

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**İNTRAUTERİN GELİŞME GERİLİĞİNDE MATERNAL KAN, KORDON
KANI VE PLASENTADA AĞIR METAL DÜZEYİ**

Dr. Dilek ACAR YÜKSEL

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI TIPTA

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Acar KOÇ**

**ANKARA
KASIM 2015**

KABUL VE ONAY

Düzenleme tarihi: 24/12/2014

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN	
Adı, Soyadı : Dilek ACAR YÜKSEL	Sınav tarihi: 06 / 11 / 2015
Anabilim/Bilim Dalı : Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı	
Tez Danışmanı : Prof.Dr.Acar KOÇ	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER	
Tezin Başlığı: İntrauterin gelişme geriliği olan vakalarda maternal kan, kordon kanı ve plasentada ağır metal düzeyi.	
Tezin Niteliği:	<input checked="" type="checkbox"/> Ana Dal Uzmanlık Tezi <input type="checkbox"/> Yan Dal Uzmanlık Tezi
Kaçıncı tez sınavı olduğu:	<input checked="" type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3

III. KARAR	
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak	
<input checked="" type="checkbox"/> Kabulüne	
<input type="checkbox"/> Reddine	
<input type="checkbox"/> Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine	
<input checked="" type="checkbox"/> Oy birliği <input type="checkbox"/> Oy çokluğu ile karar verilmiştir.	

IV. AÇIKLAMALAR	
Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız	

Jüri Başkanı
Prof.Dr.Acar KOÇ
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

Jüri Üyesi
Prof.Dr.Bülent BERKER
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

Jüri Üyesi
Prof.Dr.Yüksel ARIKAN ONARAN
Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

ÖNSÖZ

Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü tarafından desteklenen 14L02230010 Nolu ‘İntrauterin Gelişme Geriliğinde Maternal Kan,Kordon Kanı ve Plasentada Ağır Metal Düzeyi’ başlıklı proje kapsamında gerçekleştirilen uzmanlık tezimin gerçekleşmesinde her aşamasında doğrudan katkılarından dolayı saygıdeğer hocam Prof.Dr Acar KOÇ’a çalışmamın yapılma aşamasında yardımlarından dolayı Uzm.Dr.Doruk KATLAN ,Uzm.Dr Tuncay YÜCE ‘ye ,laboratuar aşamasındaki yardımlarından dolayı Doç.Dr Zeliha KAYAALTI,Dr. Bayram YÜKSEL ve Dr. Dilek KAYA AKYÜZLÜ’ye uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleriyle bana katkıda bulunan tüm hocalarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Dilek ACAR YÜKSEL

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

KABUL VE ONAY	İ
ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLOLAR DİZİNİ	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	Vii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İNTRAUTERİN BÜYÜME VE GELİŞME GERİLİĞİNİN TANIMLANMASI.....	3
2.2. SGA, IUGR AYRIMI	4
2.3. IUGG'Lİ FETUSLARIN TESPİTİ	6
2.4. İNTRAUTERİN GELİŞME GERİLİĞİ VE AĞIR METAL TOKSİSİTESİ	7
2.4.1. Civa	10
2.4.2. Kurşun	11
2.5. MATERNAL - FETAL SİSTEMDE KURŞUN VE CİVA KONSANTRASYONLARI.....	13
2.6. KURŞUN VE CİVANIN PLASENTAL TOKSİKOKİNETİĞİ	14
2.7. KURŞUN, CİVA PLASENTAL TOKSİKODİNAMIĞI	15
2.8. İNSAN PLASENTASININ DETOKSİFİKASYON POTANSİYELİ	15
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	18
3.1. HASTA GRUBU	18

3.2. KAN VE PLASENTA ÖRNEKLERİ.....	18
3.3. ÖRNEKLERİN METAL ANALİZİ	19
3.3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	19
3.3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	19
3.4. YÖNTEM	20
3.4.1. Analiz Öncesi Ön İşlemler	20
TABLO 3.1. MİKRODALGA FIRINA AİT PLASENTA VE SERUM ÖRNEKLERİ	
YIKILAMA PROGRAMI	20
3.4.2. Kurşun Analizi İşlemleri	20
3.4.3. Civa Analizi İşlemleri	23
3.4.4. Validasyon.....	25
3.4.5. Doğruluk (Gerçeklik)	26
3.5. İSTATİSTİK.....	26
4. BULGULAR.....	27
5. TARTIŞMA	31
6. SONUÇ.....	39
ÖZET.....	40
ABSTRACT	42
7. KAYNAKLAR	44

TABLULAR DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 3.1. Mikrodalga fırına ait plasenta ve serum örnekleri yıkılama programı... 20	20
Tablo 3.2. Serum ve plasenta örneklerinde kurşun analizine ait grafit fırın sıcaklık programı..... 22	22
Tablo 3.3. Kurşun analizi için Varian AA240Z Zeeman Atomik Absorpsiyon Spektrometre cihazında uygulanan metod. 22	22
Tablo 3.4. Civa analizi Absorpsiyon Spektrometre cihazında uygulanan metod..... 24	24
Tablo 3.5. Kurşun ve Civa Metalleri için Gözlenebilme ve Alt Tayin Sınırları 25	25
Tablo 3.6. Kontrol referans materyalleri ile yapılan doğruluk çalışmasının özeti ... 26	26
Tablo 4.1. Normal ve IUGG'li annelerin özellikleri 27	27
Tablo 4.2. Normal ve IUGG'li fetusların özellikleri 28	28
Tablo 4.3. Normal ve IUGG'li olgularda kordon kanı, maternal kan ve plasentada Kurşun ve Civa düzeyleri 28	28

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 2.1. Ağır metallerin plasenta aracılığı ile maternal dolaşım ve fetüs arasındaki etkileşimi.....	17
Şekil 3.1. Kurşun analizine ait kalibrasyon grafiği	21
Şekil 3.2. Civa analizine ait kalibrasyon grafiği.....	23
Şekil 4.1. Normal ve IUGG'li olgularda maternal kan, kord kanı ve plasenta da ortalama Civa düzeyi.....	29
Şekil 4.2. Normal ve IUGG'li olgularda maternal kan, kord kanı ve plasenta da ortalama Kurşun düzeyi.....	30

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AC	:	Abdominal çevre
AGA	:	Appropite for Gestational Age (Haftasına göre uyumlu fetüs)
Hg	:	Civa
IUGG	:	İntrauterin Gelişme Geriliği
Pb	:	Kurşun
SGA	:	Small for Gestational Age (Haftasına göre küçük fetüs)
TFA	:	Tahmini Fetal Ağırlık

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tüm gebeliklerin %10-15'i intrauterin gelişme geriliği ile komplike olmaktadır. IUGG tanımlamasında en sık kullanılan ifade, ultrasonografi ile fetal ağırlığın gebelik haftasına göre %10 persentilin altında olmasıdır. Sıklıkla SGA ile IUGG birbiri ile karışabilmektedir. SGA intrauterin gelişme geriliği olmayıp gestasyonel yaşa göre küçük fetusları tanımlar. Maternal ve fetal dolaşım Doppler ultrasonografi ile değerlendirilmesi ile her iki tanım birbirinden ayrılabilir. IUGG'li fetuslarda sıklıkla umbilikal arter doppler akımı artan plasental disfonksiyon ve vasküler dirençten dolayı bozulmuştur. IUGG erken doğum, intrauterin fetal kayıp, intrapartum morbitidite operatif doğum sıklığı indidansının yüksekliği nedeniyle artmış perinatal mortalite ve morbidite ile ilişkilidir. Uzun dönemde serebral palsy, gelişme geriliği, yetişin dönemde gelişebilecek hastalıklar açısından gecikmiş morbiditelerle sonuçlanır. Birçok vakada IUGG nedeni plasental yetmezliğe bağlı olsa da konjenital anomaliler, enfeksiyonlar, ilaç ve madde bağımlılığı, sigara kullanımı, beslenme, çevresel faktörler etyolojide rol alır.

Prenatal periyot insan gelişiminde en hassas dönemdir. Bu dönemde gelişim fetal hücrelerin bölünme ve diferansiyasyonu ile karakterizedir. Bu hassas dönemde fetusa olabilecek herhangi bir nörotoksik stresör faktör fetal gelişimde aksamalara yol açabilir. Civa ve kurşun potansiyel toksik özelliklere sahip çevresel faktör olarak halk sağlığını tehdit eden biyoakümülatif özelliğe sahip toksinlerdir. Her iki metal insan besin zincirinde eşit olarak bulunmakla birlikte erken fetal dönemde maruziyet ve toksisite riski diyet ve beslenme durumuna bağlıdır. Fetal gelişim sırasında maternal kurşun ve civa maruziyeti emzirme dönemindeki maruziyetten daha önemlidir. Fetal ve infantil dönemdeki maruziyet maternal amalgam dolgu, balıkla beslenmeye bağlı olabilirken, kurşun maruziyeti ise komplekstir. Maternal kurşun emilimi besinsel etkileşimle ilişkili olabilir. Maternal vücut kurşun düzeyi kemik ve kalsiyum metabolizması ile ilişkilidir. Kurşun ve civa temel olarak santral sinir sistemini etkileyen toksik metallerdir. CDC tarafından çocuk doğuran yaşta kadınlar da yüksek civa düzeylerinin fetus gelişimi üzerinde negatif etkiye neden olduğu raporlanmıştır (CDC 2001). Bazı çalışmalarda civanın fetus boyutlarında

küçülme, anemi, katarakt, konvülsiyon, işitme defektleri, mikrosefali, serebral palsi, mental retardasyon ve diffüz beyin hasarı gibi disfonksiyon ve anomalilere neden olabileceği raporlanmıştır. Gebelik boyunca anneden fetusa civa transmisyonu engelleyen bir bariyer yoktur. Kurşun maruziyeti ise gastrointestinal sistem, diyabet, hipertansiyon ve nörolojik defektlerle ilişkili bulunmuştur. Maternal ağır metal maruziyeti civa ve kurşunun plasental transferi nedeniyle savunmasız olarak fetusu ve gebe kadını etkiler. Maternal kan civa ve kurşun konsantrasyonu plasental yolla fetusu etkiler. Bu bağlamda ııgr saptanmış fetuslarda ağır metal maruziyeti araştırılabilir. In utero etkilenmeyi göstermek için bir çok çalışmada maternal kan, kordon kanı, plasenta da ağır metal düzeyleri araştırılmıştır. Yapılan bu çalışmalar toplum bazlı olup daha çok ağır metal toksisitesinin fazla olabileceği spesifik sanayi şehirlerinde ya da az gelişmiş ülkelerde buna benzer örnekler çoktur. Yapılan çalışmalar da ağır metal düzeyinin perinatal sonuçları etkilediği maruziyetin fazla olduğu fetuslarda gelişme geriliği izlendiği, sonrası için nöromotor gelişimde gerilik izlendiği belirtilmiştir.

Bizde bu çalışmadan ve önceki geniş kapsamlı çalışmalardan yola çıkarak intrauterin gelişme geriliği tespiti yapılmış vakalarda maternal kan, kordon kanı ve plasenta da ağır metal düzeyini araştırarak bunu sağlıklı kontrollerle karşılaştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İNTRAUTERİN BÜYÜME VE GELİŞME GERİLİĞİNİN TANIMLANMASI

İntrauterin gelişme geriliği fetusun genetik olarak programlanmış gelişme potansiyeline patolojik nedenlerden dolayı ulaşamamasıdır (1).

Tüm gebeliklerin %5-10'i intrauterin gelişme geriliği ile komplike olmaktadır (5).

Fetal küçüklüğün tanısı sıklıkla ultrason ile belirlenmiş tahmini fetal ağırlığın 10. percentilin altında olması ile konur.

Bu tanım 10. percentilin altında olmayan gelişme gerilikli olgular için sensitif değildir fakat kötü perinatal sonuçlar için risk altında olan gebelikleri tanımlayabilir (1).

Literatürde fetal gelişim geriliği tanımı çeşitlidir. Doğum ağırlığının gestasyonel yaş için 10. percentilin altında olması IUGG için sık kullanılan tanım olmasına rağmen fetal ağırlığın gestasyonel yaş için 3-5-10. percentilin altında olması veya 2 SD altında olması, doğum ağırlığının 2500 gr in altında olması, fetal abdominal çevrenin gestasyonel yaş için 2SD altında olması da kullanılan diğer tanımlardır (2, 3).

The American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) IUGG'ni tahmini fetal ağırlığın gestasyonel yaş için 10. percentilin altında olması olarak tanımlar (6).

WHO ise IUGG'ni tahmini fetal ağırlığın 3. percentilin altında olması olarak tanımlar.

RCOG'a göre de SGA ve IUGG birbirinden farklı tanımlardır. IUGG ve SGA ile eş anlamlı değildir. SGA ise tahmini doğum ağırlığının ve fetal abdominal çevrenin 10.p altında olması olarak tanımlanırken ciddi SGA ise TFA ve AC'inin 3.Persentilin altında olması olarak tanımlanır (8).

Her ne kadar doğum ağırlığının 10., 5., ya da 3. Persentilin altında olması düşük doğum ağırlıklı ya da SGA bebekleri yansıtsa da bu tanım genetik olarak küçük ya da patolojik süreçlere bağlı düşük doğum ağırlığı olan fetusları ayırmada yetersizdir (3).

Doğru IUGG tanımı daha iyi neonatal sonuçlar için önemlidir. Bu aşamada klinisyen elverişsiz intrauterin ortamdaki gerçek risk altındaki fetusları tespit ederken ve sağlıklı fakat küçük fetusları aşırı gereksiz tedaviden koruyarak fetal ve maternal riskleri azaltmalıdır (4).

2.2. SGA, IUGR AYRIMI

IUGG tanımlamasında en sık kullanılan ifade, ultrasonografi ile fetal ağırlığın gebelik haftasına göre %10 persentilin altında olmasıdır bu tanım ele alındığında sıklıkla SGA ile IUGG birbiri ile karışabilmektedir. SGA intrauterin gelişme geriliği olmayıp gestasyonel yaşa göre küçük fetusları tanımlar (4).

IUGG terimi ise SGA'nın bir alt grubunu ve daha spesifik şekilde patolojik olarak küçük fetusları tanımlamaktadır.

Maternal ve fetal dolaşım Doppler ultrasonografi ile değerlendirilmesi ile her iki tanım birbirinden ayrılabilir.

SGA olarak tanımlanan fetusların %50-70 i maternal yapı ve etnik köken göz önüne alındığında konstitüsyonel olarak küçüktür fakat sağlıklıdır. Haftasına göre küçük fetuslar genellikle haftasına göre doğum ağırlığı 10. Persentilden küçük olan fetusları tanımlar (11, 12).

Ortalama %10-15 SGA fetus gerçek IUGG olarak sınıflandırılır diğer %5-10'luk kesim ise kromozomal/yapısal anomaliler ya da kronik uterin enfeksiyonlarla ilişkilidir (11, 12).

IUGG de ki gelişim geriliği genetik olarak belirlenen potansiyele patolojik nedenlerden dolayı ulaşamaz. Bunun sonucu olarak gelişme gerilikli fetuslar anormal doppler bulguları, azalmış amniotik volüm gibi risklerle karşı karşıyadır.

TFA 10.persentilin altında 1200 gebenin ele alındığı PORTO çalışmasında yaşayan infantların %72 sinin normal perinatal sonuçlara sahip olduğu ve aynı çalışmada TFA 3. persentilin altında ve/ve ya anormal umblikal arter doppleri olan infantların ise artmış kötü perinatal riski olduğu yayınlanmıştır (7).

Bu nedenle fizyolojik olarak SGA ve patolojik IUGG olan vakaların ayırt edilmesi önemlidir.

Kesin IUGG tanısı koymak zordur ve uygun tedavi altında daha iyi neonatal sonuçlara ulaşılabilir.

Klinisyenin temel amacı zamanında intrauterin çevre altında risk altında olan fetusu saptamak uygun yaklaşım için zaman kazanmaktır. Küçük fakat sağlıklı fetusu tanımlamak gereksiz maternal ve fetal komplikasyonu önlemek açısından önemli bir belirteçdir (4).

IUGG olduğu düşünülen fetusun ultrasonofik ölçümleri, özellikle abdominal çevre, seri ultrason takip ölçümleri beklenen gebelik hastasına göre düşüktür. Genellikle normal gelişim ve gebelik yaşına uygun ultrasonografik ölçümlere göre sıklıkla 5. ve 10. Persentilin altındadır (13, 14).

IUGG li infant intrauterin plasental disfonksiyona bağlı patolojik sebepten dolayı kendi genetik büyüme potansiyeline ulaşamaz (1).

IUGG’li fetuslarda sıklıkla umblikal arter doppler akımı artan plasental disfonksiyon ve vasküler dirençten dolayı bozulmuştur (1).

IUGG’li infantlarda perinatal mortalite oranı normal fetuslara göre 10-20 kat artar. Artmış perinatal mortalite ve morbiteye neden olduğu kadar uzun dönem sonuçlar incelendiğinde birçok erişkin hastalığına zemin hazırlar (1, 9, 10).

Bugun ki verilere bakıldığında IUGG nin uzun dönem etkileri olarak geç dönemde koroner hastalıklara yatkınlık, tip 2 diabetes mellitus, hipertansiyon, osteoporoz görülebilir (10, 13).

Birçok vakada olduğu gibi plasental bozukluğun neden olduğu IUGG de, klinik bulgu olmasa bile bu tür vakalar genellikle SGA fetusları saptarken ve plasental ve fetal fonksiyonlar plasental disfoksiyonu işaret ediyorsa tespit edilir.

SGA fetusları ve gerçekten IUGG olan fetusları ayırt etmede doppler usg ve ultrasonografik biyometri önemli rol oynar (11, 15).

2.3. IUGG'Lİ FETUSLARIN TESPİTİ

SGA fetusun tespiti sıklıkla ultrasonografik olarak beklenen fetal ağırlığın ya da beklenen standart fetal ölçümlerin (abdominal çevre) standart IUGG büyüme eğrileri ile karşılaştırılması ile konur (15).

Ultrasonografik olarak belirlenmiş değer belirlenmiş cut off değerinin altındaysa, örneğin fetal ağırlık 10. persentilin altındaysa bu SGA varlığına işaret eder.

10. persentili sınır olarak aldığımızda, normal gelişim hızında ve normal fonksiyona sahip plasentaya sahip olan sağlıklı SGA fetusların büyük çoğunluğu saptanır.

3. persentil ya da 5. persentili sınır olarak alırsak IUGG'li fetusları tespit etme prevalansı artar.

İsviçre de SGA; fetal ağırlık ve doğum ağırlığının standart populasyon büyüme eğrisinin 2 standart sapma altı olarak tanımlanır. Standart olarak fetus ve yenidoğan için büyüme eğrisi ultrasonografik olarak belirlenmiş tahmini ağırlıklara göre belirlenir ve terme kadar intrauterin gelişim buna göre takip edilir.

SGA fetusların tespiti; sağlıklı SGA fetusları gerçek IUGG olan fetuslardan ayırt etmekte daha ileri araştırma için olanak sağlar (15).

Geniş çalışmalarda gösterildiği üzere doğumdan önce tespit edilmeyen SGA fetuslarda kötü gebelik sonuçları (hipoksik iskemik ensalopati, 5.dk apgar skorunun <4, neonatal konvülsiyonlar, asidoz, serebral palsy, perinatal ya da infantil ölüm) doğumdan önce tespit edilenlere göre 4 kat artmıştır (16). Aynı zamanda riskin büyüklüğü gelişme geriliğinin derecesine bağlıdır.

2.4. İNTRAUTERİN GELİŞME GERİLİĞİ VE AĞIR METAL TOKSİSİTESİ

Dünya çapında artan endüstriyel kirlilik gerek suni gerekse doğal yanma aktivitelerinin sonucu olarak ortaya çıkmakta ve istemli ya da istemsiz şekilde bir çok kaynaktan ağır metal, organik hidrokarbon, pestisid maruziyetinde kalmaktayız.

Toplum sağlığını tehdit eden bu kirletici potansiyel artan şekilde devam etmektedir ve özellikle fetal gelişim periyodu dönemi bu açıdan çok önemlidir (17).

Prenatal yaşam yüksek oranda fetal hücresel bölünme ve farklılaşmanın olması bu dönem insan gelişimi için en hassas evredir. Bu nedenden dolayı fetus ve yenidoğan üzerine olan toksik etkileri oldukça büyük bir ilgi görmüştür. Erişkin ile karşılaştırıldığında bir çok biyokimyasal yolda farklılıklar olduğu bilinmektedir, özellikle çok düşük düzeyler belki anneyi etkilemese de fetus bu dönemde teratojenlere hassastır (18).

Bu durum ileri yaşam süresinde kronik hastalılar için zemin hazırlayabilir (19).

Maruziyetin olduğu dönemdeki fetal gelişim evresi maruziyetin sonuçları açısından önemlidir. Eğer ki maruziyet organogenezis döneminde meydana gelirse organlarda kalıcı yapısal bozukluklara yol açabilir. Maruziyet organogenezis döneminden sonra olursa fonksiyonel bozukluklara yol açabilir. İmmün, respiratuar ve santral sinir sistemi doğum sonrası maruziyete karşı savunmasızdır, çünkü doğumdan sonra immatür olan bu sistemlerin postnatal maturasyonu uzun bir periyodu içerir (20).

Bundan dolayı toksikokinetik olaylardaki çeşitlilik erişkinlerle karşılaştırıldığında özellikle hepatik ksenobiyotiklerle renal fonksiyon arasındaki ilişki, bu maddelere karşı duyarlılığı artırmaktadır (21).

Bu yüzden in utero ağır metal maruziyeti birkaç dekaddır yaygın bir şekilde araştırılmaktadır.

Bu nedenle gebelik sonuçları üzerine tehdit oluşturması ve düşük dozlarda bile kötü sonuçlara yol açmasından dolayı çoğu uluslararası kılavuzda tarafından artan bir endişe olarak izlenmekle birlikte çevresel maruziyetin gebelik sonuçları üzerine olumsuz etkisinin bir eşik değer alınmaması ve en mantıklı yaklaşımın çevresel maruziyeti tüm bireyler üzerinde azaltmak olmalıdır (22, 23).

Ağır metal fetusa geçişi transplasental transfer ile olmaktadır. Gebelik boyunca plasenta besin, oksijen geçişine karşı selektif bir bariyer oluşturmakta toksik komponentlerin geçişini önlemektedir. Birçok çalışmada in vivo ve ya in vitro plasental modellerde çevresel maruziyetin fetal gelişim üzerine olan etkisi araştırılmıştır (24, 25).

Çevresel toksinlere in utero maruziyet değerlendirilmesi umbilikal kan ve maternal kan örneklemeyle yapılmıştır (26).

Non invaziv olarak plasenta bir çok biomonitörize çalışmada periferel kandan alınan invaziv yöntemlere alternatif olarak kullanılması plasentayı toksik metaller için dual bir biomarker aynı fetomaternal sağlığın göstergesi kabul etmiştir (27).

Normal trofoblastik fonksiyon implantasyon, hormon üretimi, selektif materno -fetal bariyer oluşumu, uygun fetal gelişim için fetoplasental ünitenin kurulması ve bakımını içerir (28).

Maternal sitotoksikan ajan maruziyeti bu hücrelerin destrüksiyonuna, özellikle son evre olarak farklılaşmış sinsiyo trofoblastlara, etki ederek sayısız şekilde kötü gebelik sonuçlarına neden olur. Bu sonuçlar intrauterin gelişme geriliğinden malformasyonlara, spontan abotuslara ve erken doğuma kadar uzanabilir (28).

İntrauterin gelişme geriliğinin preterm doğumlardan sonra 2.sırada neonatal mortalite ve morbidite sebebidir.Yeni çalışmalarda kötü fetal beslenmenin IUGG ile sonuçlandığı ve toplum sağlığı üzerinde ileri dönemde bazı kronik hastalıklara zemin hazırladığı üzerinde durulmuştur. Kötü gebelik sonuçlarının etiyojisi multifaktöriyel olsa da fetal gelişimde plasental fonksiyonun rolü önemlidir, plasental disfonksiyon özellikle uzun vadede yetişkin sağlığı için önem arzeder (29, 30).

Tanımlanmış bazı kötü gebelik sonucu nedenleri ise prenatal alkol maruziyeti ve sigara, gestasyonel enfeksiyon, ağır metal gibi çevresel kirleticiler ve hormonal etkiyi durdurucu etmenlerdir.

İntrauterin gelişme geriliğinde izlenen düşük doğum ağırlığı gebelik boyunca gelişen çeşitli zararlı faktörlerin bir sonucudur. Bunlar maternal enfeksiyon, gebelik öncesi ve gebelikle yetersiz beslenme, ilaç bağımlılığı, hipertansiyon ve çevresel kimyasallara maruziyettir.

Bilinen çevresel maruziyetler sigara içilmesi, hava kirliliği partikülleri, kurşun ve diğer ağır metaller fetal gelişimi etkilerler. Plasenta çoğu toksik metalin fetusa geçmesini önlemek için bir bariyer olsa da (cd) bazı maddeler için önleyici olamamaktadır (pb, hg)Aynı zamanda bazı toksik metallerin plasentadaki akümülyasyonu anormal plasental fonksiyona yol açarak besin transportunu bozar.

Daha sonraları intrauterin gelişme geriliğinde izlenen bazı geçikmiş büyüme paternlerine neden olur. Diğer taraftan gebelik sıklıkla mitokondrik plasentadan dolayı, oksidatif strese yardım eder ve durum metal ve ya non metal toksikanların varlığı ile gelişir. Gebelikte kurşun, arsenik, kadminyum maruziyetine bağlı oksidatif hasar indüklenir.

Ağır metal maruziyeti besin zinciri, içme suyu ve hava yoluyla olabilmektedir. Metabolizan ve toksik etkiler ise metalin türü, maruziyet süresi ve periyoduna, fizyolojik ve nutrisyonel duruma bağlı olarak değişiklik göstermektedir (31).

Erken dönemde toksisite riskini belirlemek çevresel maruziyet, diyet alışkanlığı, beslenme durmu ve fizyolojik faktörlerin bilinmesine bağlıdır (31).

Civa ve kurşun glutatyon ve protein bağılı sülfidril gruplarını tüketerek süperoksit iyonlar, hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen radikallerinde artışa neden olur (32).

2.4.1. Civa

Civa insan vücudunda inorganik, metalik ve organik formlarda doğal olarak bulunmaktadır (33).

Yaygın inorganik civa kaynakları hava ve su kirliliği, bazı cilt kremleri, bitkisel ilaçlardır.

Akut inorganik civa maruziyeti akciğer hasarına yol açar. Kronik zehirlenme ise depresyon, kişilik bozukluğu, anksiyet, uyku bozukluklarına neden olur. Maruziyetin kesilmesi ile semptomlar düzelir.

Metalik civa ise tipik olarak dental amalgam ve endüstriyel maruziyetten kaynaklanır. Diğer muhtemel muhtemel metalik civa kaynakları ise floresan ışık lambaları, bilgisayar ekranları ve endüstriyel alanda kullanılan katod ışın tüpleridir (U.S.EPA, 2002).

Metalik civa allerjen özelliğindedir kontakt egzemaya neden olabilir ve dental amalgam oral likeneye yol açar.

Metallik civa böbrek hasarına yol açarak proteinüriye yol açabilir.

Organik civa kaynağı olarak balık tüketimidir ve organik civa metallik civanın major kaynağıdır.

1950'li lerde Japonya da denizdeki civa değişikliklerine bağlı kontamine balıkların yenmesiyle metil civa zehirlenmesine bağlı Minimata felaketi ile sonuçlanmıştır.

1970'lerde Metil civa ile kontamine tahıllardan yapılan ekmekler sonucu Irakta 10, 000 kişi hayatını kaybetmiştir.

Metil civa zehirlenmesi erken dönemde ellerde ve ayaklarda parestezi, hissizlik ile başlar sonra koordinasyon bozuklukları ve vizüel ve duysal sistemde bozukluklara yol açar. Yüksek dozlar bu semptomların başlamasından 2-4 hafta sonra ölüme yol açabilir (33).

Prenatal dönemde civa maruziyeti nörogelişimsel defektlerle, düşük doğum ağırlığına yol açar (34, 35).

Fetus organogenezis döneminde civanın kan-beyin bariyeri ve plasentayı doğrudan geçebilmesinden dolayı civa maruziyetine oldukça hassastır.

Birçok çalışmada civanın annede herhangi görülebilir semptoma olmadan fetal temasın doğum sonrası santral sinir sistemindeki defektlerden doğum ağırlığındaki azalmaya kadar geri dönüşümsüz hasarlara yol açtığı bildirilmiştir (36, 37).

Son zamanlarda civa maruziyetine kalan fetuslarda doğum ağırlığı üzerinde bir çok çalışma yapılmıştır (38, 39).

Bir çok çalışmada kan civa düzeyinin azalmış doğum ağırlığı ile ilişkili bulunurken (40) bazı çalışmalarda kan düzeyi, saç düzeyi ile ilişkili olmadığı öne sürülmüştür (38).

2.4.2. Kurşun

Genel populasyon hava ve besin yoluyla eşit oranda kurşun maruziyeti altındadır.Önceleri kurşun kaplama tencereler risk oluştururken, kurşun yakın zamanda porto şarabını tatlandırmak için kullanılmıştır.

Son yüzyılda kurşun kaynaklı hava kirliliği, özellikle kurşun içeren petrol ürünlerinden dolayı risk oluşturmaktadır.Bir kaç dekattır kurşunsuz petrol ürünleri

kullanımı ile hava daki kurşun yayılımı gelişmiş ülkelerde azalmıştır, takiben toplum kan kurşun düzeylerinde azalma izlenmiştir.

Hava kaynaklı kurşun toprak ve suda depolanarak desin zinciri yoluyla insan hayatını tehdit edebilir.

Kandaki kurşun eritrositlere bağlanır bu yüzden eliminsyonu yavaştır başlıca üriner yolla vücuttan atılır.

Kurşun ile akut zehirlenme baş ağrısı, irritabilite, karın ağrısı ve santral sinir sistemi ile ilgili çeşitli semptomlara yol açar.Kurşun ensefalopatisi uykusuzluk ve huzursuzlukla karakterizedir.

Çocuklarda ise öğrenme ve konsantre olmada zorlanma, davranışsal bozukluklar ile karakterizedir.

Akut zehirlenme proksimal renal tubuler nekroza yol açabilir.

Uzun dönem zehirlenme bulgusu olarak kurşun hemoglobin sentezini bozarak anemiye neden olur.

Bazı çalışmalarda kurşunun zayıf ölçüde de olsa kansere yol açabileceği rapor edilmiştir (41). Kurşun maruziyeti intrauterin gelişmeyi etkileyebilir (42, 43).

Kan beyin bariyeri ve plasenta fetusa kurşun ve civa geçmesini önleyemez, altta yatan mekanizma hala anlaşılamamıştır (44, 45).

Çocuklarda kan kurşun düzeyinin <10 µg/dl altı kabul edilebilir düzey olsa da bu düzeyin altında bile düşük düzeyde kurşunun bile toksik etkileri gözlenmiştir (46).

Fetal beyin hızlı gelişmenin merkezidir, bu nedenle prenatal yaşam boyunca maruz kalınan minör çevresel etki bile ileriki yaşam için kognitif fonksiyonlarda bozukluklara yol açabilir.

Düşük düzey kurşun ve kötü nörodavranışsal etkileri birçok çalışmada belirtilmiştir (47).

Gebelikte ek olarak kurşun maruziyetine ortam oluşturur, kemiklerde depolanmış kurşunun serbestleşerek potansiyel endojen kaynak olması ile artan kan kurşun düzeylerine katkıda bulunur (48, 49).

Aynı zamanda prenatal yaşam boyunca kurşunun vücuttan atılımı yeterli değildir ve bu da kan kurşun düzeyinde artışa büyük katkıda bulunur (50).

Böylece artmış kan kurşun düzeyi serbestçe plasentayı geçerek fetusta birikir. Sonuç olarak, fetusun toksik etkenlere karşı duyarlı çevresinden dolayı, kurşun nöral hücrelerde irrevesibl etkilere neden olur (51).

Prenatal kurşun maruziyeti farklı trimesterlerde ya da doğum zamanında maternal kan ya da umbilikal kord kurşun düzeyi ölçülerek değerlendirilmiştir (52, 53).

2.5. MATERNAL - FETAL SİSTEMDE KURŞUN VE CİVA KONSANTRASYONLARI

Plasentada biriken ve plasenta yoluyla transfer olan metallerin miktarları farklıdır.

Kord kanındaki civa oranı maternal kandakinden genellikle daha yüksek bulunur. Metaanalizlerde gösterildiği üzere kord civa oranları maternal kan civa oranlarından nerdeyse iki kat fazladır. Bu bulgu maternal kana oranla daha yüksek hemoglobin, hematokrit ve plazma albümin değerlerinden dolayı olabilir fakat daha çok civanın aktif transport ile fetusa geçmesinden kaynaklanır (55).

Kord kanı kurşun düzeyleri ise maternal kan düzeyi ile eşit ya da daha düşük saptanır (54).

2.6. KURŞUN VE CİVANIN PLASENTAL TOKSİKOKİNETİĞİ

Kimyasal bileşikler plasentayı çeşitli mekanizmalarla geçerler. Bu geçiş maternofetal ve fetomaternal transfer ayırıcı membranların kalınlığına bağlıdır.

Erken gebelik boyunca, materno-fetal difüzyon aralığı 28-38 µm iken gebelik sonunda minimal difüzyon aralığı 4µm'dir.

Kolaylaştırılmış ve aktif transport un yanısıra veziküler transport da plasental bariyerin tabaka sayısından etkilenir (56).

İnsan plasentasında bu bariyer intervilloz aralık ve villöz yüzeyleri saran sınırsız trofoblast tabakasından oluşur, bu başlangıçta (ilk trimester) komplettir fakat daha sonra (ikinci ve üçüncü trimester) fetal endotelial hücreler gibi aralıktır ve sitotroblastik tabaka hakimdir.

Ekstravillöz trofoblast invazyonu ve spiral arter remodelinginden dolayı, intervillöz aralıktaki gerçek maternal kan akımı 12. haftadan sonra düzenlenir (54, 57).

Şaşırtıcı olarak kurşun ve civanın plasental toksikokinetiği az bilinmektedir. Kurşunun plasental hücrelere pasif difüzyon aracılığı ile iken, civanın kimyasal formu ise kendi hücrel uptake'ni belirler. Buhar halindeki civa pasif difüzyon ile taşınırken, metil civa ise aminosit yapıdaki taşıyıcılar ile aktif transportla taşınır ve kolaylıkla plasentayı geçerler.

İnorganik civa ise plasental dokuda hapsolür (58, 59).

Divalan metal transporter 1 (DMTP 1) ise kurşun ve kadmiyumun intestinal alımından sorumludur aynı zamanda bu metallerin plasental alımında da rol alır.

DMTP 1 in asıl fonksiyonu demir alımıdır. Bu taşıyıcı gebelik boyunca plasentada bolca eksprese edilir (60).

Metallotienin intrasellüler metal bağlanmasında en önemli role sahip proteindir. Büyük oranda sistein içerir. Bu da yüksek oranda metal bağlama özelliğini verir.

İnsan plasentasında mt hem fetal amniotik hücrelerde, maternal desidual hücrelerde hemde sinsityotrofoblast ve villöz intertisyel hücrelerde bulunur.

Kurşun, civa ve kadminyum plasentada mt sentezini indükler (61).

Hala kurşun, civa, kadminyum için plasental alım mekanizması hala net değildir. Deneysel olarak metallerin ABC ailesine ait MRP1, MRP2 VE P glikoprotein gibi taşıyıcılara sahip glutatyon kompleksine bağlanarak plasentayı geçtiği vurgulanmıştır (62).

Bunun yanında ratlarda organik anyon transportu yapan protein taşıyıcılar olduğu saptanmıştır, insan plasentadaki metal transportunda rol alabilirler (63).

2.7. KURŞUN, CİVA PLASENTAL TOKSİKODİNAMIĞI

Civa plasentada aminosit taşınmasını, plasental oksijen tüketimini, enzimlerin aktivitesini, hormon sekresyonunu ve membran akışkanlığını bozarak toksiiistesini gösterir.

Kurşun sinsityotrofoblastlara kalsiyum alımını engeller. Term bir plasentada kurşun temel olarak sinsityotrofoblastlarda depolanır, sitoktom oksidaz aktivitesini azaltır (54).

2.8. İNSAN PLASENTASININ DETOKSİFİKASYON POTANSİYELİ

Plasental hücreler çeşitli faz 1, faz 2 enzimler, akış pompaları ve antioksidanları eksprese ederler; fakat protein ekspresyon paterni gebelik haftasına bağlıdır.

İlk trimesterde gestasyonel kesenin devamı, gelişim için gerekli olan oksijen maruziyetine ile sınırlıdır. Buradan anlaşılacağı gibi ilk trimesterde erken gebelikte antioksidan koruma gücü tam olarak gelişmemiştir.

Aslında gebeliğin ilk 2 ayı boyunca villöz dokular özellikle sinsityotrofoblastlar düşük düzeyde antioksidan enzim aktivitesi gösterirler ve düşük konsantrasyonlarda glutatyon aktivitesine sahiptirler.

8. Gebelik haftasından sonra plasental dokularda antioksidan enzim aktivitesi artmaya başlar.

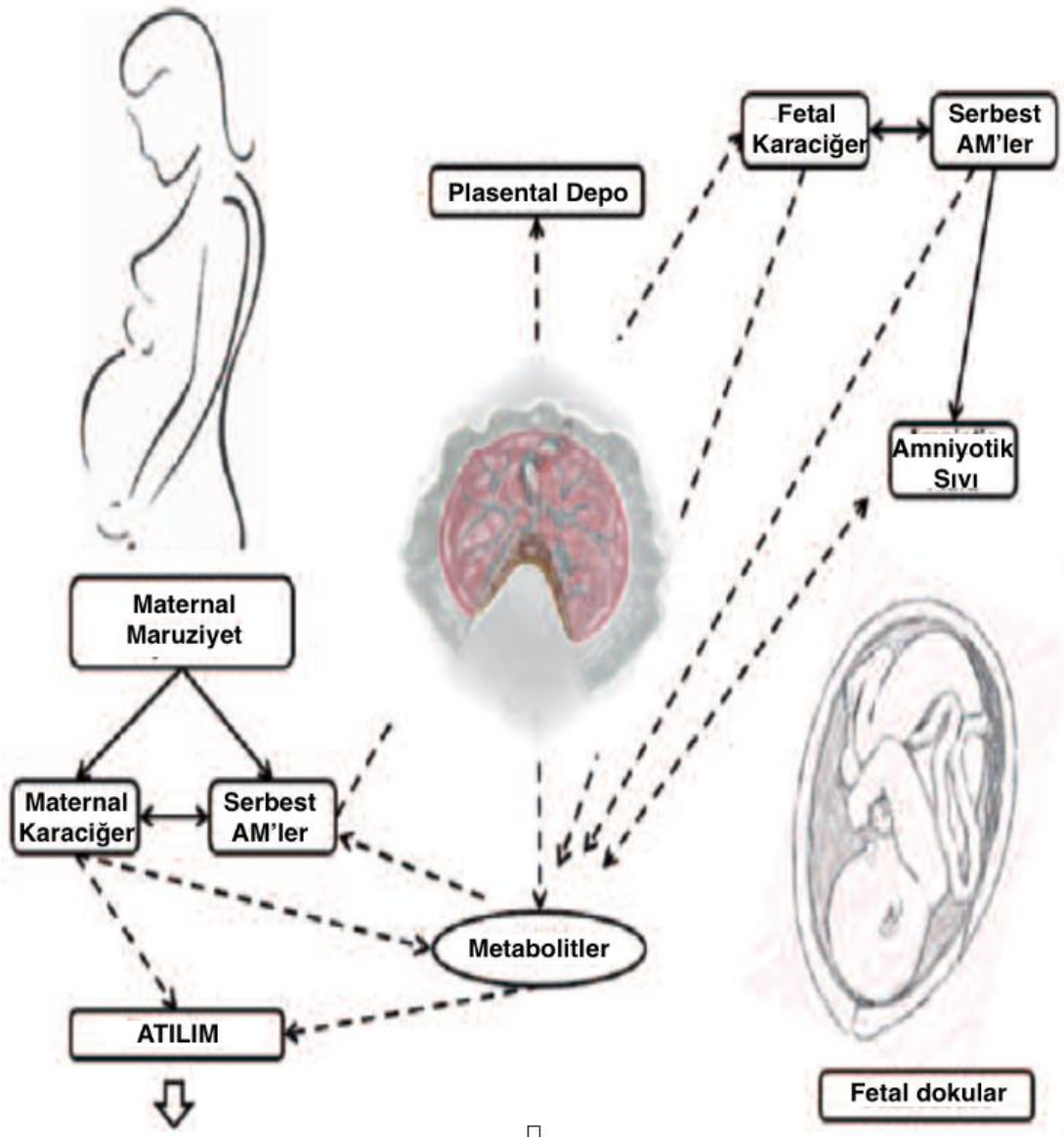
Özetle gebeliğin ilk 2 ayında fetal dokular serbest oksijen radikallerine karşı minimum korumaya sahiptirler. Bu nedenle gebeliğin erken döneminde özellikler fetal dokular maruziyete açıktır (64).

Glutatyon transferazlar glutatyon molekülü ile civa gibi elektrofil maddeler arasındaki konjugasyon reaksiyonlarını kataliz ederler. Glutatyon transferazların aktivitesi erken gebelikte başlayarak gebelik ortasına doğru artışı diğer GSH bağımlı enzimlerin aktivitesine bağlıdır (65).

MT sadece metal homeostaziste görev almazlar bunun yanı sıra antioksidan özelliklere de sahiptirler. MT oksidatif stresin indüklediği bazı trofoblastik fonksiyonları düzeltmez fakat ciddi oksidatif hasarın indüklediği apoptozisten korunmak için kritik role sahiptir. MT bu yüzden trofoblastik hücreler için apoptozisten koruyucudur (66).

ABC transporterlerin (MRPs, P-glycoprotein) ekspresyonu gelişimsel kontrol altındadır. P –glikoproteinler ilk trimesterden terme kadar aktiftirler.

MRP1 ve MRP2 ekspresyonu ise ilerleyen gebelik haftası ile artar. Plasental bariyerdeki lokalizasyonlarına bağlı olarak MRP'ler fetal ksenobyotik maruziyetini artırıp azaltabilirler (67).



Şekil 2.1. Ağır metallerin plasenta aracılığı ile maternal dolaşım ve fetüs arasındaki etkileşimi

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. HASTA GRUBU

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı kliniğine başvuran gerekli tetkikler sonrası IUGG tanısı konulan ve çalışma hakkında bilgilendirilip onamları alınan gebeler çalışma grubu olarak 41 ve kontrol grubu olarak ise 34 tane normal sağlıklı gebeliğe sahip gebe dahil edilmiştir.

Çalışmaya 24-38.gebelik haftalarındaki tekil canlı gebeliği olan gebeler dahil edildi. İntrauterin büyüme ve gelişme geriliği tanısı, erken gebelik haftası ultrasonografisi ile hesaplanan gebelik haftasına göre USGda abdominal çevresi – 2SD altında ve doppler parametrelerinde bozukluk izlenen olgular olarak tanımlandı.

Çalışmaya fetal kromozomal anomalisi olan ve fetal anomali tespit edilen, otoimmün hastalıklar gibi maternal vasküler hastalığa yol açabilecek patolojileri olanlar, maternal hipo/hipertirodi gestasyonel diyabet, Tip 1 ve tip 2 diyabetes mellitus gibi sistemik hastalığı olanlar dahil edilmedi.

3.2. KAN VE PLASENTA ÖRNEKLERİ

Olgulardan doğumdan hemen önce maternal venöz kan örnekleri alındı, fetus doğduktan sonra kordon klemplenip kesildikten sonra plasenta tarafında kalan kordondan kan örneği alındı ve plasenta çıktıktan sonra 3 farklı bölgeden örnekleme alındı. Alınan kan örnekleri 3500 devirde 10 dakika santrifüj edilip elde edilen serumlar ve plasentalar -80 c’de saklandı. Tüm hastaların örnekleri tamamlandığında alınan örneklerden kurşun ve civa analizleri Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü’nün Toksikoloji Laboratuvarında Atomik Absorpsiyon Spektrometre cihazı ile gerçekleştirildi.

3.3. ÖRNEKLERİN METAL ANALİZİ

3.3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

Atomik Absorbsiyon Spektrometresi	Varian AA240Z Zeeman
Hg Oyuk Katot Lambası	Varian Spectra AA Lamp
Pb Oyuk Katot Lambası	Varian Spectra AA Lamp
Grafit Tüp Atomlaştırıcı	Varian GTA 120
Grafit Tüpleri	Varian GTA
Pb Oyuk Katot Lambası	Varian
Hg Oyuk Katot Lambası	Varian
Örnek Vialı (2 ml)	Pothtech Elkay
Argon Tüpü	Vaşak Gaz
Hassas Terazı	Mettler Toledo 4 digit
Mikrodalga Fırın	Mars X press
Su Pürifikasyon Sistemi	Human UP 900 Scholar-UV
Etüv	Memmert
Otomatik Pipetler	Ephendorf
Polipropilen, Kapaklı Tüpler (15ml'lik)	
Cam Malzemeler	

3.3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Hg Standart Çözeltisi	AA Standart Etanol pour SCP
Pb Standart Çözeltisi	AA Standart Etanol pour SCP
Sodyum Hidroksit	Merck
Sodyum bor hidrür	Fluka
Hidroklorik Asit	Merck
Triton X	Scharlau
Nitrik Asit	Merck
Amonyum dihidrojen fostat	Merck

3.4. YÖNTEM

3.4.1. Analiz Öncesi Ön İşlemler

Her serum örneği 2'şer ml olacak şekilde EDTA'lı vakumlu tüplere alındı. Alınan serum örnekleri analiz zamanına kadar +4 °C'de saklandı. Daha sonra bu serum örneklerinden ayrı ayrı 1'er ml alınarak yüksek sıcaklığa dayanıklı mikrodalga teflon tüplerine konuldu. Daha sonra üzerlerine 5'er ml %65'lik nitrik asit (HNO₃) eklenerek, 1600 Watt'da 20 dakika boyunca mikrodalga fırında yıkılama işlemi yapıldı. Yıkılanan serum örnekleri 15 ml'lik döner kapaklı polipropilen tüplere aktarılıp, toplam hacim deiyonize su ile 10 ml'ye tamamlandı.

Alınan plasenta örnekleri etüvde +40 °C'de kurutulduktan sonra hassas terazide tartılıp yüksek sıcaklığa dayanıklı mikrodalga teflon tüplerine konuldu. Daha sonra üzerlerine 5'er ml %65'lik nitrik asit (HNO₃) eklenerek, 1600 Watt'da 20 dakika boyunca mikrodalga fırında yıkılama işlemi yapıldı. Yıkılanan plasenta örnekleri 15 ml'lik döner kapaklı polipropilen tüplere aktarılıp, toplam hacim deiyonize su ile 10 ml'ye tamamlandı.

Tablo 3.1. Mikrodalga fırına ait plasenta ve serum örnekleri yıkılama programı

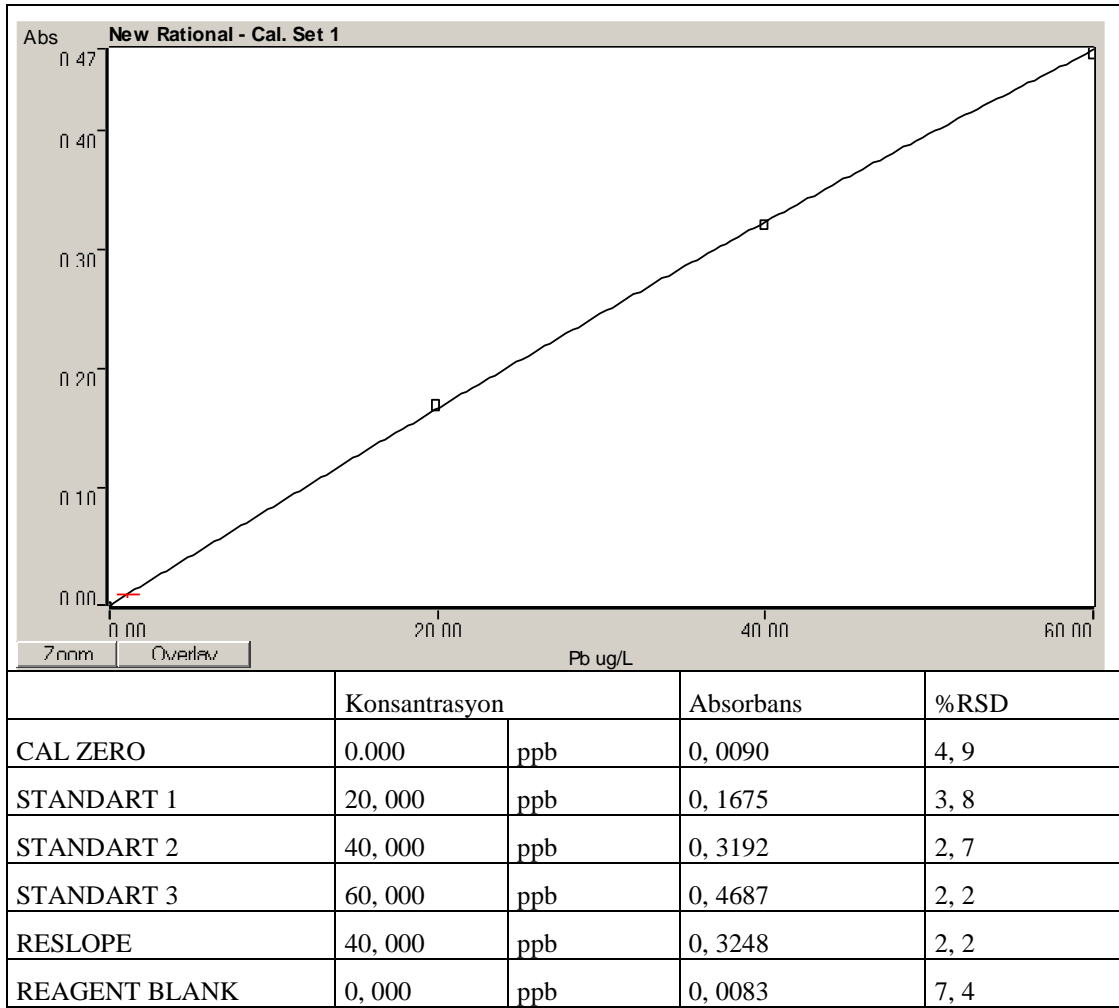
Max. Güç (Watt)	Güç %	Zaman (dak.)	Basınç	Sıcaklık (°C)	Bekleme (dak.)
1600	100	10:00	Maks.	210	10:00

Bütün örnekler analiz anına kadar kapaklı polipropilen tüplerin içinde +4 °C'de saklandı.

3.4.2. Kurşun Analizi İşlemleri

Analiz için uygun duruma getirilmiş olan serum ve plasenta örneklerindeki kurşun metali analizi için Grafit Fırınılı Atomik Absorpsiyon Spektrometre cihazı (Varian AA240Z Zeeman Atomik Absorpsiyon Spektrometre) kullanılmıştır.

Yöntemde kalibrasyon eğrisi oluşturmak için 1000 ppm (mg/L)'lik kurşun stok çözeltisinden 20, 40 ve 60 ppb ($\mu\text{g/L}$) konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır. Kurşun standartlarını ana stoktan seyrelterek hazırlamak için %2'lik nitrik asit çözeltisi kullanılmıştır. Kurşun analizi için matris düzenleyici olarak Amonyum dihidrojen fostat (5 mg/ml) kullanılmıştır. Kurşun analizine ait kalibrasyon grafiği şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Kurşun analizine ait kalibrasyon grafiği

Kalibrasyon eğrisi için her bir standart çözelti için 3 kez ölçüm yapıldı. Kurşun analizi için dalga boyu 283,3 nm olarak ayarlandı. Ölçüm kalibrasyon eğrisi için konsantrasyon, biyolojik örnekler için ise pik yüksekliği ile yapıldı. Kalibrasyon 50 örnekte bir tekrarlandı. Örnekler için ise üçer kez ölçüm yapıldı. Atomlaştırıcı olarak grafit fırın ve ortam gazı olarak Argon kullanıldı. Absorbans verisi 2100 °C'de toplandı.

Kurşun analizine ait grafit fırın sıcaklık program Tablo 3.2’de, atomik absorpsiyon spektrometre cihazında uygulanan metot ayrıntıları Tablo 3.3’te özetlenmiştir.

Tablo 3.2. Serum ve plasenta örneklerinde kurşun analizine ait grafit fırın sıcaklık programı

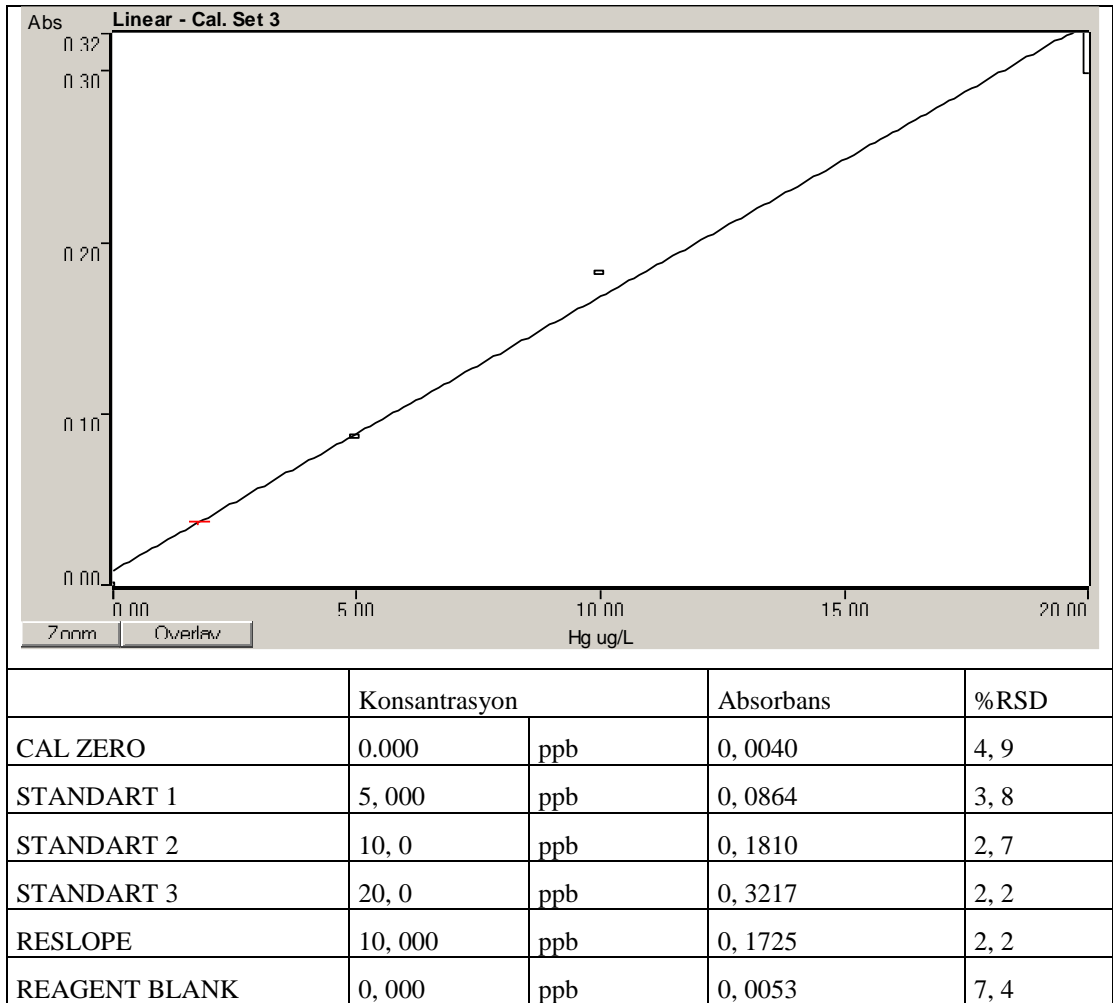
Aşama	Sıcaklık (°C)	Zaman (s)	Akış (L/min)	Sinyal Toplama		Okuma	
1	85	4.5	0.3	×	Hayır	×	Hayır
2	95	36.9	0.3	×	Hayır	×	Hayır
3	120	9.0	0.3	×	Hayır	×	Hayır
4	400	4.5	0.3	×	Hayır	×	Hayır
5	400	1.0	0.3	×	Hayır	×	Hayır
6	400	2	0.0	×	Hayır	√	Evet
7	2100	0.9	0.0	√	Evet	√	Evet
8	2100	2.0	0.0	√	Evet	√	Evet
9	2200	2.0	0.3	√	Hayır	√	Evet

Tablo 3.3. Kurşun analizi için Varian AA240Z Zeeman Atomik Absorpsiyon Spektrometre cihazında uygulanan metot

Element – matriks	: Kurşun- Serum, Plasenta
Enstrüman	: Zeeman
Konsantrasyon birimi	: µg/L
Enstrüman modu	: Absorbans
Örnekleme	: Otomatik-Karıştırma
Kalibrasyon modu	: Konsantrasyon
Ölçüm modu	: Pik yüksekliği
Standart tekrarı	: 3
Örnek tekrarı	: 3
Ekspansiyon faktör	: 1, 0
Eğri çizimi	: 7 noktalı
Konsantrasyon ondalık aralığı	: 2 basamak
Dalga boyu	: 283, 3 nm
Slit genişliği	: 0, 5 nm
Gain	: %48
Akım	: 10, 0 mA
Background	: BC on
Standart 1	: 20, 0 µg/L
Standart 2	: 40, 0 µg/L
Standart 3	: 60, 0 µg/L
Reslope standardı	: Standart 2
Reslope alt limit	: %75
Reslope üst limit	: %125
Rekalibrasyon	: 50 örnekte bir
Kalibrasyon algoritması	: New Rational
Toplam enjeksiyon hacmi	: 15µl
Ana standart konsantrasyonu	: 100 µg/L

3.4.3. Civa Analizi İşlemleri

Analiz için uygun duruma getirilmiş olan plesanta ve serum örneklerindeki toplam cıva metali analizi için Hidrür Sistemli Atomik Absorbsiyon Spektrometre cihazında (Varian Vapor Generation Accessory (VGA77)) Soğuk Buhar yöntemi ile cıva oyuk katot lambası kullanılmış, dalgaboyu 253,7 nm'ye ayarlanmıştır. Yöntemde taşıyıcı gaz olarak argon kullanılmıştır. Cıva bileşikleri asidik ortam içinde uygun redüktant (indirgeyici) kullanılarak serbest cıva metaline indirgenmiştir. Asidik ortamın sağlanması için 5M HCl kullanılmıştır. Redüktant olarak %0,3 NaBH₄ ve %0,5 NaOH içeren çözelti kullanılmıştır. Yöntemde kalibrasyon eğrisi oluşturmak için 1000 ppm (mg/L)'lik cıva stok çözeltisinden 5, 10 ve 20 ppb (µg/L) konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır. Cıva standartlarını ana stoktan seyrelterek hazırlamak için %2'lik nitrik asit çözeltisi kullanılmıştır. Cıva analizine ait kalibrasyon grafiği şekil 3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Cıva analizine ait kalibrasyon grafiği

Kalibrasyon eğrisi için her bir standart çözelti için 3 kez ölçüm yapıldı. Ölçüm kalibrasyon eğrisi için konsantrasyon, biyolojik örnekler için ise pik yüksekliği ile yapıldı. Kalibrasyon 50 örnekte bir tekrarlandı. Örnekler için ise üçer kez ölçüm yapıldı. Civa analizine ait atomik absorpsiyon spektrometre cihazında uygulanan metot ayrıntıları Tablo 3.4’de özetlenmiştir.

Tablo 3.4. Civa analizi Absorpsiyon Spektrometre cihazında uygulanan metod.

Element – matriks	: Civa- Serum, Plasenta
Enstrüman	: Vapor (Buhar)
Konsantrasyon birimi	: µg/L
Enstrüman modu	: Absorbans
Örnekleme	: Otomatik-Karıştırma
Kalibrasyon modu	: Konsantrasyon
Ölçüm modu	: Integration
Standart tekrarı	: 3
Örnek tekrarı	: 3
Ekspansiyon faktör	: 1, 0
Eğri çizimi	: 7 noktalı
Konsantrasyon ondalık aralığı	: 2 basamak
Dalga boyu	: 253, 7 nm
Slit genişliği	: 0, 5R nm
Gain	: %64
Akım	: 4, 0 mA
Background	: BC OFF
Standart 1	: 5, 0 µg/L
Standart 2	: 10, 0 µg/L
Standart 3	: 20, 0 µg/L
Reslope standardı	: Standart 2
Reslope alt limit	: %75
Reslope üst limit	: %125
Rekalibrasyon	: 50 örnekte bir
Kalibrasyon algoritması	: New Rational
Toplam enjeksiyon hacmi	: 15µl
Ana standart konsantrasyonu	: 100 µg/L
Okuma Ön Bekleme	: 45 s
Buhar Tipi	: Soğuk Buhar

3.4.4. Validasyon

Bu yöntemin geçerliliğini gösterme çalışması; gözlenebilme sınırı, tayin sınırı, doğruluk (gerçeklik) ve yüzde gerikazanım parametreleri göz önüne alınarak yapılmıştır.

Gözlenebilme sınırı için bilinen bir maruziyeti olmayan kontrol grubundan on gönüllü bireyden alınan serum örnekleri tanık numune olarak kullanılmıştır. 10 adet bağımsız numune analiz edilerek ölçümlerin ortalaması ve standart sapması aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır.

$$\bar{X}_{ort} = (X_1 + X_2 + \dots + X_N) / N \quad i = 1, 2, 3, \dots, N$$

N= Ölçüm Sayısı

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (X_i - \bar{X})^2}{N - 1}} \quad \sigma = \text{Standart Sapma}$$

$$\%RSD = (\sigma / \bar{X}_{ort}) \times 100$$

$$C_{(LoD)} = 3,3 (\sigma/s) \quad s = \text{kalibrasyon grafiğinin eğimi}$$

$$C_{(LoQ)} = 10 (\sigma/s)$$

Tanık numunelerin kurşun ve civa analiz sonuçları kullanılarak hesaplanan gözlenebilme sınırları olarak ve alt tayin sınırları tablo 3.5’de özetlenmiştir.

Tablo 3.5. Kurşun ve Civa Metalleri için Gözlenebilme ve Alt Tayin Sınırları

Metal	Gözlenebilme Sınırı LOD	Alt Tayin Sınırı LOQ
Civa	0,23 µg/L	0,70 µg/L
Kurşun	0,34 µg/L	1,03 µg/L

3.4.5. Doğruluk (Gerçeklik)

AAS cihazında kurulan biyolojik materyallerde (plasenta ve serum) kurşun ve civa analizi yönteminin doğruluğu Seronorm™ Tarce Elements Whole Blood L-2 kontrol referans materyalleri ile valide edilmiştir. Çalışmada kullanılan kontrol referans materyali Seronorm™ Tarce Elements Whole Blood L-2 ise sulandırma sonucu 5ml kan içermektedir. Doğruluk (gerçeklik) çalışması tablo 3.6'da özetlenmiştir.

Tablo 3.6. Kontrol referans materyalleri ile yapılan doğruluk çalışmasının özeti

Seronorm™ Trace Elements Whole Blood L-2	Analiz Sayısı (n)	Gerçek Değer	Ölçülen Değer	%RSD	%Geri Kazanım
Civa	10	15, 2±0, 8 µg/L	14, 8±1, 1 µg/L	7, 43	97, 4
Kurşun	10	336, 00±18, 00 µg/L	324, 36±22 µg/L	6, 80	96, 5

3.5. İSTATİSTİK

Veriler SPSS 21 programı ile değerlendirildi. Normal dağılıma uyan parametreler t test ile normal dağılıma uymayan parametreler ise Mann Whitney U test ile değerlendirilmiştir. $p < 0, 05$ olan parametreler anlamlı kabul edilmiştir.

Çalışma için etik kurul onayı Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'undan 24 Mart 2014 tarihinde 05-221-14 karar no ile alınmıştır.

4. BULGULAR

Çalışma sonuçları incelendiğinde kontrol grubunda 34 (%45,3) IUGG grubunda 41 (%54,7) olmak üzere toplam 75 hasta ele alınmıştır. Her iki grup maternal özellikler açısından karşılaştırıldığında gruplar arası yaş, boy, BMI, gravida, abortus açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Kontrol grubunda parite sayısı IUGG 'e göre istatistiksel olarak anlamlı yüksektir ($p=0,007$) (Tablo 4.1). Her iki gruptaki tüm doğumlar sezeryan ile gerçekleşmiştir.

Tablo 4.1. Normal ve IUGG'li annelerin özellikleri

Maternal özellikler	Kontrol	IUGG	P
YAŞ	28,7±5,6	29,4±5,6	0,594
BMI	29,6±3,65	27,8±3,8	0,057
PARİTE	1,2±0,7	0,71±0,8	0,007
ABORTUS	0,25±0,6	0,03±0,17	0,055
GRAVİDA	2,2±0,7	2,0±1,1	0,374

Kontrol grubunda ortalama gebelik haftası $38,6 \pm 0,9$ iken IUGG de $33,2 \pm 3,5$ olarak bulundu. Ortalama doğum ağırlığı IUGG 'de 1573 ± 678 gr iken kontrol grubunda 3181 ± 351 gr idi. Gebelik haftası ve doğum ağırlığı sağlıklı gebelerden oluşan kontrol grubunda hasta grubuna oranla daha yüksek saptandı ($p<0,05$) (Tablo 4.2).

1. dakika APGAR skoru kontrol grubunda $7,46 \pm 1,07$ iken IUGG 'de $6,12 \pm 2,3$ olarak saptandı bu oran istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,004$). 5.dakika APGAR skoru kontrol grubunda $8,75 \pm 0,75$ iken IUGG 'de $8,30 \pm 1,61$ olarak saptandı (Tablo 4.2.) 5.dakika APGAR skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. ($p<0,161$).Her iki grupta bebeklerin cinsiyetler açısından istatistiksel anlamlı fark yoktur (Tablo 4.2).

Ortalama baş çevresi kontrol grubunda $35,3 \pm 2,23$ iken IUGG 'de $29,7 \pm 2,62$ olarak saptandı. Ortalama doğum boyu kontrol grubunda $52,03 \pm 2,14$ iken IUGG 'de $40,9 \pm 5,39$ olarak saptandı.

Baş çevresi ve boy kontrol grubunda hasta grubuna göre anlamlı olarak yüksektir ($p < 0,001$) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Normal ve IUGG'li fetusların özellikleri

	Hasta grubu	kontrol grubu	P değeri
Gebelik haftası	33, 2±3, 5	38, 6±0, 9	0
Doğum ağırlığı	1573±678	3181±351	0
APGAR1	6,12±2, 3	7,46±1, 07	0, 004
APGAR5	8,30±1, 61	8,75±0, 76	0, 161
Cinsiyet			0, 37
Baş çevresi	29, 7±2, 62	35, 3±2, 23	<0, 001
Boy	40, 9±5, 39	52,3±2, 14	<0, 001

Tablo 4.3. Normal ve IUGG'li olgularda kordon kanı, maternal kan ve plasentada Kurşun ve Civa düzeyleri

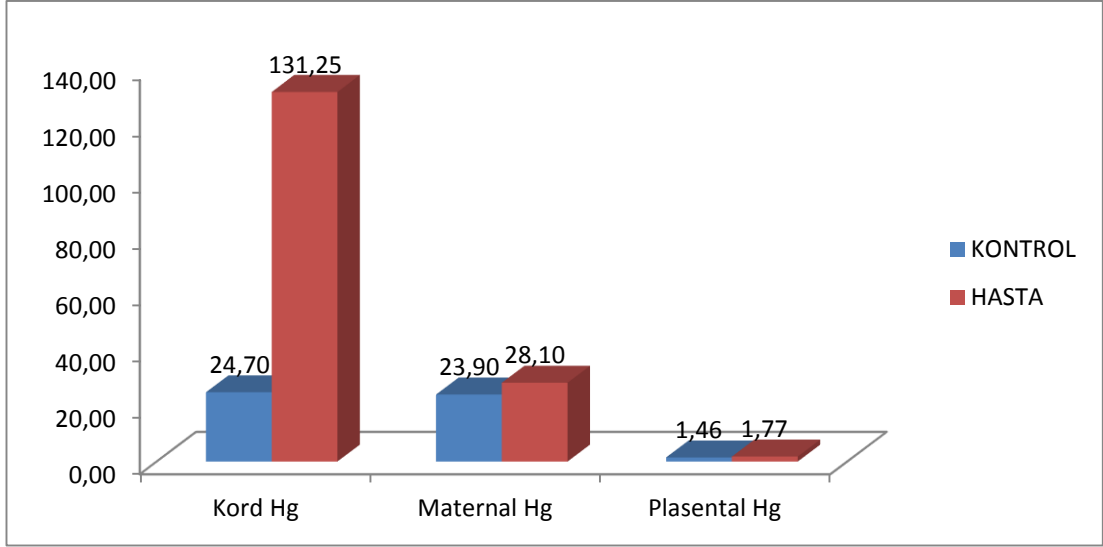
	Maternal kan Pb (µg/L)	Kord Kanı Pb (µg/L)	Plasental Pb (µg/g kuru ağırlık)	Maternal kan Hg (µg/L)	Kord Kanı Hg (µg/L)	Plasenta Hg (µg/g kuru ağırlık)
Kontrol	4,894±7,2	10,62±9,9	0,161±0,88	23,9±7,1	24,7±5,31	1, 464±1, 198
IUGG	7,541±9,7	15,22±13,3	0,291±0,238	28, 19±5,35*	131,25±95,1*	1, 778±1, 471

* $P < 0.05$ Mann-Whitney Test

Ağır metal analiz sonuçlarında; kord kanı civa düzeyin ortalama IUGG grubunda $131,25 \pm 95,1$ µg/L iken kontrol grubunda $24,7 \pm 5,31$ µg/L olarak bulundu ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,00$) (Tablo 4,3).

Maternal kan civa düzeyleri açısından her iki grup karşılaştırıldığında IUGG grubunda ortalama değer $28,19 \pm 5,35$ µg/L iken, kontrol grubunda $23,9 \pm 7,1$ µg/L olarak bulunmuştur. IUGG'li grupta bu oran kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksektir ($p=0,04$) (Tablo 4.3).

Plasental civa düzeyi açısından incelendiğinde IUGG grubunda plasental civa düzeyi $1,778 \pm 1,471$ µg/g iken kontrol grubunda $1,464 \pm 1,198$ µg/g olarak bulundu, her iki grup arasında plasenta düzeyi açısından istatistiksel anlamlı farklılık izlenmezken IUGG li grupta ortalama plasental civa düzeyi daha fazla saptandı ($p=0,326$) (Tablo 4,3).

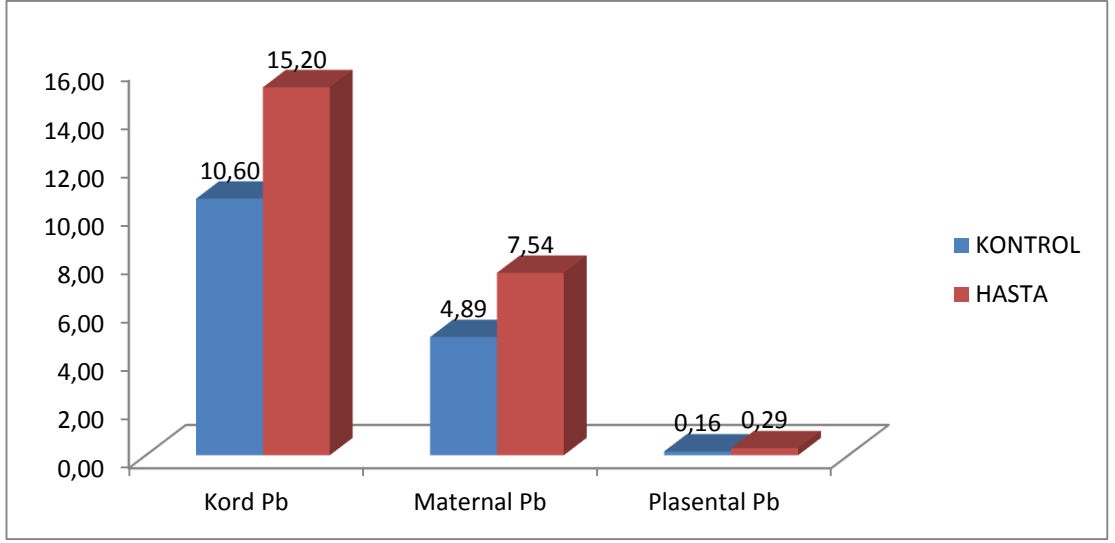


Şekil 4.1. Normal ve IUGG’li olgularda maternal kan, kord kanı ve plasenta da ortalama Civa düzeyi (Hg:Civa)

Kord kan kurşun düzeyleri açısından her iki grup karşılaştırıldığında IUGG grubunda ortalama değer $15,2 \pm 13,3$ $\mu\text{g/L}$ olarak bulunurken kontrol grubunda $10,6 \pm 9,9$ $\mu\text{g/L}$ olarak bulundu. IUGG grubunda kontrol grubuna oranla daha fazla bulunmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,111$) (Tablo 4.3).

Maternal kan kurşun düzeyleri açısından her iki grup karşılaştırıldığında IUGG grubunda ortalama değer $7,54 \pm 9,77$ $\mu\text{g/L}$ olarak bulunurken kontrol grubunda $4,89 \pm 7,22$ $\mu\text{g/L}$ olarak bulunmasına rağmen ve istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,199$) (Tablo 4.3).

Plasental kurşun düzeyi açısından incelendiğinde kontrol grubunda ortalama plasenta kurşun düzeyi $0,161 \pm 0,088$ $\mu\text{g/g}$ olarak IUGG’li grupta ise $0,291 \pm 0,238$ $\mu\text{g/g}$ bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,04$) (Tablo 4.3).



Şekil 4.2. Normal ve IUGG'li olgularda maternal kan, kord kanı ve plasenta da ortalama Kurşun düzeyi (Pb:Kurşun)

5. TARTIŞMA

Ağır metaller ve fetal gelişim üzerine yapılan çalışmalarda prenatal dönemde ağır metal maruziyetinin birçok fetal komplikasyona yol açtığı belirtilmiştir (19).

Dünya çapında artan endüstrileşmenin sonucu olarak artan kirli atıklar hava, su, toprak gibi temel bileşenleri kirleterek besin zinciri ya da solunum yoluyla insan sağlığının tehdit eden unsurlar olmuşlardır. İnsan sağlığını tehdit eden bu süreç çeşitli çalışmalarla desteklenmiş, spesifik sanayi bölgelerinde çalışan ve yaşayan insanların risk altında olduğu kanıtlanmıştır.

Prenatal yaşamın insan sağlığı açısından en hassas dönem olduğunun anlaşılmasından itibaren bu dönemde oluşan maternal, fetal maruziyetler birçok çalışmada araştırılmış ve nörogelişimsel defektler ve ileriki yaşamdaki kronik hastalıklara zemin hazırladığı bulunmuştur (17, 18).

Bir çok çalışmada in utero maruziyet değerlendirilmesi umbilikal kan, maternal kan, plasenta örneklemeyle yapılmıştır (24,26).

Çalışmaların çoğu genel toplum ya da gebe kadınlar üzerinde yapılmıştır. Çalışmamızda olduğu gibi izole intrauterin gelişme gerilikli hastalarla yapılan çalışma sayısı az olmakla birlikte bu çalışmalar daha çok SGA bebeklerle AGA bebeklerdeki metal düzeyini araştıran çalışmalardır (68).

Intrauterin gelişme geriliği insidansı %5-10 olmakla birlikte bir çok fetal, maternal ve çevresel olay IUGG nedenleri arasındadır (5).

Bir çok IUGG vakasında tanımlanabilir neden bulunamamaktadır. Bu nedenle nedenleri sorgularken toplum sağlığını tehdit eden çevresel kirlenici faktörlere dikkat edilmeli prenatal dönemde maruziyetin materno–fetal geçişle plasental fonksiyonu bozabileceği göz önünde bulunmalıdır.

Önlenebilir nedenlerin tanımlanması obstetrik ve prenatal bakım için önemli hedeflerden biri olmalıdır.

Ağır metaller ile yapılan çalışmalarda çalışma gruplarının ve çalışmalarının heterojen olmasından dolayı bazı çalışmalarda doğum ağırlığı ve metal düzeyi arasında anlamlı kolerasyon bulunurken , bazılarında bulunmamıştır (69,70,71).

Ronco ve arkadaşlarının 2009 yılında yayınladıkları fetal gelişme geriliği ile plasental ağır metal düzeyi ve antioksidan düzeylerini araştıran çalışmada SGA fetuslar ve AGA fetuslar araştırılmış ve SGA fetuslarda plasental kurşun, arsenik ve kadminyum düzeylerinin daha fazla olduğu antioksidan düzeylerinin ise daha düşük olduğu izlenmiştir (68).

Kanada'da yapılan MIREC çalışmasında maternal kan civa düzeylerinin SGA ile ilişkili olduğu bulunmuş, kurşun düzeyleri ve SGA arasında ilişiki bulunamamıştır. Tek gen polimorfizmi ile kurşun düzeyleri arasında bağlantı bulunmuştur (72).

Literatürde izole intrauterin gelişme geriliği ve ağır metal düzeylerini araştıran başka bir çalışmaya rastlamadığımızdan bizim çalışmamızın bu konudaki ilk çalışma olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda IUGG'li olgularda maternal kan, kord kanındaki ağır metal düzeyleri kontrol grubunu oluşturan term gebelere göre daha yüksek bulunmuştur. Plasental kurşun ve civa düzeyleri de IUGG'li olan olgularda fazla bulunmuştur.

Çalışma rneklerinin büyük çoğunluğunda maternal ve fetal ağır metal maruziyeti saptanmıştır.

CDC nin gebe kadınlar ve çocuklar için belirlediği kurşun alt sınırı ise 5 $\mu\text{g}/\text{dl}$ olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda ise maternal kan kurşun için değerler hasta ve kontrol grubunda sırasıyla 15,2 $\mu\text{g}/\text{L}$ ve 10,6 $\mu\text{g}/\text{L}$ olarak hesaplanmıştır bu değerlerin $\mu\text{g}/\text{dl}$ çevrildiğinde hasta ve kontrol grubu için 5 $\mu\text{g}/\text{dl}$ nin altında kalmaktadır.

Bu düşük değerlere rağmen hasta grubunda kontrol grubuna göre kord kanı ve maternal kandaki kurşun düzeyleri yüksek bulunmuştur. Plasental kurşun düzeyi istatiksels anlamlı şekilde hasta grubunda kontrol grubundan fazla bulunmuştur.

Her ne kadar çalışmaya katılan anneler mesleki açıdan kurşun maruziyeti altında olmasa da tüm kord kan örneklerinde kurşun saptanmıştır. Bu kurşunun plasental transferini destekleyen bir bulgudur. Kord kanı kurşun düzeyi birçok çalışmada prenatal kurşun maruziyeti açısından indeks olarak kullanılmıştır ve çocuk gelişimi açısından potansiyel belirteç olarak görülmüştür.

Çalışmamızda IUGG de ortalama kord kurşun düzeyi 1,5 µg/dl olarak bulunurken kontrol grubunda ise 1,06 µg/dl olarak bulunmuş.

Tüm bu değerler incelendiğinde CDC'nin önerdiği 5 µg/dl değerinden daha azdır. Fakat birkaç çalışmada yayınlandığı üzere kan kurşun düzeyleri 10 µg/dl den az olsa bile erken çocukluk ve in utero maruziyet altında kalan çocuklarda büyüme ve gelişme geriliğine yol açabilmektedir (73).

Bu nedenle 2012 de CDC çocuklarda kan kurşun düzeyi üst sınırını 10 µg/dl'den 5 µg/dl düşürmüştür (85).

Çalışmamızdaki ortalama kord kanı ve maternal kan kurşun düzeyleri hem hasta hemde kontrol grubunda diğer ülkelerde yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında daha düşük olarak kalmaktadır (17,74,75,84). Ülkemizde Kirer ve ark. 2005 yılında yaptığı çalışmada ortalama kord kanı kurşun düzeyi 1,65 µg/dl olarak bulunmuştur.

Her ne kadar kord kanı kurşun değerleri referans değerlerin altında da olsa çalışmamızda IUGG olan grupta kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Bu nedenle anne ne kadar düşük kan kurşun düzeyine sahip olsa da plasenta anneden fetusa kurşun transferini engelleyemeyebilir.

Buna benzer bulgular diğer çalışmalarda da desteklenmiştir (76).

Plasentalar kurşun düzeyi açısından incelendiğinde hasta grubunda ortalama plasenta kurşun düzeyi kontrol grubuna göre fazla bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,04).

Çalışmamızda ise her iki gruptaki plasental kurşun düzeyleri oldukça düşüktür. IUGG olan grupta plasental kurşun düzeyi, kord kanı ve maternal kan kurşun düzeyleri kontrol grubuna göre fazladır.

Bu plasentanın çok düşük düzeylerde bile kurşun geçişini yeterli derecede engelleyemediğini göstermektedir.

Çeşitli çalışmalarda kurşun düzeylerinin gen polimorfizmlerinden etkilenebileceği ön görülmektedir (77). IUGG olan grupta plasental, maternal ve fetal kan kurşun düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek çıkması altta yatan gen polimorfizmine bağlı olabilir.

Çalışmamıza benzer olarak Ronco ve ark. çalışmasında fetal gelişme geriliği olan grupta plasental kurşun düzeyi daha fazla bulunmuştur ve bu değer çalışmamızdaki düzeylerden daha yüksektir.

Toksik metaller incelenecek olduğunda kurşun en geniş coğrafi varyasyona sahiptir. Çalışmamızdaki sonuçlara ters olarak Hindistan, Suudi Arabistan gibi ülkelerde yapılan bazı çalışmalarda normal gebeliklerdeki plasental kurşun düzeyleri daha fazla bulunmuştur (17).

Çalışmalarda bu gibi heterojen sonuçların ortaya çıkması, hasta gruplarının heterojenliği, örnek toplama, çalışma yöntemleri farklılığından kaynaklanmaktadır.

2000 yılında yapılmış bir çalışmada İstanbul'daki gebelerin ortalama kurşun konsantrasyonları umbilikal kord ve maternal kanda sırasıyla 1.69 ± 0.91 ve 2.37 ± 0.89 $\mu\text{g}/\text{dl}$ olarak bulunmuştur. Çalışmada bu değerlerin önceki yıllardan daha düşük olduğu raporlanmıştır. Kan kurşun düzeylerindeki bu azalma büyük olasılıkla 1989 sonrasında benzinde tetraalkil kurşun kullanımındaki azalmayı yansıtmaktadır (78).

Kord kanı kurşun düzeyleri maternal kan kurşun düzeylerinden daha fazla bulunmuştur. Bu kurşunun rahatlıkla plasental bariyeri geçerek fetusa zarar verebileceğini tahmin edebilir. Kurşun vücuda hem ekzojen çevresel kaynaklar aracılığı girer ile hem de endojen olarak bozulmuş kalsiyum metabolizması sonucu salınır.

Çok düşük kurşun maruziyetini bile sinsityotrofoblastlarda kalsiyum transferini etkileyebilir. (79).Goyer ve ark. yaptıkları çalışmada kurşunun kalsiyum ilişkili yolları etkileyerek toksisiteye yol açabileceği ve term plasentada kalsiyum ile birlikte presipite olarak mikovilluslarda birikerek trofoblastların etrafında depozitler oluşturduğu gözlenmiştir (80).

IUGG grubunda plasental kurşun düzeyinin daha fazla olmasının nedeni kurşunun plasental fonksiyonları olumsuz etkileyebileceği öngörüsünün yanında,endojen kalsiyum metabolizması ya da demir taşınma bozukluklarına bağlı gen polimorfizmleri gibi nedenler ile açıklanabilir..Bu nedenle bozulmuş plasental fonksiyona sahip IUGG li plasentalarda kurşun daha fazla birikmiş olabilir.

EPA'nın kanda civa için alt sınırı 5, 8µg/L olarak belirlemiştir (83). Çalışmamızda ise IUGG olan hasta grubunda kord kanında ortalama değer 131,25 ±95,1 µg/L, maternal kanda ise 28,1±5,35 µg/L olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda ise kord kanında ise 24,7 ±5,31 µg/L, maternal kanda ise 23,9 ±7,1 µg/L olarak bulunmuştur. Bu değerler EPA'nın belirlediği alt sınırdan oldukça yüksektir.

Çalışmamızda bulunan maternal kan ve kord kanı civa düzeyleri birçok çalışmada bulunan değerlerden daha yüksek bulunmuştur. Kord kanında civanın yüksekliği civanın alfa fetoprotein gibi spesifik fetal proteinlere afinitesine bağlıdır. Civa doğada inorganik ve metalik formlarda bulunur.

Çalışmamıza benzer şekilde kord kanı civa yüksekliğinin bebeklerde daha düşük doğum ağırlığı ve baş çevresi ile ilgili olduğu çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir (82).

Plasental civa düzeyleri incelenecek olduğunda her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına rağmen IUGG'li grupta plasental civa düzeyi daha fazladır. Benzer şekilde Ronco ve arkadaşlarının çalışmasında da her iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulunamamıştır.

Civa ile prenatal maruziyet, gelişim geriliğinden hafif nörolojik anormalliklere, mikrosefaliye ve ciddi beyin hasarına kadar değişen defeklere neden olan nöronal hücre bölünmesi ve migrasyonun bozulmasına neden olur.

Son zamanlarda dünyada geniş kapsamlı civa zehirlenmesi atağı olmasa da dünya genelinde gebelerde hala maruziyet açısından risk artışı mevcuttur. Civa, ekosisteme endüstriyel kirlilik yoluyla girer önce yüzeysel sulara, oradan da okyanuslara ulaşır. Özellikle, orkinos gibi büyük balıklar civayı emer ve depolar veya küçük balıkları ve su canlılarını yerken almış olurlar. Bu balıkları yiyen kadınlar civayı sindirirler, metil civa barsak florasınca inorganik civaya metabolize edilir ve demetilasyon veya dışkıyla atılır. İşlem temizlenme süresi 45-70 gün olacak kadar yavaştır. Gebelik sırasında yüksek miktarda kontamine balık yenmesi fetüsü güvensiz düzeyde civaya maruz bırakabileceği için gebelerin köpek balığı, kılıç balığı, kral uskumru yememeleri önerilmektedir.

Çalışmamızdaki gebelerde düzenli balık alım ve dişte amalgam dolgu hikayesi olmamasına rağmen civa düzeyleri belirlenen sınırlardan oldukça yüksek gelmiştir. Bu çalışma popülasyonu ve bunların çocuklarında yaşam boyu civanın zararlı etkilerine karşı risk altında olduğunu gösterir.

Jedrychowski ve ark. 2007 yılında yaptığı çalışmada kord kanındaki $0,9 \mu\text{g/L}$ üstündeki civa düzeylerinin 12 aylık çocuklarda belirgin gecikmiş nörogelişimsel ve psikomotor geriliğe yol açtığını bu etkinin 24. Ay ve 36. Aydaki muayenelerde daha az izlendiğini raporlamışlardır (81).

Bizim çalışmamızın sonuçları incelendiğinde civa düzeylerinin belirlenen referans düzeyin üstünde olduğu izlenmiştir.

Çalışmamızdaki gebeler balık alımı açısından incelendiğinde haftalık düzenli balık tüketimi olmayan ayda 1-2 kez belki alan hastalardan oluşmaktadır ve her iki grup arasında fark yoktur.

Çalışmamızda civa düzeyi ,IUGG grubunda kontrol grubuna göre maternal kan ve kordon kanında istatistiksel olarak yüksek bulunurken, plasental civa düzeyi de IUGG grubunda fazla bulundu fakat istatistiksel anlamlılık saptanmadı.

IUGG grubunda doğum ağırlığı sağlıklı kontrollere göre daha düşüktür, doğum ağırlığı ve civa düzeyi ile yapılan çalışmalarda da yüksek civa düzeyi daha düşük doğum ağırlığı ile ilişkili bulunmuştur (70,71).

Sonuç olarak çalışmamızda IUGG olan yenidoğanların normal doğum ağırlığına sahip yenidoğanlara göre daha yüksek seviyede ağır metal düzeyine sahip olduğunu göstermektedir.

Bu kontaminasyonun net kaynağı bilinmiyor olsa da yüksek ağır metal düzeyine sahip bu anneler gebelikleri boyunca ya da öncesinde pasif içicilik ya da çeşitli sanayi yanma ürünlerine (endüstriyel kaynaklar, hava kirliliği, yemek yaparken, sigara vs.) maruz kalmış olabilirler.

Bu kaynaklar karbonmonoksit ve partiküller maruziyetine neden olarak fetal gelişimi etkileyebilir.

Fetal gelişim geriliği bozulmuş plasental fonksiyonla (toksik metallere bağlı) ilişkili olabilir bu zararlı maddeler normal gelişimin ve büyümenin devamı için zorunlu olan fetüs için esansiyel olan besinlerin ve elementlerin transferini inhibe edebilir.

Çalışmamızın primer dezavantajı prospektif kohort dizaynda olmasıdır. Her şeyden önce kurşun ve civa düzeyleri sadece doğum zamanı bakılmıştır. Bu yüzden sonuçlarımızın fetal gelişim periyodu süresince maruziyetin ne derecede olduğunu yansıtması zordur.

Çalışmamız sadece iki metalle sınırlı kaldığı için fetal gelişimi etkileyebilecek diğer zararlı çevresel kirleticilerin (kadminyum, bisfenol) ve gelişimi olumlu yönde etkileyebilecek olan prenatal besinler (vitamin, demir vs) değerlendirilmemiştir.

Ağır metallerin kord kanı, maternal kan, plasental düzeylerini araştıran çalışmalar heterojendir, çalışmalar arası örnek toplanması, çalışılması farklılık gösterir.

řu an için CDC'nin gebeler ve çocuklar için kurşun değerini 5 $\mu\text{g}/\text{dl}$ saptasa da çeşiti çalışmalarda verilen alt sınır değerleri gebelere spesifik değerdir. Tüm çalışmaların ele alındığı metaanalizler yapılsa bile uniform hasta grubu, standardize tek örnek toplama ve çalışma yöntemi yoktur, örneklerin alındığı toplumlar aynı olsa da ağır metal maruziyeti bölgesel farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle prenatal ve antenatal dönemde önlenbilir nedenlerin tanımlanması obstetrik ve prenatal bakım için önemli hedeflerden biri olmalıdır. Çalışmamız az sayıda olgu ile kısıtlıdır, belki gelecekte daha geniş homojen örneklem grubuyla yapılacak olan çalışmalar ile sonuçlarımız daha iyi değerlendirilebilir

6. SONUÇ

Bugün tüm dünyada artan endüstrileşme sonucu ortaya çıkan maddelerin ekosistem kirliliği vasıtasıyla insan hayatını tehdit edecek düzeylere geldiği tartışılmaktadır. Şüphesiz bu kirlenme insanlar için toksik düzeylere gelmeden önlenabilir. İnsan hayatının en önemli dönemi olan prenatal dönem dışarıdan gelecek her türlü toksik etkiye karşı savunmasızdır ve hücre bölünmesi ve farklılaşmasının bu dönemde gelişimi belirlediği için en önemli periyottur. Bu dönemde meydana gelebilecek herhangi bir bozukluk ileriki dönemlerde geri dönüşümsüz nörolojik defektlere yol açabilmektedir.

Biz bu çalışma ile Doppler akımları bozuk olan intrauterin gelişme geriliği olgularda maternal kan, kordon kanı ve plasentada en sık karşılaşılan iki toksik madde olan kurşun ve civa düzeylerini ölçerek bunları sağlıklı term gebeliği olan olgularla karşılaştırarak, nedeni bilinmeyen intrauterin gelişme geriliği olgularında antenatal maruziyet varlığını araştırmayı hedefledik.

Çalışma sonunda elde ettiğimiz verilere göre intrauterin gelişme geriliği olan olgularda ağır metal düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre daha fazla olduğunu bulduk. Fakat çalışmaya genel olarak bakıldığında civa maruziyetinin EPA'nın belirlemiş olduğu 5, 8µg/L'den daha yüksek olduğunu saptandı.

Kurşun düzeyleri her iki grupta CDC'nin belirlediği 5µg/dl'den daha düşük olsa da intrauterin gelişme geriliği olan olgularda kurşun düzeyi daha fazla izlendi. Çeşitli çalışmalarda kurşunun düşük düzeyde bile fetal gelişimi olumsuz etkileyebileceği raporlanmıştır (69).

Bugünkü bilgilerimize göre literatürde çalışmamıza benzer şekilde izole IUGG olan hastalarda ağır metal düzeyini araştıran çalışma olmamakla birlikte yapılan çalışmalar çok heterojen sonuçlara sahiptir. Önlenbilir neden olarak ele alınırsa obstetrik ve prenatal bakım için önemli hedeflerden biri olmalıdır. Çalışmamız az sayıda olgu ile kısıtlıdır, belki gelecekte daha geniş homojen örneklem grubuyla yapılacak olan çalışmalar ile sonuçlarımız daha iyi değerlendirilebilir.

ÖZET

İNTRAUTERİN GELİŞME GERİLİĞİNDE MATERNAL KAN, KORDON KANI VE PLASENTADA AĞIR METAL DÜZEYİ

Tüm gebeliklerin %10-15'i intrauterin gelişme geriliği ile komplike olmaktadır. İntrauterin gelişme geriliği fetal ve maternal mortalitenin en önemli sebeplerindendir. IUGG olan fetuslarda sıklıkla umbilikal arter doppler akımı artan plasental disfonksiyon ve vasküler dirençten dolayı bozulmuştur. İntrauterin gelişme geriliği nedenleri maternal, fetal ve plasental nedenler olarak ayrılabilir. Fetusun büyümesi fetüs ve anne arasındaki plasental bariyerin iyilik haline bağlıdır.

Anormal plasentasyon spiral arteriollerin myometriyum kısmının trofoblastik invazyonu yokluğu olarak tanımlanır. Bu durumda daha yüksek frekansta preeklampsi ve intrauterin gelişme geriliği meydana gelir. Prenatal periyot insan gelişiminde en hassas dönemdir. Bu dönemde gelişim fetal hücrelerin bölünme ve diferansiyasyonu ile karakterizedir. Bu hassas dönemde fetusa olabilecek herhangi bir nörotoksik stresör faktör fetal gelişimde aksamalara yol açabilir. Çoğu zaman intrauterin gelişim geriliğinin nedeni bulunamaz ve plasental yetmezlik gelişir.

Dünya çapında artan sanayileşmenin sonucu olarak ağır metaller gibi toksikan maddelere maruziyet artmakta buna bağlı olarak prenatal dönemde dahil insanlar maruziyet altında kalmaktadırlar. Sebebi bulunamayan intrauterin gelişme geriliğinde maternal ve fetal faktörler dışlandığında çevresel bazı maruziyetler gelişim geriliğine neden olabilir. Çeşitli çalışmalarda çok düşük düzeylerde bile maruziyetin fetal nörogelişimsel defektlere yol açtığı izlenmiştir. Biz bu çalışma ile uterin ya da umbilikal arter doppler bulguları bozuk olan fetuslarla sağlıklı term gebeliğe sahip fetuslar arasındaki maternal kan, kord kanı ve plasentadaki ağır metal düzeylerini karşılaştırmayı amaçladık.

Çalışma grubu dahilinde 41 IUGG olan gebe ile 34 sağlıklı term gebeliği olan gebe çalışmaya dahil edildi. Olgulardan doğumdan hemen önce maternal venöz kan örnekleri alındı, fetus doğduktan sonra kordon klemplenip kesildikten sonra

plasenta tarafında kalan kordondan kan örneği alındı ve plasenta çıktıktan sonra 3 farklı bölgeden örnekleme alındı. Alınan kan örnekleri 3500 devirde 10 dakika santrifüj edilip elde edilen serumlar ve plasentalar -80 c'de saklandı. Tüm hastaların örnekleri tamamlandığında alınan örneklerden kurşun ve civa analizleri Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü'nün Toksikoloji Laboratuvarında Atomik Absorpsiyon Spektrometre cihazı ile gerçekleştirildi.

IUGG olan vakalarda maternal kan, kord kanındaki civa düzeyi term gebeliği olan vakalardan istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek bulundu. Plasental civa düzeyleri de IUGG olan grupta yüksek bulunurken istatistiksel anlamlı farklılık bulunmadı. Tüm olgulardaki civa düzeyleri EPA'nın belirlemiş olduğu 5,8 µg/L değerinden daha yüksek bulundu.

Hasta grubunda maternal kan, kord kurşun düzeyi kontrol grubuna göre yüksek bulunurken, fakat istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Plasental kurşun düzeyi hasta grubunda kontrol grubuna oranla aradaki fark çok az da olsa istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu.

Çalışma sonunda elde ettiğimiz bilgilere dayanarak ağır metaller fetal gelişimi engelleyebilir ve IUGG'ne neden olabilir. Literatürde bilgilerimize göre izole IUGG ve ağır metal düzeyi ile yapılmış çalışma yoktur. Bazı çalışmalarda ağır metallerin doğum ağırlığını etkilediği gösterilmiştir. Önlenebilir neden olarak ele alınırsa obstetrik ve prenatal bakım için bu dönemde bu tür maruziyetlerden sakınmak önemli hedeflerden biri olmalıdır.

ABSTRACT

HEAVY METAL ION CONCENTRATIONS OF MATERNAL BLOOD, FETAL BLOOD AND PLACENTA IN PREGNANCIES COMPLICATED WITH INTRAUTERINE GROWTH RESTRICTION

Intrauterine growth restriction (IUGR) complicates approximately 10 to 15 percent of all pregnancies and it is one of the leading cause of fetal mortality and morbidity. Normal growth of the fetus is dependent on the properly developed placental barrier and placental pathologies are associated with IUGR pregnancies. Placental pathologies are also demonstrated with Doppler studies, which is seen as increased resistance in umbilical artery.

Abnormal placentation is characterised by the lack of adequate invasion of spiral arterioles by trophoblasts. Normal placentation is necessary for normal fetal growth and without normal placentation, preeclampsia and IUGR are seen with increased frequency. However most cases of IUGR are due to idiopathic causes. During prenatal development ,fetus is very susceptible to harm and during this period many stressor factors can have a negative impact on fetal growth.

Heavy metal exposure is an increasing concern in the industrialised world. Heavy metal exposure during prenatal life is one of the hypothesised causes of IUGR. Available studies suggests heavy metal exposure during antenatal period is associated with neurodevelopment defects. Our research is aimed at investigating association of heavy metal concentration of cord blood, maternal blood and placenta with development IUGR. 41 pregnant women with IUGR and 34 healthy women with uncomplicated pregnancies were enrolled in the study. Maternal blood samples were obtained immediately before delivery. Fetal blood samples and placental tissue were collected after delivery. Blood samples were centrifuged and then serum samples were stored at -80 C until analysis. Heavy metal ion concentration analyses were performed at Ankara University Institute of Forensic Sciences laboratory. Measurement were obtained with an atomic absorption spectrometer.

Results have shown maternal blood, fetal blood and placental heavy metal ion concentrations were higher in IUGR cases compared to control group. Statistical significance was achieved for fetal and maternal blood heavy metal concentrations but not for placental heavy metal ion concentration. All cases of IUGR had elevated concentration of mercury above threshold determined by EPA (5.8 µg/L).

According to our findings blood heavy metal ion concentrations are elevated in IUGR cases and elevated concentrations are associated with pathologic fetal growth. Although some available research suggest an association of heavy metal ion levels with IUGR, to the best of author's knowledge there is no research investigating association of heavy metal ion concentrations with development idiopathic IUGR. Exposure to heavy metal ions during pregnancy should be prevented.

7. KAYNAKLAR

1. Gratacos, F. F (2013). Update on the diagnosis and classification of fetal growth restriction and proposal of a stage based management protokol. Fetal diagnosis and therapy.
2. P.Loughna (2006). Intrauterin growth restriction:Investigation and management. Current Obstetrics and Gynaecology, 16, 261-266.
3. SoothillPW, Bobrow CS, Holmes R. Small for gestational age is not a diagnosis. Ultrasound Obstet Gynecol 1999;13:225–8.
4. Christian Bamberg, K. D (2004). Prenatal diagnosis of fetal growth restriction. Seminars in fetal &Neonatal medicine, 9, 38
5. Resnik R.İntrauterin growth restriction. Obstet Gynecol 2002 99:490-496
6. American College of Obstetricians and Gynecologists: Clinical Management Guidelines for Obstetricians – Gynecologists. ACOG Practise Bulletin No. 12 American College of Obstetricians and Gynecologists, 2000.
7. Unterscheider J, Daly S, Geary MP, et al. Optimizing the definition of intrauterine growth restriction –results of the multicenter prospective PORTO Study. Am J Obstet Gynecol 2013;208 (290);e1-6
8. RCOG Green-top Guideline No. 31. The Investigation and Management of the Small-for-GestationalAge Fetus. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists, London. February 2013.
9. Kramer MS, Olivier M, McLean FH et al. Impact of intrauterin growth retardation and body proportionality on fetal and neonatal outcome. Pediatrics 1990;86:707-713.

10. Barker DJ. Adult consequences of fetal growth restriction. *Clin Obstet Gynecol* 2006;49:270 -283
11. Alberry M, Soothill P. Management of growth restriction. *Archives Disease and Childhood, Fetal and Neonatal Edition*. 2007;72 (1):F62-F7.
12. Sheridan C. Intrauterine growth restriction. *Australian Family Physician*. 2005;34 (9):717-23.
13. Maulik D. Fetal Growth Compromise: Definitions, Standards, and Classification. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. 2006;49 (2):214-8.
14. Sifianou P. Small and growth-restricted babies: Drawing the distinction. *Acta Paediatrica*. 2006;95:1620-4.
15. Marsal K. Obstetric management of intrauterine growth restriction. *Best Practice & research Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 2009;23:857-70.
16. Lindqvist PG&Molin J. Does antenatal identification of small –for-gestational age fetuses significantly improve their outcome? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;25:258-264
17. Iman Al-Saleh, Neptune Shinwari, Abdullah Mashhou, Gamal El Din Mohamed, Abdullah Rabah Heavy metals (lead, cadmium and mercury) in maternal, cord blood and placenta of healthy women *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 214 (2011) 79–101
18. Wells, P.G., Lee, C.J., McCallum, G.P., Perstin, J., Harper, P.A., 2010. Receptor- and reactive intermediate-mediated mechanisms of teratogenesis. *Handbook Exp. Pharmacol.* 196, 131–162.

19. Silbergeld, E.K., Patrick, T.E., 2005. Environmental exposures, toxicologic mechanisms, and adverse pregnancy outcomes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 192, S11–21.
20. Sly, P.D., Flack, F., 2008. Susceptibility of children to environmental pollutants. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1140, 163–183.
21. Ginsberg, G., Slikker, W., Bruckner, J., Sonawane, B., 2004. Incorporating children's toxicokinetics into a risk framework. *Environ. Health Perspect.* 112
22. Gardella, C., 2001. Lead exposure in pregnancy: a review of the literature and argument for routine prenatal screening. *Obstet. Gynecol. Surv.* 56, 231–238.
23. Mattison, D.R., 2010. Environmental exposures and development. *Curr. Opin. Pediatr.* 22, 208–218
24. Carter, A.M., 2009. Evolution of factors affecting placental oxygen transfer. *Placenta* 30 (Suppl. A), S19–25
25. Cross, J.C., 2006. Placental function in development and disease. *Reprod. Fertil. Dev.* 18, 71–76.
26. Reis, M.F., Sampaio, C., Brantes, A., Aniceto, P., Melim, M., Cardoso, L., Gabriel, C., Simao, F., Segurado, S., Miguel, J.P., 2007. Human exposure to heavy metals in the vicinity of Portuguese solid waste incinerators – Part 2: biomonitoring of lead in maternal and umbilical cord blood. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 210, 447–454.
27. Smolders, R., Schramm, K.W., Nickmilder, M., Schoeters, G., 2009. Applicability of non-invasively collected matrices for human biomonitoring. *Environ. Health: A Global Access Sci. Source* 8, 8–18.

28. Mary Frances McAleer, Rocky S. Tuan Cytotoxicant-Induced Trophoblast Dysfunction and Abnormal Pregnancy Outcomes:Role of Zinc and Metallothionein; *Birth Defects Research (Part C)* 72:361 -370 (2004)
29. Giussani DA.1996.Evidence for link between prenatal and adult health grows.*Lancet* 348:535.
30. Godfrey KM.1998.Maternal regulation of fetal development and health in adult life.*Eur J*
31. WHO, Lead, Cadmium, Mercury, In:Trace Elements in Human Nutrition and Health, Geneva:WHO:1996
32. Jose G.Dorea, Carmen M.Donangelo:Early (in uterus and infant) exposure to mercury and lead, *Clinical Nutrition* (2006) 25, 369-376
33. Lars Järup Hazards of heavy metal contamination *British Medical Bulletin* 2003; 68: 167–182
34. Heintze U, Edwardsson S, Derand T, et al. Methylation of mercury from dental amalgam and mercuric chloride by oral streptococci in vitro. *Scand J Dent Res* 1983;91: 150–2.
35. Bjornberg KA, Vahter M, Petersson-Grawe K, Glynn A, Cnattingius S, Darnerud PO, et al. Methyl mercury and inorganic mercury in Swedish pregnant women and in cord blood: influence of fish consumption. *Environ Health Perspect* 2003;111:637–41.
36. Weil M, Bressler J, Parsons P, Bolla K, Glass T, Schwartz B. Blood mercury levels and neurobehavioral function. *JAMA* 2005;293:1875–82.
37. Schober SE, Sinks TH, Jones RL, et al. Blood mercury levels in US children and women of childbearing age, 1999–2000. *JAMA* 2003;289:1667–74.

38. Grandjean P, Bjerve KS, Weihe P, Steuerwald U. Birthweight in a fishing community: significance of essential fatty acids and marine food contaminants. *Int J Epidemiol* 2001;30:1272–8
39. Ramón R, Ballester F, Aguinagalde X, Amurrio A, Vioque J, Lacasaña M, et al. Fish consumption during pregnancy, prenatal mercury exposure, and anthropometric measures at birth in a prospective mother–infant cohort study in Spain. *Am J Clin Nutr* 2009;90:1047–55.
40. Foldspang A, Hansen JC. Dietary intake of methylmercury as a correlate of gestational length and birth weight among newborns in Greenland. *Am J Epidemiol* 1990;132:310–7.
41. Steenland K, Boffetta P. Lead and cancer in humans: where are we now? *Am J Ind Med* 2000; 38: 295–9
42. Gonzalez-Cossio T, Peterson KE, Sanin L, Fishbein E, Palazuelos E, Aro A, et al. Decrease in birth weight in relation to maternal bone lead burden. *Pediatrics* 1997;100: 856–62.
43. Al-Saleh I, Shinwari N, Nester M, Mashhour A, Moncari L, El Din Mohamed G, et al. Longitudinal study of prenatal and postnatal lead exposure and early cognitive development in Al-Kharj, Saudi Arabia: a preliminary results of cord blood lead levels. *J Trop Pediatr* 2008;54:300–7.
44. Nashashibi N, Cardamakis E, Bolbos G, Tzingounis V. Investigation of kinetic of lead during pregnancy and lactation. *Gynecol Obstet Inves* 1999;48:158–62.
45. Stern AH, Smith AE. An assessment of the cord blood: maternal blood methylmercury ratio: implications for risk assessment. *Environ Health Perspect* 2003;111: 1465–70.

46. Lidsky TI, Schneider JS. Lead neurotoxicity in children: basic mechanisms and clinical correlates. *Brain* 2003; 126: 5–19
47. Mendola P, Selevan SG, Gutter S, Rice D. Environmental factors associated with a spectrum of neurodevelopmental deficits. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev.* 2002;8:188-197.
48. Gulson BL, Mizon KJ, Korsch MJ, et al. Mobilization of lead from human bone tissue during pregnancy and lactation—a summary of long-term research. *Sci Total Environ.* 2003;303: 79-104.
49. Rothenberg SJ, Khan F, Manalo M, et al. Maternal bone lead contribution to blood lead during and after pregnancy. *Environ Res.* 2000;82:81-90
50. Emory E, Pattillo R, Archibold E, et al. Neurobehavioral effects of low-level lead exposure in human neonates. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;181: S2-S11.
51. Romero RA, Granadillo VA, Navarro JA, et al. Placental transfer of lead in mother/newborn pairs of Maracaibo City (Venezuela). *J Trace Elem Electrolytes Health Dis.* 1990;4:241-243.
52. Schnaas L, Rothenberg SJ, Flores MF, et al. Reduced intellectual development in children with prenatal lead exposure. *Environ Health Perspect.* 2006;114:791-797.
53. Cooney GH, Bell A, McBride W, Carter C. Low-level exposures to lead: the Sydney Lead Study. *Dev Med Child Neurol.* 1989;31: 640-649.
54. Gundacker C, Hengstschläger M; The role of the placenta in fetal exposure to heavy metals: *Wien Med Wochenschr* (2012) 162/9–10: 201–206

55. Stern AH, Smith AE. An assessment of the cord blood: maternal blood methylmercury ratio: implications for risk assessment. *Environ Health Perspect*, 111: 1465–1470, 2003.
56. Myllynen P. In search of models for hepatic and placental pharmacokinetics. Dissertation University of Oulu 2003. Available at: <http://herkules.oulu.fi/isbn9514270231/isbn9514270231.pdf>.
57. Benirschke K, Kaufmann P, Baergen RN. Pathology of the human placenta. 5th edn. Springer, New York, pp. 42–49, 2006.
58. Goyer RA. Transplacental transport of lead. *Environ Health Perspect*, 89: 101–105, 1990.
59. Clarkson T, Vyas J, Ballatori N. Mechanisms of mercury disposition in the body. *Am J Ind Med*, 50: 757–764, 2007.
60. Kajiwara Y, Yasutake A, Adachi T, et al. Methylmercury transport across the placenta via neutral amino acid carrier. *Arch Toxicol*, 70: 310–314, 1996.
61. Aschner M, Syversen T, Souza DO. Metallothioneins: mercury species-specific induction and their potential role in attenuating neurotoxicity. *Exp Biol Med*, 231: 1468–1473, 2006.
62. Gundacker C, Gencik M, Hengstschläger M. The relevance of the individual genetic background for the toxicokinetics of two significant neurodevelopmental toxicants: mercury and lead. *Mutat Res Rev Mutat*, 705: 130–140, 2010
63. Leazer TM, Klaassen CD. The Presence of xenobiotic transporters in rat placenta. *Drug Metab Dispos*, 31: 153–167, 2003.

64. Jauniaux E, Gulbis B, Burton GJ, et al. The human first trimester gestational sac limits rather than facilitates oxygen transfer to the foetus – a review. *Placenta*, 24: S86–S93, 2003.
65. Myllynen P, Immonen E, Kumm M, et al. Developmental expression of drug metabolizing enzymes and transporter proteins in human placenta and fetal tissues. *Expert Opin DrugMet*, 5: 1483–1499, 2009.
66. McAleer MF, Tuan RS. Metallothionein protects against severe oxidative stress-induced apoptosis of human trophoblastic cells. *In Vitro Mol Toxicol*, 14: 219–231, 2001.
67. Cordon-Cardo C, O'Brien J, Boccia J, et al. Expression of the multidrug resistance gene product (P-glycoprotein) in human normal and tumor tissues. *J Histochem Cytochem*, 38: 1277–1287, 1990.
68. Miguel N. Llanos, Ana María Ronco Fetal growth restriction is related to placental levels of cadmium, lead and arsenic but not with antioxidant activities *Reproductive Toxicology* 27:88–92 (2009).
69. Hu X, Zheng T, Cheng Y, Holford T, Lin S, Leaderer B, Qiu J, Bassig BA, Shi K, Zhang Y, Niu J, Zhu Y, Li Y, Guo H, Chen Q, Zhang J, Xu S, Jin Y.: Distributions of heavy metals in maternal and cord blood and the association with infant birth weight in China. *J Reprod Med*. 2015 Jan-Feb;60 (1-2):21-9.
70. Hong Sun, Wen Chen, Dongyue Wang, Yinlong Jin, Xiaodong Chen, Yan Xu: The effects of prenatal exposure to low-level cadmium, lead and selenium on birth outcomes *Chemosphere* (2014) 33-34.
71. Zhu Chen, Robert Myers, Taiyin Wei, Eric Bind, Prince Kassim, Guoying Wang, Yuelong Ji, Xiumei Hong, Deanna Caruso, Tami Bartell, Yiwei Gong, Paul Strickland, Ana Navas-Acien, Elieo Guallar, and Xiaobin Wang: Placental transfer and concentrations of cadmium, mercury, lead, and selenium in

mothers, newborns, and young children J Expo Sci Environ Epidemiol. 2014; 24 (5): 537–544. doi:10.1038/jes.2014.26

72. Shari Thomas, Tye E. Arbuckle, Mandy Fisher, William D. Fraser, Adrienne Ettinger, Will King Metals exposure and risk of small-for-gestational age birth in a Canadian birth cohort: The MIREC study Environmental Research Volume 140, July 2015, Pages 430–439.
73. Gump BB, Stewart P, Reihman J, Lonky E, Darvill T, Matthews KA, et al. 2005. Prenatal and early childhood blood lead levels and cardiovascular functioning in 9 (1/2) year old children. *Neurotoxicol Teratol* 27 (4):655–665.
74. Abdelouahab, N.; Huel, G.; Suvorov, A.; Foliguet, B.; Goua, V.; Debotte, G.; Sahuquillo, J.; Charles, M.A.; Takser, L. Monoamine oxidase activity in placenta in relation to manganese, cadmium, lead, and mercury at delivery. *Neurotoxicol. Teratol.* **2010**, 32, 256–261.
75. Yazbeck, C.; Cheymol, J.; Dandres, A.M.; Barbery-Courcoux, A.L. Lead exposure in pregnant women and newborns: A screening update. *Arch. Pediatr.* **2007**, 14, 15–19.
76. Ernhart CB. A critical review of low-level prenatal lead exposure in the human: 1. Effects on the fetus and newborn. *Reprod Toxicol.* 1992;6 (1):9–19.
77. Dilek Kaya-Akyüzlü, Zeliha Kayaaltı, Esmâ Söylemez, Deniz Koca, Tülin Söylemezoğlu Does maternal VDR FokI single nucleotide polymorphism have an effect on lead levels of placenta, maternal and cord bloods? *PLACENTA.*2015;36 (8): 870-875.
78. Furman A, Laleli M Maternal and Umbilical Cord Blood Lead Levels: An Istanbul Study *Archives of Environmental Health: An International Journal* 56: 26-28 (2001).

79. Lafond, J., Hamel, A., Takser, L., Vaillancourt, C., Mergler, D., 2004. Low environmental contamination by lead in pregnant women: effect on calcium transfer in human placental syncytiotrophoblasts. *J. Toxicol. Environ. Health Part A* 67, 1069–1079.
80. Goyer, R., 1990. Transplacental transport of lead. *Environ. Health Perspect.* 89, 101–105.
81. Jedrychowski W, Perera F, Jankowski J, Mrozek-Budzyn D, Mroz E, Flak E, et al. 2009. Gender specific differences in neurodevelopmental effects of prenatal exposure to very low-lead levels: the prospective cohort study in three-year olds. *Early Hum Dev* 85 (8):503–510.
82. Wells EM, Herbstman JB, Lin YH et al. 2015 *Environ Health Perspect* DOI:10.1289 /ehp.1408596.
83. U.S. Environmental Protection Agency (EPA). *Organic Mercury, Toxicity and Exposure Assessment for Children's Health*; U.S.Environmental Protection Agency: Washington, DC, USA, 2007.
84. Butler Walker, J.; Houseman, J.; Seddon, L.; McMullen, E.; Tofflemire, K.; Mills, C.; Corriveau, A.; Weber, J.P.; LeBlanc, A.; Walker, M.; *et al.* Maternal and umbilical cord blood levels of mercury, lead, cadmium, and essential trace elements in Arctic Canada. *Environ. Res.* **2006**, *100*, 295–318.
85. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *NHANES Laboratory Procedures Manual*; Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Atlanta, GA, USA, 2013.