



T.C.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

DURSUN ODABAŞ TIP MERKEZİ

**NÖRAL TÜP DEFEKTİNİN GELİŞİMİNDE MATRİKS
METALLOPROTEİNAZLARIN ROLÜ**

Dr. Mehmet Edip AKYOL

Beyin ve Sinir Cerrahi Anabilim Dalı

TIPTA UZMANLIK TEZİ

VAN-2018



T.C.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

DURSUN ODABAŞ TIP MERKEZİ

**NÖRAL TÜP DEFEKTİNİN GELİŞİMİNDE MATRİKS
METALLOPROTEİNAZLARIN ROLÜ**

Dr. Mehmet Edip AKYOL

Beyin ve Sinir Cerrahi Anabilim Dalı

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANLARI

Prof. Dr. Mehmet ARSLAN

Doç.Dr. Mehmet TAŞPINAR

Bu çalışma VAN YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından TTU-2018-6941 No'lu proje olarak desteklenmiştir.

VAN-2018

ÖNSÖZ

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Beyin ve Sinir Cerrahi Anabilim Dalı'nın bir üyesi olmaktan mutluluk duyduğumu ve tüm zorluklarına rağmen hekimlik sanatını icra ediyor olmanın gururunu yaşadığımı belirtmek isterim.

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini tüm samimiyeti ve içtenliğiyle bana aktaran, her zaman yanımda olduğunu hissettiğim, tecrübelerinden faydalandığım ve bu yolda daima öncü olan çok kıymetli anabilim dalı başkanımız ve tez danışmanım sayın Prof. Dr. Mehmet ARSLAN 'a saygıyı ve teşekkürü borç bilirim. Bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, bu zorlu asistanlık sürecinde daima yanımda olduğunu gösteren değerli hocam Dr. Öğrt. Üyesi Abdurrahman AYCAN 'a teşekkür ederim.

Daha önce aramızda olup, şuan farklı bir yerde çalışan, bu mesleği sevmemde etkisi olan ve çalışkanlığından her daim ilham aldığım değerli hocam Doç. Dr. İsmail GÜLŞEN 'e teşekkür ederim.

Asistanlığımın ilk yıllarında birlikte çalıştığım, asistan olarak tüm tecrübelerini bana aktaran ve yardımcı olan değerli arkadaşlarım Uz. Dr. Abdulseamat GÖKALP, Uz. Dr. Enver SÖSUNCU ve Uz. Dr. Fethullah KUYUMCU 'ya teşekkür ederim.

Aramıza yeni katılan ve asistanlığımın son aylarında bana destek olan Uz. Dr. Nur TOPYALIN ve yeni asistan arkadaşım Dr. İrfan ZENGİN 'e teşekkür ederim.

Birlikte çalıştığımız süre içerisinde yetişmemde büyük emekleri olan kliniğimizdeki kıymetli mesai arkadaşlarıma, ilk günden itibaren bana aile sıcaklığını hissettiren ve güler yüzünü eksik etmeyen servis, ameliyathane ve polikliniğin tüm değerli çalışanlarına teşekkürü borç bilirim.

Tezimin planlanması, yapılması esnasında samimiyetine inanarak her zaman fikrini aldığım ve yardımseverliğini her daim gösteren, tezimin genetik aşamasında tüm bilgi ve tecrübesini kullanarak bana destek olan kıymetli hocam ve aynı zamanda ikinci tez danışmanım Doç. Dr. Mehmet TAŞPINAR 'a teşekkürü borç bilirim. Laboratuvar çalışmalarımda bana destek veren Farika DENİZLER ve Filiz TAŞPINAR 'a da teşekkür ederim.

Tezimin yazım aşamasında desteklerini esirgemeyen, güleryüzlülükleri ve samimiyetleriyle bana yardımcı olan Erdal GÜVENER ve Selçuk SÜRME'ye teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde en büyük paya sahip olan, hekimlik mesleğinin yoğun ve özverili temposu içerisinde ayakta durmamı sağlayan, sıkça ihmal etmeme rağmen desteğini hiçbir zaman benden esirgemeyip hep arkamda duran ailem, hayat arkadaşım biricik eşim Çiğdem ve hayatımın renkleri kızım Berra Asel ve Mehmet Eymen 'e sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Varlıklarıyla hayatıma değer katan tüm dostlarıma sonsuz teşekkürler.

ÖZET

Nöral Tüp Defekti (NTD) en yaygın ve en ağır klinik özelliklere sahip konjenital malfarmasyonlardan biridir. Embriyogenez sırasında nöral plağın nöral tüpü oluşturamaması sonucu NTD oluşur. NTD'nin birbirinden farklı özellik gösteren birçok tipi vardır. NTD gelişiminde genetik ve çevresel faktörler rol oynamaktadır. Beslenme (folik asit ve B vitaminleri eklenmesi) gibi çevresel faktörlerle NTD oluşumu engellenmeye çalışılsa da bu yaklaşım yeterli olamamaktadır. NTD'nin önlenmesi için prognostik, prediktif ve/veya terapötik genetik faktörlerin belirlenmesine ihtiyaç vardır. NTD gelişimini ve oluşumunu gösteren biobelirteç bulunmamaktadır. NTD gelişiminde ekstraselüler matriksin (ECM) oluşumu, nöral krest hücrelerinin göçü önemli rol oynamaktadır. Matriks metalloproteinazlar (MMP) ECM yapılanmasında, hücre göçünde, hücre invazyonunda ve diğer hücresel davranışların belirlenmesinde majör rol oynamaktadır. MMP ekspresyonlarının ve aktivasyonunun NTD'deki rolü bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı insan NTD gelişimindeki MMP-1, -2 ve -9 genlerinin ekspresyonlarının rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

NTD tanısı konan yeni doğan 40 bebek hastadan periferik kan ve NTD dokusu ile sağlıklı doğan 4 bebekten periferik kan alınmıştır. Periferik kan ve dokulardan total RNA izolasyonu ve kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Q-RT-PZR) ile MMP-1, -2 ve -9 gen ekspresyonları araştırılmıştır. İstatistiksel analiz için SPSS 20.0 kullanılmıştır.

MMP-1,-2 ve -9 gen ekspresyonları açısından hasta ile sağlıklı bireylerin kan örnekleri arasında ekspresyon farklılıkları saptanmıştır. NTD dokularındaki MMP'lerin ve özellikle MMP-1 ve MMP-9 gen ekspresyonlarının periferik kan örneklerine göre ortalama 2 ile 5000 kat yüksek olduğu saptanmıştır. NTD'nin alt tipleri arasında MMP-2 ekspresyonu açısından anlamlı farklılık saptanmıştır (p=0,012) Hastaların Ca^{+2} , B12 ve Folat seviyeleri ile NTD gelişimi ve MMP genlerinin ekspresyonları arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (p>0,05).

Bu çalışmada NTD araştırmalarında periferik kan yerine NTD dokusu kullanılması gerekliliği ortaya çıkmıştır. Ayrıca, bu çalışma NTD gelişiminde MMP'lerin önemli rollerinin olabileceğini ve MMP-1, -2 ve -9 genlerinin ekspresyonlarının NTD' patogenezinde rol oynayabileceğini gösteren literatürdeki ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: Nöral Tüp defekti, Matriks metalloproteinaz-1,-2, -9, Ekspresyon

ABSTRACT

Neural Tube Defect (NTD) is one of the most common congenital malformations and has the most severe clinical features. NTD occurs during the embryogenesis because of the neural plaque fails to form neural tube. There are many different types of NTD that have different characteristics. Genetic and environmental factors play an important role in the development of NTD. Several attempts such as diet (folic acid and B vitamins supplementation) have been suggested for the prevention of NTD formation. However, these approaches are not sufficient. It is need to determine the prognostic, predictive and/or therapeutic genetic factors for the prevention of NTD. There is no any biomarker that shows the development and occurrence of NTD. The formation of the extracellular matrix (ECM) plays an important role in the migration of neural crest cells in NTD development. Matrix metalloproteinases (MMPs) play a major role in ECM organization, cell migration, cell invasion, and other cellular behavior. The role of expression and activation of MMP in NTD is unknown. The aim of this study was to investigate the role of MMP-1, -2, and 9 genes expressions in the development of human NTD.

Peripheral blood samples and NTD tissues were collected from 40 new born babies diagnosed with NTD and peripheral blood samples were taken from only 4 healthy babies for control. Total RNA isolation were performed from peripheral blood and tissues samples and MMP-1,-2,-9 genes expressions were analyzed by Quantitative Real Time PCR (Q-RT-PCR). SPSS 20.0 was used for statistical analyses.

Expression differences between the blood samples of patients and healthy subjects were found in terms of MMP-1, -2, -9 genes expressions. MMPs especially MMP-1 and MMP-9 genes expressions in NTD tissues were found to be 2 to 5000 times higher than peripheral blood samples. The statistical difference was determined between subtypes of NTD in terms of MMP-2 gene expression ($p=0,012$). No significant relationship was found between Ca^{+2} , B12, Folat levels and development of NTD ($p> 0,05$).

The present study showed the necessity of using of NTD tissues in the diagnosis of NTD rather than peripheral blood that emerged in NTD studies. In addition, this study is the first report that shows the important role of MMPs in the development of NTD. MMP-1, -2 ve -9 genes expressions may play a significant role in the pathogenesis of NTD..

Keywords: Nöral Tüp Defects, Matrix Metalloproteinase-1,-2,-9, Expression

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖNSÖZ	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
İÇİNDEKİLER	IV
SİMGE VE KISALTMALAR	VIII
TABLO DİZİNİ	XI
ŞEKİL DİZİNİ	XII
RESİM DİZİNİ	XIII
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2. 1. Nöral Tüp Defektlerinin Tanımı	4
2. 2. Nöral Tüpün Gelişimi	4
2. 2. 1. Embriyolojik gelişim	4
2. 3. Nöral Tüp Defektinde Etyoloji	7
2. 3. 1. Çevresel Faktörler	8
2. 3. 2. Teratojenik Faktörler	9
2. 3. 3. Genetik Faktörler	11
2. 3. 3. 1. Ekstrasellüler Matriks	15
2. 3. 3. 2. Matriks Metalloproteinazlar.....	17
2.3. 3. 2. 1. Matriks Metalloproteinazların tarihçesi	20
2.3. 3. 2. 2. Matriks Metalloproteinazların moleküler yapısı	21
2.3. 3. 2. 3. Matriks Metalloproteinazların Regülasyon, aktivasyon.....	24

2.3. 3. 2. 4. Matriks Metalloproteinaz ailesinin üyeleri	28
2.3. 3. 2. 5. Matriks Metalloproteinaz-substrat ilişkisi	31
2.3. 3. 2. 6. Matriks Metalloproteinaz-İnhibitörleri ilişkisi.....	32
2.3. 3. 2.7. MMP-1 (İntersitisyel kollajenaz, Kollajenaz-1)	34
2.3. 3. 2. 8. MMP-2 (Jelatinaz tip A)	34
2.3. 3. 2. 9. MMP-9 (Jelatinaz tip B)	35
2.4. Nöral Tüp Defektinde Sınıflandırma	36
2.4.A. Nörilasyon Evresi Kusuruna Bağlı Disfarizimler	38
2.4.A.1. Spina bifida aperta	38
2.4.A.1.a. MyeloGizis	38
2.4.A.1.b. Meningomyelosel	38
2.4.A.1.c. Hemimeningomyelosel	41
2.4.A.1.d. Sringomeningomyelosel	41
2.4.A.1.e. Meningosel	41
2.4.A.2. Chiari malformasyonu	42
2.4.A.3. Dandy-Walker Malformasyonu	43
2.4.A.4. Kraniyum Bifidum	44
2.4.A.4.a. Ensefalosel	44
2.4.A.4.b. Anensefali	46
2.4.A.5. Okült Kraniyal Disfarizm	48
2.4.A.5.a.Aplasia Kutis Konjenita	48
2.4.A.5.b. Kraniyal Dermal Sinüs	49
2.4.A.6. Ayrık omirilik anomalisi (split kord malformasyonu-diaSTEMATOMİYELİ)	50
2.4.A.7. Nöroenterik kist	52

2.4.A.8. Anterior Sakral Meningosel	52
2.4.A.9. Konjenital Spinal Dermal Sinüs	52
2.4.A.10. Lumbosakral Lipoma	53
2.4.A.11. Anterior ve Posterior Spina Bifida Birlikteliği	54
2.4.B. Kuyruk Tomourcuğunun Rekanalizasyonu (Sekonder Nörilasyon) Evresi Kusurlarına Bağlı Disfarizmler	54
2.4.B.1. Gergin Omurilik Sendromu (Tethered Kord Sendromu)	55
2.4.B.2. Okkült İntrasakral Meningosel	56
2.4.B.3. Basit Okkült Spina Bifida	56
2.5. Nöral Tüp Defektinde Epidemiyoloji	56
2.6. Nöral Tüp Defektinde Tanı ve Korunma	57
3.MATERYAL VE METOD	61
3.1.Hasta Örneklerinin Alınması	61
3.2.Total RNA izolasyonu	61
3.2.1.Periferik Kan Örneklerinden Total RNA izolasyonu	62
3.2.2.Doku Örneklerinden Total RNA izolasyonu	63
3.2.3.RNA'nın kalitatif değerlendirilmesi	64
3.2.4.RNA'nın kantitatif değerlendirilmesi	65
3.3.cDNA (Complementer DNA) İzolasyonu ve Amplifikasyonu	65
3.4.RT-PZR (Gerçek Zamanlı PCR)	66
3.5.İstatistiksel Analiz	68
4.SONUÇLAR	69
4.1.Hastaların Seçimi ve Değerlendirilmesi	69
4.2.NTD Hastalarında MMP Ekspresyonları	73

4.2.1.Periferik Kanlarda ve Dokulardaki MMP-1 Ekspresyonları	73
4.2.2.Periferik Kanlarda ve Dokulardaki MMP-2 Ekspresyonları	76
4.2.3.Periferik Kanlarda ve Dokulardaki MMP-9 Ekspresyonları	79
4.2.4.Periferik Kan ile Doku Arasında Saptanan MMP Gen Ekspresyonları	82
4.2.5. NTD Klinik Verileri ile MMP Ekspresyonları Arasındaki İlişki	84
4.2.5.1. NTD Tipi, Ca ²⁺ , B12 ve Folat ile MMP Gen Ekspresyonları Arasındaki İlişki	84
4.2.5.2. Cinsiyet ile Ca ²⁺ , B12 ve Folat ile MMP Gen Ekspresyonları Arasındaki İlişki	86
4.2.5.3. Malformasyon varlığı ile Ca ²⁺ , B12 ve Folat ile MMP Gen Ekspresyonları Arasındaki İlişki	86
4.2.5.4. Ca ²⁺ , B12 ve Folat ile MMP Gen Ekspresyonları Arasındaki İlişki	86
4.2.5.5. Hipotroidisi olan NTD Hastalarda Ekspresyon Analizi	87
4.2.5.6. Sendromik olan NTD Hastalarda Ekspresyon Analizi	88
5.TARTIŞMA	89
6. KAYNAKÇA	95

SİMGELER VE KISALTMALAR

AFP	Alfa-Fetoprotein
AKK	Aplasia Kutis Konjenita
AOM	Ayrık Omirilik Malformasyonu
BOS	Beyin Omirilik Sıvısı
BT	Bilgisayarlı Tomografi
Ca ⁺²	Kalsiyum İyonu
CAT	Katalitik
CE	Convergent Extension
CNS	Santral Nervous Sistem
Ct	Cycle treshold (ekspresyon eşik değeri)
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DNase	Deoksi Nükleaz
E	Ensefalosel
ECM	Ekstrasellüler Matris
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
EMT	Epitelial Mezenkimal Dönüşüm
EtBr	Etidyum Bromür
FTF	Filum Terminale Fibrolipomu
G6PDH	Glukoz-6P Dehidrogenaz
GPI	Glikosilfosfatidil-inositol
HPX	Hemopeksin
İL-1	İnkerlökün-1
İL-6	İnterlökün-6
L1	Lomber 1

L2	Lomber 2
L2	Lomber 2
L3	Lomber 3
L5	Lomber 5
M	Meningosel
MicroRNA	Mikro Ribo Nükleik Asit
MMP	Matriks Metalloproteinaz
MMPI	Matriks Metalloproteinaz İnhibitörü
MMS	Meninmyelosel
MRI	Manyetik Rezonans Görüntüleme
MSS	Merkez Sinir Sistemi
MŞ	Miyeloşizis
MT-MMP	Membran Tipi Matriks Metalloproteinaz
NC	Nöral Cell
NCC	Nöral Crest Cell
NEK	Nöroenterik Kist
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
Non-NCC	Nöral olmayan Ektoderm
NT	Nöral Tüp
NTC	Neural Tube Closure
NTD	Nöral Tüp Defekti
PCP	Planary Cell Polarity
PCPE	Prokollajen C Proteinaz Arttırıcı Protein
PDGF	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PGE2	Prostaglandin E2

PTK-7	Protein-Kinaz 7
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RBC	Red Blood Lysis
RNA	Ribo Nükleik Asit
RNase	Ribo Nükleaz
RTaz	Revers transkriptaz
RT-PZR	Real-Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu
S1	Sakral 1
S2	Sakral 2
SCM	Split Kord Malformasyonu
SSS	Santral Sinir Sistemi
TBE	Tris Buffer EDTA
TFPI2	Doku Faktörü Yolağı İnhibitörü-2
TGF- β	Transformik Büyüme Faktörü- β
TIMP	Spesifik Endojen Doku İnhibitörü
TKS	Tethered Kord Sendromu
TM	Transmembran
TNF- α	Tümör Nekroz Faktörü- α
uPA	Ürokinaz Plazminojen Aktivatör
USG	Ultrasonografi
Zn ⁺²	Çinko İyonu

TABLO DİZİNİ

Tablo 2.1	NTD oluşumuna en sık neden olan teratojenler	10
Tablo 2.2	MMP'lerin rol aldığı biyolojik süreçler	18
Tablo 2.3	MMP'lerin rol aldığı patolojik durumlar	19
Tablo 2.4	MMP türlerine ait sınıflandırma	30
Tablo 2.5	MMP - substrat ilişkisi	32
Tablo 3.1	cDNA sentezin hazırlanan reaksiyon içeriği	65
Tablo 3.2	RT-PZR'da kullanılan primerler	67
Tablo 3.3	RT-PZR için reaksiyon içeriği aşağıdaki tabloda gösterilmiştir	67
Tablo 4.1	Hastaların Genel Bilgileri	70
Tablo 4.2	NTD Hastalarının Klinik Bulguları	71
Tablo 4.3	NTD Tipi, Ca ²⁺ , B12 ve Folat ile MMP Gen Ekspresyonları Arasındaki İlişki	85
Tablo 4.4	Cinsiyet ile Ca ²⁺ , B12 ve Folat ile MMP Gen Ekspresyonları Arasındaki İlişki	86
Tablo 4.5	Malformasyon varlığı ile Ca ²⁺ , B12 ve Folat ile MMP Gen Ekspresyonları Arasındaki İlişki	86
Tablo 4.6	Ca ²⁺ , B12 ve Folat ile MMP Gen Ekspresyonları Arasındaki İlişki	87
Tablo 4.7	Hipotroidisi Olan NTD Hastalarında Ekspresyon Değişikliklerinin Kat Değişimi Olarak Gösterimi	87
Tablo 4.8	Sendromik Anomalisi olan NTD Hastalarında Ekspresyon Değişikliklerinin Kat Değişimi Olarak Gösterimi	88

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 2.1	MMP genel domain yapısı	21
Şekil 2.2	MMP'lerin domain yapılarına göre alt grupları	24
Şekil 2.3	MMP enzim aktivitesinin düzenlenmesi	26
Şekil 2.4	MMP süperaillesine ait sınıflandırma	28
Şekil 2.5	Matriks metalloproteinaz-9 yapısı	36
Şekil 4.1	Periferik Kanda MMP-1 Ekspresyonu Azalan Hastalar	74
Şekil 4.2	Periferik Kanda MMP-1 Ekspresyonu 1,1-150 Kat Artan Hastalar.....	74
Şekil 4.3	NTD Dokularında MMP-1 Ekspresyonu Azalan Hastalar	75
Şekil 4.4	NTD Dokularında MMP-1 Ekspresyonu 1,1-100 Kat Artan Hastalar	75
Şekil 4.5	NTD Dokularında MMP-1 Ekspresyonu 101-5000 Kat Artan Hastalar.	75
Şekil 4.6	Periferik Kanda MMP-2 Ekspresyonu Azalan Hastalar	77
Şekil 4.7	Periferik Kanda MMP-2 Ekspresyonu 1.1-150 Kat Artan Hastalar	77
Şekil 4.8	NTD Dokularında MMP-2 Ekspresyonu Azalan Hastalar	78
Şekil 4.9	NTD Dokularında MMP-2 Ekspresyonu 1,1-100 Kat Artan Hastalar ..	78
Şekil 4.10	NTD Dokularında MMP-2 Ekspresyonu 101-5000 Kat Artan Hastalar .	78
Şekil 4.11	Periferik Kanda MMP-9 Ekspresyonu Azalan Hastalar	80
Şekil 4.12	Periferik Kanda MMP-9 Ekspresyonu 1,1-15 Kat Artan Hastalar ...	80
Şekil 4.13	NTD Dokularında MMP-9 Ekspresyonu Azalan Hastalar	81
Şekil 4.14	NTD Dokularında MMP-9 Ekspresyonu 1,1-100 Kat Artan Hastalar	81
Şekil 4.15	NTD Dokularında MMP-9 Ekspresyonu 101-5000 Kat Artan Hastalar	82
Şekil 4.16	NTD hastalarına ait periferik kan ve dokulardaki MMP-1 Ekspresyon farklılıkları	82
Şekil 4.17	NTD hastalarına ait periferik kan ve dokulardaki MMP-2 Ekspresyon farklılıkları	83
Şekil 4.18	NTD hastalarına ait periferik kan ve dokulardaki MMP-9 Ekspresyon farklılıkları	83

RESİM DİZİNİ

Resim 2.1	Santral sinir sisteminin embriyolojik gelişim şeması	7
Resim 2.2	Myeloşizis	38
Resim 2.3	Meningomyelose	41
Resim 2.4	Meningose	42
Resim 2.5	Ensefalose (okspital ve frontal görünümü)	46
Resim 2.6	Anensefali	48
Resim 2.7	Split kord malformasyonu	51
Resim 2.8	Lipomeningomyelose	54
Resim 3.1	Dokulardan elde edilen RNA'nın agaroz jel görüntüsü	64
Resim 3.2	Periferik kanlardan elde edilen RNA'nın agaroz jel görüntüsü	65
Resim 3.3	cDNA amplifikasyonunun yapıldığına ilişkin agaroz jel görüntüsü	66

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Toplumların büyümesini, gelişimini ve sosyolojik yapılanmasını etkileyebilen önemli nedenlerden biri doğumsal (konjenital) kusurlardır. Bu konjenital kusurların nedenlerini yapısal, fonksiyonel, metabolik, davranışsal ya da kalıtsal olarak gruplandırabiliriz (Moore KL, 2008). Bu gruplandırma altında konjenital kusurların %50-60'ının bilinmeyen faktörlerden, %20-25'inin multifaktöryel kalıttan, %7-10'u çevresel ajanlardan, %7-8'inin mutant genlerden ve %6-7'sinin de kromozomal anomalilere bağlı geliştiği bildirilmektedir (Moore KL, 2008).

En yaygın ve en ağır kliniğe sahip konjenital kusurlardan biri de Nöral Tüp Defekti (NTD) gelişimidir. NTD, intrauterin hayatta 3. ve 4. haftaya kadar kapanması gereken nöral tüpün kapanmamasından kaynaklanan, merkezi sinir sistemini kapsayan konjenital malformasyondur (Selçuki M ve ark., 2001).

NTD, prenatal ve postnatal dönemde ölümle sonuçlanabilecek önemli tıbbi sorunlara yol açabilen aynı zamanda önemli finansal ve sosyal boyutları olan konjenital malformasyonlardır. NTD patofizyolojisi hem genetik hem de çevresel faktörlerin karıştığı kompleks bir hastalıktır. NTD'nin dünya genelinde görülme sıklığı 0.5-2/1000 gebelik, Avrupa genelinde 1/1000 gebelik, ABD'de 0,5-1/1000 gebelik olarak bilinmektedir (Wallingford JB ve ark., 2013). Türkiye'de ise çeşitli merkezlerde yapılmış çalışmaların sonuçlarına göre NTD sıklığı 3-5.8/1000 gebelik arasında değişmektedir (Tunçbilek Ergül., 2004). Tüm ırklarda spina bifida hemen hemen aynı olmasına karşın ananeseveli prevelansı siyah ırkta 6 kat daha fazladır.

NTD'nin oluşum ve gelişim nedenleri ile altında yatan moleküler mekanizmalar tam olarak tanımlanamamıştır. Ancak genel olarak NTD'nin gelişim nedenleri arasında diabetes mellitus, hormonal dengesizlikler, teratojenler, folik asit eksikliği, bir takım ilaçların (analjezikler, antiepileptikler gibi) ve aşırı A vitamini kullanımının, hipotermi ve çevresel faktörlerin (içme suyundaki oligoelementlerin çok miktarda olması gibi) etkili olabileceği bildirilmektedir.

NTD oluşumuna ait moleküler faktörler arasında çeşitli hücrel genetik faktörler ön plana çıkmaktadır. MicroRNA'lar, folik asit yolağında yer alan genler, matriks metalloproteinazlar

(MMPler) bu faktörler arasında gösterilmektedir. MMP'ler çinko-bağımlı endopeptidaz ailesidir. ekstrasellüler matrikste (ECM) ki çeşitli proteinleri degrades edebilirler.

Doku ve hücrelere sadece yapısal destek sağlamakla beraber aynı zamanda hücre migrasyonu, farklılaşma, proliferasyon, yapışma ve doku morfogenezisi gibi pek çok biyolojik hadisede rol alan ekstrasellüler matriks; parçalanma, sentez ve yeniden yapılanma gibi süreçlerdeki hücre regülasyonu, dönüşümü gibi etkilerini MMP'ler aracılığı ile gerçekleştirir.

MMP'ler, ekstrasellüler matriksin tüm protein bileşenlerini parçalayabilen, birincil matriks bozucu proteazlardır (Conant K ve ark., 2005). MMP'ler, Zn^{+2} ve Ca^{+2} iyonlarına bağımlı endopeptidazların bir ailesidir. Katalitik bölgede bir Zn^{+2} iyonunu bağlayan üç histidin kalıntısı ile karakterizedir (Conant K ve ark., 2005). Günümüzde X-ışını kristalografisi ve nükleer manyetik rezonans (NMR) çalışmaları birçok MMP'inin yapısını belirlemeyi mümkün kılmıştır (Zitka O ve ark., 2010). MMP'ler substrat tanıma ve bölme mekanizmasına göre; kollajenazlar (MMP-1, -8, -13, -18), stromelizinler(MMP-3, -7, -10, -11, -12), matrilizinler(MMP-7,-26), jelatinazlar (MMP-2, -9), membrana bağlı MMP'ler (MT-MMP-14, -15, -16, -17) ve herhangi bir gruba dahil edilmeyen MMP'ler olmak üzere altı kategoriye ayrılabilir (ÖZTÜRK Özlem Görüroğlu, 2013).

MMP'ler hem hücre-hücre hem de hücre-hücre dışı matriks etkileşimlerinin düzenlenmesinde anahtar rol oynarlar. Canlıda fizyolojik olayların sürdürülmesinde MMP'lerin aktivitesi ile onların spesifik endojen doku inhibitörleri (TIMP) arasındaki dengenin sürekliliği söz konusudur. Normal dokuda düşük düzeyde eksprese edilirler ve birçok biyolojik süreçte rol oynarlar. Hücre ve dokulara sadece yapısal destek sağlamakla kalmazlar aynı zamanda hücre migrasyonu, proliferasyon, farklılaşma, yapışma ve doku morfogenezisi gibi pek çok biyolojik olayda yer alırlar. MMP'ler, geniş faaliyet yelpazesi ve ifade alanlarından dolayı, hastalıkların tedavisinde terapötik hedef veya teşhisleri kolaylaştırmada biyolojik belirteç olarak potansiyelinin aydınlatılması, farklı hücresel konumlarda ve hastalıklardaki rollerinin dikkatle analiz edilmesi önem arz etmektedir (Murphy G ve ark., 2008).

MMP'ler, ekstrasellüler matriksin stabilitesi için önemlidir. ECM'nin ana bileşenlerinden biri olan kollajenin yıkım mediyatörü özellikle kollajenazlardır (Nas. K, 2015). Kollajenazlar, üçlü sarmal

yapıdaki fibriler kollajenlerin bozunmasını katalize eder. Dört tip kollajenaz vardır; kollajenaz-1 (MMP-1, interstisyel kollajenaz), kollajenaz-2 (MMP-8, nötrofil kollajenaz), kollajenaz-3 (MMP-13) ve kollajenaz-4 (MMP-18, *Xenopus collagenase*) olarak adlandırılır.

MMP ailesinin diğer önemli bir alt grubunu oluşturan Jelatinazlar ise, MMP-2 (Jelatinaz A) ve MMP-9 (Jelatinaz B) olmak üzere 2 tip üyeye sahiptir. Domain yapılarında diğer MMP'lerden farklı olarak Fibronektin tip II benzeri 3 tekrar bölgesi içerirler.

MMP'ler keşfedildiklerinden beri ekstraselüler matriks fizyolojisi üzerindeki aktif rolleriyle ilgili çalışmalar devam etmektedir. ECM'deki rolleri, inflamasyonda aktif bir rol üstlenen sitokinler ile olan etkileşimleri sebebiyle daha önemli hale gelmiştir. Sitokinler ile olan etkileşimleriyle immünite, inflamasyon ve doğal olarak hastalıkların seyrinde etkili ve aktif bir rol üstlendikleri anlaşılmıştır.

Literatürde ki bu bilgiler eşliğinde, MMP'lerin hücre göçünü, dokuların yeniden şekillenmesini, invazyonu, ECM'nin yapı bütünlüğünü doğrudan ya da dolaylı yollarla etkilediğinin ispatı niteliğindedir.

NTD patofizyolojisinde, hücre göçü, ECM yapılanmasında önemli bir yer tutmaktadır. MMP'lerin NTD'de doku yapılanmasındaki rollerine ilişkin gerek ulusal gerekse uluslararası literatürde her hangi bir çalışma bulunmamaktadır. Planlanan bu çalışma sonunda MMP ekspresyonu ile NTD arasında ilişki saptanırsa, NTD gelişimi hakkında prediktif ve terapötik yaklaşımların belirlenmesinde MMP ve MMP ilişkili moleküllerin araştırılmasının öneminin ipuçları belirlenecek ve NTD için aday biyobelirteçlerin geliştirme çalışmalarında MMP ve MMP ilişkili yolakların araştırılması gerekliliği ortaya konulacaktır. Bu nedenle, planlanan çalışmada, hücre göçünde fonksiyonları olabileceği bildirilen MMP-1, MMP-2 ve MMP-9 gen ekspresyonlarının NTD oluşumundaki olası rollerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2. 1. Nöral Tüp Defektlerinin Tanımı

Nöral tüp defektleri(NTD), intrauterin hayatta 3. ve 4. haftaya kadar kapanması gereken nöral tüpün kapanmaması sonrası oluşan, merkezi sinir sistemini kapsayan ve yaygın görülen ve en ağır kliniğe sahip olan doğum anomalileridir. Nöral tüp kapanma kusurları genel bir başlık olarak, eski Yunanca'daki normalde birleşmesi gereken dokuların (rafizm) birleşmemesinden kaynaklı 'disfarizm' kelimesi altında toplanır. Spinal disfarizm mezenkimal, osseöz ve nöral dokunun orta hatta inkomplet kapanmasıdır. Canlı doğumların % 1'inde santral sinir sisteminin (SSS) doğumsal anomalileri görülmekte ve doğum öncesi fetal ölümlerin % 72'sinden sorumlu tutulmaktadır (Fuchs HE., 1997). Bu anomalilerin % 64'ü, vücudun arka-orta hattında nöral tüpün kapanma ya da gelişim bozukluğu sonucu oluşmaktadır (French BN., 1990; Northrup H ve ark., 2000). Çocukluk çağında karşımıza çıkabilecek nörogelişimsel bozukluklar arasında Serebral Palsi'den sonra 2. Sırada yer alır (Sirzai H ve ark., 2014).

2. 2. Nöral Tüpün Gelişimi

2. 2. 1. Embriyolojik gelişim

İnsan gelişimi zincirleme tarzında birbirini takip eden süreçler içerir. Bölünmeler sonrası gelişen ve farklılaşan embriyo daha sonra fetüs halini alır. Gelişim ve farklılaşma, postnatal dönemde de devam eder.

Nöral dokunun gelişimi, 28. günde tamamlanan nörilasyon, 28-40. günler arasında tamamlanan kuyruk tomurcuğunun kanalizasyonu ve 41. günden başlayarak tüm intrauterin hayatta devam eden dedifferansiyasyon olmak üzere temel olarak 3 bölüme ayrılır(Larsen WJ., 1997; Colas JF ve ark., 2001).

Primer nörilasyon evresi, birinci embriyonik hafta sonunda embriyoyu oluşturacak hücre kitlesi epiblast ve hipoblast olarak bilinen iki tabakadan oluşur. Epiblast tabakası, kitlenin dorsalinde yer alır ve amnion kesesi ile temas halindedir. Hipoblast tabakası ise ventral yüzde bulunur ve yolk kesesi ile komşudur(Sadler TW., 1996; Larsen WJ., 1997).

Embriyonun uzun aksı ikinci haftada belirginleşir. Kaudalde yer alan epiblast hücreleri orta hatta göç eder ve orta hattı belirleyecek olan kaudal ilkel yarığı (primitif streak) oluştururlar. İlkel yarığın kranial ucunda Hensen düğümü (Hensen's node) denilen hücre yumağı bulunur. Hensen düğümü ve ilkel yarığı oluşturan hücrelerin epiblast altına doğru göçüne gastrulasyon adı verilir. İlk invanjine olan hücreler, hipoblast hücrelerini iterek embriyonik endodermi, daha sonra gömülenler de embriyonik mezodermi oluştururlar. Dorsaldeki epiblastlarda ektodermi yaparlar. Gastrulasyonun ilk evresinde, ilkel yarığın kaudal yarığı kaplayacak kadar uzar ve sonra geriler. Hensen düğümü hücreleri bu gerileme esnasında yüzey ektodermi ve daha alttaki endoderm arasına girerek notokord taslağını oluşturur. Nukleus pulpozusa dönüşecek olan notokord, erken embriyonik dönemde hemen üzerindeki ektodermin nöral ektoderme değişiminde indükleyici rol oynar (Sadler TW., 1996; Larsen WJ., 1997; Persaud M., 2002). Üçüncü embriyonik haftada, ektoderm hücreleri, nöral ektoderm ve cilt ektodermi olmak üzere morfolojik olarak farklı iki dokuyu oluşturur (Schoenwolf GC ve ark., 1990; Larsen WJ., 1997; Persaud M., 2002). Nöral ektoderm;16. günden itibaren kolumnar epitel olarak orta hatta seçilir hale gelir.16.ve 26. günler arasında nöroektodermin spinal kord oluşturmak üzere bir seri morfolojik değişimler geçirerek oluşturduğu yapıya 'nöral tüp', bu aşamaların tamamına 'nörilasyon' adı verilir. Bu evrede orta hatta nöral yarığın (nöral crest) oluşur. Yarığın kenarındaki hücreler çoğalarak dorsal yüzde nöral kabarıklıkları (nöral fold) oluştururlar ve orta hatta birleşerek nöral tüpe dönüşürler. Bu birleşme ve üstteki kutanöz ektodermden ayrılma ile primer nörilasyon tamamlanır. Mezodermal doku ise, paraspinal kas ve dorsal arkusları oluşturur. İki ayrı nöral tüp kapanma mekanizması bulunmaktadır. Bunlardan klasik görüşe göre; kapanma orta servikal bölgeden başlar ve kranialyokaudale doğru uzanarak 4-6 günde tamamlanır. Diğer teoriye göre; kapanma eş zamanlı olarak birden fazla bölgeden başlar ve birbirleri ile birleşir. Nöral tüpün en son kapanan kısımları; 24. günde kranial nöropor denilen lamina terminalis düzeyi ve 26. günde kaudal nöropor denilen ikinci sakral kord segment düzeyidir. Bu iki günlük farktan dolayı, erken etkenler kranial, daha geç olanlarsa kaudal tarafta nörilasyon kusuru oluşumuna neden olmaktadır.

Spinal kordun daha distal segmentleri, sekonder nörilasyon ile oluşurlar. Kaudal nöropor distalinde kalan spinal kord bileşenleri fertilizasyon sonrası 28. günden itibaren apoptozis ile kanalizasyon ve regresyon adı verilen evrede gelişimini tamamlamış intakt cilt ektodermi altında oluşurlar (Dias MS ve ark., 2001). Diferansiye olmamış kaudal hücre kütesinin vakuolizasyona uğrayarak tek bir boşluk oluşturması, geriye kalan filum terminale, koksigeal ligaman ve terminal

ventrikülün 11. haftada nörilasyon ile oluşmuş proksimal nöral tüp ile birleşmesine ‘sekonder nörilasyon ‘denir. En distaldeki hücreler 40-48. günlerde regresyona uğrayarak hücre nekrozu ile beraber ileride filum terminaleyi oluşturur (McLendon RE ve ark., 1988).

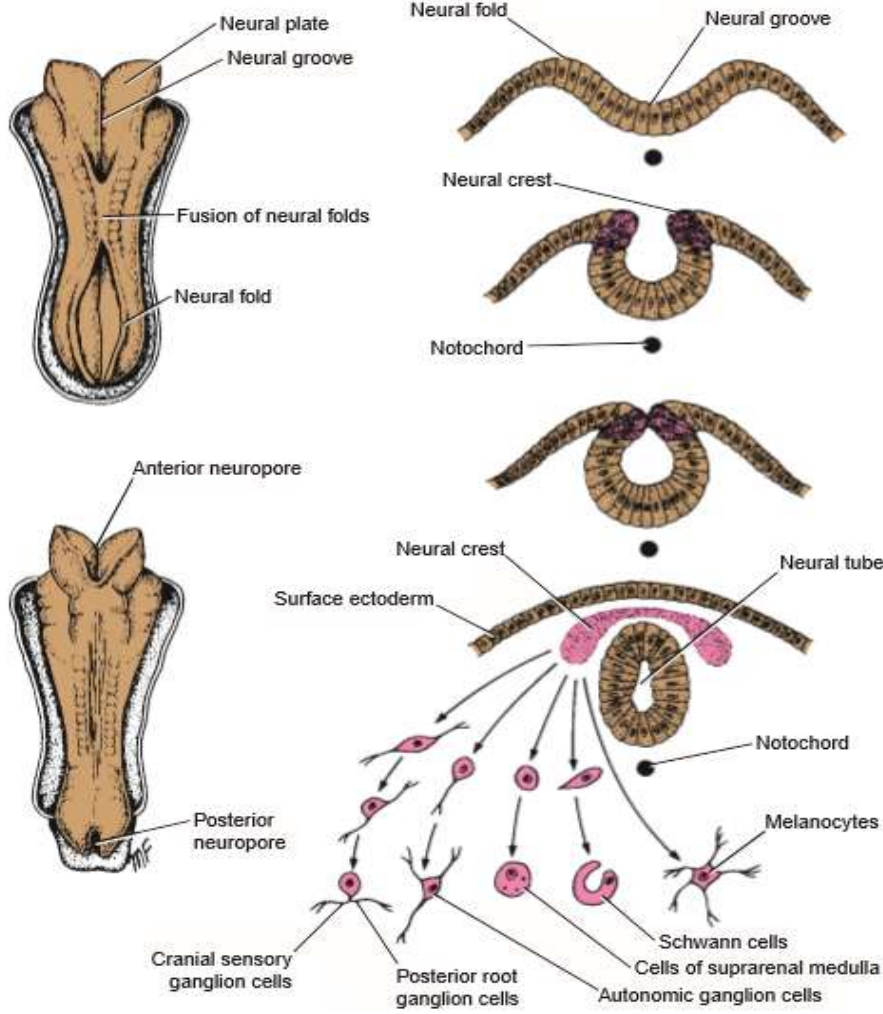
Primer ve sekonder nörilasyon sınırı spinal kordda tam olarak bilinmemekle beraber L2 ve konus ucu arasında olduğu düşünülmektedir. Primer nörilasyon alt sınırı olduğu düşünülen kaudal nöroporun 30-31. somitler hizasında olduğu S1-S2 vertebra seviyelerinde olduğu kabul edilirse S2 spinal kord segmenti kaudalinde kalan nöral doku ve filum terminalenin sekonder nörilasyon ile oluştuğu söylenebilir(Lemire RJ ve ark., 1975; Larsen WJ, 1997; Sapunar D ve ark., 2001).

Sonuçta; orta hat mezodermini oluşturan notokordun kraniyale olan ilerleyişinin düzgün olmaması, nörilasyon tamamlanmaması, tamamlanan nörilasyondan sonra cilt ve nöral ektodermilerin birbirlerinden ayrılabilmesi ve filum terminaleyi oluşturan süreçteki sorunlar, açık (apert) veya kapalı (occult) spinal disrafizm oluşturmaktadır.

Nöral tüpün kranial kıvrımlarından gelişen beyin gebeliğin 25. gününde prozensefalon, mezensefalon ve rombensefalon olarak ayırt edilebilir. Gebeliğin 35. gününde gelecekte diensefalona (serebellum) ve prozensefalon, telensefalon (serebral hemisferler) ayrılır.

Rombensefalon ise metensefalon (gelecekteki pons) ve miyelensefalona (gelecekteki medulla oblongata) ayrılır. Serebral malformasyonların çoğu fetal dönemde gelişen patolojik süreçlerin neticesinde meydana gelmektedir (Rhoads GG ve ark., 1986; Fuchs HE, 1997; Frey L ve ark., 2003).

Santral sinir sisteminin embriyolojik gelişimi aşağıdaki şekilde şematize edilmiştir.



Resim 2.1. Santral sinir sisteminin embriyolojik gelişim şeması(Elliott L ve ark., 2011)

2. 3. Nöral Tüp Defektinde Etyoloji

Konjenital anatomik anomaliler, doğum defektleri ve konjenital malformasyonlar, doğumda var olan gelişim bozukluklarını ifade etmek için kullanılan terimlerdir. Bebek ölümlerine neden olan doğum defektleri yapısal, fonksiyonel, metabolik, davranışsal ya da kalıtsal olabilir (Moore KL., 2008). İnsan konjenital anomalileri ya da doğum defektlerinin %50-60'ı bilinmeyen faktörler, %20-25'i multifaktöryel kalıtım, %7-10'u çevresel ajanlar, %7-8'i mutant genler ve %6-7'si de kromozomal anomalilere bağlı gelişir. Doğumsal anomalilerin %2'sinden daha az miktarı ilaç ve kimyasal maddelerle oluşmaktadır (Moore KL., 2008). Tüm ırklarda spina bifida hemen hemen aynı olmasına karşın anensefali prevalansı siyah ırkta 6 kat daha fazladır.

2. 3. 1. Çevresel Faktörler

Beslenme ve çevresel faktörler NTD'lerin oluşumunda önemli rol oynamaktadır. Diabet, dengesizlikler ve içme suyundaki oligoelementlerin çok miktarda olması disrafizim için şüpheden öteye geçememiştir.

Anne ile ilgili faktörler; hangi gebe kadınının bebeğinde nöral tüp defekti gelişeceğini bilmek olası olmamakla birlikte kusurun oluşması olasılığını arttıran bazı riskler söz konusudur. Önceki hamileliğinde nöral tüp defekti gelişen kadınlarda sonraki gebeliklerinde de gelişme olasılığı 20 kat artar.

Fetusun sinir sisteminin gelişmeye başladığı günlerde annenin yüksek ısıya maruz kalmasının nöral tüp defektlerinin gelişiminde etkili olduğu öne sürülmektedir. Sinir sisteminin geliştiği günlerde sauna gibi ortamlarda bulunan ya da hastalık nedeniyle beden ısıları 24 saatten fazla süre 38,9 °C'den yüksek olan annelerin nöral tüp defektli bebek doğurma olasılığının 3 kat arttığı saptanmıştır. Ayrıca hipoterminin deneysel modellerde NTD oluşturduğu bildirilmiştir (Nevin NC ve ark., 1981; Munoz BJ ve ark., 2005).

Annenin şeker hastalığı ile bebeğin doğumsal anomalileri arasında ilişki olduğu kesin olarak belgelenmiştir. Araştırmacılar insüline bağımlı (Tip 1) şeker hastalarında annelerden doğan bebeklerde major malformasyon riskinin 2-3 kez arttığı konusunda birleşmektedirler. Diabetik annelerin diabetik olmayan annelere kıyasla 15 kat daha fazla anensefali veya spina bifidalı bebek doğurma riski taşıdıkları vurgulanmaktadır (Tinkle MB ve ark., 1997).

Annede obezitenin, NTD'li bebek sahibi olma riskinin 50 ile 59 kilogram ağırlığındaki kadınlarla karşılaştırıldığında; 80 ile 89 kilogram ağırlığındaki kadınlarda 2 kat, 110 kilogramın üstündeki kadınlarda ise 4 kat arttığı saptanmıştır. 79 kilogramdan az olan kadınlara günde 0,4 mg folik asit yüklendiğinde NTD riski %40 azalırken, 79 kilogramın üzerindeki kadınlara bu vitaminin yüklenmesi ile riskin azalmadığı tespit edilmiştir (Rasmussen SA ve ark., 2008).

NTD ile anne yaşı arasında anlamlı düzeyde bir ilişki ortaya konulabilmiş değildir. Yaşlı veya çok genç annelerde NTD riskinin artabileceğinden bahseden görüşler var. Üç veya daha fazla

sayıda gebeliği olan ve primipar annelerin NTD'ye bir miktar yatkın olduklarını bildiren yayınlarda mevcuttur (Moretti ME ve ark., 2005).

2. 3. 2. Teratojenik Faktörler

Teratojenler, bazı gelişimsel genler üzerinde yan etkileri vardır. Bir kısım besinlerin (folik asit ve diğerleri) emilimini etkilerler. Bazı enzim, protein ve reseptör bağlanma bölgelerine müdahale ederler. Annede ve fetüste toksik maddelerin elimine edilme yeteneğini azaltırlar. Bir kısım bilinmeyen faktörlerle etkileşime girerler.

Embriyo, uterus içerisinde iyi korunduğu halde, annenin teratojenler olarak bilinen bazı çevresel ajanlardan etkilenmesi gelişim bozukluklarına yol açabilir. Hızla farklılaşma dönemi sırasında, organlar ve embriyonun bazı bölümleri teratojenlere daha duyarlıdır (Moore KL., 2008). Biyokimyasal farklılaşma, morfolojik farklılaşmadan önce gelişir ve bu sırada yapılar teratojenlere daha duyarlıdır.

İlaçlar, anne yaşı, annenin kronik hastalıkları, radyasyon, viral hastalıklar, maternal alkol alımı gibi birçok etken nöral tüp kapanmadan önce fetusu etkileyen teratojenler faktörler olarak genel kabul görmüştür.

İlaçları, kimyasal ajanların ve diğer çevresel faktörlerin embriyolojik gelişimi bozmalarının ve anomali oluşumunu uyarmalarının gerçek nedenleri halen belirsizdir. Örneğin; bir kemoterapatik ilaç olan Talidomidin, erken gebelik esnasında alınması bebeklerde birçok gelişimsel anomaliler ve ekstremitte anomalileri gözlenmiştir. Bu ilacın embriyonik gelişimi nasıl etkilediğini açıklamak için 20'den fazla hipotez üretilmiştir (Moore KL., 2008).

Birçok kalıtsal ve çevresel etkenlerin embriyonik gelişimi, ekstrasellüler matriksi, intrasellüler çevreyi, hücre yüzeyini ve fotal çevreyi değiştirerek etkilediği gösterilmiştir. En sık bilinen teratojen ajanlar tablo 2.1' de özetlenmiştir.

Tablo 2.1. NTD oluşumuna en sık neden olan teratojenler.

Gruplar	Ajanlar
Çevresel	sigara, kafein, alkol, organik civa, kurşun, poliklorlanmış bifeniller, iyonizan radyasyon
İlaçlar	
Androjen ve progesteronlar	etisteron, noretisteron, dietilstilbestrol
Antibiyotikler	tetrasiklin, streptomisin
Antikoagülanlar	warfarin
Antiepileptikler	trimetadon, fenitoin, valproik asit
Antineoplastikler	aminopterin, metotreksat
Kortikosteroidler	kortizon, hidrokortizon
ACE inhibitörleri	
İnsülin ve hipoglisemik ilaçlar	tolbutamid
Retinoik asit (vitamin A)	
Tiroid ilaçları	
Ca kanal blokerleri	verapamil
Lokal anestetikler	
Salisilatlar	
Sedatif ilaçlar	talidomid
Psikotrop ilaçlar	lityum, diazepam, oksezapam, SSRI'lar
Yasak ilaçlar	kokain, metadon
Enfeksiyon etkenleri	kızamıkçık, CMV, HSV, varisella, HIV, toksoplazma, treponoma pallidum

Aminopterin, metotreksat ve trimetoprim antifolik asit etkileri ile (Feldman JG ve ark., 1982; Elwood JM ve ark., 1992; Wasserman CR ve ark., 1998), analjezikler, klomifen ve antiepileptiklerin (özellikle valproik asit) disrafizim yaratabileceği bildirilmiştir (Cetinkal A ve ark., 2010). Başta valproik asit olmak üzere bazı antikonvülzanların erken embriyonik gelişim evresinde alındığında gebelerin %1-2'sinde NTD oluşturduğu görülmüştür.

Bazı araştırmacılarca evde veya işyerinde organik maddelerle karşılaşan ebeveynlerin NTD'li bebek sahibi olma riskinin arttığını öne sürülmektedir. Yapılan bir araştırmada içme suyunun dezenfeksiyonu için kullanılan klorun suyun yüzeyinde bulunan organik maddelerle tepkimesi sonucu ortaya çıkan ikincil ürünlerden biri ve teratojen olan trihalometanları (kloroform, bromodiklormetan ve bromoform) içeren su içen anne adaylarının NTD'li bebek doğurma olasılığının üç kat arttığı saptanmıştır.

Diğer bir çalışmada ise, yüksek oranda çözücülerin ve pestisitlerin bulunduğu ortamlarda çalışan kadınların çocuklarında anensefali görülme riskinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Annenin alkol kullanması durumlarında da NTD'li bebek sahibi olma riskinin arttığı belirtilmektedir(Ray JG ve ark., 2003; Moretti ME ve ark., 2005; Velie EM ve ark., 2006).

NTD'li bebek sahibi annelerin daha düşük gelir ve eğitim düzeyine sahip olduklarını belirleyen çalışmalar var. Besin öğelerinin nitelikleri ve çeşitliliği bireylerin sahip oldukları ekonomik ve coğrafi durumlar itibarı ile geniş bir yelpazede farklılık olabilir. Smithells ve arkadaşları düşük sosyoekonomik düzeye sahip kadınlarda ve özellikle de bu sınıftaki NTD'li hastaların nutrisyonel pozisyonlarının olumsuz durumda olduğunu göstermiştir.

Değişik coğrafi bölgeler arasındaki NTD görülme sıklıkları arasındaki fark tam olarak izah edilememiştir. Bölgeler arasındaki farklılığın nedeni sosyo-ekonomik düzeye bağlanabilir.

Hipervitaminoz A'nın NTD oluşumunda risk faktörü olduğunu bildiren yayınlar mevcuttur (Hemminki K ve ark., 198; Moretti ME ve ark., 200539).

Homosistein metabolizmasının kofaktörleri folik asit, vitamin B12, vitamin B6 ve DNA, RNA sentezi ve gen regülasyonunda temel elementlerden olan çinko, selenyum eksikliklerinin NTD gelişiminde rol aldığı düşünüldüğü için gebelik öncesi gerekli takviyeler yapılmalıdır (Fishman MA, 2000; Williams LJ ve ark., 2005; Busby A ve ark., 2005).

Gebelik sırasında annenin kanında folik asit düşüklüğünün NTD riskini artırdığına dair çalışmalar mevcuttur (Elwood JM ve ark., 1992; Candito M ve ark., 2004; Li Z ve ark., 2006). 1991'de ABD 'de yapılan bir çalışma sonucuna göre; folik asitin hamilelik öncesi ve hamileliğin 3. ayına kadar alınması durumunda NTD'ini azaltığı gösterilmiştir. Sonuç olarak FDA 1992 yılında reproduktif yaştaki tüm kadınların 400 mikrogram/gün folik asit almaları gerektiğini açıklamıştır.

2.3. 3. Genetik Faktörler

Bu grupta kromozomal anomaliler tek gen mutasyonları rol almaktadır. Her ne kadar pek çok genin nöral tüpün gelişiminde etkili olduğu düşünülse de çok az sayıda genin hücresel düzeydeki etkinliği ortaya konabilmiştir.

İnsanlarda nöral tüp kapanmasının fare model alınarak 5 farklı bölgede segmentel olarak gerçekleştiği düşünülmektedir. Her bir bölgenin kapanmasında çevresel faktörlere ek olarak çok sayıda gelişimsel genin fonksiyonuna ihtiyaç duyulmaktadır.

Nöral tüpün kapanmasındaki kritik dönemde bu bölgeleri etkileyen farklı genetik ve çevresel faktörlerin, farklı potansiyel teratojenlerin ve etnik yatkinlıkların varlığı sözkonusudur. Nöral tüp defektlerinin çeşidi ve ciddilik derecesinin bu süreçte rol alan genlerin ve çevresel faktörlerin tipine ve etkileşim süresine bağlı olarak değişeceği beklenir.

Kritik genlerdeki mutasyon ve polimorfizmlerin, çevresel faktörlerin eksikliği ya da fazlalığı nöral tüpün kapanmasındaki normal sürecin ilerleyememesine ve nöral tüp defektlerine neden olur.

Sonik ‘‘hedgehog’’geni (shh): Holoprosensefaliye sekonder hidrosefali olgularının bazılarında sonik ‘‘hedgehog’’geni (shh) mutasyonu saptanmıştır. Bu gen nöral plağın gelişiminde etkili olmakla birlikte nöral plağın gelişiminde etkili olduğu ve özellikle proansefalonun medial ve ventral büyümesini indüklediği gösterilmiştir (Copp AJ ve ark., 2013).

Notch-1: Somitler ve segmentasyonun koordinasyonunun, bir transmembran reseptörünü kodlayan Notch-1 genine gereksinim duyduğu düşünülmektedir. Kodlanan transmembran reseptörü hücre kohezyonu ile ilgilidir.

Zinc gen ailesi: Zinc-finger proteinlerinden olan bu genlerin, notch sinyalleri aktivasyonu yolu ile NTD oluşumunda rol aldığı düşünülmektedir.

Hox gen ailesi: Vertebralılarda (insanda da) somitlerin farklılaşması muhtemelen bu gen ailesinin etkinliği ile olmaktadır. Bu gen ailesinden HoxB7' nin olduğuna dair kanıt bulundu ve hipometilasyon, meningomyelose için potansiyel bir risk faktörüdür (Roctus A ve ark., 2015).

Pax-3, Pax-7 ve Pax-1: Segmentasyondaki rolleri daha netleştirilememiş olan bu regülatuar genler de presomitik mesoderimde ya da somit sınırlarında expresse olmaktadır. Waardenburg sendromunda heterozigot Pax-3 mutasyonu tanımlanmıştır. Waardenburg sendromunda, NTD, sağırılık ve inkomplet pigment anomalileri gelişmektedir (nöral krest migrasyon defekti). Pax-3 geninin p53-bağımlı apoptozis ile ilgili olduğu gösterilmiştir. Pax-3 yokluğu ve p53 yokluğu

olan farelerde NTD'nin oluşmaması p53'ün etkisinin pax-3 ile indüklendiği sonucuna bağlanmaktadır (Copp AJ ve ark., 2013).

PDGFRA ve BRCA1 genleri: NTD ile ilişkili olduklarına dair kanıtlar bulunan bu genler pax-1 transkripsiyon faktör tarafından aktive edilmektedir (Copp AJ ve ark., 2013).

Shroom proteini: Yakın geçmişte tanımlanan aktin bağlayıcı bir protein olan Shroom'un, nörolasyonun apikal inşasında aktif rolü olduğu gösterilmiş ve tek bir genin ekspresyonu olayın merkezi olarak gözükmemektedir (Mitchell LE ve ark., 2004).

Ghrl aile üyesi olan Grhl2 de farelerde spina bifidaya neden olduğu gösteren çalışmalar var (Copp AJ ve ark., 2013).

NTD' lerin çoğunun multifaktöriyel olduğu düşünülmektedir. Multifaktöriyel grup kafa karıştırmaktadır. Çünkü oluşumda rol alan birçok faktör bulunmakta ve gen gen etkileşimleri ve genler ile çevresel etkenler arasındaki etkileşim henüz tam olarak anlaşılammıştır.

NTD' lerin multifaktöriyel olduğunu destekleyen epidemiyolojik çalışmalarda, cinsiyet seçiciliği, belirlenmiş coğrafik çeşitlilik, aynı cinsiyet ikizlerinde NTD' lerin artması ve farklı sosyal sınıflarda farklı tiplerde ve şekillerde görülmesi gibi kanıtlar var.

Birçok kromozomal hastalığın, teratojenlerin ve tek gen hastalıklarının NTD' ler ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. NTD' lerin parental orjininin genellikle anne tarafı olduğunu ve NTD eğer anne tarafında varsa tekrarlama riskinin arttığını gösteren birçok çalışma vardır.

NTD' lerin genetiği 5 gruba ayrılabilir:

- NTD' ler ile ilişkili kromozomal hastalıklar
- NTD' ler ile ilişkili tek gen hastalıkları
- NTD' ler ile ilişkili teratojenler

- Folik asit bağımlı NTD' ler (Son çalışmalar göstermiştirki NTD' lerin %70 i folat duyarlı/folat bağımlı ya da hamilelikten önce yeterli folik asit alınması ile önlenilecek türdür.)
- Nedeni henüz bilinmeyen multifaktöriyel grup

NTD' ler ile ilişkili kromozomal hastalıklar; Trizomi13,Trizomi18 ve Marker kromozom varlığı (Sepulveda W. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada açık NTD li 144 hastanın prenatal kromozom analizi yapılmış 10'unda kromozom anomali tespit edilmiştir. Bunlarda 7'si trizomi18, 2'si trizomi13, 1 hastada mozaik marker kromozom varlığı bulunmuştur) olarak sayılabilir. Kromozomal hastalıklar ile ilgili NTD oluşum riski, matrenal yaşa (ilerlemiş yaşla birlikte trizomi riski arttığı için), probanddaki kromozomal düzenlenmelere, ailelerde mevcut kromozomal düzenlenmelerin tipi ve daha önce aynı kromozomal anomalili çocuk varlığına bağlıdır.

Kromozom anomalisine bağlı tekrarılama riski oldukça tahmin edilebilir. Parental germline da mozaizm varlığına bağlı olarak bir sonraki gebelikte mutlaka prenatal tanı önerilmektedir.

NTD' ler ile ilişkili tek gen hastalıkları olarak da; Serebrokostomandibular sendromu, Fraser sendromu, Meckel Gruber sendromu, Otozomal dominant olarak kalıtılan Waardenberg Sendromu, Akrokallosal sendromu, Fankoni pansitopeni sendromu, Hydrolethalus sendromu, Jarcho-Levin sendromu bu gruptadır.

Meckle-Gruber Sendromu, otozomal resesif kalıtılan NTD ler ile birliktelik gösteren ve en sık karşılaşılan tek gen hastalığıdır.

NTD' leri ile ilişkili görüldüğü birçok sendrom (Apert sendrom, Czeizel-Losonci Sendrom, Weissenbacher-Zweymüller Sendrom....) hastalıklar ve maternal risk faktörleri sayılabilir.

NTD etyolojisinde genetik faktörlerin etkili olduğunu gösteren bir diğer kanıtta, spontan abortus olan NTD'li vakaların kromozomal aberasyonlarla anlamlı ilişkisidir (Berg KF ve ark., 2007).

Bazı trizomilerde (trizomi-9,-13,-18) ve triploidide, malformasyonlara ilaveten meningoel, meningomyeloel ve hidrosefali görülebilmektedir (Rothman KJ ve ark., 1993).

NTD oluşumuna ait moleküler faktörler arasında çeşitli hücrel genetik faktörler ön plana çıkmaktadır. MicroRNA'lar, folik asit yolağında yer alan genler, MMP'ler bu faktörler arasında gösterilmektedir. NTD patofizyolojisinde, hücre göçü, ECM yapılanması önemli bir yer tutmaktadır.

2. 3. 3. 1. Ekstrasellüler Matriks

Ekstrasellüler matriks(ECM) hidrate polisakkarit bir jele gömülü bir fibröz protein yığıdır. Organizmada hücreler arasındaki boşlukları dolduran ve bu hücreleri birbirine bağlayan kompleks bir yapıdır. Hücre büyümesi ve farklılaşmasını kontrol eden pek çok hormon için rezervuar görevi yapar. Dokulardaki hücrelerin bir arada tutulmasına yardımcı olur ve organizmalara yapısal destek sağlar. Hücre yaşamının devamlılığında görev alır ve hücrelerin göçü ve birbirleri ile olan ilişkilerini düzenler.

ECM'deki makromoleküller yerel hücrelerden özellikle fibroblastlardan salgılanır. Eğer matriks daha özelleşmişse örneğin kemik ya da kartilaj ekstrasellüler matriksin molekülleri daha farklılaşmış hücrelerden (örn. Osteoblastlar, kondrositler) salgılanır.

ECM'nin yapısını kollajenlerden ayrı olarak, yoğun çapraz bağlı liflerden oluşan ağ şeklinde elastin molekülleri, fibronektin, laminin glikoproteinler gibi çeşitli proteinler ve proteoglikanlar oluşturur (Aksun S.A ve ark., 2001; Sagi I ve ark., 2015).

Kollajen, ECM yapısında en fazla bulunan proteinlerdendir. 20 farklı tip kollajen tanımlanmaktadır. Vücut ağırlığının % 6'sını ve total vücut proteinlerinde % 30'unu oluşturur. Kollajenler başlıca fibroblastlar, miyofibroblastlar, osteoblast ve kondrositler tarafından sentezlenmektedir. Bazı kollajen molekülleri (Tip I, II, III, V ve XI) bir araya gelerek kollajen fibrilleri oluştururlar. Ekstrasellüler bir işlem olan bu fibrillerin oluşumu, terminal prokollajen peptidlerinin prokollajene spesifik metalloproteinazlar aracılığı ile yıkılmasıyla meydana gelir. Uzun kollajen fibrilleri matrikse destek verir ve aynı zamanda organize olmasını sağlar. Tip IV gibi bazı kollajen tipleri ise, ağısı bir yapı oluştururlar. Tip IV kollajen bazal membran yapısında yer alan başlıca proteinlerdendir.

Proteoglikanlar, kovalent bağlı glikozaminoglikanlar içeren peptid zincirleridir. Glikozaminoglikanlar hyalüronik asit, kondroitin sülfat, keratan sülfat I ve II, heparin, heparan sülfat ve dermatan sülfat olmak üzere yedi sınıfa ayrılabilir. Doku kompartmanları arasında

besin, metabolit ve hormonların difüzyonunu mümkün kılarak bir faz oluşturan proteoglikanlar, ECM'nin organizasyonunda önemlidir.

Lifsel proteinler arasında yer alan elastin, dokuların esnekliğinden sorumlu olan ekstrasellüler matriks proteinidir (Bosman F ve ark., 2003). ECM'nin temel proteinleri arasında yer alan fibronektin ve laminin glikoprotein yapısındadır. Fibronektin, C-terminalinden iki disülfid köprüsüyle bağlı iki aynı polipeptid zincirinden oluşmuş bir dimerdir. İki temel formu var. Çözünür dimer olarak çeşitli vücut sıvılarında, plazmada ve diğer formu olan çözünmez dimer de mezenkimal dokularda, arter ve ven duvarlarında, böbrek, dalak, akciğer stromasında bulunur. Çözünmez dimer fibronektin embriyonik gelişimde oldukça önemlidir. Çünkü embriyonik hücrelerin fibronektine adezyonu hücre migrasyonu için gereklidir. Arg-Gly-Asp (RGD) dizilimleri aracılığı ile fibronektinler integrinlerle de etkileşim içindedir (Miyamoto S ve ark., 1998). Fibronektin molekülleri, ECM'de geniş agregatlar halinde bulunur ve hücre adezyonuna önayak olur. Fibronektin, hücre göçünde rol aldığından dolayı gelişmekte olan MSS'de -nervous system (CNS)- önemli bir glikoproteindir. Fibronektin, hücre yapışma özelliklerinin yanında besin maddelerini ve büyüme faktörlerini saptama kabiliyetine sahip olması nedeniyle doku onarımında önemli roller oynamaktadır (Christian L ve ark., 2013).

Başlıca fibroblast ve diğer stromal hücrelerden salgılanan hyaluronan, glikozaminoglikan yapısındadır ve ECM'de sinyal ileti ve adhezyon gibi birçok hücrel fonksiyonların düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Güner G, 1996).

ECM, hücrelerarası boşluklarda interaktif ve dinamik olarak özel bir ortam oluşturan yapıdır (Libby P ve ark., 2000). Bu yapı içerenlerinin kombinasyonundaki çeşitlilik doku formlarının farklılığına yol açar. ECM'nin remodellingi hücre göçü, proliferasyon, büyüme ve gelişme boyunca büyük öneme sahiptir (Mott JD ve ark., 2004). Bu yüzden, hücreler ve ECM arasındaki bu etkileşim organizmanın normal gelişim ve farklılaşmasında ve birçok patolojik durumda anahtar rol oynar.

ECM, hücrelerin özel fonksiyonlarının gerçekleştirmesi için, kendilerini yönlendirecek hücre içi sinyalleme yolları ile direkt veya indirekt etkileşmesini düzenler (Libby P ve ark., 2000). Bu

etkileşmeler organizmanın normal gelişimi ve fonksiyonu için kritik rol oynar (Massova I ve ark., 1998) . ECM'de bulunan proteolitik enzimlerden olan sistein proteazlar, aspartik proteazlar, serin proteazlar ve matriks metalloproteinazlar, ekstraselüler matriks yapısının bileşimini ve bütünlüğünü düzenleyerek matriks molekülleri tarafından oluşturulan sinyallerin kontrolü, hücre proliferasyonu, farklılaşması ve ölümünde de temel rol oynar (Massova I ve ark., 1998; Garcia-Touchard A ve ark., 2005). ECM, remodellingi ve değişiklikleri katı bir şekilde düzenlenmeye ihtiyaç duyar çünkü, içerenlerin kontrolsüz birikimi ya da tersine artmış proteoliz çeşitli patolojik sapkınlıklara yol açabilir. Matriks metalloproteinazlar (MMPler) ECM'deki düzenleyici proteazların ana grubunu oluşturur.

ECM sentez, parçalanma ve yeniden yapılanma süreçlerindeki hücre regülasyonu, dönüşümü gibi etkilerini MMP'ler aracılığı ile meydana getirir (Sagi I ve ark., 2015; Okada Y., 2016).

2. 3. 3. 2. Matriks Metalloproteinazlar

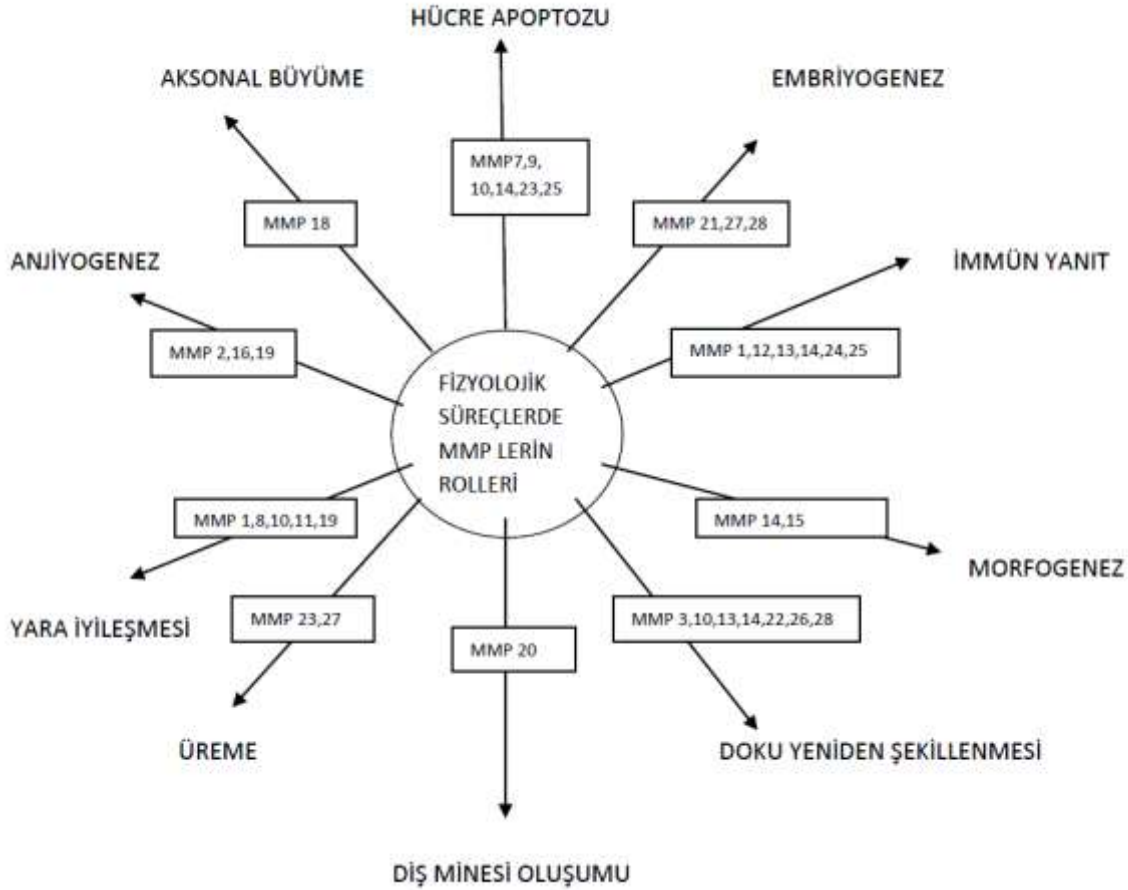
MMP'ler, ECM'nin tüm protein bileşenlerini parçalayabilen, ana matriks bozucu proteinazdır (Conant K ve ark., 2005). MMP'ler önemli peptid zinciri kısımları içerir ve farklı bölgelerde ve miktarlarda glikolizasyon gösteren Zn^{+2} ve Ca^{+2} iyonlarına bağımlı multigenik bir endopeptidazdır. Katalitik bölgede bir Zn^{+2} iyonu bağlayan üç histidin kalıntısı ile karakterizedir (Sternlicht MD ve ark., 2001; Conant K ve ark., 2005). MMP'ler veya matriksinler metzincin süper ailesinin içinde yer alır. Tüm hücre dışı matriks bileşenlerini parçalayabilirler. Ayrıca bunlarla sınırlı olmayan çeşitli hücre dışı substratları da parçalamaktadır (Lagente V ve ark., 2008). MMP'lerin kollajenler, fibronektin, lamininler ve proteoglikanlar dahil olmak üzere hücre dışı matriks proteinlerinin lokalize hidrolizini katalize ettiği ve böylece bağ dokusunun bütünlüğünü değiştirdiği düşünülmektedir (Schwab M., 2011). Embriyogenez, normal doku yenilemesi, yara iyileşmesi ve anjiyojenez ve aterom, artrit, kanser ve doku ülserasyonu gibi birçok biyolojik süreçte merkezi bir rol oynamaktadır (Visse R ve ark., 2003).

MMP'ler proenzim olarak fibroblastlar, osteoblastlar, kondrositler, endotel hücreleri, makrofajlar, nötrofiller, vasküler düz kas hücreleri, T lenfositler, trombositler, keratinositler, epitel hücreleri, mezanşimal hücreler, trofoblastlar, osteoblastlar gibi çeşitli bağ dokusu hücrelerinden salgılanırlar (Nagase H ve ark., 1999; Galis ZS ve ark., 2002). MMP'lerin dokuların yapısal

bütünlüğünü değiştirme yeteneği normal fizyoloji ve patolojinin belirli yönleri için gereklidir. Büyüme faktörleri, reseptörler, adezyon molekülleri, diğer proteinazlar ve proteinaz inhibitörleri gibi süreç molekülleri MMP'leri hücre mikroçevresindeki fizyolojik ve patolojik olayların potent denetçileri yapar. MMP'lerin aşırı aktivasyonu sayısız hastalık durumuyla ilişkilendirilmiştir.

Organizmada fizyolojik olayların sürdürülmesinde MMP aktivitesi ile onların spesifik endojen doku inhibitörleri (TIMP'ler) arasında sürekli bir denge söz konusudur (Lambert E ve ark., 2004). MMP'ler ve TIMP'ler normal dokularda düşük düzeyde eksprese edilirler ve birçok biyolojik süreçte rol oynarlar. Bunlar arasında embriyonik gelişim, organ morfogenez, kemiğin yeniden modellenmesi, sinir hücre gelişimi, yara iyileşmesi, anjiyogenez, inflamasyon, apoptozis, immün cevap gelişimi, blastosit implantasyonu, ovülasyon, servikal dilatasyon, postpartum uterin involüsyonu, endometriyal siklus ve saç folikülü siklusu sayılabilir (Nagase H ve ark., 1999). MMP'lerin rol aldığı biyolojik süreçler ile ilgili tablo 2.2'de verilmiştir.

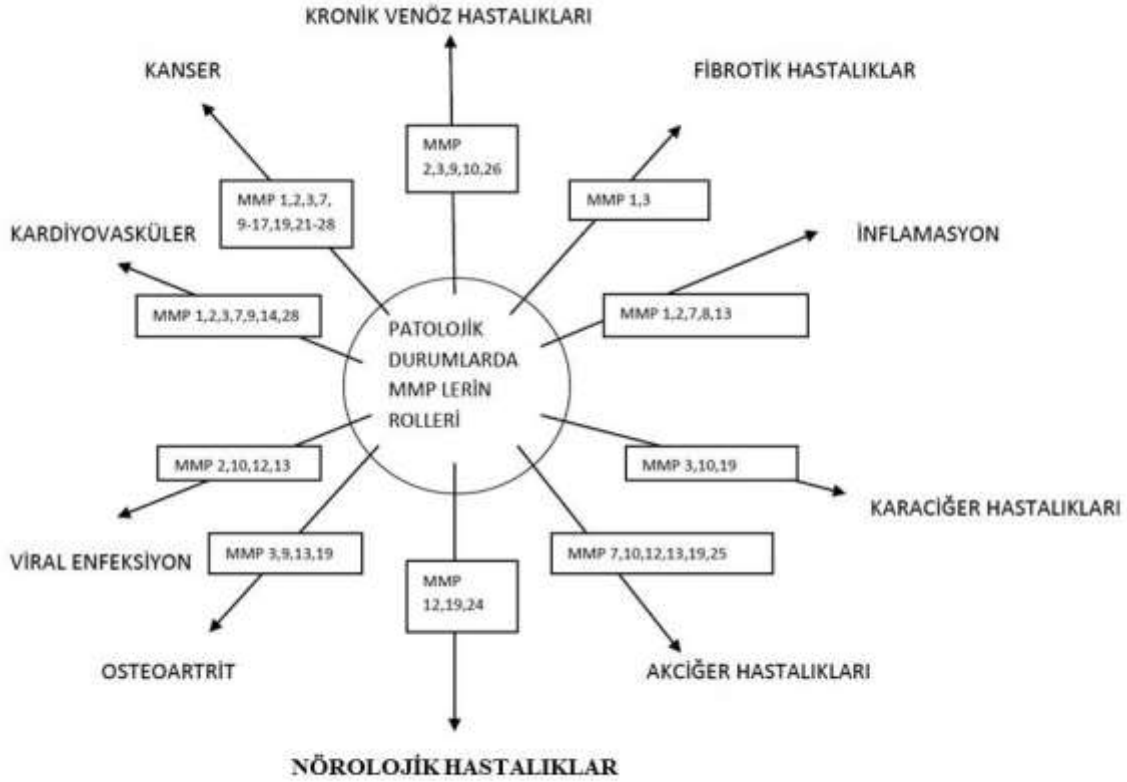
Tablo 2. 2. MMP'lerin rol aldığı biyolojik süreçler.



MMP'ler nötral pH da aktifleşir ve ekstrasellüler matriksi parçalar. Tüm dokularda inflamatuvar ve ECM'nin degradasyonu veya yeniden şekillenmesi süreçlerinde yer alır. Membran tipi metalloproteinazlar MT-(MMP) haricindeki, MMP'ler inaktif form olan proenzim formunda salgılanan ekstrasellüler enzimlerdir.

MMP ekspresyonu, gen transkripsiyonunu etkileyen faktörlerin etkisindeki çeşitli fizyolojik ve patolojik koşullarda gelişen dokunun yeniden modellenmesi sırasında artar (Beaudeau JL ve ark., 2004). Bu sırada MMP'lerin üretimini TIMP'lerin üretimini aşması ile aradaki denge bozulur. Dengenin MMP aktivitesi yönüne kayması matriksin kontrolsüz yıkılmasına ve sonuçta patofizyolojik olayların oluşumuna zemin hazırlar. MMP'lerin rol oynadığı patolojik olaylar arasında kanser ve ateroskleroz başta olmak üzere multipl skleroz, nörolojik hastalık, Alzheimer hastalığı, kan beyin bariyerinin yıkılması, artrit, nefrit, gastrointestinal ülser, peridontal hastalık, kornea ülseri, deri ülseri, karaciğer fibrozu, fibrotik akciğer hastalığı, amfizemi sayabiliriz (Nagase H ve ark., 1999). MMP'lerin rol aldığı patolojik olaylar ile ilgili tablo 2.3'de verilmiştir.

Tablo 2.3. MMP'lerin rol aldığı patolojik durumlar.



MMP'ler, ECM bileşenlerinin yanı sıra bir takım büyüme faktörleri, reseptörler, kemokinler, Fas ligandı, diğer proteinazlar, integrinler ve hücre-hücre adhezyon molekülleri gibi ECM dışı bileşenlerin de yıkımından sorumludurlar (Chakraborti S ve ark., 2003). MMP'ler çok farklı dokularda tespit edilmiş olması ve geniş faaliyet yelpazesinden dolayı hastalıklarda terapötik ilaç hedefi olarak potansiyelinin aydınlatılması veya doku onarım sürecindeki önemli özellikleri, farklı hücresel konumlardaki ve farklı hastalık aşamalarındaki rollerinin dikkatle analiz edilmesi gerekmektedir (Murphy G. ve ark., 2008).

2.3. 3. 2. 1. Matriks Metalloproteinazların tarihçesi

MMP'lerden ilk defa depolimerize edici enzimler olarak anjiyogenezde ve tümör büyümesinde oynadığı roller nedeniyle 1949'da bahsedilmiştir. Bu enzim ailesinin ilk üyeleri Jerome Gros ve Charles Lapiere tarafından 1962'de metamorfoz sırasında rezorbe edilen iribaş kuyruklarından elde edilen kültürü yapılan doku parçalarından salgılanan gerçek bir kollajenazın gösterilmesiyle keşfedildi. İribaş kurbağa kuyruğunun rezorbsiyonundan elde edilen bu enzim daha sonraları matriks metalloproteinazlar ya da matriksinler denen proteaz ailesinin prototipi kollejenaz-1 olarak adlandırıldı (Gross J ve ark., 1962). Bu enzim insanda ilk defa 1968'de proMMP (MMP zymogen olarak da bilinir) aktif olmayan formda insan cildinden izole edilmiştir (Zitka O. ve ark., 2010). Kısa zamanda bu çalışmalar çok çeşitli dokularda benzer bir aktiviteyi göstermek için genişletildi(Clark I.M, 2001). Bu enzim ECM'yi hızlı bir şekilde yeniden şekillendirmekle beraber hücre farklılaşmasını, büyümeyi ve apoptozu tetikler (Shi Y.B ve ark., 1998). Bu buluş, araştırmacıları insan dokularına bakmaya teşvik etmiştir. Çünkü kollajenin bozulması yara iyileşmesi, doku ülseri, doku rejenerasyonu ve artrit, kanser, ateroskleroz ve anevrizma gibi hastalıklarda önem arz etmektedir.

Günümüzde 28 farklı genin tüm insan MMP'lerini kodladığı saptanmıştır (Zitka O. Ve ark., 2010). MMP'lerin 23'ünün insanlarda sentez edildiği gösterilmiştir(Visse R ve ark., 2003). MMP-18 için insan ortologu henüz bilinmiyor; sadece kurbağalarda zenopus sınıfında olduğu bildirilmiştir (Woessner JF Jr, 1994; Murphy G ve ark., 1997). Son 20 yıldır, patolojik doku yıkımını içeren hastalıkların birçoğunun MMP anormal üretim veya aktivasyonu ya da doğal matriks metalloproteinaz doku inhibitörlerinin (TIMP) eksikliği ile ilişkili olduğu gösterildi. Bu anlayış, ilaç endüstrisinin, 1990' ların sonunda kanser ve artrit gibi hastalıklar için potansiyel

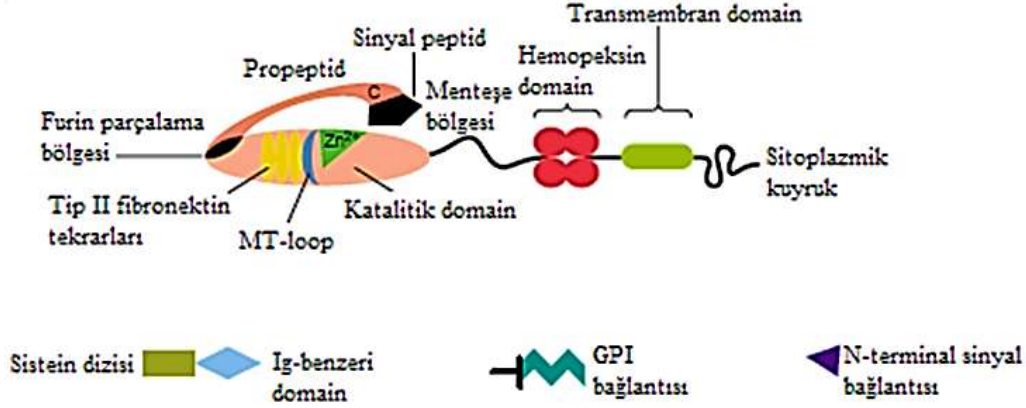
tedavi aracı olarak klinik çalışmalara giren sentetik MMP inhibitörleri (MMPI) geliştirmesine yol açtı.

Bununla beraber, birçok biyokimyasal olayda rol oynayan metalloproteinazlara ilgi yıllar boyunca artmış ve ailenin çeşitli üyeleri üzerinde yapılan kapsamlı yapısal ve işlevsel analizler, onların etki mekanizmalarını daha iyi anlamak ve tasarım için daha akılcı yaklaşımlar yapmak için temel oluşturmuştur (Sagi I ve ark., 2015).

2.3. 3. 2. 2. Matriks Metalloproteinazların moleküler yapısı

MMP'ler, katalitik bölgede bir Zn^{+2} iyonunu bağlayan üç histidin kalıntısı içerir. Çinko ve kalsiyum bağımlı endopeptidazlardandır. MMP'lerin fibroblast kollajenaz (collagenase-1) veya MMP-1 ile katalitik alan dizi benzerliği aile üyeliği için bir kriter olarak gösterilmektedir. Birçok grup çalışması, kollajenazın üçlü sarmalı C terminal uçtan dördte biri kadar mesafede ki bir noktadan kestiği ve faaliyetlerinin metal bağımlı olduğunu göstermiştir (Parks W.C ve ark., 1998). MMP'ler M10 çinko metalloproteinaz ailesindedir. Tüm MMP'ler katalitik bölgelerinde karakteristik Zn^{+2} iyonu bağlama motifi $HExxHxxGxxH$ 'ye sahiptir.

Genel olarak MMP'ler, bir sinyal peptit bölgesi(predomain) ve bunu takip eden N-terminal propeptit (prodomain), katalitik (CAT) domain alanı olmak üzere üç ana kısımdan meydana gelir. Bazı MMP'ler linker (menteşe) bölgesi ve C-terminal hemopeksin benzeri (HPX), Furin benzeri enzim tanıma bölgesi ve Fibronektin tip II benzeri üç tekrar bölgesi gibi yapısal alanlar da içerir. Membran tipi (MT) MMP'lerde ise hücre zarına bağlanmayı sağlayan ek bir transmembran(TM) alanı vardır. TM alanından sonra küçük bir sitoplazmik "kuyruk" gelir (Sagi I ve ark., 2015). MMP'lerin genel domain yapısı şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. MMP genel domain yapısı (Keleş D., 2009).

MMP'lerin yapısındaki protein bölgelerini aşağıdaki gibi sıralayabiliriz (Eser B., 2017):

1. Predomain (Sinyal peptit)
2. Prodomain (Propeptit)
3. Katalitik domain
4. Mentşe bölgesi (Prolinden zengin bölge, linker)
5. Hemopeksin benzeri bölge
6. Furin benzeri enzim tanıma bölgesi
7. Fibronektin tip II benzeri 3 tekrar bölgesi
8. Transmembran bölge

1. Predomain: Genel domain yapısında ilk bölgedir. N-terminal sinyal dizisi veya "Pre" alan da denir (Clendeninn N.J ve ark., 2001.). 80-90 aminoasit içeren aminoterminal propeptiddir (Aksun S.A ve ark., 2001). Latent enzimde bulunmayan sinyal peptid dizesidir. Bu kısım enzimi salgılama için işaretler ve ardından salgılanma sırasında yapıdan uzaklaştırır. Sinyal peptit içeren bu kısım endoplazmik retikulumdan ilk sentezlenen proteindir (Öncel M., 2012).

2. Prodomain: Propeptit bölge de denir. Predomain bölgeden sonra gelir. Yaklaşık 66-120 aminoasitten oluşur (Sagi I ve ark., 2015). Tüm MMP'lerde enzimin kalıcı formda kalmasından sorumludur ve enzimin aktive olması sonrasında ortamdaki uzaklaştırılır. Prodomainin çıkarılması inaktif proenzimin aktif forma dönüşmesini sağlar (Aksun S.A ve ark., 2001). Bu işlemi, katalitik Zn^{+2} iyonu bağlayan bölgeyle etkileşerek enzimin inaktif formda kalmasını sağlayarak yapar (Öncel M., 2012).

3. Katalitik domain: Propeptit bölgesinin ayrılmasıyla yapısındaki Zn^{+2} iyonları sayesinde enzim aktivitesini sağlayan bölgedir (Öncel M., 2012). 160 aminoasitten meydana gelir. Katalitik bölgede histidin rezidüleri bulunur ve bundan dolayı fonksiyonel stabilitenin korunmasında rolü vardır (Aksun S.A ve ark., 2001). İçerdiği histidin rezidüleri, Zn^{+2} iyonu için 3 ayrı bağlanma bölgesini yapmaktadır. İnaktif MMP'lerde bulunan propeptid bölgesindeki sistein rezidüsü ise Zn^{+2} iyonu için dördüncü bir bağlanma bölgesidir. Katalitik bölge 3 alfa heliksinden ve bükülmüş 5 iplikli beta tabakadan meydana gelmiştir (Öztürk Ö.G., 2013). Katalitik bölge aynı zamanda Zn^{+2} iyonu bağlayıcı bölüm ve korunmuş metiyonin aminoasiti içerir. Bu bölge, MMP'lerin enzimatik aktivitesini ve stabilitesini korumak için katalitik Zn^{+2} atomu ve buna ek olarak yapısal Zn^{+2} atomu ve 1 ya da 3 tane Ca^{+2} atomu içerir (Güzel S., 2008).

Bazı MMP'lerde bulunan diğer bölgeler ise;

4. Prolinden zengin bölge (Menteşe) : Katalitik domain ile Hemopeksin benzeri bölgeler arasında bulunur. Yaklaşık 5-10 aminoasitlik meydana gelir. Bu bölgenin substrat özgüllüğünün tanımlanmasında rol oynadığı düşünülmektedir (Clendeninn N.J ve ark., 2001).

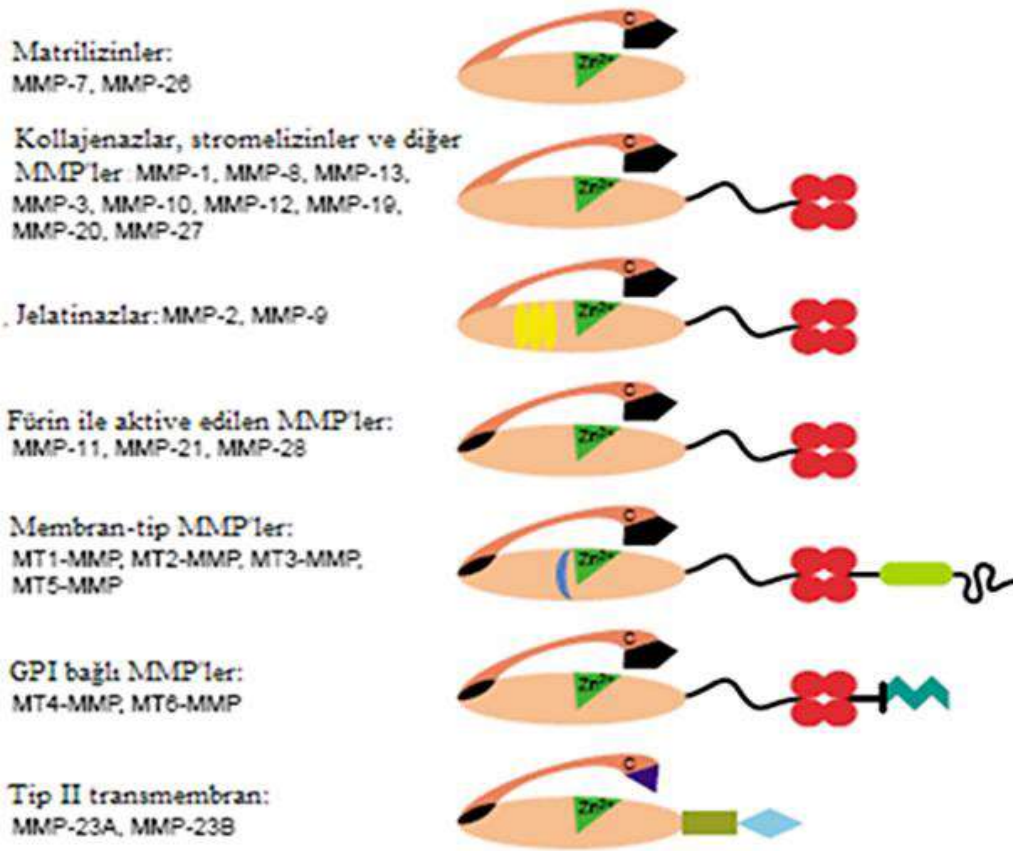
5. Hemopeksin benzeri bölge: Hem bağlayan moleküllere dizin benzerliğinden dolayı hemopeksin benzeri bölge olarak isimlendirilmiştir. 210 aminoasitlik bir alana sahiptir (Sagi I ve ark., 2015). Bu bölge, N ve C terminal uçlarını bağlayan disülfid bağı içerir ve katalitik bölgeye prolinden zengin bir kısım ile bağlanır. İşlevi net bilinmemekle birlikte substrat spesifitesini sağlama ya da plazminojen aktivatör ürokinaz sistemine analog olma özelliği ile hücre yüzey reseptör alanını tanıma fonksiyonu olduğu düşünülmektedir. Substrata bağlanma ve TIMP ile

etkileşime girmede fonksiyonel rolü vardır (Aksun S.A ve ark., 2001; Clendeninn N.J ve ark., 2001). C-terminal hemopeksin benzeri alan hem substrat bağlama hem de TIMP ile etkileşime girer (Conant K ve ark., 2005).

6. Furin benzeri enzim tanıma bölgesi: Propeptid ile katalitik domain arasında bulunur. 10 aminoasitten oluşur. MMP-11, -21, -23, -28 ve MT-MMP'lar bu bölgeye sahiptir (Parks W.C ve ark., 1998; Aksun S.A ve ark., 2001). Bu bölgede bulunan proenzimler intrasellüler aktivasyonu meydana getirir (Rundhaug J.E., 2005). MMP-11, -21, -28 Furin ile aktive olur (Okada Y., 2016).

7. Fibronektin tip II benzeri 3 tekrar bölgesi: Katalitik bölge üzerinde bulunur. Denatüre edilmiş tip IV ve V kolajenleri, elastin ve tip I kollajeni bağladığı ve dolayısıyla substrat özgülüğüne katkıda bulunduğu saptanmıştır (Conant K ve ark., 2005; Öncei M., 2012). Gelatinaz A ve B'de (MMP-2 ve -9) bulunur (Aksun S.A ve ark., 2001).

8. Transmembran bölge: MT-MMP'lerde bulunur. MT-MMP'ler hücre yüzeyine bu transmembran bölge ile veya glikozilfosfatidil inozitol kancası ile tutunurlar (Öztürk Ö.G., 2013). MT-MMP'ler, hücre zarına tutunma özelliklerine göre, TM-tipi ve glikosilfosfatidil-inozitol (GPI) tipi olmak üzere iki gruba girer. MT1-MMP (MMP- 14), MT2-MMP (MMP-15), MT3-MMP (MMP-16) ve MT5-MMP (MMP-24) tip 1 transmembran protein grubundadırlar. Kısa bir sitoplazmik kuyruğa sahiptir. Bu, hücre içi trafiğin ve proteazların aktivitesinin düzenlenmesinde rol alır. MT4-MMP (MMP-17) ve MT6-MMP (MMP-25) ise bir GPI aracılı mekanizma ile hücre yüzeyine bağlıdır. TM alanı MT-MMP'ların TIMP'lerle etkileşime girmesinde rol alır (Sagi I. Ve ark., 2015). Domain yapısının farklı olması MMP'lere farklı özellikler kazandırmıştır. Domain yapılarına göre MMP alt grupları şekil 2.2'de gösterildiği gibidir.



Şekil 2.2. MMP'lerin domain yapılarına göre alt grupları (Keleş D., 2009).

2.3. 3. 2. 3. Matriks Metalloproteinazların Regülasyon, aktivasyon

MMP'ler işlevsel olabilmeleri için proteolitik kırılma ile aktif forma dönüşmelidirler.. Proteolitik aktiviteleri 3 basamakta düzenlenir;

1. Transkripsiyonel düzenleme

MMP'lerin ekspresyon düzeyleri sağlıklı yetişkinlerde genellikle düşük seviyededir. Bu durum farklı fizyolojik ve patolojik durumlara göre değişebilir. MMP gen ekspresyonu TNF- α , TGF- β , İL-6, İL-1 gibi inflamatuvar sitokinlerle, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi birçok büyüme faktörün ve hormonlar ile uyarılabilir. Dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β), heparin, kortikosteroidler, retinoidler, prostoglandin E₂ (PGE₂) ve diğer eikozanoidler ise MMP gen transkripsiyonunu baskılar. Örneğin TGF- β MMP-2

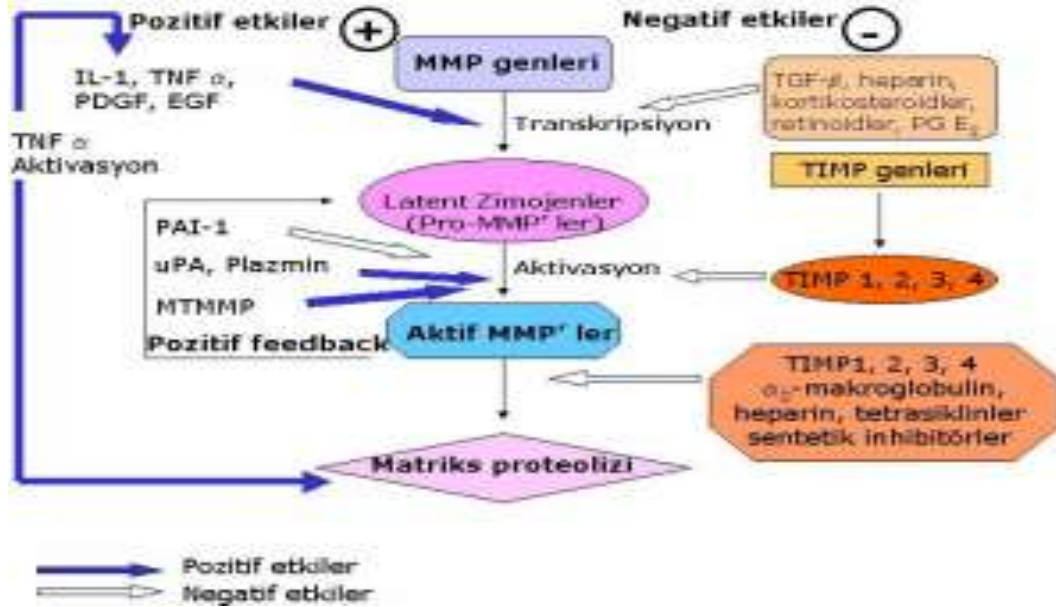
ve MMP-9'un üretimini uyarırken MMP-1 ve MMP-3'ün üretimini baskılamaktadır (Phatharajaree W ve ark., 2007; Şen F., 2012; Dinç M., 2012).

Bunlarla beraber yapılan başka çalışmalara göre c-fos ve c-jun metalloproteinaz gen ekspresyonunun önemli regülatörleridir (Aksun S.A ve ark., 2001).

2.Proenzimin Aktivasyonu ile Düzenleme

Hücreden salınan MMP'lerin çoğu inaktif proenzim (zimojen) yapıdadır. Latent zimojenlerin uyarılması hücre içinde olabileceği gibi MT-MMP'ler aracılığıyla hücre yüzeyinde ve proteazlar veya daha önceden etkinleşmiş MMP'ler yoluyla hücreler arası boşlukta meydana gelmektedir (Şen F., 2012). Propeptid içeren inaktif MMP'ler, otokataliz, doku veya plazma proteinazları, oportunistik bakterial proteinazlar ve ürokinaz plazminojen aktivatör/plazmin sistemi veya diğer MMP'ler ile aktifleşir. Plazmin MMP'lerin temel fizyolojik aktivatörüdür. Örneğin bazı hücrelerin yüzeylerinde bulunan proMMP-2'nin aktifleşmesi MT-MMP' nin mediatörlüğünde olabilmektedir. MMP'lerin büyük kısmı ekstrasellüler, diğer kısmı olan MMP-11, -14, -15, -16,- 17 ve -28 furin benzeri serin proteazlarda intrasellüler ve diğer bazılarında perisellüler olarak aktive edilebilmektedir (Borkakoti N., 1998; Okada Y., 2016).

MMP enzim aktivitesinin düzenlenmesi şekil 2.3'de gösterilmiştir.



Şekil 2.3. MMP enzim aktivitesinin düzenlenmesi (Reel B., 2006).

Sistein rezidüsü içerdiği sülfidril grubuyla proMMP'lerin aktifleşmesini engellemek için katalitik bölgedeki Zn^{+2} iyonuna bağlanarak yapar. ProMMP aktive olabilmesi için sistein ve Zn^{+2} iyonu arasındaki etkileşimin bozulması gerekir.

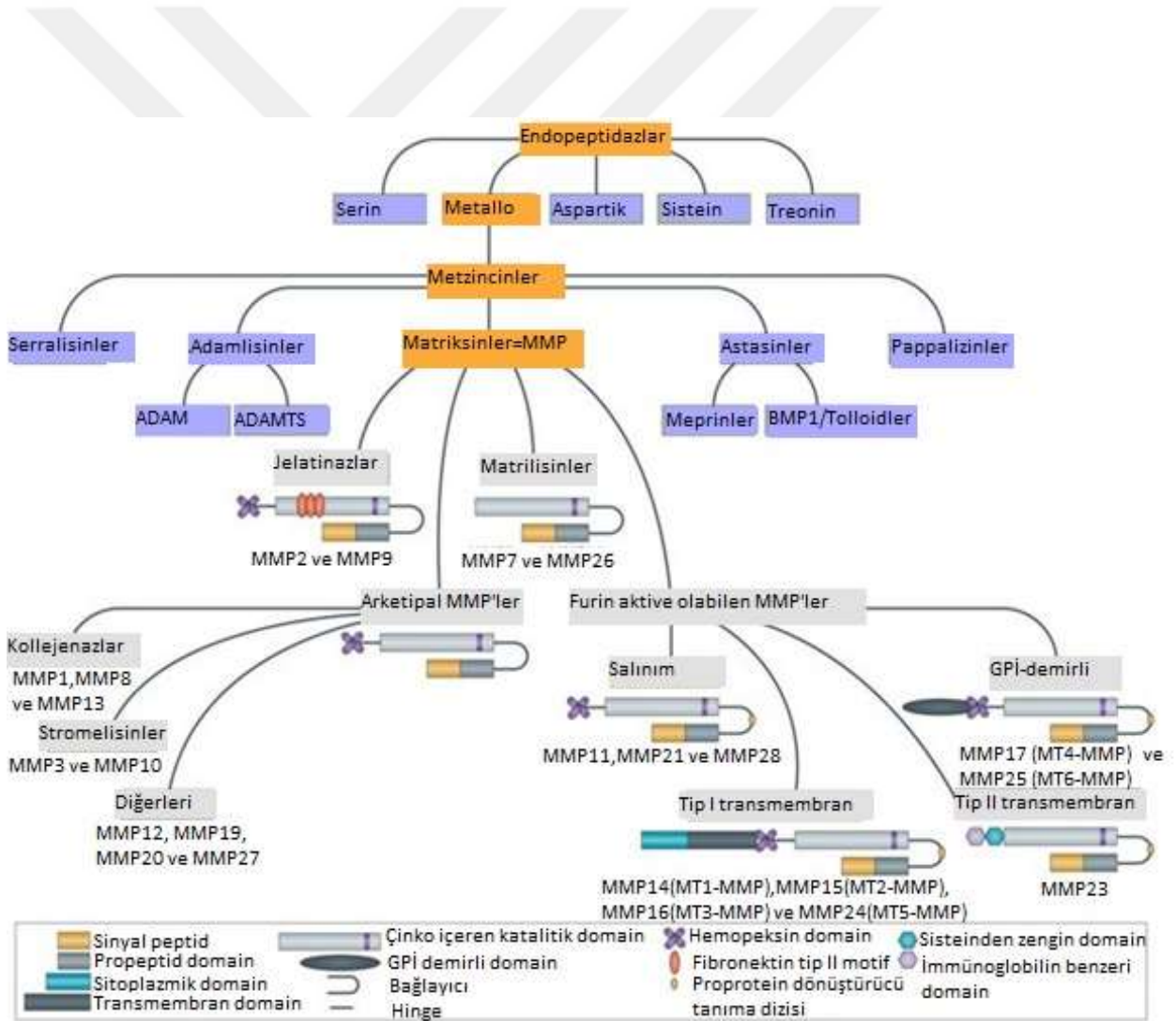
Salgılanan bazı MMP'lerin aktivasyonu, TIMP'e bağlı yolla membran tipi MMP'lerle proteolitik bölünme sonrası hücre yüzeyinde meydana gelmektedir. Diğer MMP'lerin aktivasyonu ise plazmin, kallikrein ve triptaz gibi doku proteinazlar tarafından başlatılan bir aktivasyon kaskadının bulunduğu hücre dışı ortamda oluşmaktadır. Bu süreç, proMMP aktivatörleri olarak işlev gören aktive edilmiş MMP'ler tarafından gerçekleştirilir. Membran tip ve salgılanan birkaç MMP, furin ve ilgili hücre içi serin protein öncü dönüştürücü proteinazlar tarafından, hücre yüzeyinde aktive edilir (Overall C.M., 2002).

3.Doku İnhibitörleri ile Düzenleme

MMP aktivitesinin kontrolünde spesifik doku inhibitörleri olan TIMP'ler anahtar rol oynar. Bunların dışında $\alpha 2$ -makroglobulin, heparin, tetrasiklinler ve sentetik inhibitörler de aktif MMP inhibitörleri arasında bulunmaktadır (Reel B., 2006). TIMP'ler bağ dokusunun düzenlenmesinde rol alan temel proteinlerdir. Pek çok vücut dokusu ve sıvılarında bulunurlar. MMP'lere geri dönüşümsüz ve non-kovalent biçimde bağlanarak latent enzim formunun aktivasyonunu ve katalitik aktivitenin sürdürülmesini de inhibe ederler (Dinç M., 2012). İnsanlarda dört çeşit TIMP tanımlanmıştır. TIMP'lere yapısal benzerlik gösteren ve MMP inhibitörleri olarak işlev görmelerini sağlayan alanlar içeren, prokollajen C proteinaz arttırıcı protein (PCPE), Tip IV kollajenin NC1 domaini, geri kazanım indükleyici sistein açısından zengin protein olan kazal motifleri (RECK) ve doku faktörü yolağı inhibitörü-2 (TFPI2) gibi bazı moleküller de inhibisyonda rol almaktadır (Clark I.M, 2010). TIMP'ler genel olarak etkinleşmiş MMP'lerin katalitik bölgelerine bağlanarak substratlarına bağlanmalarını önler. MMP'ler ile koordineli olarak eksprese edilmekte ve aktive olmuş enzimi inhibe ederler. Otoaktivasyonu inhibe etmemektedirler. Bu durum MMP'lerin, TIMP'ler ile inaktive olana kadar etki göstermesini sağlamaktadır. Bu şekilde ekstrasellüler matriks yıkımı kontrol altında tutulmaktadır (Öztürk Ö.G., 2013).

2.3.3.2.4. Matriks Metalloproteinaz ailesinin üyeleri

ECM bileşenleri proteinazlar aracılığı ile parçalanır. Katalitik mekanizmaya göre proteinazlar; aspartik proteinazlar, sistein proteinazlar, serin proteinazlar ve metalloproteinazlar olmak üzere dört başlık altında sınıflandırılabilir (Okada Y., 2016). MMP'ler genellikle organizasyonuna ve substrat tercihlerine göre sınıflandırılırlar; kolajenazlar, jelatinazlar, stromelizinler, matrilizinler, membran tipi (MT) -MMP'ler ve diğer MMP'ler olmak üzere 6 sınıfa ayrılmıştır (Hoekstra R ve ark., 2001; Kuzuya M ve ark., 2003; Visse R ve ark., 2003; Sagi I ve ark., 2015).



Şekil 2.4. MMP süperailesine ait sınıflandırma (Vandenbroucke R.E ve ark., 2014).

İnsan genom ve biyoinformatik dizilim çalışmaları MMP'lerin bu yeni sınıflandırılmasının yapılmasına imkan sağlamıştır. X-ışını kristalografisi ve nükleer manyetik rezonans (NMR) çalışmaları birçok MMP'inin yapısını göstermeyi mümkün hale getirmiştir (Zitka O ve ark., 2010). Proteazları kodlayan genler tarafından kodlanan 23 MMP vardır. Buna ek olarak MMP-16, MMP-19, MMP-21, MMP-23 ve MMP-28 olmak üzere beş adet, daha ek kısa izoformu ve katalitik olarak inaktif MMP-1'e benzeyen MMP'lerde vardır (Sagi I ve ark., 2015). MMP, katalitik alanlarının yüksek sekans benzerliği ile ele alındığında en az 25 farklı omurgalı MMP karakterize edilmiştir. İki özdeş form içeren ve iki ayrı gen tarafından kodlanan MMP-23 (MMP23A ve MMP23B) de dahil olmak üzere, insanlarda 24 farklı MMP bulunmuştur (Löffek S ve ark., 2011).

MMP'ler, substrat özgüllüğü, primer yapı ve hücresele lokalizasyona göre kollajenazlar, jelatinazlar, stromelizinler, matrilizinler ve MT-MMP'ler olmak üzere en az beş ana gruba ayrılmıştır. Fakat, makrofaj elastaz (MMP-12), stromelisin-3 (MMP-11), MMP-19, enamelisin (MMP-20), CA-MMP (MMP-23) ve epilisin (MMP- 28) bu sınıflandırmaların hiçbirine uydurulamamıştır. Kollajenolitik aktivite gösteren ve membrana bağlı olan MT1-MMP (MMP-14) ise birden fazla gruba dahil edilmiştir (Murphy G ve ark., 2002).

Başka bir sınıflandırmada ise, MMP'leri substrat tanıma ve bölme mekanizmasına göre; kollajenazlar, matrilizinler, stromelizinler, jelatinazlar, membrana bağlı MMP'lar ve grup belirtimi olmayan MMP'ler olarak altı kategoriye ayrılmıştır (Sagi I ve ark., 2015).

Başka bir çalışmada ise 24 insan ve 23 fare geni tarafından kodlandığı belirtilen MMP'ler domain yapılarına göre sınıflandırılmış olup, bunlar dört ana başlık altında kollajenazlar, stromelizinler, jelatinazlar ve membran tipi MMP'ler (MT-MMP) olarak adlandırılmıştır (Rivera S ve ark., 2010).

Domain yapıları tarafından sağlanan biyokimyasal özelliklere ve bunların substrat özgüllüğüne göre insan MMP ailesi, salgılanan tip MMP'ler ve membrana bağlanmış MMP'ler olmak üzere iki ana alt gruba ayrılmıştır. MMP-4, -5 ve -6, bilinen diğer MMP'ler (MMP-2 ve -3) ile özdeş oldukları için listeden çıkarılmıştır. Xenopus kollajenaz-4 ve tavuk MMP'i olarak tanımlanan MMP-18 ve -22 de listeye dahil edilmemiştir (Okada Y., 2016).

MMP ailesi, başlangıçta, kollajenazlar, jelatinazlar, stromelizinler ve matrilizinler gibi sınırlı bilgiye göre tanımlayıcı isimlerle substrat özgüllüğüne göre sınıflandırıldı. Fakat yeni MMP'lerin keşfi ve zaman içinde yapılan çalışmalar ile substrat özgüllük türüne dayalı adlandırmanın

yetersiz olduğu ortaya konuldu. Eski çalışmalarda gösterilmiş olan bazı MMP'ler (MMP-4, MMP-5 ve MMP-6) listeden çıkarıldı. Çünkü güncel çalışmalar, bu gen ürünlerinin mevcut olmadığını veya daha önceden açıklanan üyeler ile aynı olduğunu gösterdi. MMP'lerin nasıl gruplandırılması gerektiği konusunda fikir birliği çok olmasa da bu alanda çalışan farklı uzmanlar, genel olarak bunları yapısal benzerlikleri, substrat özgüllüğü veya doku ekspresyonuna göre sınıflandırmıştır (Greenlee K.J ve ark., 2007). MMP türlerine ait sınıflandırma aşağıdaki tablo 2.4'de gösterilmiştir.

Tablo 2.4 MMP türlerine ait sınıflandırma (Zitka O ve ark., 2010; Löffek S ve ark., 2011; Kapoor C ve ark., 2016).

	MMP no	Sınıfı	Proteaz ismi	EC no	Kromozom lokasyonu	MA latent	MA aktif
1	MMP-1	Kollajenazlar	Kollojenaz-1 (intersitisyel kollojenaz)	EC3.4.24.7	11q22-q23	55	45
2	MMP-2	Jelatinazlar	Jelatinaz A (72 kDa jelatinaz)	EC3.4.24.24	16q13	72	66
3	MMP-3	Stromelisinler	Stromehsin-1	EC3.4.24.17	11q23	57	45
4	MMP-7	Matrilisinler	Matrilisin-1 (PUMP-1)	EC3.4.24.23	11q21-q22	28	19
5	MMP-8	Kollajenazlar	Kollojenaz-2 (notrofil kollojenaz)	EC3.4.24.34	11q21-q22	75	58
6	MMP-9	Jelatinazlar	Jelatinaz-B (92 kDa jelatinaz)	EC3.4.24.35	20q11.2-q13.1	92	86
7	MMP-10	Stromelisinler	Stromehsin-2	EC3.4.2.22	11q22.3-q23	57	44
8	MMP-11	Stromelisinler	Stromehsin-3	-	22q11.2	51	44
9	MMP-12	Diğer enzimler	Metalloelastaz (makrofaj elastaz)	EC3.4.24.65	11q22.2-q22.3	54	45/22
10	MMP-13	Kollajenazlar	Kollojenaz-3	13 EC 3.4.24.B4 (Önceden BRENDA tarafından verilmiş olan numara)	11q22.3	60	48
11	MMP-14	MT-MMP	MT-1MMP	- EC 3.4.24.80	14q11-q12	66	56
12	MMP-15	MT-MMP	MT-2MMP	-	16q12.2-q21	72	60
13	MMP-16	MT-MMP	MT-3MMP	-	8q21	64	52
14	MMP-17	MT-MMP	MT-4MMP	-	12q24	57	53
15	MMP-18	Kollajenazlar	Kollojenaz-4 (Xenopus collagenase)	-	-	55	42
16	MMP-19	Diğer enzimler	RASI 1	-	12q14	54	45
17	MMP-20	Diğer enzimler	enamelisin	-	11q22.3	54	22
18	MMP-21	Diğer enzimler	1. kromozomda tanımlı MMP (XMMP (xenopus))	-	1p36.3	70	53
19	MMP-22 (27)	Diğer enzimler	1. kromozomda tanımlı MMP (CMMP (chicken))	-	1p36.3	52	43
20	MMP-23	Diğer enzimler	İnsan over cDNA'sında (CA-MMP)	-	-		
21	MMP-24	MT-MMP	MT-5MMP	-	20q11.2	63	45
22	MMP-25	MT-MMP	MT-6MMP (lökolizin)	-	16p13.3		56
23	MMP-26	Matrilisinler	Matrilisin-2 (endometaz)	-	11p15	28	
24	MMP-28	Diğer enzimler	Epilisin	-	17q11.2	59 (55)	
25	MMP-29		İsmlendirilmemiş				

2.3.3.2.5. Matriks Metalloproteinaz-substrat ilişkisi

MMP'ler dokuların yeniden biçimlendirmesini düzenler ve çeşitli ECM proteinlerinin değredasyonunu sağlar. Kollajen ve elastin, damar duvarının yapısal bütünlüğü için gereklidir ve major MMP substratlarıdır. Çeşitli MMP'ler kollajen alt tiplerini farklı etkinliklerle parçalamaktadır. Diğer MMP substratları ise agrekan, entaktin, fibronektin, jelatin, laminin, tenasin ve vitronektini içerir (Moore KL., 2008).

MMP'ler, kollajen, elastin ve laminin gibi çeşitli ECM substratlarını değrede edebilir (Liu J ve ark., 2017).

MMP –sustrat ilişkisine ait tablo 2.5'de verilmiştir.

Tablo 2.5. MMP - sustrat ilişkisi (Zitka O ve ark., 2010; Löffek S ve ark., 2011; Kapoor C ve ark., 2016).

MMP no	Sınıfı	Proteaz ismi	Substratlar
MMP-1	Kollajenazlar	Kollojenaz-1 (intersitsiyel kollojenaz)	Kollajen (I-III, VII, VIII ve X), jelatin, agrekan, L-selektin, IL-1 β , proteoglikanlar, entaktin, ovostatin, MMP-2, MMP-9
MMP-2	Jelatinazlar	Jelatinaz A (72 kDa jelatinaz)	Jelatin, kollajen IV-VI, X, elastin, fibronektin
MMP-3	Stromelisinler	Stromelisin-1	Kollajen (III-V ve IX), jelatin, agrekan, perlekan, dekorin, laminin, elastin, kazein, osteonektin, ovostatin, entaktin, plazminojen, MBP, IL-1 β , MMP-2/TIMP-2, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-13
MMP-7	Matrilisinler	Matrilisin-1 (PUMP-1)	Kollajen (IV, X), jelatin, agrekan, dekorin, fibronektin, laminin, elastin, kazein, transferrin, plazminojen, MBP, β 4-integrin, MMP-1, MMP-2, MMP-9, MMP-9/TIMP-1
MMP-8	Kollajenazlar	Kollojenaz-2 (nötrofil kollojenaz)	Kollajen (I-III, V, VII, VIII ve X), jelatin, agrekan, fibronektin
MMP-9	Jelatinazlar	Jelatinaz-B (92 kDa jelatinaz)	Kollajen (IV, V, VII, X ve XIV), jelatin, entaktin, agrekan, elastin, fibronektin, osteonektin, plazminojen, MBP, IL-1 β
MMP-10	Stromelisinler	Stromelizin-2	Kollajen (III-V), jelatin, kazein, agrekan, elastin, MMP-1, MMP-8
MMP-11	Stromelisinler	Stromelizin-3	Bilinmiyor (kazein)
MMP-12	Diğer enzimler	Metalloelastaz (makrofaq elastaz)	Kollajen IV, jelatin, elastin, kazein, fibronektin, vitronektin, laminin, entaktin, MBP, fibrinojen, fibrin, plazminojen
MMP-13	Kollajenazlar	Kollojenaz-3	Kollajen (I-IV, IX, X ve XIV), jelatin, plazminojen, agrekan, perlekan, fibronektin, osteonektin, MMP-9
MMP-14	MT-MMP	MT-1MMP	Kollajen (I-III), jelatin, kazein, fibronektin, laminin, vitronektin, entaktin, proteoglikanlar, MMP-2, MMP-13
MMP-15	MT-MMP	MT-2MMP	Fibronektin, entaktin, laminin, agrekan, perlekan; MMP-2
MMP-16	MT-MMP	MT-3MMP	Kollajen III, jelatin, kazein, fibronektin, MMP-2
MMP-17	MT-MMP	MT-4MMP	-
MMP-18	Kollajenazlar	Kollojenaz-4 (Xenopus collagenase)	Tip 1 kollajen
MMP-19	Diğer enzimler	RASI 1	Tip 1 kollajen
MMP-20	Diğer enzimler	enamelisin	Amelojenin, agrekan, COMP
MMP-21	Diğer enzimler	1 kromozomda tanımlı MMP (XMMP (xenopus))	-
MMP-22 (27)	Diğer enzimler	1 kromozomda tanımlı MMP (CMMP (chicken))	-
MMP-23	Diğer enzimler	İnsan over cDNA'sında (CA-MMP)	-
MMP-24	MT-MMP	MT-5MMP	Fibronektin, kollajen tip 1 ya da laminin yok
MMP-25	MT-MMP	MT-6MMP (lökolizin)	Projelatinaz A
MMP-26	Matrilisinler	Matrilizin-2 (endometaz)	Kollajen IV, fibronektin, fibrinojen, jelatin, α (1)-proteaz inhibitör
MMP-28	Diğer enzimler	Epilisin	-
MMP-29		İsmlendirilmemiş	-

2.3.3.2.6. Matriks Metalloproteinaz-İnhibitörleri ilişkisi

MMP'lerin aktivasyonu ve inhibe edilmesi bir denge halindedir. ECM'de, genel proteinaz inhibitörü olarak bilinen α 2-makroglobulin MMP'leri inhibe eden faktörlerin başında gelir. Bir diğeri ise C-reaktif protein olup antikollajenaz aktiviteye sahiptir. Bunların dışında heparin,

tetrasiklinler, α -1 antiproteaz gibi ve sentetik inhibitörler de aktif MMP inhibitörleri arasında bulunmaktadır (Reel B., 2006).

MMP'lere spesifik doku inhibitörleri (TIMP) tanımlanmıştır. TIMP'ler bir proteindir ve bağ dokusu metabolizmasının düzenlenmesinde temel rol alır. Pek çok doku ve vücut sıvılarında bulunur. MMP aktivasyonunun regülasyonunda TIMP'lerinin önemli rol oynadığı gösterilmiştir. TIMP aktivitesi için yapının bütünlüğü korunmuş olması gerekir (Aksun S.A ve ark., 2001). TIMP'ler dokudaki MMP'lerin majör endojen regülatörüdür. MMP'lere non-kovalent ve irreversibl bağlanarak latent enzim formunun aktivasyonunu sağlarlar ve katalitik aktivitenin sürdürülmesini de inhibe ederler. Böylece TIMP'ler MMP enzim aktivitesini ve MMP/TIMP dengesini sıkı kontrol ederler.

Moleküler ağırlıkları yaklaşık 21-30 kDa aralığında olan bu protienler, insanlarda TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 ve TIMP-4 olmak üzere bugüne dek homolog 4 tip TIMP türü tanımlanmıştır. TIMP-MMP bütünleşmesi substrat bölünme-bağlanma bölgelerini bloke ederek etkisini gösterirler. TIMP'ler makrofajlar, kan hücreleri, vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreleri ve bağ dokusu hücreleri tarafından sentez edilir. TIMP ler genel olarak herhangi özel bir MMP'ye özgül değildir. TIMP'ler MMP aktivitesini inhibe etme yönünden benzerlik gösterir, fakat, matriksteki lokalizasyonları ve gen ekspresyonunun düzenlenmesi yönünden farklılık arz eder. MMP türlerine göre de özgüllük gösterirler (Reel B., 2006 ; Zitka O ve ark., 2010).

TIMP türlerinden bahsederek,

TIMP-1; İlk defa tavşan kemiğinden elde edilmiş ve daha sonra insan vücut sıvıları ve dokularında olduğu görülmüştür. Glikozilasyon ile aktive olan glikoproteindir. Bütün aktif kollejenazları inhibe edebilir. MMP-2 ve Mt-1-MMP haricindekileri inhibe eder. Özellikle MMP-9'u özgül olarak inhibe eder. Fibroblast büyüme faktörü, forbol esterleri, trombosit kaynaklı büyüme faktörü ve interlökin-1 gibi bir çok uyarıcı TIMP-1'in fibroblastlardaki ekspresyonunu artırır (Curran S, ve ark., 1999; Nelson A.R ve ark., 2000.).

TIMP-2; Non- glikolize olan TIMP-2, ilk kez melanom hücrelerinden izole edilmiştir. MMP-9 dışındaki MMP'leri inhibe eder. Özellikle MMP-2 ye özgüldür ve pro-MMP-2 ile birlikte fibroblast gibi bazı hücrelerden sekrete edilirler. Yalnız alveolar makrofajlarda olduğu gibi bireysel olarakta sekrete edilebilirler (Curran S, ve ark., 1999).

TIMP-3; Meme kanserinden tanımlanan TIMP-3 MMP-1,-2,-3,-9 ve -13'ü inhibe ederler (Wang M ve ark., 1997; Curran S, ve ark., 1999). ECM'den değişime uğramış hücrelerin ayrılmasını kolaylaştırır ve morfolojik değişiklikleri başlatır. Bazı hücrelerde apoptozu indükler.

TIMP-4; İnsan kalbinde saptanmış olup, tümör invazyon ve metastazını inhibe ettiği gösterilmiştir (Wang M ve ark., 1997). MMP-2,-7 ve -9'u inhibe ederler (Gomez D.E ve ark., 1997.). Mt-MMP inhibisyonu yaparak MMP-2'nin aktivasyonunun inhibitör görevini görür.

NTD patofizyolojisinde, hücre göçü, ECM yapılanmasında önemli bir yer tutmaktadır. Bu nedenle, hücre göçünde fonksiyonları olabileceği bildirilen MMP-1, MMP-2 ve MMP-9 gen ekspresyonlarının NTD oluşumundaki olası rollerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu kısımda MMP-1, MMP-2 ve MMP-9'dan bahsedilecektir.

2.3.3.2.7. MMP-1 (İntersitisyel kollajenaz, Kollajenaz-1)

MMP ailesinin prototipidir. Bu enzim ailesinin ilk üyesi olan MMP-1, Jerome Gros ve Charles Lapiere tarafından 1962'de metamorfoz sırasında rezorbe edilen iribaş kuyruklarından elde edilen kültürü yapılan doku parçalarından salgılanan gerçek bir kollajenazın gösterilmesiyle keşfedildi. İribaş kurbağa kuyruğunun rezorbsiyonundan elde edilen bu enzim daha sonraları matriks metalloproteinazlar ya da matriksinler denen proteaz ailesinin prototipi kollajenaz-1 olarak adlandırıldı (Gross J ve ark., 1962). Kromozomal lokalizasyonu 11q22.2.22.3'dür. Substratları kollajen I, II, III, VII, VIII, X, agregan, serpins ve 2-makroglobulindir. MMP-3,-7,-10, plasmin ve kallikrein ile aktive olur. MMP-2'yi de aktive eder.

Fibroblast kollajenaz adı verilen MMP-1 latent formu 55 kDa ağırlığında, aktif formu 43 kDa ağırlığındadır. İntersitisyel kollajen olarak bilinen TipI, TipII, TipIII'ü parçalarlar. Bu kollajenler bazal membranda yapısında bulunan Tip IV kollajenden ve perisellüler olarak da bulunan TipV kollajenden farklı yapıdadır (Aksun S.A ve ark., 2001; Fernandez-Patron C ve ark., 2002).

MMP-1, GPCR aracılığıyla sinyal başlatan ve hücre göçünü uyaran bağlanmış bir ligandı açığa çıkaran PAR-1'e bağlanarak ve bölünerek hücrelerin büyümesini ve işgalini teşvik eder. Bu mekanizma, hücrelerin bir proteolitik ortamı algılamasına ve bozulmuş matris alanına aktif olarak hareket etmesine izin verebilir (Moore KL., 2008).

2.3.3.2.8. MMP-2 (Jelatinaz tip A)

Latent formu 72 kDa, aktif formu 66 kDa ağırlığında olup, 16q13 kromozomal lokalizasyondadır. Domain yapılarına göre diğer MMP'lerden farklı olarak jelatinazlarda fibronektin tip II benzeri üç tekrar bölgesi bulunur.

Fibroblastlar, kondrositler, osteoblastlar, keratinositler, endotel hücreler, monositler gibi hücreler ve transforme olmuş birçok hücreler tarafından üretilir.

MMP-2'nin substratları ise, jelatin, kollajen I, IV, V, VII, X, fibronektin, tenaskin, fibrilin, osteonektin, elastin, laminini ve monosit kemoatraktan protein-3'dür. MMP-1,-13,-14,-15 ve -16 ile aktive olur. Bunun yanında MMP-9 ve -13'ü de aktive eder. Spesifik doku metalloproteinaz inhibitörlerinden TIMP-2 tarafından inhibe edilir (Woessner J.F. Jr, 1991; Fernandez-Patron C ve ark., 2002).

Fibronektinin, MMP-2 ailesinin substratı olmasından dolayı MMP-2 nin fazla sentezlenmesi hücre göçünü etkilemektedir.

Tavuklarda , nöral crest cell (NCC) göçünde MMP2 ekspresyonu gösterilmiştir (Cai ve ark., 2000). MMP2'deki mutasyonlar insanlarda görüldü. Bu mutasyonlar, yüz özelliklerini içeren ECM degradasyonunu ortaya koymaktadır.

2.3. 3. 2. 9. MMP-9 (Jelatinaz tip B)

Krozomal lokasyonu 20q12-13 olan MMP-9 ilk defa 1974'da Sapota ve Dancemicz tarafından polimorfonükleer lökositlerden salgılanan bir jelatinolitik enzim olarak tanımlandı.

MMP ailesinin en büyük üyesidir. Domain yapılarına göre diğer MMP'lerden farklı olarak jelatinazlarda fibronektin tip II benzeri üç tekrar bölgesi bulunur.

Jelatin ve tip IV bazal membran kollajeni için substrat spesifiktir. Diğer substratları ise, kollajen V, VII, XI, XIV, elastin, fibrilin, osteonektin 2'dir. Latent formu 92 kDa, aktif formu 84 kDa ağırlığındadır.

MMP-2,-3,-7,-13, plazmin, tripsin, kimotripsin ve katepsin G ile aktive olur. MMP-9 asidik ortamda tip 1 kollajenin N-terminalini yıkarak ECM'nin remodeling olayında önemli rol oynar (Woessner J.F. Jr, 1991; Opdenakker G ve ark., 2001).

MMP-9 epitelial mezenkimal dönüşümü(EMT) ve NCC göçünü gerçekleştirmede önemli bir role sahiptir (Cui N ve ark., 2017).

MMP-9, yetişkinlerde ve hücre kültüründe birçok EMT, hücre invazyonu ve doku yenileme sürecinin merkezinde yer alır (Vu ve Werb, 2000).

Embriyogenez sırasında; MMP-9 , anjiogenezis, kalp ve ekstremitte gelişimi gibi ECM yeniden yapılanmasının gerçekleştiği olaylarda marker olarak hizmet eder (Simsa S ve ark., 2007).

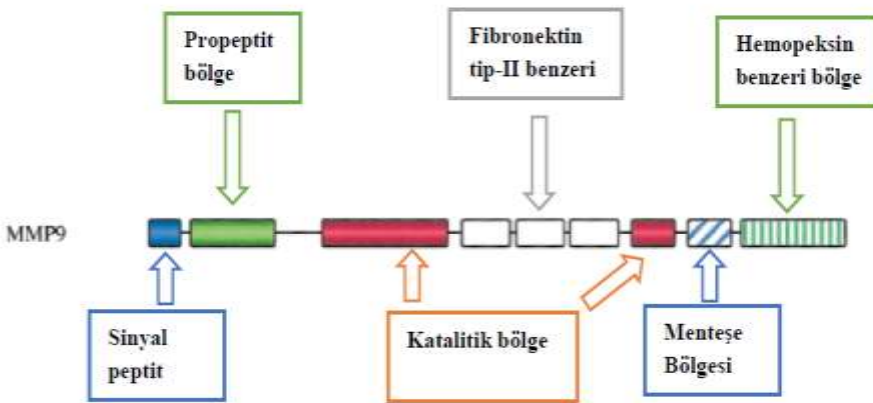
Xenopusembryos'tan elde edilen son veriler, MMP-9, -7 ve -18'in erken makrofajlarda eksprese edildiğini ve dolaşım sisteminin kurulmasından önceki göçleri için gerekli olduğunu ortaya koymuştur (Tomlinson ML ve ark., 2008).

MMP-9, NCC gelişiminin erken safhalarında da NCC gelişmesinin sonraki aşamalarında da rol oynamaktadır. MMP-9 içermeyen fareler, tümör invazyonu ve metastaz oluşumunu düşürmüştür (Coussens LM ve ark., 2000; Malemud CJ., 2006).

MMP-9, maternal decidua'ya trophoblast invasyonunu sırasında MMP-9 aktivitesi görülür, hücre invazyonu için alan sağlamak için ECM moleküllerini ve bazal laminayı bozarak hücre göçünü ilerletebilir (Malemud CJ., 2006).

NCC üzerinde MMP-9 aktivitesinin bir diğer muhtemel mekanizması, hücre-hücre yapışmasının bozulması, EMT ve hücre ayrılmasının sağlanmasıdır (Zheng G ve ark., 2009). MMP-9 in-vivo ve ex-vivo ortamda N-cadherin i hızla indirgeyebilir (Cui N ve ark., 2017)

MMP-9 yapısı şekil 2.5'de verilmiştir.



Şekil 2.5. Matriks metalloproteinaz-9 yapısı (Birkedal-Hansen H ve ark., 1993).

2.4. Nöral Tüp Defektinde Sınıflandırma

Nöral tüpün oluşum ve kapanmasını tarif eden nörilasyon kusurları sonucu oluşan gelişim bozukluklarına ‘nöral tüp defektleri’ denir. Bu, hem anterior nöropor (anensefali) hem de posterior nöropor (spina bifida) gelişim bozukluklarını içerir. Spinal disrafizm terminolojisi de tüm spina bifida şekillerini kapsamaktadır.

Genel bir görüş olarak spinal anomaliler, dış görünümüne göre ‘spina bifida aperta’ ve ‘spina bifida occulta’ şeklinde sınıflandırılırsalar da embriyolojik gelişim aşamalarındaki kusurlara göre sınıflandırma şöyledir (Baykaner ve ark., 2014).

- A. Nörilasyon evresi kusurlarına bağlı disrafizmler:
 1. Spina bifida aperta
 - a. Myeloşizis
 - b. Meningomyelose
 - c. Hemimeningomyelose
 - d. Siringomeningomyelose
 - e. Meningose
 2. Chiari malformasyonu
 3. Dandy-Walker malformasyonu
 4. Kranium bifidum
 - a. Ensefalose
 - b. Anensefali
 5. Okkült kranial disrafizm
 - a. Aplasia Kutis Konjenita
 - b. Kranial Dermal Sinüs
 6. Ayrık omirilik anomalisi (split kord malformasyonu-diastratomyeli)
 7. Nöroenterik kist
 8. Anterior sakral meningose
 9. Konjenital spinal dermal sinüs
 10. Lumbosakral lipoma
 11. Anterior ve posterior spina bifida birlikteliği

B. Kuyruk tomurcuğunun rekanalizasyonu (sekonder nörilasyon) evresi kusurlarına bağlı disrafizmler:

1. Gergin omirilik sendromu (tethered kord sendromu)
2. Okkült intrasakral meningesel
3. Basit okkült spina bifida

2.4.A. Nörilasyon Evresi Kusuruna Bağlı Disfarizimler

2.4.A.1. Spina bifida aperta

Açık spinal disfarizm anlamına gelir. Dış ortama açık veya her an açılabilir ve tedavi edilmesinde zaman kaybedilmemesi gereken bir durumdur.

2.4.A.1.a. Myeloşizis

Embriyolojik gelişimde en erken etkinin yol açtığı bir anomalidir. Nörilasyon olmamıştır ve nöral plak olduğu gibi durmaktadır. Nöral plak bir tabaka halinde olsa da elektrofizyolojik olarak görev yapabilen sinir köklerini içermektedir. Prenatal dönemdeki amnion sıvısı ile temas nöral plağın dejenerasyonuna sebep olabilir.

En sık torakolomber bölgede görülür. Plak üzerinde hiçbir anatomik katın olmaması nedeni ile menajit veya ventrikülit potansiyel tehlikesine sahiptir.



Resim 2.2. Myeloşizis

2.4.A.1.b. Meningomyelose

Tüm santral sinir sistemini etkileyen ve ABD’de yılda 2500-6000 yenidoğanı etkileyen bir nöral tüp defektidir (McLone DG., 1998). Bu spinal disfarizmde nörilasyon tamamlanmamıştır. Nörilasyon sonunda kapanmış olması gereken nöral tüpün belirli bir segmentte açık kalması ile oluşur. Daha çok lomber, lumbosakral ve sakral bölgelerde görülmekle beraber torakolomber bölgede görülmemektedir. Dorsalde bir kese ve içinde nöral elemanlar bulunur. Spinal kökler, plakodun anteriorundan çıkarken, ventral kökler medial ve dorsal kökler de lateral yerleşimlidir. Dura, defektle faysa lateralinden bağlanır. Plakodun kaudalinde veya plakodan çıkan sinir köklerinde, fonksiyonel nöral doku bulunabilir. Meningomyelose(MMS) olgularında mesane ve anal sfinkter sorunları görülebilir. Bu olgularda sfinkterler etkilendiğinde eğer tarzı duyu kaybı görülür ve **saddle anestezi** olarak adlandırılır.

İlk spina bifida tanısını 1587’de Peter Van Forest koymuş ve 1610’ da ilk olarak bildirilmiş meningomyelose kesesi eksizyonu ameliyatını uygulamıştır (Yamada S ve ark., 1995; Koçak A ve ark., 1997)

İlk anatomik çizimi 1641’de Tulp, klinik bulguların tarifini 1761’de Morgagni ve 1898-1923 yılları arasında çoğu olgunun ameliyat edildiği ve ancak hastaneden taburcu oluncaya kadar yaşatılabilen olgulardan oluşan serinin bildirilmesini Fraser yapmıştır (Fraser J, 1929).

MMS ve benzeri embriyolojik patolojiye sahip olduğu düşünülen anesefalide kabul gören iki mekanizma vardır. *Kapanmama (nonclosure)* teorisi temelinde nöral yarığı çevreleyen katların orta hatta kapanmaması ve fazla gerilme (distension) teorisinde ise kapanmış olan nöral tüpün tekrar açılmasının patolojiden sorumlu tutulduğu kabul edilmektedir (Park TS, 1999; Cohen AR ve ark., 2001). Her iki teoriyi de destekleyen deneysel modeller olmak ile birlikte açıklamalar süpekülatiftir. Çok farklı ve karmaşık etkileşimlerin rol oynayabileceği düşünülerek NTD’lerinin çok sayıda farklı embriyolojik aksamalarla gelişebileceği beklenir (McLone DG ve ark., 1983). Deneysel olarak genetik mutasyonlarla, teratojenlerle ve çeşitli manuplasyonlarla meningomyelose oluşturulabilmekle beraber insanlardaki mekanizma ve etken ortaya konamamıştır. Farklı embriyolojik mekanizmaların ortak sonucu olduğu kabul edilmektedir. Maternal ve/veya fetal folat eksikliği potansiyel bir faktördür. Ancak MMS’li olgularda hem fetal hem de maternal serum folat seviyesi bunu desteklememektedir. Bundan dolayı defekt oluşumunda folat eksikliğinin direk etkisinden çok, folat eksikliğine bağlı metabolik

bozuklukların etken olduğu düşüncesi önem kazanmıştır (Park TS, 1999). Coğrafik dağılımın insidasında etkili olduğu bilinmektedir.

Maternal serum alfa-fetoprotein (AFP) düzeyi artışı, bu anomalilerin insidansının artışı ile bağlantılıdır (Filly RA ve ark., 1993). NTD'lerin %90-95'i her ne kadar daha önce etkilenmemiş ailelerde görülse de daha önce MMS olanlarda artmış bir NTD insidansı bulunmaktadır (Filly RA ve ark., 1993). Maternal serumda AFP düzeyi yüksek geldiği zaman amniyon sıvısında AFP seviyesine bakılır ve yüksek çıkması halinde, MMS ve/veya anensefali şüphesi akla gelir (Dias MS, 1999).

Büyük bir çoğunluğu lumbosakral bölgede görülürken, servikotorasik yerleşim çok nadir görülür. Hemen hemen hepsinde chiari tip II malformasyonu ve hidrosefali ile birlikteliği bulunmaktadır. Ancak aksine, chiari tip II malformasyonlu ve hidrosefalili vakalarda MMS ilişkisi ve birlikteliği söz konusu değildir. MMS vakalarının $\frac{3}{4}$ 'ünde spinal lipom ve nadiren de dermoid tümörler ve epidermoid kistler görülür. %30-75 oranında sringohidromiyeli de görülebilir. Vakaların yaklaşık %80-90'ında hidrosefali birlikteliği vardır. %30-45 oranında diğer eşlik edebilecek santral sinir sistemi anomalileri içinde korpus kallozum agenezisi ve diastometomiyeli yer alır. Edinsel veya konjenital olarak, skolyoz, kifoz, lordoz, kifoskolyoz veya kot deformiteleri görülebilir (Bradford DS ve ark., 1991; Gokay H ve ark., 1993).

Ülkemizde meningomyelose prevalansı yetersiz sağlık kayıtları ve yoğun göç nedeni ile yıl içerisinde değişim göstermektedir. Dolayısı ile coğrafi dağılımla ilgili herhangi bir yorum yapmak mümkün değildir.

MMS, cerrahi olarak düzeltilmesi gerekir. Açık yara nedeniyle menenjit ve ventrikülit riski vardır. Uygun ve zamanında bir girişim ile spinal kordun düzgün işlev görebileceği bildirilmiştir (Selçuki M ve ark., 2004). Cerrahi zamanlamada farklı görüşler olsa da ilk 48 saatte ve hatta hidrosefali varlığında da eş zamanlı müdahale ile düzeltilmesi mümkündür.



Resim 2.3. Meningomyelosel

2.4.A.1.c. Hemimeningomyelosel

Spina bifida aperta vakalarının %10'unda, spinal kordun bir yarısı malformasyona katıldığı ve bundan dolayı nörodefisitinin bir tarafta diğerine göre daha ağır olmasıdır.

2.4.A.1.d. Sringomeningomyelosel

Çok nadir görülür. Genişlemiş santral kanal, meningesel kesesi için fitiklaşmıştır. %80 olguda lezyonu tam olarak kapatmayan çok ince bir epitel tabakası vardır. Servikal ve torakal bölgelerde görülür.

2.4.A.1.e. Meningosel

Dura ve BOS ile dolu araknoid kesenin spinal kanal dışına fitiklaşmasıdır. Nöral yapı kese içinde bulunmaz. Kese bir boyun ile spinal kanala bağlanmaktadır (Erşahin Y ve ark., 2001).

Spinal kordu çevrelemesi gereken pluripotansiyel mezodermal dokunun hatalı gelişmesi sonucu oluşur. Bazı vakalar dışında nöral doku gelişimi normal ya da normal gelişme potansiyelindedir.

Vakalar, doğumda normal olabildikleri gibi zaman içinde bazı nörodefisitler geliştirme potansiyelindedirler (Yamada S ve ark., 1981; Hendrick EB ve ark., 1983; O'Neill P ve ark., 1991). Meningosel, MMS olgularının 1/10'u oranındadır. Prevelansı, 1/10000 canlı doğumdur. Cinsiyet ayırımı yoktur. %80'inden fazlası lumbosakral bölgede yerleşimlidir. Diğer spinal disfarizmlerle nadiren birlikteliği vardır.

Cerrahideki amaç; kesenin tamiri ve subaraknoid aralığın yeniden yapılandırılmasıdır.



Resim 2.4. Meningosel

2.4.A.2. Chiari malformasyonu

Chiari malformasyonu serebellar tonsillerin foramen magna herniasyonu olarak tanımlanmaktadır. 1891 ve 1893 yıllarında Hans Chiari tarafından tariflenmiştir. Aynı zamanlarda Arnold'ta benzer tanımlamalarda bulunmuş ve Chiari 2 malformasyonuna Arnold-Chiari sendromu denmiştir (Hudgins RJ ve ark., 1995). spina bifida ve hidrosefali birlikteliği ile posterior fossa elemanlarına ait 4 tip anomali bildirmiştir. İlk iki tip en sık karşılaşılan tiplerdir (Sasani M ve ark., 2002).

Tip I; serebellar tonsillerin foramen magnumdan servikal kanala herniye olmuştur. Spina bifida ve meningomyelosel ile ilişkili değildir. Genelde baziller impresyon (%25-50), hidromyeli (%25-60), atlantookspital füzyon (%10), servikal spina bifida okulta (%5) ve Klippel-Feil sendromu (%5) ile birlikteliği vardır.

Tip II; serebellar tonsillerle beraber hipoblastik vermisin ve uzamış 4. ventrikülün spinal kanal için girmesidir. Sıklıkla myelodisplazi eşlik eder. Ventriküler anomali %90 oranında görülür. Laküner kafatası, falks hipoplazisi gibi gelişim defektleri sık görülür. Tipik olarak 4. ventrikül kaudale deplese edilir. Hemen hemen bütün hastalarda omurga gelişim anomalileri, myelomeningosele görülür. Syringomyeli görülme sıklığı artmıştır.

Tip III; serebellum, oksipital lop ve nadiren de pons ve medüllerinin düşük oksipital veya yüksek servikal ensefalosel içine herniasyonu ile oluşur. Oldukça nadirdir.

Tip IV; serebellar herniasyon olmaksızın serebellar hipoplazi ve displazi ile birlikte görülen patolojidir. Yaşamla bağdaşmaz.

Malformasyonun meydana gelmesi hakkında pek çok teori ortaya atılmıştır (Pollack IF ve ark., 1992; Sgouros S ve ark., 1995; Heiss JD ve ark., 1999).

2.4.A.3. Dandy-Walker Malformasyonu

Dandy-Walker Malformasyonu, ilk olarak Dandy ve Blackfan (Dandy WE ve ark., 1914). tarafından tariflenmiş, Benda (BENDA CE., 1954). anomaliye Dandy-Walker Malformasyonu ismini vermiştir. Dördüncü ventrikül posterior fossayı kaplayan bir kist halindedir. Magendie ve Luschka'ların tıkalı olmasının malformasyonun gelişmesinde gerekli olmadığı ortaya konmuştur. Vermis ve diğer serebellar yapılar gelişmemiştir. Beyin sapı öne doğru itilmiştir. Singulat girus, korpus kallozum ve anterior komissür agenezis %30 olguda birlikteliği vardır. Hidronefroz, renal kist, üreteral stenoz, yarı damak, polidaktili-sindaktili, Klippel-Feil sendromu, konjenital kalp anomalileri diğer eşlik eden anomalilerdir.

2.4.A.4. Kraniyum Bifidum

2.4.A.4.a. Ensefalosel

Ensefalosel kranial kemiklerin orta hat füzyon defektlerinden (cranium bifidum) dışarı, dura veya santral sinir sistemi dokusunun bir kısmının fitiklaşması sonucu oluşan doğumsal malformasyonlardır (Muraszko KM, 1996; Partington MD ve ark., 2001; Caruso PA ve ark., 2009). Dokunun içeriği ve fitiklaşmanın özelliği ile ilgili olarak, sadece dural kese fitiklaşması olan *kraniyal meningesel*, dural kese içinde nöral dokunun olduğu *meningoensefalosel* ve dural kese nöral doku ve ventrikül sisteminin uzantısının kese içinde yer aldığı *hidromeningoensefalosel* şekilleri vardır (Naidich TP ve ark., 1992; Caruso PA ve ark., 2009). Ancak, bu farklı morfolojik oluşumlar tüm şekil ve içeriklerinin kapsayacak şekilde *sefalosel* veya *ensefalosel* olarak adlandırılmaktadır (Docherty JG ve ark., 1991; Hoving EW., 2000). Kraniumda oksipitalde sık olmak üzere parietal, frontal ve nazofarengalde de görülür.

Spina bifida anomalilerine göre daha nadir oluşan ensefaloselin sıklığı, batılı kaynaklarda yaklaşık 1/5000 canlı doğum olarak bildirilir (Muraszko KM., 1996; Partington MD ve ark., 2001; Singh AK ve ark., 2009; Sanjari R ve ark., 2013). Ensefalosellerin, 8-12 haftalarda gelişen bir mezenkimal yetmezliğe bağlı bölgesel bir sorun olduğu düşünülmektedir (Muraszko KM., 1996; Hoving EW. 2000; Caruso PA ve ark., 2009). Bunun başlıca sebebi, ensefaloselli hastaların gelişiminin tamamlamış beyin veya beyincik dokusuna sahip olmalarıdır. Diğer bir bulguda majör serebral malformasyonlar içinde yine aynı embriyolojik döneme ait kallozal bozukluklar, heterotopi, skizensefali gibi migrasyon anomalilerinin ensefalosel ile birlikte görülebilmeleridir (Muraszko KM, 1996; Caruso PA ve ark., 2009). Ensefalosel kesesinde yalnızca beyin zarları olabileceği gibi bazen de dışarı çıkan kısımda beyin omirilik sıvısı (BOS) ve displastisiteye sahip sinir dokusu bulunabilir. Serebellum, serebral korteks, hatta beyin sapının bir bölümünün dışarı çıkmış olduğu olgular bulunmaktadır (Gökalp H.Z ve ark., 1988; Kadanalı S., 1992; Neyzi O ve ark., 2002).

Ensefaloseller coğrafik dağılım farklılıkları gösterirler. Avrupalılar ve Kuzey Amerikalılarda ensefalosellerin çoğunluğunu oksipital yerleşimli yani posterior ensefaloseli; Güneydoğu Asya'da ise çoğunlukla anterior yerleşimli ensefalosellerin daha sık olduğu görülmektedir

(Muraszko KM., 1996; Partington MD ve ark., 2001). Batıda çoğunlukla kızlarda görülürken, doğuda erkeklerde görülür.

Ensefaloseller sıklıkla izole anomalilerdir. Fakat bazen, kistik displastik böbrekler, kardiyak anomaliler, orofasyal yarıklık ve oksipital ensefaloselin beraber olduğu Meckel sendromu gibi sendromlara eşlik ederler (Muraszko KM., 1996; Balci S ve ark., 2004).

Meckel sendromunda ensefalosel ile birlikte polikistik böbrek, mikrosefali, mikroftalmi, polidaktili, yarıklık dudak, yarıklık damak ve genital anomaliler vardır (Turan JM ve ark., 2000).

Bannister bu grup hastaları “*komplike ensefalosel*” olarak tanımlanmıştır (Bannister CM ve ark., 2000). Bu grup hastalarda klinik ve prognoz daha kötü seyreder.

Ensefaloseller kalvariumda fıtıklaştıkları anatomik bölgeye göre sınıflandırılmışlardır. Suwanwela 1972 de ensefaloselleri oksipital (posterior), sinsipital (anterior), bazal, konveksite (interfrontal, anterior frontal, interparietal, temporal, posterior fontanel) ve posterior fossa yerleşimli olarak beşe ayırdı.(Suwanwela C ve ark., 1972; Hoving EW. 2000). Daha sonra Simpson ve ark. Revize ettiler (Simpson DA ve ark., 1984). Ancak günlük pratikte, *kalvarial*, *sinsipital* ve *bazal* ensefaloseller olarak tanımlanırlar (Muraszko KM, 1996; Caruso PA ve ark., 2009).

Ensefaloselli bir infantta nörolojik muayene sıklıkla doğaldır. Ender olarak kranial sinir paralizileri, motor ve sfinkter fonksiyonlarına ait bozukluklar olduğu görülür. Görme problemleri, mikrosefali, mental retardasyon gelişebilir. Kitlenin konumu ve görünümü itibarıyla doğumda tanı kesin bir şekilde konur. Dermoid kist, skalpa ait vasküler malformasyon ve nadiren kistik higroma ayırıcı tanıda düşünülmelidir. Tanı ise, radyolojik çalışmalar veya operasyon sonrasında yapılabilmektedir. Ensefaloseli olan hastaların hemen hepsinde, ileri beyin hasarlı vakalar dışında, cerrahi tedavi endikasyonu vardır. Cerrahi girişimin zamanlamasını, lezyon üzerindeki ülserasyon, serebrospinal sıvı sızıntısı ve lezyonun üzerindeki örtü belirler. Üzeri tamamen epitelize lezyonlar semielektif değerlendirilirken, lezyon üzerinde ince bir membran varsa acil cerrahi endikasyon vardır (French BN, 1990; Turan JM ve ark., 2000).

Ensefaloselde, kese çapının 5 cm altında, moningosel tarzda ve displastik kese olması, ek anomalilerin olmaması ve ventriküllerin normal yapıda (hidrosefalinin olmaması) olması iyi prognoza işaretler. Kötü prognostik kriterler de ise; kese çapının 5 cm üstünde meningoensefalosel ve içinde işlevsel nöral doku varlığının olması, mikrosefali veya

holoprozensefali gibi ek anomalileri ve hidrosefali varlığı sayılabilir (Baykaner ve ark., 2014). Frontal ensefaloseller parietal ve oksipital lezyonlara kıyasla daha iyi bir prognoza sahiptirler (Vander put NM ve ark., 1997).

Kesinin büyüklüğü ile kapsamı arasında bir korelasyon yoktur. İnfantın kraniumu büyüklüğüne ulaşan dev lezyonlar bile sadece BOS içerebilir. Dikkat çekicidir ki; küçük lezyonlar büyük bir olasılıkla beyin dokusu içerirler ve vital intrakranial yapılardaki büyük malformasyonlar ile beraberlik meyilindedir. Büyük ensefalosellerde kranium normalden küçükse normal beyin morfolojisinin ve fonksiyonlarının bozuk olma ihtimali yüksektir (Turan JM ve ark., 2000).



Resim 2.5. Ensefalosel (okspital ve frontal görünümüleri)

2.4.A.4.b. Anensefali

Anensefali, beynin ana bölümünün konjenital yokluğu ile karakterize, hayatla bağdaşmayan, ağır bir santral sinir sistemi anomalisidir (Kavak ZN ve ark., 1996). Anterior nöroporun kapanma defekti sonucu meydana gelmektedir. Beyin dokusu geniş kalvarium defektinin içinde rudimenter olarak bulunmaktadır. Beyin sapı, bağ dokusu ve damarlar vardır. Fakat, serebrum ve serebellum

yok gibidir. Anensefali tüm doğumların %0.03'ünde görülmekte ve NTD'nin %50-65'ini oluşturmaktadır (Kadanalı. S. 1992). Kalp-damar malformasyonları, maksillofasial ve kulak anomaliler eşlik edebilir.

Etyolojisi tam bilinmemekle beraber mekanik veya coğrafik etkilerin de birlikte olduğu genetik ve çevresel faktörler etyolojide araştırılmaktadır (Kavak ZN ve ark., 1996). Anensefali tanısı antenatal dönemde, ultrasonografik olarak konur. Ultrasonografik incelemede fetal kranium ve falks serebrinin görülmeyişi ve "gözlük" gibi orbitaların görülmesi tanı için tipiktir (Goldstein RB ve ark., 1989; Kavak ZN ve ark., 1996). Anensefalinin antenatal tanısı gebeliğin terminasyonunu gerektirir. Bu vakaların %65'i intrauterin hayatta ex olur. Bu fetuslar genelde doğumu takiben ilk 24 saatte ölür (Kavak ZN ve ark., 1996). Canlı doğanlar nadiren bir aya kadar hayatta kalabilirler. Bu olgularda primitif reflekslerin birçoğu olabilir.

Anensefali'li bebekler için standart bir tedavi yoktur ve etkilenmiş bebeklerde prognoz oldukça kötüdür. Anensefali'li olguların %55'i düşükle sonuçlanmakla beraber, bebeklerin çoğu doğumda yaşamaz veya birkaç saat içinde kalp ya da solunumun durması gibi sebeplerden yaşamlarını yitirir (Wald NJ ve ark., 1992; Kinsman SL ve ark., 2007). Amerika Birleşik Devletler'inde son zamanlarda pediatrik organ transplantasyonlarında donör havuzu vazifesi görebilecekleri düşüncesiyle, anensefalik yenidoğanların yaşatılmasına yönelik bir görüş popülerite kazanmıştır. (Neyzi O ve ark., 2002).



Resim 2.6. Anensefali

2.4.A.5. Okült Kraniyal Disfarizm

2.4.A.5.a. Aplasia Kutis Konjenita

Aplasia kutis konjenita (AKK) doğumda cildin lokalize bir bölgesinde tam veya kısmi eksikliğin bulunduğu heterojen bir hastalıktır. İlk defa 1767’de Cordon tanımlamıştır (Bharti G ve ark., 2011). Lezyonların çoğu kafa derisinde ve parasagittal bölgede bulunmaktadır. Ancak yüz, gövde veya ekstermitelerde de yer alabilir. Skalpte yer alanların %10 kadarında vücudun değişik bölgelerinde de bulunur (Kosnik EJ ve ark., 1975). Bu olgularda lezyonlar basit cilt yokluğundan epidermis, cilt altı doku, kemik ve hatta dura kaybına kadar giden değişik tiplerde karşımıza çıkabilir (Lassman LP ve ark., 1975; Martínez-Lage JF ve ark., 2002; Aloulou H ve ark., 2003). Tek veya çoklu olabilen lezyonlar fiziksel anomaliler ve sendromik malformasyonlarla da birlikte olabilmektedir.

AKK'nin sıklığı tam olarak bilinmemektedir, ancak ABD'de bu oranın 3/10000 doğum iken genelde 1/10000 olduğu tahmin edilmektedir (Taifour Suliman M ve ark., 2004).

Bir çalışmada ise bu oran 2.8/10000 olarak verilmiştir (Martinez-Regueira S ve ark., 2006). Cinsiyet ayırımı yoktur.

Birden fazla nedene bağlı olduğu düşünülmektedir. Nedenler arasında genetik faktörler, kokain, eroin, metimazol, valproik asit, karbimazol, misoprostol gibi teratojenler, travma ve cildin kan dolaşımını yetersizlikleri yer alır (Bharti G ve ark., 2011).

Bir diğer etiyolojik faktör ise hamilelik esnasında fötüs cildinde bası nedeniyle oluşan harabiyettir (Harris HH ve ark., 1986; Martínez-Lage JF ve ark., 2002). Skalpteki orta hat defektinin sık olmasının nedeni ise nöral tüpün en dış ektoderminde tam olmayan kapanma hatasının oluşmasıdır. Skalp ve ekstremiteler gibi sınırlı dolaşımı olan bölgelerde plasental infarkt veya diğer vasküler problemlere bağlı olarak iskemi geliştiği ise AKK oluşumu için diğer bir görüştür (Kim CS ve ark., 2001; Rhee ST ve ark., 2002; Santos de Oliveira R ve ark., 2006; Skoufi G ve ark., 2006). Amniotik membranın erken rüptüre olması sonucunda oluşan amniotik bantlar AKK oluşumunda sorumlu tutulmaktadır.

AKK'nin tanısı temel olarak fizik muayeneye dayanır. Tedavide genel bir uzlaşma olmamakla birlikte medikal ve/veya cerrahi tedavi uygulamak cilt defektinin büyüklüğü, derinliği ve lokalizasyonuna bağlıdır (Yılmaz MB ve ark., 2010).

2.4.A.5.b. Kranial Dermal Sinüs

Konjenital kranial dermal sinüs traktusları; orta hatta cilt yüzeyi ile intrakranial oluşumlar arasında potansiyel ilişki olabilecek şekilde uzanan, içi skuamöz (çok katlı yassı) epitelyum ile döşeli yapılardır (Shackelford GD ve ark., 1974).

Kranial dermal sinüs traktusu olan hastalar herhangi bir yaşta görülebilirken, çoğunluğu (%84) beş yaşın altında tanı almaktadır. Her iki cinsten eşit oranda görülmektedir.

Cilt ektoderminin, nöralasyon sonunda nöral ektodermden ayrılamayarak nöral tüp ile birlikte derinlere gelmesi dermal sinüs traktusunda embriyolojik patolojiyi oluşturur (Selçuki M, 2010).

Dermal sinüs traktusları genellikle orta hatta veya orta hatta çok yakın olacak şekilde nasion'dan sakrumun alt kısımlarına kadar uzanan herhangi bir bölgede bulunabilmektedirler. Çoğunlukla nöral tüpün her iki ucunda bulunmakla birlikte, en sık lokalizasyonu spinalde lomber ve

lumbosakral bölgede, kraniyalde ise oksipital bölgededir (Lin KL ve ark., 2002). Kraniyal dermal sinüs traktuslarının %85'i oksipital bölgede yerleşim göstermektedir. Kraniyal dermal sinüs traktuslarının %82'si subdural veya daha derine uzanırken, %18'i ekstradural olarak yerleşim göstermektedir (NEW GB ve ark., 1947; Okuda Y ve ark., 1987; Higashi S ve ark., 1995).

Cilt yüzeyinde başlayan traktus, cilt altında kemik yapıya ulaşmadan sonlanabilir veya intradural ya da intranöral yapılara kadar uzanım gösterebilmektedir.

Günümüzde dermal sinüs traktlarının tanısında en iyi metod MRI ve BT kombinasyonudur. Tedavide ise traktusun tüm uzantılarının ve varsa eşlik eden derindeki kitlesel oluşumlarının cerrahi olarak çıkarılmasıdır (Kanev PM ve ark., 1995; Elton S ve ark., 2001).

2.4.A.6. Ayırık omirilik anomalisi (split kord malformasyonu-diaSTEMATOMİYELİ)

Spinal kordun, sıklıkla fibröz bant, kartilaj veya kemik bir septumla, çeşitli seviyelerde iki bölüme ayrılmasına ayırık omirilik malformasyonu (split cord malformation (SCM)-diaSTEMATOMİYELİ) denir. Ancak %10 kadar olguda arada hiçbir aracı olmadan da split kord malformasyonu (SCM) görülebilir (Baykaner ve ark., 2014). DiaSTEMATOMİYELİ terimi ilk kez 1837'de Ollivier (Ollivier CP, 1937) ve 1892'de Hertwig (Hertwig O, 1892) tarafından durayı ikiye ayıran, ortada kemik spikülün bulunduğu ve omiriliğin de ikiye ayırdığı patoloji için kullanılmıştır.

Pang ve arkadaşları (Pang D ve ark., 1992; Pang D, 1992) bütün çift omirilik malformasyonlarını ayırık omirilik malformasyonları (AOM) başlığı altında toplamışlardır. Tip I ve II olmak üzere iki tür AOM belirlemişlerdir. Tip I AOM da ikiye ayrılan omiriliklerin her biri kendi durası ile çevrili olup ortada kemik veya kıkırdaktan oluşmuş sert bir septum bulunmaktadır. Tip II'de ise, ikiye ayrılan omirilik tek bir dural kılıf ile çevrilidir ve ortada sert bir septum vardır, sadece iki omirilik arasında yumuşak fibröz septum bulunur. Bu fibröz septumu radyolojik olarak göstermek mümkün olmamaktadır. Tip I AOM eski deyimiyile diaSTEMATOMİYELİYİ, Tip II AOM da diplomiyeliyi tanımlamaktadır.

Patogenezinde gastrulasyon sırasında notokordun orta hattan kraniyale doğru ilerlerken aslında 1-2 günlüğüne var olması gereken nöro-enterik kanalların (*Kovalevski kanalları*) kalması sonucu notokordun ikiye ayrılarak yoluna devam etmesi ve iki ayrı notokordun hemen üzerindeki cilt

ektoderminin iki ayrı bölgesine sinir sistemi yönünde gelişmesi konusunda sinyaller göndermesidir (Pang D ve ark., 1992).

Fizik muayenede, hipertrikoz ve ciltte renk değişikliği bölgesi izlenebilir. Dermal sinüs veya spinal lipom birlikteliği olabilir. Spinal kordun kraniyale doğru yükselmesini önleyerek SCM nörolojik belirtilerine neden olabilir. Cinsiyet üstünlüğü kızlardadır. Bu oran %70'leri aşmaktadır (Çolak A ve ark., 1988; Pang D, 1992; Erşahin Y ve ark., 1998). Olguların %85'inde T9-S1 arası bir yerleşim varken torakal bölgede yaklaşık %20 oranında izlenir. En az %85 SCM olgusunda, hemivertebral, blok veya kelebek vertebra ve dar intervertebral disk aralığını içeren vertebral anomaliler vardır (Baykaner ve ark., 2014). AOM'nin diğer nöral tüp defekti çeşitleriyle de birlikteliği olabilir.

Tanısında kemik septumun tespitine yönelik grafi ve/veya BT ile birlikte MRI'da spinal kordun ayırık görünümü değerlidir. Cerrahisi, kemik ya da fibröz septumun dural kılıfı ile birlikte çıkarılması ve duranın tamirini içerir.



Resim 2.7. Split kord malformasyonu

2.4.A.7. Nöroenterik kist

Nöroenterik kistler (NEK), embriyolojik olarak endodermal dokudan kaynaklanmaktadır. Spinal kanala ventralden girerek dorsale ilerleyen ve notokordu yararak nöral doku komşuluğuna gelerek çevre yapılara bası yapan enterik kistlerdir. Non-neoplastik intradural spinal kistlerinin nadir türlerinden biri olan nöroenterik kistler bütün omirilik tümörlerinin %0.3-1.3'ünü oluştururlar(Guilburd JN ve ark., 1980; Lippman CR ve ark., 2001; Sundaram C ve ark., 2001). Kadınlardan 1.5 ila 3 kez fazla olmak üzere erkeklerde daha sık ve genellikle ikinci ve üçüncü dekkadlarda görülür. (Agnoli AL ve ark., 1984; Arai Y ve ark., 1992; Rao MB ve ark., 1996; Paleologos TS ve ark., 2000).

Spinaldeki NEK'lerin %54'ü servikalde, %12 ila %21'inin torakal, %15 ila %20'sinin torakolomber bileşke ve geri kalanlarında daha alt bölgelerde olduğu bulundu (Fortuna A ve ark., 1983; Agnoli AL ve ark., 1984; Arai Y ve ark., 1992; Riviérez M ve ark., 1997).

Anteriordan spinal kanala giren ve anterior spinal kord basısı bulguları ile gelen olgularda radyolojik olarak tanı konduktan sonra cerrahi ile kist eksize edilir (Rougier A ve ark., 1993; Polo A ve ark., 1994).

2.4.A.8. Anterior Sakral Meningosel

Sakral dermatomlardaki kusurlu birleşme sonucu geliştiği kabul edilir. Abdominal organ anomalileri, bikornal uterus, atnalı böbrek, parsiyel üreter duplikasyonu ve vajinal septum ile birlikteliği sıktır.

Rektal bası nedeni ile konstipasyon, uterus ve vajinal bası nedeni ile dismenore, Valsalva manevrası esnasında BOS'un kese içine akışı nedeni ile intrakranial hipotansiyon ve baş ağrısı ile sakral ve lumbosakral pleksus basısı nedeniyle bacağı vuran ağrılar başlıca yakınmalar arasındadır.

2.4.A.9. Konjenital Spinal Dermal Sinüs

Cilt ektoderminin, nörilasyon sonunda nöral ektodermden ayrılmayarak nöral tüple birlikte derinlere ilerlemesi embriyolojik patogenezinde yer alır (Barkovich AJ ve ark., 1991). Cilt yüzeyi ile nöral yapılar arası epitelyum dokusu ile örtülü yoldur. Spinal kolon boyunca her yerde olabilir. Cilt altında sonlanabildiği gibi spinal kord içerisinde de sonlanabilir. Dorsal orta hatta bir gamze, küçük bir delikten çıkan kıl veya kırmızı renkli bir leke izlendiğinde tanısına yönelik araştırma yapılmalıdır.

Cinsiyet ayırımı yoktur. Nadir bir disfarizm şeklidir. Çoğu kez enfeksiyon ile semptomatik hale gelir. Dermal sinüs tekrarlayan menenjitlerden sorumlu tutulmaktadır. Vakaların %33'ünde baş vuru şekli tekrarlayan enfeksiyonlardır (Khoury AE ve ark., 1990; Selçuki M ve ark., 2008).

.Bazen eşlik eden dermoid veya epidernoid tümörlerin kitle etkisi ile belirti verir (Barkovich AJ ve ark., 1991). Yaklaşık %50 dermal sinüs olgusunda, nöral yapı içinde inklüzyon tümörü görülebilir. Dermoid tümörlerin %20-30'u dermal sinüs ile birliktedir. Çoğu kez lumbosakral bölgede izlenirken daha sonra en sık oksipital ve torasik bölgede saptanabilir (Wright RL, 1971). Görülme sıklığı açısından 2500 canlı doğumda 1 adet olarak bildirilmektedir.

Tanıda MR altın standarttır. Ancak gebelik döneminde USG yapılabilir. Nöral ve diğer dokular arasındaki büyüme hızı farkı nedeni ile tethered kord sendromu ile olgular karşımıza gelebilir.

Cerrahide dermal traktus ciltten itibaren takip edilerek duramater içine giren kısmı görülür. Nöral doku ile birleştiği kısım görülerek birleşim yerinden kesilir ve traktusun tümü çıkarılır.

2.4.A.10. Lumbosakral Lipoma

Lumbosakral lipoma, lomber veya sakral laminalar üzerine yerleşik, defektten geçerek daha derinlere ilerleyen, bazen konus medullaris, filum terminale ve kauda ekinaya yapışarak düşük seviye konus medullarise sebep olan lipomdur. Temel olarak lipomyelomeningosele (%84), filum terminale fibrolipomu (%12) ve intradural lipoma (%4) olarak üçe ayrılırlar. Ancak genel olarak “ *lipomyelomeningosele* ” de denmektedir. Cinsiyette hafif bayan dominantlığı var. %25 oranında siringohidromyeli ile birlikteliği var (Baykaner ve ark., 2014).

Filum terminale fibrolipomu (FTF), embriyolojik olarak retrograd diferansiasyon kusuru sonucu oluşur (Barkovich AJ ve ark., 1990). Gergin omurilik olmaksızın asemptomatik FTF'ları otopsi serilerinde %1-6 oranında görülürken lomber spinal MRI serilerinde insidental olarak %0.24-5 oranında görülür (Uchino A ve ark., 1991).

Dorsal, diffüz ve mikst olmak üzere üç tipi var. Olguların %50'sinde normal deri ile kaplı ve sakrum üzerinde izlenebilen lipom görülebilir. Dorsal tipte omurilik gerginliği ve inkontinans sorunlarını çözmek olanaklı iken diğer tiplerde postoperatif ek nörodefisitler gelişebilmektedir. Dolayısıyla bu olgularda proflaktik bir cerrahiden çok yakın takipte gelişecek sorunlara yönelik bir cerrahi planlama daha akılcıdır. Bu da diffüz ve mikst tip lipomyelomeningosele olgularını

diğer konjenital spinal anomaliler ve bunların cerrahisinden ayırmaktadır. Tanı MRI ve BT ile konur.

Cerrahide amaç gerginliğe neden olan patolojinin ortadan kaldırılmasıdır. Lipom çıkarılır, filum terminale kesilir ya da yapışıklıklar temizlenir (Towfighi J ve ark., 1991; Inoue HK ve ark., 1994; Selçuki M ve ark., 1998).



Resim 2.8. Lipomeningomyelose

2.4.A.11. Anterior ve Posterior Spina Bifida Birlikteliği

Bazen anterior ve posterior vertebral kolon deformiteleri aynı seviyede yer alabilir. Servikotorakal bölge yerleşimi halinde majör santral sinir sistemi ve diğer organ sistem anomalileri ile beraber olabilir. Bu tip bebekler ölü doğarlar.

2.4.B. Kuyruk Tomourcuğunun Rekanalizasyonu (Sekonder Nörilasyon) Evresi Kusurlarına Bağlı Disfarizmler

Embriyolojik olarak, sekonder nörilasyon sorunlarına bağlı olarak gelişen bir yelpazedir. Doğumda belirgin bir kusuru olmayan olgulardır. Anomaliyi tanımak güçtür. Bebeğin gösterdiği

motor gelişim önemlidir. Yakın takip gerektirir. Bu olgularda, nörolojik, nörokutan, nöroortopedik ve nöroürolojik sorunlar söz konusu olabilir.

2.4.B.1. Gergin Omurilik Sendromu (Tethered Kord Sendromu)

Konus medullarisin aşağı yerleşimi sonucu oluşan spinal kord gerginliği ve buna bağlı gelişen bir klinik tablodur. Dentat ligamanlarla duraya lateralde bağlanmış olan spinal kord gerginliği kliniği ile oluşan tethered kord sendromunun (TKS) anlaşılması 1950'lere dayanmaktadır (GARCEAU GJ. 1953). Fibröz bantlar, kalın filum terminale, intradural lipom veya geçirilmiş meningomyelosele operasyonuna sekonder gelişen yapışıklıklar başlıca etiyolojik faktörlerdir (Yamada S ve ark., 1981; Motohashi O ve ark., 1993; Sahin F ve ark., 1997). Primer tethered kord ve tekrarlayan gerilme neticesi gerçekçi bir insidans veya prevalans bilgisine ulaşmak güçtür. Ancak Kuzey ABD' de 1/800 canlı doğumdan daha fazla olduğu bildirilmiştir.

Embriyolojik sorun tam olarak açıklanamamıştır. Nörolasyon veya kaudal regresyon ve retrograd diferansiyasyon kusurları sorumlu tutulmuştur. Spinal kord gerginliğinin nedenleri olarak, spinal lipom, kalın filum terminale, diastomatomyeli ve meningomyelosele bildirilmiştir. Bazen kalın ve kısa yağlı filum terminale sonucu meydana gelebilen gergin omurilik sendromu olguları direkt grafilerinde %98 oranında spina bifida görülebilir.

Konus medullarisin L2 seviyesinden daha aşağıda olması ve filum terminalenin 2 mm'den kalın olması radyolojik tanı kriteridir (Hall WA ve ark., 1988). Doğumda konus L3-L4 vertebra seviyesinde iken gelişim sürecinde L2-L3 seviyesine kayar. Pediatrik popülasyonda L1-L2 aralığı distalindeki konus, aşağı yerleşimli olarak kabul edilir (Vernet O ve ark., 1996). Ancak bazı olgularda, radyolojik olarak normal olsa da tethered kord sendromunun bulguları olabileceği unutulmamalı ve cilt bulgularının, ürodinami ile üriner bulguların ve somatosensoryel uyarılmış potansiyeller ile nörolojik bulguların üzerine gidilmelidir (Warder DE ve ark., 1994). Ürodinamde hipertonic hiperrefleks mesanenin olması tethered kord sendromu açısından önemli ve değerlidir (Schneider SJ ve ark., 1993; Polo A ve ark., 1994; Kothbauer K ve ark., 1994). Konjenital veya gelişimsel kifoskolyoz %25 oranında görülebilir.

Tedavisi, cerrahi olarak gerginliğin ortadan kaldırılmasıdır. Lipom çıkarılır, filum terminale kesilir veya yapışıklıklar temizlenir (Selçuki M ve ark., 2000; Selçuki M ve ark., 2001; Selçuki M ve ark., 2003). Tekrarlayan gerginlik en önemli postoperatif sorundur. Geniş bir seride %45'e varan tekrarlayan gerginlik nedeni ile reoperasyon oranı bildirilmiştir (Herman JM ve ark.,1993).

2.4.B.2. Okkült İntrasakral Meningosel

Posterior elemanlar sağlamdır, ancak dural kese ve meninksler anteriora sakrum içine doğru protrüdedir. Cerrahide amaç, dural kese ile subaraknoid mesafe arasındaki ilişkinin kesilerek subap mekanizmasının kesilmesidir.

2.4.B.3. Basit Okült Spina Bifida

Hiçbir nörolojik, ortopedik veya ürolojik sorun olmaksızın lamina ve spinöz süreçlerdeki gelişim kusurudur. Genelde direkt grafilerde tesadüfen saptanır.

Laminaların kemikleşmesi 7 yaşından sonra olduğundan birçok çocuk olguda alt lomber ve komşu sakral bölgede basit spina bifida görüntüsü vardır. 7 yaş altında, S1'de %49,L5'te %13.5 ve S1 ve L5'te %9.1 oranında görülürken, erişkin yaşlarda S1'de %4.5 ve L5'te %1.5'e kadar gerilemektedir.

2.5. Nöral Tüp Defektinde Epidemiyoloji

NTD'nin epidemiyolojisi ülkeler, coğrafi bölgeler ve ırklara göre değişiklik gösterir. Dünya genelinde yapılan çalışmalarda etnik ve demografik özelliklerden bağımsız olarak bakıldığında nöral tüp defekti sıklığı %0.57 ile %13.87 arasında bulunmuştur (Li Z ve ark., 2006; Au K.S ve ark., 2006).

En yüksek insidansa sahip bölgeler, Çin'in kuzey bölgesi %13.87 (Li Z ve ark., 2006) ve Hindistan %6.5-8.21 olarak belirtilmiştir (Cherian A ve ark., 2005). Komşu ülkelere İran'da %2.87 (Golalipour M.J ve ark., 2007)

Yunanistan'da %1.45 olarak verilmiştir (Lekea V ve ark., 1988). Amerika Birleşik Devletleri'nde siyahlar arasında %0.87 beyazlarda ise %1.48, (Stevenson R.E ve ark., 2000). Birleşik Arap Emirlikleri'nde %1.23 (Samson G, 2003.), Avustralya yerlilerinde % 2.56, Avustralya'ya sonradan yerleşen göçmenlerde %1.29 olarak bulunmuştur. Avustralya kıtasındaki bu fark yerlilerin gebelik öncesi dönemde folik asit desteğine ve folik asitle takviye edilmiş yiyeceklere daha az ulaşmalarına bağlanmıştır (Bower C ve ark., 2004).

Avrupa'da, diğer ülkelere göre NTD sıklığı yüksek olan İngiltere ve Kuzey İrlanda'da 1980 li yıllarda % 4,5 iken bu oran yıllar içinde azalmış, 2000 yılında %1'e yakın değerler bulunmuştur (Busby A ve ark., 2005). En düşük NTD sıklığı bildirilen ülke ise %0.58 oran ile İsviçre bildirilmiştir (Nikkila A ve ark., 2006). Türkiye'de sağlık kayıt sisteminin iyi olmaması nedeni

ile doğumsal bozuklukların sıklığı ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Yapılan çalışmalara göre, NTD sıklığı %1.5-6.3 oranları arasında

Değişmektedir (Yeşilipek M.A ve ark., 1989; Güvenc H ve ark., 1993; Tunçbilek E. 2004).

Himmetoğlu ve arkadaşlarının 1996'da yaptığı insidans çalışmasında, Türk

popülasyonunda nöral tüp defekti insidansı %2.7 olarak bulunmuştur. Bunlardan en sık

spina bifidaya, 2. olarak anensefaliye rastlanmıştır. Türkiye'de yapılan çalışmalarda NTD'nin

1000 canlı doğumda 3 civarında ve sıklığının %1.5-%6.3 arasında olduğu belirtilmiştir.

Ülkemizde, NTD sıklığının Kuzey ve Doğu Anadolu'da en yüksek(sırasıyla bin canlı doğumda

4.32 ve 4.54) Batı Anadolu'da en düşük(bin canlı doğumda 2.17) olduğu saptanmıştır. Annenin

eğitiminin olmadığı grupta %9.1'e kadar olan nöral tüp defekti sıklığı yüksek okul mezunları

arasında %1.3'e kadar düşmüştür. Bu durum sosyoekonomik düzeyle nöral tüp defekti ilişkisine

bağlanmaktadır (Tunçbilek E. 2004).

Bütün dünyada olduğu gibi bizde de NTD sıklığı ve dağılımdaki farklılıklar, etiyolojik faktörler

olarak beslenme, kültürel veya genetik nedenler gibi bazı özgün veya özgün olmayan nedenlerin

incelenmesi gerektiğini göstermektedir.

2.6. Nöral Tüp Defektinde Tanı ve Korunma

Gebelik sonrasında alfa-fetoprotein testi ve Obstetrik ultrasonografi ile birlikte NTD teşhis

konulabilmektedir. Ultrasonografik incelemelerde kraniyal bölge ve posterior fossa (Chiari tip II

anomalisi açısından) oldukça iyi incelenmelidir. NTD'ler genellikle gebeliğin 2.trimesterinde

tanınabilmektedir. Anensefali, ultrason ile prenatal tanısı koyulan ilk anomalidir. Genellikle 11.-

12. haftalarda tanı konulabilmektedir. Kapalı spina bifidalar, büyük cilt altı lipomların varlığı

dışında genellikle prenatal USG ile görüntülenemezler. Açık spina bifidalarda ise genellikle

ikinci trimesterden itibaren tanı konulabilir. Zor olabilen açık spina bifida tanısında fetal başa ait

kolaylıkla saptanabilecek bulgulardan yararlanılması tanıya kolaylık sağlar.

Gebeliğin 24. haftasından önce yapılan ultrasonografik taramada frontal kemikler çukurlaşmış ve

düz olarak görülür. Kraniumun frontal kısmı bu şekilde bilateral basık görüldüğü için ve limona

benzetildiğinden buna "lemon sign" adı verilmiştir (Duru S ve ark., 2013). Spina bifida ile

birlikte çok sık görülür. Tam patogenezi bilinmemekle birlikte spina bifida'da intraspinal ve

dolaylı olarak intraventriküler basıncın azalmasıyla beyinin aşağıya doğru kayması bağlı olduğu

düşünülür. 24. Hafta ile birlikte kemikleşmenin artmasıyla, ayrıca spina bifida ile birlikte görülen

hidrosefalinin de artmasıyla çukurlaşmış, düzleşmiş frontal kemikler normal konveks görünümüne kavuşur. Serebellumun sıkışıklığına bağlı olarak 4.ventrikül görülmez ve muz şeklinde bir görünüm ortaya çıkar ki bu da Chiari tip II anomalisini işaret eder. Değişen derecelerde hidrosefali doğumdaki vakaların hemen hemen tümünde, ikinci trimesterdaki fetüslerin %50 sinden azında görülür. Kranial bulguların spina bifidayı yakalamadaki sensitivitesinin deneyimli referans merkezlerinde %99'u aştığı belirtilmektedir. Karakteristik bulgular varlığında fetüsün omurga taraması mutlaka yapılmalıdır. Lumbosakral kanal açıklığına ve eşlik eden meningeal kese olup olmadığına mutlaka dikkat edilmelidir. Ayrıca prenatal USG de, pes equinovarus ve alt ekstremitelerde hareketsizlik saptanabilir.

Maternal kan ve amniyotik sıvı alfa-fetoprotein(AFP) düzeyleri ve amniyotik sıvı asetilkolinesteraz düzeyleri takip için önemlidir. Maternal serum AFP, NTD taraması için en iyi dönem olarak kabul edilen ikinci trimesterde, 16.haftada 28 ng/ml iken, haftalık yaklaşık %15'lik bir artışla 18.haftada 40 ng/ml'ye ulaşır. AFP nin bu konsantrasyon değişimlerinden dolayı her gestasyonel haftaya göre ayrı hesaplanması gerekir (Muller F., 2003). Gestasyonun 15-20. haftalarında amniyon sıvısında yüksek alfa-fetoprotein spinal kord defektinin varlığını gösterebilir. NTD'li fetüste açığındaki membranlar ve yüzeyel damarlar yolu ile AFP amniotik sıvıya geçer ve daha sonrada maternal seruma geçer. Bu geçiş, defektin açık olan kısmı ile kabaca orantılıdır. Spina bifida sağlıklı deriyle kaplanmışsa maternal ve amniotik sıvı AFP konsantrasyonu genellikle normaldir. Bu durumda sağlıklı gebelerle NTD'li bireylerin değerleri çakışacağından maternal serum AFP'si tanı amaçlı değil tarama amaçlı kullanılır. Tarama 16-18. haftalarda yapılır. (Muller F. 2003). Anensefalilerin maternal serum AFP ile %90'ına, amniyotik sıvı AFP ile %99'una tanı konabilmektedir. Spina bifidaların ise maternal serum AFP ile %75-85 ine, amniyotik sıvı AFP ile %97'ine tanı konmaktadır (Beksaç MS ve ark., 2001).

Amniyotik sıvı asetilkolinesteraz düzeyleri nöral tüp defektleri için daha spesifiktir. Bu seviye takibini daimi olarak ultrason muayenesi izler. İlerleyen çalışmalar prenatal anatomik lezyon derecesinin yüksek-rezolüsyonlu ultrason ile görülebileceğini ortaya koymuştur (Campbell SK.1999). Tarama sırasında maternal serum AFP düzeyleri yüksek çıkıp, USG taraması ile bir anormallik tespit edilmediyse, amniyotik sıvı AFP ve amniyon sıvısı asetil kolin esteraz tayini ve karyotip analizi için amniosentez kararının düşünülmesi önerilmektedir (Yüksel A. 2000; Beksaç MS ve ark., 2001).

Nöral tüp defektlerinin önlenmesinde gerek konsepsiyon öncesi gerek ilk trimestrda folik asit kullanımının etkinliği tartışma kabul etmeyecek bir mutlaklıktadır. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin sağlık politikalarında doğurganlık çağındaki kadınların gebelik oluşumundan üç ay önce başlayan ve gebeliğin ilk üç ayında devam eden 400 mcg folik asit kullanımı rutin bir hal almıştır. Yapılan çalışmalarda günlük 4.0 mg folik asit kullanımının NTD oluşma ihtimalini %70 oranında azalttığı bildirilmiştir (Japanese Teratology Society, 2017). Yüksek risk grubu olarak değerlendirilen kadınlara konsepsiyondan en az iki üç ay önce ve konsepsiyondan 12 hafta sonrasına kadar 5mg/gün folik asit almaları önerilmektedir (Rothman KJ ve ark., 1993; Turan JM ve ark., 2000). Önceden NTD'li fetus veya çocuk hikayesi olanlar veya birinci, ikinci ya da üçüncü derece yakınlarında NTD hikayesi olanlar, insülin bağımlı diabeti olanlar, valproat ve karbamezepin, aminopterin, methotreksat kullanan kadınlar yüksek risk gurubuna girmektedirler. Folik asit preparatlarının kullanım oranlarının düşüklüğü ve planlı olmayan gebeliklerin oranının yüksekliğine istinaden Birleşik Devletler'de besinlerin folik asit yönünden zenginleştirilmesi programı ülkedeki NTD görülme sıklığını %19 azaltmıştır. Bununla beraber besinlerin folik asit yönünden zenginleştirilmesinin folik asit alımında günlük 100 mcg kadar artışa neden olduğu gösterilmiştir. Bu rakam günlük 400 mcg olan gereksinimi karşılamaktan oldukça uzaktır. Besinlerin zenginleştirilmesine ilaveten folik asit tabletlerinin kullanımı kuvvetle muhtemel daha iyi sonuçlar ortaya çıkaracaktır.

NTD etyolojisinde vitamin B12'yle ilgili faktörlerin etkili olabileceğine dair görüş bildiren araştırmalar folik asit replasmanının yanında vitamin B12'nde replase edilmesi gerekliliğini gündeme getirmektedirler (MRC Vitamin Study Research Group, 1991; Ray JG ve ark., 2003)

Daha önceki gebeliklerinde NTD'li bebeği olan çiftlerde görülme sıklığı daha fazladır (%3). NTD'li bebek dünyaya getiren bir kadının ikinci gebeliği oldukça sıkı takip edilmeli ve gebeliğe karar verdiği andan itibaren genetik danışmanlık verilmeli ve anne adayının günlük kesinlikle 4-5 mg folik asit kullanmaya başlaması sağlanmalıdır. Folik asit profilaksisi ile % 0.12- 0.45/yıl olan NTD insidansı 1980 den sonra % 0.07-0.25/ yıl oranına gerilemiştir (Czeizel AE ve ark., 1992; Rieder MJ, 1994).

Doğum öncesi NTD tanısı konduğu zaman aileye nöral tüp defektlerinin doğal seyri, bebeğin günlük aktivitelerine olan etkisi ve mevcut tedaviler ile ilgili geniş bilgi verilmelidir. Engelli doğabileceği altı mutlaka çizilmelidir. Gebelik haftası, dini inançlar ve ülkenin kanunları

çerçevesinde aileye gebeliğin devamı ya da sonlandırılması ile ilgili düşünceleri sorulmalıdır (Lutkenhoff M., 1999; Özaras N ve ark., 2000). 1997 yılından beri özellikle Amerika Birleşik Devletleri'nde bazı merkezlerde uygulanan intra-uterin cerrahinin de varlığının da belirtilmesinde yarar vardır.

Eğer gebeliğin ilerleyen dönemlerinde bebeğin NTD'li olduğu tespit edilirse vajinal doğumun yaratacağı travma yerine sezeryan tercih edilerek bebeğin sinir fonksiyonlarının bazıları korunabilir. Bebek doğduğunda kese enfeksiyonu önlenerek ve mikro cerrahi teknikleriyle doğumun hemen sonrasında kese kapatılarak bazı nöral yapılar korunabilir (Ratliffe KT, 1998). Bu komponent ailenin NTD'nin nedenleri, tekrarlama riskleri, prognozu, perikonsepsiyonel folik asit desteğinin koruyuculuğu ve prenatal tanı olanakları hususlarında bilgilendirilmesi esasına dayanır. Farklı sosyoekonomik bölgelere sahip olma açısından çeşitlilik gösteren ülkemizde, koruyucu sağlık hizmetleri uygulamaları bir çok tıbbi durumun ortaya çıkmasının engellenmesinde olduğu gibi, NTD'nin de engellenmesinde hayati önem taşımaktadır.

Planlanmamış gebeliklerde, NTD riskini azaltmak için temel gıda maddelerinin folik asit ile zenginleştirilmesi etkili olabilir. Ayrıca doğurgan çağıdaki tüm kadınların günlük uygun miktarda folik asit preparatı kullanmaları sağlanabilir. Sağlık Bakanlığı, toplum genelinde NTD insidansının azaltılması için folik asit içeren ekonomik preparatların ilaç firmaları tarafından üretilmelerini sağlamalıdır (Aydınlı K ve ark., 1999). Tüm gebelere, hamileliklerinin 16-18. haftalar arasında maternal serum alpha fetoprotein düzeyleri ve ultrasonografi ile değerlendirilmelerinin gerekliliği açıklanmalıdır. NTD'nin önlenmesinde folik asitin kuvvetli önleyici etkisinin duyurulması için ulusal çapta kampanyalar düzenlenebilir. Birinci basamak sağlık kuruluşlarındaki çalışanların konuyla ilgili olarak eğitimi özellikle önemlidir (Turan JM ve ark., 2000).

3. MATERYAL VE METOD

3.1.Hasta Örneklerinin Alınması

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Yeni Doğan Servisi'ne NTD tanısı olarak yatırılan bebeklerden NTD tanısı nedeniyle Beyin ve Sinir Cerrahisi AD'nca spina bifida ameliyatı olan ve varisince çalışmaya katılmayı kabul edip gönüllü onam formu alınan hasta bebeklerden doku ve periferik kan örneği alınmıştır. Bu NTD tanılı hasta bebeklerden ameliyat sırasında patoloji tanısı için alınan kese dokusundan bir miktar (3-5 mm³) NTD doku örneği bu tez çalışması için alınmıştır. Alınan NTD dokuları; meningosel, meningomiyosel, myeloşizis, ensefalosel tanısı alan hastaların nöral plak kökenli olduğu düşünülen dokulardır. Ayrıca, bu bebek hastalardan tedavi sırasında alınan periferik kan örneklerinden 2-3 ml kan örneği EDTA'lı tüpe alınmıştır. Tez çalışmasında hasta bebek bireylerin kan örnekleri kendi dokularının kontrolü olarak kullanılmıştır. Ayrıca, bebek hastaların periferik kan örneklerindeki MMP gen ekspresyonları ile normal sağlıklı bebeklerin periferik kan örnekleri arasındaki olası gen ekspresyon farklılıklarını saptayabilmek amacıyla sağlıklı, herhangi bir hastalığı olmayan yeni doğan bebeklerden doğum sonrası kontrol için alınan periferik kan örneğinden bu tez çalışması için 2 ml alınmıştır. Tez kapsamında, yukarıda belirtilen hasta seçimi kriterleri ve ilgili amaçlar doğrultusunda 40 adet NTD tanısı almış hasta bebekten doku ve periferik kan örneği alınmıştır. Periferik kan kontrolü için ise 4 adet sağlıklı bebekten periferik kan örneği alınmıştır.

3.2.Total RNA izolasyonu

NTD hastalarının ameliyatı sırasında meningomyelosel kesesinden alınan yumuşak dokular total RNA izolasyonu yapılana kadar 2 ml'lik endorf tüpler içerisine alınmış ve RNA izolasyonu yapılana kadar -80°C'lik derin dondurucuya kaldırılmıştır. NTD dokularından RNA izolasyonu işlemi toplanan doku sayısı 10 olunca yapılmıştır. Periferik kan örneklerinden total RNA izolasyonu ise (NTD hastaları ile sağlıklı kontrol bireylerden) periferik kan örneğinin alındığı gün kanlar bekletilmeden yapılmıştır.

3.2.1.Periferik Kan Örneklerinden Total RNA izolasyonu

EDTA'lı tüpe alınan 2-3ml'lik periferik kan örnekleri 15 ml'lik falkon tipi steril bir tüpe aktarılmış ve ardından aşağıda belirtilen protokol izlenmiştir.

- 15ml'lik falkon tüp 1200 rpm, +4°C'de 5 dakika santrifüj edilmiştir.

- Santrifüj sonrası tüpün süpernatant kısmı atılmış ve tüpün içerisine soğuk 9 ml RBC [(Red Blood Lysis (Kırmızı kan hücresi lisis)] solüsyonu eklenmiş ve alt üst yapılarak karıştırılmıştır. Bu karışım 10 dakika boyunca oda sıcaklığına bekletilmiştir.

- Bekleme sonrasında tüpler 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında süpernatant kısım atılarak temiz bir pelet elde edilmelidir. Eğer pelette beyaz renkte temiz bir görünüm yok ise bu RBC ile yıkama işlemi tekrar edilmiştir. Temiz pelet elde edildikten sonra peletin üzerine 1000 µl Trizol eklenmiş ve mikropipet yardımıyla birkaç kez pipetaj yapılarak karıştırılmıştır.

- Karıştırma sonrası tüpler oda sıcaklığında 2 dakika bekletilmiştir. Bekleme sonrası trizol hücre karışımı 1,5 ml'liktüplere aktarılmıştır.

-Yeni tüpe aktarılan Trizol hücre karışımının üzerine 200 µl (Trizol'ün 1/5'i kadar) soğuk klorofom eklenmiş ve 15 saniye boyunca alt üst yapılarak karıştırılmıştır. Tüpler 15 saniye sonunda 3 dakika kadar oda sıcaklığında bekletilmiştir.

- Bekleme sonrasında tüpler 12000 rpm'de 15 dakika +4°C'de santrifüj edilmiştir.

- Santrifüj sonrasında tüpte 3 ayrı renkte 3 farklı faz elde edilmiştir. Total RNA şeffaf renkte üst fazda yer almaktadır. Bu kısım dikkatli bir şekilde mikropipet yardımıyla yeni ve steril bir 1,5ml'lik ependorf tüpüne aktarılmıştır.

-Bu yeni ve içerisinde RNA fazı olan tüpe 500 µl (Trizol'ün 1/2'si kadar) soğuk isopropanol eklenmiştir. Mikropipet yardımıyla isopropanol alkolün homejen bir şekilde karışması sağlanır. Tüp 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edilir.

- Oda sıcaklığındaki inkübasyon sonrasında 12000 rpm'de 15 dakika +4°C'de santrifüj edilmiştir.

- Santrifüj sonrasında süpernatant kısım atılmış ve tüpün üzerine 1ml (Trizol kadar) %75'lik soğuk etanol eklenmiş ve mikropipet yardımıyla yavaşça karıştırılmıştır.
- Tüpler 10000 rpm'de 15 dakika +4°C'de santrifüj edilmiştir ve santrifüj sonrası süpernatant kısım atılarak tüpler steril laminar kabin ortamında kurumaya bırakılmıştır.
- Yaklaşık 20-30 dakika kuruma sonrasında tüplerin üzerine 30-50 µl steril, DNase, RNase free DEPC'li su eklenerek RNA'nın çözünmesi sağlanmıştır. Çözünen RNA'dan 3-5 µl örnek total RNA'nın agaroz jeldeki görüntüsünün izlenmesi için ayrılmıştır. Geri kalan RNA'lar cDNA izolasyonuna kadar -80°C'ye kaldırılmıştır.

3.2.2.Doku Örneklerinden Total RNA izolasyonu

NTD dokularından RNA izolasyonu işlemi toplanan doku sayısı 10 olunca yapılmıştır. Bu amaçla aşağıda belirtilen protokol izlenmiştir.

- 80°C'den alınan NTD dokuları bistüri yardımıyla soğuk kar tipi buz içerisinde bekletilen petri kabının üzerine alınmıştır.
- Bistüri (Numara 20) yardımıyla dokular küçük parçalar haline getirildi. Dokular kesilirken doku besleyici kan damarlarından arındırılarak kesim yapılmıştır. Bu amaçla kesim esnasında elde edilen doku parçaları sık sık serum fizyolojik kullanılarak yıkanmıştır. Doku kesimi yapılırken doku homejenitesini etkileyecek kan ve benzeri hedef dışı doku parçalarının kullanılmamasına özellikle dikkat edilmiştir.
- Küçük parçalar haline getirilen (toplu iğne ucu kadar) doku parçaları 2 ml'lik ependorf tüplerinin içerisine aktarılmıştır. Ardından bu doku parçaları üzerine 1000 µl Trizol eklenmiştir. Trizol eklenen doku parçaları gerek 3 ml'lik pastör pipeti gerekse 1000 µl'lik pipet ucu yardımıyla 5 dakika karıştırılarak Trizolün doku ile daha iyi karışması ve homejinasyon sağlanmıştır.
- Bu Trizol-doku karışımı oda sıcaklığında 5 dk nükleprotein komplekslerinin tamamen parçalanması için bekletilmiştir.
- Bekleme sonrası örneklerin yer aldığı ependorf tüpler 3500 rpm'de, 10 dk, +4°C'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında tüpte 3 ayrı renkte 3 farklı faz elde edilmiştir. Total RNA şeffaf renkte üst fazda yer almaktadır. Bu kısım dikkatli bir şekilde mikropipet yardımıyla yeni ve steril bir 1,5ml'lik ependorf tüpüne aktarılmıştır.

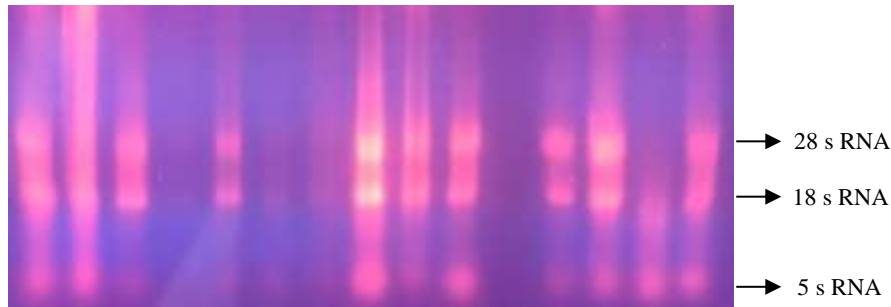
- Bu aşamadan sonra izlenen protokol “*Periferik Kan Örneklerinden Total RNA izolasyonu*” başlığı altında yer alan kloroform ekleme basamağı ve sonrası ile aynıdır.
- Kurutma aşamasına gelen total RNA’lar yaklaşık 20-30 dakika kuruma sonrasında tüplerin üzerine 30-50 µl steril, DNase, RNase free DEPC’li su eklenerek RNA’nın çözünmesi sağlanmıştır.
- Çözünen RNA’dan 3-5 µl örnek total RNA’nın agaroz jeldeki görüntüsünün izlenmesi için ayrılmıştır. Geri kalan RNA’lar cDNA izolasyonuna kadar -80°C’ye kaldırılmıştır.

3.2.3.RNA’nın kalitatif değerlendirilmesi

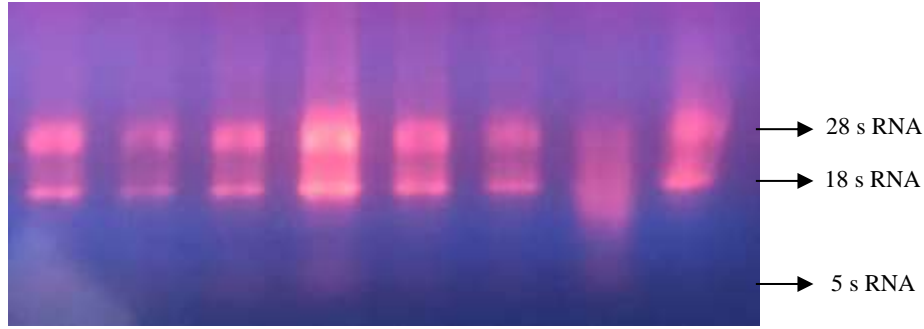
Agaroz Jel Elektroforezi

RNA’nın kalitatif değerlendirilmesi için %1’lik agaroz jel hazırlanmıştır. Bu amaçla aşağı yer alan protokol izlenmiştir.

- Erlen içerisine alınan 100 ml TBE (Tris Buffer EDTA) içerisine 1 gr rutin agaroz eklenmiştir.
- Agaroz TBE karışımı mikrodalga fırın ile eritilmiştir.
- Eritilen bu karışım üzerine 2µl EtBr (Etidyum Bromür, 10mg/ml) eklenmiş ve el ile yavaşça sallayarak karıştırılmıştır.
- EtBr ile karışan solüsyon elektroforez tankına taraklar kullanılarak dökülmüş ve donmaya bırakılmıştır. Yaklaşık 60 dakika sonra donan agarozu jele elde edilen total RNA’dan alınan 3-5 µl RNA yüklenmiş ve 100 V’da 30 dakika yürütülmüştür.
- Yürütme sonrasında hem dokudan hem de periferik kanlardan elde edilen total RNA’ya ait 28S, 18S ve 5S RNA görüntüsü aşağıda gösterilmiştir (Resim 3.1 ve 3.2’de sırasıyla).



Resim 3.1. Dokulardan elde edilen RNA’nın agaroz jel görüntüsü



Resim 3.2. Periferik kanlardan elde edilen RNA'nın agaroz jel görüntüsü

3.2.4.RNA'nın kantitatif değerlendirilmesi

- -80 °C'de tutulan total RNA'dan 1 µl alınmış ve spektrofotometrede saflık (260/280 oranı) ve miktar tayini yapılmıştır.

3.3.cDNA (Complementer DNA) İzolasyonu ve Amplifikasyonu

Dokulardan ve periferik kanlardan elde edilen total RNA'dan gen ekspresyon analizi yapmak için öncelikle bu RNA'lardan cDNA elde edilmiştir. cDNA sentezi için GeneAll HyperScriptFirst Strand Synthesis Kit'in (Katalog: 601-005) kullanılması planlanmaktadır. Bu kitin önerdiği protokol uygulanmış ve minimum 500 ng total RNA kullanarak cDNA elde edilmiştir.

cDNA sentez protokolü

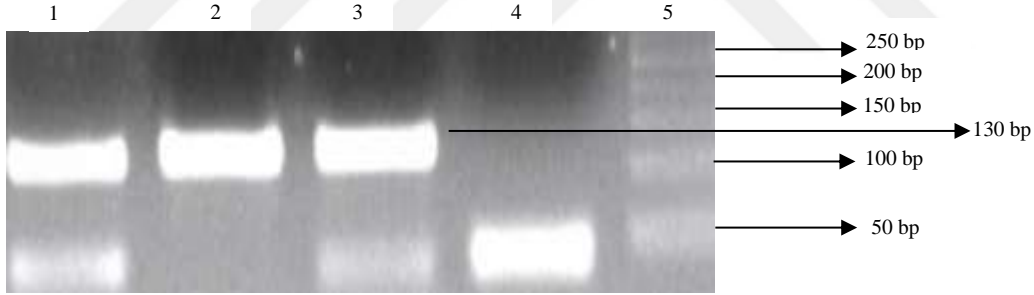
- 1- Aşağıdaki tabloda yer alan içerikler 200µl'lik PZR tüpüne eklenmiştir.
- 2-

cDNA sentez protokolüne göre reaksiyon içerikleri aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. cDNA sentezin hazırlanan reaksiyon içeriği

Primer (50 µM)	1 µl
dNTP (10 mM)	1 µl
Total RNA (500 ng)	--(miktar örneğe göre değişir)
dH ₂ O	14 µl'ye tamamlandı

- 3- Bu tüpler 65°C 5 dakika ısıtıcı blokta bekletildi.
- 4- Ardından 1 dakika buz üzerinde bekletildi.
- 5- Bu tüp içerisine 2 µl 10x Revers transkriptaz (RTaz) buffer, 0,1 M 2 µl DTT, 1 µl ters transkriptaz enzimi ve 1 µl Rnaz eklendi ve 5 saniye santrifüj edildi.
- 6- Santrifüj sonrası tüpler Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) aletine ait bloklara yerleştirilmiştir.
- 7- Tüpler PZR aletinde 55°C 60 dakika ve 85°C 5 dakika inkübe edilmiştir.
- 8- İnkübasyon sonunda elde edilen cDNA'ların başarıyla elde edilip edilmediği G6PDH (house-keeping) kontrol primerleri kullanılarak konvansiyonel PZR ile kontrol edilmiştir. Konvansiyonel PZR sonrası elde edilen amplifikasyon ürünleri %1'lik agaroz jel de yürütülerek görüntülenmiştir (Resim 3.3). Elde edilen cDNA'lar RT-PZR [Real-Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR)= Gerçek Zamanlı PCR)]'de ekspresyon analizi için kullanılmak üzere -20°C'y kaldırılmıştır.



Resim3.3. cDNA amplifikasyonunun yapıldığına ilişkin agaroz jel görüntüsü

3.4.RT-PZR (Gerçek Zamanlı PCR)

Tez kapsamında belirtilen genlerin ekspresyonlarını RT-PZR'da saptamak amacıyla Biotium Fast-Plus Evagreen Master Kit kullanılmıştır. Gen ekspresyonu için kullanılan primerler ve ilgili kitin protokolü gereği hazırlanan RT-PZR reaksiyon içeriği ve PZR şartları aşağıdaki Tablo 3.2 ve Tablo 3.3'de özetlenmiştir.

Tablo 3.2. RT-PZR’da kullanılan primerler

Gen	Kullanılan Primerler	Amlifikasyon Büyükük (bp)
MMP-1	F-5' -CGCACAAATCCCTTCTACCC-3' R-5' -GAACAGCCCAGTACTTATTCCCT-3'	145
MMP-2	F-5' -GCAAGTTTCCATTCCGCTTCC-3' R-5' -CACCTTCTGAGTTCCCACCA- 3'	168
MMP-9	F-5' -5TACCACCTCGAACTTTGACAG-3' CAGTGAAGCGGTACATAGGG-3'	158
Beta Aktin	F-5-GATGGTGGGCATGGGTCAGAAGGA-3' F-5' -CATTGTAGAAGGTGTGGTGCCAGAT-3'	149

Tablo 3.3. RT-PZR için reaksiyon içeriği aşağıdaki tabloda gösterilmiştir

Reaksiyon içeriği	Bir örnek için	Reaksiyon Döngüsü
Tampon (2X)	10 µl	1-95°C 5' denatürasyon
Primer (MMP-1,2,9) ve Kontrol Primer (Beta aktin)	Forward : 0,5 µl Reverse : 0,5µl	2-95°C 15"
dH ₂ O	8,4 µl	3-60°C (Tüm genler için)
cDNA	0,6 µl	4-72°C 1"
Toplam	20 µl	ortalama 40 döngü (2'den 4'e) Melting Curve Ramp: 50-99 (1'er derece artış) 90°C 5 saniye

RT-PZR sonrası her bir genin her bir örnek için elde edilen Ct [cycle treshold (=ekspresyon eşik değeri)] değerleri delta delta Ct ($\Delta\Delta Ct$) formülasyonu kullanılarak göreceli (rölatif) ekspresyon değişiklikleri saptanmıştır.

3.5.İstatistiksel Analiz

Çalışmanın verilerinin istatistiksel anlamda değerlendirilmesi amacıyla SPSS 20.0 paket programı kullanılmıştır, doku ve kan örneklerinden elde edilen ekspresyon oranlarının gruplar arasındaki ve kontrol grubu ile arasındaki farklılıkların araştırılması amacıyla Tek Yönlü Varyans Analizi ve/veya parametrik olmayan karşılığı olan Kruskal Wallis analizi uygulanmıştır. Farklılığı yaratan grupların belirlenmesi amacıyla çoklu karşılaştırma testleri kullanılmıştır. Ayrıca çalışmanın demografik verilerinin gruplar bakımından karşılaştırılması amacıyla Student's t testi ve/veya Mann Whitney U testi kullanılmış, kategorik değişkenlerin dağılımlarının incelenmesi için ise ki-kare ya da Fisher'in exact testi kullanılmıştır. Çalışmanın sonuçlarının özetlenmesi amacıyla ortalama±standart sapma, ortanca (min.-maks.) ve frekans dağılımları kullanılmıştır, özellikle ekspresyon oranları bakımından değişimlerin görsel olarak vurgulanması adına bar grafiklerden faydalanılmıştır.

5. SONUÇLAR

4.1.Hastaların Seçimi ve Değerlendirilmesi

Tez kapsamında NTD tanısı almış toplam 40 bebek hastanın NTD dokusu ve periferik kanı ile kontrol grubu olarak sağlıklı doğan 4 bebeğe ait periferik kan alınmıştır. Hastalara ait genel bilgiler ve klinik bulgular Tablo 4.1’de ve Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tez kapsamında değerlendirilen hastalarımız Meningomyelosele (%70), Meningosele (%10), Myelozis (%10), Ensefalosele (%10) tanısı almış hastalardan oluşmuştur. Hastalarımızın NTD lezyonları en fazla lomber (%46,4) en az ise Sakrokoksigeal (%3,6) ve servikal (%2,5) bölgede yerleşim göstermiştir. Değerlendirilen hastalarımızda, NTD’ye eşlik eden anomalilerin varlığı araştırılmış ve hastalarımızın %87,5’inin hipotroidi (%37,5) ve sendromik olgulardan (%27,5) oluştuğu tespit edilmiştir. Ayrıca, hastalarımızın %72,5’inde malfarmasyon saptanmıştır. NTD hastalarımızın periferik kanlarında NTD gelişimine ve MMP aktivasyonuna etkisi olabileceği düşünülen B12, Folat ve Ca^{+2} düzeyleri araştırılmıştır. Hastalarımızın B12, Folat ve Ca^{+2} düzeylerinin genel ortalama sınırları içerisinde yer aldığı saptanmıştır. Ayrıca MMS, M, MŞ ve E tanıları hastalarımızın lezyon büyüklüklerinin klinik açıdan normal düzeylerde ve tanıya uygun sınırlar içerisinde olduğu saptanmıştır.

Tablo 4.1. Hastaların Genel Bilgileri

Tanı		MMS	M	MŞ	E	NTD
Genel Bilgiler		% (n=)	% (n=)	% (n=)	% (n=)	% (n=)
Tanı		70 (28)	10 (4)	10 (4)	10 (4)	100 (40)
Cinsiyet (19 E, 21K)		43E (12), 57K (18)	50E (2), 50K (2)	50E (2), 50K (2)	75E(3), 25K(1)	47,5 E (19), 52,5 K (21)
Anne Yaşı		28,92±5,43 (25)	32,75 ±9,5(4)	28 ±2,64(4)	35,5±2,12 (4)	30,61±6,21
Lezyon Yeri	Lomber	46,4 (13)	50 (2)			37,5 (15)
	Lumbosakral	32,1 (9)	25 (1)	25 (1)		27,5 (11)
	Oksipital				100 (4)	10 (4)
	Sakrokoksigeal	3,6(1)				2,5 (1)
	Servikal		25 (1)			2,5(1)
	Torakolomber	17,9 (5)		75 (3)		20 (8)
Malformasyon varlığı Var, Yok		75(21), 25(7)	100(4), 0 (0)	0(0), 100 (4)	0(0), 100(4)	62,5 (25), 37,5 (15)
Lezyon Büyüklüğü Ortalaması (cm x cm)		5,1X5,17	1,8X2,1	6,25X7	4X4	4,3X4,5
Ca ²⁺ (mg/dl) Normal değerler (8,4-10,8)		9,08±0,62	8,60±0,80	8,63±0,49	7,75±0,35	8,91±0,67
B12 (pg/ml) Normal değerler (187-583)		236,44±103,48	287,75±207,87	352,00±85,02	289,00±33,94	250,09±109,33
Folat (ng/ml) Normal değerler (3-17)		13,45±3,05	10,95±3,41	16,00±3,41	13,00±7,64	13,3±3,68

Tablo 4.2. NTD Hastalarının Klinik Bulguları

HASTA NO	YAŞ	ANNE YAŞI	C	TANI	LEZYON YERLEŞİMİ	LEZYON BÜYÜKLÜĞÜ (cm)	EK HASTALIK	Ca ²⁺	B12	FOLAT	MALFORMASYON VARLIĞI
D1	1A	30	E	MMS	LUMBOSAKRAL	6X8	YOK	9,7	167	12,5	YOK
D2	YD	27	K	MMS	TORAKOLOMBER	7X8	YOK	9,3	309	5,9	YOK
D3	YD	27	E	MMS	LOMBER	6X4	SENDROMİK, HİPOTİROİDİ	8,8	265	14,9	VAR
D4	YD	25	E	MŞ	TORAKOLOMBER	5X6	HİPOTİROİDİ	8,7			VAR
D5	YD	26	K	MMS	LUMBOSAKRAL	5X5	YOK	8,90	104	14,40	VAR
D6	YD	37	E	MMS	TORAKOLOMBER	6X7	SENDROMİK	9,3	131	10,6	VAR
D7	YD	41	E	MMS	LOMBER	5X4	YOK	9	263	15,90	VAR
D8	YD	28	K	MMS	LOMBER	6X4	HİPOTİROİDİ	8,2	192	12,7	VAR
D9	1Y	42	E	MMS	LOMBER	3X2	YOK	10,1	83	15	VAR
D10	YD	24	E	MMS	LUMBOSAKRAL	5X4	YOK	8,6	232	11	YOK
D11	YD	34	E	E	OKSİPİTAL (KRANİAL)	4X3	HİPOTİROİDİ	8,7	187	11,3	VAR
D12	YD	35	E	MMS	LOMBER	4X2	HİPOTİROİDİ	9,5	131	16,2	VAR
D13	YD	25	K	MŞ	TORAKOLOMBER	9X4	HİPOTİROİDİ, SENDROMİK	8,4	354	19,8	VAR
D14	YD	34	E	MMS	LOMBER	5X5	YOK	7,5	136	15,7	VAR
D15	YD	30	E	MŞ	TORAKOLOMBER	6X12	HİPOTİROİDİ	8,3	266	15	YOK
D16	YD	29	K	MMS	LUMBOSAKRAL	8X7	HİPOTİROİDİ	8,6	240	12,6	VAR
D17	1A	29	K	MMS	TORAKOLOMBER	4X6	YOK	10,1	229	11,8	YOK
D18	YD	40	K	M	LOMBER	2X3	YOK	7,8	230	13	VAR
D19	YD	23	K	MMS	LUMBOSAKRAL	4X5	SENDROMİK	9,4	137	15,2	VAR
D20	YD	38	K	MMS	LOMBER	7X8	HİPOTİROİDİ, KARDİAK PATOLOJİ (ASD)	8,5	333	11,8	VAR
D21	YD	30	K	MMS	LOMBER	4X5	YOK	9,5	347	16,6	VAR
D22	YD	25	K	MMS	TORAKOLOMBER	6X5	HİPOTİROİDİ	10,2	230	13,7	VAR

D23	YD	23	K	MMS	LOMBER	3X4	YOK	9,6	370	14,6	VAR
D24	YD	24	E	MMS	LOMBER	7X6	HİPOTROİDİ	9,1	144	17,5	YOK
D25	YD	37	E	E	OKSİPİTAL	8X8	HİPOTROİDİ	7,5	313	7,6	VAR
D26	YD	40	K	MMS	LUMBOSAKRAL	4X5	YOK	8,9	255	10	VAR
D27	YD	23	E	MMS	LOMBER	4.5X3	YOK	9,1	350	13,2	VAR
D28	YD	40	E	M	LOMBER	2X2	HİPOTİROİDİ	8,50	594	13	VAR
D29	YD	27	E	MMS	TORAKOLOMBER	5X6	SENDROMİK	8,3	542	16,1	VAR
D30	YD	29	K	E	OKSİPİTAL	2X2	SENDROMİK, İKİZ	8	272	15,8	VAR
D31	YD	25	K	MMS	LOMBER	4X5	KARDİAK SİKINTI	9,5	285	11,9	VAR
D32	YD	30	K	MMS	LOMBER	3X4	YOK	9,7	250	15,6	VAR
D33	YD	31	K	M	SERVİKAL	2X2	YOK	8,4	135	15,4	VAR
D34	YD	29	K	MŞ	LUMBOSAKRAL	5X6	SENDROMİK	9,2	436	13,20	VAR
D35	YD	25	K	MMS	SAKROKOKSİGEAL	7X6	SENDROMİK	9,5	280	11,3	VAR
D36	YD	39	K	MMS	LUMBOSAKRAL	6X4	SENDROMİK	8,6	173	18,3	YOK
D37	YD	34	E	E	OKSİPİTAL(KRANİAL)	2X3	SENDROMİK	8	265	18,4	YOK
D38	YD	22	E	MMS	LUMBOSAKRAL	4X5	YOK	8,3	98	17,2	VAR
D39	YD	31	K	MMS	LUMBOSAKRAL	6X8	SENDROMİK (JLS)	8,6	173	8,7	YOK
D40	YD	20	E	M	LUMBOSAKRAL	1.5X1.5	YOK	9,7	192	2,9	VAR

Kısaltmalar: Yenidoğan: YD, Yıl: Y, Aylık: A, Cinsiyet: C, Meningomyelozel: MMS, Meningozel: M, Ensefalozel: E, Myelozel: MŞ, E: Erkek, K: Kadın,

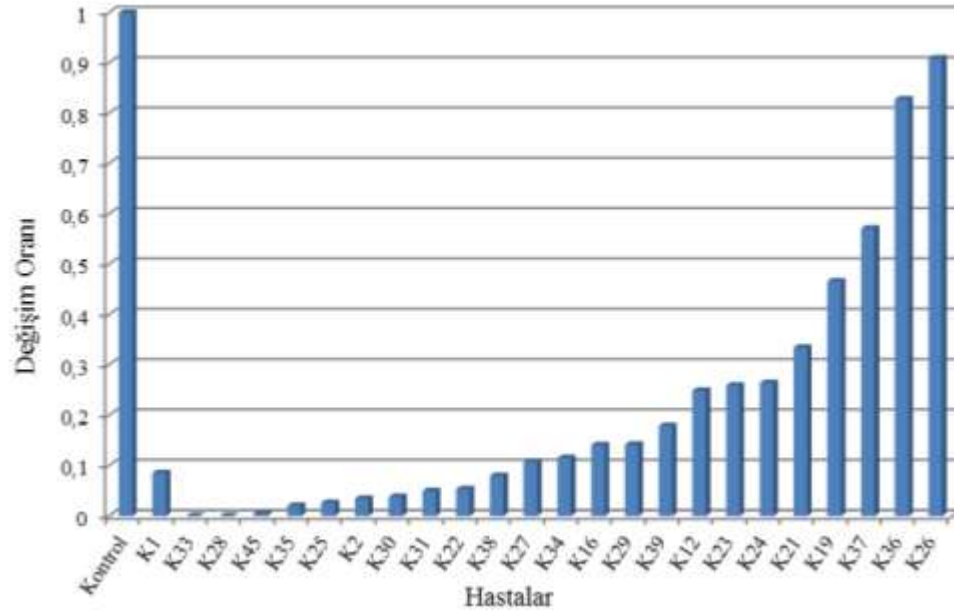
4.2.NTD Hastalarında MMP Ekspresyonları

MMP-1,-2 ve -9 genlerinin ekspresyonları kantitatif RT-PZR yöntemiyle araştırılmış ve elde edilen Ct değeri üzerinden a) NTD hastalarının periferik kan Ct'leri sağlıklı kontrol bireylerin ortalama Ct değerleriyle b) NTD hastalarının NTD dokularına ait Ct değerleri kendi periferik kanlarının Ct değerleriyle $\Delta\Delta Ct$ formülasyonu kullanılarak rölatif (göreceli) kantifikasyon yapılmıştır. Buna göre, periferik kanlardaki MMP ekspresyonları dokulardaki ekspresyonlardan farklı saptanmıştır. NTD hastalarımızın periferik kanlarında ekspresyonu azalan MMP'lerin dokularda ekspresyonlarının arttığı veya bu saptamanın tersi bir ekspresyon farklılığının varlığı saptanmıştır.

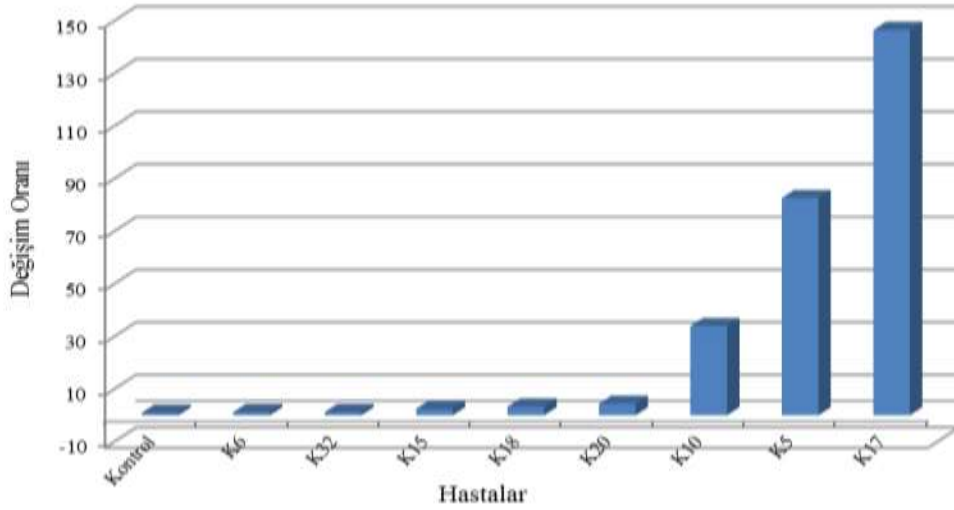
4.2.1.Periferik Kanlarda ve Dokulardaki MMP-1 Ekspresyonları

NTD hastalarının periferik kanlarında yapılan ekspresyon farklılıkları Şekil 5.1, Şekil 5.2'de gösterilmiştir. Buna göre 40 hastanın 24'ünde (%60) MMP-1 ekspresyonu sağlıklı kontrol bireylerin periferik kanlarına göre azalırken 10 hastada (%25) artmıştır ve 6 hastada (%10) ekspresyon tespit edilememiştir. Ekspresyon artışı 150 kat üzeri olan iki hastanın verisi kat artışlarının grafiklerde daha net ve anlaşılır görülmesi için Şekil 5.2'de gösterilmemiştir.

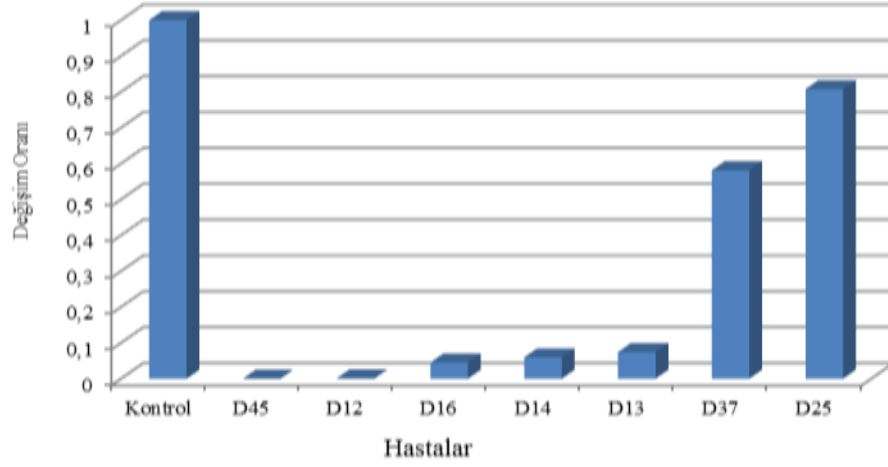
NTD dokularında ise yalnızca 7 hastada (%17,5) MMP-1 ekspresyon azalışı, 27 hastada (%67,5) ise artışı saptanmıştır (Şekil 5.3, Şekil 5.4, Şekil 5.5). Bu analizde 3 hastada saptanan ekspresyon artışı 5000 kat üzeri olduğundan, kat artışlarının grafiklerde daha net ve anlaşılır görülmesi için Şekil 5.5'te gösterilmemiştir. MMP-1 ekspresyonu açısından, periferik kanda artış veya azalma gösteren hastalar ile NTD dokularında artış veya azalma gösteren hastalar birbirlerinden genel olarak farklıdır.



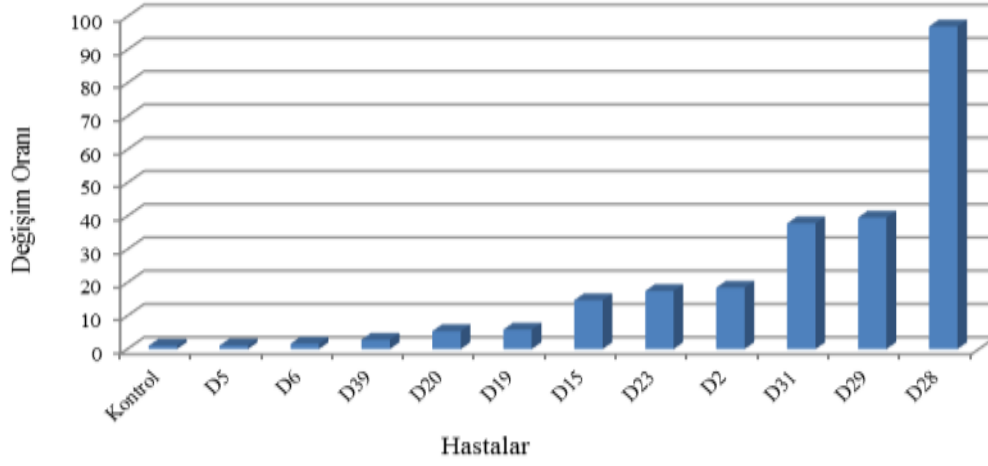
Şekil 4.1. Periferik Kanda MMP-1 Ekspresyonu Azalan Hastalar



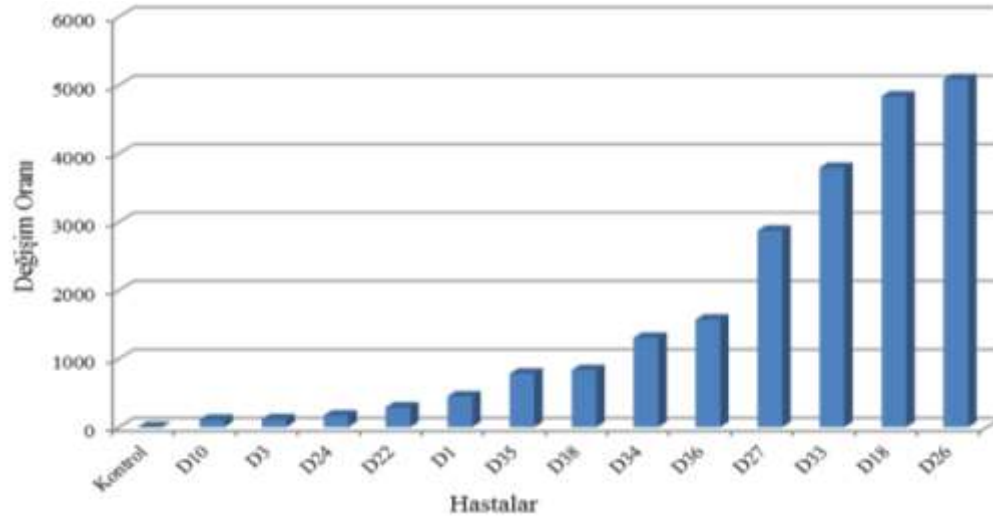
Şekil 4.2. Periferik Kanda MMP-1 Ekspresyonu 1,1-150 Kat Artan Hastalar



Şekil 4.3. NTD Dokularında MMP-1 Ekspresyonu Azalan Hastalar



Şekil 4.4. NTD Dokularında MMP-1 Ekspresyonu 1,1-100 Kat Artan Hastalar



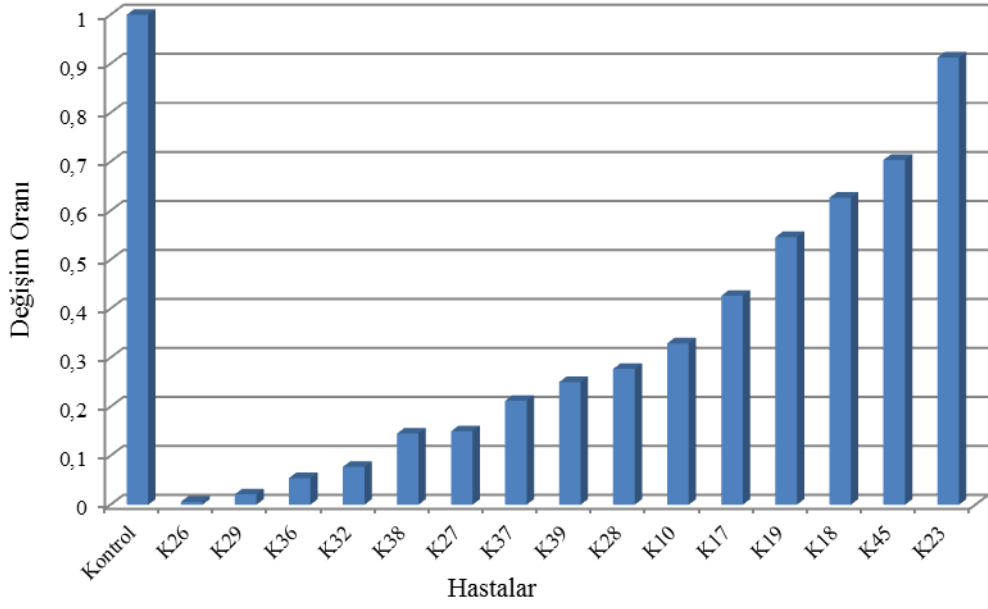
Şekil 4.5. NTD Dokularında MMP-1 Ekspresyonu 101-5000 Kat Artan Hastalar

4.2.2.Periferik Kanlarda ve Dokulardaki MMP-2 Ekspresyonları

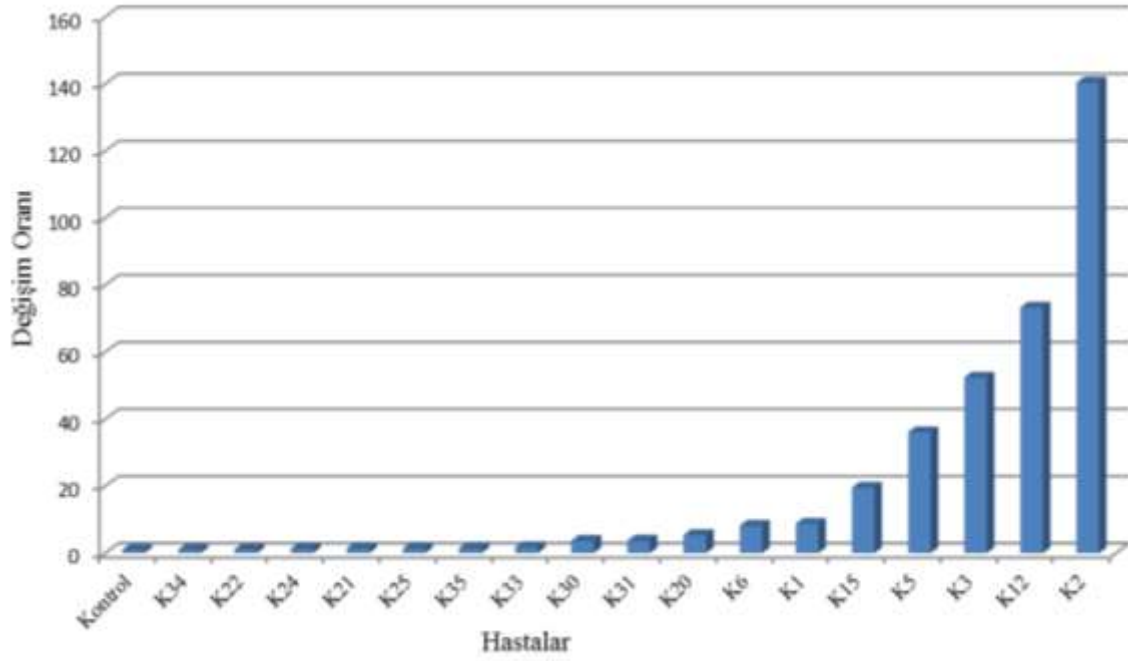
NTD hastalarının periferik kanlarında yapılan MMP-2 genine ait ekspresyon değişiklikleri Şekil 5.6, Şekil 5.7 ve Şekil 5.8’de gösterilmiştir. Periferik kanları değerlendirilen 40 hastanın 15’inde (%37,5) MMP-2 ekspresyonu azalırken, 19 hastada (%47,5) değişik oranlarda artış saptanmıştır. Bu gruptan 6 hasta da ise ekspresyon saptanmamıştır.

NTD dokuları değerlendirilip hastanın kendi periferik kanı kontrol olarak kullanıldığında ise 40 hastanın 17’sinde (%42,5) ekspresyon azalırken yine 17 hastada (%42,5) ekspresyon artmış ve 6 hasta da ise ekspresyon saptanmamıştır (Şekil 5.8, Şekil 5.9, Şekil 5.10). Ancak periferik kanda ekspresyonu azalan 15 hastanın yalnızca 5 tanesinin dokusunda ekspresyon azalması saptanmıştır. Periferik kanında MMP-2 ekspresyonu açısından azalma saptanan 10 hastanın dokusunda MMP-2 ekspresyon artışı saptanmıştır. Ayrıca, periferik kanda saptanan ekspresyon azalma veya artış oranı ile dokularda saptanan azalma ve artış oranı aynı veya benzer değildir.

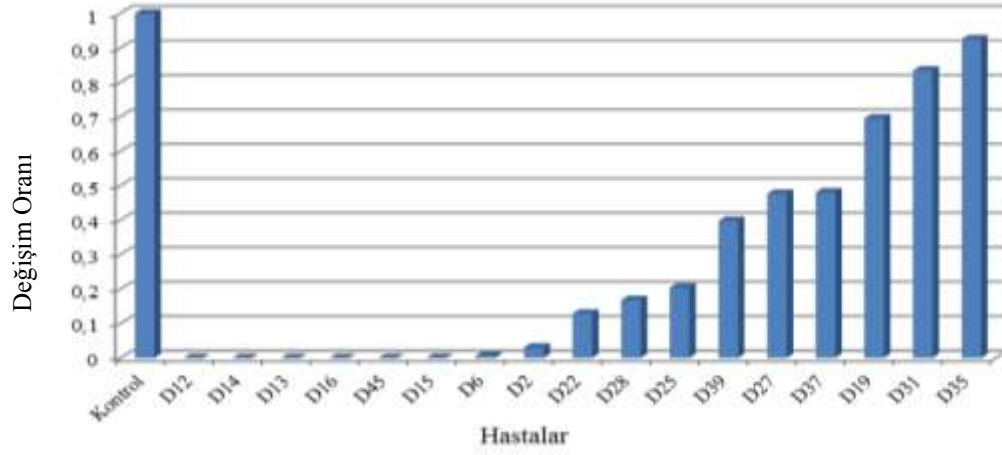
Genel olarak çalışması yapılan periferik kan ve dokuların ekspresyonları birbirinden farklılık göstermiştir. Dokularda saptanan ekspresyon artış oranları periferik kanlarda saptanlara göre daha yüksektir ve artış oranı 5000 kat üzeri olan hasta verisi grafiklerin daha net ve anlaşılır görülmesi için Şekil 5.10’da gösterilmemiştir.



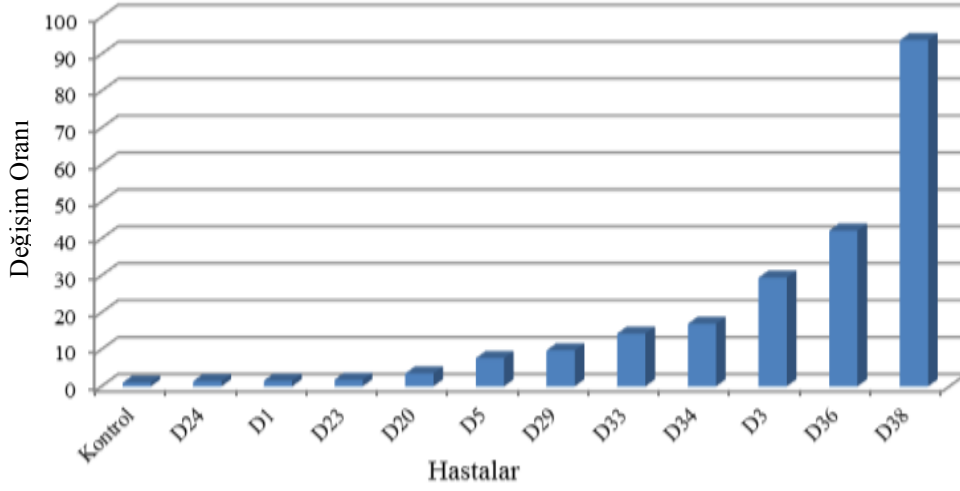
Şekil 4.6. Periferik Kanda MMP-2 Ekspresyonu Azalan Hastalar



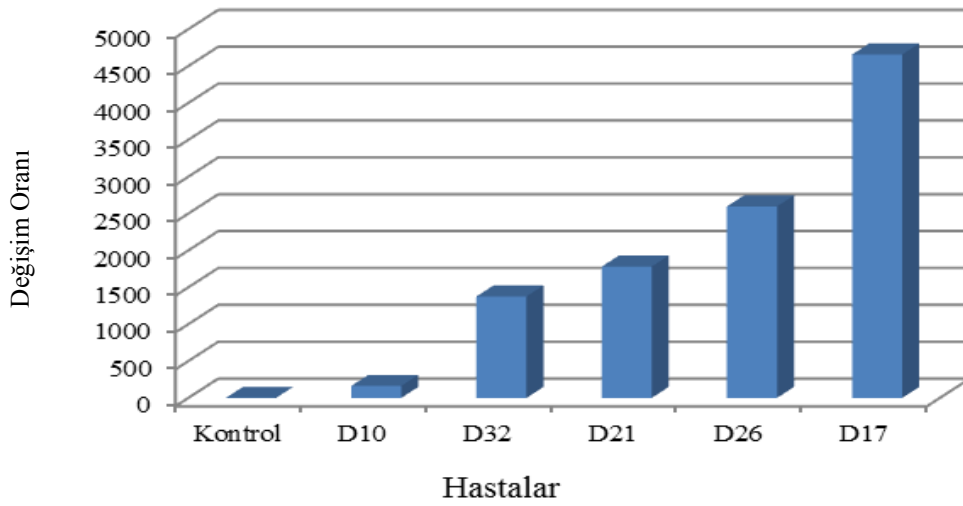
Şekil 4.7. Periferik Kanda MMP-2 Ekspresyonu 1.1-150 Kat Artan Hastalar



Şekil 4.8. NTD Dokularında MMP-2 Ekspresyonu Azalan Hastalar



Şekil 4.9. NTD Dokularında MMP-2 Ekspresyonu 1,1-100 Kat Artan Hastalar



Şekil 4.10. NTD Dokularında MMP-2 Ekspresyonu 101-5000 Kat Artan Hastalar

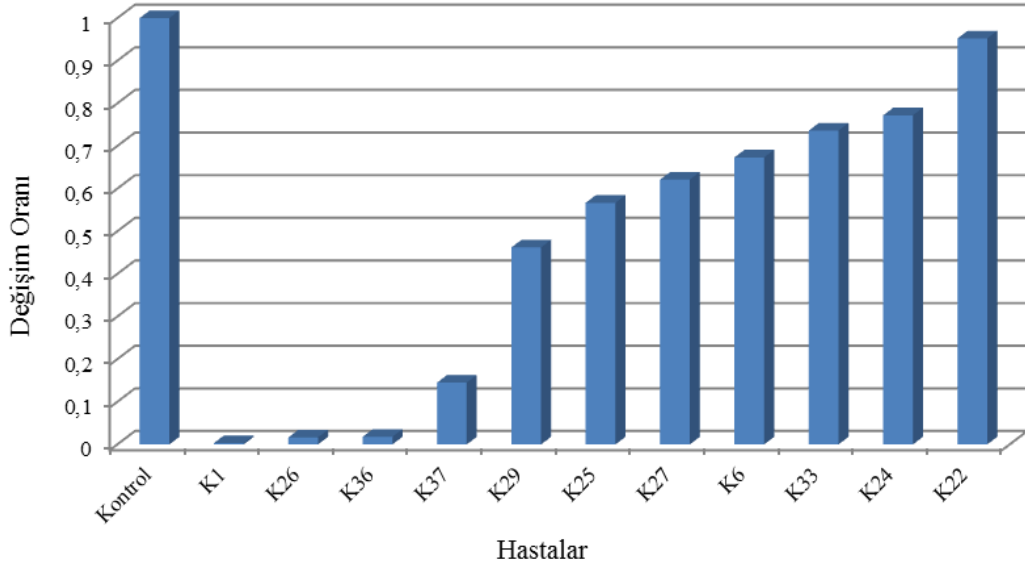
4.2.3.Periferik Kanlarda ve Dokulardaki MMP-9 Ekspresyonları

NTD hastalarının periferik kanlarında yapılan MMP-9 genine ait ekspresyon değişiklikleri Şekil 5.11 ve Şekil 5.12’de gösterilmiştir. Periferik kanları değerlendirilen 40 hastanın 11’inde (27,5) MMP-9 ekspresyonu kontrol kanlarındaki ekspresyona göre azalırken, 23 hastada (%57,5) değişik oranlarda artış saptanmıştır. Ayrıca, 6 hasta da ise MMP-9 ekspresyonu saptanmamıştır.

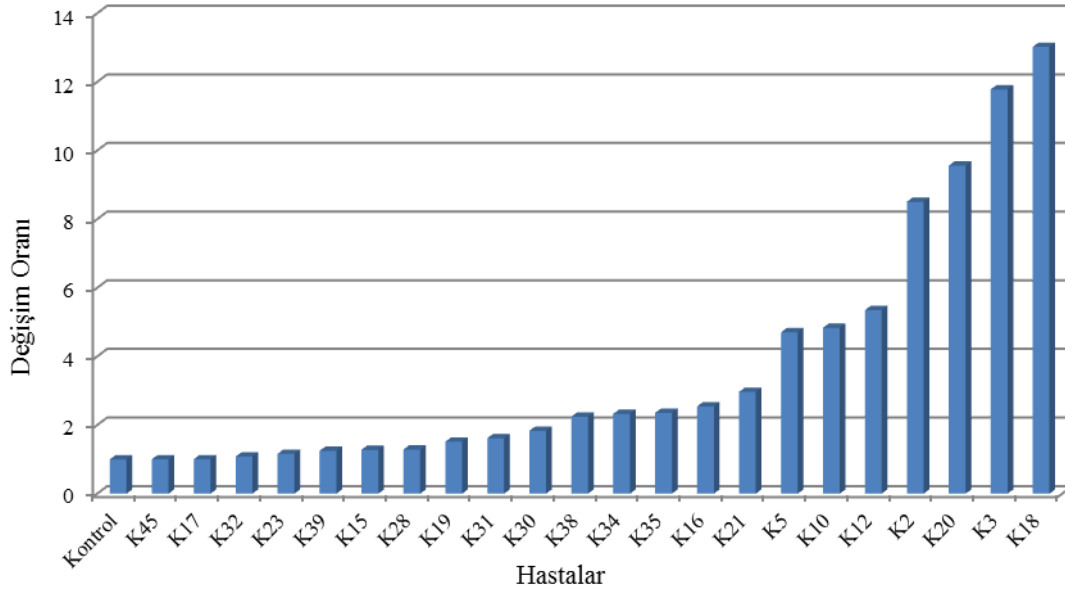
NTD dokuları değerlendirilerek yapılan MMP-9 ekspresyon analizinde ise 40 hastanın 5’inde (%12,5) ekspresyon azalırken 29 hastada (%72,5) ekspresyon artışı saptanmıştır. Periferik kanda olduğu gibi 6 hastada ekspresyon saptanmamıştır (Şekil 5.13, Şekil 5.14, Şekil 5.15).

MMP-9 ekspresyonunda da diğer genlerin ekspresyon analizlerinde olduğu gibi periferik kanda azalma saptanan birçok hastanın dokularında ekspresyonun arttığı ve/veya tersi bir ekspresyon farklılığı durumu saptanmıştır. Ayrıca, MMP-9 ekspresyonunda da periferik kanda saptanan ekspresyon azalma veya artış oranı ile dokularda saptanan azalma ve artış oranı aynı veya benzer değildir.

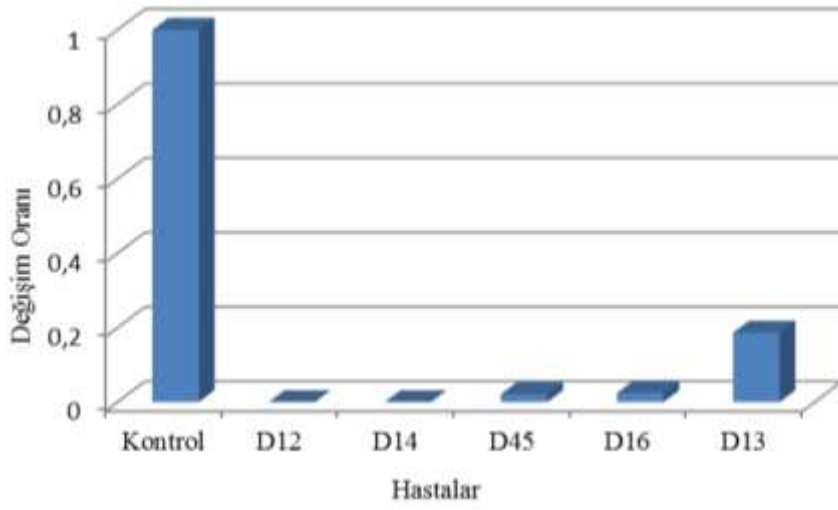
Genel olarak çalışması yapılan periferik kan ve dokuların MMP-9 ekspresyonları birbirinden farklılık göstermiştir. Periferik kanda saptanan ve değerlendirilebilir en yüksek MMP-9 artışı 13 kat iken dokularda saptanan ekspresyon artışı 5000 katın üzerindedir. Ancak artış oranı 5000 kat üzeri olan hastaların verileri (5 hastada) grafiklerin daha net ve anlaşılır görülmesi için Şekil 5.15’te gösterilmemiştir.



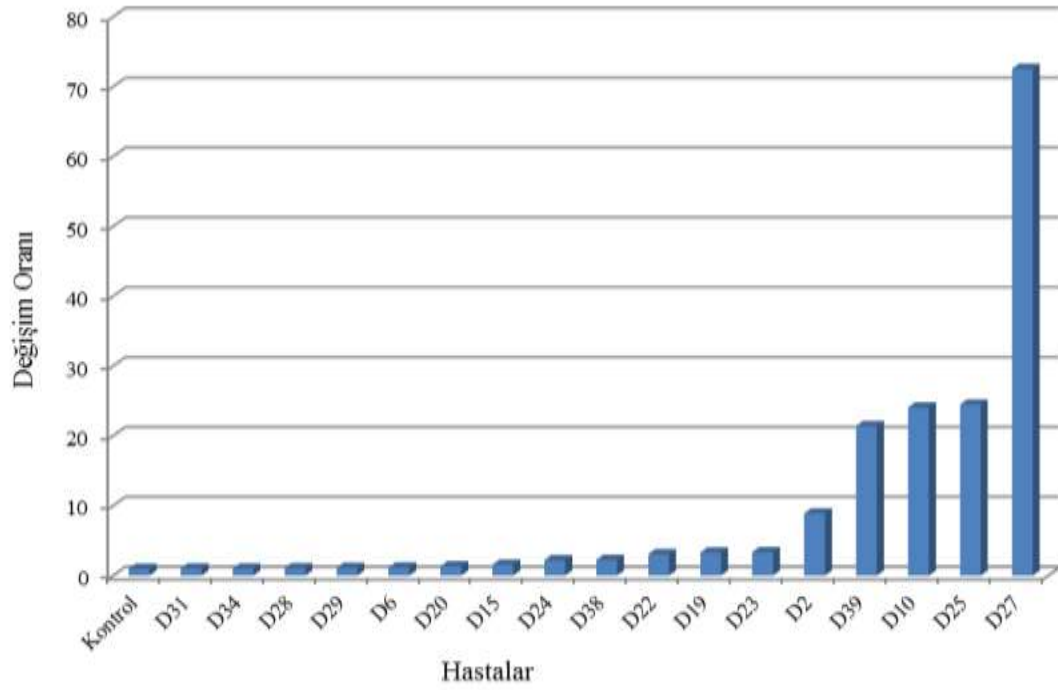
Şekil 4.11. Periferik Kanda MMP-9 Ekspresyonu Azalan Hastalar



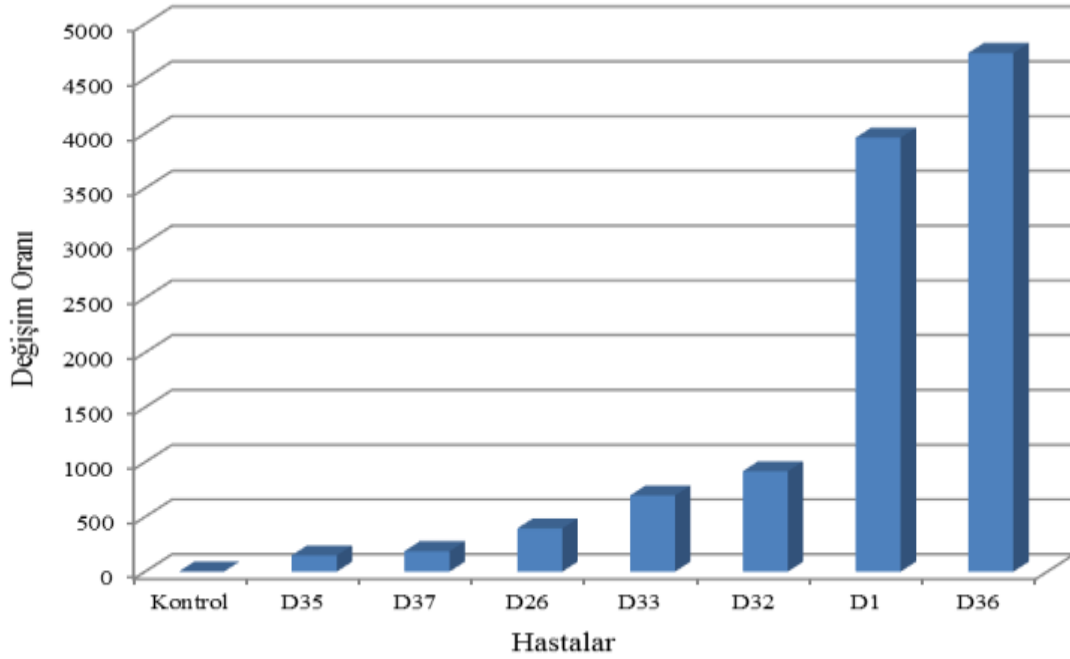
Şekil 4.12. Periferik Kanda MMP-9 Ekspresyonu 1,1-15 Kat Artan Hastalar



Şekil 4.13. NTD Dokularında MMP-9 Ekspresyonu Azalan Hastalar



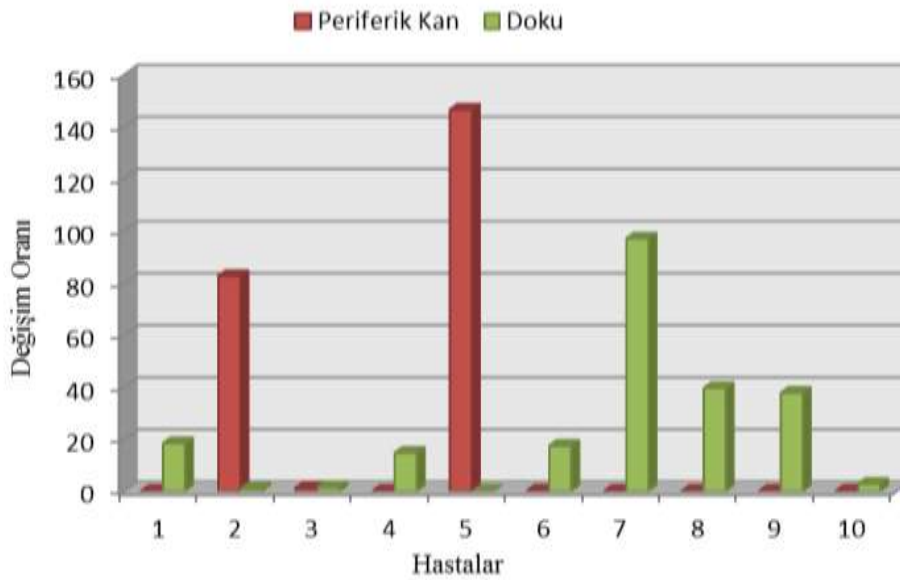
Şekil 4.14. NTD Dokularında MMP-9 Ekspresyonu 1,1-100 Kat Artan Hastalar



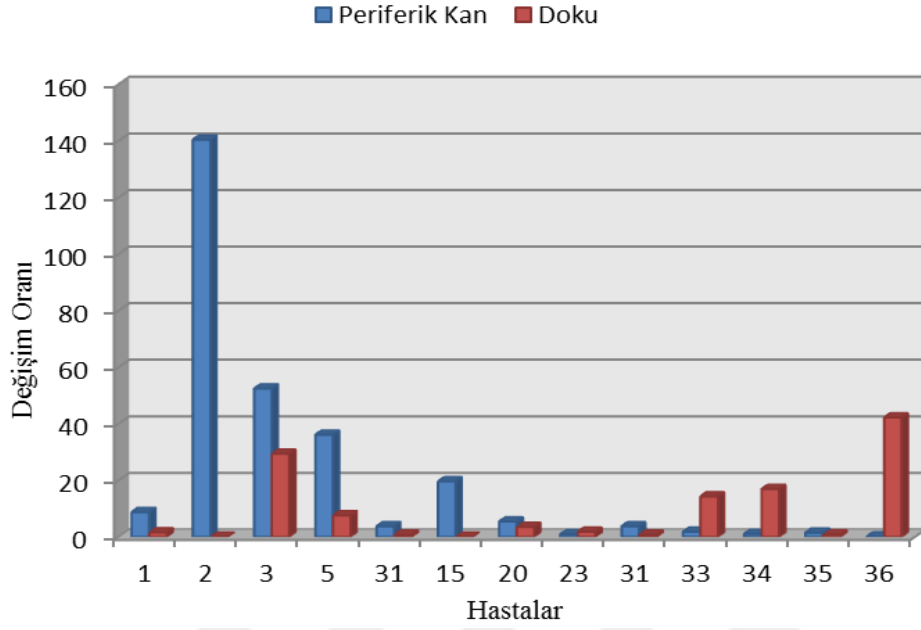
Şekil 4.15. NTD Dokularında MMP-9 Ekspresyonu 101-5000 Kat Artan Hastalar

4.2.4. Periferik Kan ile Doku Arasında Saptanan MMP Gen Ekspresyonları

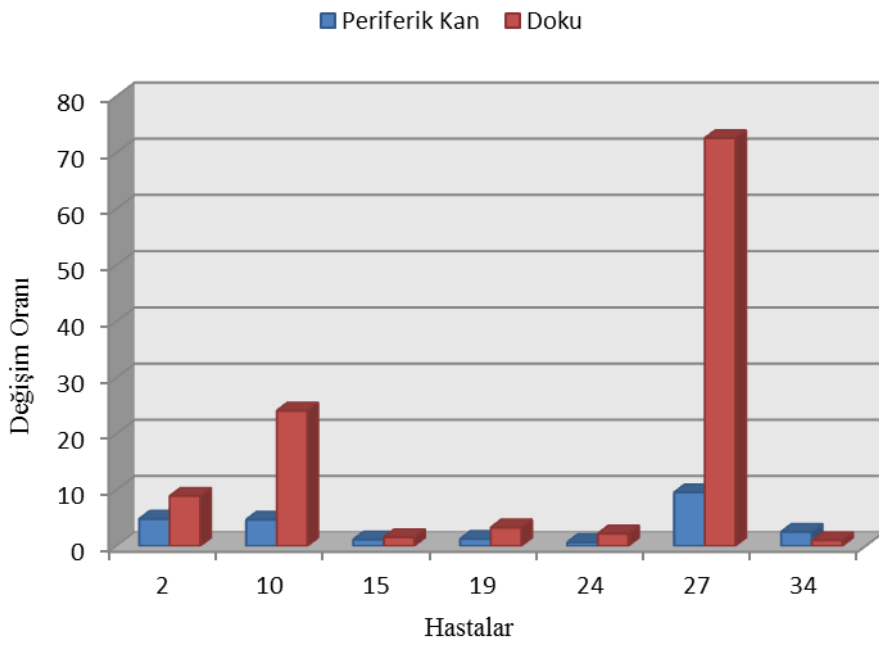
Yukarıda da belirtildiği üzere periferik kanlardaki ekspresyon düzeyleri ile dokular ekspresyonlar arasında farklılıklar saptanmıştır. Bu farklılıkları içeren veriler Şekil 5.16, Şekil 5.17 ve Şekil 5.18’de gösterilmiştir.



Şekil 4.16. NTD hastalarına ait periferik kan ve dokulardaki MMP-1 Ekspresyon farklılıkları



Şekil 4.17. NTD hastalarına ait periferik kan ve dokulardaki MMP-2 Ekspresyon farklılıkları



Şekil 4.18. NTD hastalarına ait periferik kan ve dokulardaki MMP-9 Ekspresyon farklılıkları

4.2.5. NTD Klinik Verileri ile MMP Ekspresyonları Arasındaki İlişki

4.2.5.1. NTD Tipi, Ca²⁺, B12 ve Folat ile MMP Gen Ekspresyonları Arasındaki İlişki

MMP-1 ve MMP-9 gene ekspresyonları bakımından tanı grupları karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır (sırasıyla p; 0.929 ve 0.809) ancak MMP-2 için 4 tanı grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (p=0.012). Posthoc Duncan testiyle değerlendirilen gruplar arası farklılıklar incelendiğinde, sadece “M” grubunun diğerlerinden farklı olduğu gözlenmiştir. 19921 kat eksprese olduğu gözlenen bu gruba en yakın NTD tipi MMS (430 kat) ve tüm diğerlerinden istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Benzer şekilde B12 ve folat değişkenleri tanı grupları bakımından incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmazken (sırasıyla p; 0.373 ve 0.360) Ca⁺² düzeyi açısından tanı grupları birbirlerinden farklı bulunmuştur (p=0.030). Farklı indislerin farklı grupları gösterdiği aşağıdaki tablodan da anlaşılacağı üzere MMS ve E grupları birbirlerinden farklı ancak MS ve M grupları hem MMS hem de E gruplarıyla istatistiksel olarak aynı bulunmuştur.

Tablo 4.3. NTD Tipi, Ca²⁺, B12 ve Folat ile MMP Gen Ekspresyonları Arasındaki İlişki

	Tanı		MS		M		E		P
	MMS	St.Sapma	Ortalama	St.Sapma	Ortalama	St.Sapma	Ortalama	St.Sapma	
MMP1	1140191,64	4895507,99	440,75	750,62	2908,65	2490,41	,463	,416	0.929
MMP2	430,62 ^a	1097,12	5,64 ^a	9,78	19921,44 ^b	34492,42	,228 ^a	,241	0.012
MMP9	14596,00	39776,29	,93	,698	3257,31	5050,76	70,441	101,503	0.809
Ca2+	9,08 ^b	,62	8,63 ^{a b}	,49	8,60 ^{a b}	,80	7,75 ^a	,35	0.030
B12	236,44	103,48	352,00	85,02	287,75	207,87	289,00	33,94	0.373
Folat	13,45	3,05	16,00	3,41	10,95	5,51	13,00	7,64	0.360

4.2.5.2. Cinsiyet ile Ca²⁺, B12 ve Folat ile MMP Gen Ekspresyonları Arasındaki İlişki

Cinsiyet bakımından aşağıda belirtilen tablodaki değişkenler incelenmiştir. Buna göre, erkek ve kadın olmanın bu ölçüm değerleri üzerine etkisi olmadığı gözlenmiştir (p değerleri; 0.177 – 0.784 arasında değişmektedir).

Tablo 4.4. Cinsiyet ile Ca²⁺, B12 ve Folat ile MMP Gen Ekspresyonları Arasındaki İlişki

	Cinsiyet		Kız		p
	Erkek				
	Ortalama	St.Sapma	Ortalama	St.Sapma	
MMP1	336,545	766,460	1500533,110	5602105,390	0.326
MMP2	21,396	47,794	3697,270	13629,641	0.323
MMP9	1705,264	5255,013	18474,334	45028,529	0.177
Ca ²⁺	8,77	,71	9,02	,64	0.228
B12	239,11	137,16	258,79	83,24	0.564
Folat	13,48	3,76	13,16	3,70	0.784

4.2.5.3. Malformasyon varlığı ile Ca²⁺, B12 ve Folat ile MMP Gen Ekspresyonları Arasındaki İlişki

Malformasyon varlığı ve yokluğu ile Ca²⁺, B12, folat düzeyleri ve MMP gen ekspresyonları karşılaştırıldığında malformasyon varlığı ve yokluğu ile değişkenler bakımından farklılık yaratmamıştır (p değerleri; 0.349 – 0.593 aralığında değişmektedir).

Tablo 4.5. Malformasyon varlığı ile Ca²⁺, B12 ve Folat ile MMP Gen Ekspresyonları Arasındaki İlişki

	Malformasyon		Var		p
	Yok				
	Ortalama	St.Sapma	Ortalama	St.Sapma	
MMP1	25782,239	80708,291	1228566,014	5103047,415	0.446
MMP2	486,518	1466,104	2855,761	12421,179	0.555
MMP9	6318,489	16926,882	13552,224	40552,160	0.593
Ca ²⁺	8,82	,72	8,97	,66	0.505
B12	232,43	57,73	258,62	127,10	0.468
Folat	12,57	4,69	13,69	3,04	0.349

4.2.5.4. Ca²⁺, B12 ve Folat ile MMP Gen Ekspresyonları Arasındaki İlişki

Ca²⁺, B12 ve folat düzeyleri ile MMP gen ekspresyonları arasındaki ilişki analiz edildiğinde dokulardaki ekspresyon oranları ile olan ilişkilerinin incelenmesi amacıyla Pearson korelasyon katsayıları hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı sayılabilecek bir ilişki gözlenmemiştir. Dolayısıyla bu değişkenlerdeki artış ya da azalış diğer değişkenler bakımından anlamlı bir artış ya da azalışa neden olmamaktadır.

Tablo 4.6. Ca²⁺, B12 ve Folat ile MMP Gen Ekspresyonları Arasındaki İlişki

		Ca2+	B12	Folat	MMP1	MMP2	MMP9	
rho	Ca2+	Correlation Coefficient	1,000	-,114	-,218	,324	,113	,179
		p	.	,465	,161	,066	,532	,318
B12		Correlation Coefficient	-,114	1,000	-,040	,078	-,010	-,141
		p	,465	.	,800	,665	,955	,434
Folat		Correlation Coefficient	-,218	-,040	1,000	,011	,006	-,084
		p	,161	,800	.	,952	,974	,648
MMP1		Correlation Coefficient	,324	,078	,011	1,000	,797**	,631**
		p	,066	,665	,952	.	,000	,000
MMP2		Correlation Coefficient	,113	-,010	,006	,797**	1,000	,708**
		p	,532	,955	,974	,000	.	,000
MMP9		Correlation Coefficient	,179	-,141	-,084	,631**	,708**	1,000
		p	,318	,434	,648	,000	,000	.

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

4.2.5.5. Hipotroidisi olan NTD Hastalarda Ekspresyon Analizi

Hastaların klinik bulguları ile ekspresyon değişiklikleri arasındaki ilişki incelendiğinde hipotroidisi olan 14 hastanın yalnızca 9’unda ekspresyon saptanmıştır. Hipotroidisi olan 9 hastada MMP-2 ve MMP-9 genlerine ait ekspresyonlarda kontrole göre azalma saptanmıştır. Bu hastalara ait ekspresyon katı değişiklikleri arasında kantitatif açıdan büyüklük farkı olduğundan ilgili açıklamaya ait veriler Tablo 4.7’de gösterilmiştir.

Tablo 4.7. Hipotroidisi Olan NTD Hastalarında Ekspresyon Değişikliklerinin Kat Değişimi Olarak Gösterimi

Hasta No	DOKU MMP1 EKSPRESYONU	DOKU MMP2 EKSPRESYONU	DOKU MMP9 EKSPRESYONU	TANI
D12	0,001054	2,56E-07	5,08E-07	MMS
D13	0,074158	2,16E-05	0,186819	MS
D15	14,71873	0,001181	1,571138	MS
D16	0,045208	3,15E-05	0,024745	MMS
D20	5,408914	3,489297	1,357403	MMS
D22	290,7516	0,129499	3,086082	MMS
D24	171,577	1,413483	2,218522	MMS
D25	0,807692	0,204683	24,51095	E
D28	97,04681	0,168198	1,0814	M

4.2.5.6. Sendromik olan NTD Hastalarda Ekspresyon Analizi

Ayrıca NTD hastalarımız içerisinde sendromik anomalisi olanlarda yapılan ekspresyon değerlendirilmesi sonucunda, sendromik anomalisi olan 10 hastamızın 9'unda ekspresyonlar analizi yapılabilmektedir. Bu analiz sonunda 1 hasta dışında tüm hastalarımızda MMP-1 ve MMP-9 ekspresyonlarının hastanın kendi kontrol kanına göre yüksek olduğu saptanmıştır. Bu hastalara ait ekspresyon katı değişiklikleri arasında kantitatif açıdan büyüklük farkı olduğunda ilgili açıklamaya ait veriler Tablo 4.8'de gösterilmiştir.

Tablo 4.8. Sendromik Anomalisi olan NTD Hastalarında Ekspresyon Değişikliklerinin Kat Değişimi Olarak Gösterimi

Hasta No	DOKU MMP1 EKSPRESYONU	DOKU MMP2 EKSPRESYONU	DOKU MMP9 EKSPRESYONU	TANI
D3	116,1275	29,43614	19595,33	MMS
D6	1,593252	0,006031	1,1818	MMS
D19	5,867189	0,695554	3,306615	MMS
D29	39,5686	9,741613	1,108864	MMS
D34	1307,463	16,94073	1,039971	MS
D35	784,1482	0,925075	148,5308	MMS
D36	1573,187	42,18647	4734,811	MMS
D37	0,58142	0,480739	186,7904	E
D39	2,820479	0,398112	21,42593	MMS

4. TARTIŞMA

NTD, bireylerin büyüme ve gelişimi ile sosyolojik yapılanmasını etkileyen önemli konjenital malfarmasyonlardan biridir. Multifaktöriyel bir kalıtım sergileyen NTD'nin oluşum ve gelişim nedenleri arasında genetik ve çevresel faktörler önemli rol oynamaktadır. NTD'nin heterojen yapısı nedeniyle fizyopatolojisi hem moleküler hem de fizyolojik açıdan tam olarak aydınlatılamamıştır (Nikolopoulou E ve ark., 2017). Ancak NTD'nin neden olduğu tıbbi ve toplumsal problemler göz önüne alındığında gerek tanı gerekse terapötik açıdan NTD'nin aydınlatılmaya ve NTD'yi tanımlayabilecek prediktif, prospektif ve/veya terapötik moleküler biyobelirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Gelişim biyolojisinin en önemli araştırma alanlarından biri olan NTD'nin oluşum ve gelişimine neden olabilecek çevresel ve tıbbi nedenler arasında diabetes mellitus (Copp Aj ve ark., 2013), hormonal dengesizlikler, teratojenler, folik asit eksikliği (Murray LK ve ark., 2018), bir takım ilaçlar (Scaparrotta A ve ark., 2017) ve aşırı A vitamini kullanımı (Rothman KJ ve ark., 1995) olduğu bildirilmektedir. NTD oluşum ve gelişimine neden olabilecek moleküler genetik faktörler arasında ise mikroRNA'ların (Qin P ve ark., 2017; Yang SL ve ark., 2015), folik asit yolağı genleri ile PCP (Planary Cell Polarity) genlerinin yer alabileceği (Copp Aj ve ark., 2013) belirtilmektedir.

NTD fizyolojisinde primer nörilasyon süreci en önemli basamaktır. Bu süreçte NT progenitor hücreleri nöroepitelyumu ve çevre dokuları oluşturmak üzere lumen etrafında kanalize olurlar. Nöral olmayan ektoderm (Non-NCC), notokord ve mezodermin NT kapanmasının (NTC, Neural Tube closure) düzenlenmesinde rol aldığı düşünülmektedir. Nörilasyon mekanizmasında doğrudan ve dolaylı olarak rol alan unsurlarda meydana gelebilecek eksiklik, bozulma veya düzensizlikler NTD oluşmasına neden olmaktadır. Eğer NTC mekanizmasını tam olarak çözebilirsek NTD gelişiminin önlenmesi ve tedavisi için yeni tıbbi yaklaşımlar geliştirebiliriz. Birçok hücrel ve moleküler olayın yer aldığı primer nörilasyon mekanizmasında farede 300'den fazla genin yer aldığı belirtilmektedir (Wilde JJ ve ark., 2014). İnsanlarda görülen NTD'de bugüne kadar 82 genin NTD gelişimini etkileyebileceği bildirilmiştir (Nikolopoulou E ve ark., 2017).

NTD fizyolojisinde ECM'nin yapısı, oluşumu ve gelişimi önemli rol oynamaktadır (Nikolopoulou E ve ark., 2017). ECM, proteoglikanların ve proteoglikan yapıda olmayan proteinlerin (fibronektin ve laminin gibi), kollajenlerin ve elastinlerin yer aldığı (Nikolopoulou E ve ark., 2017), hücrenin göçünü, invazyonunu, proliferasyonunu ve diferansiyasyonunu belirleyen kompleks bir yapıdır (Blavier L ve ark., 2001). ECM'de yer alan bu moleküller ECM yapısını oluşturan hücreler tarafından hücre dışına salınır. ECM yapısının NTD'deki rolünün tanımlanması ve anlaşılması oldukça karmaşıktır. ECM'de yapısal olarak yer alan proteinlerin çoğu integrin reseptörleri için birer ligand'tır ve integrin reseptörlerine bağlanarak NTD gelişiminde rol oynayan hücre polaritesi, hücre göçü, hücre adezyonu, hücre iskeleti ve morfogenetik sinyallerin düzenlenmeleri hakkında bilgi sunan sinyal yollarının aktifleşmesini sağlar (Nikolopoulou E ve ark., 2017). MMP'ler ekstrasellüler matrikste (ECM) ki çeşitli proteinlerin parçalanmasına yol açarak hücre göçünde, metastazında (Roth L ve ark., 2017) ve damarlaşmada ve dolayısıyla yara iyileşmelerinde (Chang JH ve ark., 2016) rol almaktadırlar.

NTD'nin gelişiminin altında eksik bir hücre göçü mekanizması yattığından dolayı ECM'nin formasyonunda rol aldığı bildirilen MMP'lerin (Blavier L ve ark., 2001) araştırılması ve etkilerinin açığa çıkarılması NTD'nin patogenezi açıklamaya ve NTD'nin oluşumunu önlemeye yönelik tıbbi yaklaşımların oluşturulmasını sağlayabilir.

Bu nedenle, bu tez kapsamında hücre göçünde ve invazyonunda rol aldığı bilinen matriks metalloproteinazların önemli üyelerinden olan hücre göçünde ve doku yeniden yapılanmasında rol aldığı bilinen MMP-1, MMP-2 ve MMP-9 genlerinin ekspresyonlarının NTD'nin oluşum ve gelişimindeki olası rollerinin saptanması amaçlanmıştır.

Copp ve ark. (2013) NTD gelişiminde yer alan faktörleri çevresel ve genetik olarak değerlendirmiş, multifaktöriyel olan bu patolojinin temelinde yer alabilecek genetik faktörleri yukarıda da belirtildiği gibi a) folik asit yolağında yer alan genler b) PCP yolağında yer alan genler olarak sınıflandırmıştır. Folik asit yolağı; hücrenin pürin ve primidin sentezi ve hücrenin metil vericisi olan S-adenozil metiyonin üretildiği hücre için hayati öneme sahip bir yoldur. Burada rol alan genlerdeki polimorfizmlerin NTD gelişimine katkı sunabileceği belirtilse de genel olarak kullanılan folat miktarı ve genetik polimorfizm çalışmaları arasında bir uyum bulunmamaktadır (Dalal A., 2007; Findley TO ve ark., 2017; Fang Y ve ark., 2018). Folat eksikliğinin ve kullanılan dozun NTD gelişiminde tek başına ve major etkili olduğu görüşü tartışmalıdır ve NTD'nin bir vitamin hastalığı olmadığı belirtilmektedir (Copp AJ ve

ark., 2013). Bizim çalışmamızda da folat miktarı ile NTD gelişimi arasında her hangi bir ilişki saptanmamıştır. Ayrıca, B12 miktarı açısından da herhangi bir fark saptanmamıştır. Multifaktöriyel kalıtımın rol aldığı bildirilen bir hastalığın patogeneğinde vitamin kullanımının ve buna bağlı çevresel faktörlerin major rol alabileceği öngörüsü bilimsel açıdan eksik olabilir. Bu nedenle NTD tanı ve tedavisinde biyobelirteç(ler) belirlemek için NTD yolağında daha çok genetik ve epigenetik etmenlerin rol alabileceği potansiyelini ön planda tutmak daha doğru bir yaklaşım olabilir.

NTD gelişiminde rol alabileceği bildirilen ikinci önemli genler olarak PCP yolağında yer alan genlerin olduğu belirtilmektedir (Nikolopoulou E ve ark., 2017). Nöral plak ve altındaki mezodermin uzaması lateralden medyale doğru dokusal bir hareketi, buna bağlı olarak ta hücrelerin göçünü gerektiren ve CE (Convergent extension) olarak adlandırılan süreçte PCP genlerinin rol aldığı bununda hücrenel kanonikal olmayan Wnt (non-canonical Wnt) yolağının tetiklenmesinden kaynaklandığı bildirilmektedir (Copp AJ ve ark., 2013). Wnt/PCP yolağında yer alan genlerde meydana gelen mutasyonların nöral tüpün kapanmasını engelleyerek NTD'ye neden olduğu belirtilmektedir (Copp AJ ve ark., 2013). Non-canonical Wnt yolağının hücre iskeletinin düzenlenmesini sağlayarak kanser hücreleri başta olmak üzere hücrenin göç, invazyon ve metastazında rol aldığı bilinmektedir (Zheng XL ve Yu HG, 2018). Kanonikal Wnt yolağı aktivasyonunun MMP'lerin ekspresyonunu arttırdığı belirtilmektedir (Wu B ve ark., 2007; Ingraham CA ve ark., 2011; Endo M ve ark., 2015). Kanonikal olmayan yolda da Wnt5a/Ror2 aksisi kullanılarak Snail transkripsiyon faktör ailesi üyeleri üzerinden kanser hücrelerinde EMT'nin, tümör progresyonunun ve MMP'lerin indüklendiği bildirilmiştir (Endo M ve ark., 2015). Ayrıca, Wnt5a ve Ror2'nin Xenopus embriyolarında PCP'yi düzenlediği ve bunların aşırı ekspresyonlarının ve/veya mutant formlarının CE'yi ve NT gelişimini inhibe ettiği rapor edilmektedir (Endo M ve ark., 2015). Ancak Wnt5a/Ror2 aksisinin PCP'yi düzenlerken MMP ekspresyonlarının nasıl değiştiğine ilişkin veri bulunmamaktadır. Kanonikal olmayan WNT yolağında ve/veya Wnt5a/Ror2 aksisinde yer alan onlarca gende meydana gelebilecek genetik ve epigenetik değişiklikler NTD gelişimine neden olabilir. Bu olası genetik ve epigenetik değişiklikler MMP'lerin ekspresyonunu arttırarak hücre göçü ve yönelimini bozabilir. Bu tez çalışmasında değerlendirilen dokularda Wnt5a/Ror2 aksisi genlerinde aşırı ekspresyon sonucu analizi yapılan MMP'lerin ekspresyonlarında artışa ve sonunda PCP'nin regülasyonunun bozulması gerçekleşmiş olabilir. Bu tez çalışması sonuçları, MMP-2 ve -9 başta olmak üzere MMP genlerinin kanonikal olmayan Wnt yolağı üzerinden Wnt5a ve Ror2 aksisi genlerinin

araştırılması gerektiğini ve kanonikal olmayan Wnt ile MMP'ler arasında PCP kontrol mekanizması ile ilgili bir ilişkinin olabileceğini göstermektedir.

Lieratürde NTD gelişiminde MMP'lerin rolüne ilişkin her hangi bir veri bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasında genel olarak MMP 1- ve 9 ekspresyon artışının NTD gelişimine katkı sunduğu saptanmıştır. MMP'ler ECM organizasyonu etkisiyle hücre göçü ve yönlendirilmesinde rol alabilirler. Böylece kanser hücrelerinde olduğu gibi ECM degradasyonu üzerinden hücrelerin serbest kalması sağlanabilir. Ancak embriyonik dönemde meydana gelen aşırı ekspresyon hücrelerin birbirleriyle ve matriksle olan etkileşimlerini inhibe ederek hücre göçünü ve yönelimini bozmuş ve dokusal gelişimi bloke etmiş olabilir. Tez kapsamında aldığımız doku örneklerinde klinik olarak NC hücrelerinin (NCC) bulunduğu doku seçimi yapılmıştır. NCC hücreleri nöral plağın katlanmasında, CE sürecinde ve dolayısıyla NT'nin oluşumunda primer sorumlu hücrelerdir. Buradaki MMP ekspresyon artışı NCC'nin polaritesi ve göçünü etkileyerek nöral katlanmayı bloke etmiş olabilir.

Gottlieb ve ark. (2009), tarafından yapılan çalışmada insanın her hücresinin aynı genomik yapıda olmadığı ve periferik kan araştırmalarının araştırılan hastalığı tam olarak yansıtamayacağı belirtilmiştir. Dokular arasındaki bu farklılık epigenetik açıdan da doğrulanmıştır (Eckmann-Scholz ve ark, 2012). NTD çalışmalarında elde edilen sonuçların farklılıklarının temelinde NTD fenotipik ve geneotipik heterojenitesinin yatabileceğini göstermek ve NTD patogenezini temsil etme potansiyeli açısından her iki doku arasında fark olup olmadığını saptamak amacıyla bu tez çalışması kapsamında NTD hastalarından doku ile birlikte periferik kan da alınmıştır. Tez kapsamında elde edilen sonuçlara göre NTD hastalarından periferik kan ile doku arasında araştırılan genlerin ekspresyonlarının tamamen farklı olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla NTD gibi geneotipik ve fenotipik açıdan çeşitlilik gösteren bir dokuda periferik kandan genetik araştırmalar yapmak bilimsel açıdan eksik ve/veya yanlış sonuçların doğmasına neden olabilir. Bu tez çalışmasında da NTD hastalarının periferik kanları ile dokuları arasında genetik açıdan farklılıklar olabileceği ilk kez gösterilmiştir. Dolayısıyla NTD patogenezini açıklamaya yönelik yapılan folat metabolizmasında yer alan genlerin mutasyon ve polimorfizm araştırmalarında ve hücre polaritesi/davranışlarının araştırılmasında doğrudan NTD hastalarının dokularının çalışılması gerekliliği ortaya konmuştur.

Roth ve ark.(2017) tarafından yapılan çalışmada, kuş NCC hücrelerinin göçünde ve yine bu hücrelerin EMT sürecinde membrane bağlı MMP-16 ekspresyonunun önemli olduğu, MMP16 ekspresyon azalışının NCC hücrelerinin göçünü inhibe ettiği ancak EMT sürecini tetiklediği bildirilmektedir. Bu tez çalışmasında ise özellikle MMP-1 ve 9'un ekspresyon artışının NTD oluşumunu tetikleyebileceği sonucuna ulaşılmıştır. NTD oluşum ve gelişim süreci NC hücrelerinin göçünden sonra meydana gelen süreci kapsar. MMP'lerin aşırı ekspresyonu hücrelerin içerisinde bulunduğu doku bütünlüğünün oluşumunu engelleyerek ve/veya bozarak hücrelerin göç davranışlarını inhibe ederek hücre-ECM bütünlüğünü ve sonunda nöral plağın nöral tüpü oluşturmalarını engelleyebilir. Bu tez kapsamında yapılan ekspresyon analizleri NTD patolojisi taşıyan dokulardan elde edilen hücrelerden yapılmıştır. Dolayısıyla MMP ekspresyonlarının yüksek oluşu hücre ECM ilişkisinin bozulmasına ve sonrasında NTD patolojisine neden olabilir. Roth ve ark.(2017)'nin elde ettiği sonuçların bu tez sonuçlarından farklı olmasının nedenlerini, a) farklı MMP geninin çalışılması, b) insana ait dokularda değil kuş embriyolarına ait dokularda (yalnızca kranial dokularda) yapılması şeklinde sıralayabiliriz. Ayrıca, NTD patogenezi ve nöralizasyonu açıklamaya yönelik çalışmalarında kullanılan organizma, NTD tipi ve kullanılacak doku sonuçların kullanılabilirliği açısından önem arz etmektedir. Copp ve ark. (2013) nöralizasyon mekanizmasını anlamaya yönelik 250'den fazla fare modeli olduğunu bunların içerisinde insandaki nöralizasyon mekanizmasını yansıtan modellerin olabileceğini, genetik açıdan farklı mutant NTD modellerin birbirinden farklı özellik sunabileceğini bu nedenle elde edilen fenotipik ve genotipik sonuçların farklı olduğunu bildirmiştir. Bu tez çalışması kapsamında sonuçların insan NTD patogenezi temsil etmesi için insan NTD dokusu kullanılmıştır. Dolayısıyla bu tez çalışması sonuçlarının klinik NTD'yi temsil etme açısından potansiyellerinin yüksek olabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Monsonago-Ornan ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada, kuş embriyolarındaki NC hücrelerinin aldığı dokuda laminin ve E-kaderin gibi ECM bileşenlerini parçalayarak NCC hücrelerinin ayrışmasında ve göçünde MMP-9 ekspresyon artışının önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da NTD'de patolojik bölgenin üstünü örten kesede MMP-2 ve -9 ekspresyonlarının hastanın periferik kan örneğine göre arttığı saptanmıştır. Bu tez çalışmamızda elde edilen sonuçlarımıza göre artmış MMP-9 ekspresyonunun nöral tüpe ait zar dokusunda ECM yapısını parçalayarak hücrelerin polaritesini bozduğu, hücrelerin birbirlerine tutunmasını engellediği böylece de hücre göçünü ve doku bütünlüğünün oluşmasını inhibe ettiği düşünülmektedir. Bu açıdan tez çalışmamızın sonuçları Monsonago-Ornan ve ark. (2012)'nin sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir. Ancak Monsonago-Ornan

ve ark. (2012)'nin kuş embriyosunda MMP-9 ekspresyon araştırması yaptığı dikkate alınmalıdır.

Golubkov ve ark., (2010) tarafından Zebra balığında yapılan çalışmada Mebran Tip 1-MMP (MT1-MMP)'in hücre polarite proteinlerinden olan Protein-Kinaz 7(PTK-7)'yi parçaladığı ve vertebralarda MT1-MMP-PTK7 yolağının hücre invazyon ve normal embriyogenezde etkili rol oynadığını bildirmiştir. Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlarla da, MMP ekspresyon artışının hücre polaritesini tayin eden proteinlerin parçalanmasına neden olabileceği böylece hücre göç davranışlarının bozulabileceği ve NT kapanma sürecinin engellenebileceği düşünülebilir. Bu bilimsel yaklaşımın açıklanması ve doğrulanması için insan NTD dokuları üzerinde detaylı bir biçimde ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Tez çalışması sonucumuz MMP'lerin NTD sürecinde rol oynayabileceğini göstererek yeni aday moleküler hedef(ler) belirlemiştir.

Kessenbrock ve ark.(2013) tarafında yapılan çalışmada hücrede fizyolojik ve patolojik birçok fonksiyona katkı sunan MMP'lerin kanser hücrelerinin invazyonu ve metaztazi dışında proteolitik olmayan ve hücre yaşamını etkileyen yolaklarda da rol aldığı bildirilmiştir. Dolayısıyla, MMP'ler yalnızca proteolitik yolak üzerinden değil proteolitik olmayan diğer yolaklar üzerinden NTD sürecinde etkin rol alabilirler. Bu tez çalışması sonuçlarında saptanan MMP'lerin aşırı ekspresyonları proteolitik olmayan yolaklar üzerinden NTD gelişimine yol açmış olabilir. Bunun doğrulanması için de detaylı araştırmalara gerek duyulmaktadır.

Sonuç olarak, bu tez çalışması, NTD'nin Ca^{+2} , B12 ve folat düzeyleri ile ilişkisinin olmadığını göstermekle birlikte,

- İnsana ait NTD patogenezi çalışmalarında periferik kan yerine NTD dokusu kullanılması gerektiğini,
- MMP gen ekspresyonlarının NTD'ye neden olabileceğini,
- MMP-1,-2,-9 gen ekspresyonunun NTD dokularında değiştiğini,
- MMP-1 ve -9'un genel olarak NTD dokusunda arttığını ve NTD gelişiminde rol alabileceğini gösteren ilk çalışmadır.

6. KAYNAKÇA

Agnoli AL, Laun A, Schönmayr R. Enterogenous intraspinal cysts. J Neurosurg. 1984 Nov;61(5):834-40.

Aksun, S.A., Özmen, D. and Bayındır, O. Metalloproteinazlar, inhibitörleri ve ilişkili fizyolojik ve patolojik durumlar. Türkiye Klinikleri Journal Medicine Science, 21(4),332-42, 2001.

Aloulou H, Chaari W, Khanfir S, Zroud N, Kammoun TH, Abdelmoula M, Hachicha M. [Aplasia cutis congenita of the scalp (5 observations)]. Arch Pediatr. 2008 Apr;15(4):382-7.

Arai Y, Yamauchi Y, Tsuji T, Fukasaku S, Yokota R, Kudo T. Spinal neurenteric cyst. Report of two cases and review of forty-one cases reported in Japan. Spine (Phila Pa 1976). 1992 Nov;17(11):1421-4.

Au K.S., Koch A.A., Northrup H. Epidemiologic and genetic aspects of spina bifida and other neural tube defects. Developmental disabilities, 16: 6-15., 2010.

Aydınlı K, Çağdaş A, Kayserili H, Kuseyri F, Tükel T, Erİş H, ve ark. Prekonsepsiyonel Folik Asit ve Multivitamin Tedavisinin Nonsendromik Nöral Tüp Defektlerinin Yineleme Riski Üzerine Etkisi. J Gynecol Obs. 9(3);183-9,1999.

Balci S, Tekşen F, Dökmeci F, Cengiz B, Cömert RB, Can B, Ozdamar S. Prenatal diagnosis of Meckel-Gruber syndrome and Dandy-Walker malformation in four consecutive affected siblings, with the fourth one being diagnosed prenatally at 22 weeks of gestation. Turk J Pediatr. 2004 Jul-Sep;46(3):283-8.

Bannister CM, Russell SA, Rimmer S, Thorne JA, Hellings S. Can prognostic indicators be identified in a fetus with an encephalocele? Eur J Pediatr Surg. 2000 Dec;10 Suppl 1:20-3.

Barkovich AJ, Edwards M SB, Cogen PH: MR evaluation of spinal dermal sinüs tracts in children. AJNR 12: 123-129, 1991

Barkovich AJ, Naidcih TP: Congenital anomalies lof the spine. Barkovich AJ (ed), Pediatric Neuroimaging, New York: Raven Press, 1990: 227-271

Baykaner, Erşahin, Mutluer, Özek. Pediatrik Nöroşirürji. Türk Nöroşirürji Derneği Yayınları No: 15, 2014, 247

Baykaner, Erşahin, Mutluer, Özek. *Pediatric Neurosurgery*. Türk Nöroşirürji Derneği Yayınları No: 15, 2014, 368

Baykaner, Erşahin, Mutluer, Özek. *Pediatric Neurosurgery*. Türk Nöroşirürji Derneği Yayınları No: 15, 2014,246

Beaudeau JL, Giral P, Bruckert E, Foglietti MJ, Chapman MJ. Matrix metalloproteinases, inflammation and atherosclerosis: Therapeutic perspectives. *Clin Chem Lab Med* 2004;42:121-31.

Beksaç MS, Demir N, Koç A, et al. Prenatal tanıda biyokimyasal yöntemler. *Maternal-Fetal Tıp & Perinatoloji Ders Kitabı* 2001, s.202-206

BENDA CE. The Dandy-Walker syndrome or the so-called atresia of the foramen Magendie. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1954 Jan;13(1):14-29.

Berg KF, Oppen ACCV, Holthe W, Schielen PCJI, et al. Neural tube defects associated with prenatal exposure to antiepileptic drugs. *Reproductive Toxicology* 2007; 24 :57–80

Bharti G, Groves L, David LR, Sanger C, Argenta LC. Aplasia cutis congenita: clinical management of a rare congenital anomaly. *J Craniofac Surg*. 2011 Jan;22(1):159-65.

Birkedal-Hansen H., Moore W.G.I., Bodden M.K., Windsor L.J., Birkedal-Hansen B., DeCarlo A. and Engler J.A.: Matrix Metalloproteinases: A Review: *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*.: 4(2): 197-250 (1993)

Blavier L, Lazaryev A, Groffen J, Heisterkamp N, DeClerck YA, Kaartinen V. TGF-beta3-induced palatogenesis requires matrix metalloproteinases. *Mol Biol Cell*. 2001 May;12(5):1457-66.

Borkakoti N. Matrix metalloproteases: variations on a theme. *Prog Biophys Mol Biol*. 1998;70:73-94.

Bosman F and Stamenkovic I. Functional structure and composition of the extracellular matrix. *Journal of Pathology*, 2003; 200:423-428.

Bower C., Eades S., Payne J., D'Antoine H., Stanley F. Trends in neural tube defects in western australia in indigenous and non-indigenous populations. *Pediatric and Perinatal Epidemiology*, 8:277-280. 2004.

Bradford DS, Heithoff KB, Cohen M. Intraspinal abnormalities and congenital spine deformities: a radiographic and MRI study. *J Pediatr Orthop.* 1991 Jan-Feb;11(1):36-41.

Busby A., Abramsky L., Dolk H., Armstrong B. Preventing neural tube defect in Europe: population based study. *BMJ*, 330(12):574-575. 2005.

Cai, D.H., Vollberg Sr., T.M., Hahn-Dantona, E., Quigley, J.P., Brauer, P.R., 2000. MMP-2 expression during early avian cardiac and neural crest morphogenesis. *Anat. Rec.* 259, 168–179

Campbell SK. *Decision Making in Pediatric Neurologic Physical Therapy.* A Division of Harcourt Brace & Company, Philadelphia, 1999: 198-235.

Candito M, Houcher B, Boisson C, et al. Neural tube defects and vitamin B12: a report of three cases. *Ann Biol Clin* 2004; 62(2): 235-8

Caruso PA, Robertson R, Setti B, Grant E: Disorders of brain development. Atla SW (ed, *Magnetic Resonance Imaging of the Brain and Spine.* Cilt 1, Philadelphia: Wolters Kluwert/Lippincott Williams and Wilkins: 194-271, 2009

Cephalic disorders-Overview, Anencephaly, Colpocephaly-neurologychannel". "Anencephaly Information Page: National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS)" Archived from the original on 9 May 2008. Retrieved May 2008.

Cetinkal A, Colak A, Topuz K, Demircan MN, Simsek H, Berber U, Umur AS, Selcuki M, Vatansever HS. The effects of meloxicam on neural tube development in the early stage of chick embryos. *Turk Neurosurg.* 2010 Apr;20(2):111-6.

Chakraborti, S., Mandal, M., Das, S., Mandal, A. and Chakraborti, T. (2003). Regulation of matrix metalloproteinases: an overview. *Molecular and Cellular Biochemistry*, Nov, 253(1-2), 269-85.

Chang JH, Huang YH, Cunningham CM, Han KY, Chang M, Seiki M, Zhou Z, Azar DT. Matrix metalloproteinase 14 modulates signal transduction and angiogenesis in the cornea. *Surv Ophthalmol.* 2016 Jul-Aug;61(4):478-97.

Cherian A., Seena S., Bullock R.K., Antony A.C. Occurrence of neural tube defects in the least-developed area of India: a population-based study. *The Lancet*, 366: 930-931. 2005.

Christian L, Bahudhanapati H, Wei S. Extracellular metalloproteinases in neural crest development and craniofacial morphogenesis. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2013 Nov-Dec;48(6):544-60.

Clark, I.M. (2001). *Matrix metalloproteinase protocols.* New Jersey: Humana Press

Clark, I.M. (2010). *Matrix metalloproteinase protocols (Second Edition).* London: Humana Press Inc.

Clendeninn, N.J., Appelt, K. (2001). *Matrix metalloproteinase inhibitors in cancer therapy.* New Jersey: Humana Press Inc.

Clendeninn, N.J., Appelt, K. (2001). *Matrix metalloproteinase inhibitors in cancer therapy.* New Jersey: Humana Press Inc.

Clomiphene Citrate. *Drug Saf.* 2017 Sep;40(9):761-769.

Cohen AR, Robinson S: Early management of meningomyelosele. McLone DG (ed), *Pediatric Neurosurgery, Surgery of the Developing Nervous System, Fourth Ed.,* WB Saunders Company, 2001: 241-260

Colas JF, Schoenwolf GC: Towards a cellular and molecular understanding of neurulation. *Dev Dyn* 22 (2):117-145, 2001

Conant, K. Gottschall, P.E. *Matrix metalloproteinases in the central nervous systems.* London: Imperial College Press. 2005.

Copp AJ, Greene ND. Neural tube defects--disorders of neurulation and related embryonic processes. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol.* 2013 Mar-Apr;2(2):213-27.

Coussens, L.M., Werb, Z., 2002. Inflammation and cancer. *Nature* 420, 860–867

Cui N, Hu M, Khalil RA. Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017;147:1-73.

Curran S. and Murray GI: Matrix metalloproteinases in tumour invasion and metastasis. *J. Pathol.*: 189(3):300-8; 1999.

Czeizel AE, Dudas I: Prevention of the first occurrence of neural tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *N Engl J Med* 327: 1832-1835, 1992

Çolak A, Özcan OE, Erbeni A: Diastematomyelia in pediatric age. A retrospective study of cases. J Pediatr Neurosci 4: 296-300, 1988

Dalal A, Pradhan M, Tiwari D, Behari S, Singh U, Mallik GK, Das V, Agarwal S. MTHFR 677C-->T and 1298A-->C polymorphisms: evaluation of maternal genotypic risk and association with level of neural tube defect. Gynecol Obstet Invest. 2007;63(3):146-50.

Dandy WE, Blackfan KD: internal hydrocephalus.an experimental, clinical and pathological study. Am J Dis Child (8): 406-482, 1914

Dias MS, McLone DG: Normal and Abnormal development of nervous system, . McLone DG (ed), Pediatric Neurosurgery, Surgery of the Developing Nervous System, Fourth Ed.,WB Saunders Company, 2001: 31-71

Dias MS: Myelomeningocele. McChoux, C Di Rocco, AD Hockley, ML Walker (eds), Pediatric Neurosurgery, Churchill Livingstone, 1999: 33-60.

Dinç, M. (2012). *Ailesel Akdeniz Ateş'li hastalarda serum matriks metalloproteinazlarının önemi*. Tıpta Uzmanlık Tezi. GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi İç Hastalıkları Servis Şefliği, İstanbul.

Docherty JG, Daly JC, Carachi R. Encephaloceles: a review 1971-1990. Eur J Pediatr Surg. 1991 Dec;1 Suppl 1:11-3.

Duru S, Türkoğlu E: Miyelomeningosel Türk Nöroşirürji Dergisi 2013, Cilt: 23, Sayı: 2, 226-232

Eckmann-Scholz C, Bens S, Kolarova J, Schneppenheim S, Caliebe A, Heidemann S, von Kaisenberg C, Kautza M, Jonat W, Siebert R, Ammerpohl O. DNA-methylation profiling of fetal tissues reveals marked epigenetic differences between chorionic and amniotic samples. PLoS One. 2012;7(6):e39014.

Elliott L. Mancall, David. G. Brock, *GRAY'S Clinical Neuroanatomy The Anatomic Basis for Clinical Neuroscience, 2011*

Elton S, Oakes WJ. Dermal sinus tracts of the spine. Neurosurg Focus. 2001 Jan 15;10(1):e4.

Elwood JM, Little J, Elwood JH. Epidemiology and control of neural tube defects. Oxford (UK): Oxford University Press; 1992: 442-444

Endo M, Nishita M, Fujii M, Minami Y. Insight into the role of Wnt5a-induced signaling in normal and cancer cells. Int Rev Cell Mol Biol. 2015;314:117-48.

Erşahin Y, Barçin E, Mutluer S. Is meningocele really an isolated lesion? Childs Nerv Syst. 2001 Aug;17(8):487-90.

Erşahin Y, Mutluer S, Kocaman S, Demirtaş E: Split spinal cord malformations in children. J Neurosurg 88: 57-65, 1998

Eser B. Primer sjögren sendromlu hastalarda matriks metalloproteinaz 13 (MMP-13) düzeylerinin hastalık aktivitesi ile ilişkisi.Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya (Tıp) Anabilim Dalı, Ankara, 2017

Fang Y, Zhang R, Zhi X, Zhao L, Cao L, Wang Y, Cai C. Association of main folate metabolic pathway gene polymorphisms with neural tube defects in Han population of Northern China. Childs Nerv Syst. 2018 Apr;34(4):725-729.

Feldman JG, Stein SC, Klein RJ, et al. The prevalence of neural tube defects among ethnic groups in Brooklyn, New York. J Chron Dis 1982; 35:53-60

Fernandez-Patron, C., Zouki, C., Whittal, R.M., Chan, J.S., Davidge, S.T. and Filep, J. (2002). Methods for Analysis of Matrix Metalloproteinase Regulation of Neutrophil-Endothelial Cell Adhesion. *Biological Proced Online*, 28(4),38-48.

Filly RA, Callen PW, Goldstein RB. Alpha-fetoprotein screening programs: what every obstetric sonologist should know. Radiology. 1993 Jul;188(1):1-9.

Findley TO, Tenpenny JC, O'Byrne MR, Morrison AC, Hixson JE, Northrup H, Au KS. Mutations in folate transporter genes and risk for human myelomeningocele. Am J Med Genet A. 2017 Nov;173(11):2973-2984.

Fishman MA (2000) Birth defects and supplemental vitamins, Cur Treat Options Neurol, (2):117-122.

Fortuna A, Mercuri S. Intradural spinal cysts. Acta Neurochir (Wien). 1983;68(3-4):289-314.

Fraser J: Spina Bifida . Edinb Med J 36: 284, 1929

French BN. Midline fusion defects and defects of formation. Youmans JR (ed) Neurological Surgery, 3. th edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1990: 1081-1095.

French BN: Midline fusion defects and defects of formation. Youmans JR (ed), Neurological Surgery, 3. Baskı, Philadelphia: WB Saunders: 1081-1235,1990

Frey L, Hauser AW. Epidemiology of Neural Tube Defects. *Epilepsia* 2003; 44(3): 4-13

Fuchs HE. Congenital abnormalities. Sabiston DC (ed). *Textbook of Surgery*, 15. th edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1997: 1374-1381

Fuchs HE. Congenital abnormalities. Sabiston DC (ed). *Textbook of Surgery*, 15. th edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1997: 1374-1381.

Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: The good, the bad, and the ugly. *Circ Res* 2002;90:251-62.

GARCEAU GJ. The filum terminale syndrome (the cord-traction syndrome). *J Bone Joint Surg Am.* 1953 Jul;35-A(3):711-6.

Garcia-Touchard A, Henry TD, Sangiorgi G, et al. Extracellular proteases in atherosclerosis and restenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25: 1119-27.

Gokay H, Barlas O, Hepgul KT, Hiçdonmez T. Tethered cord in the adult mimicking the lumbar disc syndrome: report of two cases. *Surg Neurol.* 1993 Jun;39(6):440-2.)

Golalipour M.J., Mobasheri E., Vakili M.A., Keshtkar A.A. Epidemiology of neural tube defects in northern Iran, 1998-2003. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 13(3): 560-566. 2007.

Goldstein RB, Filly RA, Callen PW. Sonography of anencephaly: pitfalls in early diagnosis. *J Clin Ultrasound* 1989; 17(6): 397-402.

Golubkov VS, Chekanov AV, Cieplak P, Aleshin AE, Chernov AV, Zhu W, Radichev IA, Zhang D, Dong PD, Strongin AY. The Wnt/planar cell polarity protein-tyrosine kinase-7 (PTK7) is a highly efficient proteolytic target of membrane type-1 matrix metalloproteinase: implications in cancer and embryogenesis. *J Biol Chem.* 2010 Nov 12;285(46):35740-9.

Gomez D.E., Alonso D.F., Yoshiji H. and Thorgeirsson U.P.: Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. *Eur. J. Cell Biol.*: 74(2):111-22; 1997.

Gottlieb B, Chalifour LE, Mitmaker B, Sheiner N, Obrand D, Abraham C, Meilleur M, Sugahara T, Bkaily G, Schweitzer M. BAK1 gene variation and abdominal aortic aneurysms. *Hum Mutat.* 2009 Jul;30(7):1043-7.

Gökalp H.Z, Erongun U. Spinal disrafizm. Nöroşirürji ders kitabı 1988. s.295-313.

Greenlee, K.J., Werb, Z. and Kheradmand, F. (2007). Matrix Metalloproteinases in Lung: Multiple, Multifarious, and Multifaceted. *Physiol Revive*, 87(1), 69-98

Gross J, Lapiere CM. Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1962;48: 1014–1022.

Gross J, Lapiere CM. Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1962;48: 1014–1022.

Güner G. Bölüm 20 Bağ dokusu proteinleri. In: Onat T, Emerk K. editors. *Temel Biyokimya*, Birinci baskı, Ankara, 1996, 826-863.

Güvenc H., Uslu M.A., Güvenç M., Ozekici U., Kocabay K., Bektağ S. Changing trend of neural tube defects in eastern Turkey. *J Epidemiol Community Health*, 47(1):40-1. 1993

Güzel, S. (2008). *Akut miyokard infarktüsünde serum matriks metalloproteinaz9 düzeyleri*. Uzmanlık Tezi, Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya, İstanbul.

Hall WA, Albright AL, Brunberg JA. Diagnosis of tethered cords by magnetic resonance imaging. *Surg Neurol*. 1988 Jul;30(1):60-4.

Harris HH, Foucar E, Andersen RD, Ray TL. Intrauterine herpes simplex infection resembling mechanobullous disease in a newborn infant. *J Am Acad Dermatol*. 1986 Nov;15(5 Pt 2):1148-55.

Heiss JD, Patronas N, DeVroom HL, Shawker T, Ennis R, Kammerer W, Eidsath A, Talbot T, Morris J, Eskioglu E, Oldfield EH. Elucidating the pathophysiology of syringomyelia. *J Neurosurg*. 1999 Oct;91(4):553-62.

Hemminki K, Mutanen P, Saloniemi I, et al. Congenital malformations and maternal occupation in Finland: multivariate analysis. *J Epidemiol Community Health* 1981;35:5-10

Hendrick EB, Hoffman HJ, Humphreys RP. The tethered spinal cord. *ClinNeurosurg*. 1983;30:457-63.

Herman JM, McLone DG, Storrs BB, Dauser RC. Analysis of 153 patients with myelomeningocele or spinal lipoma reoperated upon for a tethered cord. Presentation, management and outcome. *Pediatr Neurosurg.* 1993 Sep-Oct;19(5):243-9.

Hertwig O: Urmund und spina bifida. *Arch Mikr Anat* 39: 353, 1892

Higashi S, Takinami K, Yamashita J. Occipital dermal sinus associated with dermoid cyst in the fourth ventricle. *AJNR Am J Neuroradiol.* 1995 Apr;16(4 Suppl):945-8.

Hoekstra R, Eskens FA, Verweij J. Matrix metalloproteinase inhibitors: Current developments and future perspectives. *Oncologist* 2001;6:415-27.

Hoving EW. Nasal encephaloceles. *Childs Nerv Syst.* 2000 Nov;16(10-11):702-6.

Hudgins RJ, Boydston WR. Bone regrowth and recurrence of symptoms following decompression in the infant with Chiari II malformation. *Pediatr Neurosurg.*1995;23(6):323-7.

Ingraham CA, Park GC, Makarenkova HP, Crossin KL. Matrix metalloproteinase (MMP)-9 induced by Wnt signaling increases the proliferation and migration of embryonic neural stem cells at low O₂ levels. *J Biol Chem.* 2011 May 20;286(20):17649-57.

Inoue HK, Kobayashi S, Ohbayashi K, Kohga H, Nakamura M. Treatment and prevention of tethered and retethered spinal cord using a Gore-Tex surgical membrane. *J Neurosurg.* 1994 Apr;80(4):689-93.

Japanese Teratology Society. Proposal for supplemental intake of folic acid to reduce the risk of neural tube defects. *Congenit Anom.* 57(2);44, 2017.

Kadanalı. S. Uzmanlık Tezi. Türkiye’de Nöral Tüp Defekti İnsidansı. 1992

Kanev PM, Park TS. Dermoids and dermal sinus tracts of the spine. *Neurosurg Clin N Am.* 1995 Apr;6(2):359-66.

Kapoor, C., Vaidya, S., Wadhwan, V., Hitesh, Kaur, G. and Pathak, A. (2016) Seesaw of matrix metalloproteinases (MMPs). *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 12(1), 28-35.

Kavak ZN, Ceyhan N, Yalçın Ş, Pekin S. Sjögren Sendromu ve Anensefali. *Turkiye Klinikleri J Gynecol Obst* 1996; 6(3): 233-235.

Keleş D. (2009). *Kolorektal kanser hastalarında kazein zimografi ve in situ kazein zimografi yöntemi ile matriks metalloproteinaz-7 aktivitesinin ve lokalizasyonunun belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir.

Kessenbrock K, Dijkgraaf GJ, Lawson DA, Littlepage LE, Shahi P, Pieper U, Werb Z. A role for matrix metalloproteinases in regulating mammary stem cell function via the Wnt signaling pathway. *Cell Stem Cell*. 2013 Sep 5;13(3):300-13.

Khoury AE, Hendrick EB, McLorie GA, Kulkarni A, Churchill BM. Occult spinal dysraphism: clinical and urodynamic outcome after division of the filum terminale. *J Urol*. 1990 Aug;144(2 Pt 2):426-8

Kim CS, Tatum SA, Rodziewicz G. Scalp aplasia cutis congenita presenting with sagittal sinus hemorrhage. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2001 Jan;127(1):71-4.

Kinsman, SL; Johnston, MV (2007). "Chapter 592: Congenital anomalies of the central nervous system". In Kliegman, RM; Behrman, RE; Jenson, HB. *Nelson Textbook of Pediatrics* (18th ed.). Philadelphia, PA: Saunders Elsevier. ISBN 1-4377-0755-6.

Koçak A, Kiliç A, Nurlu G, Konan A, Kiliç K, Cirak B, Colak A. A new model for tethered cord syndrome: a biochemical, electrophysiological, and electron microscopic study. *Pediatr Neurosurg*. 1997 Mar;26(3):120-6.

Kosnik EJ, Sayers MP. Congenital scalp defects: aplasia cutis congenita. *J Neurosurg*. 1975 Jan;42(1):32-6.

Kothbauer K, Schmid UD, Seiler RW, Eisner W. Intraoperative motor and sensory monitoring of the cauda equina. *Neurosurgery*. 1994 Apr;34(4):702-7; discussion 707.

Kuzuya M, Iguchi A. Role of matrix metalloproteinases in vascular remodeling. *J Atheroscler Thromb* 2003;10:275-82.

Lagente, V., Boichot, E. *Matrix metalloproteinases in tissue remodelling and inflammation*. Berlin: Birkhäuser Verlag AG. 2008.

Lambert E, Dasse E, Haye B, Petitfrere E. TIMPs as multifacial proteins. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004; 49:187-98.

Larsen WJ: Human Embryology, 2nd Ed., New York: Churchill Livingstone, 1997: 19-106

Lassman LP, Sims DG. Congenital midline scalp and skull defect. Arch Dis Child. 1975 Dec;50(12):958-60.

Lekea V., Tzoumaka-Bakoula C., Golding J. Incidence of anencephalus and spina bifida in Greece. Teratology, 38(4): 347-9. 1988.

Lemire RJ, Loeser JD, Alvord EC Jr: Normal and abnormal development of the human nervous system. Hagerstown MD: Harper and Row, 71-83, 1975

Li Z., Ren A., Zhang L., Ye R., Li S., Zheng J., Hong S., Wang T. Extremely high prevalence of neural tube defects in a 4 country area in shanxi province, China. Birth Defects Research, 76(part a): 237-240. 2006.

Libby P, Lee RT. Matrix matters. Circulation 2000;102: 1874-6.

Lin KL, Wang HS, Chou ML, Lui TN. Sonography for detection of spinal dermal sinus tracts. J Ultrasound Med. 2002 Aug;21(8):903-7.

Lippman CR, Arginteanu M, Purohit D, Naidich TP, Camins MB. Intramedullary neurenteric cysts of the spine. Case report and review of the literature. J Neurosurg. 2001 Apr;94(2 Suppl):305-9.

Liu J, Khalil RA. Matrix Metalloproteinase Inhibitors as Investigational and Therapeutic Tools in Unrestrained Tissue Remodeling and Pathological Disorders. Prog Mol Biol Transl Sci. 2017;148:355-420.

Löffek, S., Schilling, O. and Franzke, C.W. (2011). Biological role of matrix metalloproteinases: a critical balance. European Respiratory Journal, 38, 191-208.

Lutkenhoff M. Children with Spina Bifida A Parent's Guide. Bethesda 1999: 405.

Malemud, C.J., 2006. Matrix metalloproteinases (MMPs) in health and disease: an over-view. Front. Biosci. 11, 1696-1701

Martínez-Lage JF, Almagro MJ, López Hernández F, Poza M. Aplasia cutis of the scalp. Childs Nerv Syst. 2002 Nov;18(11):634-7; discussion 638. Epub 2002 Sep 10.

Martinez-Regueira S, Vazquez-Lopez ME, Somoza-Rubio C, Morales-Redondo R, Gonzalez-Gay MA. Aplasia cutis congenita in a defined population from northwest Spain. *Pediatr Dermatol.* 2006 Nov-Dec;23(6):528-32.

Massova I, Kotra LP, Fridman R, Mobashery S. Matrix metalloproteinases: Structures, evolution, and diversification. *FASEB J* 1998;12:1075-95.

McLendon RE, Oakes WJ, Heinz ER, Yeates AE, Burger PC. Adipose tissue in the

McLone DG, Suwa J, Collins JA, Poznanski S, Knepper PA: Neurotation: Biochemical and morphological studies on primary and secondary neural tube defects. *Concepts Pediatr Neurosurg* 4: 15-29, 1983

McLone DG: Care of the neonate with a myelomeningocele. *Neurosurg Clin N Am* 9: 111-120,1998

Mitchell LE, Adzick SN, Melchionne J, et al. Spina bifida. *Lancet* 2004; 364:1885-95

Miyamoto S, Katz BZ, Lafrenie RM and Yamada KM. Fibronectin and integrins in cell adhesion, signalling and morphogenesis. *Ann. Acad Sci*, 1998; 857:119-129.

Monsonego-Ornan E, Kosonovsky J, Bar A, Roth L, Fraggi-Rankis V, Simsa S, Kohl A, Sela-Donenfeld D. Matrix metalloproteinase 9/gelatinase B is required for neural crest cell migration. *Dev Biol.* 2012 Apr 15;364(2):162-77.

Moore KL: *The developing human : Clinically Oriented Embryology.* Persaud TVN (ed), 8th Ed., Saunders Elsevier, 2008: 380-416

Moretti ME, Bar-Oz B, Fried Set all. Maternal hypertermia and the risk for neural tube defects in offspring. *Epidemiology* 2005;16: 216-219

Motohashi O, Shirane R, Ogawa A, Yoshimoto T. Tethered cord syndrome associated with male Turner's syndrome. *Surg Neurol.* 1993 Jul;40(1):57-60.

Mott JD, Werb Z. Regulation of matrix biology by matrix metalloproteinases. *Curr Opin Cell Biol.* 2004;16(5):558–564.

MRC Vitamin Study Research Group. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet.* 338(8760):131–7,1991.

Muller F. Prenatal biochemical screening for neural tube defects, Childs Nerv Syst 2003; 19: 433-435

Munoz BJ, Lacasana M, Aburto BHV, et al. Socioeconomic Factors and The Risk of Anencephaly in a mexican population: A Case-control study. Public Health Rep 2005;120(1): 39-45.

Muraszko KM: Encephaloceles. Wilkins RH, Regnachary SS (ed), Neurusurgery, ikinci baskı, NewYork:McGraw-Hill, 1996: 3573-3579

Murphy G, Knäuper V. Relating matrix metalloproteinase structure to function: why the "hemopexin" domain? Matrix Biol. 1997 Mar;15(8-9):511-8.

Murphy, G., Knäuper, V., Atkinson, S., Butler, G., English, W., Hutton, M., Stracke, J. and Clark, I. (2002). Matrix metalloproteinases in arthritic disease. Arthritis Research, 4 (suppl 3), S39-S49.

Murphy, G., Nagase, H.: Progress in matrix metalloproteinase research.Molecular Aspects of Medicine, 29, 290-308. 2008.

Murray LK, Smith MJ, Jadavji NM. Maternal oversupplementation with folic acid and its impact on neurodevelopment of offspring. Nutr Rev. 2018 Jul 13.

Nagase H, Woessner JFJr. Matrix metalloproteinases. J Biol Chem 1999; 274:21491- 4.

Naidich TP, Altman NR, Braffman BH, McLone DG, Zimmerman RA. Cephaloceles and related malformations. AJNR Am J Neuroradiol. 1992 Mar-Apr;13(2):655-90.

Nas. K.: *Psoriatik artritli hastalarda matriks metalloproteinazların sitokin ve kemokinler ile ilişkisi*. Doktora tezi, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıklar (İmmünoloji) Anabilim Dalı, Diyarbakır. 2015.

Nelson A.R., Fingleton B., Rothenberg M.L. and Matrisian L.M.: Matrix metalloproteinases: biologic activity and clinical implications. J. Clin. Oncol.: 18(5):1135-49; 2000.

Nevin NC, Johnston WP, Merrett JD. Influence of social class on the risk of recurrence of anencephalus and spina bifida. Dev Med Child Neurol 1981;23: 155-159

NEW GB, ERICH JB. An acrylic obturator employed in the repair of an obstructed frontonasal duct. Arch Otolaryngol. 1947 Feb;45(2):209-14.

Neyzi O, Ertuğrul T. Merkezi sinir sisteminin gelişim bozuklukları. *Pediatric* cilt 2. 2002 3.Baskı (Ed): Apak S. s.1338-1341

Nikkila A., Rydhström H., Kallen B. The incidence of spina bifida in Sweden 1973- 2003: The effect of prenatal diagnosis. *European Journal of Public Health*, 16(6): 660- 662. 2006.

Nikolopoulou E, Galea GL, Rolo A, Greene ND, Copp AJ. Neural tube closure: cellular, molecular and biomechanical mechanisms. *Development*. 2017 Feb 15;144(4):552-566.

Northrup H, Volcik KA. Spina bifida and other neural tube defects. *Curr Probl Pediatr* 2000; 30: 313-332.

Okada, Y. *Kelley and firestein's textbook of rheumatology* (Tenth Edition). Philadelphia: Elsevier. Chapter 8: 106-125. 2016.

Okuda Y, Oi S. Nasal dermal sinus and dermoid cyst with intrafacial extension. Case report and review of literature. *Childs Nerv Syst*. 1987;3(1):40-3.

Ollivier CP: *Traites des maladies de la moelle epiniere*. Paris: Mequigno-Marvis, 3d ed. Vol. 1, 1937

O'Neill P, Singh J. Occult spinal dysraphism in children: need for early neurosurgical referral. *Childs Nerv Syst*. 1991 Oct;7(6):309-11.

Opdenakker G., Van den Sten P.E., Dubois B., Nelissen I., Coillie E.V., Masure S., Proost P., and Damme J.V.: Gelatinase B functions as regulator and effector in leukocyte biology. *J. Leukoc. Biol.*: 69: 851.859; 2001

Overall, C.M. (2002). Molecular determinants of metalloproteinase substrate specificity. *Molecular Biotechnology*, 22(1), 51-86.

Öncel, M. (2012). Matriks metalloproteinazlar ve kanser. *European Journal of Basic Medical Sciences*, 2(3), 91-100.

Özaras N, Çabukoğlu C, Erol B. Genel kavramlar. Özek MM. Sinir sistemi sorunları. Tarcan T, İlker Y. Ürolojik sorunlar. Özaras N, Yalçın S (ed). *Spina Bifida Tedavi ve Rehabilitasyon*, 2000: 1-114.

Öztürk, Ö.G. (2013). Matriks metalloproteinaz enzim ailesi. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 22(2), 209-220.

Paleologos TS, Thom M, Thomas DG. Spinal neurenteric cysts without associated malformations. Are they the same as those presenting in spinal dysraphism? Br J Neurosurg. 2000 Jun;14(3):185-94.

Pang D, Dias MS, Ahab-Barmada M: Split cord malformation: Part I: A unified theory of embryogenesis for double spinal cord malformations. Neurosurgery 31: 451-480, 1992

Pang D: Split cord malformation: Part II: Clinical syndrome. Neurosurgery 31: 481-500, 1992

Park TS: Myelomeningocele. Albright L, Pollack I, Adelson D (ed), Principles and Practice of Pediatric Neurosurgery, New York: Thieme Medical Publishers Inc., 1999: 291-418

Parks, W.C., Mecham, R.P. (1998). *Matrix metalloproteinases*. USA: Academic Press.

Partington MD, Petronio JA: Malformations of the cerebral hemispheres. McLone DG (ed), Pediatric Neurosurgery, 4. Baskı, Philadelphia: WB Saunders, 2001: 201-208

Persaud M: İnsan Embriyolojisi. Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H (eds), 6. Baskı, İstanbul: Nöbel Tıp Kitabevi, 2002: 17-47

Phatharajaree W, Phrommintikul A, Chattipakorn N. Matrix Metalloproteinases And Myocardial infarction: Review. Can J Cardiol 2007;23:9;727-733

Pollack IF, Pang D, Albright AL, Krieger D. Outcome following hindbrain decompression of symptomatic Chiari malformations in children previously treated with myelomeningocele closure and shunts. J Neurosurg. 1992 Dec;77(6):881-8.

Polo A, Zanette G, Manganotti P, Bertolasi L, De Grandis D, Rizzuto N. Spinal somatosensory evoked potentials in patients with tethered cord syndrome. Can J Neurol Sci. 1994 Nov;21(4):325-30.

Polo A, Zanette G, Manganotti P, Bertolasi L, De Grandis D, Rizzuto N. Spinal somatosensory evoked potentials in patients with tethered cord syndrome. Can J Neurol Sci. 1994 Nov;21(4):325-30./// Schneider SJ ve ark, 1993

Qin P, Li L, Zhang D, Liu QL, Chen XR, Yang HY, Fan Y, Wang JX. Preliminary investigation of methylation status of microRNA-124a in spinal cords of rat fetuses with congenital spina bifida. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017 Jan;30(1):23-28.

Rao MB, Rout D, Misra BK, Radhakrishnan VV. Craniospinal and spinal enterogenous cysts--report of three cases. *Clin Neurol Neurosurg.* 1996 Feb;98(1):32-6.

Rasmussen SA, Chu SY, Kim SY, Schmid CH, Lau J. Maternal obesity and risk of neural tube defects: a metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2008 Jun;198(6):611-9.

Ratliffe KT. *Clinical Pediatric Physical Therapy.* A Times Mirror Company, Philadelphia, 1998: 109-116.

Ray JG, Blom HJ. Vitamin B12 insufficiency and the risk of fetal neural tube defects. *Q J Med* 2003; 96: 289-295

Reel, B. Matriks metalloproteinaz enzimleri ve ateroskleroz. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 2006, 26.5: 527-537.

Rhee ST, Colville C, Buchman SR, Muraszko K. Complete osseous regeneration of a large skull defect in a patient with cutis aplasia: a conservative approach. *J Craniofac Surg.* 2002 Jul;13(4):497-500. Erratum in: *J Craniofac Surg* 2002 Sep;13(5):723.

Rhoads GG, Mills JL: Can vitamin supplements prevent neural tube defects. Current Evidence an Ongoing investigations. *Clin Obstetrics and Gynecology* 1986; 29:569-576

Rieder MJ: Prevention of neural tube defects with periconceptional folic acid. *Clin Perinatol* 21: 483-503, 1994

Rivera, S., Khrestchatisky, M., Kaczmarek, L., Rosenberg, G.A. and Jaworski, D.M. (2010). Metzincin Proteases and their Inhibitors, Foes or Friends in Nervous System Physiology?. *Neurosci*, 30(46), 15337–15357.

Riviérez M, Buisson G, Kujas M, Ridarch A, Mignon E, Jouannelle A, René-Corail P. Intramedullary neurenteric cyst without any associated malformation. One case evaluated by RMI and electron microscopic study. *Acta Neurochir (Wien).* 1997;139(9):887-90.

Rochtus A, Izzi B, Vangeel E, Louwette S, Wittevrongel C, Lambrechts D, Moreau Y, Winand R, Verpoorten C, Jansen K, Van Geet C, Freson K. DNA methylation analysis of Homeobox genes implicates HOXB7 hypomethylation as risk factor for neural tube defects. *Epigenetics*. 2015;10(1):92-101.

Roth L, Kalev-Altman R, Monsonego-Ornan E, Sela-Donenfeld D. A new role of the membrane-type matrix metalloproteinase 16 (MMP16/MT3-MMP) in neural crest cell migration. *Int J Dev Biol*. 2017;61(3-4-5):245-256.

Rothman KJ, Moore L, Singer RM, et al. Teratogenicity of high vitamin A intake, *The New England Journal of Medicine* 1993;333(21): 1369-1373

Rothman KJ, Moore LL, Singer MR, Nguyen US, Mannino S, Milunsky A. Teratogenicity of high vitamin A intake. *N Engl J Med*. 1995 Nov 23;333(21):1369-73.

Rougier A, Vital C, Caillaud P. Uterus-like mass of the conus medullaris with associated tethered cord. *Neurosurgery*. 1993 Aug;33(2):328-31

Rundhaug, J.E. (2005). Matrix metalloproteinases and angiogenesis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 9(2):267-85.

Sadler TW:Langman's Medikal Embriyoloji,Bşaklar AC(ed),7.Baskı,Ankara: Palme Yayıncılık,1996:39-88

Sagi, I., Gaffney, J.P. : *Matrix metalloproteinase biology*. New Jersey: Wiley-Blackwell. 2015.

Sahin F, Selçuki M, Ecin N, Zenciroğlu A, Unlü A, Yılmaz F, Maviş N, Saribaş S. Level of conus medullaris in term and preterm neonates. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1997 Jul;77(1):F67-9.

Samson G: The incidence and demography of neural tube defects in Abu Dhabi, United Arab Emirates (1992-1999). *Journal of Tropical Pediatrics*, 49(4): 256-257. 2003.

Sanjari R, Mortazavi SA, Amiri RS, Ardestani SH, Amirjamshidi A. Intrasphenoidal Meningoencephalocele: Report of two rare cases and review of literature. *Surg Neurol Int*. 2013; 4: 5. doi: 10.4103/2152-7806.106260.

Santos de Oliveira R, Barros Jucá CE, Lopes Lins-Neto A, Aparecida do Carmo Rego M, Farina J, Machado HR. Aplasia cutis congenita of the scalp: is there a better treatment strategy? *Childs Nerv Syst*. 2006 Sep;22(9):1072-9.

Sapunar D, Vilović K, England M, Saraga-Babić M. Morphological diversity of dying cells during regression of the human tail. *Ann Anat.* 2001 May;183(3):217-22.

Sasani M, Ozer AF: Chiari malformasyonu ve Sringomyeli. Zileli M, Ozer AF (eds), Omirilik ve Omurga Cerrahisi, cilt 1, 2002: 465-476

Scaparrotta A, Chiarelli F, Verrotti A. Potential Teratogenic Effects of

Schneider SJ, Rosenthal AD, Greenberg BM, Danto J. A preliminary report on the use of laser-Doppler flowmetry during tethered spinal cord release. *Neurosurgery.*1993 Feb;32(2):214-7; discussion 217-8.

Schoenwolf GC,Smith JL:Mechanism of neurulation.Traditional viewpoint and recent advances.*Development* 109(2):243-270,1990

Schwab, M. *Encyclopedia of cancer* (Third Edition). New York: SpringerVerlag Berlin Heidelberg . 2011.

Selçuki M, Coşkun K. Management of tight filum terminale syndrome with special emphasis on normal level conus medullaris (NLCM). *Surg Neurol.* 1998 Oct;50(4):318-22; discussion 322.

Selçuki M, Manning S, Bernfield M. The curly tail mouse model of human neural tube defects demonstrates normal spinal cord differentiation at the level of the meningomyelocele: implications for fetal surgery. *Childs Nerv Syst.* 2001 Jan;17(1-2):19-23.

Selçuki M, Unlü A, Uğur HC, Soygür T, Arikan N, Selçuki D. Patients with urinary incontinence often benefit from surgical detethering of tight filum terminale. *Childs Nerv Syst.* 2000 Mar;16(3):150-4; discussion 155.

Selçuki M, Vatansever S, Inan S, Erdemli E, Bağdatoğlu C, Polat A. Is a filum terminale with a normal appearance really normal? *Childs Nerv Syst.* 2003 Jan;19(1):3-10. Epub 2002 Nov 6.

Selçuki M, Vatansever S, Inan S, Sancı M, Sayhan S, Bağdatoğlu C. Neural tissue continues its maturation at the site of neural tube closure defects: implications for prenatal intervention in human samples. *Childs Nerv Syst.* 2004 May;20(5):313-20.

Selçuki M, Vatansever S, Umur AS, Temiz C, Sayin M. Apoptosis seems to be the major process while surface and neural ectodermal layers detach during neurulation. *Childs Nerv Syst.* 2008 May;24(5):577-80. Epub 2007 Nov 16.

Selçuki M, Manning S, Bernfield M: The curly tail mouse model of human neural tube defects demonstrates normal spinal cord differentiation at the level of the meningocele: Implications for fetal surgery. *Child's Nervous Syst* 17:19, 2001

Selçuki M: Spinal Orta Hat Birleşim Anomalileri. Kofralı E, Zileli M (ed), Temel Nöroşirürji, cilt 2, 1. Baskı, Ankara: Buluş, 2010: 1883-1897

Sgouros S, Williams B. A critical appraisal of drainage in syringomyelia. *J Neurosurg.* 1995 Jan;82(1):1-10.

Shackelford GD, Shackelford PG, Schwetschenau PR, McAlister WH. Congenital occipital dermal sinus. *Radiology.* 1974 Apr;111(1):161-6.

Shi, Y.B., Li, Q., Damjanovski, S., Amano, T. and Ishizuya-Oka, A. (1998). Regulation of Apoptosis During Development: Input From the Extracellular Matrix (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, 2 (3), 273-282.

Simpson DA, David DJ, White J. Cephaloceles: treatment, outcome, and antenatal diagnosis. *Neurosurgery.* 1984 Jul;15(1):14-21.

Simsa, S., Hasdai, A., Dan, H., Ornan, E.M., 2007b. Differential regulation of MMPs and matrix assembly in chicken and turkey growth-plate chondrocytes. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 292, R2216–R2224

Singh AK, Upadhyaya DN. Sincipital encephaloceles. *J Craniofac Surg.* 2009 Sep;20 Suppl 2: 1851-5.

Sirzai H, Dogu B, Demir S, Yilmaz F, Kuran B. Assessment on self-care, mobility and social function of children with spina bifida in Turkey. *Neural Regen Res.* 9(12):1234–40, 2014.

Skoufi G, Lialios G, Plachouras N, Kutsogiannis D, Mperis A. Aplasia cutis congenita: Successful conservative treatment. *Pediatr Int.* 2006 Oct;48(5):507-9.

Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001;17:463-516.

Stevenson R.E., Allen W.P., Pai G.S., Best R., Seaver L.H., Dean J., Thompson S. Decline in Prevalence of Neural Tube Defects in an High-Risk Region of the United States. *Pediatrics*, 106(4): 677-683. 2000.

Sundaram C, Paul TR, Raju BV, Ramakrishna Murthy T, Sinha AK, Prasad VS, Purohit AK. Cysts of the central nervous system : a clinicopathologic study of 145 cases. *Neurol India.* 2001 Sep;49(3):237-42.

Suwanwela C, Suwanwela N. A morphological classification of sincipital encephalomeningoceles. J Neurosurg. 1972 Feb;36(2):201-11.

Şen, F. (2012). *Matriks metalloproteinaz-3 (MMP-3) ve matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) gen polimorfizminin akut miyokard infarktüsüne olası etkileri*. Uzmanlık Tezi, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin.,

Taifour Suliman M, Quazi A. Aplasia cutis congenita of the trunk in a Saudi newborn. Br J Plast Surg. 2004 Sep;57(6):582-4.

Tinkle MB, Sterling BS. Neural Tube Defects: A Primary Prevention Role for Nurses. J Obstet Gynecol Neonatal Nurs.26(5);503–12, 1997.

Tomlinson, M.L., Garcia-Morales, C., Abu-Elmagd, M., Wheeler, G.N., 2008. Three matrix metalloproteinases are required in vivo for macrophage migration during embryonic development. Mech Dev.

Towfighi J, Housman C. Spinal cord abnormalities in caudal regression syndrome. Acta Neuropathol. 1991;81(4):458-66.

Tunçbilek E. Türkiye'deki yüksek nöral tüp defekti sıklığını ve önlemek için yapılabilecekler. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, 47: 79-84. 2004.

Tunçbilek, Ergül. “Türkiye’deki yüksek nöral tüp defekti sıklığı ve önlemek için yapılabilecekler.” Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi. 2004; 47.2 :79-84.

Turan JM, Say L, Bulut A. Nöral tüp defektlerinin folik asit kullanımı. Sürekli tıp eğitim dergisi 2000; Ağustos:1-6

Uchino A, Mori T, Ohno M. Thickened fatty filum terminale: MR imaging. Neuroradiology. 1991;33(4):331-3.

Vandenbroucke, R.E., Libert, C. (2014). Is there new hope for therapeutic matrix metalloproteinase inhibition?. Nature Reviews Drug Discovery, 13(12), 904–927.

Vander put NM, Thomas CMG, Eskes TKAB, et al. Altered folate and vitamin B12 metabolism in families with spina bifida offspring. Q J Med 1997; 90: 505-510

Velie EM, Shaw MG, Malcoe H et al. Understanding the increased risk of neural tube defect-affected pregnancies among Mexico-born women in California: immigration and antropomeri factors. *Pediatric and Perinatal Epidemiology* 2006; 20:219-230.

Vernet O, Farmer JP, Houle AM, Montes JL. Impact of urodynamic studies on the surgical management of spinal cord tethering. *J Neurosurg.* 1996 Oct;85(4):555-9.

Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: Structure, function, and biochemistry. *Circ Res* 2003;92:827-39.

Visse, R., Nagase, H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circulation Research*, 92(8), 827-39 2003.

Vu, T.H., Werb, Z., 2000. Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology. *Genes Dev.* 14, 2123–2133.

Wald NJ, Cuckle HS. Biochemical screening. In: Brock DJH, Rodeck CH, Ferguson-Smith MA (eds). *Prenatal Diagnosis and Screening*. HongKong: Churchill Livingstone, 1992: 563-577.

Wallingford JB, Niswander LA, Shaw GM, Finnell RH. The continuing challenge of understanding, preventing, and treating neural tube defects. *Science.* 2013 Mar1;339(6123):1222002.

Wang M., Liu Y.E., Greene J., Sheng S., Fuchs A., Rosen E.M. and Shi Y.E.: Inhibition of tumor growth and metastasis of human breast cancer cells transfected with tissue inhibitor of metalloproteinase 4. *Oncogene.*: 12;14(23):2767-74; 1997.

Warder DE, Oakes WJ. Tethered cord syndrome: the low-lying and normally positioned conus. *Neurosurgery.* 1994 Apr;34(4):597-600; discussion 600

Wasserman CR, Shaw GM, Selvin S, et al. Socioeconomic status, neighborhood social conditions, and neural tube defects. *Am J Public Health* 1998; 88:1674-8

Wilde JJ, Petersen JR, Niswander L. Genetic, epigenetic, and environmental contributions to neural tube closure. *Annu Rev Genet.* 2014;48:583-611.

Williams LJ, Rasmussen SA, Flores A et al. Decline in the prevalence of spina bifida and anencephaly by race/ethnicity: 1995-2002. *Pediatrics* 2005; 116(3): 580-586

Woessner J.F. Jr.: Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *FASEB J.*: 5(8):2145-54; 1991

Woessner JF Jr. The family of matrix metalloproteinases. *Ann N Y Acad Sci.*1994 Sep 6;732:11-21.

Wright RL: Congenital dermal sinus. *Prog Neurol Surg* 4: 175-191, 1971

Wu B, Crampton SP, Hughes CC. Wnt signaling induces matrix metalloproteinase expression and regulates T cell transmigration. *Immunity.* 2007 Feb;26(2):227-39.

Yamada S, Iacone RP, Andrade T, Mandybur G, Yamada BS: Pathophysiology of tethered cord syndrome. *Neurosurg Clin North Am* 6 (2): 311-323, 1995

Yamada S, Zinke DE, Sanders D. Pathophysiology of "tethered cord syndrome". *J Neurosurg.* 1981 Apr;54(4):494-503.

Yamada S, Zinke DE, Sanders D. Pathophysiology of "tethered cord syndrome". *J Neurosurg.* 1981 Apr;54(4):494-503.

Yang SL, Yang M, Herrlinger S, Liang C, Lai F, Chen JF. MiR-302/367 regulate neural progenitor proliferation, differentiation timing, and survival in neurulation. *Dev Biol.* 2015 Dec 1;408(1):140-50.

Yeşilipek M.A, Melikoğlu M., Anlar B., Balcı S. Samsun yöresinde konjenital anomali sıklığı: Yirmibeşbinaltıyüzelli yedi yenidoğan bebeğin değerlendirilmesi. *Çocuk sağlığı ve hastalıkları Dergisi*, 31: 253-263. 1989.

Yılmaz MB, Aydın C, Ergun E, Nurata H, Baykaner MK. Aplasia cutis congenita associated with multiple congenital anomalies: case report. *Turk Neurosurg.* 2010 Jan;20(1):66-8.

Yüksel A. Obstetrik ve jinekolojide sonografi. *Prensip ve Klinik Uygulamalar* 2000, s.379-381

Zheng XL, Yu HG. Wnt6 contributes tumorigenesis and development of colon cancer via its effects on cell proliferation, apoptosis, cell-cycle and migration. *Oncol Lett.* 2018 Jul;16(1):1163-1172.

Zheng, G., Lyons, J.G., Tan, T.K., Wang, Y., Hsu, T.-T., Min, D., Succar, L., Rangan, G.K., Hu, M., Henderson, B.R., et al., 2009. Disruption of E-cadherin by matrix metalloproteinase directly mediates epithelial–mesenchymal transition downstream of transforming growth factor- β 1 in renal tubular epithelial cells. *Am. J. Pathol.* 175,580–591

Zitka, O., Kukacka, J., Krizkova, S., Huska, D., Adam, V., Masarik, M., Prusa, R. And Kizek, R.: Matrix metalloproteinases. *Current Medicinal Chemistry*, 17, 3751- 3768. 2010.

