

---

TEZĂ DE DOCTORAT

# Morfogeneza encefalului în trimestrul întâi de sarcină la om: studiu multi-modal

---

Doctorand **Dan Boitor**

---

Conducător de doctorat Acad.Prof.Dr.**Florin Vasile Stamatian**

---



**UMF**  
UNIVERSITATEA DE  
MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
IULIU HAȚIEGANU  
CLUJ-NAPOCA

## CUPRINS

<b>INTRODUCERE</b>	11
<b>STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII</b>	
1. INTRODUCERE	15
1.1. Importanța problemei. Argument	15
1.2. Perioada embrionară și stadiile Carnegie	17
1.3. Perioada fetală	18
1.4. Scurt istoric al metodelor de studiu în embriologie	18
2. MORFOGENEZA ENCEFALULUI ÎN PERIOADA EMBRIONARĂ	21
2.1. Formarea și diferențierea tubului neural	21
2.1.1. Formarea tubului neural	21
2.1.1.1. Neurulația primară	21
2.1.1.2. Neurulația secundară	23
2.1.2. Diferențierea tubului neural după axul rostro-caudal	23
2.1.3. Diferențierea tubului neural după axul dorso-ventral	25
2.2. Dezvoltarea encefalului	25
2.2.1. Dezvoltarea telencefalului	25
2.2.2. Dezvoltarea diencefalului	29
2.2.3. Dezvoltarea trunchiului cerebral	31
2.2.4. Dezvoltarea cerebelului	32
3. MORFOGENEZA ENCEFALULUI ÎN PERIOADA FETALĂ PRECOCE	33
<b>CONTRIBUȚIA PERSONALĂ</b>	
1. OBIECTIVE	37
2. METODOLOGIE GENERALĂ	37

3. STUDIUL 1. STUDIUL ANATOMIC AL DEZVOLTĂRII ENCEFALULUI ÎN TRIMESTRUL ÎNTÂI DE SARCINĂ LA OM	
3.1. Introducere	39
3.2. Obiective	39
3.3. Material și metodă	40
3.4. Rezultate	40
3.5. Discuții	52
3.6. Concluzii	57
4. STUDIUL 2. STUDIU IMAGISTIC PRIN ECOGRAFIE TRANSVAGINALĂ AL DEZVOLTĂRII ENCEFALULUI ÎN TRIMESTRUL ÎNTÂI DE SARCINĂ LA OM	59
4.1. Introducere	59
4.2. Obiective	60
4.3. Material și metodă	61
4.4. Rezultate	62
4.5. Discuții	79
4.6. Concluzii	85
5. STUDIUL 3. STUDIUL IMAGISTIC PRIN MICRO-RMN AL DEZVOLTĂRII ENCEFALULUI ÎN TRIMESTRUL ÎNTÂI DE SARCINĂ LA OM	87
5.1. Introducere	87
5.2. Obiective	88
5.3. Material și metodă	88
5.4. Rezultate	92
5.5. Discuții	111
5.6. Concluzii	119
6. DISCUȚII GENERALE	121
7. CONCLUZII GENERALE (sinteză)	125
8. ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATIVE ALE TEZEI	127
<b>REFERINȚE</b>	129

**Cuvinte-cheie:** morfogeneza, encefal, ecografie tridimensională, Hdlive, micro-RMN

## INTRODUCERE

Dezvoltarea sistemului nervos central este un subiect intens studiat de către numeroase echipe de cercetători din întreaga lume.

Prima parte a tezei trece în revistă cele mai importante date din literatură privind morfologia encefalului în perioadele embrionară și fetală precoce, care se includ în primul trimestru de sarcină.

În a doua parte a tezei am abordat aspecte ale dezvoltării structurilor encefalului din perspectiva embriologiei clasice, dar și a metodelor moderne de investigație morfologică a embrionilor și feților: ecografia 3D transvaginală și micro-RMN.

## CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

### Studiul 1. STUDIUL ANATOMIC AL DEZVOLTĂRII ENCEFALULUI ÎN TRIMESTRUL ÎNTÂI DE SARCINĂ LA OM

**Obiective.** În acest studiu am urmărit descrierea caracteristicilor morfologice macroscopice ale encefalului în perioadele embrionară și fetală precoce. Am utilizat metoda clasică a observației anatomice cu scopul de a nu distruge prin metode histologice preparatele rare și prețioase.

**Material și metodă.** Materialul folosit în acest studiu este reprezentat de 8 embrioni umani cu vârste între 6 și 10 SA și 12 feți umani cu vârste între 11 și 14 SA.

Criteriile de includere în studiu au fost: calitatea excelentă; morfologia externă normală.

Embrionii au fost studiați și fotografiați din diferite incidente, prin mai multe metode: în lumină directă, prin transiluminare, în imersie și la microscopul optic folosind aparatură digitală. Feții au fost disecați extrăgându-se nevraxul care a fost studiat macroscopic și fotografiat din diferite incidente.

**Rezultate.** În stadiul Carnegie (SC) 12 nevraxul se prezintă sub forma unui tub neural care se întinde pe toată lungimea corpului embrionar. Prin examinarea directă se pot observa cavitățile și curburile tubului neural. Pereții acestuia sunt subțiri deoarece substanța nervoasă nu este dezvoltată.

În SC 13 se schițează curbura cervicală. În SC 14 primordiile emisferelor cerebrale încep să se evagineze și apare șantul di-telencefalic. Prin formarea veziculelor telencefalice se conturează sistemul ventricular.

În SC 16 și 17 encefalul devine voluminos față de restul corpului embrionului. Emisferele cerebrale depășesc anterior lama terminală, iar între ele se formează fisura interemisferică. Metencefalul prezintă buzele rombice nefuzionate. Cavitățile nevraxului sunt voluminoase, atingând dezvoltarea lor maximă relativ la substanța nervoasă.

În SC 18-20 encefalul ajunge la dimensiunile sale maxime în raport cu volumul embrionului. Se remarcă creșterea puternică a telencefalului, mai ales datorită ventriculilor laterali.

În SC 21-23 cavitățile nevraxului sunt depășite în volum de substanța nervoasă, dar volumul ventriculilor laterali rămâne important.

La 12 SA substanța nervoasă este bine reprezentată. Cavitățile nevraxului au dimensiuni mai reduse, cu excepția ventriculilor laterali care sunt ocupați de plexurile coroide.

La 13 SA șanțul lateral se adâncește și încep să se contureze și alte șanțuri și girusuri, dintre care scizurile calcarină și parieto-occipitală.

**Concluzii.** În perioada embrionară și în cea fetală precoce morfologia encefalului se schimbă foarte repede, de la o săptămână la alta în unele privințe.

Dezvoltarea în perioada embrionară se petrece mai rapid la nivelul acelor structuri nervoase care nu prezintă scoarță, respectiv diencefalul și trunchiul cerebral. Emisferele cerebrale și cerebelul se dezvoltă puternic începând cu perioada fetală precoce.

Până spre sfârșitul perioadei embrionare cavitățile nevraxului sunt mai voluminoase decât substanța nervoasă. La 8 săptămâni post-fertilizație substanța nervoasă devine predominantă.

## **Studiul 2. STUDIU IMAGISTIC PRIN ECOGRAFIE TRANSVAGINALĂ AL DEZVOLTĂRII ENCEFALULUI ÎN TRIMESTRUL ÎNTÂI DE SARCINĂ LA OM**

**Obiective.** Scopul acestui studiu observațional descriptiv de cercetare morfologică este de a evidenția anumite structuri encefalice la vârste embrionare sau fetale foarte tinere, la care descrierea lor prin ecografie transvaginală 3D nu a mai fost prezentată în literatură.

**Material și metodă.** Au fost examinați *in vivo* 26 de subiecți, dintre care 15 embrioni și 11 feți în trimestrul întâi de sarcină, corespunzând fiecărei săptămâni între 7 SA și 13 SA.

Criteriile de includere în studiu au fost: sarcini monoembrionare sau monofetale; lipsa anomaliilor morfologice atât la nivelul extremității cefalice cât și a restului corpului.

Embrionii și feții au fost examinați *in vivo* prin ecografie transvaginală 3D cu un aparat Voluson E10, BT 15 (GE Healthcare, Zipf, Austria). Folosind un transductor mecanic 3D/4D cu 256 elemente cu frecvență înaltă de 6-12 MHz scanarea a durat câteva secunde la un unghi de 70°-85°.

**Rezultate.** Vizualizarea structurilor cerebrale a fost posibilă cu programul OmniView® în toate cele 25 de volume optime și cu modul Hdlive în toate cele 18 volume optime studiate.

Pentru evidențierea eminenței ganglionare a fost calculată concordanța inter-observator, care a fost exprimată prin coeficientul kappa [133]. Rezultatele sunt următoarele: concordanța observată  $P_o=0.94$ , concordanța prevăzută  $P_e=0.76$ , coeficientul kappa=0.83. Acestea arată o concordanță foarte bună între cei doi observatori.

La 7 SA semiologia ecografică a encefalului este simplă, deoarece doar cavitățile hipoecogene ale veziculelor cerebrale și curburile tubului neural sunt vizibile.

Prin modul HDlive se pot vizualiza plexurile coroide din ventriculul al IV-lea la un embrion de 17 mm (8 SA), respectiv cele din ventriculii laterali la un embrion de 23 mm LCC (9 SA).

La 9 SA encefalul este suficient de dezvoltat pentru ca, prin ecografia transvaginală cu frecvență înaltă, să putem identifica peretele emisferelor cerebrale și buzele rombice.

Am demonstrat ecografic eminențele ganglionare la un embrion de 31 mm LCC, ce corespunde la 10 SA, atât în secțiunile realizate în volumele 3D cu programul OmniView® cât și prin modul HDlive.

La un făt de 44 mm (11 SA) am evidențiat pentru prima dată placa cerebeloasă, rezultată din fuzionarea buzelor rombice. Vermisul cerebelos a fost identificat cu claritate doar la un făt de 68 mm LCC (13 SA).

**Concluzii.** Diagnosticul ecografic precoce al anomaliilor congenitale necesită o bună cunoaștere a anatomiei și a semiologiei ecografice a encefalului embrionar.

Modul HDlive poate genera imagini aproape fotografice ale structurilor interne ale encefalului în dezvoltare. Programul OmniView® poate fi utilizat pentru imagistica encefalului încă din primul trimestru de sarcină. Prin aceste facilități se pot evidenția structuri encefalice de dimensiuni mici, ca eminențele ganglionare, a căror documentare ecografică nu fost regăsită în literatura studiată.

### **Studiul 3. STUDIUL IMAGISTIC PRIN MICRO-RMN AL DEZVOLTĂRII ENCEFALULUI ÎN TRIMESTRUL ÎNTÂI DE SARCINĂ LA OM**

**Obiective.** Scopul acestui studiu observațional descriptiv de cercetare morfologică este de a evidenția anumite structuri encefalice la vârste embrionare sau fetale foarte tinere, la care descrierea lor micro-RMN nu a mai fost prezentată în literatură.

**Material și metodă.** Materialul folosit în acest studiu constă din 12 embrioni umani cu vârste cuprinse între 6 și 10 SA și 8 feți cu vârste cuprinse între 11 și 14 SA.

Criteriile de includere în studiu au fost calitatea excelentă a țesuturilor și morfologia externă normală.

Examinarea *in vitro* prin micro-RMN a embrionilor și fetiilor a fost realizată cu un aparat Bruker Biospec 70/16 USR (Bruker BioSpin MRI GmbH, Ettlingen, Germany) având intensitatea câmpului magnetic de 7.04 Tesla. Investigația a fost efectuată la Centrul Național de RMN al Facultății de Fizică din cadrul Universității Babeș-Bolyai Cluj-Napoca.

**Rezultate.** La un embrion de 21 mm, 9 SA am reușit să identificăm structura laminară a peretelui ventral al emisferelor cerebrale.

Hipocampul a fost identificat cel mai devreme la un făt de 55 mm, 12 SA.

Am evidențiat *putamen*-ul, globul palid și *claustrum*-ul la un făt de 55 mm LCC, 12 SA. Porțiunile medială și laterală ale globului palid, precum și capul nucleului caudat au fost bine delimitate la un făt de 85 mm, 14 SA.

Cel mai devreme am reușit să identificăm nucleul *accumbens* ca parte a striatului bazal la un embrion de 32 mm, SC 23.

Nucleul subtalamic, nucleul roșu și substanța neagră au putut fi evidențiate începând cu 12 SA ca formațiuni hiperintense în protocolul T1.

Capsula albă internă a fost identificată la un embrion de 32 mm LCC, 10 SA. În protocolul T1 capsula internă se prezintă ca o structură hipointensă.

În structura bulbului rahidian cel mai devreme am reușit să evidențiem olivele bulbare la un făt de 55 mm LCC, 12 SA și nucleii *gracilis* și *cuneatus* la un făt de 85 mm, 14 SA.

**Concluzii.** Micro-RMN oferă embriologilor o alternativă la tehnicile histologice clasice.

Prin micro-RMN am reușit să evidențiem la vârste precoce de sarcină structuri nervoase a căror documentare prin această metodă nu a fost regăsită în literatura studiată, ca de exemplu nucleul *accumbens*, nucleul subtalamic, nucleul roșu, capsula albă internă, olivele bulbare.

Unele structuri nervoase (nucleul lenticular, epifiza, claustrul, comisura albă anterioară, comisura habenulară), ca și laminarea *subpallium*-ului au fost evidențiate de către noi prin micro-RMN la vârste de sarcină mai mici decât cele publicate în literatura studiată.

### **Concluzii generale**

1. Studiile de embriologie sunt încă necesare pentru o evaluare completă a dezvoltării encefalului.

2. O bună cunoaștere a morfologiei și a semiologiei imagistice a encefalului în dezvoltare este fundamentală pentru: înțelegerea apariției unor anomalii ale sistemului nervos central; diagnosticul precoce al anomaliilor congenitale; interpretarea corectă a imaginilor furnizate de tehnicile imagistice moderne.

3. În perioada embrionară și în faza fetală precoce aspectul encefalului se schimbă foarte repede, de la o săptămână la alta în unele privințe.

4. Succesiunea temporală a modificărilor morfologice ale SNC trebuie să fie cunoscută de către practicieni pentru a evita diagnosticarea eronată ca patologice a unor aspecte normale ale morfogenezei.

5. Dezvoltarea în perioada embrionară se petrece mai rapid la nivelul acelor structuri nervoase care nu prezintă scoarță, respectiv diencefalul și trunchiul cerebral. Emisferele cerebrale și cerebelul se dezvoltă puternic începând cu perioada fetală precoce.

6. Până la sfârșitul perioadei embrionare cavitățile nevraxului sunt mai voluminoase decât substanța nervoasă. La 8 săptămâni post-fertilizație substanța nervoasă devine predominantă.

7. Prin ecografia transvaginală 3D și facilitățile tehnice actuale (modul Hdlive, programul OmniView® și Silhouette®) se pot evidenția aproape fotografic structuri de dimensiuni mici ale encefalului în dezvoltare.

8. Am pus în evidență prin ecografia transvaginală 3D structuri encefalice a căror documentare ecografică nu fost regăsită în literatura studiată, ca de exemplu eminențele ganglionare.

9. Prin micro-RMN am reușit să evidențiem în trimestrul întâi de sarcină structuri nervoase a căror documentare prin această metodă nu a fost regăsită în literatura studiată, ca de exemplu nucleul *accumbens*, nucleul subtalamic, nucleul roșu, capsula albă internă, olivele bulbare.

10. Unele structuri nervoase (nucleul lenticular, epifiza, claustrul, comisura albă anterioară, comisura habenulară), ca și laminarea *subpallium*-ului au fost evidențiate de către noi prin micro-RMN la vârste de sarcină mai mici decât cele publicate în literatura studiată.

11. Rezultatele studiului arată că cele trei metode utilizate nu se exclud, ci se completează reciproc. Înțelegerea morfologiei encefalului este mai ușoară prin combinarea acestor metode decât prin utilizarea lor separată.

12. Informațiile furnizate în acest studiu pot fi utilizate ca imagini de referință pentru studiile de imagistică din alte specialități: obstetrică, neurologie, neurochirurgie, pediatrie, chirurgie pediatrică, imagistica medicală.

13. Imaginile conținute în acest studiu se constituie într-un atlas al morfogenezei encefalului care poate fi folosit în procesul de învățământ universitar sau post-universitar (rezidențiat, cursuri post-universitare).

### **Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei**

Teza noastră demonstrează că metodele clasice de cercetare în embriologie și tehnicile imagistice moderne nu se exclud, ci se completează reciproc.

Studiul anatomic clasic pe care l-am realizat prin observație directă a embrionilor și prin disecție a feților furnizează imagini originale ale encefalului în dezvoltare.

Investigarea encefalului embrionar sau fetal în trimestrul întâi prin ecografia transvaginală 3D, cu multiplele sale facilități tehnice sau de prelucrare a imaginilor, ne-a permis să descriem ecografic structuri ale encefalului în dezvoltare despre a căror documentare prin modurile HDlive, OmniView și Silhouette nu au fost regăsite referințe în literatura studiată de noi.

Prin micro-RMN de 7,04 Tesla am reușit să vizualizăm structuri nervoase a căror descriere prin această metodă în trimestrul întâi de sarcină nu a fost regăsită în literatura studiată. Unele structuri nervoase, ca și laminarea *subpallium*-ului au fost evidențiate prin micro-RMN la vârste de sarcină mai mici decât cele publicate în literatura de specialitate.

În concluzie, lucrarea noastră aduce elemente noi pentru studiile imagistice de morfogenază a encefalului. Considerăm că rezultatele noastre se constituie în imagini de referință care pot fi utilizate atât pentru perfecționarea specialiștilor din domeniul variatelor ale medicinei sau ale biologiei dezvoltării, cât și în studiile ulterioare.



---

SUMMARY OF THE PhD THESIS

# Morphogenesis of the brain in the first trimester of pregnancy in humans: a multi-modal study

---

PhD Student **Dan Boitor**

---

PhD Scientific Coordinator Acad Prof Dr **Florin Vasile Stamatian**

---



**UMF**  
UNIVERSITATEA DE  
MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
IULIU HATIEGANU  
CLUJ-NAPOCA

## CONTENT

<b>INTRODUCTION</b>	11
<b>CURRENT STATE OF THE ART</b>	
1. INTRODUCTION	15
1.1. Importance of the subject. Argument	15
1.2. Embryonic period and Carnegie stages	17
1.3. Fetal perioada	18
1.4. Brief history of the study methods in embryology	18
2. MORPHOGENESIS OF THE BRAIN IN THE EMBRYONIC PERIOD	21
2.1. Formation and differentiation of the neural tube	21
2.1.1. Formaion of the neural tube	21
2.1.1.1. Primary neurulation	21
2.1.1.2. Secondary neurulation	23
2.1.2. Differentiation of the neural tube in the rostro-caudally axis	23
2.1.3. Differentiation of the neural tube in the dorso-ventrally axis	25
2.2. Development of the brain	25
2.2.1. Development of the telencephalon	25
2.2.2. Development of the diencephalon	29
2.2.3. Development of the brain stem	31
2.2.4. Development of the cerebellum	32
3. MORFOGENEZA ENCEFALULUI ÎN PERIOADA FETALĂ PRECOCE	33
<b>PERSONAL CONTRIBUTION</b>	
1. OBJECTIVES	37
2. GENERAL METHODOLOGY	37

3. STUDY 1. ANATOMICAL STUDY OF THE DEVELOPMENT OF THE BRAIN IN THE FIRST TRIMESTER OF PREGNANCY IN HUMANS	
3.1. Introduction	39
3.2. Objectives	39
3.3. Material and method	40
3.4. Results	40
3.5. Discussions	52
3.6. Conclusions	57
4. STUDY 2. IMAGING THE DEVELOPMENT OF THE BRAIN IN THE FIRST TRIMESTER OF PREGNANCY IN HUMANS BY TRANSVAGINAL ULTRASOUND	59
4.1. Introduction	59
4.2. Objectives	60
4.3. Material and method	61
4.4. Results	62
4.5. Discuții	79
4.6. Conclusions	85
5. STUDIUL 3. IMAGING THE DEVELOPMENT OF THE BRAIN IN THE FIRST TRIMESTER OF PREGNANCY IN HUMANS BY MICRO-MRI	87
5.1. Introduction	87
5.2. Objectives	88
5.3. Material and method	88
5.4. Results	92
5.5. Discussions	111
5.6. Conclusions	119
6. DISCUSSIONS	121
7. CONCLUSIONS	125
8. ORIGINALITY AND INNOVATIVE CONTRIBUTIONS OF THE THESIS	127
<b>REFERENCES</b>	129

**Key words:** morphogenesis, brain, tridimensional ultrasound, HDlive, micro-MRI

## INTRODUCTION

The development of the central nervous system (CNS) is subject of numerous studies conducted by many research teams around the world.

The first part of the thesis reviews the most important data concerning the morphology of the brain in the embryonic and early fetal periods, which are included in the first trimester of pregnancy.

In the second part we studied aspects of the development of the nervous structures from a classic embryological point of view, but we used also some modern morphological methods such as 3D ultrasound and micro-MRI.

## PERSONAL CONTRIBUTION

### **Study 1. ANATOMICAL STUDY OF THE DEVELOPMENT OF THE BRAIN IN THE FIRST TRIMESTER OF PREGNANCY IN HUMANS**

**Objectives.** In this study we describe the morphological characteristics of the brain in the embryonic and early fetal periods. We used the classic method of anatomical observation in order not to destroy the rare and valuable specimens by histological methods.

**Material and method.** The material used in this study consists of 8 human embryos between 6 and 10 GW (gestational weeks) and 12 human fetuses between 11 and 14 GW.

Including criteria used: excellent quality of the specimens and normal external morphology.

The embryos were studied and photographed in different incidences by various methods: in direct light, by transillumination, in immersion and by optic microscopy using digital devices. The fetuses were dissected to extract the brains which were studied macroscopically and photographed in different incidences.

**Results.** In Carnegie stage (CS) 12 the CNS presents as a neural tube which extends over the whole length of the embryonic body. The cavities and the flexures of the neural tube can be noticed by direct observation. The walls of the neural tube are thin because the nervous matter is not developed.

In CS 13 the cervical flexure is visible. In CS 14 the primordia of the cerebral hemispheres begin to evaginate and the di-telencephalic sulcus is noticed. The ventricular system appears in the same time as the telencephalic vesicles.

In CS 16 and 17 the brain becomes voluminous in comparison with the rest of the embryonic body. The cerebral hemispheres anteriorly overlap the *lamina terminalis* and the interhemispheric fissure forms between them. The metencephalon presents the unfused rhombic lips. The cavities of the CNS are voluminous and they reach their maximum dimensions relatively to the nervous matter.

In CS 18-20 the brain reaches its maximum size in comparison with the entire volume of the embryo. We notice the intense development of the brain which is due especially to the expansion of the lateral ventricles.

In CS 21-23 the cavities of the brain are smaller than the nervous matter, but the volume of the lateral ventricles is still important.

At 12 GW the nervous matter is well developed. The cavities of the brain reduce their volume, except the lateral ventricles which are occupied by the choroid plexuses.

At 13 GW the lateral sulcus deepens and other sulci, such as the calcarine scizure and the parieto-occipital sulcus, become visible.

**Conclusions.** The morphology of the brain changes rapidly in the first trimester of pregnancy, even weekly in some aspects.

The development in the embryonic period is faster in those nervous structures which don't have a cortex, such as the diencephalon and the brain stem. The cerebral hemispheres and the cerebellum develop rapidly in the early fetal period.

The cavities of the brain are more voluminous than the nervous matter until the end of the embryonic period. At 8 weeks post-fertilization the nervous matter becomes predominant.

## **Study 2. IMAGING THE DEVELOPMENT OF THE BRAIN IN THE FIRST TRIMESTER OF PREGNANCY IN HUMANS BY TRANSVAGINAL ULTRASOUND**

**Objectives.** The aim of this observational descriptive study of morphological research is to assess some nervous structures within the embryonic and early fetal brains, which have not been previously documented in literature by using 3D transvaginal ultrasound.

**Material and method.** A total of 26 subjects were examined *in vivo*, i.e. 15 embryos and 11 fetuses in the first trimester of pregnancy, corresponding to each week between 7 and 13 GW.

Including criteria used: singleton pregnancies; absence of the morphological anomalies of the cephalic extremity and of the rest of the body.

The embryos and fetuses were assessed *in vivo* by transvaginal ultrasound using a Voluson E10, BT 15 ultrasound scanner (GE Healthcare, Zipf, Austria). The 3D sonography including the 3D HDlive rendering mode was performed routinely as the subjects were scanned. Using a mechanical high-frequency transvaginal transducer (6-12 MHz/ 256-element 3D/4D), the sweep took a few seconds at an angle of 70°-85°.

**Results.** The clear visualization of the brain structures was possible with the OmniView® software in all the 26 optimal volumes and with the HDlive rendering mode in 18 selected optimal volumes.

The inter-observer agreement for the vizualisation of the ganglionic eminences was calculated. The results were as follows: observed agreement  $P_o=0.94$ ; expected agreement  $P_e=0.76$ ; kappa coefficient=0.83, which means a very good agreement between the observers.

At 7 GW the ultrasound semiology of the brain is simple, since only the hypoechoic cavities of the cerebral vesicles and the flexures of the neural tube are visible.

By HDlive, the choroid plexuses can be seen in the 4th ventricle at 8 GW and in the lateral ventricles at 9 GW.

At 9 GW the brain is developed enough so that the walls of the cerebral hemispheres and the rhombic lips could be visualized by high-frequency 3D transvaginal ultrasound.

At 10 GW we depicted the ganglionic eminences within the brain by using the OmniView® software and HDlive mode.

At 11 GW the cerebellar plate resulting from the fusion of the rhombic lips was noticed. The vermis was clearly identified only at 13 GW.

**Conclusions.** Early ultrasound diagnosis of the congenital anomalies requires a good knowledge of the anatomy and sonographic semiology of the developing brain.

The HDlive mode can provide almost natural images of the internal structures of the embryonic and early fetal brain. The OmniView® software can be used for accurately imaging the brain in the first trimester of pregnancy. By these facilities small-sized nervous structures such as the ganglionic eminences can be visualized. The sonographic assessment of the ganglionic eminences in the first trimester is not reported in previous studies.

### **Study 3. IMAGING THE DEVELOPMENT OF THE BRAIN IN THE FIRST TRIMESTER OF PREGNANCY IN HUMANS BY MICRO-MRI**

**Objectives.** The aim of this observational descriptive study of morphological research is to depict structures within the embryonic and early fetal brains, which have not been previously documented in literature by using micro-MRI.

**Material and methods.** We examined *in vitro* 12 human embryos ranging from 6 and 10 GW and 8 fetuses between 11 and 14 GW.

Including criteria used: excellent quality of the tissues; normal external morphology.

MRI investigation was performed with a Bruker BioSpec 70/16USR scanner (Bruker BioSpin MRI GmbH, Ettlingen, Germany) operated at 7.04 Tesla. The study was conducted at the National Center of MRI, Faculty of Physics, “Babes-Bolyai” University of Cluj-Napoca.

**Results.** At 9 GW the laminar structure of the ventral wall of the cerebral hemispheres was identified.

The hippocampus was firstly seen at 12 GW. The *putamen*, *globus pallidus* and *claustrum* were clearly observed at 12 GW. The medial and lateral portions of the *globus pallidus*, as well as the head of the caudate nucleus were well depicted at 14 GW.

The *nucleus accumbens* was identified at 10 GW, CS 23. The subthalamic nucleus, red nucleus and *substantia nigra* were firstly seen at 12 GW as hyperintense structures in T1-wi protocol.

The internal capsule was documented at 10 GW. In T1-wi protocol it presents as a hypointense structure. In the *medulla oblongata*, we identified the inferior olivary nuclei at 12 GW and the nuclei *gracilis* and *cuneatus* at 14 SA.

**Conclusions.** Micro-MRI offers to embryologists an alternative to the classical histological techniques.

By micro-MRI we identified some nervous structures such as *nucleus accumbens*, subthalamic nucleus, red nucleus, internal capsule, inferior olivary nucleus which have not been documented in the first trimester by previous studies.

Other nervous structures such as the lentiform nucleus, epiphysis, *claustrum*, anterior commissure, habenular commissure, as well as the laminar structure of the *subpallium* were depicted by micro-MRI at earlier gestational ages as previously reported in literature.

### **Conclusions - synthesis**

1. Studies of embryology are still needed for a complete understanding of the development of the brain.

2. A good knowledge of the morphology and imaging semiology of the developing brain is mandatory for comprehension of the mechanism of congenital anomalies onset; early diagnosis of malformations; correct interpretation of the images provided by modern imaging techniques.

3. The morphology of the brain changes rapidly in the first trimester of pregnancy, even weekly in some aspects.

4. The temporal sequence of morphological changes of the brain must be well known by practitioners in order to avoid misinterpretation of normal aspects of morphogenesis as pathologic.

5. The development in the embryonic period is faster in those nervous structures which don't have a cortex, such as the diencephalon and the brain stem. The cerebral hemispheres and the cerebellum develop rapidly in the early fetal period.

6. The cavities of the brain are more voluminous than the nervous matter until the end of the embryonic period. At 8 weeks post-fertilization the nervous matter becomes predominant.

7. By transvaginal 3D ultrasound and its modern facilities (Hdlive mode, OmniView® software and Silhouette® mode) small-sized structures of the developing brain can be assessed.

8. Brain structures such as ganglionic eminences, which were not previously documented in literature by 3D transvaginal ultrasound, were assessed in this study.

9. We identified by micro-MRI some nervous structures such as *nucleus accumbens*, subthalamic nucleus, red nucleus, internal capsule, inferior olivary nucleus which have not been documented in the first trimester by previous studies.

10. Other nervous structures such as the lentiform nucleus, epiphysis, *claustrum*, anterior commissure, habenular commissure, as well as the laminar structure of the *subpallium* were depicted by micro-MRI at earlier gestational ages as previously reported in literature.

11. The three morphological methods used in this study are not excluding each other, but they are complementary. Understanding brain morphology becomes easier if these methods are combined.

12. The images provided by this study can be used as reference images for further studies in different domains: obstetrics, neurology, neurosurgery, pediatrics, pediatric surgery, medical imaging.

13. The images contained in this thesis form an atlas of the brain morphogenesis which can be used in learning and teaching at university or post-university levels.

### **Originality and innovative contributions of the thesis**

This thesis demonstrates that the classical embryological methods and the modern imaging techniques such as 3D transvaginal ultrasound and micro-MRI are not excluding each other, but they are complementary.

The classical anatomical study that we performed by direct observation of the embryos and dissection of the fetuses provides original images of the developing brain in the first trimester of pregnancy.

3D transvaginal ultrasound, along with its technical and software facilities, allows the assessment of small-sized nervous structures which have not been reported by HDlive mode, OmniView and Silhouette in previous studies.

Using micro-MRI we depicted brain structures that have not been documented in the first trimester of pregnancy by previous studies. Some nervous structures, as well as the laminar structure of *subpallium*, were depicted by micro-MRI at earlier gestational ages as previously reported in literature.

In conclusion, this thesis provides new data for imaging the morphogenesis of the brain in the first trimester of pregnancy. We believe that our results can be considered as references for further studies, as well as for those who might wish to improve their knowledge on the morphogenesis of the brain.