

ENDOMETRIAL DOKU İÇİNDEKİ AĞIR METALLERİN ELEKTRON MİKROSKOP ARACILIĞI İLE TESBİTİ

Analysis of Heavy Metals in the Endometrial Tissue Using Scanning Electron Microscope

Dr. Canan SOYER¹, Dr. Merih BAYRAM²

¹Keçiören Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü,
²Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

ÖZET

Amaç: Endometrium dokusunda çevre kirliliğine yol açan ağır metallerin tesbiti.

Materyal ve Metod: 20 adet albino Wistar rat randomize olarak 2 gruba ayrıldı. Grup 1'deki ratlar Ankara'da, Grup 2'deki ratlar Kırıkkale'de 1 ay süresince tutuldular. Genel anestezi altında çıkarılan uteruslar scanning electron mikroskopta incelenerek metal tayinleri yapıldı.

Bulgular: Her iki grup karşılaştırıldığında Grup 2'de Nikel anlamlı olarak yüksek tesbit edildi ($p<0.05$).

Sonuçlar: endometrium dokusundaki yüksek nikel düzeyi endometrial kompozisyonu etkileyerek düşük sebebi olabilir.

Anahtar Kelimeler: Endometrium,SEM,ağır metaller,abortus

ABSTRACT

Objective: Determination of the heavy metals in endometrial tissue, which cause environmental pollution.

Materials and Methods: 20 albino Wistar rats are divided into 2 groups at random. During one month, the rats of Group 1 were held in Ankara, the rats of Group 2 were held in Kırıkkale. The uteruses were taken out under general anesthesia and were examined in scanning electron microscope, so their determinations of metal were done.

Results: In a comparison between the groups, the quantity of Nickel was determined significantly at high level in Group 2.

Conclusions: The effect of the high level of Nickel in endometrial tissue on endometrial composition may be accepted as the reason of abortion.

Key Words: Endometrium,SEM,heavy metals,abortion

GİRİŞ

Son 40 yıldaki teknolojik gelişmeler çevresel kirliliğin artmasına neden olmakta, hava, su ve toprağın da değişik etkenler tarafından kirletilmesi doğal dengeyi bozmaktadır. Büyük şehirlerin en büyük problemi ise, giderek artan sanayileşme ve fosil yakıt tüketimine bağlı hava kirliliğidir. Hava kirliliğinin ortaya çıkması ve değerlendirilmesinde 3 faktör etken olarak rol oynar. Bunlar kaynak, ortam ve alıcıdır. Kaynaklar, kimyasal işlemlerle kağıt, selüloz, tekstil, madencilik ve metal işleyiciliği yapan fabrikalar, petrol işleme tesisleri ile fosil yakıtlarının tüketimi şeklinde sıralanabilir. Tüm bu etkinlikler sonucunda oluşan kimyasal yan ürünler, partiküller ve tozlarla hava, toprak ve sular kirletilmektedir (1). Ortam, kirleticilerin mobilizasyonu ve taşınmasında rol oynar. Kirleticilerin etkileri; kirleticili konsantrasyonu, maruz kalma süresi ve maruz kalınan alıcı ortamın özelliklerine bağlıdır. Bu nedenle bölgenin coğrafi özellikleri ile meteorolojik olayların hava kirliliği üzerine önemli etkileri bulunmaktadır.

Fosil yakıtlar yüksek oranda C içerirler ve yanmaları sonucunda CO₂, CO, SO₂, NO_x gibi uçucu organik bileşikler, radyoaktif maddeler ve atıkların yanısıra Cd, Hg, Pb, Co, As, Ni, Mn, Cr, Fe, Zn, Cu, Sr, Mg ve Al gibi ağır metaller de ortaya çıkar (2).

Ağır metaller canlı organizmalar için toksiktir ve organizmanın ölümüne neden olabilirler. Ayrıca öldürücü dozun altındaki kronik maruziyetlerde de istenmeyen etkilere sebep olabilirler. Metal kalıntılarının zehirlenme, kanser, erken

yaşlanma, zayıf kemik oluşumu, iştahsızlık, anemi, erken ölüm ve doğum anomalilerine neden olduğu bilinmektedir (3,4). Toksik etkiler, her metalin özelliğine göre değişmekte ise de, genel olarak birden fazla organ ve sistemleri etkilemektedirler.

Kırıkkale'de özellikle sonbahar-kış aylarında gebelik kayıplarının dikkat çeker ölçüde fazlalığı nedeni ile, deneysel olarak çevrenin endometrium üzerindeki etkisini araştırmak istedik.

MATERYAL ve METOD

Çalışmamızda 20 adet 330 ± 20 g Wistar Albino dişi rat kullanıldı. Ratların tümü Gülhane Askeri Tıp Akademisi Hayvan Laboratuvarından temin edildi. Hayvanlar randomize olarak 2 gruba ayrılarak; Grup 1'dekiler Ankara'da, Grup 2'dekiler Kırıkkale'de barındırıldı. Tüm hayvanlar siklik olarak 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ortamlarda, 22 ± 2 °C'de ve % 50 ± 10 rutubetli odalarda, her kafeste ortalama iki rat olacak şekilde barındırıldı. Ratlar standart rat yemi ve musluk suyu ile 'ad libitum' tarzında beslendi. Bu çalışma Helsinki Kriterlerine uygun olarak planlandı ve yapıldı.

Kasım ayı boyunca çevre ortamı solutturulan ratlar; Ketamine (Ketalar®, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) 90 mg/kg intraperitoneal (ip) ve xylazine (Alfazin®, Alfasan, İstanbul, Türkiye) 10 mg/kg (ip) verilerek genel anestezi sağlandıktan sonra uygun saha temizliği ve örtünümünü takiben laparotomi ile uterusları çıkarıldı.

Çıkarılan uteruslar bisturi yardımı ile uzun eksenine paralel şekilde ikiye bölündü ve endometriyumları üst kısma gelecek şekilde petri kaplarında kurutuldu. Tüm numuneler taramalı elektron mikroskopunda değerlendirilmek üzere karbonla kaplandı.

Taramalı elektron mikroskopunda (SEM) görüntü oluşumu, 20-30 kV civarında bir potansiyel farkı altında hızlandırılan elektronların incelenen numuneyi uyarması sonucunda çıkan sinyallerin algılanması ile oluşur (5,6).

Çalışmamızda JEOL 5600 JSM marka mikroskop ve EDS 2000 mikroanaliz sistemli dedektör kullanıldı.

'EDS-Energy-Dispersive Spectroscopy' ile mikro analiz; demet-numune etkileşimi sonucu ortaya çıkan karakteristik x-ışınının, kolonda bulunan dedektörle algılanarak analiz ünitesine iletilmesi ve burada kimyasal analizinin yapılmasıyla gerçekleştirildi. Sistem hafif metaller olarak tanımlanan C, N, O vb. dışında periyodik tabloda bulunan elementlerin büyük çoğunluğunu tanımlamaktadır (5,6).

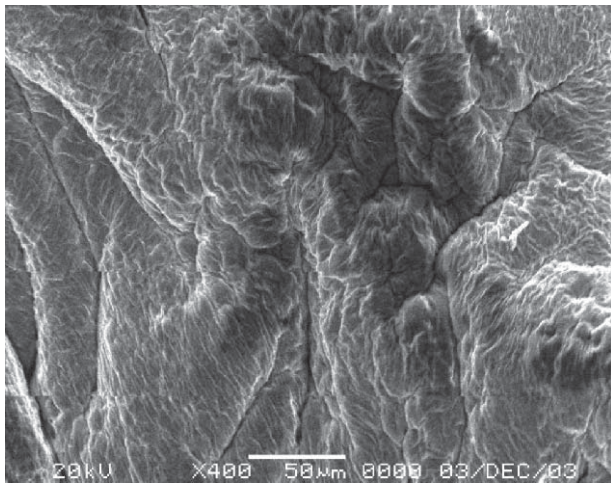
İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Bu çalışmada elde edilen tüm verilerin istatistiksel analizinde SPSS 11.0 programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler ortalama (mean) ve standart sapma (SD) şeklinde sunuldu. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0,05$ olarak kabul edildi. Grupların karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanıldı.

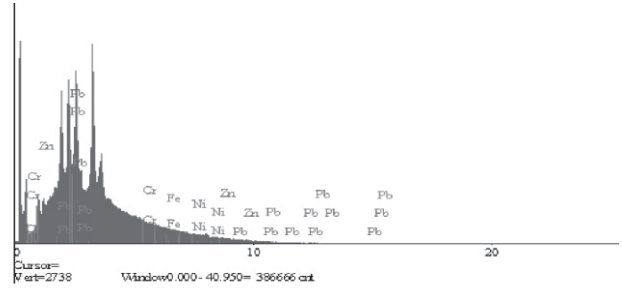
BULGULAR

Grup 1'de Ankara'da barındırılan ratların SEM ile tesbit edilen örnek endometrium görüntüsü ve metal dağılım oranları şekil 1.1 ve şekil 1.2'de gösterilmiştir.

Grup 2'de Kırıkkale'de barındırılan ratların SEM ile tesbit edilen örnek endometrium görüntüsü ve metal dağılım oranları şekil 2.1 ve şekil 2.2'de gösterilmiştir.



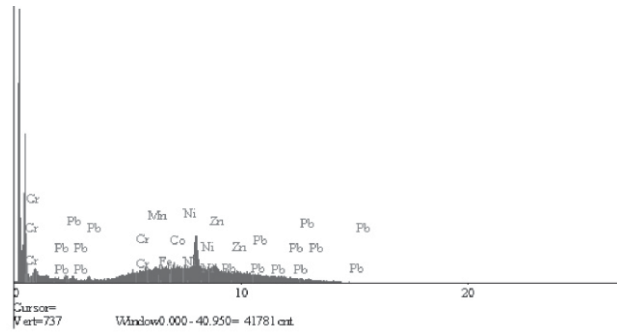
Şekil 1.1. Grup 1'in SEM endometriyum görüntüsü.



Şekil 1.2. Grup 1'in SEM ile tesbit edilen endometrial metal dağılım sonuçları.



Şekil 2.1. Grup 2'nin SEM endometriyum görüntüsü



Şekil 2.2. Grup 2'nin SEM ile tesbit edilen endometrial metal dağılım sonuçları.

Gruplara göre metallerin ortalama dağılımları ve standart sapma verileri Tablo 1'de, istatistiksel analizleri de Tablo 2'de verilmiştir. Tablolara bakıldığında Grup 1 ile 2 değerleri arasında Kırıkkale'de barındırılan grupta verilerin yüksekliği dikkati çekiyor, ancak istatistiksel karşılaştırma yapıldığında yalnızca Ni de anlamlılık mevcuttur ($p < 0,05$). Diğer metaller arasında anlamlı ilişki gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

Mann Whitney ile Grup 1 ve 2 arasında yapılan ikili grup değerlendirmesinde sadece nikelin dağılımında anlamlı bir fark saptanırken ($p < 0,05$) diğer metal dağılımları arasında anlamlı fark gözlenmedi (Tablo.2).

Tablo 1. Gruplara göre endometrial metallerin ortalama ve SD verileri.

Metaller (ng/m ³)	Grup 1 Ortalama ±SD	Grup 2 Ortalama ± SD
Krom	1,19 ± 0,9	1,75 ± 1,27
Mangan	0,92 ± 0,6	2,14 ± 2,6
Demir	1,15 ± 1,3	3,10 ± 3,2
Kobalt	1,19 ± 1,5	2,85 ± 2,8
Nikel	1,01 ± 1,6	3,57 ± 3,8
Çinko	57,07 ± 18,9	50,89 ± 14,8
Kurşun	37,44 ± 18,4	35,68 ± 17,4

Tablo 2. Grupların ikili Mann Whitney U testi ile karşılaştırılması.

	Krom	Mangan	Demir	Kobalt	Nikel	Çinko	Kurşun
Grup 1 ve 2	0,173	0,226	0,069	0,069	0,041*	0,449	0,820

Tartışma:

Çevre kirliliği tüm dünya sağlığını tehdit eden bir sorundur. Tüm dünyada endüstri devrimi ile çevre yaygın olarak kirlenmeye başlamıştır. Çevre kirlenmelerinin zararlı etkileri mesleki ve çevresel olarak görülmeye başladıktan sonra bu konuda yapılan çalışmalarda hızlanmıştır. Sonuçta gelişmiş ülkeler hem teknolojik hem de yasal boyutlarda önlemlerini alarak son yirmi yıl içerisinde büyük ölçüde çevre kirliliğinin ve istenmeyen yan etkilerinin önüne geçerken gelişmekte olan ve geri kalmış ülkeler için çevre kirliliği hala büyük bir önem taşımaktadır.

Çevre kirliliğine yol açan çok fazla sayıda ajan bulunmakla beraber; hava kirliliğinde önemli yere sahip olan ağır metallerin ilk zararlı etkileri metal arıtma fırınlarında ve ocaklarda çalışan işçilerde düşüklerin ve ölü doğumların sık görüldüğünün fark edilmesi ile ortaya konulmuştur (7,8).

Mesleki faktörlerin spontan abortuslara etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; metal ve elektrik işçilerinde rölatif riskin (RR: 1,18; p<0,05) yüksek olduğu tespit edilmiş (9) Kurşun, civa ve kadmiyumun teratojenik olduğu yıllardan beri bilinmektedir (10,11). Ayrıca nikel, lityum ve selenyum gibi diğer metallerinde teratojenik olduğuna dair sonuçlar vardır (12,13). Nikel rafinerisinde çalışan kadınlarda yapılan bir çalışmada ise spontan abortus ve yapısal malformasyonların (kardiyovasküler ve kas iskelet sistem defektleri) görülme riskinin normal popülasyona göre yüksek olduğu bildirilmiştir (13,14). Olası implantasyon sonrası kayıp mekanizması; her iki cinste de prekonsepsiyonel etki olarak gametogenezi etkilemesi, gebeliğin devamı için

sağlanması gereken hormonal çevre yetersizliği ve direk teratojenik etkiler olarak sınıflandırılabilir. (15-18).

Bizim çalışmamızda da gösterdiğimiz; özellikle hava kirliliği ortamlarında özellikle Ni miktarında, hava kirliliği sorununu bölgemize göre çözmüş olan Ankara'da barındırılan grup arasında çalıştığımız tüm ağır metaller içinde endometriyumda anlamlı bir yükseklik tespit ettik. Bununla birlikte dikkat edilmesi gereken bir nokta da; Kırıkkale'de barındırılan grup ile Ankara grubu arasında dikkat çeken istatistiksel olarak anlamlılık tesbit edilmese de elde edilen değerlerde bir artış olduğu görüldü.

Bu sonuç savımızda belirttiğimiz Kırıkkale bölgesi hava kirliliğinin de bir göstergesidir. Çünkü Kırıkkale bölgesinde barındırılan kontrol grubu hiçbir arıtma sistemine tabi tutulmayan normal hava koşullarında solutulmuştur. Krom, nikel, kobalt dahil ağır metaller endüstride geniş bir kullanım alanına sahiptir. Bu üç metal insan ve bazı hayvanlar için esansiyeldir. Bu metallerin insanda toksik etkileri (dermatit, astım bronşiyale) yanı sıra krom ve nikelin karsinojenik etkileri ispatlanmıştır. Krom spesifik olarak embriyotoksik etkilere sahiptir. Nikelin bu etkileri annede toksik etkiler olmadan gelişebilmektedir. (19)

Özellikle tekrarlayan gebelik kayıpları yaşayan aileler, çoğu kez bunun çevresel toksinlerle oluşabileceğinden endişe etmektedirler. Potansiyel toksinlerin reproduktif etkileri bilimsel olarak tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Ağır metallerle ilgili yapılan çalışma olması, edinilen bilgilerin çoğunun kazalar ya da

intoksikasyonlara bağlı olması, maruz kalınan dozların çoğu zaman ölçülemeyecek kadar az fakat zaman içerisinde birikime neden olabilmesi gibi bir çok kısıtlayıcı faktör bulunmaktadır. Tüm bunların yanısıra etki mekanizmaları da çok açık değildir. Gerçekte bir çok metalin embriyotoksik etkileri hayvan deneylerinde gösterilmiş olmakla beraber sadece civa ve kurşunun insanda kesin olarak teratojen olduğu bilinmektedir (20). Reprodüktif sistem üzerine ağır metallerin ve diğer çevresel kirlenmelerin etkileri olduğu artık kanıksanamayacak

bir gerçek olmuştur. Biz de bu çalışmamızda endometriyum dokusunda hava kirliliğine bağlı olarak ağır metal miktarlarını özellikle de Nikeli anlamlı, diğerlerini göreceli yüksek bulduk. Endometriyum dokusunda nikelin bu yüksekliğinin endometrial kompozisyonu etkileyerek düşük nedeni olabileceğini düşündürmektedir, fakat bunun etki mekanizmaları ve sonuçlarının daha net ortaya konulması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- 1- Şahin Ü. Çevresel Etkilere Bağlı Hastalıklar. Erişim: <http://www.cevrehekim.org.tr>
- 2- Akar G. Kömür Külü Atık Sahalarında Oluşacak Olan Ağır Metal Kirlenmesinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İzmir 2001.
- 3- Brown B, Ashanullah M. Effects of Heavy Metals on Mortality and Growth. Mar Poll Bull, 1971; 2: 182-187.
- 4- Şişman İ. Sapanca Bölgesinde TEM Otoyolundan Kaynaklanan Ağır Metal Kirliliği. Yüksek Lisans Tezi, Sakarya 1999. Pala MF. 17 Ağustos Depremi Sonrası Adapazarı Cadde ve Sokak Tozlarında Ağır Metal Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Sakarya 2001.
- 5- Chescoe D, Goodhew PJ. The Operation of Transmission and Scanning Electron Microscopes. New York, Oxford University Press, 1990.
- 6- Lorimer GW. Quantitative X-Ray Microanalysis of thin specimens. Chapman NJ, Craven AJ (Ed). "Quantitative Electron Microscopy" Proceedings of the 25th Scottish Summer School in Physics. Edinburgh, 1984; 305-335.
- 7- Oliver T. A lecture on lead poisoning and the race. Br J Med. 1:1096-1098.
- 8- Beckman L, Nordstrom S. Occupational and environmental risk in and around a smelter in Northern Sweden: IX. Fetal mortality among the wives of smelter workers. Hereditas 1982;97:1-7.
- 9- McDonald AD, Armstrong B, Cherry MN, Dolerme C, Diodati-Nolin A, McDonald JC, Robert D. Spontaneous Abortion and Occupation. Journal of Occupational Medicine 1986; 12(28): 1232-1238.
- 10- Ferm VH. The Teratogenic effects of metals on mammalian embryos. Adv Teratol 1972;6: 51-75.
- 11- Fuyuta M, Fujimoto T, Hirata S. Embryotoxic effects of methylmercuric chloride administered to mice and rats during organogenesis. Teratology 1978;18:353-366.
- 12- Lu C, Matsumoto N, Iijima S. Teratogenic effects of nickel chloride on embryonic mice and its transfer to embryonic mice. Teratology 1979;19:137-142.
- 13- Sjakmaary E, Ungvaary G, Naaray M, Mede A, Taatrai E, Morvai V. Harmful Effects of Heavy Metals (chromium, nickel, cobalt) on Offspring. Teratology 1989; 40(3):298-299
- 14- Chashschin VP, Artunina GP, Norseth T. Congenital defects, abortion and other health effects in nickel refinery workers. Sci Total Environ. 1994 Jun 6;148(2-3):287-291.
- 15- Lancranjan I, Popescu HI, Gavanescu O. Reproductive Ability of Workmen Occupationally Exposed to Lead. Arch Environ Health 1975;30:396-401.
- 16- Assenato G, Paci C, Base ME. Sperm Count Suppression Without Endocrine Dysfunction in Lead exposed Men. Arch Environ Health 1987; 42:124-127.
- 17- Winder C. Reproductive and chromosomal effects of occupational exposure to lead. Reprod Toxicol 1989;3:221-226.
- 18- Comoratto AM, White LM, Lau YS, Ware GO, Berry WD, Moriarty CM. Effects of exposure to low level lead on growth and growth hormone release in rats. Toxicology 1993;83:101-114
- 19- Sjakmaary E, Ungvaary G, Naaray M, Mede A, Taatrai E, Morvai V. Harmful Effects of Heavy Metals (chromium, nickel, cobalt) on Offspring. Teratology 1989; 40(3):298-299.
- 20- Inoye M. Teratology of heavy metals: mercury and other contaminants. Congenital Anomalies 1989;29:333-44.