

ARSENİĞİN KAZ YUMURTALARINDA EMBRİYOTOKSİK ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Abdullah Doğan¹

Narin Liman²

B. Cem Liman¹

Hüseyin Zengin³

Die Untersuchungen der Embryotoxiceinflüsse von Arsen in der Gänseier

Zusammenfassung: In dieser Arbeit wurde die Embryotoxiceinflüsse von Arsen in der gänseier untersucht.

In der Untersuchung wurde die Eier, die 100 gr. gewichte und mit Embryonen haben, verwendet. Die Eier wurden 4 Gruppe, die 20, 20, 15 und 15 Eier enthält, haben, klassifiziert. In der Eier der erstem Gruppe wurde das Arsen untersucht. Zur Eier der zweiten Gruppe wurde am 2 Tag von Inkubation 0.9'igem % 0.1 ml injiziert. Zur Eier der dritten Gruppe wurde am 2 Tag von Inkubation 0.5 ppm Arsen injiziert und zur Eier der vierten Gruppe wurde am 2 Tag von Inkubation 0.1 ppm Arsen injiziert. Die Injektion wurde zum Luftsäckchen gemacht. Die Eier wurde am 27. Tag von Inkubation genau untersucht, ob die Embryonen lebedig sein und die Malformation zeigen.

In der Ergebnisse wurde beobachtet, dass die Embryonen in den 0.5 ppm Arsen injizierten Eiern 94 % und in den 0.1 ppm Arsen injizierten Eiern 60 % sterben. Ausserdem wurde in den beiden Gruppen die Missbildung betrachtet.

Schlüssellüssel wörter : Gänseier, embryotoxiceinflüsse, arsen

Özet: Bu çalışma arseniğin kaz yumurtalarında embriyotoksik etkisi araştırıldı.

Araştırmada 100 gr. ağırlığında, döllü 70 adet kaz yumurtası kullanıldı. Yumurtalar 20, 20, 15 ve 15 adet olmak üzere sırasıyla dört gruba ayrıldı. Birinci gruptaki yumurtalar arsenik analizinde kullanıldı. İnkübasyonun ikinci gününde ikinci gruptaki yumurtalara % 0.9'luk NaCl solusyonundan 0.1 ml enjekte edildi. Üçüncü gruptaki yumurtalar 0.5 ppm ve dördüncü gruptaki yumurtalara 0.1 ppm arsenik inkübasyonun ikinci gününde aynı hacimde (0.1 ml) hava kesesinden enjekte edildi. Yumurtalar inkübasyona bırakıldı ve inkübasyonun 27. gününde kuluçka makinesinden alınarak embriyoların canlı olup oldukları ve malformasyonlar gösterip göstermedikleri araştırıldı.

Sonuçlar 0.5 ppm arsenik enjekte edilen yumurtalarda embriyonların % 94'ünün ve 0.1 ppm arsenik enjekte edilen yumurtalarda ise embriyoların % 60'ının öldüğünü gösterdi. Ayrıca her iki gruptaki embriyolarda malformasyonlara rastlandı.

Anahtar kelime : Kaz yumurtası, Embriyotoksite, Arsenik

Giriş

Arsenik doğada oldukça yaygın bulunan bir elementtir. Endüstride, tıp ve veterinerlik alanında, zirai mücadelede kullanım alanı bulmuştur ve ekonomik öneme sahiptir (1, 2, 4, 16).

Genellikle diğer metallerle birlikte bulunan arsenik yeryüzünün değişik yörelerine farklı yoğunluklarda bulunmaktadır (3, 5, 11). Bazı yörelerdeki toprak, su ve bitkiler arseniği canlılar için tehlikeli olabilecek boyutlarda içermektedir. Böyle yörelerde otlayan hayvanlar ile böyle suları tüketen insanlar ve diğer canlılar arseniğin olumsuz etkilerine değişik derecelerde maruz kalırlar. Arseniğin normal düzeyi bitkilerde 0.1-1 mg/Kg, toprakta ise 1-70 mg/Kg'dır (1, 2, 3, 10, 11, 13, 15).

Arsenik endüstride cam üretiminde, herbisid, insektisid ve akarısit amaçla zirai mücadelede kullanılmaktadır. Veteriner hekimlikte fover solusyonu halinde antiemetik, raborant olarak kullanılır. Organik bileşikler çok eskiden beri tripanazoma hastalığının tedavisinde kemoterapötik ilaç olarak kullanılmıştır (7, 11, 14, 26). Kanatlı ve domuz besiciliğinde metabolik etkinliği artırmak ve büyümeyi stimüle etmek amacıyla çok küçük yoğunluklarda (ppm) yemlere katılmaktadır. Bu amaç için sonyum arsenilat ve 4-aminofenilarsenik asit gibi organik arsenik bileşikler en fazla kullanılan ilaçlardır. Bu son ilaç hayvan yemlerine büyümeyi arttırmak amacıyla 50-100 ppm düzeyinde katılmaktadır (12, 14, 15). Gelişmeyi stimüle etmek için organik arsenik bileşiği ihtiva eden rasyonlarla

1- Yrd. Doç. Dr., KA.Ü. Vet. Fak. Farmakoloji ve Toksikoloji Bilim dalı., Kars.

2- Yrd. Doç. Dr. KA.Ü. Vet. Fak. Hist. ve Emb. Bilim dalı, Kars.

3- Vet. Hak., Tarım İl Müdürlüğü, Kars.

beslenen hayvanların ürünlerinde belirli düzeylerde arseniğe rastlanır (2, 4, 6, 13, 16). Arseniğin yumurtalarda bulunmasına izin verilen en yüksek düzey 0.5 ppm'dir. (2).

Arsenik ve arsenik bileşiklerinin belirli düzeyleri doğal olarak yemlerde ve hayvansal ürünlerde bulunur. Bu düzeylerin herhangi bir biyolojik önemi yoktur. Bazı dokularda arseniğin normal düzeyleri şöyledir; saçlarda 10 ppm, iskelet kaslarında 0.005 ppm, böbrek ve karaciğerde 0.05 ppm ve inek sütünde 30-60 ppb'dir (3, 11, 18).

Toksikolojik öneme sahip arsenik bileşiklerinin sindirim kanalından emilmeleri oldukça hızlıdır. Buhar ve gaz halindeki arsenik solunum yolundan ve deriye uygulanan arsenik bileşikler deriden (bütünlüğü bozulmuş) kolaylıkla emilir. Kemiklerde, deride ve paranşimatöz organlarda depolanır. Vücuttan böbrekler, dışkı ve bez yolları ile atılır (7, 11, 19, 23, 26).

Arseniğin biyolojik etkisi kükürt ihtiva eden değişik enzimler ile reaksiyona girmesine bağlanmaktadır. Arsenik özellikle fosfatazları inhibe eder. Metabolizma olaylarını engeller. Arsenik aynı zamanda bir protoplazma zehiridir. Kapillar damarlarda felçlere neden olur (5, 7, 10, 15, 25, 26).

Arsenik insan lökosit hücre kültüründe kromozomal bozukluklara neden olmaktadır. Hamsterlerde teratojen etkinliğe sahip olduğu tesbit edilmiştir. Arsenikle kontamine suları tüketen insanlarda kanser olgunusun ortaya çıktığı belirtilmektedir (10, 11).

Arsenikle meydana gelen perakut ve akut zehirlenmelerde salivasyon, kusma, hemorajik diare, gastroenteritis, krampplar ve elektrolit kaybı dikkati çeker. Perakut zehirlenmelerde idrarda 1 mg/lt, dışkıda ise 5 mg/Kg düzeyinde arseniğe rastlanır. Kronik arsenik zehirlenmelerinin teşhisi için kimyasal analiz materyali olarak kıl ve karaciğer dokusunun alınması önerilmektedir (7). Kronik arsenik zehirlenmelerinde karaciğerdeki arsenik yoğunluğu 10 mg/Kg'ın üzerindedir (7, 11).

Bu çalışmada, kaz yumurtalarına belirli konsantrasyonlarda verilen arseniğin embriyolarda toksik bir etki meydana getirip getirmeyeceğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışma erlenmayer, beherglas, pipetler, etüv ve spektrofotometre gibi malzemelerin yanısıra aşağıdaki kimyasal maddeler kullanıldı.

Sodyum dietilditiyokarbamat (Sigma no. D-3506), Piridin (Merck art. 822301), Magnezyum oksit (Merck art. 5835), Magnezyum nitrat (Merck art. 5854), Arsenik trioksit (Merck art. 123), Kalay klorür (Merck art. 818150), Kurşun asetat (Merck art. 7374), Çinko granül (Merck art. 8755), Gümüş nitrat (Merck art. 1510), Potasyum iyodür (Merck art. 5050), Sodyum hidroksit (Merck art. 6482), Sülfürik asit (Merck art. 731) ve Hidroklorik asit (Merck art. 314).

Bu çalışma, Kars Tarım İl Müdürlüğü'ne bağlı Kazcılık Araştırma İstasyon'unda yapıldı. Araştırmada 100 gr. ağırlığında, dömlü toplam 70 adet kaz yumurtası kullanıldı. Yumurtalar Tablo 1'de olduğu gibi sınıflandırıldı. 1. gruptaki 20 adet kaz yumurtası arsenik analizi için kullanıldı. 2. gruptaki 20 adet kaz yumurtası kontrol olarak tutuldu ve inkübasyonun ikinci gününde yumurtaların hava boşluklarına 0.1 ml hacimde % 0.9'luk NaCl solüsyonu enjekte edildi. 3. gruptaki kaz yumurtalarına inkübasyonun ikinci gününde 0.5 mg/ml'lik arsenik solüsyonundan 0.1 ml hacimde (0.5 ppm) hava boşluğundan enjekte edildi. 4. gruptaki kaz yumurtalarına hava kesesinden inkübasyonun ikinci gününe 0.01 mg/ml'lik arsenik solüsyonundan 0.1 ml (0.1 ppm) enjekte edildi. Yumurtalardaki delikler parafin ile kapatıldı ve yumurtalar kuluçka makinesine yerleştirildi. Kuluçka makinesinden inkübasyonun 27. gününde alınan yumurtalar açılarak embriyoların canlı olup olmadıkları ve malformasyonlar gösterip göstermedikleri incelendi.

1. gruptaki yumurtlarda arsenik analizi George ve ark. (8) tarafından bildirilen spektrofotometrik yöntemle yapıldı. Numuneler kuru yöntemle yıkıldıktan sonra arsin jeneratörüne aktarıldı ve burada oluşan arsin gazı gümüş dietildiyorkarbamat solusyonunda tutularak 540 mm dalga boyunda kör ayıracına karşı spektrofotometrede absorbansları ölçüldü.

Tablo 1: Yumurtaların sınıflandırılması

Grup	Yumurta sayısı	Amaç	Çözelti	Enj. hacmi	Yumur. As mik.
1	20	Kontrol	—	—	—
2	20	Kontrol	%0.9NaCl	0.1 ml	—
3	15	Deney	0.5mg/mlAs	0.1 ml	0.5 ppm
4	15	Deney	0.01mg/mlAs	0.1 ml	0.1 ppm

Bulgular

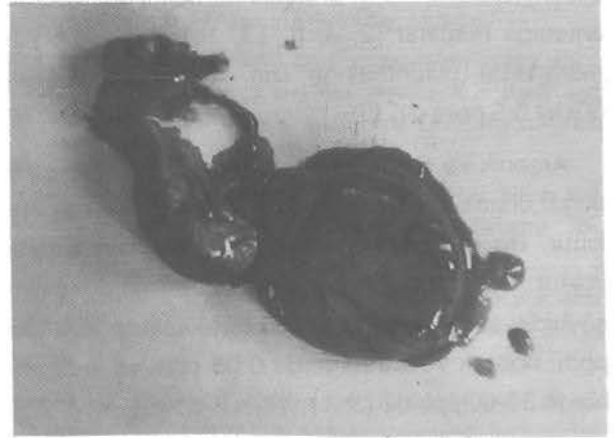
Kaz Üretim İstasyonunda kuluçka makinesine konmamış 20 adet kaz yumurtasında yapılan analiz neticesinde arseniğe rastlanmadı.

0.5 ppm oranında arsenik enjekte edilen yumurtalardaki embriyoların 14 adedi (% 94) ve 0.1 ppm oranında arsenik enjekte edilen yumurtalardaki embriyoların ise 9 adedinin (% 60) öldüğü tesbit edildi.

Embriyolarda gözlenen malformasyonlar Tablo 2'de gösterilmiştir. Şekil 1'de ise ölü ve yeterince gelişmemiş bir embriyo görülmektedir.

Tablo 2: Embriyolarda gözlenen malformasyonlar

Malformasyon	Kontrol	0.5 ppm.As	0.1 ppm As
Ölü embriyo	—	14	9
Küçük embriyo	—	8	5
Mikromeli	—	2	1
Boyun eğriliği	—	4	3
Hemoraji	—	5	3
İç org. dışarıda olması	—	5	2
Mikroftalmi	—	4	1



Şekil 1: Yeterince gelişmemiş ölü bir embriyo

Tartışma ve Sonuç

Arsenik doğada yaygın bulunan bir element olması nedeniyle küçük miktarlarda da olsa hayvan yemlerine buradan da böyle arsenikli yemleri tüketmek zorunda kalan hayvanların et, süt ve yumurta gibi ürünlerine önemli sayılabilecek ölçülerde geçer (12, 14, 19, 23, 24). Yine özellikle kanatlıların yemlerine büyümeyi hızlandırmak amacıyla katılan çeşitli arsenik bileşikleri aynı şekilde hayvansal ürünlere çeşitli oranlarda yansır (1, 3, 14, 17). Hayvansal ürünlere bulunan kalıntılar, hayvanların yanısıra özellikle böyle ürünleri tüketmek zorunda kalan insanlarda çeşitli sağlık sakıncaları doğurabilmektedir (10, 20, 21, 27). Yumurtalarda bulunabilecek toksik artıklar, yumurtaların civciv üretimi için kullanılması nedeniyle ekonomik bir değere sahiptir. Yumurtalarda belirli düzeylerde bulunabilecek çeşitli kalıntıların civciv çıkma oranı üzerine olumsuz etkiler yaptığı bilinmektedir (6, 9). Bu durumun göz önünde bulundurulması işletmenin geleceği ve karlılığı açısından şarttır.

Hayvansal ürünlere ve yemlerde bulunabilecek arsenik kalıntıları ile ilgili çok sayıda araştırmalar yapılmıştır. Schworz ve ark. (23) yaptıkları çalışmada yemlerde 0.3-1.14 ppm arasında arsenik bulmuşlardır. Krocza ve Schuh (18) 28 ppm arsenik asit taşıyan yemler ile 120 gün beslenen domuzların etlerinde 0.71, böbreklerinde 0.7 ve karaciğerinde 0.75 ppm düzeyinde arsenik bulmuşlardır. Yine aynı araştırmacılar yemlerine hiç

arsenik katılmayan tavukların etlerinde 0.005, karaciğerde 0.01 ppm oranında arsenik bulmuşlardır. Buna rağmen 11 gün süreyle 90 ppm arsenik taşıyan yemlerle beslenen kanatlıların etlerinde 0.1 ppm, karaciğerinde 1.5 ppm ve böbreklerinde 0.8 ppm arsenik tesbit etmişlerdir.

Daghir ve Hariri (6), 15 hafta süreyle 50 ppm arsenik taşıyan yemlerle beslenen kanatlıların yumurtalarında spektrofotometrik yöntem ile 0.05 ppm düzeyinde arsenik bulmuşlardır. Kesimden önce iki hafta süreyle bekletilenlerde ise arsenik düzeyini yumurtalarda 0.011 ppm olarak tesbit etmişlerdir. Arsanilik asit ve sodyum arsenat katılmış yemler ile beslenen kanatlıların kesimden önce 5 gün bekletilmesinin gerektiği belirtilmektedir (2).

Gilahi ve Alibhai (9), yumurtalarda embriyolar için bazı ağır metallerin LD₅₀ düzeylerini tesbit etmişlerdir. Bu araştırmacılar göre LD₅₀ düzeyleri kadmiyum için 3, arsenik için 9 kobalt için 38, bakır için 58 mikrogram/yumurtadır.

Yumurtalarda insanlar için arseniğin tolerans düzeyi 0.5 ppm olarak kabul edilir (2). Bu çalışmada insanlar için belirlenen yumurtalardaki tolerans düzeyinde (0.5 ppm) kaz yumurtalarına verilen arseniğin embriyotoksik etkili olduğu ve embriyoların tamamına yakınının (% 94) öldüğü görülmüştür. 0.1 ppm düzeyinde arsenik enjekte edilen yumurtalarda ise embriyoların % 60 oranında öldüğü tesbit edilmiştir.

Sonuç olarak, tolerans düzeyinde ve bu düzeyden yaklaşık beş kat daha az miktarlarda arseniğin yumurtalarda bulunması oldukça yüksek oranlarda embriyo ölümlerine neden olmaktadır. Bu nedenle ekonomik kanatlı yetiştiriciliği için yumurtalardaki arsenik kalıntılarının embriyo ölümüne neden olabilecek şekilde sınırlandırılması gereklidir.

Kaynaklar

1-Bergeland, M.E., Ruht, G.R., Stack, R.L. and Emerick, R.J. (1976). Arsenic toxicosis in cattle associated with soil and water contamination from mining operations. *Am. Ass. Vet. Lab. Diag.* 1461, 311-316
2-Booth, N.H. and McDonald, L.E. (1988). *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 6th ed. Iowa state University Press/Ames.
3-Braunschweig, J.H. (1978). Arsenrückstände im fleisch-und organproben von schlachtbaren haustieren, wasserflügel und niederwid. *Die Fleischwirtschaft*. 9, 1545-1546.
4-Clarke, M.L., Harvey, D.G. and Humphreys, D.J. (1981). *Veterinary Toxicology*. 2 th ed. Bailliere Tindal, London. pp. 29-35
5-Concon J.M. (1988). *Food Toxicology*. Marcel Dekker, Inc. New York. pp. 1082-1088.

6-Daghir, M.S. and Hariri, N.N. (1977). Determination of total arsenic residues in chicken eggs. *J. Agr. Food Chem.* 25, 5, 1009-1010.
7-Forth, W., Henschler, D. und Rummel, W. (1983). *Pharmakologie und Toxikologie*. 4. Auflage. Wissenschaftsverlag Bibliographisches Institut, Mannheim. s. 663-664.
8-George, G.M., Frobrm, L.J. and McDonald, J.P. (1973). Dry ashing method for the determination of total arsenic in animal tissues. *J.A.O.A.C.* 54, 793-797.
9-Gilani, S.H. and Alibhai, Y. (1990). Teratogenicity of metals to chick embryos. *J. Tox. Environ. H.* 30, 1, 23-31.
10-Gürtunca, Ş., Ceylan, S. ve Şanlı, Y. (1973). Ankara ve yöresindeki bazı içme ve kullanma suları örneklerinin arsenik yönünden araştırılması. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.* 20, 1, 85-95.
11-Hapke, H.J. (1988). *Toxikologie für Veterinarmediziner*. 2. neu bearbeitete Auflage. Ferdinand Enke Verlag. Stuttgart.
12-Hill, B.D. and Blaney, B.J. (1984). Poisoning caused by the combined effects of two phenylarsonic acid growth promotants in pigs. *Aust. Vet. J.* 61, 7, 241.
13-Kaya, S. (1984). Biyolojik materyalde doğal arsenik düzeyleri. *A. Ü. Vet. Fak. Derg.* 31, 3, 424-430.
14-Kaya, S., Bilgili, A., Doğan, A. ve Liman, B.C. (1990). Mezbahada kesilen sığırların et ve bazı iç organlarında arsenik kalıntılar. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.* 37, 2, 359-363.
15-Kaya, S. ve Yavuz, H. (1989). Yem ve yem hammaddelerinde doğal arsenik düzeyleri. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.* 36, 1, 116-122.
16-Knöppler, O.H., Donnerbauer, H.J. und Philipp, a. (1975). Untersuchungen von schlachtsschweinen auf pestizid und arsenrückstände. *Die Fleischwirtschaft*. 55, 10, 1460-1462.
17-Kramer, H.J., Steiner, J.W. and Valkly, P.J. (1983). Trace element concentrations in the liver, kidney and muscle of queensland cattle. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 30, 558-594.
18-Krocza, W. und Schuh, M. (1973). Arsenrückstände im fleisch von schlachtieren. *Wien. Tierarztl. Mschr.* 60, 12, 366-371.
19-Leiken, J.B., Goldman, R.E., Evans, M.A., Wiener, S. and Hryhorczug, D.O. (1991). Immunotherapy in acute arsenic poisoning. *Clinical Toxicology*. 29, 1, 59-70.
20-McParland, P.J., Thompson, R.H. and Regan, M. (1971). Deaths in cattle following ingestion of lead arsenate. *Vet. Rec.* 16, 450-451.
21-Morgan, S.E., Morgan, G.L., and Edwards, W.C. (1984). Pinpointing the source of arsenic poisoning in a herd of cattle. *Veterinary Medicine*. 1225-1228.
22-Robertson, I.D., Harms, W.E. and Ketterer, P.J. (1984). Accidental arsenical toxicity of cattle. *Aust. Vet. J.* 61, 11, 366-367.
23-Schwarz, T., Busch, A. und Lenk, R. (1991). Erste untersuchungen zur belastung von futtermitteln, rindern und lebensmittel tierischer herkunft aus unterschiedlihen produktionsgebieten sachsens mit blei, kadmium und arsen. *Deut. Tierarztl. Wschr.* 98, 365-372.
24-Saakare, J.U., Markussen, N.H., Norheim, G., Haugen, S. and Holt, G. (1990). Levels of polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides, mercury, cadmium, copper, selenium, arsenic and zinc in the harbour seal, phoca vitulina, in norwegian waters. *Environmental Pollution*. 66, 44, 309-324.
25-Şanlı, Y. ve Kaya, S. (1984). Biyolojik materyalde arsenik aranması. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.* 31, 1, 1-14.
26-Şanlı, Y. ve Kaya, S. (1992). *Veteriner Klinik Toksikoloji*. Medisan Yayınları, Ankara, s. 56-64.
27-Thatcher, C.D., Meldrum, J.B., Wiske, S.E. and Whittier V.D. (1985). Arsenic toxicosis and suspected chromium toxicosis in a herd of cattle. *JAVMA*. 187, 2, 179-182.