

# AĞIR METALLERİN TAVUK EMBRİYOLARINDA TERATOJENİK ETKİLERİ:

## 1. Arsenik ve Kurşunun Ayrı Ayrı ve Birlikte Kullanılmasının Etkileri

Sezai Kaya\*

Belma Alabay\*\*

Emine Baydan\*\*\*

Hikmet Altunay\*\*\*\*

**Teratogenic effects of heavy metals on chick embryos: I. Effects of sepe-  
rate and combined use of arsenic and lead.**

**Summary:** *In this study, effects of sepe-  
rate and combined use of arsenic  
and lead were examined on chick embryos.*

*Two-day-old Ross-PM 3 embryos were administered different dose levels of arsenic trioxide (1.44-1.44 µg as As/egg), lead acetate (4-40 µg as Pb/egg) and arsenic trioxide plus lead acetate dissolved in physiologic saline and were injected into the air sacs at the volume of 0.1 ml. Control eggs were injected with an equal volume of physiologic saline (0.1 ml/egg). The eggs were incubated at the 65 per cent relative humidity and 38.5°C in a chick incubator. On day 17 of incubation, the live chick embryos were removed from the incubated eggs and examined for LD<sub>50</sub> and gross malformations. Average LD<sub>50</sub> for arsenic was 3.5 µg As/egg, for lead 11.4 µg Pb/egg and for arsenic plus lead 2.5 µg As + 6.28 µg Pb/egg. In combined use of arsenic and lead, there was synergistic interaction between these metals for LD<sub>50</sub> that reflected a positive dose-response relationships. There was no malformation in control group. The gross malformations observed were reduced chick embryo size and weight, everted viscera, twisted limbs, haemorrhage, abdominal rupture, neck defect and micromelia. The incidence of gross malformation was higher in chick embryos treated with lead than those of treated arsenic or arsenic plus lead. In addition, some of embryos showed more than one malformations. Also, as well as enlargement of hepatic cells, haemorrhage and dilatation in sinusoides were observed in the histologic examination.*

*It was concluded that both arsenic and lead were teratogenic and toxic in varying degress in chick embryogenesis and there was a synergistic interactions between them with respect to these effects, especially for LD<sub>50</sub>*

**Özet:** *Bu çalışmada arsenik ve kurşunun tavuk embriyolarında ayrı ayrı ve birlikte kullanılmasının etkileri incelenmiştir.*

*İki günlük Ross-PM 3 ırkı embriyolara arsenik 1.44-14.4 µg As/yumurta, kurşun 4-40 µg Pb/yumurta ve arsenik + kurşun 1.44-14.4 µg As + 4-40 µg Pb/yumurta arasında değişen dozlarda uygulandı. Arsenik trioksit ve kurşun arsenatın fizyolojik tuzlu sudaki uygulama çözeltileri hazırlandı ve 0.1 ml miktardaki çözelti hava kesesine injekte edildi; kontrol grubundaki yumurtalara da 0.1 ml miktarda fizyolojik tuzlu su uygulandı. Yumurtalar %65 nisbi rutubet ve 38.5 °C'ye ayarlı kuluçka makinasına konuldu. Kuluçkanın 17'nci gününde yumurtalar alındı ve canlı embriyolar metal çeşidine göre öldürücü doz 50 (ÖD<sub>50</sub>) ve*

\* Prof. Dr. Ankara Üniv. Vet. Fak. Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara.

\*\* Doç. Dr. Ankara Üniv. Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

\*\*\* Doç. Dr., Ankara Üniv. Vet. Fak. Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara.

\*\*\*\* Araş. Gör. Dr., Ankara Üniv. Vet. Fak. Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

önemli şekil bozuklukları bakımlarından incelendi. Ortalama  $\text{ÖD}_{50}$ 'nin arsenik için 3.5 g As/yumurta, kurşun için 11.4 g Pb/yumurta ve arsenik+kurşun için 2.5 g As+6.28 g Pb/yumurta olduğu hesaplandı. Arsenik ve kurşunun birlikte kullanılması durumunda  $\text{ÖD}_{50}$  bakımından aralarında sinerjistik bir etkileşmenin bulunduğu anlaşıldı. Tavuk embriyolarında başlıca embriyo ağırlığının azalması ve boy kısalması, iç organların ters dönmesi, bacak, ayak ve parmakların gelişmemesi, vücut yüzeyi ve iç organlarda kanama alanlarının bulunması, boynun kısalması, ayak ve parmakların normalden kısa olması ve karın duvarının kapanmaması neticesi iç organların dışarı çıkması, başta karaciğer ve mide olmak üzere iç organların küçük olması gibi şekil bozuklukların bulunduğu belirlendi. Ayrıca, embriyoların bir çoğunda birden fazla şekil bozukluğu ile karşılaşıldı. Kurşun uygulanan embriyolardaki şekil bozuklukları sıklığının arsenik veya arsenik+kurşun uygulanan gruplardakilerden daha yüksek olduğu belirlendi. Keza, karaciğer hücrelerinin histolojik incelemesi sonucunda, her üç gruptaki tavuk embriyolarında da karaciğer epitel hücrelerinde, dejenerasyon yanında, sinusoidlerde genişleme ve kanamalar görüldü.

Çalışmadan elde edilen bulgular arsenik ve kurşunun tavuk embriyoları için son derece zehirli ve teratojenik olduğunu ve bu iki metal arasında, özellikle  $\text{ÖD}_{50}$  yönünden olmak üzere, sinerjistik etkileşme bulunduğunu ortaya koymuştur.

## Giriş

Hızlı endüstrileşme ve nüfus artışı, çarpık ve düzensiz kentleşme, kimyasal madde üretimi ve tüketiminin çeşitliliği ve fazlalığı, tarımsal mücadelede yoğun gübre ve ilaç kullanımı, sanayi tesislerinde kimyasal ve biyolojik arıtmaya gerektiğince önem verilmemesi gibi etmenler çevre kirliliğinin boyutlarını her geçen gün artırmaktadır. Çevre kirleticiler arasında özellikle organik klorlu böcek ilaçları, poliklorbifeniller, polibrombifeniller, temizlik maddeleri ile bazı ağır metaller ayrı bir önem taşırlar (12, 14, 19, 24, 34). Çevre şartlarına genellikle dayanıklı olan bu maddeler uygulandıkları veya çıktıkları ortamda giderek birikirler; besin zincirine giren tüketici durumundaki canlılarda (insan, hayvan, bakteri, parazit gibi) önemli etkilere sahip olurlar (1, 20, 30, 31, 38).

Çevre ve besin kirleticileri arasında metaller ve metalik bileşikler önemli yer tutarlar. Doğada karşılaşılan metal artıkları, toprağın yapısında normal olarak bulunmaları yanında, özellikle maden ocakları, metal üretimi, arıtma ve işleme tesislerinden kaynaklanırlar (4, 23, 28, 32).

Arsenik, ekilebilir topraklarda 0.5-100 ppm (ortalama 5 ppm) ve kültür bitkilerinde de 0.1-10 ppm arasında değişen miktarlarda bulunur (23). Suda iyi çözünen arsenik bileşikleri (sodyum arsenit gibi) ağızdan verildikten sonra sindirim kanalından iyi emilir ve daha zehirlidirler; az çözünenler (arsenik trioksit gibi) ise zayıf şekilde emilir ve daha az zehirlidirler. Ör-

neğin sıçanlarda ağızdan  $\text{ÖD}_{50}$  sodyum arsenit için 10-50 mg/kg arasında değişirken, arsenik trioksit için bu değer 138 mg/kg olarak bildirilmiştir (17). Yem veya besinlerle alınan arsenik, sindirim kanalından emildikten sonra vücutta çeşitli organ ve dokulara dağılır; vücudu, başta dışkı ve idrarla olmak üzere, süt, safra, tükürük ve terle terkeder (5, 21, 26). Bu arada, arsenik yumurtaya da geçer (9, 13); aslında, yumurtalarda normal olarak 2-7 ppb arasında değişen miktarlarda arsenik bulunur (9).

Kurşun ise, çok amaçlı ve yaygın kullanımı sebebiyle, çevrede (toprak, su, hava gibi) ve canlılarda (insan, hayvan, bitki gibi) değişik düzeylerde bulunur; hayvanlarda karşılaşılan zehirlenmelerin önemli sebepleri arasındadır (11, 22, 23, 27). Ağızdan verildikten sonra sindirim kanalından genellikle çok az emilen kurşun, başta kemikler olmak üzere, vücutta çeşitli organ ve dokularda birikim gösterir; vücuttan, öncelikle dışkı, idrar ve süt olmak üzere, çok yavaş bir şekilde çeşitli yollarla atılır (17, 37). Bu arada kurşun yumurtaya da önemli ölçüde geçer (2, 13).

Canlı yaşamı için metallerden bazılarının (çinko, demir, kobalt, selenyum gibi) mutlaka gerek duyulurken, bazılarının (kurşun, civa gibi) vücutta kirlenici olarak rastlanır. Ama, gereğinden fazla maruz kalındığında, metallerin tamamını da canlılar için zararlı olabilirler. Çok fazla miktarlarda alındıklarında, insan veya hayvanlarda ölüme kadar gidebilen zehirlenmelere yol açarlarken, besinlerde özellikle az miktarlarda sürekli şekilde alındıklarında metaller hayvan-

larda verim ve ağırlık kazancının azalmasına, kansızlığa, kemiklerde erimeye ve şekil bozukluklarına, özellikle karaciğer, böbrek ve dalak olmak üzere, organlarda bozukluklara sebep olabilirler (6, 7, 11, 22, 29, 35, 36). Başta arsenik, kurşun ve civa olmak üzere, metallerin bir çoğunun memeli, kanatlı ve balık embriyoları üzerinde güçlü teratojenik etkileri vardır (3, 10, 15, 16, 18). Yalnız bu çalışmaların çoğunda metallerin teratojenik etkilerine ayrı ayrı bakılmıştır. Ama, doğal ortamda bu maddelerin bir çoğuna aynı zamanda maruz kalınması söz konusu olmaktadır.

Bundan dolayı, bu çalışmada, arsenik ve kurşunun, tavuk embriyolarına ayrı ayrı etkileri yanında, birlikte kullanılmaları halinde embriyolar için  $ÖD_{50}$  değerlerinin tayini ile teratojenite yönünden olabilecek etkilerinin bir ön deneme şeklinde incelenmesi amaçlanmıştır.

### Materyal ve Metod

Bu çalışma Ross-PM 3 ırkı tavuklardan sağlanan 228 yumurtada gerçekleştirildi. Yumurtalar Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deneme ve Araştırma Çiftliği'nden sağlandı ve çalışma bu kuruluşun, yumurta yanında, kuluçka makinası desteğiyle gerçekleştirildi. Yumurtalar 1'i kontrol (K) ve 3'ü deneme (Grup A,

Tablo 1. Kontrol ve deneme grupları ile kullanılan maddeler ve miktarları.

Table 1. Used substances and their amounts with control and experimental groups.

Grup	Kullanılan Madde	Uygulama Miktarları
K	FTS	0.100 ml/yumurta
A1	Arsenik	1.44 · g As/yumurta
A2	"	2.88 · g/As/yumurta
A3	"	5.76 · g As/yumurta
A4	"	8.64 · g As/yumurta
A5	"	11.52 · gAs/yumurta
A6	"	14.40 · g As/yumurta
B1	Kurşun	4 · g Pb/yumurta
B2	"	8 · g Pb/yumurta
B3	"	16 · g Pb/yumurta
B4	"	24 · g Pb/yumurta
B5	"	32 · g Pb/yumurta
B6	"	40 · g Pb/yumurta
C1	Arsenik+Kurşun	1.44 · g As + 4 · g Pb/yumurta
C2	"	2.88 · g As + 8 · g Pb/yumurta
C3	"	5.76 · g As + 16 · g Pb/yumurta
C4	"	8.64 · g As + 24 · g Pb/yumurta
C5	"	11.52 · g As + 32 · g Pb/yumurta
C6	"	14.40 · g As + 40 · g Pb/yumurta

Not: FTS: Fizyolojik tuzlu su.

B ve C) olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Ayrıca, Grup A, B ve C kendi içlerinde de 6 alt gruba (A1-6, B1-6 ve C1-6) bölündü; K ve deneme alt gruplarının her birinde 12 yumurta bulundurul-

Tablo 2. Farklı dozlarda arsenik ve kurşunun tavuk embriyolarındaki başlıca teratojenik etkileri.  
Table 2. Main teratogenic effects of arsenic and lead on the chick embryos at different doses.

Grup	Dökt Yum. %	Embriyo Ağırlığı, g	Ölüm Oranı, %	T Bacak	e r Kanat	a t o j e n i t e , Gega	Boyun	Baş	Boy, sm	İç Organ	% Kanama
K	83.3	25.3	-	N	N	N	N	N	8.35	N	-
A1	83.3	24.27	10.0	N	N	N	N	N	7.61	N	33
A2	75	22.58	44.4	N	N	N	N	N	6.90	N	40
A3	75	19.75	77.7	N	N	N	N	N	6.75	100 <sup>1</sup>	50
A4	75	18.6	88.0	100	N	N	100	N	6.00	100 <sup>1</sup>	100
A5	66.6	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-
A6	75	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-
B1	91.6	24.54	18.1	11	11	N	N	N	8.0	22 <sup>2</sup>	11
B2	91.6	20.16	45.4	16	N	N	16	N	7.16	16 <sup>2</sup>	16
B3	75	22.8	55.5	N	N	N	N	N	6.87	N	75
B4	83.3	18.42	30.0	28.5	28.5	N	14.2	N	6.30	85 <sup>1,2</sup>	71
B5	75	17.2	77.7	50	50	N	N	N	6.25	30 <sup>3</sup>	-
B6	91.6	18.45	90.9	N	N	N	N	N	6.0	N	100
C1	100	22.4	33.3	N	N	N	14.2	N	7.7	28 <sup>1</sup>	42
C2	83.3	22.2	60	N	25	N	25	-	7.3	25 <sup>1</sup>	25
C3	74	18.2	88.8	N	N	N	N	N	6.0	N	100
C4	75	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-
C5	75	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-
C6	75	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-

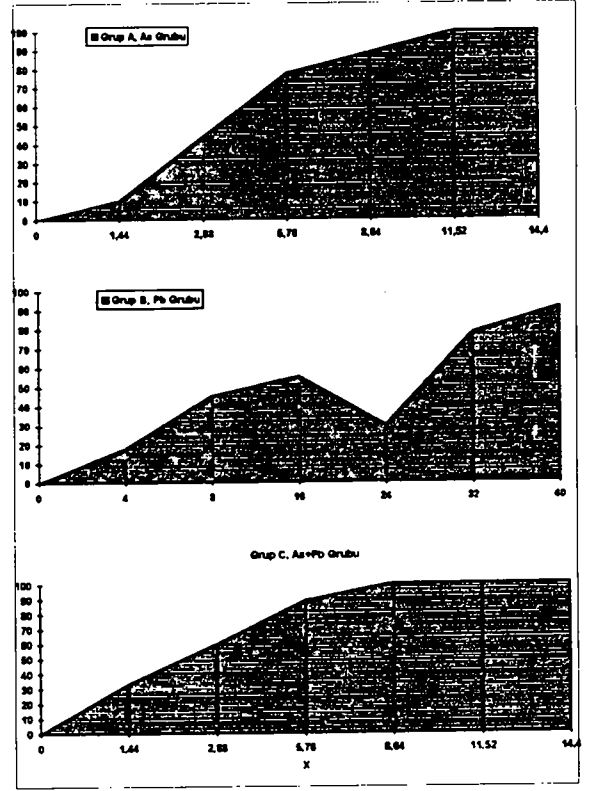
Not 1. Şiddetli kanama alanları ve iç organlarda küçüklük; 2. İç organlar küçük ve dışarıda, 3. iç organlar küçük.

du. Yumurtalar 38.5°C'de ve %65 nisbi rutubetli kuluçka makinasında tutuldu. Çalışmada arsenik (Arsenik trioksit, Merck) ve kurşun (Kurşun asetat 3 H<sub>2</sub>O, Merck) kullanıldı. Fizyolojik tuzlu suyun 1 ml'sinde arseniğin (arsenik olarak) 14.4-144 µg/ml, kurşunun (kurşun olarak) 40-400 µg/ml ve arsenik + kurşun (1 + 1) çözeltileri hazırlandı; böylece, her dozda uygulanacak sıvı hacmi 0.1 ml'de tutuldu. Grup A1-6'ya arsenik 1.44-14.4 µg As/yumurta, Grup B1-6'ya kurşun 4-40 µg Pb/yumurta ve Grup C1-6'ya da 1.44-14.4 µg As + 4-40 µg Pb/yumurta miktarında uygulandı. Deneme gruplarındaki yumurtalara uygulanan arsenik ve kurşun miktarları Tablo 1'de verildi.

Uygulamalar yumurtaların kuluçkaya konulmasını takiben 2nci günde (42-46nci saatler arasında) hava kamarası içine yapıldı. Kuluçkanın 17nci gününde yumurtalardan canlı embriyolar uzaklaştırıldı ve bunlar arsenik ve kurşunun ayrı ayrı ve birlikte kullanılması durumunda ÖD<sub>50</sub> değerleri, bacak, kanat, gaga, göz, baş, boyun ve iç organlarda bozukluklar, ödem ve kanama alanları, vücut ağırlığı ve boyda kısalma, baş ve iç organlarda bozukluklar gibi teratojenik etkiler yönünden incelendi; sonuçlar K grubundan elde edilen bulgularla karşılaştırıldı. ÖD<sub>50</sub> kuvantal doz-etki ilişkisinden (25) hesaplandı. Karaciğerden alınan parçalar %10 formolle tesbit edildi; alınan doku, derceli alkollerden geçirildi ve metil benzoatla saydamlaştırılıp benzolle parlatıldıktan sonra paraplast içine gömüldü. Gömülen karaciğer dokusu parçalarından mikrotomla 7 µm kalınlığında kesitler alındı ve bunlar üçlü boyama sistemi ile (Mallory's Triple Stain) boyandıktan sonra ışık mikroskobunda incelendi.

### Bulgular

Kontrol grubu ile birlikte arsenik ve kurşun için deneme gruplarında hesaplanan ÖD<sub>50</sub> değerleri Şekil 1'de ve gruplara göre tavuk embriyolarında ölüm oranları Tablo 2'de verilmiştir; buna göre, ÖD<sub>50</sub> değeri arsenik için 3.5 µg As/yumurta, kurşun için 11.4 µg Pb/yumurta ve 2.5 µg As+6.28 µg Pb/yumurta olarak belirlenmiştir. Şekil 1 ve Tablo 2'de görüldüğü gibi, açık bir doz-etki ilişkisi bulunmaktadır; metallerin dozu arttıkça canlı embriyo sayısı veya yüzdesi azalmaktadır. Şöyle ki, 1.44 µg As/yumurta dozunda embriyo ölümü sadece %10 iken, 11.56 µg As/yumurta dozunda ölüm %100 olmuştur. Yine, 4 µg Pb/yumurta dozunda embriyo ölümü %18.1 olurken, 40 µg Pb/yumurta dozunda ölüm oranı %90.9'a yükselmiştir. Embriyo ölüm oranı bakımından en dikkate değer sonuç, arsenik ile kurşunun bir arada



Şekil 1. Arsenik ve kurşunun ayrı ayrı ve birlikte kullanılmasıyla birlikte, kuvantal doz-etki ilişkisine göre hesaplanan ÖD<sub>50</sub> değerleri.

Figure 1. LD<sub>50</sub> calculated according to the quantal dose-effect relationship with separate and combined use of arsenic and lead.

kullanılması durumunda elde edilmiş ve iki metal arasında sinerjistik bir etkileşimin bulunduğu ortaya konulması olmuştur. Örneğin 1.44 µg As + 4 µg Pb/yumurta dozunda ölüm oranı %33.3 olurken, 8.64 µg As + 24 µg Pb/yumurta dozunda bu oran %100 olmuştur.

Tablo 2'de, ayrıca 17 günlük kuluçka süresini takiben her metal ve metal karışımı için ayrı ayrı her doz düzeyinde tavuk embriyolarında belirlenen şekil bozuklukları da (% olarak) verilmiştir. Buna göre, karşılaşılan şekil bozukluklarından başlıcaları embriyonal gelişmenin tamamlanamaması (Resim 1, 2); gelişme geriliği ve boyda kısalma (Resim 2, 3); ayaklar ve parmaklarda gelişememe veya kısa kalma (Resim 3); karın duvarının kapanamamasından dolayı iç organların dışarı çıkması (Resim 3, 4); vücut yüzeyi ve iç organlarda yaygın kanama alanları bulunması; boyunda kısalma (Resim 2) ve iç organlarda küçülme olarak belirlendi.

Kontrol grubu ile her deneme grubundaki canlı embriyoların ağırlık ve boyları ile ilgili bireysel verilerin aritmetik ortalamaları karşılaştı-

Grup	Embriyo Sayısı	Ağırlık, gram	Boy, santimetre
K	10	25.30	8.35
A1	10	24.27	7.61
A2	5	22.58	6.90
A3	2	19.75	6.75
A4	1	18.60	6.00
A5	-	-	-
A6	-	-	-
B1	9	24.54	8.00
B2	6	20.18	7.16
B3	4	22.80	6.87
B4	7	18.42	6.30
B5	2	17.20	6.25
B6	1	18.45	6.00
C1	8	22.40	7.70
C2	4	22.20	7.30
C3	1	18.20	6.00
C4	-	-	-
C5	-	-	-
C6	-	-	-

Tablo 3. Kontrol ve deneme gruplarında ortalama tavuk embriyo ağırlığı ve boyları.

Table 3. Mean chick embryo weight and size on the control and experimental groups.

tırmalı olarak Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3'ün incelenmesi ile kontrol grubuna göre deneme gruplarındaki ağırlık azalması ve boydaki kısalığın uygulanan dozla aynı yönde ilişkili olduğu anlaşıldı; yani, doz arttıkça embriyo ağırlığında azalma ve boyda kısalma görüldü.

Tavuk embriyolarında şekil bozukluğu sıklığı toplam olarak Grup A1-6'da %29.4 Grup B1-6'da %89.6 olmuştur (Şekil 2a); bu durum kurşunun daha güçlü teratojen bir madde olduğunu ortaya koymuştur. Diğer yandan, Grup

C1-6'daki embriyolarda teratojenite sıklığı %46 olmuştur.

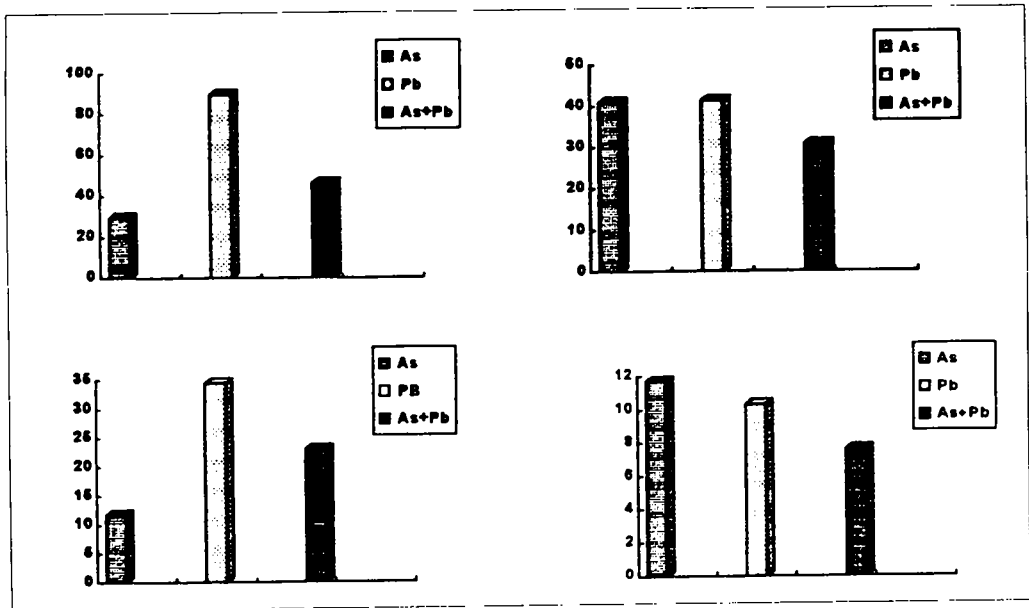
Tüm deneme gruplarında vücut yüzeyi ve iç organlarda yüksek sıklıkta (Grup A1-6'da %41, Grup B1-6'da %41.3 ve Grup C1-6'da %30.7) kanama alanlarıyla karşılaşıldı (Şekil 2b). Sadece Grup B1, B2 ve B4'de bulunan birer tavuk embriyosunda %10.3 sıklıkta karın duvarının kapanmaması neticesi iç organların dışarı çıkması durumuyla karşılaşıldı.

Özellikle mide ve karaciğer olmak üzere, Grup B1-6'da, iç organların diğer gruplardakine göre daha yüksek sıklıkta küçük kaldığı belirlendi (Şekil 2c).

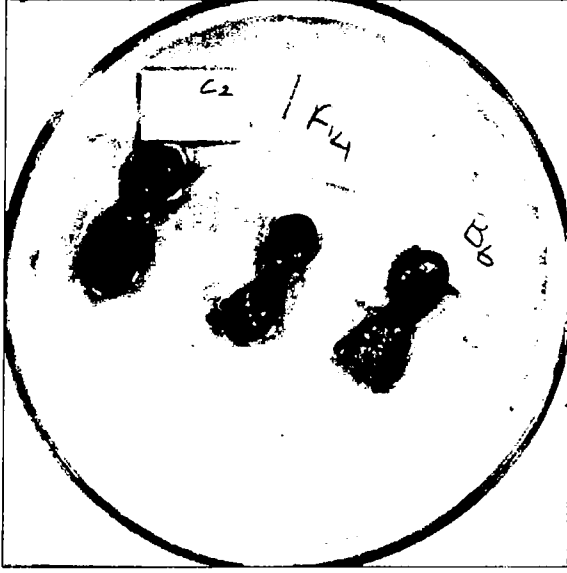
Grup A1-6 ve Grup B1-6'daki tavuk embriyolarında boynun kısalığının birbirine benzer sıklıkta olduğu görüldü (Şekil 2 d).

Kanatlarda şekil bozukluğuna sadece Grup B1-6'da ve %13.7 sıklıkta rastlandı.

Karaciğerin histolojik olarak incelenmesi sonucunda her üç gruptaki tavuk embriyolarında karaciğerde kapillar damarlarda endotel hasarına bağlı olarak Remark kordonlarında bozulma, sinusoidlerde genişleme görüldü. Grup A'da fazla (Resim 5) ve Grup C'de daha az sayıda (Resim 6) olmak üzere, portal venler etrafında lökosit infiltrasyonu karşılaşıldı. Grup B'de ise lökosit infiltrasyonu görülmedi (Resim 7). Kontrol grubunda karaciğer dokusunun normal (Resim 8) olduğu belirlendi.



Şekil 2. Gruplara göre tavuk embriyolarında rastlanan bazı şekil bozukluklarının karşılaştırılması.  
Figure 2. Comparison of the incidence of some malformations on the chick embryos.



Resim 1. Grup A4, B6 ve C2'de bulunan embriyoların gelişmemesi.  
Picture 1. Body growth retardation of the embryos in the Group A4, B6 and C4



Resim 2. Grup B'de bulunan embriyonun, baş ve kısmen boyunun dışında, gelişmemesi ve iç organların dışarıda kalması ve K Grubu ile karşılaştırılması.  
Picture 2. Everted viscera and, except head and in part neck, body growth retardation of the embryo in the Group B4 and comparison with control group.



Resim 3. Grup B2'de karın duvarının açık kalması ve iç organların dışarı çıkması, ayaklar ve parmaklarda şekil bozukluklarının K Grubu ile karşılaştırılması.  
Picture 3. Opening of abdomen and everted viscera, malformation of the limbs and comparison with control group.



Resim 4. Grup B1'de karın duvarının açık kalması ve iç organların dışarı çıkması.  
Picture 4. Opening of abdomen and everted viscera in the Group B1.

### Tartışma ve Sonuç

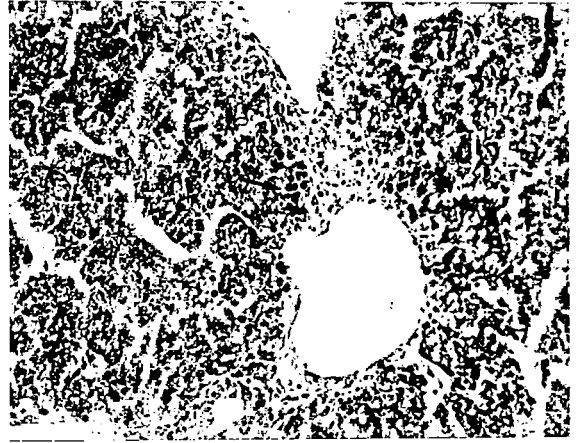
Arsenik, kurşun, kadmiyum ve kobalt başta olmak üzere metaller ve metalik bileşiklerden bir çoğunun memeli (3, 32, 33), kanatlı (15, 16) ve balık embriyoları (10) için güçlü teratojenik etkileri vardır; özellikle metabolik olayların son derece etkin olduğu embriyonal

gelişmenin ilk günlerinde bu maddelere maruz kalındığında, embriyonal ölüm yanında, doğan ya da yumurtadan çıkan yavrularda da, çok çeşitli şekil bozukluğu bulunanların sayısında artış görülmektedir.

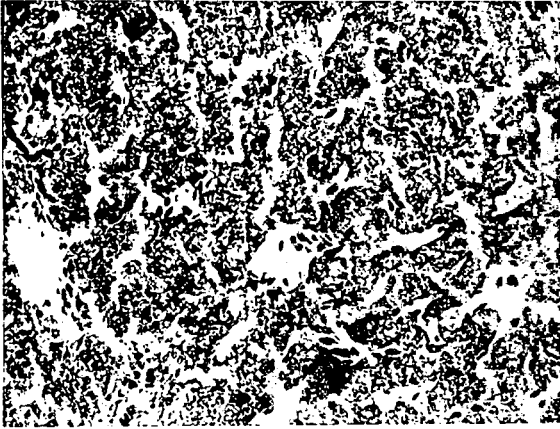
Çalışmada elde edilen bulguların değerlendirilebilmesi için benzeri çalışma sonuçlarıyla karşılaştırılmasında yarar görülmüştür. Gilani



Resim 5. Grup A'da karaciğerde lökosit infiltrasyonu.  
Figure 5. Infiltration of leucocyte in liver in the Group A.



Resim 6. Grup C'de karaciğerde lökosit infiltrasyonu.  
Figure 6. Infiltration of leucocyte in liver in the Group C.



Resim 7. Grup B'de karaciğerin görünüşü  
Figure 7. Appearance of liver in the Group B.



Resim 8. Kontrol grubunda normal karaciğer dokusunun görünüşü.  
Figure 8. Appearance of normal liver tissue in the control group.

ve Alibhai (16) tavuk embriyoları üzerinde çeşitli metallerin zehirliliğini ve teratojenitesini inceledikleri çalışmada, arseniğin  $ÖD_{50}$  değerini 9  $\mu$ g sodyum arsenat/yumurta olarak bulmuşlardır. Sodyum arsenatın 1 molekülündeki arsenik oranı (%40.29) dikkate alındığında, bu durum mevcut çalışmada arsenik için 3.5  $\mu$ g As/yumurta olarak hesaplanan  $ÖD_{50}$  değeri ile uygunluk göstermektedir. Benzer durum kurşun için de söz konusudur. Gilani (15), tavuk embri-

yolarında kurşun asetat kullanıldığında, 8 günlük kuluçkayı takiben kurşunun  $ÖD_{50}$  değerini 30  $\mu$ g kurşun asetat/yumurta olarak hesaplamıştır; bu maddenin 1 molekülündeki kurşun miktarı (207.2 g/mol) dikkate alındığında, çalışmada kurşun için 11.4  $\mu$ g Pb/yumurta olarak hesaplanan  $ÖD_{50}$  değeri ile araştırmada elde edilen aynı değer uyum göstermektedir. Bu çalışmada elde edilen en önemli sonuçlardan birisi şüphesiz arsenik ve kurşunun birbirinin zehir-

liliğini artırmasıdır; arsenik ve kurşunun bireysel ve birlikte kullanılmasıyla hesaplanan  $ÖD_{50}$  değerlerinin incelenmesi durumu (Şekil 2), özellikle kurşunun zehirliliğinin arsenik tarafından artırıldığını ve aralarında sinerjistik nitelikte bir etkileşimin bulunduğunu ortaya koymuştur. Literatürde benzer bir bulguya rastlanamamıştır; ancak, kurşunla kadmiyum ve demir arasında deney hayvanlarında teratojenik etki bakımından sinerjistik etkileşme bulunduğu bildirilmiştir (33).

Onyedili günlük kuluçkayı takiben elde edilen canlı embriyolardan, özellikle kurşun uygulananlarda olmak üzere, yüksek sıklıkta çeşitli şekil bozukluklarıyla karşılaşıldı (Tablo 2 ve Şekil 2). Embriyonal gelişme üzerinde arsenik ve kurşunun en önemli etkileri embriyonal gelişmenin durması (Resim 1, 2), embriyo ağırlığının azalması; boy kısalması (Resim 2, 3), vücut yüzeyi, doku ve organlarda kanama, özellikle mide ve karaciğer olmak üzere iç organların küçülmesi ile karın duvarının açık kalması (Resim 3, 4), ayaklar ve parmaklarda gelişme geriliği veya kısa kalmaları (Resim 3) şeklinde olmuştur.

Gilani ve Alibhai (16), aralarında arseniğin de bulunduğu, çeşitli metallerle tavuk embriyolarında yaptıkları çalışmada, embriyolarda özellikle çeşitli doku ve organlarda kanama, kanat, bacak ve parmakların normalden kısa kalması, boyda kısalma ve ağırlığın azalması olmak üzere, uygulanan dozla ilişkili olarak, birçok şekil bozukluğuyla karşılaşmışlardır. Gilani (15) 5-80 mg/yumurta arasında değişen dozlarda kurşun asetat kullanarak yaptığı başka bir çalışmada, tavuk embriyolarında, özellikle boyun kısalması ve gelişme geriliği ve gelişememe olmak üzere, vücudun tüm kısımlarında çeşitli şekil bozuklukları (kanat, bacak ve parmakların normalden kısa kalması, boynun, kanat ve bacakların ters dönmesi, iç organların dışarı çıkması, gözün küçük ve gaganın kısa kalması, beyin yırtılması gibi) oluştuğunu ortaya koymuştur. Fare ve ratlarda yapılan benzeri nitelikli çalışmalarda (3, 18), ratlarda özellikle atlas kemiğinin gelişmemesi olmak üzere, iskelet sistemi, doku ve organlarda çeşitli şekil bozuklukları bulunan embriyo oranının önemli derecede yükseldiği bulunmuştur. Embriyolarda şekil bozukluğu sıklığı ve çeşitliliğinin bu denli yüksek olmasının başlıca nedenlerinin embriyonal gelişmenin ilk dönemi esnasında, organ veya dokuları oluşturacak şekilde, hücrelerin farklılaşmaya ve organizasyona başladığı sırada, aralarına *urikaz*, *tirosinaz*, *hidrolaz*, oksijene bağımlı yükseltgenme-indirgenme tepkimeleri, *Na*, *K-ATPaz*, *transaminazlar*, *glukoz oksidaz*, *asetil-*, *süksinil-*, *propiyonil koenzim A*

gibi önemli bazı enzimler ve metabolik olayların da aralarında bulunduğu, hücrelerin büyüme, gelişme ve çoğalmaları için son derece önemli çok sayıda enzimatik ve biyokimyasal tepkimenin kesintiye uğratılması ve bölünmekte olan hücrelerde hasara yol açılması olduğu ileri sürülmüştür (8, 15, 16, 17, 33). Bu durum anılan metallerin embriyonal metabolizma üzerinde yaygın nitelikli bozucu bir etki oluşturduklarını göstermektedir. Diğer yandan, karaciğerin histolojik incelenmesi sonucunda, özellikle Grup A'da olmak üzere (Resim 5), Grup C'de (Resim 6) bulunan tavuk embriyolarında portal venlerin çevresinde lökosit infiltrasyonunun olduğu belirlendi. Bu durum, özellikle ince barsaklar, karaciğer ve böbreklerdeki damar endotel hücrelerinin arseniğe en duyarlı yapılar olmasıyla (17) uygunluk göstermektedir. Arsenik bir yandan kapillar damar düz kaslarını genişleterek ve bir yandan da endotel hücrelerin hasarına neden olarak, kanın damar dışına sızmasına ve kanamalara yol açmaktadır (8, 17, 33). Çalışmadan elde edilen bulgular, özellikle birlikte kullanılmaları durumunda olmak üzere, arsenik ve kurşunun tavuk embriyoları için zehirli ve teratojenik olduklarını ortaya koymuştur.

Arsenik ve kurşun veteriner hekimlikte çeşitli hastalıklarda tedavi edici olarak artık pek kullanılmamaktadır. Ancak, çeşitli bileşikleri halinde arsenik, etlik piliç ve domuzlarda yem katkı maddesi ve tarımda yabancı otlarla mücadelede ve orman ürünlerinin korunmasında hala kullanılmaktadır. Ayrıca, her iki metal de çeşitli bileşikleri halinde endüstride geniş uygulama bulmaktadır. Tüm bu uygulamalar toprak, su ve bitki örtüsünün metal yükünü giderek artırmaktadır. Böylece, insanlar da dahil, hayvanların bu şekilde metallere kronik biçimde maruz kalmaları kaçınılmaz olmaktadır. Ancak, bu şekilde maruz kalınan metallerin canlılara yönelik etkileri hakkında her boyutuyla yeterli bilgi de yoktur.

#### Kaynaklar

1. Albanis, T.A., Pomonis, P.J. and Sdoukos, A. Th. (1986). *Organophosphorus and carbamates pesticide residues in the aquatic system of Ioannina basin and Kalamas river (Greece)*. Chemosphere, 15: 1023-1034.
2. Bauman, V.K., Andrushaite, D.E., Valiniette, M. and Gailite, B.E. (1988). *Distribution of lead in eggs and tissues of hens given feed containing lead acetate*. Sel' -khoz Biol, 6: 84-87.
3. Beaudoin, A.R. (1974). *Teratogenicity of sodium arsenate in rats*. Teratology, 10: 153-158.
4. Bergeland, M.E., Ruth, G.R., Stack, R.L. and Emerick, R.J. (1976). *Arsenic toxicosis in cattle associated with soil and water contamination from mining operations*. Reprint from 9th Ann Proc Am Ass Vet Lab Diagnostics.



5. **Bilgili, A., Kaya, S. ve Doğan, A.** (1993). *Siğirlerde et ve iç organlarda bazı ağır metal kalıntı düzeyleri*, Ankara Üniv Vet Fak Derg, 40: 292-300.
6. **Buck, W.B.** (1986). *Physical and chemical disorders*. In: Current veterinary therapy. (Hovard, J.L. Ed.) W.B. Saunders Company.
7. **Clarke, M.L., Harvey, D.G. and Humphreys, D.J.** (1981). *Veterinary toxicology*. 2nd Ed., Bailliere Tindall. London.
8. **Concon, J.M.** (1988). *Inorganic and organometallic contaminants in foodstuffs*. In: *Food toxicology*. Marcel Dekkar, Inc. New York.
9. **Daghir, N.J. and Hariri, N.N.** (1977). *Determination of arsenic residues in chicken eggs*. J Agric Food Chem, 25: 1009-1010.
10. **Dave, G. and Xiu, R.** (1991). *Toxicity of mercury, copper, nickel, lead, and cobalt to embryos and larvae of zebrafish, Brachydanio rerio*. Arch Environ Contam Toxicol, 21: 126-134.
11. **Deckert, W., Georgi, K., Khal, H. and Klatzer, H.H.** (1983). *Acute arsenic poisoning in grazing cattle*. Monatsh Veterinaerme, 38: 650-652.
12. **Dethlefsen, V.** (1988). *Status report on aquatic pollution problems in Europe*. Aquatic Toxicol, 11: 59-286.
13. **Dorn Von P. und Knöppler, H.-O.** (1977). *Rückstanduntersuchungen auf chlorierte Kohlenwasserstoffe und Umwelchemikalien an Eiern und Geflügelfleisch*. Beri Münch Tieraerztl Wschr, 90: 137-140.
14. **Frank, R., Logan, L. and Clegg, B.S.** (1991). *Pesticide and polychlorinated biphenyl residues in waters at the mouth of the Grand, Saugeen, and Thames Rivers, Ontario, Canada 1986-1990*. Arch Environ Contam Toxicol, 21: 585-595.
15. **Gilani, S.H.** (1973). *Congenital anomalies in lead poisoning*. Obstet Gynecol, 4: 265-269.
16. **Gilani, S.H. and Alibhai, Y.** (1990). *Teratogenicity of metals to chick embryos*. J Toxicol Environ Health, 30: 23-31.
17. **Hatch, R.C.** (1988). *Veterinary toxicology*. Eds. N.H. Booth and L.E. McDonald. In: "Veterinary pharmacology and therapeutics". 6th Ed. Iowa State Univ. Press. Ames.
18. **Hood, R.D. and Bishop, S.L.** (1972). *Teratogenic effects of sodium arsenate in mice*. Arch Environ Health, 24: 62-65.
19. **Hovinga, M.E., Sowers, M. and Humphrey, H.E.B.** (1993). *Environmental exposure and lifestyle predictors of lead, cadmium, PCB, and DDT levels in Great Lakes fish eaters*. Arch Environ Health, 48: 98-104.
20. **Kambamanoli-Dimou, A., Kilikidis, S. and Kamarianos, A.** (1989). *Methylmercury concentrations in broiler's meat and hen's meat and eggs*. Bull Environ Contam Toxicol, 42: 728-734.
21. **Kaya, S.** (1991). *Veteriner Toksikoloji*. Teksir. Yüzcüncü Yıl Üniversitesi Yayınları, Van.
22. **Kaya, S., Şahal M. ve Yavuz, H.** (1991). *Evcil güvercinlerde kurşun zehirlenmesi*. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 38: 347-351.
23. **Kaya, S. ve Yavuz, H.** (1989). *Siğirlerde akut kurşun zehirlenmesi*. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 36: 745-749.
24. **Kimura, I.** (1988). *Aquatic pollution problems in Japan*. Aquatic Toxicol, 11: 287-301.
25. **Klaassen, C.D. and Doull, J.** (1980). *Evaluation of safety: Toxicologic evaluation*. In: *Casarett and Doull's toxicology*. (Doull, J., Klaassen, C.D. and Amdur, M.O. Eds). 2nd Ed. Macmillan Publishing Co., Inc. New York.
26. **Kramer, H.L., Steiner, J.W. and Valley, P.J.** (1983). *Trace element concentrations in the liver, kidney and muscle of Queensland cattle*. Bull Environ Contam Toxicol, 30: 588-594.
27. **Kwayra, M.S., Gill, B.S. Singh, R. and Singh, M.** (1986). *Lead toxicosis in buffaloes and cattle in Punjab*. Indian J Anim Sci, 56: 412-413.
28. **Leita, L., Enne, G., De Nobili, M., Baldini, M. and Sequil, P.** (1991). *Heavy metal bioaccumulation in lambs and sheep bred in smelting and mining areas of S.W. Sardinia (Italy)*. Bull Environ Contam Toxicol, 46: 887-893.
29. **Maitai, C.K., Kamacı, J.K., Gacuhi, D.M. and Njorege, S.** (1975). *An outbreak of arsenic and toxaphene poisoning in Kenya cattle*. Vet Rec, 96: 151-152.
30. **Picer, M. and Picer, N.** (1991). *Long-term trends of DDTs and PCBs in sediment samples collected from the eastern Adriatic coastal waters*. Bull Environ Contam Toxicol, 47: 864-873.
31. **Rahael, M.** (1991). *Pesticide transmission in fabrics: effects of particulate soil*. Bull Environ Contam Toxicol, 46: 845-851.
32. **Srikanth, R., Madhumohan Rao, A., Shravan Kumar, C.H. and Khanum, A.** (1993). *Lead, cadmium, nickel and zinc contamination of ground water around Hussain Sagar Lake, Hyderabad, India*. Bull Environ Contam Toxicol, 50: 138-143.
33. **Stokinger, H.E.** (1981). *The metals*. In: *Patty's industrial hygiene and toxicology*. (Clayton, G.D. and Clayton-F.E. Eds.). 3rd revised Ed. Volume II A. A Wiley Interscience Publication. John Wiley and Sons. New York.
34. **Şanlı, Y. ve Ceylan, S.** (1980). *Karadenizin Türkiye kıyı sularında avlanan balıklarda civa kalıntılarıyla oluşan kirlenme düzeyinin araştırılması*. Ankara Üniv Vet Fak Derg 27: 11-23.
35. **Şanlı, Y. ve Kaya, S.** (1995). *Veteriner klinik toksikoloji*. Medisan Yayınları. Yayın No:21. Medisan Yayınevi, Ankara.
36. **Thienes, C.H. and Haley, T.J.** (1972). *Clinical toxicology*. 5th Ed. Lea and Febiger. Philadelphia, USA.
37. **Veen, M.G. Van der and Ureman, K.** (1986). *Transfer of cadmium, lead, mercury and arsenic from feed into various organs and tissues of fattening lambs*. Neth J Agric Sci, 34: 145-153.
38. **Wolff, M.S. and Schecter, A.** (1991). *Accidental exposure of children to polychlorinated biphenyls*. Arch Environ Contam Toxicol, 20: 449-453.