değeri	0,109	0,000

a,b : Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası farklılık önemlidir.

p<0,05 : Kontrol grubuna nazaran anlamlı olarak farklıdır

Tablo 3.2 incelendiğinde kontrol grubunda baş-kıç uzunluğunun 5,86 $\pm$ 0,15 mm, somit sayısının 27,00 $\pm$ 1,09 olduğu, embriyoların Hamburger Hamilton skalasına göre 11-12. evre aralığında olduğu anlaşıldı,

Düşük doz grubunda baş-kıç uzunluğunun 5,87 $\pm$ 0,17 mm olduğu, somit sayısının 27 $\pm$ 1,09 olduğu, embriyoların Hamburger Hamilton skalasına göre 11-12. evre aralığında olduğu tespit edildi,

Orta doz grubunda baş-kıç uzunluğunun 6,27 $\pm$ 0,13 mm olduğu, somit sayısının 28,33 $\pm$ 0,64 olduğu, embriyoların Hamburger Hamilton skalasına göre 11-12. evre aralığında olduğu saptandı,

Yüksek doz grubunda baş-kıç uzunluğunun 6,71 $\pm$ 0,95 mm olduğu, somit sayısının 29,54 $\pm$ 0,47 olduğu, embriyonun Hamburger Hamilton skalasına göre 11-12. evre aralığında olduğu görüldü.

Tablo 3.2'deki bulgular doğrultusunda somit sayısı bakımından deney grupları ile kontrol grubu arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı (p>0.05). Aynı tabloya göre baş-kıç uzunlukları ortalaması kontrol grubu (5,86 mm) ile düşük doz (5,87 mm) grubuna benzer iken, orta doz grubunda 6,27 mm'ye, yüksek doz grubunda ise 6,71 mm'ye yükseldiği ve aradaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (P<0.05). Bu bulgu metpamid'in orta ve yüksek dozunun embriyo gelişiminde artışa neden olabileceğini düşündürdü.

4. TARTIŞMA

Anormal nörülasyon sonucunda oluşan nöral tüp defektleri, fetal veya embriyonel dönemde ölümle sonuçlanabilmesinin yanı sıra doğumdan sonraki süreçte medikal, finansal, sosyal sorunları beraberinde getiren ve uzun süreli rehabilitasyon ihtiyacı duyulan konjenital malformasyonlardır.

NTD, topluma getirdiği sorunlarla beraber önlenabilir olmasından dolayı önemli bir araştırma konusu olmuştur. Spina Bifida' dan Anensefali'ye kadar çeşitli kapanma defekti aşamasında incelenen nöral tüp defektlerinin ABD istatistik verilerine göre görülme sıklığı 1/1000 oranındadır (Selçuki vd., 2008). “Türkiye’de Konjenital Malformasyon Sıklığı, Dağılımı, Risk Faktörleri ve Yeni doğanların Antropometrik Değerlendirmesi Arastırması-1993”sonucunda Türkiye’de görülme sıklığının 3/1000 oranında olduğu tespit edilmiştir ve araştırmaya göre nöral tüp defektlerinin ülkemizde sıkça karşılaşılan konjenital anomalilerden olduğu belirtilmiştir (Tunçbilek vd., 1996). Yine de Nöral tüp defektlerinin günümüzde azalma göstermesinin yanı sıra yenidoğanlarda en sık görülen konjenital anomaliler arasındadır. Disabilite, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları, iskelet bozuklukları, böbrek anomalileri, beslenme intoleransları yaşam kalitesini olumsuz etkileyen faktörler arasındadır. Ebeveynlerinde nöral tüp defekti olanlar, önceki çocukta nöral tüp defekti olanlar, folik asit eksikliği olanlar,, sosyoekonomik düzeyi düşük olanlar, annenin kullandığı karbamezepin, valproat gibi antiepileptikler, annede kötü kontrollü diyabetes mellitus, gestasyonel hipertermi, ateş, sosyoekonomik durumun düşük olması nöral tüp defektinin sıklığını etkilemektedir (Özcan, 2019).

Başlıca nöral tüp defekti modelleme yöntemleri arasında; memeliler, kanatlılar, amfibi hayvanlar ve bilgisayar modellemeleri yer almaktadır. Bu modellerin birbirlerine göre olumlu ve olumsuz yönleri vardır vardır. Rat ve tavşan gibi memeli modeller daha komplike ve uzun soluklu bir çalışma gerektirirken, kanatlılar ve amfibilerle çalışmak daha basit ve pratiktir. Erken dönem tavuk embriyosu modeli de memelilerin embriyonel gelişimin ilk ayıyla benzerlik gösteren ve kimyasal ajanların embriyonel gelişimin üzerinde etkilerinin incelendiği ideal bir modeldir (Selçuki vd., 2008).

Nöral tüp defektinin oluşum biçimini anlamak için nörolasyon sürecinin tüm basamakları bilinmelidir. Nöral tüpün gelişimi intrinsik ve intrinsik unsurlar tarafından düzenlenmiş multifaktöryel bir süreçtir (Nathalie vd., 2001).

Yüksek vertebralı canlılarda nörolasyon primer ve sekonder safhada gerçekleşir. Primer nörolasyon esnasında yassı olan ektodermal nöral plak, nöral tüpe dönüşür. Bu süreç ard arda gerçekleşen 4 bölümden oluşur. Bunlardan birincisi ektodermin kalınlaşmasıyla nöral plağın oluşumu, ikincisi nöral plağın şekillenmesi, üçüncüsü nöral plağın bükülmesi sonuncusu ise nöral yarığın kapanmasıdır. Kaudal nöroporun kapanmasının ardından kaudal eminensin de kapanmasıyla sekonder nörolasyon görülür. Kaudal eminens, regrese olan primitif streakten köken alan pluripotent hücrelerden oluşur. Bu hücrelerden nöral kord, arka barsağın bir bölümü, kaudal notokord ve somit gelişir. Sonraki süreçte mezenşimal kord, epitelyal korda dönüşür ve primer nöral tüple birleşerek spinal kordun kalan sakral ve koksigeal segmentlerini oluşturur. Nöral tüpün gelişimi üzerine araştırma yapılan ve bu araştırmada erken dönem tavuk embriyo modelinin tercih edildiği çok fazla çalışma vardır (Yerby, 2003; Ertekin vd., 2019; Dady ve Duband, 2017; Mete vd., 2016). Tavuk embriyosunun gelişim sürecinde ilk 48 saat memeli omurgasının embriyonik gelişiminin ilk ayıyla benzerlik gösterir. Bu nedenle erken dönem tavuk embriyolarının kullanımı nöral tüpte defekte neden olabileceği öngörülen maddeler için oldukça uygundur (Atay vd., 2020; Emon vd., 2015). Birçok çalışmada en fazla kullanılan teratojenik maddelerin nöral tüpte açıklık ve kapalılık durumuna etkisi incelenmiştir (Yıldız ve Akbayrak, 2008; Song vd., 2012). Biz ise sunulan bilgiler ışığında sıklıkla reçete edilen santral ve periferik etkili bir antiemetik olan metoklopramidin nöral tüp gelişimine olumlu veya olumsuz etkilerini araştırıp yapılan benzer çalışmalarla tezimizi desteklemeyi amaçladık. Bu çalışmalarda grup başına yaklaşık 10 adet yumurta kullanılırken bizim çalışmamızda 25 yumurta kullanılmıştır. Kanatlı hayvan yumurtalarının kullanıldığı çalışmalarda maddenin uygun çözücüde çözünmesi önemli bir etkidir. Bu nedenle en uygun steril distile su çözücü olarak kullanılmıştır. Literatür taramalarında da görüldüğü üzere çalışma önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Açar Kaya (2021) 100 adet ve 61 ± 5 gr ağırlıkta olan spf yumurtaya liraglutid enjekte etmiş ve inkübasyona aldığı yumurtaları 48. saatin sonunda açıp embriyoları çıkararak makroskobik, mikroskobik ve histopatolojik olarak değerlendirmiştir. Değerlendirme

sonucunda liragtudin yüksek dozunun embriyoda gelişim geriliğine neden olabileceğini tespit etmiştir.

Çetinkal vd. (2010) erken dönem civciv embriyo modelinde meloksikamın nöral tüpün gelişimi üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, her grupta 25 adet olmak üzere 100 adet olan 65 ± 5 gr ağırlığında SPF yumurtalara 2.2 mg/kg, 5.5 mg/kg ve 11 mg/kg olarak üç farklı dozda meloksikamı embriyonel diskin altına enjekte etmişlerdir. Yüksek doz verildiğinde erken dönem tavuk embriyosunda nöral tüp defekti insidansını arttırdığı ve embriyolojik gelişimi yavaşlattığını saptamışlardır. Düşük dozda kullanımında ise daha geniş denek sayısına ve ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir.

Vatansever vd. (2003) civciv embriyo modeli deneyinde terapötik dozlarda (10 mg/m², 20 mg/m², 40 mg/m²) in ovo olarak metotreksat enjekte etmişlerdir. Çalışmada 40 adet patojen içermeyen (SPF) beyaz Leghorn tipi tavuk embriyosu kullanılmış ve 48-72 saatlik inkübasyondan sonra embriyolarda nöral tüpün kapanması defektlerinin olduğunu saptamışlardır.

Whitsel vd. (2002), antiepileptik olarak kullanılan valproik asitin teratojenik etkilerini incelemeyi amaçlamışlar ve inkübasyonun 24. saatinde embriyonel diskin altına değişik dozlarda enjeksiyon uygulamışlardır, makroskobik olarak büyümede gerileme, göz dokusu ve iskelet sisteminde ait anomaliler tespit etmişlerdir.

Özer vd. (2012) antiepileptik olan levetirasetamı erken dönem tavuk embriyolarını 24 saatlik inkübe ettikten sonra koryoallantoik membran altına enjekte ederek yapılan çalışmada, nöral tüp gelişimine bakılmış ve deney gruplarında embriyonik gelişimin olumsuz olarak etkilenecek nöral tüpün kapanmasında gecikmeler olduğu saptanmıştır.

Lee vd. (1982) erken dönem tavuk embriyolarına farklı dozlarda kafein enjekte etmiş ve 500 µg/ml kafeinin nöral tüp defekti gelişme sıklığını belirgin şekilde arttırdığını tespit etmişlerdir.

Ertekin vd. (2019) çalışmalarında 75 adet SPF yumurtayı her biri 15 yumurtadan oluşan 5 gruba ayırmışlar ve 28 saat süreyle inkübe ettikleri yumurtalara subblastodermik yoldan Non Steroid Antioksidan bir ilaç olan diklofenak sodyumu uygulamışlar, inkübasyon 48

saatin sonuna kadar sürdürülmüş açılan yumurtaların embriyonik membranlarından diseke edilerek yapılan değerlendirme sonucunda embriyoda nöral tüp kusurları tespit etmişler, baş-kıç uzunluğu ve somit sayısını önemli ölçüde azalttığını bunun yanında nöron gelişiminin etkilendiğini göstermiştir.

Şimşek vd. (2012) serum fizyolojik ile dizel egzoz parçacıklarından 10, 50, 100 ve 200 µg/0,1 ml olacak şekilde solüsyonlar hazırlamıştır. Ağırlıkları 65 ± 5 gr arasında olan 5 gruba ayırdığı 120 adet SPF yumurtaya 30 saat sonunda kontrol grubundaki embriyo disklerinin altına serum fizyolojik, diğerlerine dizel egzoz parçacığı solüsyonlarından 0,1'er ml injekte etmişler ve inkübasyonun 72 saatinde çıkarılan embriyoların değerlendirilmesi sonucunda dizel egzoz parçalarının hücrel düzeyde oksidatif stresi arttırarak nöral tüpün kapanmasını engellediğini saptamışlardır.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada antiemetik olarak sıkça kullanılan metoklopramid etken maddesi içeren ilacın civciv embriyolarında nöral tüp defektine neden olmadığı tespit edilmiştir. Bakıldığında somit sayısı bakımından istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı. Başkık uzunluğu bakımından ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi. Tüm bunlara dayanarak farklı etken maddesi kullanarak yapılan diğer çoğu çalışmalardan farklı olarak metpamid'in orta ve yüksek dozunun embriyo boyutunda artışa neden olabileceği görüldü. Çalışmanın civciv embriyo modelinde gelişim sürecinin uzatılarak takip edilip aynı maddenin etkileri incelenirse daha nitelikli sonuçlar elde edileceği düşünülmektedir.



6. KAYNAKLAR

- Açar Kaya, H., 2021, Glukagon Benzeri Peptit-1 Analogu Liraglutid'in Civeiv Embriyo Modelinde Nöral Tüp Gelişimi Üzerine Etkisi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 12s, Afyonkarahisar.
- Aksoy, K. (2005). Temel Nöroşirürji (2. cilt), 1. Baskı, Türk Nöroşirürji Derneği Yayınları, Ankara.
- Back, S. A. (2005). Congenital malformations of the central nervous system. In: Avery's Diseases of the Newborn. 8th ed., Eds: Taeusch, H. W., Ballard, R. A., Gleason, C. A., Elsevier, Philadelphia, p: 938-959.
- Becerra, J. E., Khoury, M. J., Cordero, J. F., Ericson, J. D. (1990). Diabetes mellitus during pregnancy and the risks for specific birth defects: a populationbased casecontrol study. *Pediatrics*, 85: 1-9.
- Blencowe, H., Cousens, S., Modell, B., Lawn, J. (2010). Folic acid to reduce neonatal mortality from neural tube disorders. *International Journal of Epidemiology*, 39(suppl. 1): i110-i121.
- Botto, L.D., Moore, C.A., Khoury, M.J., Erickson, J.D. (1999). Neural-Tube Defects, *NEnglJMed*, 341:1509–1519.
- Brunton, L., Knollmann, B., Randa H. (1996). Agents affecting gastrointestinal water flux and motility; emesis and antiemetics; bile acids and pancreatic enzymes. In: Goodman and Gilman's: the pharmacological basis of therapeutics, p: 917-36.
- Bursalı, A., 2010, Erken Dönem Tavuk Embriyosunda Valproik Asit'in Nöral Tüp Gelişimindeki Olumsuz Etkisi Üzerine Folik Asit Etkinliğinin Değerlendirilmesi, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 10s, Manisa.
- Busby, A., Abramsky, L., Dolk, H., Armstrong, B. (2005). Eurocat Folic Acid Working Group. Preventing neural tube defects in Europe: Population based study. *BJM*, 330: 574-574.
- Catala, M. (2008). Embryology applied to neural tube defects. İn: Spina Bifida, Management and Outcome. 1th ed., Eds: Özerk M. M., Cinalli G., Maixner W.J., Springer-Verlag, İtalia, p: 19-42.
- Colas, J.F., Schoenwolf, G.C. (2001). Towards a cellular and molecular understanding of neurulation, *Dev Dyn*, 221:117–145.
- Copp, A. J. and Greene, N. D. (2010). Genetics and development of neural tube defects. *J. Pathol.*, 220 (2): 217-230.

Edwards, M. J., Shiota, K., Smith, M. S. R., Walsh, D. A. (1995). Hyperthermia and birth defects. *Reprod Toxicol*, 9: 425-43.

Ermiş, B. H., Erdoğan, C. (2001). Merkezi Sinir Sistemi Anomaliler. İçinde: Obstetrik Maternal-Fetal tıp & Perinataloji. Eds: Bektaş, M.S., Demir, N., Koç, A., Yüksel, A., MN Medikal ve Noel Tıp Kitapevi, Ankara, s: 283-299.

Gilman, A. G., Goodman, L. S., Rail, T. W., Murad, F. (1991). The pharmacological basis of therapeutics. In: Maxwell Mcmillan International Editions. 8th ed., Permagon Press, New York, p: 928.

Graham, J. M., Edwards, M. J. (1998). Teratogen update: gestational effects of maternal hyperthermia due to febrile illnesses and resultant patterns of defects in humans. *Teratology*, 58: 209–221.

Greene, N. D., & Copp, A. J. (2014). Neural tube defects. *Annual review of neuroscience*, 37: 221-242.

Güvenç, Y., 2011, Levetirasetamın Erken Dönem Cıvıv Embriyosunda Nöral Tüp Gelişimine Olan Etkisinin Araştırılması, Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi / Nöroşirürji Kliniği, Uzmanlık Tezi, 60s, Ankara.

Hadgraft, J. (1999). Passive enhancement strategies in topical and transdermal drug delivery, *International Journal of Pharmaceutics*, p: 184, 1-6.

Hamburger, V., Hamilton, H.L. (1951). A series of normal stages in the development of the chick embryo, In: *Dev Dyn* (1992), 195:231–272.

Harrington, R. A., Hamilton, C. W., Brogden, R. N., Linkewich, J. A., Romankiewicz, J. A., Hell, R. C. (1983). An updated review of its pharmacological properties and clinical use. *Springer Link*, 25: 451-494.

İnt. Kay. 1, https://tr.wikipedia.org/wiki/Nöral_tüp/, 12.5.2021

İnt. Kay. 2, <https://tr.wikipedia.org/wiki/Notokorda/>, 22.4.2021

Kantar, A. A., 2020, Bulantı Kusma Şikayeti ile Acil Servise Başvuran Hastaların Tedavisinde Metoklopramid Etkinliğinin CYP2D6 Gen Polimorfizmi ile İlişkisi, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 12s, Denizli.

Kayaalp, S.O. (2002). (ed) Metoklopramid ve Benzerleri. İçinde: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Feryal Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. Şti. Ankara. s: 1569-15.

Keşküş, H., 2006, Metoklopramid Premedikasyonunun Vekuronyum ve Mivakuryum ile Sağlanan Nöromüsküler Bloğa Etkisi, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 44s, İstanbul.

Liu, J., Li, Z., Greene, N. D., Li, H., Ren, A. (2017). The recurrence risk of neural tube defects (NTDs) in a population with high prevalence of NTDs in northern China. *Oncotarget*, 8(42): 72577.

McDonnel, R. J., Johnson, Z., Delaney, V., Dack, P. (1999). East Ireland 1980– 94: Epidemiology of neural tube defects. *J Epidemiol Community Health*, 53: 782-788.

Moffat, A.C., Jackson, J. V., Moss, M. S., Widdop, B. (1986). Clarke's Isolation and Identification of Drugs, The Pharmaceutical Press. p: 776-777.

Moore, K.L., Persaud, T., Torchia, M.G. (2019). The Developing Human - Clinically Oriented Embryology ,11th ed., Elsevier, Chennai.

Ommaty, R. (2006). Vademecum + ATC Index, Feryal Matbaası, Ankara, s: 692-693, 882.

O'Rahilly, R., Müller, F. (1987). Developmental Stages in Human Embryos. Carnegie Institution of Washington Publication 637, Washington.

Özbakır, M. O., 2020, 2000-2017 Yılları Arasında Sbü Ankara Suam Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği'nde Tedavi Edilen Nöral Tüp Kapanma Defekti Olan Hastaların Retrospektif İncelenmesi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara Sağlık Uygulama Araştırma Merkezi / Nöroşirurji Kliniği, Uzmanlık Tezi, 47s, Ankara.

Özcan İ. H., 2019, Konjenital Nöral Tüp Defekli Bebeklerin Retrospektif Olarak İncelenmesi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi / Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi / Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, Uzmanlık Tezi, 41s, Erzurum.

Özgür, O., 2012, Erken Tavuk Embriyolarında Levotirasetamın Orta Hat Kapanmasına Etkisi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 3s, Ankara.

Parkman, H. P., Hasler, W. L., Fisher, R. S. (2004). American Gastroenterological Association technical review on the diagnosis and treatment of gastroparesis. In: *Gastroenterology*, 127(5): 1592-622.

Parlak, İ., 2002, Metoklopramidin Akatizi Oluşturma İnsidansı ve Şiddetine Veriliş Yolunun Etkisi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 55s, İzmir.

Petorak, İ. (1984). Medikal Embriyoloji, Beta Yayınları, İstanbul.

Pitre, D., Stradi, R. (1987). Metoclopramide Hydrochloride. In: *Analytical Profiles of Drug Substance*. Ed: Florey, K., Academic Press, San Diego, p: 16, 327-360.

Rakip, U., 2021, Erken Dönem Cıvcıv Embriyolarında Petidin Hidroklorür'ün Nöral Tüp Gelişimi Üzerine Etkisi, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projesi, 8-9s , Afyonkarahisar.

Reynolds, J. E. F. (1993). Martindale; The Extra Pharmacopoeia. 30th ed., The Pharmaceutical Press, London, p: 892-894.

Ronald , J.L. , Joseph, R. (1996). Neuroembryolgy, In: Neurosurgery, Eds: Wilkins, R., Rengachary, S., Hill, M.G., p: 3411–3444.

Sadler, T.W. (1996). Langman Medikal Embriyoloji, 7. Baskı, Ed: Başaklar, C., Palmiye Yayınları, Ankara.

Schoenwolf, G.C., Smith, J.L. (1990). Mechanisms of neurulation: Traditional viewpoint and recent advances, *Development*, 109:243–270.

Schoenwolf, G.C., Bleyl, S., Brauer, P., West, F. (2014). Larsen's Human Embryology, 5th Ed., Churchill Livingstone, New York.

Song, G., Cui, Y., Ji-Han, Z., Fei-Xia, H., Ma, X. (2012). Effects of choline on sodium arsenite-induced neural tube defects in chick embryos, *Food Chem Toxicol*, Beijing, 50:4364–4374.

Şenköylü, N.(2001). Modern Tavuk Üretimi. 3. Baskı, Anadolu Matbaası, İstanbul.

Şimşek, H., 2010, Dizel Egzoz Parçacıklarının Erken Dönem Tavuk Embriyosunda Nöral Tüp Gelişimi Üzerine Etkileri, Gülhane Askeri Tıp Akademisi / Haydarpaşa Eğitim Hastanesi / Beyin ve Sinir Cerrahisi, Uzmanlık Tezi, 83s, İstanbul.

Tomatır, A. G., Kiray, Vural B., Açıkbaz, I. (2014). Registries of cases with neural tube defects in Denizli, Turkey, 2004-2010. *Genet Mol Res*, DOI: 10.4238/2014.Ekim.20.30.

Tunçbilek, E., Boduroğlu, K., Alıkaşıoğlu, M. (1999). Neural tube defects in Turkey: prevalence, distribution and risk factors. *The Turkish Journal of Pediatrics*, 41(3): 299-305.

Tureci, E., Asan, Z., Eser, M., Tanriverdi, T., Alkan, F., & Erdinçler, P. (2011). The effects of valproic acid and levetiracetam on chicken embryos. *Journal of Clinical Neuroscience*, 18(6), 816-820.

Vatansever, H. S., Umur , A. Ş., Inan, V. S., Selçuki, M. (2003). The Effects of Methotrexate on the Development of Neural Tube Defects in the Chick Embryo. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 27(5), 1119-1125.

Yıldız, M., 2017, İkili İlaç Kombinasyonlarının Kemometrik Analizi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 54s, Isparta.