TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ERKEN TAVUK EMBRİYOLARINDA MANYETİK REZONANS GÖRÜNTÜLEMENİN ORTA HAT KAPANMASINA ETKİSİ

Dr. EMRAH KANTARCIOĞLU

NÖROŞİRURJİ ANA BİLİM DALI UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. AĞAHAN ÜNLÜ

ANKARA
2014

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ERKEN TAVUK EMBRİYOLARINDA MANYETİK REZONANS GÖRÜNTÜLEMENİN ORTA HAT KAPANMASINA ETKİSİ

Dr. EMRAH KANTARCIOĞLU

NÖROŞİRURJİ ANA BİLİM DALI UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. AĞAHAN ÜNLÜ

ANKARA
2014

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bizlere bilgi, beceri, deneyimleriyle yol gösteren, emekli hocam Prof.Dr. Ahmet Erdoğan' a, bölüm başkanımız Prof. Dr. Cumhur Dinçer' e, emekli hocam Prof.Dr. Nihat Egemen' e, Prof. Dr. Atilla Erdem' e, Prof.Dr. Yusuf Şükrü Çağlar' a, Prof.Dr. Ali Savaş' a, tez danışmanım Prof. Dr. Ağahan Ünlü' ye, Prof. Dr. Ayhan Attar' a, Doç.Dr. Hasan Çağlar Uğur' a, Doç.Dr. Hakan Tuna' ya, Doç.Dr. Gökmen Kahiloğulları' na, Doç.Dr. Melih Bozkurt' a,

Histoloji çalışmalarında yardımcı olan Prof. Dr. Esra ERDEMLİ' ye, Yard. Doç. Dr. Deniz Billur' a, Ar. Gör. Zeynep Günhan' a

Radyoloji çalışmalarında yardımcı olan Prof. Dr. Memet İlhan Erden' e, Uzm. Dr. Elif Peker' e

Ayrıca, tez çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen, Veteriner Hekim Gülden Varna Bozkurt' a ve yumurta temininde yardımcı olan Muzaffer Sağlam' a,

Asistanlığım süresince birlikte çalıştığım ve eğitimim süresince bilgi ve becerilerinden yararlandığım tüm başasistan, uzman doktorlar, eş kıdemlim ve kardeşim Dr. Yahya Efe Güner, asistan arkadaşlarım, hemşireler ve hastane personeline,

Tüm hayatım boyunca büyük emek ve sevgiyle beni bugünlere getiren aileme,

Asistanlık süresi boyunca her zaman yanımda olan ve tez konumun yaratıcısı sevgili eşim Dr. Esin Özlem Kantarcıoğlu' na teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR ii
İÇİNDEKİLER iii
SİMGELER ve KISALTMALAR iv
RESİMLER v
ŞEKİLLER vi
TABLOLAR vii
1.GİRİŞ ve AMAÇ 1
2.GENEL BİLGİLER 2
2.1 Nörülasyon 2
2.1.1. Primer Nörülasyon 2
2.1.2 Sekonder Nörülasyon 4
2.2 Nöral Tüp Defektleri ve Sınıflandırılması 7
2.3 Nöral Tüp Defektlerinin Etyolojisi 9
2.4 Civciv Embriyosunda Embriyogenez 9
2.5 MRG 12
2.6 Laboratuar Teknikleri 13
2.6.1 New Tekniği 13
3. GEREÇ ve YÖNTEM 15
4. BULGULAR 17
4.1. İstatiksel analiz 25
5. TARTIŞMA ve SONUÇ 29
6. ÖZET 33
7. ABSTRACT 34
8. KAYNAKLAR 35

SİMGELER ve KISALTMALAR

MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
NTD	Nöral Tüp Defekti
RF	Radyofrekans
TE	Time to repetition
TR	Time to echo

RESİMLER

Resim 1.	Nöral tüpün şekillenmesi	3
Resim 2. ve 3.	Nöral tüp hücreleri	3
Resim 4.	Sekonder nörülasyon	5
Resim 5.	48 saatlik, normal gelisim gösteren tavuk embriyosunun stereomikroskop görüntüsü	18
Resim 6.	Kontrol grubuna ait 48 saatlik embriyonun Hematoksilen-Eozin ile boyanmasının ışık mikroskobu görüntüsü.	19
Resim 7. 1	TESLA uygulanan embriyonda çift kuyruk gelişim anomalisi izlenmektedir	20
Resim 8.	1,5 TESLA uygulanan embriyonda gelişim geriliği ve beraberinde nöral tüp defekti izlenmektedir	21
Resim 9.	1,5 TESLA uygulanan embriyonda gelişim anomalisi ve beraberinde nöral tüp açıklığı izlenmektedir	21
Resim 10.	1,5 TESLA uygulanan embriyonda boş kese görülmektedir	22
Resim 11.	3 TESLA uygulanan embriyonda 13 somit içeren gelişim geriliği ve beraberinde nöral tüp açıklığı izlenmektedir.	23
Resim 12.	Resim 11'de okla belirtilen seviyeden alınan 48 saatlik 3 TESLA uygulanan embriyon kesitinin ışık mikroskobu incelemesinde, nöral tüp açıklığı (yıldız) izlenmektedir	24

ŞEKİLLER

Şekil 1. Nöral plağı oluşturan aktin-miyozin kompleksi 6
Şekil 2. Hormonel kontrol mekanizması..... 7
Şekil 3. Hamburger ve Hamilton civciv embriyo gelişim evrelemesi 12
Şekil 4. Gruplara göre nöral tüpün açık ve kapalı olma oranları 27
Şekil 5. Gruplara göre gelişme geriliği görülme oranları 28

TABLOLAR

Tablo 1. Nöral Tüp Kapanma Defektleri 8
Tablo 2. Gruplara göre embriyo sayıları 17
Tablo 3. Tüm gruplarda nöral tüpün açık ya da kapalı olma oranları 24
Tablo 4. Tüm gruplarda gelişme geriliği görülme ve görülmeme oranları 24

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Nöral tüp defektleri embriyonel hayatın ilk haftalarında beyin, spinal kord ve omurgada kapanma hatası sonucu ortaya çıkan bir grup kranial ve spinal anomalidir.

Gelişiminde birçok faktör rol oynar. Nöral tüp defekti (NTD) yaklaşık olarak 6/10000 gebelikte görülür (2). Nöral tüp defektleri konjenital kalp hastalıklarından sonra en sık rastlanan ikinci doğumsal anomali çeşididir(37). "Türkiye' de Konjenital Malformasyon Sıklığı, Dağılımı, Risk Faktörleri ve Yeni doğanların Antropometrik Değerlendirmesi Araştırması-1993" sonucunda ülkemizde NTD'nin binde 3 sıklığında görüldüğü saptanmış ve Türkiye'de sık görülen konjenital anomaliler arasında olduğu belirtilmiştir(38). En sık görülen nöral tüp defekti ise anensefali ve spina bifidadır (1). Daha önce NTD' li çocuğu olan çiftlerin ikinci çocuklarında NTD görülme olasılığı %2-3 olarak belirtilmektedir. Ayrıca bilinmeyen sayıda gebeliğin de NTD nedeniyle düşükle sonuçlandığı düşünülmektedir(36,37).

Magnetik rezonans görüntüleme (MRG) insan vücudu üzerinde güçlü bir manyetik alan oluşturmak suretiyle insan vücudunun yaklaşık %63’ ünü oluşturan hidrojen atomlarının dağılımına göre insan vücudunu haritalandıran bir görüntüleme tekniğidir. İlk kez 1973 yılında Paul Lauterbur tarafından gösterilmiştir(3). Diğer görüntüleme yöntemlerinden farklı olarak X-ışını veya diğer radyasyonlar kullanılmaz.

Erken dönem tavuk embriyosu modeli, memelilerde embriyonal gelişimin ilk ayına uyan ve teratojen faktörlerin nörülasyon sürecine etkilerinin kolaylıkla incelenebildiği, ilaçların rahatlıkla verilebildiği, ucuz ve uygun bir modeldir. Bu modelleme ile çevresel etmenlere bağlı NTD gelişimi araştırılabilinir. Biz bu çalışmada güncel bir görüntüleme yöntemi olan Manyetik Rezonans Görüntülemenin civciv embriyolarında orta hat kapanmasına etkisini ve NTD oluşturup oluşturmadığını incelemeyi amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

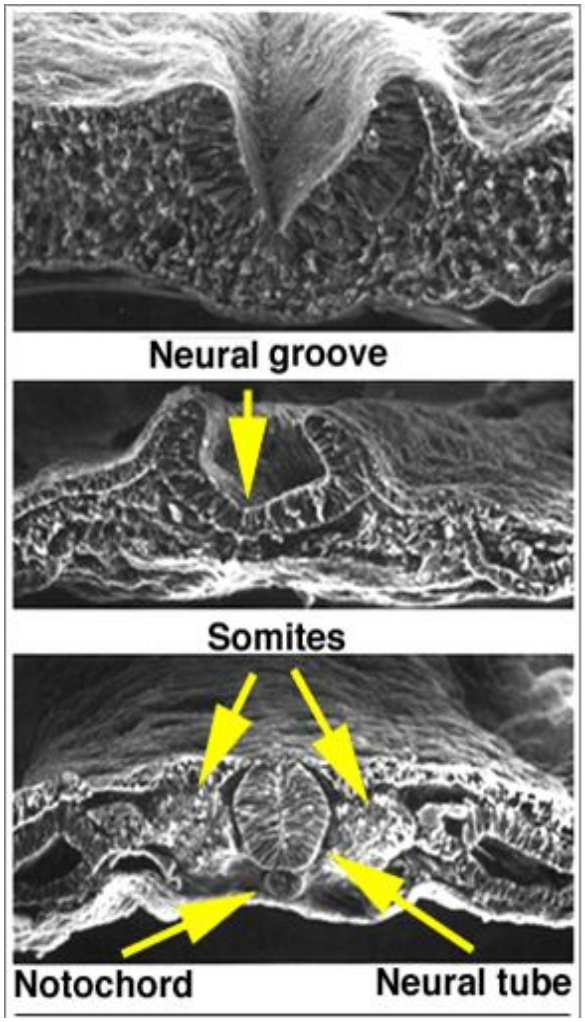
2.1 Nörülasyon

Nöral tüp gelişme sürecine nörülasyon denir. Tüm santral sinir sistemi ve periferik sinir sisteminin büyük kısmı nöral tüpten gelişir. İnsanlarda nörülasyon primer ve sekonder olmak üzere iki fazda oluşur. İlk 4. haftanın sonuna kadar gelişen olaylar **primer nörülasyon** olarak adlandırılır.Bu hafta içerisinde spinal kordun distal kısımları olan kauda equina ve liflerinin oluşumu başlayacak ve bu evrede **sekonder nörülasyon** evresini oluşturacaktır.

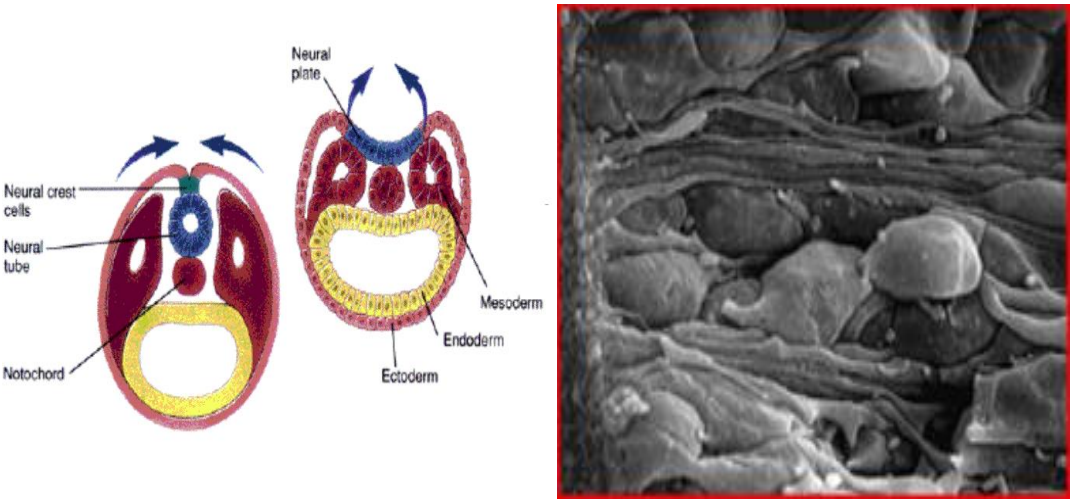
2.1.1. Primer Nörülasyon

Embriyogenezisin 3. haftasında, embriyonun dorsal (sırt kısmı) orta hattında bulunan ektoderm kalınlaşmaya başlar ve **nöral tabakayı (neural plate)** oluşturur. Bu tabakanın her iki lateral (yan) sınırı yükselti yaparak ortalarında boylu boyunca uzanan çukurumsu oluk oluşumuna neden olurlar. İşte bu tabaka lateralinde oluşan yükseltiler **nöral katlantı (neural fold)**, ortadaki oluk ise **nöral oluk (neural groove)** olarak adlandırılır(17,18,19)(Resim 1). Oluşan nöral oluk, lateralinde yükselti olarak bulunan nöral katlantıların mediale (ortaya) doğru yaklaşarak birleşmesi ile silindir şeklinde kapanır ve **nöral tüpü (neural tube)** oluşturur (Resim 2). Böylece nöral tüp şekillenmesi nöral katlanma ile başlayıp kanal halini alarak tamamlanacaktır(16).

Embriyogenezisin 4. Haftasında nöral tüp oluşumu tamamlanır. Daha sonra bu nöral tüp, rostral kısımda farklılaşarak beyin ve beyinciği oluşturacak, kaudal(kuyruk kısmı) kısımlar ise spinal kordu oluşturacaktır(17,18,19).



Resim 1. Nöral tüpün şekillenmesi



Resim 2. Ve 3. Nöral tüp hücreleri

Nöral tüp içerisinde kalan kanalın rostral kısımlardan ventriküller oluşurken, diğer kısımlarından da santral kanal oluşacaktır. Nöral oluğun lateralerindeki nöral katlantıların apikalinden ayrılan bir kısım hücre topluluğu göç ederek, oluşmaya başlayan nöral tüpün dorsolateral bölgesine yerleşirler. Bu yerleşerek oluşturduğu bölgeye nöral crest denir ki, bu hücreler daha sonra farklılaşarak, spinal ve kranial sinirlerin duyu ganglionlarını ve otonom sinir sistemi ganglionlarını oluşturacaklardır(17,18,20,21).

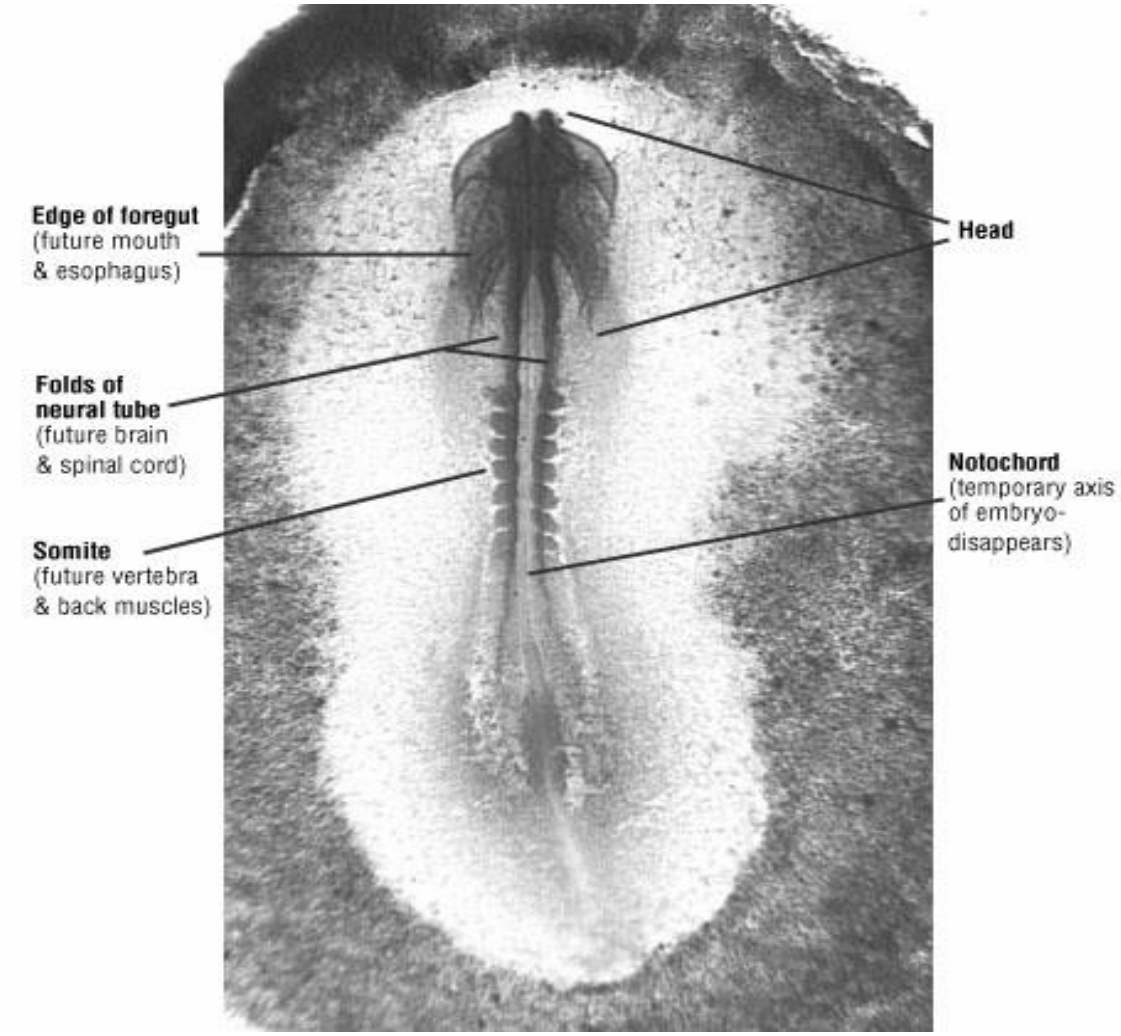
Spinal kord kabaca bu şekilde ana hatları ile oluşurken, çevre mezodermden nöral tüp çevresine göç eden hücrelerde farklılaşarak, spinal kanalı ve çevre kas ve bağ dokusunu oluşturacaklardır. Bu esnada, embriyolojik spinal kordun iç yan yüzünde boylu boyunca uzanan bir yarık oluşur ki bu yarık sulkus limitans olarak isimlendirilmiştir. Sulkus limitansın anteriorunda kalan kısım bazal plate, posteriorundaki kısım ise alar plate olarak isimlendirilir. Erişkin spinal kordun adeta basit bir kopyası olan ön kısımdan motor sinir hücreleri, posteriordan ise duyu sinir hücreleri gelişecektir. Bu ana temel yapı daha sonra farklılaşarak erişkin spinal kord şeklinde organize olmaya başlayacak ve sinir hücrelerini içeren gri madde santral kanal çevresinde toplanarak merkezi çevrelerken, daha dış kısmı aksonal komponentten oluşan ak madde çevreleyecektir (19,20,21).

2.1.2 Sekonder Nörülasyon

Yukarıda bahsedilen olaylar 4. haftada tamamlanırken bu hafta içerisinde başlayan spinal kordun distal kısımları olan kauda equina ve liflerinin oluşumu başlayacak ve bu evre de **sekonder nörülasyon** evresini oluşturacaktır.

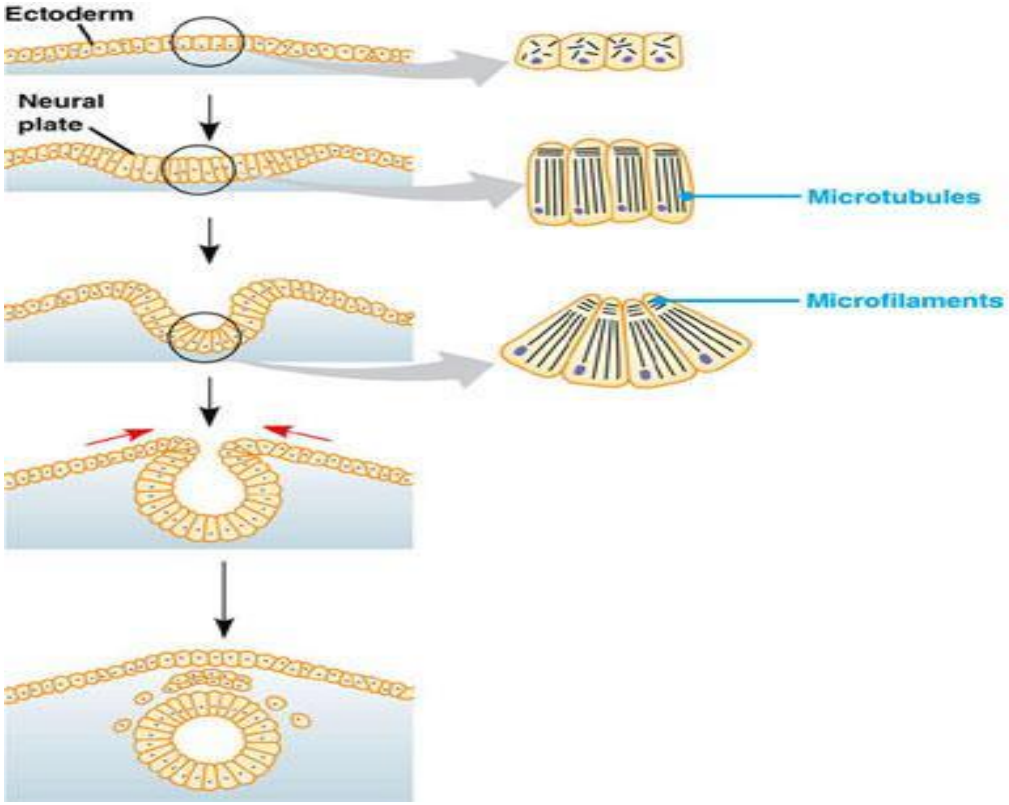
Sekonder nörilasyon evresinde nöral tüpün kaudale doğru uzaması sekonder nörülasyonun ilk evresi olan **kanalizasyon**u oluşturur. Nöral tüpün distalindeki kaudal hücre kütlesi kuyruk şeklinde uzanır. Bu oluşum gerçekleşirken çok sayıda lümen ve epandimal topluluklar filum terminale içinde organize olurlar ve distal konus medullaris meydana gelir.

Bu kabaca oluşan distal spinal kord, 38. günde kaudal nöral tüpün lümeninde azalma yani retrogresif diferensiasyon ile, distal konus medüllarisi, filum terminaleyi ve santral kanalın son halini almasına neden olur (Resim 4)(17,18,19,20,21).



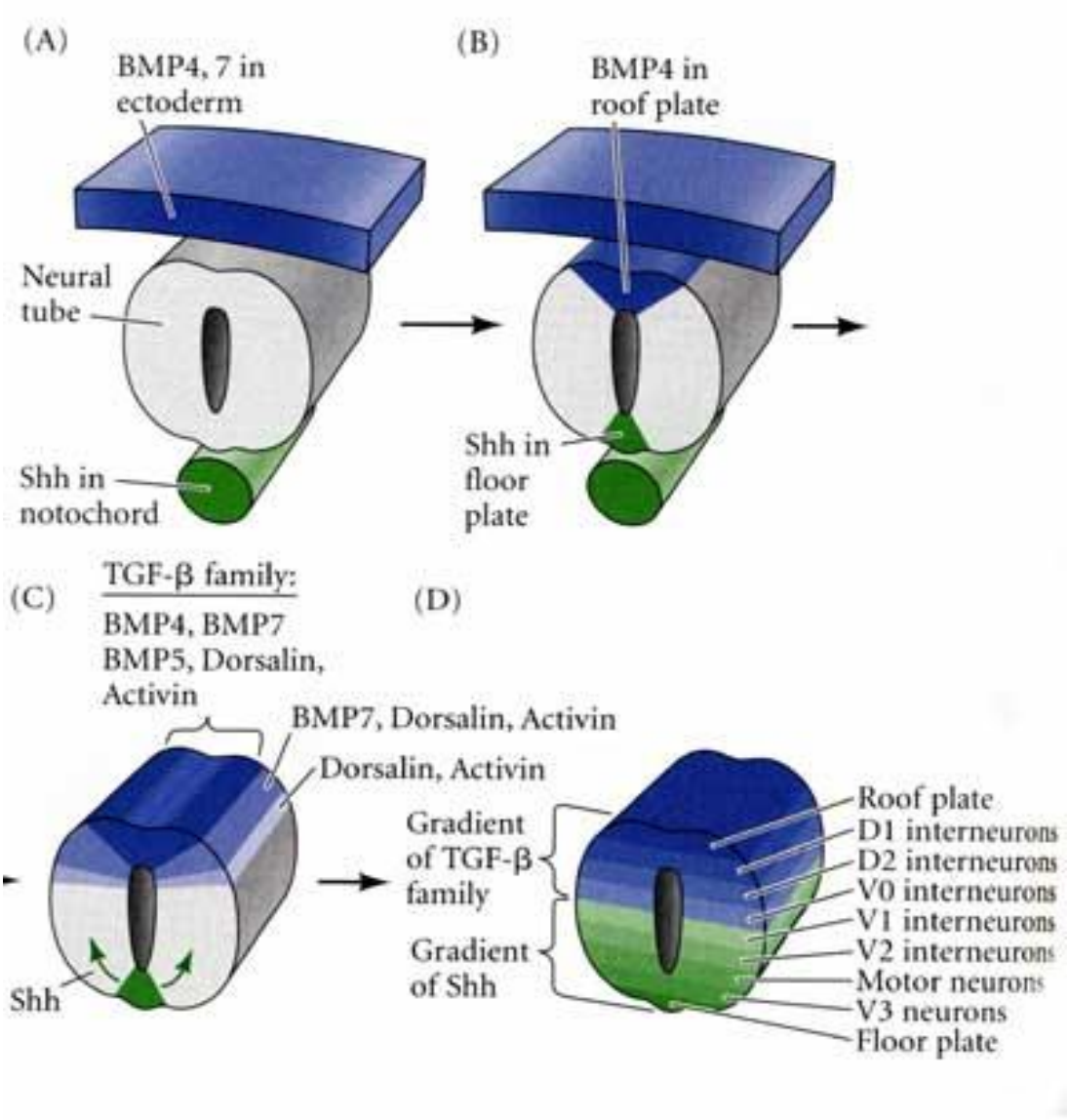
Resim 4. Sekonder nörülasyon

Nörülasyon işlevinde nöral plağı oluşturan hücrelerin içinde adeta bir kas gibi çalışan AKTİN ve MİYOZİN liflerinin kasılması sonucunda, nöral plak ortası çukurlaşır (Şekil 1). Nöral oluk dediğimiz yapı ortaya çıkar. Katlanma devam ederken nöral oluk kenarları (Nöral Krista) karşılıklı gelir, karşılıklı gelen hücreler FİBRONEKTİN adı verilen (Heparin sülfat, Kondroidin Sülfat vb..) hücre yapıştırıcılar tarafından yapıştırılarak nöral tüp ortaya çıkar. İki ucu açık olan bu tüpün öndeki açıklığı ANTERİOR NÖROPOR, hamileliğin 24-25. günlerinde, POSTERİOR NÖROPOR adını verdiğimiz arkadaki açıklıkta 25-26. günlerde kapanır. Nöral tüp kapanma anomalileri genelde bu süreçteki hatalı gelişmelerden oluşur.



Şekil 1. Nöral plağı oluşturan aktin-miyozin kompleksi

Ektoderm BMP-4(bone morphogenetic proteins) adı verilen ve TGF-β ailesine mensup sinyal molekülleri ile yüklüdür ve bu moleküller ektodermden nöral sistem yerine deri gelişimini sağlar ve bu molekülün yokluğunda nörolizasyon başlar ve deriden çok sinir sistemi ektodermden köken almaya başlar.Mezodermden ise bu molekülleri inhibe eden *noggin*, *chordin*, and *follistatin* adlı moleküller salgılanır(Şekil 2).



Şekil 2. Hormonel kontrol mekanizması

Bu maddelerin salınmasına ektodermin ilk yanıtı hücrelerin şeklinin değişmesi ve silindirik şekle dönüşmesidir. Daha sonra dorsal kısımda apikal sıkışma başlar ki bu da ektodermin çöküntü yapmasına neden olarak nöral kıvrımların ve bunların birleşmesiyle nöral tüpün oluşmasını sağlar.

2.2 Nöral Tüp Defektleri ve Sınıflandırılması

Nöral tüp fetal yaşamın ilk 4 haftalık periyodunda gelişir. Bu süreçte çevresel ve genetik faktörlerin yanında kesin olarak belirlenemeyen birçok risk faktörünün

etkisiyle nöral tüpte kapanma defekti gelişebilir. Bu risk faktörlerinden bazıları ileri anne yaşı, düşük sosyoekonomik düzey, çoğul gebelik olarak sayılabilir (8,9).

Nöral tüp defektleri bazı durumlarda mortal seyredebileceği gibi kalıcı defisitlere yol açabilir (7).

Nöral tüp defektleri nöral tüpün kapanma ve yapısal defektleri olmak üzere iki farklı başlıkta toplanabilir (Tablo1).

Tablo 1. Nöral Tüp Kapanma Defektleri (Disrafizm)

1. Nöral Tüp Kapanma Defekti
Anensefali Kraniorağizis Myelomeningosel Chiari Tip 2 malformasyonu Tethered kord sendromu Spina bifida okkulta: *Nöroenterik kist,*
Lumbosakral lipom, Spinal dermal sinüs
2. Nöral Tüp Yapısal Defekti
Chiari Tip 1 malformasyonu Ensefalosel (Anterior, posterior ve bazal) İnensefali Ayrık omurilik sendromu

Anensefali, beyin, kafatası ve skalpin kısmi veya konjenital yokluğudur

Anterior nöroporun kapanmasında yetersizliğe bağlı gelişir. Bu durum yaşamla bağdaşmaz.

Kranioraşizis, beyin ve omuriliğin tamamen açıkta kalmasıdır. Sıklıkla spontan abortusa neden olurlar

Myelomeningosel Omurgayı ilgilendiren doğmalık defektler arasında en sık görüleni ve en ağır olan formudur (5). Omuriliğin meningeal yapılarla birlikte, sinir

köklerini de içerecek şekilde omurga kanalı açıklığından dışarı doğru keseleşmesiyle karakterizedir (6).

Chiari malformasyonu, arka fossa yapılarının foramen magnumdan üst servikal spinal kanala değişen derecelerde herniasyonudur. Herniasyon derecesine göre 4 farklı tipte olup en sık tip 1 ve 2 anomali görülür.

Tethered kord sendromu, konus medullarisin L2 seviyesinin altında sonlanması ve nörolojik defisitlerin izlenebileceği bir malformasyondur (11).

Ansefalosel, kraniumdaki çoğunlukla orta hattaki bir defektten nöral dokuların bir kese meydana getirecek şekilde kranium dışına çıkması şeklinde bir anomalidir.

2.3 Nöral Tüp Defektlerinin Etyolojisi

Nöral tüp defekti, genetik ve çevresel faktörlerin etkilediği çok basamaklı bir olaydır. Bu durum gen-gen, gen-çevre, gen-beslenme faktörlerini içerir. Uzun yıllardır yapılan araştırmalara rağmen kesin neden hala net olarak anlaşılamamaktadır (1). Genetik olarak Meckel Gruber Sendromu veya Waardenburg Sendromu gibi tek gen veya Trizomi 13-18 gibi kromozomal bozukluklar görülebilir. Çevresel faktörler olarak maternal diabetes mellitus, obezite, antiepileptik ilaç kullanımı, alkol tüketimi, anne yaşı, beslenme alışkanlığı sayılabilir (12,13,14). Folik asit eksikliğinin de nöral tüp defektine yol açtığı bilinmektedir. Gebelik öncesi ve sırasında folik asit alımı nöral tüp defektini önlemede etkilidir (15).

2.4 Civciv Embriyosunda Embriyogenez

Embriyo döneminden civciv gelişim aşamasına kadar toplam 46 evre bulunmaktadır. Civciv embriyosunun gelişimi çeşitli evreleri içerir (41).

Evre–1 (İlk çizgi): İlkel çizginin oluşumuna aracılık eder. Blastodermin arka yarısına doğru hücrelerin toplanması sonucu oluşan embriyonik katlantı görülebilir.

Evre–2 (Başlangıç çizgisi): Geçici bir evre olup genellikle inkübasyondan 6–7 saat sonra elde edilir.

Evre 3 (Ara çizgi): (12–13 saat) İlkel çizgi, posterior kenardan pellusid alanının merkezine doğru uzanmıştır. Çizgi boyuna göre göreceli olarak daha geniştir. İlkel oluk oluşmamıştır.

Evre 4 (Tam çizgi): (18–19 saat) İlkel çizgi maksimal uzunluğa Ulaşmıştır. İlkel oluk, ilkel çekirdek ve Hensen's nodu oluşmuştur. Pellusida alanı, uzunluğu daha da artmış olup armut şeklini almıştır.

Evre 5: (19–22 saat) Hensen's Nodu'nun ön köşesinden öne doğru uzanan, yoğunlaşan mezodermin bir çubuğu şeklinde notokord veya baş oluşumu görülmeye başlar. Başa ait katlantı henüz görünmemektedir.

Evre 6: (23–25 saat) Notokorda doğru olan blastodermin kesin katlantısı embriyonun ön ucunda belirginleşmiştir. Henüz somitler görülmeye başlamamıştır. Bu bir geçiş dönemidir, baş oluğu ve ilk somit çiftinin oluşumu yakın zaman aralığı içindedir. 7 ve 14. evreler primer olarak net görülebilen 13 somit çiftine dayanır. Gelişimin bu döneminde evrelemede en basit kriter görünen somitlerin sayısıdır.

Evre 7 (Bir somit): (23–26 saat) Bu dönemde gerçekte 2 somitlidir. 1.somit henüz açık bir biçimde görülmez. Nöral katlantılar baş bölgesinde görülür hale gelmiştir.

Evre 8 (Dört somit): (26–29 saat) Nöral katlantılar orta beyin seviyesinde birleşirler. Bu dönemde 4 somit vardır. Blastodermin posterior yarısında kan adacıkları görülmeye başlar.

Evre 9 (Yedi somit): (29–33 saat) Primer optik kesecikler oluşmaya başlar. Kalbin odacıkları birleşmeye başlar. Somit sayısı ortalama 7' dir.

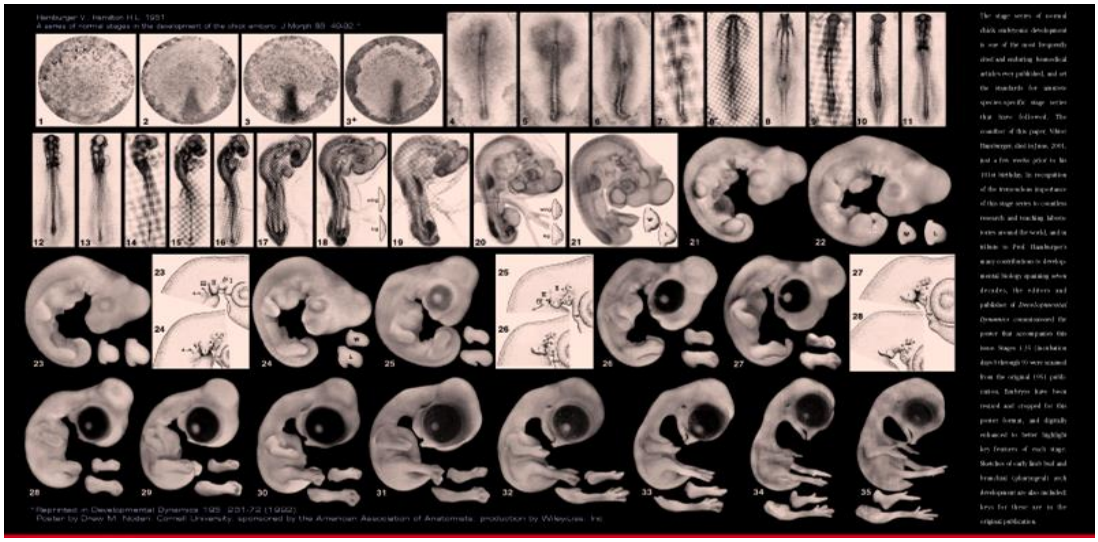
Evre 10 (On somit): (33–38 saat) Somit sayısı 10' a ulaşmıştır. 1. somit dağınık olarak yerleşim gösterir ve bundan sonraki evrelerde sayıya dahil edilmeyecektir. Kraniyal katlantının ilk işareti olan üç adet ilk beyin keseciği, açık şekilde görülür hale gelir. Optik kesecikler net değildir. Kalp hafif sağa doğru yerleşimlidir.

Evre 11 (Onüç somit): (40–45 saat) Hafif bir kranial katlantı vardır. Arka beyin 5 nöromere ayrılmıştır. Ön nöropor kapanmaya başlamıştır. Optik kesecikler belirginleşir. Kalp sağa yerleşmiştir. Bu evrede somit sayısı 13 olmuştur.

Evre 12 (Onaltı somit): (45–49 saat) Kafa sola doğru dönmüştür. Ön nöropor kapanmıştır. Telensefalon görülmeye başlamıştır. Primer optik kesecikler ve optik sak oldukça iyi şekilde görülür. Kulak çekirdeği derindedir ve geniş şekilde açıktadır. Kalp hafif bir S şekli alır. Amnionun baştaki katlantısı ön beyin bölgesinin girişini kaplar. Somit sayısı 16 olmuştur.

Evre 13 (Ondokuz somit): (48–52 saat) Kafa tamamıyla sola dönmüştür. Kranial ve servikal katlantı geniş bir eğim yapar. Telensefalonun genişlemesi belirgindir. Derindeki kulak çekirdeğinin açıklığı daralır. Hipofize ait bir belirti yoktur. Atrioventriküler kanal daralarak belirginleşir. Amnionun baştaki katlantısı ön beyni, orta beyni ve arka beynin ön kısmını kaplar. 19 somit vardır.

Evre 14 (Yirmi iki somit): (50–53 saat) Fleksiyon ve rotasyon. Kranial fleksiyon: ön beyin ve arka beyin aksları bir dik açı oluştururlar. Servikal fleksiyon geniş bir eğim oluşturur. Vücut rotasyonu arkaya doğru 7–9 somit seviyesine kadar devam eder. Bu seviyenin arkasında hafif gövde fleksiyonu oluşur. Visseral ark 1 ve 2, yarık 1 ve 2 ayırt edilir. Posterior arklar oluşmamıştır. Primer optik kesecikler içeriye doğru girer. Lens oluşmaya başlar. Kulak çekirdeğindeki açıklık sınırlanır. Rathke kesesi tanımlanabilir hale gelir. Kalbin ventriküler boşlukları oluşur ve atmaya başlar. Amnion 7–10. somite kadar uzanır. 22 somit oluşmuştur.



Şekil 3. Hamburger ve Hamilton civciv embriyo gelişim evrelemesi (20).

2.5 MRG

MRG; su ve yağın, dolayısı ile de vücudumuzun büyük bir bölümünün yapısında mevcut bulunan (%63) hidrojen atomlarının, güçlü bir manyetik alan içerisinde, kendilerini rezonansa uğratacak bir radyofrekans (RF) dalgası ile uyarılıp titreştirilmesinden elde olunan sinyallerin görüntüye dönüştürüldüğü doku kontrast rezolüsyonu en yüksek ileri radyolojik görüntüleme tekniğidir (3,4).

MRG'nin tarihsel temelleri 1923 yılında Wolfgang Pauli' nin, çekirdekteki spin rezonans fenomenini keşfi ile atılmış olmakla birlikte MRG' nin insan vücuduna uyarlanması ilk kez 1973 yılında Paul C. Lauterbur tarafından gerçekleştirilmiştir. 1980 yılında Hawkes tarafından MRG' nin multiplanar özelliği tanımlanarak bu yöntemle ilk lezyon gösterilmiştir. (10,11,16).

MRG' nin kullanımı için başlıca gereklilik onun yumuşak doku kontrast çözümleme gücü en yüksek görüntüleme yöntemi olmasından kaynaklanmaktadır.

MRG' nin çalışma prensibi başlıca incelemenin yapıldığı cihazın manyetik alan gücüne bağlıdır. Aynı şekilde ana manyetik alan ve RF dalgalarına bağlı vücutta belirgin ısı artışına neden olabilmektedir.

MRG' de temel olarak sinyaller, proton yoğunluğuna bağlı olduğundan, bazı doku ya da oluşumlar yoğun sıvı içeriklerine bağlı daha belirgin etkilenme gösterebilirler.

Günlük pratikte MR çekimlerinin %60-80' lik bölümünü santral sinir sistemi (Beyin, beyin sapı, beyincik, omurga-omurilik-disk hastalıkları) incelemeleri oluşturmaktadır. Geri kalan yaklaşık %15-20'lik bir bölümünü kas-iskelet sistemi (Diz, kalça, omuz, el-ayak bileği, dirsek), geri kalanını ise abdomen (Karaciğer), pelvik, baş-boyun ve toraks incelemeleri oluşturmaktadır (3,4,23).

Tesla manyetik alan birimi olup 10.000 Gauss'a eşittir. Yerin manyetik alanı yaklaşık 0,5 Gauss olup görüntüleme amaçlı olarak kullanılan MR cihazlarının manyetik alan güçleri 0,15 ila 4 Tesla arasında değişmektedir. Daha yüksek teslalı cihazlar araştırma veya deneysel amaçlı olup rutin klinik uygulamada kullanılmamaktadır. 0,15–0,35 Tesla düşük, 0,5–1 Tesla orta ve 1,5 Tesla yüksek 3–4 Tesla cihazlar ultra yüksek Teslalı cihazlardır. Tesla gücünün artması yüksek MR sinyali anlamına gelip modern 1,5 Tesla cihazlar uygun yazılım içermeleri durumunda ileri nöroradyolojik uygulamaların hepsini gerçekleştirebilirler. 3 Tesla cihazların standart 1,5 Tesla cihazlara oranla pratikte ortalama 2 kat daha sinyal alabilmesi en önemli üstünlükleridir. Bu üstünlük pratikte aynı uzaysal çözünürlük kullanılarak 2 kat hız sağlayabildiği gibi aynı sürede 2 kat uzaysal çözünürlüğe sahip görüntü alınabilmesine olanak sağlar. Bu fazla sinyal radyoloğa farklı uygulamalarda esneklik kazandırır. Örneğin epilepsi görüntülemesinde 2 kat daha fazla çözünürlük bazı yapısal bozuklukların daha kolay tanımlanmasına, multiple skleroz vakalarında daha fazla lezyon belirlenmesine olanak sağlarken erken inme hastalarında 2 kat hızlı görüntü hastanın daha kolay ve hızlı tanı almasını sağlayabilir. (24,25)

2.6 Laboratuar Teknikleri

2.6.1 New Tekniği

Bu teknikte; inkübe edilen yumurtalar, istenilen evrede inkübatörden alınarak oda ısısında soğutulur. Yumurta kabuğu üzerine povidon iyodür ve sonrasında %70 etil alkol dökülerek sterilizasyon sağlanır. Yumurta kabuğu kırılarak geniş bir pencere açılır. Albümin künt bir forseps yardımıyla boşaltılır. Steril ve yeterli büyüklükteki bir cam kaba yolk'un üzerini tamamen kaplayacak şekilde steril %0,9 serum fizyolojik konulur. Bu esnada vitelline membrana yapışık olan albumin forsepsle temizlenir. Saat camı, blastodermi almak üzere hazır şekilde kaba

yerleştirilir. Sonrasında ince forsepsler ve ince uçlu makaslar kullanılarak vitellin membran yolk'tan yuvarlak bir kesiyle ayrılır. Vitellin membran her iki uçtan dikkatlice tutularak yolk'tan ayrılır ve membrana yapışık olan blastoderm, serum fizyolojik içinde ilerletilerek saat camı içerisine yerleştirilir. Sonrasında etrafına camdan yapılan halka yerleştirilerek blastodermin sabit kalması sağlanır. Bu aşamadan sonra, embriyolar ışık mikroskobu altında morfolojik olarak incelenebilir veya daha ileri çalışmalar için, in-vitro kültür ortamına alınabilir. (42,43)

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirurji Anabilim Dalı Nöroembriyoloji Laboratuarı' nda yapıldı. Patojen içermeyen, fertil, sıfırıncı gün beyaz Süper Nick cinsi yumurtalar Balıkesir, Banvit Tavukçuluk Enstitüsü' nden temin edildi. Çalışma için toplam 80 adet yumurta, ağırlıkları ölçülüp (ortalama ağırlık 65+-2), 37,8+-0,2 ^{0}C 'de ve %65–75 nem ortamında 2 saatte bir otomatik çevirim yapan kuluçka makinesinde 24 saat inkübe edildi. İnkübasyonun 24. saatinde tüm yumurtalar çıkarıldı ve yumurtalar dört temel gruba ayrıldı(n=20).

Grup1: 1 Tesla Grubu
Grup2: 1.5 Tesla Grubu
Grup3: 3 Tesla Grubu
Grup4: Kontrol Grubu

Manyetik rezonans (MR) incelemeleri 1 Tesla (General Electric (GE) Healthcare, 1999 Model Signa High Speed), 1.5 Tesla (GE Healthcare 1999 Model Signa Eco Speed) ve 3 Tesla (Siemens 2011 Model Magnetom Verio) MR cihazları ile gerçekleştirildi. Hastalara rutin olarak uygulanan lomber MR protokolü uygulandı. 1, 1.5 ve 3 Tesla MR cihazlarında rutin lomber MR incelemesi 1 ve 1.5 Tesla cihazlarda 10 dakika, 3 Tesla cihazda 7 dakika sürmektedir. Bu sürede T1, T2 ağırlıklı sagital planda fast-spin echo (FSE), T2 ağırlıklı aksiyel planda FSE incelemeleri yapıldı. 1 ve 1.5 Tesla MR cihazlarında T1 ağırlıklı sagital görüntüler için TR:650 msn, TE: 9 msn, T2 ağırlıklı sagital görüntüler için: TR: 3300 msn, TE: 98 msn, T2 ağırlıklı aksiyel planda görüntüler için TR: 3400 msn, TE: 95 msn olarak kullanıldı. 3 Tesla MR cihazlarında T1 ağırlıklı sagital görüntüler için TR:450 msn, TE: 18 msn, T2 ağırlıklı sagital görüntüler için: TR: 3000 msn, TE: 111 msn, T2 ağırlıklı aksiyel planda görüntüler için TR: 4000 msn, TE: 100 msn olarak kullanıldı. Kontrol grubu dışında tüm yumurtalar farklı cihazlarda birer lomber MR görüntülenmesi süresince manyetik alana maruz bırakıldı.

Daha sonra yumurtalar yeniden inkübatöre konuldu ve inkübasyon süresi 48 saate tamamlandı. Yumurtalar, inkübasyonun 48. saatinde embriyolojik gelişimin değerlendirilmesi için açıldı. New tekniği kullanılarak yumurtalar açıldı.

Parafin Doku Takibi

Embriyolar elde edildikten sonra %10‘ luk tamponlu formolin solüsyonu içerisinde 48 saat tespit edildi. Histolojik takip basamaklarına başlanmadan önce stereomikroskop (SRZ 1000-Nikon) altında her bir embriyonun Hamburger ve Hamilton civciv embriyo gelişim evrelemesine göre gelişimleri değerlendirilerek gelişim geriliği, anomali ve nöral tüp açıklığı yönünden incelemesi yapıldı, fotoğrafları çekildi. Tespit işlemi tamamlandıktan sonra embriyolar 5 dakika çeşme suyu ile yıkandı ve dehidratasyon amacı ile 2 kez 3’ er dakika olmak üzere sırasıyla %75, %96 ve %100’ lük etil alkol serilerinden geçirildi. Embriyoların görünürlüğünü sağlamak için %96’ lık etil alkol aşamasında bir damla eozin boyası ilave edildi. Şeffaflaştırma amacı ile 2 dakika ksilene tabi tutulan dokular 60ºC’ lik etüv içerisinde 10 dakika ksilen-parafin uygulandıktan sonra baş-kuyruk doğrultuları belirlenerek parafin bloklar içerisine gömüldü. Parafin bloklar buzdolabı alt rafında ($+4^0$C) kesit alınana kadar bekletildi. Kesit işlemine başlamadan önce -18^0C’ ye alınan bloklardan Leica RM 2125RT model sliding mikrotom ile 4 μm kalınlığında kesitler sıcak su banyosundan lam üzerine alındı.

Hematoksilen – Eozin Boyaması

Kesitler 60^0C’lik etüvde 1 saat bekletildikten sonra deparafinizasyon amacıyla 2 kez 30’ ar dakika ksilene tabi tutuldu. Rehidratasyon için sırasıyla %100, %96 ve %75 etanol serilerinden geçirilen dokular çeşme suyu ile yıkandı. Hematoksilen solüsyonu ile 1 dakika boyandıktan sonra çeşme suyu ile yıkandı ve ardından 1 dakika Eozin solüsyonu ile boyamayı takiben çeşme suyu ile yıkama yapıldı. Daha sonra %75, %96 ve %100 etanol serilerinden geçirilerek dehidratasyon işlemi uygulandı. Şeffaflaştırma amacı ile 30’ ar dakika iki kez ksilende tutulan kesitler entellan kullanılarak lamelle kapatıldı.

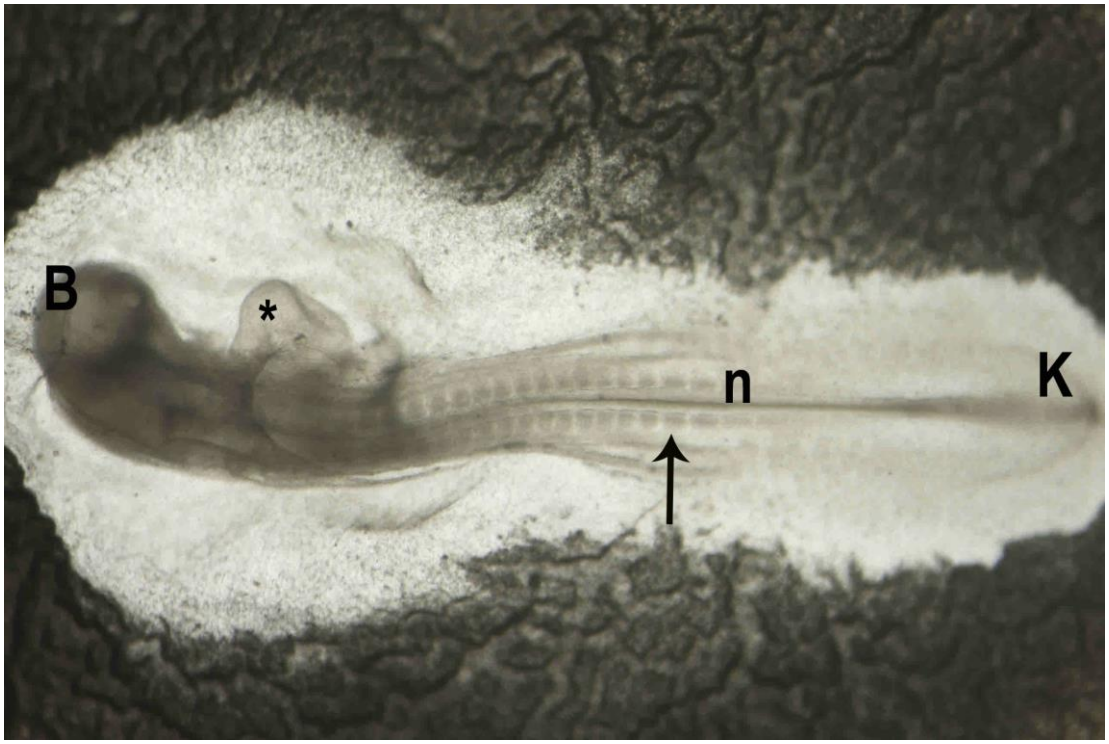
4. BULGULAR

Yapılan çalışma sonucunda 1 kontrol grubu olmak üzere 3 grup yumurta aynı sürelerde ancak değişen güçlerde manyetik alanlara maruz bırakıldı. Çeşitli nedenlerde kayıplar sonucunda 1. Grupta 14, 2. Grupta 18, 3. Grupta 17 ve 4. Grupta 17 olmak üzere toplam 66 yumurta histopatolojik olarak değerlendirilebilindi (Tablo 2).

Tablo 2. Gruplara göre embriyo sayıları

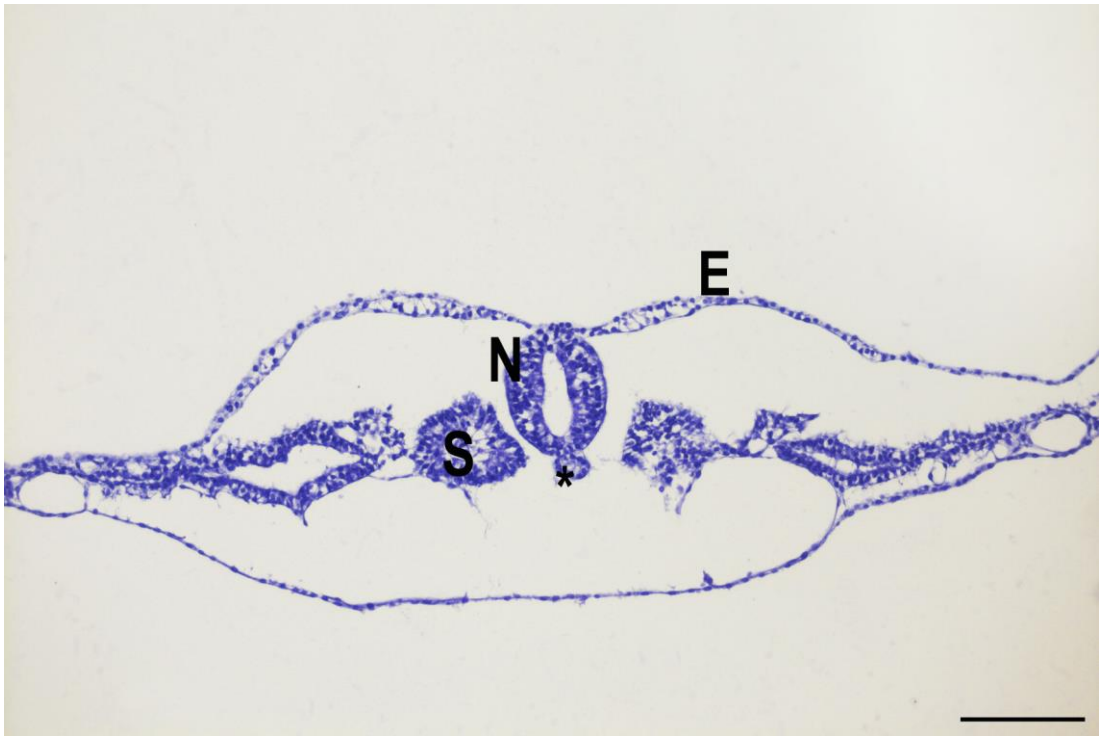
Grup	1	2	3	4
Embriyo Sayısı	14	17	18	17

Kontrol grubuna ait (Grup 4) 48 saatlik tüm embriyoların stereomikroskop altında incelenmesi sonucu Hamburger ve Hamilton sınıflamasına göre evre 12'de oldukları, 16 somit içerdikleri saptandı. Normal embriyonel gelişime uygun olarak embriyonun baş kısmının kıvrılmaya başladığı, kalbin ve gözün kolaylıkla seçildiği ve nöral tüpün kapandığı gözlendi (Resim 5). Bu grupta hiçbir embriyoda nöral tüp açıklığı ya da gelişme geriliği gözlenmedi (%0).



Resim 5. 48 saatlik, normal gelisim gösteren tavuk embriyosunun stereomikroskop görüntüsü. Baş (B), Kuyruk (K), Kalp kesesi (•), nöral tüp (n) X20.

Resim 5’ te okla belirtilen seviyeden alınan kesitin ışık mikroskobu incelemesinde, nöroektodermin çok katlı epitel özelliğinde olduğu, nöral tüpün kapandığı gözlendi. Ektodermin nöral tüpün üzerini örttüğü, notokord ve somitlerin gelişimle uyumlu oldukları izlendi (Resim 6).



Resim 6. Kontrol grubuna ait 48 saatlik embriyonun Hematoksilen- Eozin ile boyanmasının ışık mikroskobu görüntüsü. Notokord (*), Somit (S), Nöroektoderm (N), Ektoderm (E). Hematoksilen-Eosin. Bar: 50 μm.

1 Tesla manyetik alana maruz kalan 1. grupta 14 embriyodan 4' ünde nöral tüp açıklığı (%28,6) gözlendi. Bunların 3' ünde (%21.4) ise ayrıca gelişme geriliği mevcuttu. Bir embriyoda çift baş gelişimi gözlenirken (%7,1), bir embriyoda çift kuyruk gelişimi gözlendi (%7,1)(Resim 7).



Resim 7. 1 TESLA uygulanan embriyonda çift kuyruk gelişim anomalisi izlenmektedir(x20).

1,5 Tesla manyetik alana maruz kalan 2.gruptaki 18 embriyonun 10 tanesinde (%55.6) nöral tüp açıklığı izlenirken bunların 6 tanesinde ayrıca gelişme geriliği mevcuttu (%33,3)(Resim 8). Emryolardan birinde çift baş gelişim anomalisi gözlenirken (%5.5) (Resim 9) bir başka embriyoda kesenin tamamen boş olduğu gözlendi (%5.5)(Resim 10).



Resim 8. 1,5 TESLA uygulanan embriyonda gelişim geriliği ve beraberinde nöral tüp defekti izlenmektedir (x20).

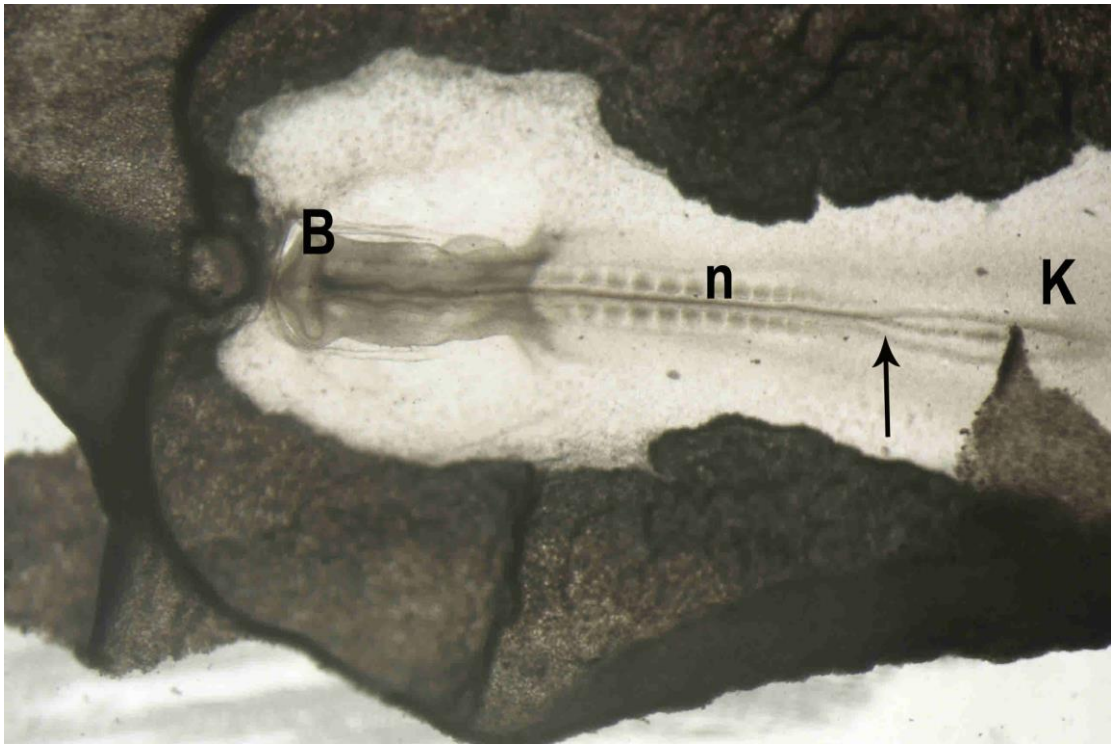


Resim 9. 1,5 TESLA uygulanan embriyonda gelişim anomalisi ve beraberinde nöral tüp açıklığı izlenmektedir (x20).

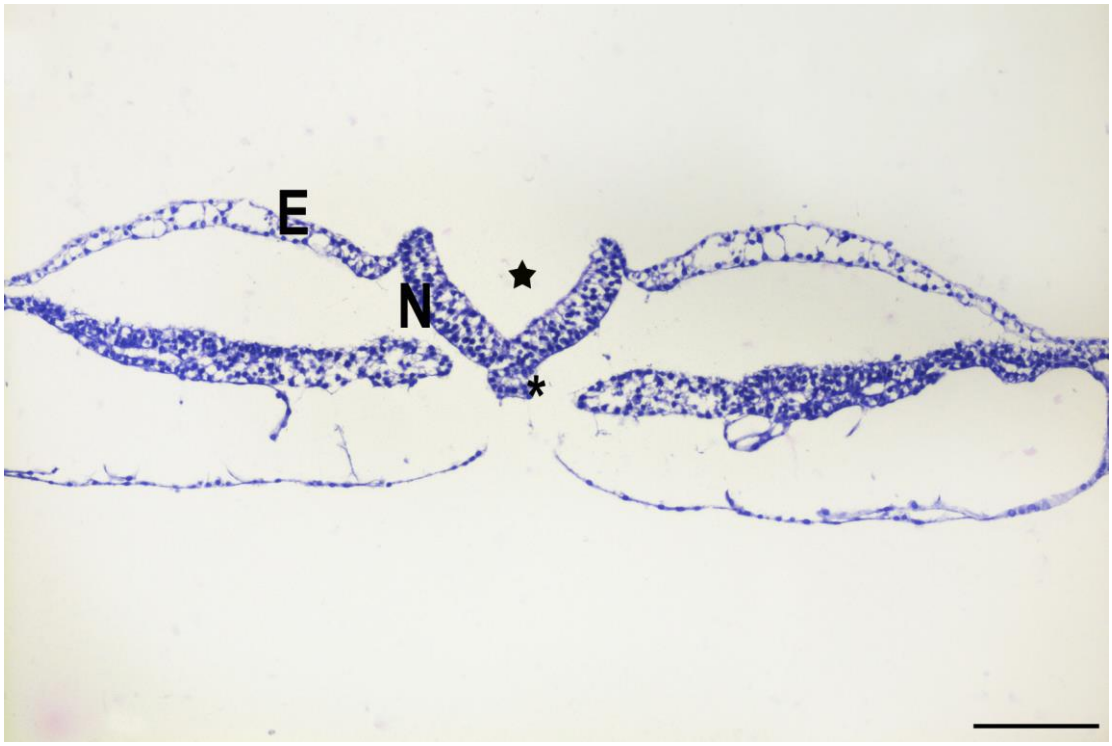


Resim 10. 1,5 TESLA uygulanan embriyonda boş kese görülmektedir (x20).

3. Teslaya maruz kalan 3. Grupta ise toplam 17 embriyonun 6' sında (%35.3) nöral tüp açıklığı izlenirken; 10'unda (%58.8) gelişim geriliği gözlendi (Resim 10,11). Bu grupta gelişme geriliği daha belirgin izlendi ve farklı olarak 4 yumurtada nöral tüp kapalı olduğu halde gelişme geriliği mevcuttu (%23.5).



Resim 11. 3 TESLA uygulanan embriyonda 13 somit içeren gelişim geriliği ve beraberinde nöral tüp açıklığı izlenmektedir. Baş (B), Kuyruk (K), nöral tüp (n) X20.



Resim 12. Resim 11'de okla belirtilen seviyeden alınan 48 saatlik 3 TESLA uygulanan embriyon kesitinin ışık mikroskobu incelemesinde, nöral tüp açıklığı (yıldız) izlenmektedir. Notokord (*), Nöroektoderm (N), Ektoderm (E). Hematoksilen-Eosin. Bar: 50 μm.

Tüm embriyolarda gözlenen sonuçlar gruplara göre nöral tüpte açıklık olup olmaması ve gelişme geriliği gözlenip gözlenmemesine göre aşağıdaki iki tabloda özetlenmiştir (Tablo 3 e 4).

Tablo 3. Tüm gruplarda nöral tüpün açık ya da kapalı olma oranları

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4 (Kontrol Grubu)
NT açık	4(%28.6)	10(%55.6)	6(%35.3)	0(%0)
NT kapalı	10 (%71.4)	8(%44.4)	11(%67.4)	17(%100)

Tablo 4. Tüm gruplarda gelişme geriliği görülme ve görülmeme oranları

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4 (Kontrol Grubu)
Gelişme Geri	3(%21.4)	6(%33.3)	10(%58.8)	0(%0)
Gelişme Normal	11 (%78.6)	12(%66.7)	7(%41.2)	17(%100)

4.1. İstatiksel analiz

Elde edilen sonuçların analizi SPSS 17.0 istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Sonuçlar gözlem sayısı ve % şeklinde ifade edildi. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olup olmadığı Fisher's exact chi-square testi uygulanarak değerlendirildi. P<0,05 için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Embroyalarda nöral tüpte açıklık olup olmaması durumu gruplara göre ayrı ayrı değerlendirildiğinde:

- Grup 1 ve Grup 4 arasında nöral tüp defekti açısından oluşan fark istatiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).
- Grup 2 ve Grup 4 arasında nöral tüp defekti açısından oluşan fark istatiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).
- Grup 3 ve Grup 4 arasında nöral tüp defekti açısından oluşan fark istatiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

Embriyolarda gelişme geriliği olup olmaması gruplara göre ayrı ayrı değerlendirildiğinde ;

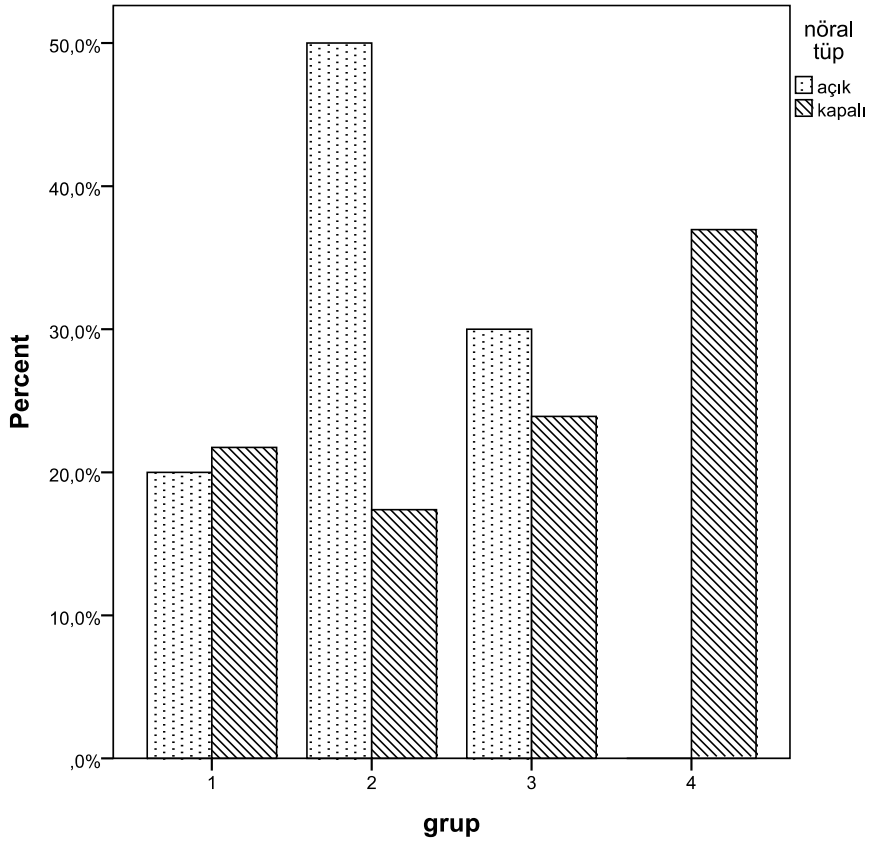
- Grup 1 ve Grup 4 arasında anomali açısından istatiksel olarak anlamlı fark olduğu ($p<0.05$) bulundu.
- Grup 2 ve Grup 4 arasında anomali açısından istatiksel olarak anlamlı fark olduğu ($p<0.05$) bulundu.
- Grup 3 ve Grup 4 arasında anomali açısından istatiksel olarak anlamlı fark olduğu ($p<0.05$) bulundu.

Nöral tüp defekti oranının artan tesla ile birlikte artması beklenmesine rağmen; 1.5 Teslaya maruz kalan embriyolarda gelişen nöral tüp defekti oranının (%55.6) çok az da olsa 3 Teslaya maruz kalan embriyolarda gelişen nöral tüp defekti oranından (%35.3) fazla olduğu izlendi. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı ($p>0.05$). Bu durumun 1 ve 1.5 Tesla MRG cihazlarında çekim süresinin 3 Tesla

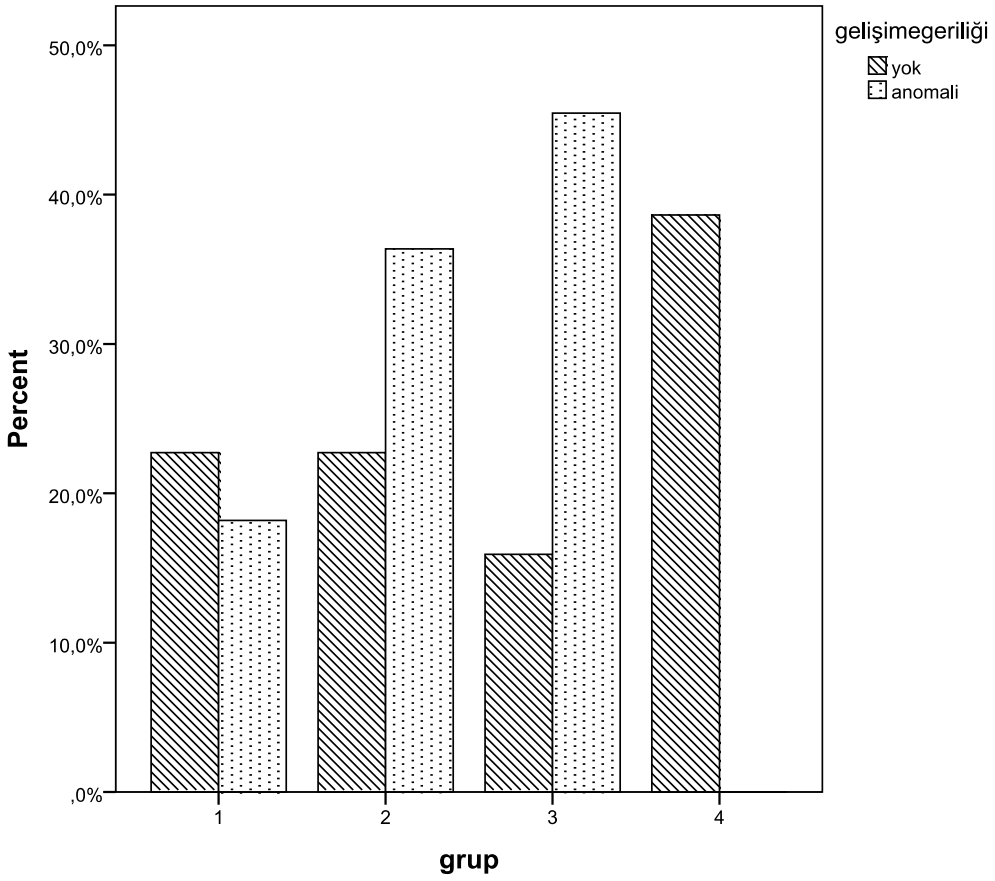
MRG cihazına göre 3 dakika daha uzun bir sürmesiyle ilişkili olup olmadığı ayrı bir tartışma konusu olabileceği düşünüldü.

Yine embriyolarda maruz kalınan tesla arttıkça gelişme geriliği oranının artabileceği öngörülmüş ve çalışma sonucunda bu varsayım doğrulanmıştır. En belirgin gelişme geriliği oranı 3 Tesla grubunda izlenmiş olup gruplar arası değerlendirildiğinde de bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 3,4).

Bunların dışında 1 Teslaya maruz kalan 1. Grupta bir embriyoda çift baş ve bir embriyoda çift kuyruk oluşumu gözlenirken bu malformasyonlarda kontrol grubuna kıyasla istatiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. 1.5 Teslaya maruz kalan 2. Grupta ise bir embriyoda çift baş oluşumu gözlenirken bir emryoda kesenin gelişmediği gözlendi. Yine bu malformasyonlar da kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Malforme embriyolar ve boş kese nöral tüpün açık ve gelişimin geri olduğu sınıflamada değerlendirilerek istatistiksel analiz yapıldı. Malforme embriyolar ile tesla ilişkisi ile ilgili yumurta sayısı arttırılarak anlamlı bir sonuç elde edilebilineceği düşünüldü. Yine bu durumun da 1 ve 1.5 Tesla MRG cihazlarında çekim süresinin 3 Tesla MRG cihazına göre 3 dakika daha uzun bir sürmesiyle ilişkili olup olmadığı ayrı bir tartışma konusu olarak incelenebileceği düşünüldü.



Şekil 4. Gruplara göre nöral tüpün açık ve kapalı olma oranları



Şekil 5. Gruplara göre gelişme geriliği görülme oranları

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Nöral tüp defekti, topluma getirdiği sıkıntıların yanı sıra önlenebilir olması nedeniyle ciddi araştırma konusu olmuştur.

Etyolojisi daha önce de bahsedildiği gibi genetik ve çevresel faktörler (anne yaşı, ilaç kullanımı, folat eksikliği, obezite v.b) olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. NTD nin oluşum mekanizmasını anlamak için nörülasyonun bütün basamaklarını bilmek gerekir.

Nöral tüp gelişimi ekstrinsik ve intrinsik faktörler tarafından düzenlenen multifaktöryel bir süreçtir (16). Yüksek vertebralı canlılarda nörülasyon iki fazda gerçekleşir: primer ve sekonder.

Primer nörülasyon sırasında daha önce de bahsedildiği gibi yassı ektodermal nöral plak nöral tüpe dönüşür. Bu süreç ise birbiri ardına girmiş 4 bölümden oluşur:

1. Ektodermin kalınlaşmasıyla nöral plağın oluşumu
2. Nöral plağın şekillenmesi
3. Nöral plağın bükülmesi
4. Nöral yarığın kapanması.

Kaudal nöroporun kapanmasının ardından spinal kordun en kaudal kısmının (Kaudal eminens) kapanmasıyla sonuçlanan sekonder nörülasyon görülür. Kaudal eminens, regrese olan primitif streakten köken alan pluripotent hücrelerden oluşur. Bu hücrelerden nöral kord, arka barsağın bir kısmı, kaudal somit ve kaudal notokord gelişir. Daha sonra mezenşimal kord, epitelyal korda dönüşüp primer nöral tüple birleşerek spinal kordun geri kalan sakral ve koksigeal segmentlerini oluşturur (1).

Nöral plaktan nöral tüpe dönüşüm başlıca nöral ektoderm hücrelerinin şekillerinde değişme olmasıyla sağlanır. Bu hücrelerin apikal kısımlarında mikrofilamanların belirmesi ve kontraksiyonuyla hücre şeklinde değişme de başlamış olur (44). Mikrotübüller hücre yüksekliklerinin artması ve kübik hücrelerin prizmatik yapı kazanmasında etkilidir. Mikrofilamanlar ve aktin bağlayıcı proteinler ise nöral plağın yükselmesi, bükülmesinde etkilidirler. Sonuç olarak nörülasyonun başlangıcından tamamlanmasına kadar geçen süreçte yukarda da bahsedildiği gibi

mikrotübüler ve mikrofilaman yapılar ana görev üstlenmektedir. Bu süreçte temel rol alan kimyasal kalsiyumdur (40,44,45).

Geçtiğimiz yüzyıl boyunca manyetik alanların etkileri ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır. Kimi otörler terapötik etkinliğinden bahsederken kimileri neoplastik süreçlere yola açabilecek çeşitli basamakları tetikleyebileceğini öne sürmüşlerdir. (39,40)

Manyetik alanlar çevremizde doğal olarak ve suni kaynaklarda bulunmaktadır. Manyetik alanların temel karakteristiğini dalga boyu ve frekans oluşturur. Frekans kabaca saniyedeki titreşim sayısı dalga boyu ise iki dalga arasındaki mesafedir. Frekans arttıkça dalga boyu kısalır, azaldıkça dalga boyu uzar. Yüksek frekans ve kısa dalga boylarında daha yüksek enerjiler taşınır. Manyetik alanlar frekanslarına göre düşük, orta ve yüksek olarak sınıflandırılabilinir. 300 Hz' e kadar olan frekanslar çok alçak frekans alanlarını oluşturur ve bunlara örnek olarak elektrik aletleri verilebilir. 300 Hz ile 10 MHz arası frekanslar ara frekansları oluşturup bunlara örnek olarak ise endüstriel kullanımlar ve elektrikli ev aletleri verilebilir. 10MHz – 300GHz arası dalgalar yüksek frekans dalgalarıdır.

MR tetkikinde diğer birçok radyolojik görüntüleme yöntemlerinden farklı olarak x ışınları (radyasyon) kullanılmaz. Burada cihazı oluşturan dev bir mıknatıs ve radyo dalgaları söz konusudur. Dev mıknatıs içine yerleştirilen insan vücudundaki hücreler içinde bulunan su atomlarının çekirdeklerindeki protonlar, radyo dalgaları ile uyarılır ve geri alınan sinyaller bilgisayar aracılığıyla görüntüye dönüştürülür. Bu bağlamda MR cihazının alçak frekansta bir manyetik alan oluşturduğu söylenebilir.

Görüntüleme sırasında RF enerji, MR görüntüsü elde etmek amacıyla vücuda aralıklı olarak uygulanır. Bu enerjinin bir kısmı vücut tarafından emilir ve bir miktar ısı artışı ortaya çıkar. Bu ısının hücresel düzeyde biyolojik etkileri net olarak bilinememektedir. Bu ısının teratojenik etkinin nedenlerinden biri olup olmadığı ayrı bir araştırma konusu olabilir.

Manyetik alanlar çalışma prensiplerine bağlı olarak hücrelerin elektrokimyasal dengelerine zarar verebilirler (45). Liburdy ve arkadaşları manyetik alana hücresel düzeyde yanıtın en belirgin olarak hücre zarında olduğunu savunmakta olup bu etkinin özellikle iyon kanallarını etkilediği ve etkilenen iyon kanallarından en belirgin olanının kalsiyum kanalları olduğu öne sürülmüşlerdir (48). Burdan yola

çıkıldığında daha önce de bahsettiğimiz gibi nöral tüp gelişiminde Ca^{++} iyonunun rolü göz önüne alındığında manyetik alanların NTD gelişiminde rolü olduğu hipotezlenebilinir.

Tenford ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarında düşük frekanslı manyetik alanların (0-300 Hz) protein sentezini inhibe edebileceğini; DNA ve/veya RNA yapısını bozabileceğini; hücre yapılanması ve farklılaşmasında gerekli hormonların üretimini inhibe edebileceğini öne sürmüştür (49).

Delgado ve arkadaşları manyetik alanın embriyolojik gelişmedeki biyolojik etkileri üzerine deneysel bir çalışma düzenlemiştir. Bu çalışmada döllenmiş Gallus domesticus yumurtası inkubasyonlarının 48. Saatinde farklı intensitelerde düşük frekanslarda manyetik alanlara maruz bırakılmış ve sonrasında yaptıkları histopatolojik incelemelerde embriyoların serebral damarlarında, ön bağırsaklarında ve somitlerinde gerileme saptamışlardır. Yine bu çalışmada bu hayvanların beyin dokusunda glikozaminoglikanların düşük seviyede olduğunu saptamışlar ve gelişmedeki bu geriliğin düşük glikozaminoglikanlara bağlı olabileceğini öne sürmüşlerdir. Glikozaminoglikanlar hücre zarının ve ekstraselüler matriksin ana komponentlerinden olup hücre proliferasyonu regülasyonunda rol alırlar (50,51).

Bizde çalışmamızda manyetik rezonans görüntülemenin embriyolojik gelişime etkisini araştırdık. Farklı tesla güçlerinde cihazlarda manyetik alana maruz bırakılan embriyolarda nöral tüp kapanma defektleri geliştiğini ve embriyoların histolojik olarak gelişme geriliği gösterdiğini saptadık ve bu bulgular istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). Özellikle artan tesla gücü ile gelişme geriliğindeki artışın istatistiki olarak anlamlı bulunması ve kontrol grubuna kıyasla tüm diğer gruplarda nöral tüp kapanma anomalisi saptanması çarpıcıydı.

Yinede literatürde ve çalışmamızda eksik olan MRG yönteminin embriyoda oluşturduğu teratojenik etkinin oluşum mekanizmasıdır. Bu konuyla ilgili çeşitli hipotezler ortaya atılsa da kesin mekanizma hala bilinememektedir. Bu konuyla ilgili daha fazla sayıda yumurta ile moleküler düzeyde çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamız sonucu direkt olarak insan embriyoları ile kıyaslanamasa da elde edilen sonuçlardan yola çıkarak manyetik alanların embriyoda yaratabileceği etkiler göz önüne alındığında özellikle gebeliğin ilk trimestrında MRG cihazlarından uzak kalınmasına dikkat çekilebilir.

Bu elde edilen sonuçlar neticesinde günümüzde güncel bir tanı aracı olarak kullanılan manyetik rezonans görüntülemenin neden olduğu manyetik alanın embriyonik dönemde maruziyetinin orta hat kapanma kusurlarına ve embriyoda gelişme geriliğine neden olabileceği tavuk embriyolarında gösterilmiş olup bu etkinin insan embriyosunda da görülme ihtimalinin olabileceği düşünülmektedir.

6. ÖZET

Nöral tüp defekteleri embriyonel hayatın ilk haftalarında beyin, spinal kord ve omurgada kapanma hatası sonucu ortaya çıkan bir grup kranial ve spinal anomalidir. Nöral tüp defektleri, topluma getirdiği sıkıntılarının yanı sıra önlenebilir olması nedeniyle ciddi araştırma konusu olmuştur.

Magnetik rezonans görüntüleme (MRG) insan vücudu üzerinde güçlü bir manyetik alan oluşturmak suretiyle insan vücudunun yaklaşık %63' ünü oluşturan hidrojen atomlarının dağılımına göre insan vücudunu haritalandıran bir görüntüleme tekniğidir.

Biz bu çalışmada güncel bir görüntüleme yöntemi olan Manyetik Rezonans Görüntülemenin civciv embriyolarında orta hat kapanmasına etkisini ve NTD oluşturup oluşturmadığını incelemeyi amaçladık.

Farklı tesla güçlerinde cihazlarda manyetik alana maruz bırakılan embriyolarda nöral tüp kapanma defektleri geliştiğini ve embriyoların histolojik olarak gelişme geriliği gösterdiğini saptadık ve bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.05$). Özellikle artan tesla gücü ile gelişme geriliğindeki artışın istatistiki olarak anlamlı bulunması ve kontrol grubuna kıyasla tüm diğer gruplarda nöral tüp kapanma anomalisi saptanması çarpıcıydı.

Bu elde edilen sonuçlar neticesinde günümüzde güncel bir tanı aracı olarak kullanılan manyetik rezonans görüntülemenin neden olduğu manyetik alanın embriyonik dönemde maruziyetinin orta hat kapanma kusurlarına ve embriyoda gelişme geriliğine neden olabileceği tavuk embriyolarında gösterilmiş olup bu etkinin insan embriyosunda da görülme ihtimalinin olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Manyetik rezonans görüntüleme, tavuk embriyosu, nöral tüp defekti

7. ABSTRACT

Neural tube defects (NTD) occur in the first weeks of embryonic life and develop due to incomplete closure of neural tube. Alongside their social consequences NTD are important because of their preventability

Magnetic resonance imaging (MRI) principles are based on mapping hydrogen atoms that forms approximately 63% of human being.

In this study we aimed to research effect of MRI on midline closure of chick embryos and whether cause NTD or not.

We determined statistically significant neural tube closure defects and histologically growth retardation on chick embryos those exposed different Tesla powers of magnetic fields ($p<0.05$). Striking feature of the study was the increment in the growth retardation was correlated with increasing Tesla.

With all these findings as a current diagnostic tool, MRI, can cause midline closure defects and growth retardation. From this aspect it is a possibility those effects can also occur in human embryos.

Key Words: Magnetic resonance imaging, chick embryo, neural tube defects

8. KAYNAKLAR

1. Etiology, pathogenesis and prevention of neural tube defects, Rengasamy Padmanabhan Department of Anatomy, Faculty of Medicine and Health Sciences, UAE University, Al Ain, United Arab Emirates; *Congenital Anomalies* 2006; 46, 55–67

2. Clinical care of pregnant women with epilepsy: Neural tube defects and folic acid supplementation; Mark S. Yerby North Pacific Epilepsy Research, Portland, Oregon, USA; Epilepsia 44(Suppl. 3): 33-40, 2003

3. Y eşildağ A, Oyar O. Manyetik rezonans görüntüleme fiziği. Oyar O, Gülsoy UK ed. Tıbbi Görüntüleme Fiziği. Tisamat Basım, Ankara, 2003: 281-372

4. Oyar O. Radyolojide Temel Fizik Kavramlar. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 1998: 151-210. 2.Bushong SC. Radiologic Science for Technologists. Physics, Biology, and Protection. Third edition, C.V. Mosby Company, St Luis, 1984: 387-412.

5. Temel Nöroşirurji, Türk Nöroşirurji Derneği cilt 2; sy 1365-6, 2005

6. Harden C. Safety profile of levetiracetam. Epilepsia 2001; 42(suppl 4): 36-9

7. Gebelik ve nöral tüp defektleri Emine Coşar, Gülengül Köken, Reşit Köken, Figen Kır Şahin, Evren Yeşildağer, Dağıstan T. Arıöz, Hamide Melek, Mehmet Yılmazer; *Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi, (TJOD Derg), 2009; Cilt: 6 Say›: 3 Sayfa: 193- 6*

8. Tunçbilek E, Alikaflifoğlu M, Akadlı B, Hancıoğlu A, Boduroğlu K. Türkiye'de konjenital malformasyon sıklığı, dağılımı, risk faktörleri ve yenidoğanların antropometrik değerlendirilmesi. Ankara: TUBİTAK Matbaası 1996: 945.

9. Mortimer EA. The puzzling epidemiology of neural tube defects. Pediatrics 1980; 65: 63640.

10. Oyar O, Yünten N. Hızlı görüntüleme MR teknikleri ve klinik uygulamaları. Bilgisayarlı Tomografi Bülteni 1994; 3(2): 169-173.

11. 5.Frahm J, Gyngell ML, Hanicke W. Rapid scan techniques. In: Magnetic Resonance Imaging. Stark DD, Bradley WG. eds. Second ed. Mosby year book St. Louis 1992: 165-203.

12. Becerra JE, Khoury MJ, Cordero JF, Erickson JD. Diabetes mellitus during pregnancy and the risks for specific birth defects: a populationbased case-control study. Pediatrics 1990;85:1–9.

13 . Edwards MJ, Shiota K, Smith MSR, Walsh DA. Hyperthermia and birth defects. Reprod Toxicol 1995;9:411–425.43

14. Graham JM Jr, Edwards MJ, Edwards MJ. Teratogen update: gestational effects of maternal hyperthermia due to febrile illnesses and resultant patterns of defects in humans. Teratology 1998;58:209–221.

15. Socioeconomic Status, Neighborhood Social Conditions, and Neural Tube Defects; Cathy R. Wasserman, PhD, Gary M. Shaw, DrPH, Steve Selvin, PhD, Jeffrey B. Gould, MD, MPH, and S. Leonard Syme, PhD; November 1998, Vol. 88, No. 11

16. Nathalie M.J. van der Put, Henny W.M. van Straaten, Frans J.M. Trijbels and Henk J. Blom Folate, Homocysteine and Neural Tube Defects: An Overview *Experimental Biology and Medicine* 2001, 226:243-270.

17. Nieuwkoop PD. The neural induction process: Its morphogenetic aspects. Int J Dev Biol 43 SI:615–623, 1999.

18. Bachiller D, Klingensmith J, Kemp C, Belo JA, Anderson RM, May SR, McMahon JA, McMahon AP, Harland RM, Rossant J, De Robertis EM. The organizer factors Chordin and Noggin are required for mouse forebrain development. Nature 403:658–661, 2000.

19. Jacobson AG, Gordon R. Changes in the shape of the developing vertebrate nervous system analyzed experimentally, mathematically and by computer simulation. J Exp Zool 197:191–246, 1976.

20. Schoenwolf GC. Cell movements driving neurulation in avian embriyos. Development 2:(Suppl)157–168, 1991.

21. Joó JG, Beke A, Papp C, et al (2007). "Neural tube defects in the sample of genetic counselling". Prenat. Diagn. 27 (10): 912–21. doi:10.1002/pd.1801. PMID 17602445

22. Smith JL, Schoenwolf GC. Notochordal induction of cell wedging in the chick neural plate and its role in neural tube formation. J Exp Zool 250:49–62, 1989.

23. 6.Edelman RR, Wielopolski PA. Fast MRI. In: Edelman RR, Hessellink JR. eds. Clinical Magnetic Resonance Imaging. Second ed. W.B Saunders Company, Phileadelphia 1996: 302.

24. Alvarez-Linera J. 3T MRI: advances in brain imaging. Eur J Radiol 2008; 67:415-426.

25. Wattjes MP, Harzheim M, Lutterbey GG, et al. Does high field MRI allow an earlier diagnosis of multiple sclerosis? J Neurol 2008; 255:1159-1163.

26. Hildebrand JD, Soriano P. Shroom, a PDZ domain-containing actinbinding protein, is required for neural tube morphogenesis in mice. Cell 99:485–497, 1999.

27. Van Straaten HWM, Janssen HCJP, Peeters MCE, Copp AJ, Hekking JWM. Neural tube closure in the chick embriyo is multiphasic. Dev Dynamics 207:309–318, 1996.

28. Alvarez IS, Schoenwolf GC. Expansion of surface epithelium provides the major extrinsic force for bending of the neural plate. J Exp Zool 261:340–348, 1992.

29. Hackett DA, Smith JL, Schoenwolf GC. Epidermal ectoderm is required for full elevation and for convergence during bending of the avian neural plate. Dev Dynamics 210:397–406, 1997.

30. Van Straaten HWM, Peeters MCE, Szpak KWF, Hekking JWM. Initial closure of the mesencephalic neural groove in the chick embriyo involves a releasing zipping-up mechanism. Dev Dynamics 209:333–341, 1997.

31. Tam PP. A study of the pattern of prospective somites in the presomitic mesoderm of mouse embriyos. J Embriyol Exp Morphol 92:269–285, 1986.

32. Mu¨ller F, O'Rahilly R. The development of the human brain, the closure of the caudal neuropore, and the beginning of the secondary neurulation at stage 12. Anat Embriyol 176:413–430, 1987.

33. Copp AJ, Brook FA. Does lumbosacral spina bifida arise by failure of neural folding or by defective canalization? J Med Genet 26:160– 166, 1989.

34. http://scienceblogs.com/pharyngula/2007/03/basics_neurulation.php

35. http://images.google.com.tr/imgres?imgurl= http://biology.kenyon.edu/courses/biol114/Chap14/PEPhelpsneurulation.jpg

36. Judith G. Hall* and Fatima Solehdin (1998) Genetıcs Of Neural Tube Defects Mental Retardatıon And Developmental Dısabılıtıes Research Revıews4: 269–281

37. American Academy of Pediatrics, Policy statement. Folic acid for the prevention of neural tube defects. Pediatrics September 1993;92(3):493-4

38. Tunçbilek E. ve ark. Türkiye'de konjenital malformasyon sıklığı, dağılımı, risk faktörleri ve yenidoğanların antropometrik değerlendirmesi. TÜBİTAK Matbaası, Ankara 1996.

39. Loscher W., Mevissen M., Lehmacher W. and Stamm A. (1993). Tumor promotion in a breast cancer model by exposure to a weak alternating magnetic field. Cancer Lett. 71, 75-81.

40. Harris A.W., Basten A., Gebski V., Noonan D., Finnie J., Bath M.L., Bangay M.J. and Repacholi M.H. (1998). A test of lymphoma induction by long-term exposure of E mu-Pim1 transgenic mice to 50 Hz magnetic fields. Radiat. Res. 149, 300-307.

41. Hamburger V, Hamilton HL. A series of normal stages in the development of the chick embriyo. J. Morph. 1951; 88; 49–92.

42. Ünlü A. Methods of developmental research. Acta Neurochir Suppl. 2002;83:71- 8.

43. Andacht T, Hu W, Ivarie R. Rapid and improved method for windowing eggs accessing the stage X chicken embriyo. Mol Reprod Dev. 2004; 69(1):31- 4.

44. Smedley MJ, Stanisstreet M. Calcium and neurulation in mammalian embriyos. II. Effects of cytoskeletal inhibitors and calcium antagonists on the neural folds of rat embriyos J. Embriyol. exp. Morph. *93, 167-178 (1986)*

45. Panagopoulos D.J., Karabarbounis A. and Margaritis L.H. (2002). Mechanism for action of electromagnetic fields on cells. Biochem. Biophys. Res. Commun. 298, 95-102.

46. Lorna J. Breckenrıdge And Anne E. Warner; Intracellular sodium and the differentiation of amphibian embriyonic neurones; J. Phy8iol. (1982), 332, pp.393-413

47. Patrıcia Ybot-Gonzalez and Andrew J. Copp, Bending of the Neural Plate During Mouse Spinal Neurulation Is Independent of Actin Microfilaments; Developmental Dynamics 215:273–283 (1999)

48. Liburdy R.P. (1992). Biological interations of cellular systems with time-varying magnetic fields. Ann. N. Y. Acad. of Sci. 31, 74-95.

49. Tenforde T.S. (1991). ELF field interations at the animal, tissue and cellular levels. Electromagnetic Biol. Med. 39, 225-245.

50. Ubeda A., Trillo M.A., Chacon L., Blanco M.J. and Leal J. (1994). Chick embriyo development can be irreversible altered by early exposure to weak extremely low frequency magnetic fields. Bioelectromagnetics 15, 385-398.

51. Delgado J.M., Leal J., Monteagudo J.L. and Gracia M.G. (1982). Embriyological changes induced by weak, extremely low frequency electromagnetic fields. J. Anat. 134, 533-551.