

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**GASTROŞİZİSLİ CİVCİV EMBRİYOLARINDA
İNTRAAMNİYOTİK MEKONYUM İLE OLUŞAN
BARSAK HASARINDA MEKONYUM SU VE YAĞ
FAZLARININ OLUŞAN HASAR ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

OKTAY ULUSOY

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. GÜLCE HAKGÜDER**

İZMİR-2014

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**GASTROŞİZİSLİ CİVCİV EMBRİYOLARINDA
İNTRAAMNİYOTİK MEKONYUM İLE OLUŞAN
BARSAK HASARINDA MEKONYUM SU VE YAĞ
FAZLARININ OLUŞAN HASAR ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

OKTAY ULUSOY

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. GÜLCE HAKGÜDER**

İZMİR-2014

TEŐEKKÜR

Tıpta uzmanlık eğitime başladığım ilk günden itibaren desteğini gördüğüm ve tez çalışması süresince rehberlik aldığım başta değerli danışmanım Prof.Dr. Gülce Hakgüder'e, değerli hocalarım Prof.Dr. Feza Akgür'e, Prof.Dr. Mustafa Olguner'e, Doç.Dr. Oğuz Ateş'e, Öğr.Gör.Uzm.Dr. Osman Z. Karakuş'a ve bu çalışmanın yapılmasında teknik bilgi ve deneyimini esirgemeyerek yardımcı olan Prof.Dr. Edener Özer'e teşekkürlerimi sunarım. Biricik eşim ve hayatıma anlam katan çocuklarıma, her zaman yanımda olan annem, babam, ablam ve Ayhan abime sonsuz teşekkürler...

Oktay ULUSOY

<u>İÇİNDEKİLER</u>	Sayfa No
TABLOLAR DİZİNİ	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ii
GRAFİKLER DİZİNİ	iii
RESİMLER DİZİNİ	iii
KISALTMALAR DİZİNİ	iv
ÖZET	1
ABSTRACT	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ	5
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. Embriyoloji	7
2.1.1. Ventral Karın Duvarı Embriyolojisi	7
2.1.2. Gastroşiziste Embriyolojik Hipotezler: Patogenez.....	13
2.2. Etiyoloji	14
2.3. Epidemiyoloji	14
2.4. Klinik.....	15
2.5. Eşlik Eden Doğumsal Anomaliler	15
2.6. Antenatal Tanı ve Yaklaşım.....	15
2.7. Antenatal Tedavi.....	16
2.8. Postnatal Tedavi	17
2.9. Cerrahi Tedavi	18
2.10. Postoperatif Dönemde Karşılaşılan Sorunlar	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
4. BULGULAR	23
5. TARTIŞMA	27
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	31
7. KAYNAKLAR	32
8. EKLER	40

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: Grupların barsak seroza kalınlık ölçümlerinin ortalamaları

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Gestasyonun 16-17. günlerinde sarı kese embriyo ve amnion boşluğundan daha geniştir. Erken embriyogenezde ventral duvar gelişimi kranial, kaudal ve iki lateral katlantının oluşumuyla başlamaktadır.

Şekil 2. Gestasyonun yaklaşık 20. gününde amnion sarı kesenin sapını daraltacak şekilde embriyoyu sarmaya başlar. Omfalomezenterik (vitellin) damarlar sarı kesenin sapı içerisindedir.

Şekil 3. Gestasyonun 16-17. günlerinde, ventral katlanmayla birbirinden ayrı iki yapı olan sarı kese ve beden sapı oluşur

Şekil 4. Gestasyonun 26-27. günlerde sarı kese, bağlantıyı sağlayan saptan daha dardır. Beden ve sarı kese sapları birbirinden ayrı iki yapıdır. Giderek daralan sarı kesenin sapı vitellin kanal adını alır.

Şekil 5. Gestasyonel 5. haftanın başında vitellin kanalla sarı keseye bağlanan barsak tüpü uzamaya başlar. Gestasyonun 5. haftasında sarı kese ve beden sapı birleşmeye başlar.

Şekil 6. Gestasyonun 37. gününde sarı kese ve beden sapının birleşmesi tamamlanır. Bazen bu birleşme sonrası orta barsak vitellin kanala bağlı kalır. Vitellin kanal umbilikal sap içerisinde kalır.

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. Deney gruplarında serozal kalınlıkların karşılaştırması

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Kontrol grubuna ait histopatolojik görünüm (serozal kalınlık $7,47 \pm 0,68$) (H&E 40x).

Resim 2. Sham grubuna ait histopatolojik görünüm (serozal kalınlık $8,48 \pm 0,70$) (H&E 40x).

Resim 3. Mekonyum su fazının 1/400 konsantrasyonda uygulanması ile elde edilen preparata ait histopatolojik görünüm (serozal kalınlık $14,15 \pm 0,90$) (H&E 40x).

Resim 4. Mekonyum yağ fazının 1/400 konsantrasyonda uygulanması ile elde edilen preparata ait histopatolojik görünüm (serozal kalınlık $23,88 \pm 1,69$) (H&E 40x).

Resim 5. Mekonyumun 1/400 konsantrasyonda uygulanması ile elde edilen preparata ait histopatolojik görünüm (serozal kalınlık $36,36 \pm 2,80$) (H&E 40x).

KISALTMALAR DİZİNİ

ADD1 : Alfa-adducin 1 gene

AEBP1 : Adipocyte enhancer binding protein 1

AS : Amnion sıvısı

ICAM1 : Inter-cellular adhesion molecule 1

MA : Mezenterik arter

NOS3 : Nitrik oksit sentaz 3

NPPA : Natriuretic peptid precursor A

SMA : Süperior mezenterik arter

ÖZET

GASTROŞİZİSLİ CİVCİV EMBRİYOLARINDA İNTRAAMNİYOTİK MEKONYUM İLE OLUŞAN BARSAK HASARINDA MEKONYUM SU VE YAĞ FAZLARININ OLUŞAN HASAR ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Oktay Ulusoy

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, İzmir

Giriş ve Amaç: İntrauterin dönemde umblikusun lateralinde yer alan bir defekttten barsakların dışarı çıkması ve gelişimini karın duvarı dışında tamamlaması gastroşizis olarak tanımlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda gastroşiziste amniyon sıvısı (AS) ile temas eden barsaklarda hasar oluştuğu gösterilmiştir. AS içerisindeki hangi madde ya da maddelerin barsak hasarına yol açtığı araştırılmıştır. Hayvan deneylerinde fetusun AS içerisine fizyolojik olarak mekonyum çıkardığı ve gastroşizisteki barsak hasarından mekonyumun sorumlu olduğu bulunmuştur. Daha sonra, mekonyumun barsaklarda hasar oluşması için bir eşik değeri olduğu, mekonyum konsantrasyonunun 1/400'den daha fazla olduğu durumlarda barsak hasarı oluşturduğu gösterilmiştir.

Mekonyumun içeriğindeki hangi madde ya da maddelerin barsak üzerine direk hasar verdiği halen araştırılmaktadır. Bu nedenle, mekonyumun su ve yağ fazlarına ayrılarak her bir fazın ayrı ayrı barsak hasarı üzerine etkilerini saptamak amacı ile bu çalışma planlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada deney hayvanı olarak 13 günlük, embriyolu tavuk yumurtaları (*Gallus Domesticus*) kullanıldı. Çalışmada kontrol, sham, mekonyum, mekonyum su fazı, mekonyum yağ fazı olmak üzere 5 grup oluşturuldu. Döllenmenin 13. gününde yumurta kabuğu hava kesesi bölgesinden açıldı. Amniyo-allantoik sıvı tekrar geri verilmek üzere aspire edilip abdominal duvarda defekt yapılarak gastroşizis oluşturuldu. Mekonyumun fraksiyone edilmesiyle mekonyum su ve yağ fazlarına ayrıldı. Mekonyum, mekonyum yağ fazı ve mekonyum su fazı 1/400 konsantrasyonda amniyon sıvısı içine uygulandı. Histopatolojik incelemeye alınan barsak örneklerindeki hasar derecesi anti-mezenterik taraftaki duvar kalınlıkları ölçülerek değerlendirildi.

İstatistiksel yöntem olarak, gruplar arasındaki farklılıklar ise Kruskal- Wallis varyans analizi ve onu izleyen Mann-Whittney U yöntemleri kullanılarak değerlendirildi. İstatistiksel olarak $p<0.05$ anlamlı kabul edildi.

Bulgular: İncelemeye alınan tüm gruplarda 10'ar embriyo elde edildi. Alınan barsak örnekleri tek-kör iki patolog tarafından histopatolojik olarak incelenerek ölçümler yapıldı. Kontrol grubu ile sham grubunun incelemesinde histopatolojik düzeyde barsak seroza görünümünde belirgin bir enflamasyon ya da kalınlaşma izlenmedi. Yağ fazında su fazına oranla daha fazla enflamasyon, fibrin ve kollajen birikimi izlendi. Enflamasyon, fokal fibrin ve kollajen birikimi en fazla mekonyum grubunda görüldü.

Kontrol grubu Sham grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmazken ($p>0.05$), diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$). Yağ fazı grubu su fazı grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.05$). Mekonyum grubu diğer tüm gruplarla karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.05$).

Sonuç: Bu çalışmada, mekonyumun yağ fazı ile oluşan barsak hasarının su fazı ile oluşan hasardan daha fazla olduğu gösterilmiştir. Mekonyum ile oluşan hasar ise mekonyumun fraksiyone edilmiş diğer iki fazına oranla daha fazladır. Bulgular mekonyum ile oluşan hasarda su ve yağ fazının birbiri üzerine additif etki göstererek hasar oluşumunu arttırdığını göstermektedir. Bu da, mekonyumun hem yağ fazı hem de su fazında farklı biyokimyasal moleküllerin barsakta hasar oluşumunda ortak rol oynadığını düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Gastroşizis, Amniyon sıvısı, mekonyum, mekonyum yağ ve su fazı

ABSTRACT

THE EFFECTS OF WATER AND LIPID SOLUBLE COMPONENTS OF MECONIUM ON THE BOWELS OF EMBRYOS WITH GASTROSCHISIS

Oktay Ulusoy

Dokuz Eylül University, School of Medicine, Department of Pediatric Surgery, Izmir

Introduction and Aim: Gastroschisis is a defect of the anterior abdominal wall just lateral to the umbilicus where the intestines stay out of the abdominal cavity through out the pregnancy. Previous studies have shown that, contact with amniotic fluid (AF) causes serosal damage on the intestines of the gastroschisis fetus. What substance(s) lead to intestinal damage in AF have been investigated. It has been shown that, meconium which is physiologically present in the AF is responsible for he intestinal damage in gastroschisis. Experimentally it has been shown that, there is a threshold of meconium concentration in the AF to induce intestinal damage. At concentrations above this threshold (1/400) intraamniotic meconium induce damage.

Studies investigating which substances within the meconium directly lead to intestinal damage are still being conducted. Therefore, in this study we separated the water and lipid soluble components in order to investigate their respective roles on intestinal damage.

Materials and Methods In this study, thirteen day old fertilized chick embryos (*Gallus Domesticus*) were used. The chicks were divided into the following five groups: control, sham, meconium, water soluble components of meconium and lipid soluble components of meconium. On the thirteenth day of fertilization, the eggshell was opened through the air sac region. After aspiration of the amnio-allantoic fluids, a defect was made in the abdominal wall to create gastroschisis. Meconium was fractionated into water and lipid soluble components. Meconium, water soluble components of meconium and lipid soluble components

of meconium were added to the amniotic fluid in concentrations of 1/400, according to the experimental groups. On the eighteenth day of fertilization, live embryos were removed from their eggshells. The degree of intestinal damage was evaluated from the antimesenteric region the intestinal walls.

Kruskall-Wallis analysis of variance and the Mann-Whittney U test were used for statistical analysis. P values <0.05 were considered statistically significant.

Results: Ten embryos from each of the five groups were analyzed. The histopathological evaluation was conducted by two pathologists using the one blind study method. Neither inflammation nor increased thickness of the intestinal serosa were observed in both the control and the sham groups. There was more inflammation, fibrin and collagen formation were observed in the lipid soluble group when compared with the water soluble group. Levels of inflammation, fibrin and collagen formation were greatest in the meconium group.

There was no significant difference between the control and sham groups ($p>0.05$); however when the control and sham groups were compared with the other groups, there was a statistically significant difference ($p<0.05$). Comparison between the lipid soluble and water soluble groups showed a statistically significant difference ($p<0.05$). Comparison between the meconium group and all other groups showed a statistically significant difference ($p<0.05$).

Conclusion: This study shows that the lipid soluble components of meconium caused significantly more damage than the water soluble components of meconium. However, damage due to unfractionated meconium was much greater than damage due to lipid and water soluble components alone. We can assume that, there is an additive effect between the lipid and water soluble components on the degree of intestinal damage. These results thus bring to light the idea that different molecules within the water and lipid soluble components of meconium could play a similar role in intestinal damage.

Key words: Gastroschisis, amniotic fluid, meconium, water and lipid soluble components of meconium

1. GİRİŞ VE AMAC

Intrauterin dönemde umblikusun lateralinde yer alan bir defektten barsakların dışarı çıkması ve gelişimini karın duvarı dışında tamamlaması gastroşizis olarak tanımlanmaktadır. Barsakların intrauterin dönemde karın dışında gelişmesi nedeniyle genellikle kısa, kalın duvarlı ve üzeri fibrinle kaplı olduğu görülmektedir. (1, 2, 4). Bu histopatolojik değişikliklerin tedavide karın duvarının kapatılmasında zorluk, malabsorbsiyon, hipoperistaltizm, nekrotizan enterokolit ve yenidoğanın kaybedilmesi gibi çeşitli klinik durumlara sebep olduğu düşünülmektedir (1-6).

Yapılan çalışmalarda gastroşiziste amniyon sıvısı (AS) ile temas eden barsaklarda hasar olduğu gösterilmiştir (3-5). AS içerisindeki hangi madde ya da maddelerin barsak hasarına yol açtığı araştırılmış ve yapılan hayvan deneylerinde fetusun AS içerisine fizyolojik olarak mekonyum çıkardığı saptanmıştır (3-5). Gastroşizisteki barsak hasarından AS içerisine çıkarılan mekonyumun sorumlu olduğu bulunmuştur (3-5, 7). Cıvciv embriyosu-gastroşizis modeli ile yapılan bir çalışmada mekonyumun barsaklarda hasar oluşması için bir eşik değeri olduğu, mekonyum konsantrasyonu 1/400'den daha fazla olduğu durumlarda barsak hasarı oluşturduğu gösterilmiştir (5). Ancak, mekonyumun belli bir konsantrasyonun üzerinde hangi mekanizma ile hasar yaptığı hala bir inceleme konusudur.

Gastroşizis de barsaklar umbilikus lateralindeki dar bir defektten çıkmaktadır. Barsaklar defektten geçerken sıkıştığı ve oluşan dolaşım bozukluğuna bağlı iskeminin barsak hasarına neden olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle barsakların karın dışına çıktığı defektin boyutu ile oluşan hasar arasındaki ilişki araştırılmış, ancak hasar ile defektin boyutu arasında bir ilişki bulunamamıştır (8). Yapılan Doppler akım çalışmalarında, gastroşizisli fetüslerde defektten çıkan superior mezenterik arter (SMA) segmentinde doğum öncesinde pulsatil indekste azalma olduğu gösterilmiştir (9). Volumen ve ark. gastroşizisli fetuslarda karın dışında kalan ve AS ile temas eden SMA akımında amniyotik keseye serum fizyolojik infüzyonu yapıldığında diastol sırasında anlamlı düzelme olduğunu göstermişlerdir. Karın içinde kalan SMA segmentinde ise bir fark gözlenmemiştir. AS içine verilen serum fizyolojik infüzyonunun SMA akımını düzenleyerek

barsaklar üzerine yararlı etki gösterdiğini ileri sürülmüştür (10). Ancak SMA akımındaki değişikliklere hangi olayın sebep olduğu henüz bilinmemektedir.

Mekonyum ile boyalı AS bulunan fetüslerde, mekonyum temasının umbilikal damarlarda nekroz geliştirdiği bilinmektedir (7). Yapılan in-vitro bir çalışmada mekonyumun izole insan umbilikal ven kesitlerinde kontraksiyona neden olduğu saptanmıştır (11). Doppler akım çalışmalarında, mekonyumun gastroşizisli fetüslerin umbilikal kordda vazokonstrüksiyon yaptığı ve bunun sonucunda da serebral ve fetal hipoperfüzyon gelişebileceği öne sürülmüştür (12, 13).

Mekonyumun direk temas ve vazokonstrüksiyon ile karmaşık bir şekilde barsak hasarına neden olduğu düşünüldüğünde, bu etkiyi oluşturan asıl komponentin hangisi olduğu sorusu akla gelmektedir.

Mekonyumun içeriğindeki hangi madde ya da maddelerin barsak üzerine direk hasar verdiği bilinmemektedir. Mekonyumun su ve yağ fazlarına ayrılarak her bir fazın ayrı ayrı barsak hasarı üzerine etkilerini saptamak amacı ile bir çalışma planlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

Karın duvarı defektleri ilk defa birinci yüzyılda Aulus Cornelius Celsus tarafından tarif edilmiştir. Omfalosel 1634'te Pare tarafından tanımlanmış olup, aynı dönemde Lycosthenes ilk kez gastroşizisi tanımlamıştır. 1894 yılında Taruffi term gastroşizisi bildirmiştir. Gastroşizis, omfalosel, ekstremit-vücut duvarı kompleksi, kalp ektopisi, kloakal ekstrofi ve Cantrell pentalojisi aralarında farklılıklar gösteren bir grup karın ön duvarı defektleridir. Rüptüre omfalosel ilk defa 1873'te Visik tarafından kapatılmıştır. 19. yüzyılın sonlarına doğru kullanılmaya başlayan "gastroşizis" terimi "gaster" (karın) ve "schisis" (yarık) kelimelerinden oluşmaktadır. Izant 1966'da gastroşiziste karın boşluğunu genişletmek için karın duvarını çekmeyi bulmuştur. Silo yöntemi ise ilk defa 1967'de ise Schuster tarafından uygulanmıştır. Parantral beslenmenin yaygın kullanılmaya başlaması ile mortalite ve morbidite de belirgin azalma olmuştur.

Bazı klinik ve epidemiyolojik bulgular gastroşizisi diğer karın duvarı defektlerinden ayırır. Diğerlerinden farklı olarak gastroşiziste umbilikal kordun lateralinde, 4 cm den küçük, çoğunlukla umbilikal korddan normal deri dokusu ile ayrılan, tam tabaka bir karın duvarı defekti bulunur. Defekt, çoğunlukla umbilikusun sağında olup, defektin umbilikal kordun solunda yer aldığı olgular da yayınlanmıştır (14-16). Bu anomalide en sık mide ve barsaklar bazen de gonadlar defektten karın dışına çıkar. Barsaklar omfaloseldeki gibi bir membran ile çevrili olmadıklarından AS içerisinde yüzerler. Temas süresi ile doğru orantılı olarak barsak duvarında ödem, kalınlaşma, fibrin birikimi ve yapışıklıklar oluşur. Omfaloselde ise defekt 4cm den büyük ve umbilikusun bulunması gereken yerdedir. Karın içi organlar bir membranla örtülüdür ve AS ile temas etmezler.

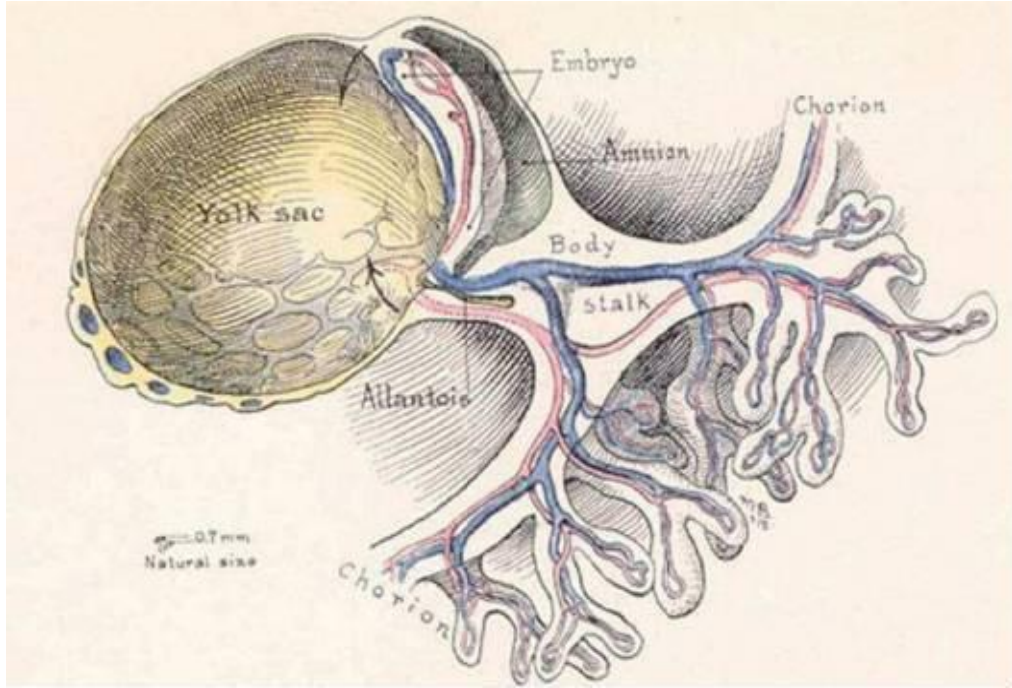
2.1. Embriyoloji

2.1.1. Ventral Karın Duvarı Embriyolojisi

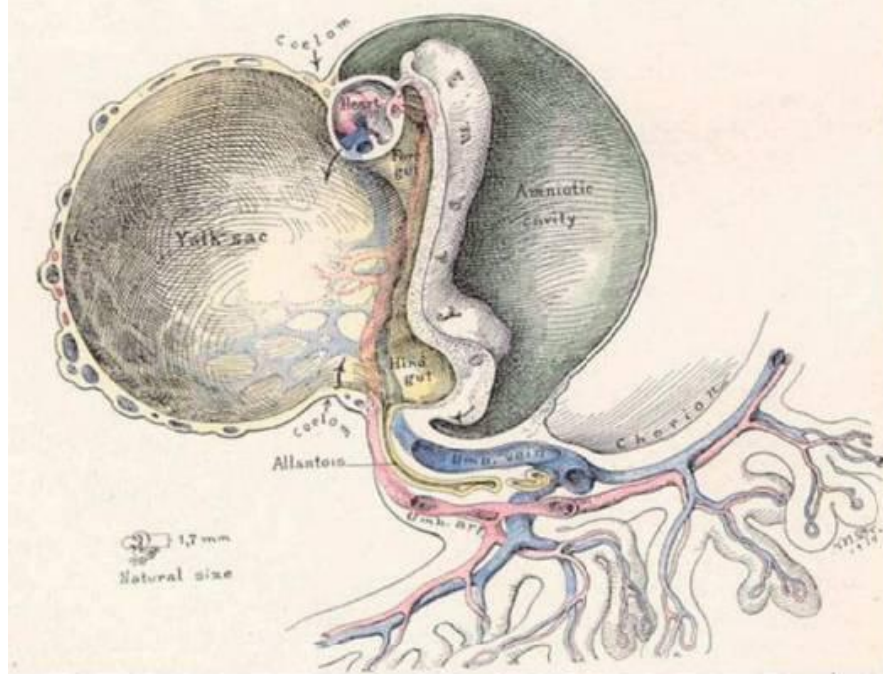
Embriyo Gelişimin 3. haftasında disk görünümündedir. Embriyonal disk 3 tabakadan oluşur. Ektoderm dorsalde amniyotik kese ile devam ederken, endoderm ventralde sarı kese devam eder. İki tabaka arasından mezoderm gelişir (Şekil 1). Bu aşamada ektodermde daha sonra nöral tüpü oluşturacak olan nöral

katlantılar belirir. Periferde mezoderm, amniyotik keseyi ve sarı keseyi birbirinden ayıran ekstraembriyonik mezenşim olarak devam eder. Ekstraembriyonik sölom, primitif amniyon zarı ve sarı kesenin birleşim yerinde yoğunlaşan ekstraembriyonik mezenşimden oluşur. Bu yoğunlaşma ve ayrılma, embriyonik mezenşim bölümünde de olur ve intraembriyonik sölom oluşur. Böylece germinal diskin lateral laminaları, embriyonik mezenşimin ektoderm tarafındaki yoğunlaşmasından oluşan dorsal somatik tabaka (somatoplör) ve endoderm tarafındaki yoğunlaşmasından oluşan ventral somatik tabaka (splanknoplör) olmak üzere ikiye ayrılır.

Eş zamanlı olarak gelişimin bu aşamasında ektodermal disk her iki lateral kenardan karın duvarını oluşturmak üzere ventrale doğru katlantı oluşturur (Şekil 2). Bu aşamayı kolaylaştıran faktörler ektodermal ve mezodermal proliferasyondur.

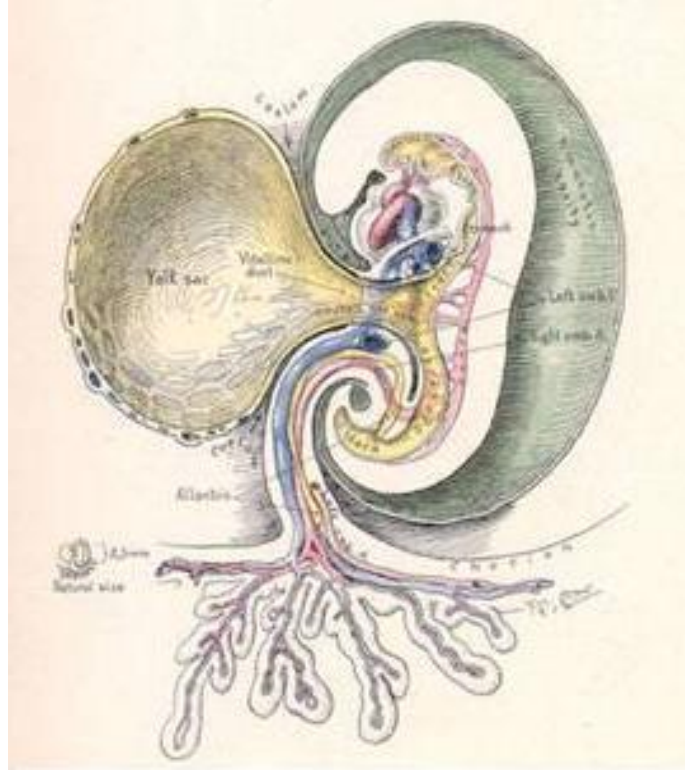


Şekil 1: Gestasyonun 16-17. günlerinde sarı kese embriyo ve amniyon boşluğundan daha geniştir. Erken embriyogenezde ventral duvar gelişimi kranial, kaudal ve iki lateral katlantının oluşumuyla başlamaktadır.



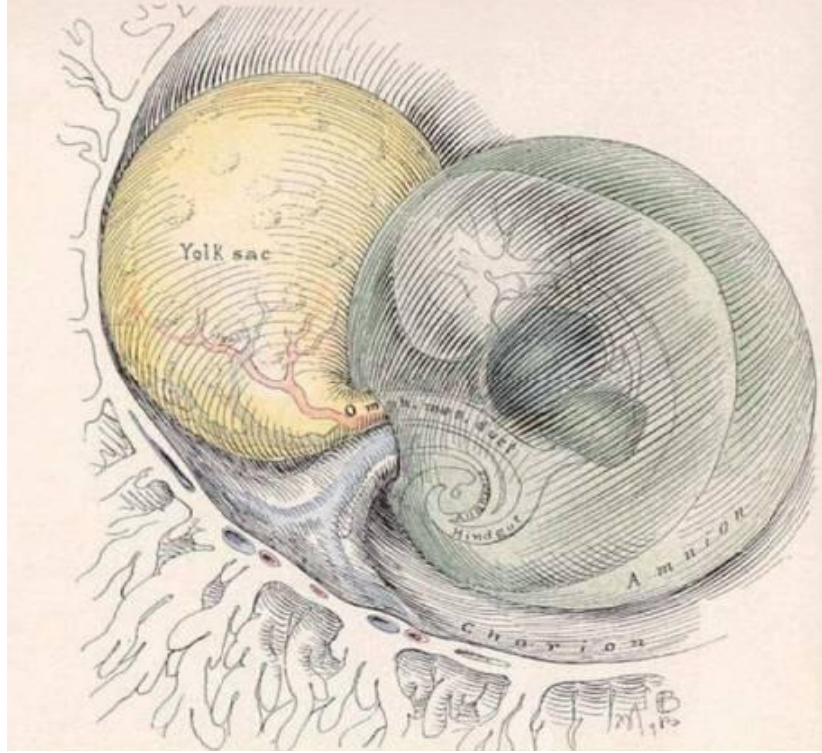
Şekil 2: Gestasyonun yaklaşık 20. gününde amnion sarı kesenin sapını daraltacak şekilde embriyoyu sarmaya başlar. Omfalomezenterik (vitellin) damarlar sarı kesenin sapı içerisindedir.

Ektoderm ventrale doğru hareket ederek kranial, kaudal ve her iki laterale ilerleyerek dört katlantı oluşturur. Anteriorda yer alan kranial (sefalik) katlantıdan ön barsak gelişir ve farinks, özefagus ve mideyi oluşturur. Splanchnik tabaka kalp, büyük damarlar ve ön bağırsağı kapatır. Somatik tabakadan torasik ve epigastrik duvar ve septum transversum oluşur. Kaudal katlantı son barsak ve allantoisi içine alır. Splanchnik tabaka son barsağı örter. Karın alt duvarını oluşturacak olan somatik tabaka allantoisi kapsar. Lateral katlantıların splanchnik ve somatik tabakaları orta bağırsağı örter ve lateral karın duvarını meydana getirir. Bu dört katlantının apeksini ileride oluşacak umbilikal kord oluşturur. Sarı kesenin duvarı ile birlikte bir açıklıktan dışarı uzanan yapı splanchnik tabakadır ve bu açıklık ileride vitellin kanalı oluşturur. Katlantıların somatik tabakaları embriyoyu saran amniyotik kese duvarına uzanır. İntraembriyonik sölom ekstraembriyonik sölom ile bir süre ilişkidir. Daha sonra ekstraembriyonik sölom kaybolur. Karın duvarındaki ventral hareketle, yaklaşık 22-24. günlerde sarı kese ve beden sapı olmak üzere birbirinden bağımsız iki yapı oluşur (Şekil 3). Bu saplar etrafındaki açıklık vitellin kanal ve arterler, allantois ve intra-ekstraembriyonik boşluğu birbirine bağlayan kanaldan oluşan umbilikal halkayı oluşturur (17).



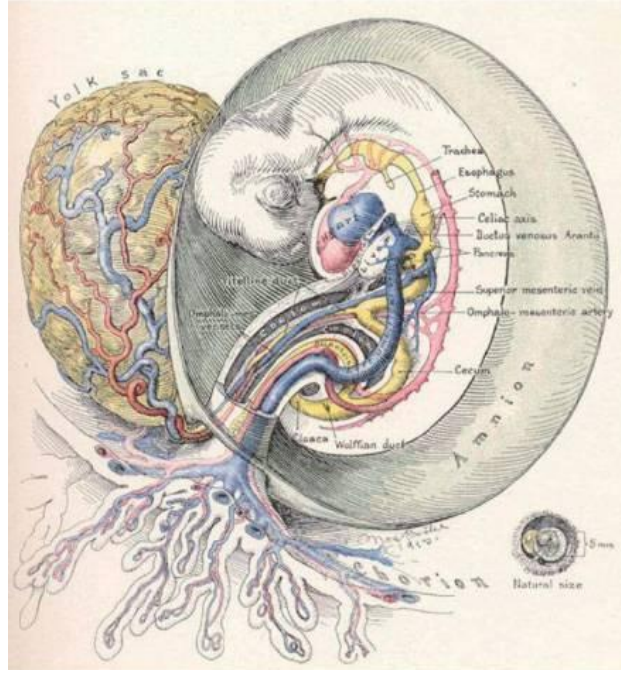
Şekil 3: Gestasyonun 16-17. günlerinde, ventral katlanmayla ayrı iki yapı olan sarı kese ve beden sapı oluşur.

Katlanma evresinin sonucu vitellin kanal daralır ve bağlayıcı sap ile karşı karşıya temas haline geçer. Post-konsepsiyonel 27. günde halen birbirinden ayrı iki yapı olmakla birlikte, vitellin kanalın çapı bağlayıcı saptan daha küçüktür (Şekil 4). Post-konsepsiyonel 5. haftanın başında (yaklaşık 29. günde), sarı keseye vitellin kanal ile bağlanan primer intestinal halkayı oluşturacak barsak tüpü uzamaya başlar. İntestinal halkanın eksenini, bu bölgedeki birçok vitellin arter dalının birleşimiyle oluşan süperior mezenterik arterdir. Yine post-konsepsiyonel beşinci haftada vitellin kanal ve bağlayıcı sap umbilikal kordu oluşturmak üzere oldukça yaklaşır ve birleşme yaklaşık 37. günde tamamlanır (Şekil 5,6). Bu birleşmeden sorumlu etkenler muhtemelen vücut katlantılarının hareketi ve artan amnion sıvısıdır. Aminotik boşluk genişledikçe, amnion sıvısı umbilikal kord ile temas etmeye başlar. Bu aşamada orta barsağın uzaması embriyonun büyümesinden daha hızlıdır ve abdominal kavite hepsini alamaz. 10.haftaya kadar barsakların büyük kısmı umbilikal kordun içinde bulunur. 11. haftada tüm barsaklar karın içine döner. Çekum, epigastrik bölgede yer alır. 12. haftada rotasyon tamamlanarak çekum sağ alt kadrana yerleşir.

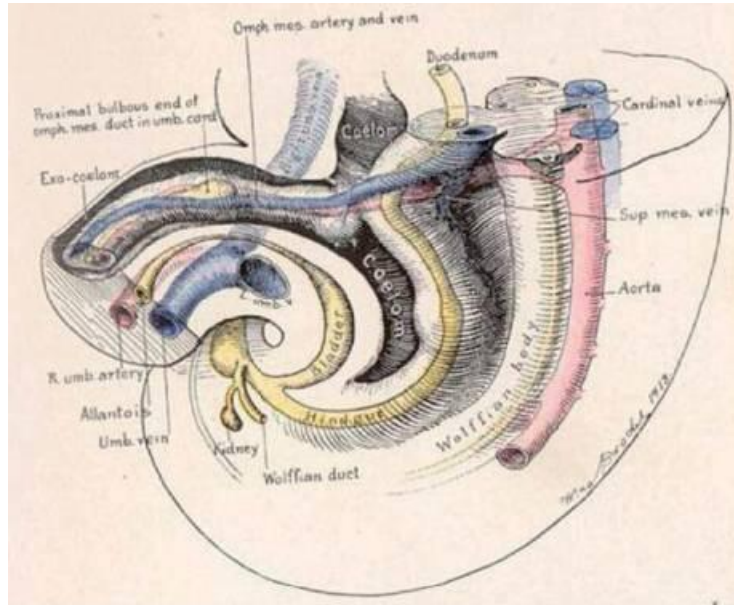


Şekil 4: Postkonsepsiyonel 26-27. günlerde sarı kese, bağlantıyı sağlayan saptan daha dardır. Beden ve sarı kese saptarı birbirinden ayrı iki yapıdır. Giderek daralan sarı kesenin saptı vitellin kanal adını alır.

12. haftadan doğuma kadar herhangi bir dönemde çekum fiksasyonu gerçekleşebilir. Karın ön duvarı defektlerinden gastroşizis ve omfaloselde gelişim karın duvarının dışında olduğundan rotasyonlarını tamamlayamazlar bu yüzden malrotasyon gastroşizis ve omfalosele eşlik eden bir durum olarak karşımıza çıkar. Gelişimin 12. haftasında amniotik boşluğun koryonik boşluğu kapatacak kadar genişlemesiyle amnion ile koryonun birleştiği düşünülür. İki saptın birleşimiyle vitellin kanal proksimalde orta barsak distalde ise sarı keseye bağlı olarak umbilikal kord içine yerleşir. İplik şeklindeki bu kanal barsakla bağlantısını sürdürürken amniotik boşluğun koryona doğru genişlemesiyle oblitere olur. Bazen bu kanal oblitere olmaz ve Meckel divertikülünü oluşturur (18).



Şekil 5: Gestasyonel 5. haftanın başında vitellin kanalla sarı keseye bağlanan barsak tüpü uzamaya başlar. Gestasyonun 5. haftasında sarı kese ve beden sapı birleşmeye başlar.



Şekil 6: Gestasyonun 37. gününde sarı kese ve beden sapının birleşmesi tamamlanır. Bazen bu birleşme sonrası orta barsak vitellin kanala bağlı kalır. Vitellin kanal umbilikal sap içerisinde kalır.

28 günlük embriyoda plasentadan gelen kanı taşıyan, beden sapı ve karın duvarını drene eden sağ ve sol umbilikal venler bulunur. Bu iki ven erken dönemlerde embriyonun sağ lateral kesiminde amniyon ile sarı kesenin birleşim yerindeki kapiller ağdan gelişir. Yaklaşık 28. günde venler hızlı büyüyen somatoplör ve beden sapı birleşim yerinde bulunurlar. Umbilikal venler umbilikal halkada intra ve ekstraembriyonik birleşim yerini belirler. Bu iki büyük venede karın alt duvarı, koryonik villusları ve üst ekstremiteler tomurcuklarını drene eden geniş bir akım vardır. Hepatokardinal venler, intraembriyonik sölomdaki barsağı ve ekstraembriyonik sölomdaki sarı keseyi drene eden sağ ve sol vitellin venden kan alır. Daha ileri dönemde sol umbilikal venin subhepatik kısmı ile ortak kardinal ven arasında kalan kısmı atrofiye uğrar. Sağda ise sağ umbilikal venin tümü ve sağ vitellin ven kaybolur. Böylece yaklaşık 33 günlük bir embriyoda daha önce sağ umbilikal venin bulunduğu beden sapı ve somatoplör arasında birkaç küçük damar ağı kalır. Bu bölgenin beslenmesini daha sonra aortadan çıkacak yan dallar sağlar.

2.1.2. Gastroşiziste Embriyolojik Hipotezler: Patogenez

Karın ön duvarının gelişimi araştırılmakta olup henüz net bir şekilde açıklanamamıştır. Literatürde gastroşizisi açıklayacak beş hipotez yer almaktadır.

- 1- Post-konsepsiyonel dördüncü haftadan sonra teratojen maruziyetine bağlı mezenşimal (somato-plevral) farklılaşma yetersizliği (19).
- 2- Fizyolojik herniasyon evresinde ya da daha geç bir dönemde amniyotik membranın umbilikal kord tabanından yırtılması (20).
- 3- Sağ umbilikal venin anormal devaskularizasyonuna bağlı, paraumbilikal bölgede defekte neden olan mezenşimal gelişim yetersizliği (21).
- 4- Omfalomezenterik arterin kesintiye uğramasıyla umbilikal kord tabanında enfarkt ve nekroz gelişimine bağlı paraumbilikal defekt oluşumu (22).
- 5- Ventral duvar oluşumu sırasında bir ya da daha fazla katlanma aşamasındaki gelişme geriliğine bağlı karın duvarı defekti oluşması ve barsakların fitiklaşması (23).

Bu hipotezler embriyolojik olarak kanıta dayanmakla beraber, mevcut teorilerin hiçbirisi gastroşizis embriyopatogenezini tam olarak açıklayamamaktadır.

2.2. Etiyoloji

Gastroşizis ve omfalosel etiyolojisi üzerine çalışmalar halen sürdürülmektedir. Gebelikte kullanılan bazı vazoaaktif ilaçların gastroşizis oluşumuna neden olduğunu düşünen Torfs ve ark. iki farklı siklooksigenaz inhibitörü olan asetilsalisilik asit ve ibuprofen kullanımının önemli ölçüde riski arttırdığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte dekonjestan sınıfı ilaçlardan psödoefedrin, fenilpropanolamin, oksimetazolin ve efedrinin gastroşizis riskini arttırdığını bulmuşlardır (24).

Alkol, sigara ve uyuşturucu madde (kokain, marijuana vb.) kullanan annelerin bebeklerinde de gastroşizis görülme sıklığının artmış olduğu kaydedilmiştir (25-27).

Torfs ve ark. Kaliforniya'da yapmış oldukları 57 gastroşizis ve 506 sağlıklı yenidoğanı içeren bir çalışmada gastroşizise yatkınlık oluşturan 32 gen polimorfizmi gösterilmiştir (28). Bu genler anjiogenezis, damar bütünlüğü, inflamasyon, yara iyileşmesi, dermal ve epidermal yapılanmadan sorumludur. ICAM1 gly298arg, NOS3 glu298asp, NPPA 2238T>C ve ADD1 gly460trp heterozigot varyantların gastroşizisle bağlantısı olduğu saptanmıştır. NPPA ve ADD1 genlerinde homozigot varyantlar gastroşizis için yüksek risk oluşturmaktadır. Yine bununla birlikte, NOS3, NPPA ve ADD1 gen varyantları taşıyan sigara içen anne bebeklerinin yüksek risk taşıdığını saptamışlardır (28).

Anne beslenmesinin de gastroşizis oluşumunda rolü olduğu düşünülmektedir. Gebelikte düşük vücut kitle indeksi (<22kg/m²) ve annenin yetersiz beslenmesinin (düşük protein ya da çinko alımı) gastroşizisle ilişkisi bildirilmiştir (29-31).

2.3. Epidemiyoloji

Gastroşizisin görülme sıklığı 10.000 canlı doğumda birdir (32-37). Epidemiyolojik veriler, son yıllarda gastroşizis prevalansının arttığını ve genç anne bebeklerinde, özellikle 20 yaşından genç gebeliklerde insidansın arttığını göstermektedir (32-37). Gastroşiziste erkek/kız oranı 1,0 – 1,32'dir (38-41).

2.4. Klinik

Gastroşiziste barsaklar normal lokalizasyonda olan umbilikal kordun sağındaki küçük bir defekttten karın dışına çıkar. Defekt 4 cm'den küçüktür. Nadiren, umbilikal kordun solunda da görülebilmektedir (42-43). Karın duvarı kasları iyi gelişmiştir. Barsakları saran bir kese ya da defekt kenarında kese artığı bulunmaz. Doğumda barsaklar normal görünümdeyken, yaklaşık 20 dakika sonra ödemlenir ve üzerinde fibrin plakları belirir. Barsak segmentleri arasında, bazen segmentlerin ayırt edilmesini zorlaştıran yapışıklıklar görülebilir. Defekt üzerinde, antenatal volvulusa bağlı kapalı bir orta barsak artığı bulunduğu da bildirilmiştir (42, 43). Gastroşizisli bebekler intrauterin dönemde stres altındadır ve sıklıkla preterm doğarlar, doğum sonrası solunum sıkıntısı eşlik eder. Bunun yanında term yenidoğanlar da gestasyonel yaşlarına göre düşük doğum ağırlıklıdır (44-46).

2.5. Eşlik Eden Doğumsal Anomaliler

Gastroşiziste gastrointestinal sistem anomalileri dışında ek anomaliler nadirdir. Omfalosel ve gastroşizis vakalarının hemen hepsinde değişen derecelerde intestinal rotasyon anomalileri vardır. Gastroşizisle birlikte %10-15 oranında intestinal atreziler görülür. Atrezilerin nedeni vasküler hasar ve buna bağlı barsak iskemisidir. Barsağın ve mezenterinin küçük çaplı defekte sıkışmasının iskemiye ve intestinal atreziye yol açtığı öne sürülmüştür. Barsaklar kısa, inflame ve ödemlidir. Barsaklardaki kısalma, eşlik eden anomalilerden çok barsaktaki histopatolojik değişikliklerin sonucunda görülür ve gastroşizisin bir komponenti olmakla birlikte geriye dönebilen bir olaydır. Gastroşizis onarımı yapılmış hastalarda, başka nedenlerle yapılan geç laparotomilerde barsakların uzadığı görülmüştür. Spontan abortus ya da ölü doğan, terminasyon uygulanan, doğumu takiben 24 saat içerisinde ölen gastroşizisli fetuslar atipik perinatal vakalar olarak tanımlanmıştır.

2.6. Antenatal Tanı ve Yaklaşım

Antenatal tanı ve tedavi prognoz açısından çok önemlidir. Ultrasonografinin yaygın kullanımı ile birlikte antenatal tanı konulan gastroşizis olguları artmıştır. Fetusün karın boşluğu antenatal 10. haftadan itibaren ultrasonografide görülebilir.

Barsakların karın boşluğuna dönüşü 12. haftada olduğu için bu haftadan itibaren karın duvarı defektinin varlığı fark edilebilir. Omfaloselde ultrasonografik olarak barsakların üzerinde ekojen bir kese bulunduğu ve kesenin umbilikal kord ile devam ettiği görülürken gastroşiziste barsakların paraumbilikal bir defektten dışarı çıktığı ve AS içinde serbest yüzdüğu görülür. Ultrasonografi defektin çapı ve karın duvar dışında yer alan organlar hakkında bilgi verir. Diğer defektlerin tanınmasında da yardımcıdır. Omfalosel saptanınca diğer anomaliler de araştırılmalı kromozomal anomaliler açısından amniyosentez yapılmalıdır. Gastroşiziste ise amniyosentez gerekli değildir.

Ultrasonografik olarak gastroşizisteki barsak hasarının AS'yla temas süresiyle doğru orantılı olarak arttığı gözlenmiştir (47-57). Antenatal ultrasonografinin barsak hasarı varlığına göre erken doğum veya doğumun beklenmesi kararına yardımcı olabileceği öne sürülmüştür. Karın dışında kalan barsakların ultrasonografik olarak dilatasyon derecesi önemli bir prognostik gösterge olarak kabul edilmekle birlikte bunun sensitivitesi ve spesivitesinin düşük olduğunu bildiren yayınlar da vardır (47-57). Akciğer matürasyonu tamamlandıktan sonra barsakların AS ile uzun süreli temasını önlemek için yapılan elektif sezaryenlerde yaşam şansının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (56). Preterm doğumlardan sonra eklenen sepsis gibi prematürite sorunları nedeniyle günümüzde çok erken doğum önerilmemektedir (58).

2.7. Antenatal Tedavi

Gastroşiziste intraamniotik mekonyumun barsaklar üzerindeki zararlı etkisi intraamniotik mekonyum konsantrasyonu düşürülerek engellenebilmektedir (2,59-61). AS'ndaki mekonyum konsantrasyonunu düşürmek için üç yöntem bulunmaktadır. Yöntemlerden ilki Aktuğ tarafından tanımlanmış olup, AS'nın serum fizyolojik ile değiştirilmesine dayanan amniotik sıvı değişimi "amnio-exchange" olarak bilinmektedir (2,59-61). Değişim sırasında her defasında 50 ml olmak üzere, 8-12 kez AS aspire edilip yerine ılık serum fizyolojik verilmekte ve işlem iki haftada bir tekrarlanmaktadır (59). AS değişim sırasında AS'nın kısmi olarak serum fizyolojik ile değiştirilmesi içerdığı mekonyum miktarını azaltmaktadır. Daha sonra tarif edilen ikinci yöntem ise oligohidramniozu tedavi etmek veya

mekonyum aspirasyon sendromunu engellemek için jinekologlar tarafından kullanılmakta olan yöntemde amniotik boşluğa serum fizyolojik verilmekte ve 'amniyoinfüzyon' olarak adlandırılmaktadır (62-65). Amniyoinfüzyon ise sadece oligohidramniozu olan gastroşizisli olgularda uygulanabilmektedir (62, 64, 65). Oligohidramniozun derecesine göre, gerekli miktarda serum fizyolojik amniotik boşluğa verilmekte ve böylece AS seyrelmekte, mekonyum konsantrasyonu da buna bağlı olarak azalmaktadır. Bu yöntem daha sonra Fransız çocuk cerrahları tarafından oligohidramniozun eşlik ettiği gastroşizis olgularında da uygulanmıştır.

İntraamniotik mekonyum konsantrasyonunu azaltmak amacı ile üçüncü bir yöntem Akgür tarafından tanımlanmış olup, fetal diürezin intramniotik diüretik ile uyarılmasına dayanmaktadır (66). AS hacminin normal olduğu gastroşizisli olgularda AS değişimi uygulanabilmektedir. Deneysel olarak koyunlarda intraamniotik furosemid enjeksiyonunun fetal diürezi uyararak AS hacmini arttırdığı gösterilmiştir (67). Bu çalışmaların ışığında gebe tavşanlarda intraamniotik furosemid enjeksiyonunun intraamniotik maddelerin klirensini arttırdığı gösterilmiştir (66).

Tanımlanan her üç tedavi yönteminde de AS içerisindeki mekonyum konsantrasyonunun azalmasına bağlı olarak gastroşizisli fetüsün barsaklarında hasarlanma en aza inmektedir. Antenatal tedavinin postnatal dönemdeki tedaviyi kolaylaştırdığı ve hastanede kalış süresini önemli ölçüde azalttığı bilinmektedir (62-65).

2.8. Postnatal Tedavi

Tedavinin ilk basamağı gastroşizisli bebeğin üçüncü basamak bir merkeze taşınmasıdır. Antenatal gastroşizis tanısı konulmuş ise doğum, çocuk cerrahisi bölümü olan bir merkezde gerçekleşmelidir.

Gastroşiziste karın dışında bulunan organlardan hızla ısı ve sıvı kaybı olur. Bebek hipovolemi ve hipotermiden korunmalıdır. Yitirilen sıvıyı karşılamak için bebeğe mutlaka damar yolu açılmalı, uygun sıvı-elektrolit tedavisine başlanmalıdır. İdrar çıkışı ve asit-baz dengesi düzeltilmeli ve antibiyotik tedavisine başlanmalıdır. Kusmayı önlemek ve barsakları boşaltmak için nazogastrik sonda takılmalıdır.

Mezenterik basıyı önlemek için bebek sağ yanına yatırılmalıdır. Hipotermiyi önlemek için hasta küvöz ile transport edilmelidir. Bu mümkün değil ise karın dışındaki barsaklar steril bir örtü ile kaplanabilir veya üzerleri steril ılık serum fizyolojik ile ıslatılmış tamponla kapatılabilir. Böylelikle sıvı ve ısı kayıpları azaltılacaktır.

2.9. Cerrahi Tedavi

Bebek uygun şartlar sağlandıktan sonra operasyona alınmalıdır. Gastroşizis onarımında seçilebilecek birkaç tedavi yöntemi vardır. Barsaklar karın içine yerleştirilip defekt primer (fasya da dahil olmak üzere) tam tabaka kapatılabilir. Fasya kapatıldıktan sonra karın içi basıncının (intragastrik veya intravezikal basınç ölçümü ile) 20 cmH₂O'dan az olması ve santral venöz basınçtaki artışın 2-4mmHg'dan fazla olmaması gerekir. Basınç daha fazla ölçülür ise cilt fasyadan ayrılır ve barsakların önüne yalnızca cilt kapatılır. Oluşturulan ventral herni daha sonra onarılır.

Diğer yöntem ise bilateral rektus abdominis kasları medial kenarlarına dikilen silastik silo ile barsakların üzerini örtmektir. Torba üç dört günde bir sütürler aracılığı ile dereceli olarak daraltılarak barsakların karın boşluğu içerisine tamamen yerleşmesi sağlanır ve fasya ile cilt kapatılarak karın duvarı onarılır. İki haftadan uzun sürerse silonun batın duvarından ayrılma olasılığı artmaktadır. Bu yöntemin enfeksiyon riski çok fazladır. Operasyonda barsaklar intestinal atrezi yönünden incelenmelidir. İyi görümlü barsaklarda atrezik segment rezeksiyonu ve primer anastomoz uygulanabilir. Ancak barsak hasarı primer anastomoza izin vermiyorsa daha sonraki dönemde de anastomoz uygulanabilir.

Barsakların ileri derecede birbirine yapışık olduğu durumlarda atrezik veya nekrotik segmentler seçilemeyebilir. Barsaklar arasındaki yapışıklıkların ayrılmaya çalışılması da kanama ve perforasyona neden olabilir. Bu yüzden bazı otörler iki üç hafta total parenteral beslenme uygulanması sonrasında ikinci bir operasyon ile gereken intestinal onarımın yapılmasını önermektedir.

Cerrahi tedavide kullanılan en son yöntemlerden biri Bianchi ve arkadaşlarının uyguladığı, anestezi vermeksizin barsak ve karın dışındaki diğer

organların defekitten karın içine yerleştirilmesidir (68). Bu seride başarılı sonuçlar bildirilmiştir. İntrauterin tedavi yöntemleri barsak hasarlanmasını ve dolayısıyla barsakların hacmini azaltarak redüksiyonu kolaylaştırmaktadır. Böylelikle cerrahi tedavi minimal invaziv yönde ilerlemektedir. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada koyun modelinde gastroşizisin fetoskopik olarak tedavisi tanımlanmıştır ancak henüz deneysel araştırma aşamasındadır (89).

2.10. Postoperatif Dönemde Karşılaşılan Sorunlar

Tedavide en büyük sorun artan karın içi basınçtır. Artan basınç ile yukarı itilen diafragma daha çok karın solunumu yapan yenidoğanın akciğer kompliyansını azaltıp, postoperatif dönemde uzun süreli ventilasyon tedavisi gerektirebilir. Ayrıca hastanın oksijenasyonu bozulduğu için nekrotizan enterokolit gelişme sıklığı yüksektir. Artmış karın içi basınç aynı zamanda vena kava inferiora bası yaparak kalbe dönen kan miktarında azalmaya neden olur ve kalp yetmezliğine zemin hazırlar. Primer onarım sırasında barsaklar karın içine yerleştirilirken damarları basıya uğrar ise nekroz, perforasyon ve fistül gelişebilir. Artan karın içi basıncın anılan komplikasyonlarından korunmak için primer kapatma sırasında mide veya mesane içi basıncı ölçülerek 20 cmH₂O değerinin üstüne çıkmaması bir kriter olarak kullanılır. Postoperatif dönemde ikinci önemli sorun uzamış intestinal disfonksiyondur. Disfonksiyon ve ileus haftalar hatta aylar sürebilir. Bu dönemde hastanın damar içi beslenme sıvıları ile beslenmesi gerekir. Gastroşizis ile doğan bebeklerin mortalite oranları çocuk cerrahisindeki hem teknik hem de donanımsal gelişmeler ve damar içi beslenmenin yaygın kullanılmasıyla azalmıştır. Ancak uzun süreli damar içi beslenme uygulamasının kateter sepsisi, metabolik bozukluk, karaciğer yetmezliği gibi komplikasyonları vardır ve gastroşizisli bebekler için önemli morbidite ve mortalite nedenidir.

Geliştirilen son antenatal tedavi yöntemleri barsakların hasarlanmasını engelleyip bu sorunları en aza indirmeyi amaçlamaktadır. Hasarlanmamış barsakların hacmi çok fazla olmadığı için karın içi basıncın çok fazla artmayacağı ileri sürülmektedir. İntestinal disfonksiyonun daha kısa sürede geri dönmesi ve damar içi beslenme süresinin kısılacağı dolayısıyla damar içi beslenme sıvılarına bağlı komplikasyonların görülme sıklığının azaltılabileceği düşünülmektedir. Böylece morbidite ve mortalitenin olumlu yönde etkilenmesi beklenmektedir.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırma Dokuz Eylül Üniversitesi Deneysel Hayvan Araştırmaları Etik Kurulunun 85/2012 protokol numaralı onayı ile yapıldı.

Dokularının hazırlanması:

Bu çalışmada deney hayvanı olarak 13 günlük, embriyolu tavuk yumurtaları (*Gallus Domesticus*) kullanıldı. Tavuk yumurtalarından 37,5°C ve %80 nem oranında inkubasyonu ile 21 günlük kuluçka süresinden sonra civciv ortaya çıkar. Bu çalışmada mikrocerrahi aletleri ve 10x büyütmeli operasyon mikroskopu kullanılarak döllenmenin 13. gününde yumurta kabuğu hava kesesi bölgesinden açıldı. Amniyo-allantoik sıvı tekrar geri verilmek üzere aspire edilip abdominal duvarda defekt yapılarak gastroşizis oluşturuldu. Uygulama sonrasında yumurtaların açılan kısımları steril film ile kapatılarak inkubatörde 37,5°C de %80 nem oranında muhafaza edildi. Ölen embriyo yumurtaları diğerlerinden ayrılacak ve deney tüm gruplarda 10 canlı embriyo elde edilinceye kadar sürdürüldü. Döllenmenin 18. gününde canlı embriyolar boşaltıldı ve barsak segmentleri 1cm uzunlukta rezeke edilerek %10 luk formol çözeltisi içine konuldu. Histopatolojik incelemeye alınan barsak örneklerindeki hasar derecesi anti-mezenterik taraftaki duvar kalınlıkları 5 farklı noktadan ölçülerek değerlendirildi. Veriler ortalama±1 Standart sapma olarak değerlendirildi. Verilerin değerlendirmesinde SPSS 21 programı kullanıldı.

İstatistiksel yöntem olarak, gruplar arasındaki farklılıklar Kruskal- Wallis varyans analizi ve onu izleyen Mann-Whittney U yöntemleri kullanılarak değerlendirildi. İstatistiksel olarak $p<0.05$ anlamlı kabul edildi.

Mekonyumun su ve yağ fazlarının hazırlanması:

Çalışmada kullanılan steril mekonyum, postgestasyonel 24 saat içerisindeki sağlıklı ve term insan yenidoğanından %1'lik savlon ile yapılan perianal temizlik sonrası elde edildi. 15 yenidoğandan toplanan mekonyum İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı'nda su ve yağ fazı olmak üzere iki faza fraksiyone edildi. Yenidoğan bebeklerden mekonyum elde edilerek

havuzlandı, homojenize edildi, kurutuldu, sterilize edildikten sonra nihai konsantrasyon 110 mg/dl (kuru ağırlık) olacak şekilde steril tuzlu su ile dilüe edildi.

Su fazı elde edilmesi

Mekonyumun su ekstraktı kloroform-metanol'ün 2:1 oranı ile elde edildi. Mekonyumun 1 gr kuru ağırlığına 5 ml steril su ilave edilip, 20 ml kloroform-metanol ile 2:1 oranında karıştırıldı. Karışımın iki faza ayrılmasına izin verecek şekilde, 15,000 rpm' de 15 dakika santrifüj edildi. Üstte oluşan su fazı 10 ml kloroform-metanol ile 2:1 oranında bir kez daha ekstrakte edildi. Su-metanol fazı nitrojen akımı ile kurutulurken, steril tuzlu su ile tekrar çözüldü ve mekonyumun su ekstraktı elde edildi. Mekonyum su ekstraktı distile su ile karıştırılarak 1/400 oranında çözelti elde edildi.

Yağ fazı elde edilmesi

2.5 gr kuru ağırlıktaki mekonyuma 37.5 ml steril su ilave edilerek, 4° C' de bir gece bekletilerek, 15,000 rpm' de 15 dakika santrifüje edildi ve su fazı uzaklaştırıldı. Çökelti steril su ile tekrar yıkanarak ve 15,000 rpm' de 15 dakika tekrar santrifüje edildi. Su fazı bir kez daha ayrılarak ve geride kalan suda çözünmeyen fraksiyon toplandı, 38° C' de tekrar dağıtıldı ve mekonyumun yağ ekstraktı elde edildi. Mekonyum yağ ekstraktı distile su ile karıştırılarak 1/400 oranında çözelti elde edildi.

Alternatif ekstraksiyon yöntemleriyle karşılaştırıldığında yeniden üretilebilirlik ve homojenizasyon açısından en iyi yöntemin bu olduğu gösterilmiştir (81). Mekonyum içeren çözeltiler ve ekstraktlar 10 ml hacimlerde, ve -20 °C' de saklandı ve uygulamadan önce 39 °C'ye kadar yavaşça çözündürülüp homojen şekilde karışması sağlandı.

Dokular beş gruba ayrıldı;

Grup 1: Kontrol grubu (n=10):

Gastroşizis oluşturulmamış ve herhangi bir müdahale uygulanmamış civciv embriyoları içermektedir.

Grup 2: Sham (n=10):

Bu grup gastroşizis oluşturulduktan sonra amniyon sıvısı geri koyulan civciv embriyolarını içermektedir.

Grup 3: Su fazı grubu (n=10):

Gastroşizis oluşturulduktan sonra amniyon sıvısına 1/400 konsantrasyonunda mekonyumun su fazı eklenen civciv embriyolarını içermektedir.

Grup 4: Yağ fazı grubu (n=10):

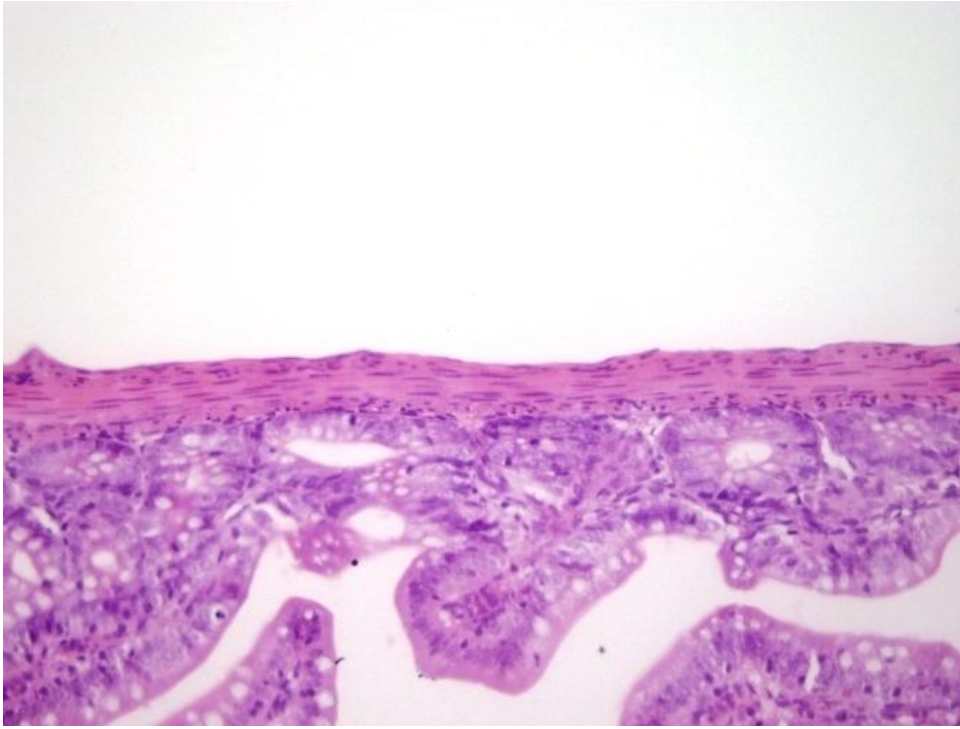
Gastroşizis oluşturulduktan sonra amniyon sıvısına 1/400 konsantrasyonunda mekonyumun yağ fazı uygulanan civciv embriyolarını içermektedir.

Grup 5: Mekonyum grubu (n=10):

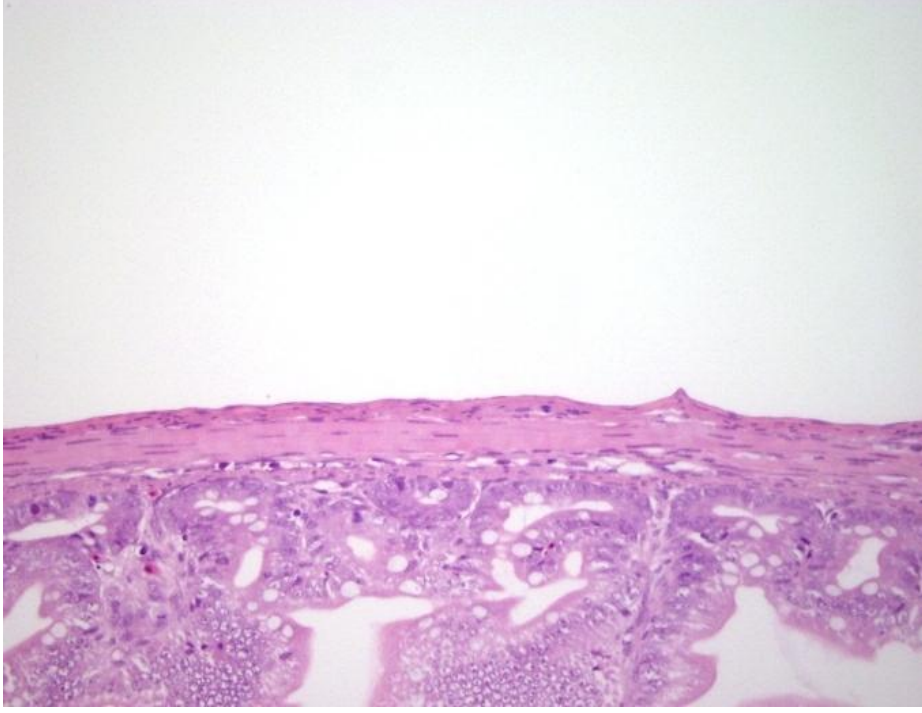
Gastroşizis oluşturulduktan sonra amniyon sıvısına 1/400 konsantrasyonunda mekonyum solüsyonu uygulanan civciv embriyolarını içermektedir.

4.BULGULAR

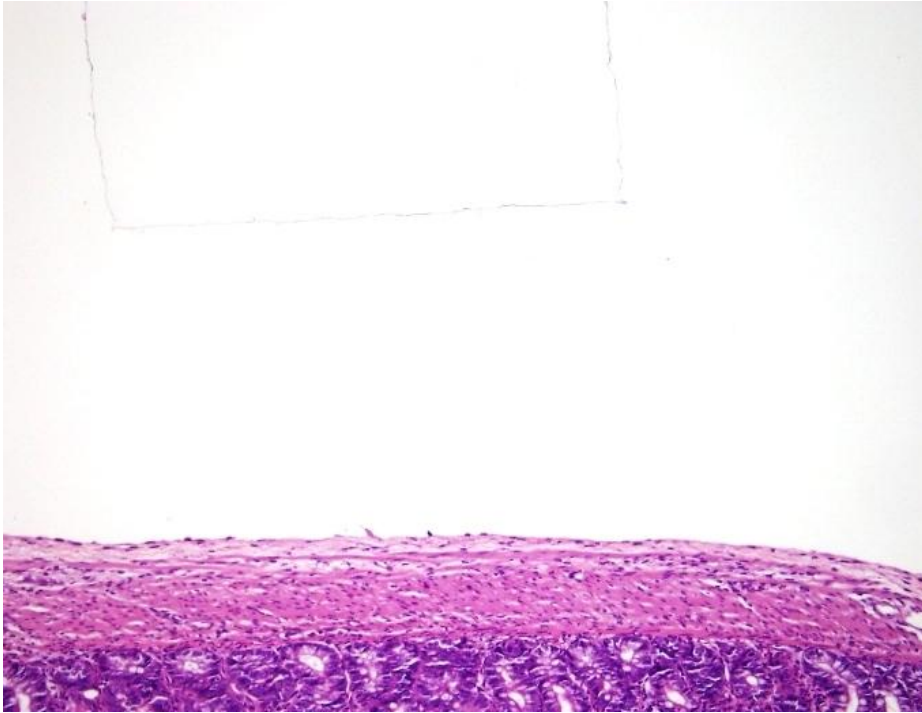
İncelemeye alınan tüm gruplarda 10'ar embriyo elde edildi. Alınan barsak örnekleri tek-kör iki patolog tarafından histopatolojik olarak incelenerek ölçümler yapıldı. Kontrol grubu ile sham grubunun incelemesinde histopatolojik düzeyde barsak seroza görünümünde belirgin bir enflamasyon ya da kalınlaşma izlenmedi (Şekil 1 ve 2). Yağ fazında su fazına oranla daha fazla enflamasyon, fibrin ve kollajen birikimi izlendi (Şekil 3 ve 4). Enflamasyon, fokal fibrin ve kollajen birikimi en fazla mekonyum grubunda görüldü (Şekil 5).



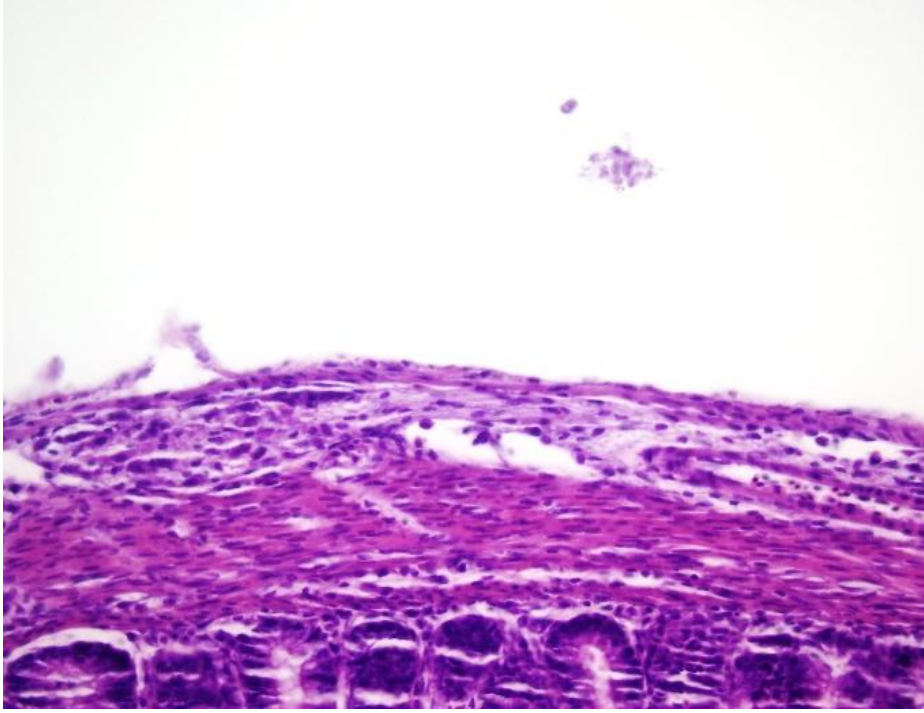
Resim 1: Kontrol grubuna ait histopatolojik görünüm. Normal seroza kalınlığına dikkat ediniz (serozal kalınlık 7.47 ± 0.68) (H&E 40x).



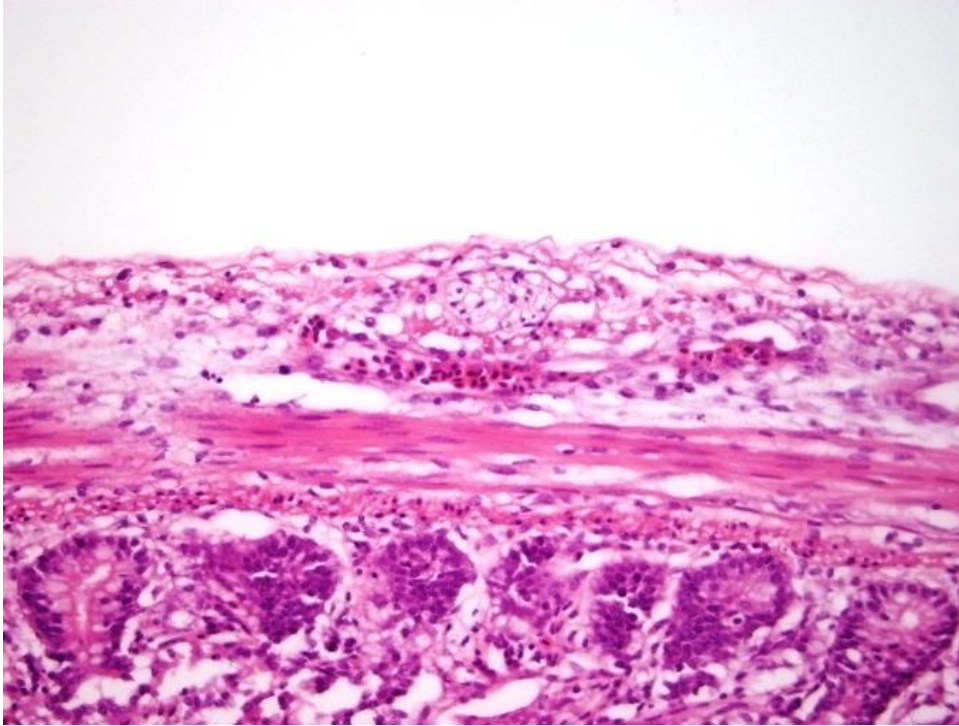
Resim 2: Sham grubuna ait histopatolojik görünüm (serozal kalınlık 8.48 ± 0.70) (H&E 40x)



Resim 3: Mekonyum su fazının 1/400 konsantrasyonda uygulanması ile elde edilen preparata ait histopatolojik görünüm. Serozal kalınlaşmaya ve enflamasyonda artışa dikkat ediniz (serozal kalınlık 14.15 ± 0.90) (H&E 40x).



Resim 4: Mekonyumun yağ fazının 1/400 konsantrasyonda uygulanması ile elde edilen preparata ait histopatolojik görünüm. Serozal kalınlaşmaya ve enflamasyona dikkat ediniz. (serozal kalınlık 23.88 ± 1.69) (H&E 40x).



Resim 5: Mekonyumun 1/400 konsantrasyonda uygulanması ile elde edilen preparata ait histopatolojik görünüm. Serozal kalınlaşmaya dikkat ediniz (serozal kalınlık 36.36 ± 2.80) (H&E 40x)

Kontrol grubu Sham grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmazken ($p>0.05$), diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$). Yağ fazı grubu su fazı grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.05$). Mekonyum grubu diğer tüm gruplarla karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.05$) (Grafik 1). Gruplara ait ölçüm sonuçları tabloda gösterilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1: Grupların barsak seroza kalınlık ölçümlerinin ortalamaları

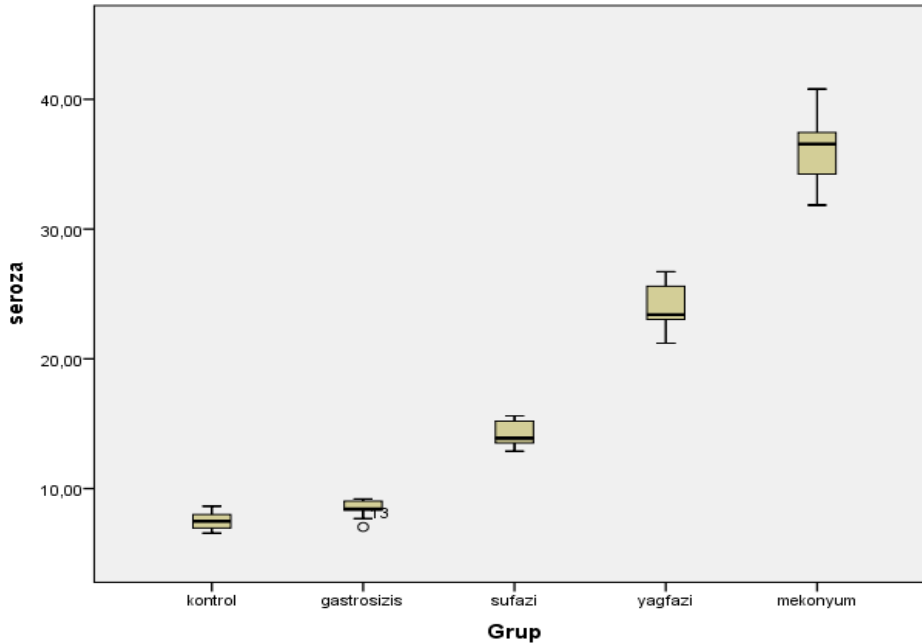
	Serozal kalınlık (μm)
Grup1: Kontrol grubu (N=10)	7,47 \pm 0,68 *
Grup2: Sham grubu (N=10)	8.48 \pm 0.70 ‡
Grup3: Su fazı grubu (N=10)	14.15 \pm 0.90
Grup4: Yağ fazı grubu (N=10)	23.88 \pm 1.69 †
Grup5: mekonyum grubu (N=10)	36.36 \pm 2.80 **

* $p<0.05$ Su fazı, yağ fazı ve mekonyum grupları ile karşılaştırıldığında

† $p<0.05$ Su fazı ile karşılaştırıldığında

** $p<0.05$ Diğer gruplarla karşılaştırıldığında

‡ $p>0.05$ Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında



Grafik 1: Serozal kalınlıkların karşılaştırması

5.TARTIŞMA

Gastroşizisli insan yenidoğanın barsak örneklerini inceleyen Amoury ve ark. histopatolojik olarak tüm spesimenlerde mukoza, submukoza ve muskularis mukozada ganglion hücrelerinin normal olduğunu görmüşler, serozal tabakada yoğun fibrin ve kollajenden oluşan kabukla karakterize hasar oluştuğunu saptamışlardır (69). İntrauterin dönemde gastroşizis nedeniyle oluşan barsak hasarının derecesi, prognozu belirgin olarak etkilemektedir (57). Daha önce yapılan çalışmalarda, gastroşiziste oluşan barsak hasarının barsakların AS teması ile geliştiği gösterilmiştir (3-5). Bizim çalışmamızda bunu destekler niteliktedir. Gastroşiziste gözlenen barsak hasarı ve miyelomeningoselde oluşan sinir dokusu hasarı buna örnektir (70-72).

Klück ve arkadaşlarının bir çalışmasında gastroşizisdeki barsak hasarına allantoik sıvı içerisinde yer alan madde ya da maddelerin yol açtığı gösterilmiştir (82). Bu nedenle fetal idrarın gözlenen barsak hasarından sorumlu olduğu düşünülmüş ve klasik bilgi olarak kabul edilmiştir (82). Tanyel ve Aktuğ tarafından yapılan klinik gözlemlerde üriner assitli bebeklerde bağırsak hasarı oluşmaz iken, mekonyum peritonitli bebeklerde ciddi bağırsak hasarı oluştuğu ve mekonyumun oluşan barsak hasarından sorumlu olabileceği fikri ortaya atılmıştır (83). Daha sonra yapılan çalışmalarda allantoik sıvısının idrar dışında diğer gastrointestinal sistem atıklarını da içerdiği gösterilmiştir (60). Kızılcın ve ark. fetal defekasyonun fizyolojik olduğu ve distres olmaksızın da fetüsün mekonyum çıkarttığını göstermiştir (84). Sonrasında yapılan çalışmalarda da bu desteklenmiştir (60). İnsan fetüsünün 16. gestasyonel haftadan itibaren mekonyum oluşturduğu bilinmektedir ve fetüslerin anal kanallarında mekonyum bulunduğu izlenmiştir (85).

Sağlıklı gebelerin AS'larında inflamatuvar hücre saptanmazken, gastroşizisli gebelerin AS'larında ağırlıklı olarak nötrofiller ve değişen oranlarda monositler olmak üzere akut inflamatuvar hücreler gösterilmiştir (1). AS değişimi uygulanan gastroşizisli gebelerin AS örnekleri biyokimyasal olarak incelendiğinde kronik inflamasyon göstergesi olan ferritin ve bunun yanında amilaz, lipaz gibi mekonyum içerisinde bulunan alkalen fosfataz, tripsin ve intestinal disakkaridazlar gibi sindirim sistemi enzimlerinin kontrol gruplarına göre yüksek olduğu

kaydedilmiştir (57, 73). Fetal intestinal obstrüksiyon tanısı almış fetusa sahip gebelerin AS'ları içindeki intestinal kaynaklı enzim seviyelerinin düşük olması, bu enzimlerin AS'na fetal defekasyonla geçtiğini düşündürmektedir (74, 75). Yapılan hayvan deneylerinde fetüsün AS içerisine mekonyum çıkardığı ve mekonyumun gastroşiziste barsak hasarına yol açtığı gösterilmiştir (3-5, 7, 70, 76-85). Gastroşiziste oluşan barsak hasarı ve oluşma mekanizmaları üzerine yapılan çalışmalarda ise mekonyumla boyalı amnion sıvısının barsaklarda değişen derecelerde inflamasyon, düz kasların kalınlığında artış ve mukozal hasarlanma oluşturduğu ve doğum sonrası dönemde barsak hipomotilitesinin ortaya çıktığı saptanmıştır (2-4, 6, 60, 69, 70, 77-79). Motilite bozukluğuna bağlı intestinal disfonksiyonun azaltılması ya da engellenmesine yönelik araştırmalar da sürdürülmektedir. Karakuş ve arkadaşları üriner tripsin inhibitörünün amnion sıvısına eklenmesi ile barsakların kontraktıl fonksiyonlarının mekonyumun etkilerinden korunabildiğini deneysel olarak göstermişlerdir (91).

Gastroşizis saptanan gebeliklerde AS incelenmiş, güçlü inflamatuvar kemokinler ve mekonyum içerisinde yüksek konsantrasyonda bulunan IL-6 ve IL-8 düzeylerinin kontrol gruplarına göre yüksek olduğu saptanmıştır (1, 79). Mekonyum içerisindeki hangi madde veya maddelerin hasardan sorumlu olduğu bilinmemekle beraber 1/400 lük mekonyum konsantrasyonunun barsak hasarına neden olduğu gösterilmiştir (5). Ancak mekonyumun hangi mekanizmalar ile hasar oluşturduğu bilinmemektedir. Barsak hasarında görülen apopitozis ile ilgili çalışmalar da devam etmektedir Marcia ve ark. ise 40 olguluk gastroşizis serisinde apopitozisten sorumlu AEBP1 geni ve varyantlarını göstermişlerdir (87). Koyunda oluşturulan gastroşizis modeliyle yapılan bir çalışmada karın defektinin kollajen doku kullanılarak kapatılması ile barsak hasarının önlenildiği gösterilmiştir (90).

1990 yılında Langer ve ark. gastroşizisde oluşan barsak hasarının yalnızca direk temas ile oluşmadığını, oluşan hasarda barsak iskemisinde etkisinin olabileceği fikrini ortaya atmışlardır (6). Fetal koyun gastroşizis araştırmalarından yola çıkarak karın duvarındaki defektin dar olması sebebi ile barsakların bu defekt içinde sıkışarak kan dolaşımının bozulmasının barsak hasarı oluşumuna sebep olabileceği sonucuna varmışlardır (77). Gastroşizisli fetüslerde yapılan Doppler

akım çalışmalarında defektten dışarı çıkan SMA segmentinde pulsatil indekste doğum öncesinde azalma olduğu gösterilmiştir (9).

İn-vitro organ banyosu ile yapılan çalışmada mekonyumun izole insan umbilikal ven kesitlerinde kontraksiyona yol açtığı gözlenmiştir (11). Gastroşizisli fetüsler üzerindeki Doppler akım çalışmalarında anormal umbilikal kan akımı gözlenmiş, mekonyumun umbilikal kordda vazokonstrüksiyon yaptığı gösterilmiş ve bunun sonucunda da serebral ve fetal hipoperfüzyon olabileceği öne sürülmüştür (12, 13). AS ve mekonyumun umbilikal damarlar üzerine etkileri araştırılmış ancak SMA üzerine etkileri araştırılmamıştır. Torf ve ark.'larının gastroşizis üzerine yaptıkları çalışmalarda psödoefedrin, fenilpropanolamin, oksimetazolin ve efedrin gibi vazoaaktif etkili dekonjestan sınıfı ilaçların gastroşizis riskini arttırdığını saptamış olmaları gastroşizis etiopatogenezinde ve oluşan barsak hasarında iskeminin de rol oynayabileceğini düşündürmektedir (24). Normal bir fetüsün AS içerisine mekonyum çıkardığı düşünüldüğünde, gastroşizisli bir fetüsta barsakları besleyen SMA'nın umbilikal damarlar üzerine vazokonstrüktör etki gösteren mekonyum tarafından vazokonstrüksiyona uğratılması muhtemel gözükmektedir. Anabilim Dalımızda daha önce yapılan bir çalışmada AS ve mekonyumun MA üzerine etkileri araştırılmış ve mekonyumun MA üzerinde vazokonstrüktör etki oluşturduğu saptanmıştır (86).

Mekonyumun hasar oluşturma mekanizmalarının incelenmesi amacıyla mekonyumun fraksiyonlarına ayrılması düşünülmüştür. Mekonyumun %75-80'i sudan oluşmaktadır. Geri kalan solid fazın bir kısmı serbest yağ asitleri, trigliseritler ve kolestrolen oluşan yağları içermektedir. Mekonyumun içerdiği serbest yağ asitlerinin %50'si palmitik, stearik ve oleik asitlerden oluşur. Bunun yanında mekonyumun solid fazı suda çözünen bileşenleri de içerir. Bunlar safra asitleri, bilirübin, diyet lifleri ve inorganik moleküllerdir. Mekonyumun içerdiği başlıca safra asitleri kolik, hiyokolik ve kenodeoksikolik asitlerdir. Mekonyum aspirasyon pnömonisi ile ilgili yapılan in vitro çalışmada serbest yağ asitlerinin surfaktan inhibisyonuna yol açtığı, suda çözünen bileşenlerden safranin da pnömosit hasarından ve akut inflamatuvar reaksiyonlardan sorumlu olduğu gösterilmiştir (81).

Bu çalışmada mekonyumun hangi fazının barsaklarda daha fazla hasar oluşturduğu incelendi. Hem mekonyum hem de mekonyumun su fazı ve yağ fazı komponentlerinin barsak üzerinde hasar verici etki oluşturduğu gösterildi. Barsak serozasında kontrol grubuna göre belirgin düzeyde enflamasyonu gösteren kalınlık artışı, kollajen ve fibrin birikimleri izlendi. Bu da önceki çalışmalarımız ile paralel olarak mekonyumun hasar verici etkisini desteklemektedir. Ancak mekonyumun fazlarını ayrı ayrı değerlendirdiğimizde ise mekonyumun yağ fazının barsaklar üzerinde mekonyum kadar olmamakla birlikte su fazına göre daha belirgin bir hasar oluşturduğu görülmektedir. Bu doğrultuda mekonyumun su ve yağ fazlarının birbirlerine additif etki ile hasar yapıcı etkilerini arttırdıkları düşünülebilir. Ancak tedavide kullanılan gerek amnio-exchange gerekse furosemid ile fetal diürezin arttırılması yöntemlerinde çalışan mekanizmanın mekonyumun su fazının etkilerinin azaltılması mı yoksa AS dilüsyonuna bağlı diğer biyokimyasal faktörlerin ortamdaki uzaklaştırılmasına mı bağlı olduğu incelenmesi gereken bir konu olarak durmaktadır.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER:

Gastroşizis üzerine yapılan çalışmalarda başlıca iki hasar mekanizması üzerinde durulmaktadır. Bunlardan ilki direk temas, diğeri ise mekonyumun mezenterik arter üzerinde oluşturduğu vazokonstrüktif etkidir. Mekonyumun oluşturduğu vazokonstrüktif etki üzerine çalışmalar halen devam etmektedir. Anabilim Dalı'mızda yürütölen bir çalışmada mekonyumun MA üzerinde vazokonstrüktif etki oluşturduğu gösterilmiştir (86).

Mekonyumun 1/400 konsantrasyonda barsak hasarına neden olan eşik değeri olduğu gösterilmekle beraber, bu çalışmada mekonyumun fraksiyone edilmesiyle elde edilen yağ ve su fazından hangisinin hasardan daha etkin olduğu düşünölerek çalışma planlanmıştır.

Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde, mekonyumun yağ fazı ile oluşan barsak hasarının su fazına oranla daha fazla olduğu gösterilmiştir. Mekonyum ile oluşan hasar ise her iki faza oranla daha fazladır. Bu nedenle mekonyum ile oluşan hasarda su ve yağ fazının birbiri üzerine additif etki göstererek hasar oluşumunu arttırdığı düşünölmektedir. Ancak bu etkinin nasıl gerçekleştiği ve hangi madde veya maddeler ile gerçekleştirildiği ise, mekonyumun yağ ve su fazının içerdiği proteinler ve lipid yapılar eter fazı, soğuk alkol fazı, asetik asid fazı mikrodializ yöntemleri ile moleküler fazlara ayrıştırılarak incelenmesi sonucu ortaya çıkarılabilir. Daha ileri çalışmalar planlanarak bu maddelerin tanımlanması ajana yönelik tedavilerin bulunmasının önünü açacaktır.

7.KAYNAKLAR

1. Morison JJ, Klein N, Chitty LS, et al: Intra-amniotic inflammation in human gastroschisis: possible aetiology of postnatal bowel dysfunction. *BJOG* 1998;105:1200-4.
2. Aktug T, Erdağ G, Kargı A, et al: Amnio-Allantoic fluid Exchange for the prevention of intestinal damage in gastroschisis: An experimental study on chick embryos. *J Pediatr Surg* 1995;30:384-7.
3. Pinto JC, Tavares ML, Baptista MJ, et al: Meconium dependence of bowel damage in gastroschisis. *J Pediatr Surg* 2002;37:31-5.
4. Olguner M, Akgür FM, Api A, et al: The effects of intraamniotic human neonatal urine and meconium on the intestines of the chick embryo with gastroschisis. *J Pediatr Surg* 2000;35:458-61.
5. Api A, Olguner M, Hakguder G, et al: Intestinal damage in gastroschisis correlates with the concentration of intraamniotic meconium. *J Pediatr Surg* 2001;36:1811-5.
6. Langer JC, Bell JG, Castillo RO, et al: Etiology of intestinal damage in gastroschisis, II. Timing and reversibility of histological changes, mucosal function, and contractility. *J Pediatr Surg* 1990;25:1122-6.
7. Miller PW, Coen RW, Benirschke K: Dating the time interval from meconium passage to birth. *Obstet Gynecol* 1985;66:459-62.
8. Albert A, Sancho MA, Julia V, et al: Intestinal damage in gastroschisis is independent of the size of the abdominal defect. *Pediatr Surg Int* 2001;17:116-9
9. Abuhamad AZ, Mari G, Cortina RM et al: Superior mesenteric artery Doppler velocimetry and ultrasonographic assessment of fetal bowel in gastroschisis: A prospective longitudinal study. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:985-90
10. Volumenie JL, Lagauise P, Guiourdenche J, et al. Improvement of mesenteric artery Doppler velocitometry by amnio-infusion in fetal gastroschisis. *Prenat Diagn* 2001;21:1171-4
11. Pickens J, Toubas PL, Hyde S, et al. In vitro model of human umbilical venous perfusion to study the effects of meconium staining of umbilical cord. *Biol Neonate* 1995;67:100-8

12. Altschuler G, Hyde S: Meconium induced vasoconstriction: A potential cause of cerebral and other fetal hypoperfusion and poor pregnancy outcome. *J Child Neurol* 1989;4:137-42
13. Robinson JN, Abuhamad AZ, Evans AT. Umbilical artery Doppler velocitometry waveform abnormality in fetal gastroschisis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1997;10:356-8
14. Tóth PP, Kimura K. Left-sided gastroschisis. *J Pediatr Surg* 1993;28:1543-4.
15. Melikoglu M, Karagüzel G, Ogüş M, et al. A gastroschisis-like abdominal wall defect in the left hypochondrium. Case report and literature review. *Eur J Pediatr Surg* 1998;8:52-4.
16. Fraser N, Crabbe DC. An unusual left-sided abdominal-wall defect. *Pediatr Surg Int* 2002;18:66-7.
17. Sadler TW. Langman's medical embryology, 9th edition. Baltimore: Lippincott, Williams and Wilkins 2004. P 135, 311.
18. Opitz JM, Schultka R, Göbbel L. Meckel on developmental pathology. *Am J Med Genet A* 2006;140:115-28.
19. Duhamel B. Embryology of exomphalos and allied malformations. *Arch Dis Child* 1963;38:142-7
20. Shaw A. The myth of gastroschisis. *J Pediatr Surg* 1975;10:235-44.
21. deVries PA. The pathogenesis of gastroschisis and omphalocele. *J Pediatr Surg* 1980;15:245-51.
22. Hoyme HE, Higginbottom MC, Jones KL. The vascular pathogenesis of gastroschisis: intrauterine interruption of the omphalomesenteric artery. *J Pediatr* 1981;98:228-31.
23. Feldkamp ML, Carey JC, Sadler TW. Development of gastroschisis: review of hypotheses, a novel hypothesis, and implications for research. *Am J Med Genet A* 2007;143:639-52.
24. Torfs CP, Katz EA, Bateson TF, et al. Maternal medications and environmental exposures as risk factors for gastroschisis. *Teratology* 1996;54:84-92.
25. Torfs CP, Velie EM, Oechsli FW, et al. A population-based study of gastroschisis: demographic, pregnancy, and lifestyle risk factors. *Teratology* 1994;50:44-53.

26. Sarda P, Bard H. Gastroschisis in a case of dizygotic twins: the possible role of maternal alcohol consumption. *Pediatrics* 1984;74:94-6.
27. Drongowski RA, Smith RK Jr, Coran AG, et al. Contribution of demographic and environmental factors to the etiology of gastroschisis: a hypothesis. *Fetal Diagn Ther* 1991;6:14-27.
28. Torfs CP, Christianson RE, Iovannisci DM, et al. Selected gene polymorphisms and their interaction with maternal smoking, as risk factors for gastroschisis. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2006;76:723-30.
29. Jones KL, Benirschke K, Chambers CD. Gastroschisis: etiology and developmental pathogenesis. *Clin Genet* 2009;75:322-5.
30. Lam PK, Torfs CP, Brand RJ. A low pregnancy body mass index is a risk factor for an offspring with gastroschisis. *Epidemiology* 1999;10:717-21.
31. Torfs CP, Lam PK, Schaffer DM, et al. Association between mothers' nutrient intake and their offspring's risk of gastroschisis. *Teratology* 1998;58:241-50.
32. Kazaura MR, Lie RT, Irgens LM, et al. Increasing risk of gastroschisis in Norway: an age-period-cohort analysis. *Am J Epidemiol* 2004;159:358-63.
33. Hougland KT, Hanna AM, Meyers R, et al. Increasing prevalence of gastroschisis in Utah. *J Pediatr Surg* 2005;40:535-40.
34. Bermejo E, Mendioroz J, Cuevas L, et al. The incidence of gastroschisis: is also increasing in Spain, particularly among babies of young mothers. *BMJ* 2006;332:424.
35. Mastroiacovo P, Lisi A, Castilla EE. The incidence of gastroschisis: research urgently needs resources. *BMJ* 2006;332:423-4.
36. Laughon M, Meyer R, Bose C, et al. Rising birth prevalence of gastroschisis. *J Perinatol* 2003;23:291-3.
37. Williams LJ, Kucik JE, Alverson CJ, et al. Epidemiology of gastroschisis in metropolitan Atlanta, 1968 through 2000. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2005;73:177-83.
38. Goldbaum G, Daling J, Milham S. Risk factors for gastroschisis. *Teratology* 1990;42:397-403.

39. Calzolari E, Bianchi F, Dolk H, et al. Omphalocele and gastroschisis in Europe: a survey of 3 million births 1980-1990. EUROCAT Working Group. *Am J Med Genet* 1995;58:187-94.
40. Byron-Scott R, Haan E, Chan A, et al. A population-based study of abdominal wall defects in South Australia and Western Australia. *Paediatr Perinat Epidemiol* 1998;12:136-51.
41. Hsu CC, Lin SP, Chen CH, et al. Omphalocele and gastroschisis in Taiwan. *Eur J Pediatr* 2002;161:552-5.
42. Bhatia AM, Musemeche CA, Crino JP. Gastroschisis complicated by midgut atresia and closure of the defect in utero. *J Pediatr Surg* 1996;31:1288-9.
43. Davenport M, Haugen S, Greenough A, et al. Closed gastroschisis: Antenatal and postnatal features. *J Pediatr Surg* 2000;36:1834-7.
44. Blakelock R, Upadhyay V, Kimble R, et al. Is a normally functioning gastrointestinal tract necessary for normal growth in late gestation? *Pediatr Surg Int* 1998;13:17-20.
45. Blakelock RT, Upadhyay V, Pease PW, et al. Are babies with gastroschisis small for gestational age? *Pediatr Surg Int* 1997;12:580-2.
46. Fries MH, Filly RA, Callen PW, et al. Growth retardation in prenatally diagnosed cases of gastroschisis. *J Ultrasound Med* 1993;12):583-8.
47. Pryde PG, Bardicef M, Treadwell MC, et al, Evans MI. Gastroschisis: can antenatal ultrasound predict infant outcomes? *Obstet Gynecol* 1994;84:505-10.
48. Langer JC, Khanna J, Caco C, et al. Prenatal diagnosis of gastroschisis: development of objective sonographic criteria for predicting outcome. *Obstet Gynecol* 1993;81:53-56.
49. Brun M, Grignon A, Guibaud L, et al: Gastroschisis: Are prenatal ultrasonographic findings useful for assessing the prognosis? *Pediatr Radiol* 1996;26:723-726.
50. Adra AM, Landy HJ, Nahmias J, et al: The fetus with gastroschisis: Impact of route of delivery and prenatal ultrasonography. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:540-546.


51. Bond SJ, Harrison MR, Filly RA, et al. Severity of intestinal damage in gastroschisis: correlation with prenatal sonographic findings. *J Pediatr Surg* 1988;23:520-5.
52. Babcock CJ, Hedrick MH, Goldstein RB, et al. Gastroschisis: can sonography of the fetal bowel accurately predict postnatal outcome? *J Ultrasound Med* 1994;13:701-6.
53. Lenke RR, Persutte WH, Nemes J. Ultrasonographic assessment of intestinal damage in fetuses with gastroschisis: is it of clinical value? *Am J Obstet Gynecol* 1990;163:995-8
54. Albert A, Julia MV, Morales L, et al. Gastroschisis in the partially extraamniotic fetus: experimental study. *J Pediatr Surg* 1993;28:656-9.
55. How HY, Harris BJ, Pietrantonio M, et al. Is vaginal delivery preferable to elective cesarean delivery in fetuses with a known ventral wall defect? *Am J Obstet Gynecol* 2000;182:1527-34.
56. Alsulyman OM, Monteiro H, Ouzounian JG, et al. Clinical significance of prenatal ultrasonographic intestinal dilatation in fetuses with gastroschisis. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:982-4.
57. Burc L, Volumenie JL, de Lagausie P, et al. Amniotic fluid inflammatory proteins and digestive compounds profile in fetuses with gastroschisis undergoing amnioexchange. *BJOG* 2004;111:292-7.
58. Snyder CL. Outcome analysis for gastroschisis. *J Pediatr Surg* 1999;34:1253-6.
59. Aktuğ T, Demir N, Akgür FM, et al. Pretreatment of gastroschisis with transabdominal amniotic fluid exchange. *Obstet Gynecol* 1998;91:821-3.
60. Aktuğ T, Uçan B, Olguner M, et al. Amnio-allantoic fluid exchange for the prevention of intestinal damage in gastroschisis. III: Determination of the waste products removed by exchange. *Eur J Pediatr Surg* 1998;8:326-8.
61. Aktuğ T, Uçan B, Olguner M, et al. Amnio-allantoic fluid exchange for prevention of intestinal damage in gastroschisis II: Effects of exchange performed by using two different solutions. *Eur J Pediatr Surg* 1998;8:308-11.
62. Dommergues M, Ansker Y, Aubry MC, et al. Serial transabdominal amnioinfusion in the management of gastroschisis with severe oligohydramnios. *J Pediatr Surg* 1996;31:1297-9.

63. Luton D, de Lagausie P, Guibourdenche J, et al. Influence of amnioinfusion in a model of in utero created gastroschisis in the pregnant ewe. *Fetal Diagn Ther* 2000;15:224-8.
64. Luton D, de Lagausie P, Guibourdenche J, et al. Effect of amnioinfusion on the outcome of prenatally diagnosed gastroschisis. *Fetal Diagn Ther* 1999;14:152-5.
65. Sapin E, Mahieu D, Borgnon J, et al. Transabdominal amnioinfusion to avoid fetal demise and intestinal damage in fetuses with gastroschisis and severe oligohydramnios. *J Pediatr Surg* 2000;35:598-600.
66. Hakgüder G, Akgür FM, Olguner M, ve ark. İntraamniotik furosemid verilmesi intraamniotik maddelerin klirensini arttırabilir mi? XVIII. Ulusal Çocuk Cerrahisi Kongresinde sunulmuştur. Antalya Ekim 2000.
67. Brace RA. Fetal blood volume, urine flow, swallowing, and amniotic fluid volume responses to long-term intravascular infusions of saline. *Am J Obstet Gynecol* 1989;161:1049-54.
68. Bianchi A, Dickson AP, Alizai NK. Elective delayed midgut reduction-No anesthesia for gastroschisis: Selection and conversion criteria. *J Pediatr Surg* 2002;37:1334-6.
69. Amoury RA, Beatty EC, Wood WG, et al. Histology of the intestine in human gastroschisis--relationship to intestinal malfunction: dissolution of the "peel" and its ultrastructural characteristics. *J Pediatr Surg* 1988;23:950-6.
70. Akgür FM, Ozdemir T, Olguner M, et al. An experimental study investigating the effects of intraperitoneal human neonatal urine and meconium on rat intestines. *Res Exp Med (Berl)* 1998;198:207-13.
71. Heffez DS, Aryanpur J, Hutchins GM, et.al. The paralysis associated with myelomeningocele: clinical and experimental data implicating a preventable spinal cord injury. *Neurosurgery* 1990;26:987-92.
72. Heffez DS, Aryanpur J, Rotellini NA, et al. Intrauterine repair of experimental surgically created dysraphism. *Neurosurgery* 1993;32:1005-10.
73. Çağlar M, Hakgüder G, Ateş O, et al. Amniotic fluid ferritin as a marker of intestinal damage in gastroschisis: a time course experimental study. *J Pediatr Surg* 2007;42:1710-5.

74. Kleijer WJ, Janse HC, van Diggelen OP, et al. Amniotic fluid disaccharidases in the prenatal detection of cystic fibrosis. *Prenat Diagn* 1985;5:135-43.
75. Morin PR, Potier M, Dallaire L, et al. Prenatal detection of intestinal obstruction: deficient amniotic fluid disaccharidases in affected fetuses. *Clin Genet* 1980;18:217-22.
76. Abramovich DR, Gray ES. Physiologic fetal defecation in midpregnancy. *Obstet Gynecol* 1982;60:294-6.
77. Langer JC, Longaker MT, Crombleholme TM, et al. Etiology of intestinal damage in gastroschisis. I: Effects of amniotic fluid exposure and bowel constriction in a fetal lamb model. *J Pediatr Surg* 1989;24:992-7.
78. Srinathan SK, Langer JC, Blennerhassett MG, et al. Etiology of intestinal damage in gastroschisis. III: Morphometric analysis of the smooth muscle and submucosa. *J Pediatr Surg* 1995;30:379-83.
79. Aktuğ T, Hoşgör M, Akgür FM, et al. End-results of experimental gastroschisis created by abdominal wall versus umbilical cord defect. *Pediatr Surg Int* 1997;12:583-6.
80. Luton D, De Lagausie P, Guibourdenche J, et al. Prognostic factors of prenatally diagnosed gastroschisis. *Fetal Diagn Ther* 1997;12:7-14.
81. Per Arne Tollosfrud, Paal Haakonsen Lindenskov. Comparison of Pulmonary and Inflammatory Effects of Lipid- and Water-Soluble Components in Meconium in Newborn Piglets. *Biol Neonate* 2003;84:330-337
82. Klück P, Tibboel D, van der Kamp AWM, Molenaar JC: The effect of fetal urine on the development of the bowel gastroschisis. *J Pediatr Surg* 1983; 18: 47-50
83. Tanyel FC, Aktug T: Impairment of nutrient uptake in rabbit model of gastroschisis. (Letter to the editor). *J Pediatr Surg* 1995; 30: 1534
84. Kızılcan F, Karnak I, Tanyel FC, Buyukpamukcu N, et al: In utero defecation of the nondistressed fetus: a roentgen study in the goat. *J Pediatr Surg* 1994; 29:1487-90
85. Ciftci AO, Tanyel FC, Ercan MT, Karnak I, et al: In utero defecation by the normal fetus: a radionuclide study in the rabbit. *J Pediatr Surg* 1996; 31: 1409-12

86. B Solmaz, O Ateş, G Hakgüder, M Olguner, FM Akgür. Effects of Meconium and Amniotic Fluid on Contractility of Mesenteric Artery. 28. National Pediatric Surgery Congress. İstanbul 2010; Sp:42.
87. Marcia L. Feldkamp, Neil E. Bowles, and Lorenzo D. Botto. AEBP1 Gene Variants in Infants with Gastroschisis. Birth Defects Research (Part A) 2012; 94:738-42.
88. Javed Akhtar, Erik D. Skarsgard and the Canadian Pediatric Surgery Network (CAPSNet). Associated malformations and the “hidden mortality” of gastroschisis. Journal of Pediatric Surgery 2012; 47: 911-6.
89. Robert Bergholz, Thomas Krebs, Katharina Wenke, Thomas Andreas, Bastian Tiemann, Julia Paetzel, Birte Jacobsen, Rebecca Fahje, Carla Schmitz, Oliver Mann, Beate Roth, Birgit Appl, Kurt Hecher. Fetoscopic management of gastroschisis in a lamb model. Surg Endosc 2012; 26:1412-6.
90. Luc A.J. Roelofs, Paul J. Geutjes, Christina A. Hulsbergen-van de Kaa, Alex J. Eggink, Toin H. van Kuppevelt, Willeke F. Daamenc, A. Jane Crevels, Paul P. van den Berg, Wout F. J. Feitz, René M. H. Wijnen. Prenatal coverage of experimental gastroschisis with a collagen scaffold to protect the bowel. Journal of Pediatric Surgery 2013; 48: 516-24.
91. Karakuş OZ, Ateş O, Murat N, Hakguder G, Olguner M, Solmaz B, Özer E, Gidener S, Akgür FM. Intra-amniotic administration of urinary trypsin inhibitor preserves intestinal contractility in meconium induced intestinal damage in chick embryos with gastroschisis. Journal of Pediatric Surgery 2013; 48(7): 1495-8.

EKLER

**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU**



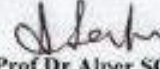

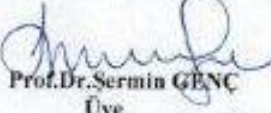
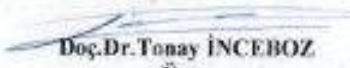

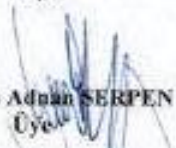

35340, İnciraltı, İzmir-232 412234
<http://deu.edu.tr/idenayeti/>

Toplantı No : 16/21/2012
Toplantı Tarihi : 14 Aralık 2012

Sayın, Prof.Dr.Gülce HAKGÜDER
Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı

85/2012 Protokol No'lu; Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Prof.Dr.Gülce HAKGÜDER'in yürütücüsü olduğu "Gastroşizisli civciv embryolarında intraamniyotik mekonyum ile oluşan barsak hasarında mekonyum su ve yağ fazlarının oluşan hasar üzerine etkilerinin araştırılması" isimli projede; araştırmada kullanacağınız bahse konu yumurta yönetmelikte yer alan "hayvan" tanımına uymadığı için Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayına gerek bulunmamaktadır.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

 Prof.Dr.Osman YILMAZ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı	 Prof.Dr.A.Necati GÖKMEN Başkan Yardımcısı
 Prof.Dr.Alper SOYLU Üye	Prof.Dr.Ayşe GELAL Üye (Topl.katılmadı)
Prof.Dr.O.Nejat SARIOSMANOĞLU Üye (topl.katılmadı)	 Prof.Dr.H.Emin BASKIN Üye
Prof.Dr.Abdullah KUMRAL Üye (Topl.katılmadı)	Prof.Dr.Gülgün OKTAY Üye (Topl.katılmadı)
Prof.Dr.Turna İLKNUR Üye (Topl.katılmadı)	 Prof.Dr.Sermin GENÇ Üye
 Doç.Dr.Tonay İNCEBOZ Üye	 Doç.Dr.H.Alper BAĞRIYANIK Üye
 Vtr.Hekim Adnan SERPEN Üye	Doç.Dr.Pembe UYGUN KESKİNOĞLU Üye
 Zehra KINAM Üye	

Hatice İgce

Kimden: "Osman Yılmaz" <osman.yilmaz@deu.edu.tr>
Kime: "Hatice İGCI" <hatice.igci@deu.edu.tr>
Gönderme tarihi: 25 Temmuz 2012 Çarşamba 12:13
Konu: FW: etik kurul

From: HADMEK [mailto:hadmek@ormansu.gov.tr]
Sent: Wednesday, July 25, 2012 11:41 AM
To: osman.yilmaz@deu.edu.tr
Subject: etik kurul

Sayın Prof. Dr. Osman YILMAZ;

29.06.2012 tarih ve 8 sayılı yazınızda; hayvan deneyleri yerel etik kurulunda onaylanacak projeler içinde gelişiminin 18. günündeki dömlü tavuk yumurtası üzerinde yapılacak araştırmanın etik kurul tarafından değerlendirilmesi için görüşlerimize ihtiyaç duyulmuştur.

Söz konusu konu Hayvan Deneyleri Etik Kurulların Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik'te Tanımlar kısmında;
Hayvan: Serbest yaşayan larva biçimleri ve/veya çoğalan larva biçimleri dahil, ancak cenin ya da embriyo biçimleri hariç, insan olmayan herhangi bir omurgalı canlıyı,

Bu kapsamda araştırmada kullanacağınız bahse konu yumurta yönetmelikte yer alan "hayvan" tanımına uymadığı için etik kurul onayına gerek bulunmamaktadır.

Saygılarımızla

T.C. ORMAN VE SU İŞLERİ BAKANLIĞI
DOĞA KORUMA VE MİLLİ PARKLAR GENEL MÜDÜRLÜĞÜ
YABAN HAYATI DAİRE BAŞKANLIĞI
HAYVANLARI KORUMA ŞUBE MÜDÜRLÜĞÜ

Orman ve Su İşleri Bakanlığı
SıĞIÇTIZI 14/E ANKARA
(0312) 207 50 00

12.12.2012