

CİVCİVLERDE KRONİK AFLATOKSİKOSIS ÜZERİNDE BİYOKİMYASAL ARAŞTIRMALAR

Nihat MERT*
Mine YAKIŞIK**
Mübeccel ANTAPLI***
Meltem TANRIVERDİ***

ÖZET

Mikotoksikozis, toksin üretici küf mantarlarının üremesiyle bozulan gıdaların alınması sonucunda oluşan bir zehirlenmedir. Bu çalışmada civcivler üzerine Aspergillus ve Penicilium türleri tarafından üretilmekte olan aflatoksinlerin etkileri incelendi. Oral olarak, suda çözünmüş Aflatoksin B₁ 5 mcg/gün civciv dozunda iki ay süre ile verildi. Kontrol ve deneme gruplarından alınan kan örneklerinde kan glukozu, total kolesterol, total lipid, total protein, ürik asit analizi yapıldı. Karaciğer ağırlığı saptandı. Grupların total lipid ve total protein düzeyleri arasında istatistiksel önem ($P \leq 0.05$) bulundu. Bu bulgularla, aflatoksinlerin civcivlerde kan parametrelerini değiştirdiği, lipid ve protein metabolizmalarını etkilediği sonucuna varabiliriz.

SUMMARY

The Biochemical Investigation on Chronic Aflatoxicosis in Chicks

Mycotoxycosis is poisoning by the ingestion of toxins of fungal origin in foods which have been altered or damaged by the growth of toxin producing mould fungi. In this research the effects of aflatoxins which are produced by Aspergillus and Penicillium strains were studied in chicks. Aflatoxin B₁, dissolved in water, have been given orally 5 mcg/day per chick for two months. Blood samples were collected from control and test groups, analyzed for blood glucose, total lipid, total protein, uric acid. Liver weight was also determined. The statistical importance were estimated on the total lipid and total protein levels ($P \leq 0.05$). Looking these findings we could conclude that aflatoxins cause changing blood parameters, interfere with the metabolisms of lipid and protein.

Key words: Aflatoxin B₁, chick, blood, glucose, cholesterol, total lipid, uric acid, total protein, liver weight.

* Doç. Dr.; Y.Y. Ü. Veteriner Fakültesi Biyokimya Bilim Dalı, Van.

** Araş. Gör.; U.Ü. Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı, Bursa.

*** Araş. Gör.; U.Ü. Veteriner Fakültesi Biyokimya Bilim Dalı, Bursa.

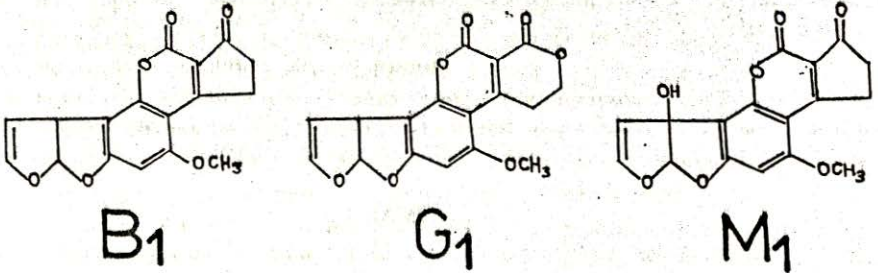
GİRİŞ

Mycotoxinler, tahıllar ve diğer besinler üzerinde üreyen önemli bir grup çevresel pollütanttır. Toksinleri genellikle düşük molekül ağırlıklı, antijenik olmayan fungal metabolitlerdir. İnsan ve hayvanlarda toksik etki oluşturmaya meyillidirler. Toksin üreten mantarlar etkilediği organizmadan ayrı yaşadığı için gerçek anlamda ne parazit ve ne de bulaşıcı hastalık etkenidir^{1, 2}.

Yüksek konsantrasyonda alındığı zaman akut hastalık belirtisi, düşük konsantrasyonda alındığı zaman kanserojenik, mutajenik, teratojenik ve östrojenik etki gösterir. Genç hayvanlarda büyüme hızını azaltır, direnç mekanizmasını bozar, immunolojik dayanıklılığı düşürür, kısaca organizmayı hastalıklara duyarlı kılar³.

Mikotoksinler, fungal sekunder metabolitlerdir. Primer metabolizmadaki bazı basit ara ürünlerden bir dizi enzimik reaksiyonlarla şekillenir. Bu ara ürünler asetat, mevalonat, malonat ve bazı amino asitlerdir. Aflatoksinler temelde *Aspergillus flavus* tarafından üretilir. Yalnız, diğer *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri de bu toksini üretebilir. Koji asidi (5-hydroxy-2 hydroxy methyl gamma pyrone) ve sterigmesterin aflatoksin biyosentezine katılır. Polyhetid geçidi aflatoksinlerin oluşmasındaki temel yoldur⁴.

Aflatoksinler B₁, B₂, G₁, G₂, M₁, M₂, B_{2a}, G_{2a} gibi farklı tiptedirler. Yalnız, B₁ ve M₁ özellikle toksiktir. Bunların 50 gr. lık ördek yavruları için LD₅₀ düzeyleri sırasıyla 18,2 ve 16 mcg. dir⁴. Şekil 1'de B₁, M₁ ve G₁ tiplerinin formülleri görülmektedir.



Şekil: 1
Aflatoksinlerin Kimyasal Yapıları

Tahılın hasat zamanındaki nem miktarı küf kolonileşmesi için temel faktördür. Protein miktarı fazla olduğu için yer fıstığı hayvan beslemede önemli bir yere sahiptir. Yapılan araştırmalarda yer fıstığında aflatoksin düzeylerinin tehlikeli değerlere ulaştığı saptanmıştır. Bu nedenle özellikle son yıllarda yer fıstığı birçok ülke tarafından hayvan yemi olarak kullanılmamaktadır⁵.

Civcivlerde kronik aflatoksikozis oluşturmak için yeme 0,5-0,61 mg/kg arasıında ilave etmek gereklidir. Aflatoksine duyarlı hayvanlar bu toksinleri karaciğerlerinde metabolize ederler. Fakat bu eliminasyon sırasında daha toksik maddeler oluşur. Aflatoksinlerle zehirlenmede hepato toksik etki, artan yağ asid düzeyleri ve hepatik protein sentezinin bozulması ile anlaşılmaktadır^{6, 7}. Ayrıca yapılan çeşitli araştırmalarda aflatoksinli yemlerle beslenen tavuklarda serum total protein, kolesterol, vücut ağırlığı, ürik asit düzeylerinde azalma, sorbitol dehidrogenaz, alkali fosfataz,

serum total lipid, karaciğer ağırlığı düzeylerinde artış gözlenmiş olup, kan glukoz seviyelerinde değişme saptanamamıştır⁸⁻¹².

Bu çalışmanın amacı, içme sularına belirli düzeyde aflatoxin B ilave edilerek kronik aflatoksikozis oluşturulan civcivlerde meydana gelen değişimleri biyokimyasal olarak saptamaktır.

MATERYAL VE METOD

Kronik aflatoksikozis oluşturmak için 26.2.1987 tarihinde yumurtadan çıkan civcivlere 12.3.1988 tarihinden itibaren Aflatoxin B₁ (Sigma) verilmeye başlandı. Aflatoxin, civciv başına günlük 5 mcg dozunda hesaplanarak içme sularına katılıp iki ay süre ile verildi. Daha sonra 15.4/15.5/29/6 ve 27/7.1987 tarihlerinde kontrol ve deneme gruplarından seçilen hayvanlar kesilerek öldürüldü. Kanları kesim anında EDTA'lı tüplere alındı, yavaşça çalkalanıp pıhtılaşmaları engellendi. Klinik santrifüj (Hettich EBA III) ile yapılan santrifüj işleminden sonra plazmalar ayrıldı.

Kanda glukoz tayini Folin Wu, total protein tayini Biuret, Urik asit tayini hidrosilaminli fosfotungstat metodu, kolesterol tayini Leffler, Total lipid tayini Kunkel'in Fenol Reaktif metotlarıyla¹³ yapıldı. Karaciğer ağırlığı kesimden hemen sonra yapılan tartımla saptandı.

Elde edilen analiz sonuçlarının istatistiksel önemi t testi ile değerlendirildi.

BULGULAR

Yapılan analizler sonucunda elde edilen veriler Tablo I'de sunulmuştur. Total lipid ve total protein değerlerinde istatistiksel bir önem ($P \leq 0.05$) saptanmış olup diğer parametrelerde önem bulunamamıştır.

Tablo: I
Kronik Aflatoksikozisli ve Kontrol Grubu Civcivlere Ait Biyokimyasal Değerler

	KONTROL		DENEME	
	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
Glukoz % mg	16	220,13 \pm 16,14	17	222,33 \pm 11,67
Kolesterol % mg	12	215,42 \pm 18,37	13	205,57 \pm 27,19
Urik asit % mg	17	8,61 \pm 0,93	15	7,54 \pm 0,76
Lipid % mg	15	400,35 \pm 22,85	17	457,00 \pm 18,49*
Protein % gr	14	3,36 \pm 0,41	16	2,16 \pm 0,27*
Karaciğer Ağırlığı gr	13	32,78 \pm 1,98	13	33,04 \pm 1,49

x = $P \leq 0,05$ düzeyinde önemli.

TARTIŞMA

Tavuklarda hemorajik sendromlar halinde ve yine tavuk dahil diğer hayvanlarda şiddetli hepatik bozukluklara neden olan aflatoksikozis, veteriner hekimlikte teşhisi oldukça zor temel problemlerden birisidir. Çünkü göstermiş olduğu klinik

semptomlar sıkça rastlanılan hastalıklardaki semptomlar ile kolayca karışabilmektedir.

Şekil 1'de kimyasal yapısı görülen Aflatoksin B₁ mikotoksin grubu içinde önemli bir toksindir. Mutogenik ve kanserojenik özellikler gösterir. Karaciğerde, hepatosellüler karsinom ve cholangio karsinom oluşturur. Mikotoksinler, karbonhidrat ve lipid metabolizmasını etkiler. Karaciğer glikojen düzeyinde azalma gözlenir. Fakat aflatoksinlerden en çok etkilenen lipid metabolizmasıdır. Tavuklarda Aflatoksin B₁, lipid sentezi veya taşınması işlemine karışmakla kalmayıp, lipid emilimi ve parçalanmasını da etkiler^{14, 15}.

Türlere bağlı olarak değişmekle birlikte lipid biyosentezinin % 40-95'i karaciğerde gerçekleşir, sonra dokulara transfer edilir. Tavuklarda total yağ asidi sentezinin % 90-95'i karaciğerde olmaktadır. Aflatoksikozis de primer olmasa bile ilk lezyonlar lipid metabolizmasında gerçekleştiğinden lipidin dokulara dağılımında da bozukluk şekillenir¹⁵. Sunulan çalışmada, civcivlerde gruplar arasında total lipid düzeyinde farklılık bulunmuştur. Deneme grubunda % 457,70 ± 18,49 mg'a kadar ulaşan bu değer, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $P \leq 0,05$ düzeyinde istatistiksel önem saptanmıştır, Lipid düzeyinde gözlenen bu artış, Aflatoksinin karaciğer ve lipid metabolizması üzerine direkt etkisi sonucunda gerçekleşmiştir. Diğer araştırmacılar da total lipid düzeyinde artış olduğunu bildirmişlerdir^{9, 15}.

Aflatoksinler, nükleik asit ve protein sentezi üzerine oldukça etkilidir. Aflatoksinler RNA polimeraz enzimi üzerine inhibitor etki gösterirler. Bu konudaki muhtemel mekanizma şöyledir; toksin hücreye penetré olduktan sonra nükleusa geçer, DNA ile birleşir. RNA sentezi ve bunu takibende m RNA inhibe edilir, yaklaşık 15 dakika sonra protein sentezi bloke olur. Çünkü mRNA ve mitozis inhibe edilmiştir⁴. Araştırmamızda, Aflatoksin B₁ verilmiş civcivlerde total protein düzeyinde bir düşüş bulunmuş olup, istatistiksel bir önem ($P \leq 0,05$) saptanmıştır. Bu sonuç diğer araştırmacıların bulguları ile uyum içindedir^{9, 10, 12, 16}.

Civciv plazma kolesterol değerleri, deneme grubunda kontrollere göre düşük olmakla beraber, istatistiksel önem göstermemektedir. Reedy ve ark.⁹ ve Lanza ve ark.¹², aflatoksinli rasyonla beslenen broiler tavuklarında serum kolesterol düzeyinde düşüşe işaret etmişlerdir.

Tavuklarda amino azotunun atılma şekli olan ürik asit değerlerinde, deneme grubunda yine bir düşüş bulunmuştur. İstatistiksel öneme sahip olmayan bu düşüş Reedy ve ark.⁹'nin çalışmaları ile paralellik göstermektedir.

Aflatoksinler karbonhidrat metabolizması üzerine de etkilidir. Shank ve Wogan¹⁷, Shankaran ve ark.¹⁴, aflatoksinin, sentez fazı işlemlerini azaltarak karaciğer glikojen düzeyini düşürdüğünü bildirmişlerdir. Deneme ve kontrol gruplarının kan glukoz değerleri arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır. Lanza ve ark.¹¹'da kan glukoz düzeyinde değişme olmadığını bildirmişlerdir.

Organizmadaki metabolik faaliyetlerin oluştuğu en önemli organ karaciğerdir. Aflatoksikozisde toksinin elimine edildiği yer karaciğerdir. Bu nedenle bütün hayvanlarda, karaciğer kökenli maddeler ve karaciğer tahribatına, fonksiyonunun bozulduğuna işaret eden enzim düzeylerinde değişme beklenebilir. Nitekim Osuna ve Edds¹⁰ domuzlarda Aflatoksin B₁ verilmesiyle Sorbital dehidrogenaz, alkali fosfataz, SGOT, aminotransferaz enzim düzeylerinde artış olduğunu bildirmişlerdir.

Hamilton¹⁵, karaciğerde lipid artışına ve bazı mikotoksinlerin yağlı karaciğer oluşturabileceğine işaret etmiştir. Gerek yağlı karaciğer oluşması ve gerekse aflatoksinin karaciğerde tümör oluşturma olasılığının bulunması, karaciğer ağırlığında bir artışın olabileceğini vurgulamaktadır. Araştırmada deneme ve kontrol grupları arasında, karaciğer ağırlığı yönünden deneme grubu lehine bir artış saptanmış ise de, bu farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Reedy ve ark.⁹, da karaciğer ağırlığında bir artışa işaret etmişlerdir.

Sonuç olarak, aflatoksinler kanserojenik, mutogenik, teratogenik özellikleri ile insan ve hayvan sağlığını ciddi olarak tehdit etmektedir. Karbonhidrat lipid ve protein metabolizmalarını etkilemektedirler. Bütün bu bilgiler doğrultusunda hayvanlara verilecek yemlerin iyi kalitede olmaları, küflü ve bozulmuş olmamaları gerekmektedir. Bu konuda azami dikkat gösterilmelidir.

KAYNAKLAR

1. WHO ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA 11: Mycotoxins World Health Organisation, Genava (1979).
2. HAYES, A.W.: Mycotoxins: A review of biological effects and their role in human disease. Clin. Toxicol 17, 45-83 (1980).
3. PIER, A.C., RICHARD, J.L., THURSTON, J.R.: The influence of mycotoxins on resistance and immunity. In "Interactions of Mycotoxins in Animal Production" PP 56-66, Washington National Academy of Science (1978).
4. ZINTZEN, H.: The Aflatoxin problem, Roche News and Reviews, 6-10 (1971).
5. ANON: Survey of mycotoxins in the United Kingdom. Food surveillance Paper No: 4, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, London (1980).
6. SMITH, J.W., HAMILTON, P.B.: Aflatoxicosis in the broiler chicken, Poultry Sci. 49, 207-215 (1970).
7. TUNG, H.T., DONALDSON, W.E., HAMILTON, P.B.: Altered lipid transport during aflatoxicosis Poultry Sci. 52, 80-83 (1972).
8. TUNG, H.T., WYATT, R.D., THAXTON, HAMILTON, P.B.: Concentrations of serum protein during aflatoxicosis. Toxicol. Appl. Pharmacol, 34, 320-326 (1975).
9. REEDY, D.N., RAO, P.V., REEDY, V.R., YADGIRI, B.: Effect of selected levels of dietary aflatoxin on the performance of broiler chicken, Ind. J. of Anim. Sci. 54 (1), 68-73 (1984).
10. OSUNA, O., EDDS, G.T.: Toxicology of aflatoxin B₁, warfarin and cadmium in young pigs. Clinical chemistry and blood coagulation. A.J. VR 43 (8), 1387-1394 (1982).
11. LANZA, G.M., WASBURN, K.W., WYATT, R.D., EDKARDS Jr. H.M.: Depressed 59 Fe absorption due to dietary aflatoxin, Poultry Sci. 58, 1439-44 (1979).
12. LANZA, G.M., WASBURN, K.W., WYATT, R.D.: Variation with age in response of broilers to aflatoxin, Poultry Sci. 59 (2), 282-288 (1980).
13. ERSOY, E., BAYŞU, N.: Pratik Biyokimya, A.Ü. Veteriner Fakültesi Yayınları 372, Ders kitabı 270, A.Ü. Basımevi (1981).

14. SHANKARON, R., RAJ, H.G., VENKITASUBRAMANIAN, T.A.: Effect of aflatoxin on carbohydrate metabolism in chick liver, *Enzymologia* 39, 370-376 (1970).
15. HAMILTON, P.B.: Lipid and vitamin metabolism during mycotoxicoses, *Fed. Proc.* 36, 1895-1902 (1977).
16. TOPIA, M.O., LOPEZ, J.A., CASARO, A.P.: Aflatoxicosis in broiler fowl. *Gaceta Veterinaria* 42 (352), 439-448 (1980).
17. SHANK, R.C., WOGAN, G.N.: Acute effects of aflatoxin B₁ on liver composition and metabolism in the rat and duckling. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 9, 467-473 (1966).