

Aflatoxin B₁'in tavşanlarda total vücut ağırlığı ve çeşitli organ ağırlıkları üzerine etkileri

Dr.M.Hanifi EMRE*, Dr.Ali OTLU**, Dr.Sacide KARAKAŞ***, Dr.SaimYOLOĞLU****,
Dr.İsmail TEMEL*****

Bu çalışmada Yeni Zelanda ırkı (Oryctolagus cuniculus huxleyi) 30 erkek tavşan kullanıldı. A, B, C olarak gruplandırılan tavşanlara sırasıyla 0.005, 0.0075 ve 0.0010 mgr/kg/gün aflatoxin B₁ verildi. Çalışmada, total ağırlık, karaciğer, sağ adrenal, sol ve sağ böbrekler, kalp, mide ve tükürük bezlerinin ağırlıkları bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilemedi. Buna karşılık sol adrenal ile akciğer ağırlığı bakımından gruplar arasında istatistiksel fark bulundu. Veriler literatür ile karşılaştırıldı ve tartışıldı. [Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi 1(4):246-250,1994]

Anahtar Kelimeler: Tavşan, Aflatoxin B₁, total vücut ağırlığı ve çeşitli organ ağırlıkları

Effects of aflatoxin B₁ on total body weight and different organs weight in the rabbits

We used 30 male rabbits belong to New Zealand rabbit strain (Oryctolagus cuniculus huxleyi) in this study. The rabbits were grouped and were given 0.005, 0.0075 and 0.010 gr/kg/day respectively to A, B, C groups. It were not found istatistically diffrences between groups' weight of total body, right suprarenal gland, left and right kidney, heart, stomach, and salivary glands. On the other hand we have determined istatistically differences between groups' weight of left suprarenal gland and lung. Data were compared and discussed with literature. [Journal of Turgut Özal Medical Center 1(4):246-250,1994]

Key Words: Rabbit, Aflatoxin B₁, weight of total body and different organs

Aflatoxinler *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* tarafından meydana getirilen toksik metabolitlerin bir grubudur¹. Tropikal bölgelerde varolan en kuvvetli fungal toksin ve en kuvvetli hepatokarsinojen maddelerden biridir². Aflatoxin B₁ hepatositler tarafından diğer aflatoxinlere dönüştürülür. Aflatoxinin bir kısmı idrar ve gaita ile atılırken, geriye kalanı karaciğerde hücre infiltrasyonu, hepatik nekrozis ve parenkimal dejenerasyona ayrıca fokal interstisyal fibrozise, kanamaya ve böbrekte aşırı kanlanmaya yol açar³⁻⁶.

Genel olarak kabul edildiği gibi aflatoxin B₁, sıçan karaciğerinde Deoksiribonükleik asit (DNA)

bağımlı Ribonükleik asit (RNA) sentezini inhibe ederek protein sentezini etkiler⁷⁻⁸. Ayrıca in vivo ve in vitro olarak aflatoxin B₁'in kromozomlar üstünde mutajenik etkinliği gösterilmiştir⁹⁻¹³.

Aflatoxin B₁'in toksik etkilerine duyarlılık hayvanlar arasında çok değişkendir ve tavşan en duyarlı hayvanlar arasındadır¹⁴.

Aflatoxinlerin tavuklarda anemiye, tavşanlarda ise kanama eğiliminin artmasına neden olduğu bildirilmiştir¹⁵⁻¹⁶.

Bu çalışmada aflatoxin B₁'in tavşanlarda total vücut ağırlığı ve bazı organların ağırlıkları üstündeki olası etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

* : İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı-Malatya

** : İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı-Malatya

*** : İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı-Malatya

**** : İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Bilim Dalı-Malatya

***** : İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı-Malatya

(Bu çalışma İnönü Üniversitesi araştırma fonu tarafından proje olarak desteklenmiştir.)

Emre ve ark.

Aflatoksin B₁'in tavşanlarda total vücut ağırlığı ve çeşitli organ ağırlıkları üzerine etkileri

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada 30 adet Yeni Zelanda ırkı (*Oryctolagus cuniculus huxleyi*) erkek tavşan denek olarak kullanıldı. Hayvanlar Ankara Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü serum üretme çiftliğinden sağlandı. Deneyde kullanılan tavşanlar iki aylık ve 2-3 kg ağırlığında idiler. Tavşanlar ayrı ayrı kafeslerde pelet yem, havuç, pancar, lahana, yonca gibi doğal besinlerle beslendi. Deneklerin barındırıldığı yerin nemü %55-80 aralığında, sıcaklığının 12-21°C aralığında olması higrometre ve termometre ile kontrol altında tutuldu.

Deneyde kullanılan hayvanlar 3 deney ve 1 kontrol grubu olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Deney grupları 8'er, kontrol grubu ise 6 tavşandan oluşturuldu. Deney gruplarındaki tavşanlara aflatoksin B₁ (Sigma) alkolde çözdürüldükten sonra A grubundaki tavşanlara 0.005 mgr/kg/gün, B grubundakilere 0.0075 mgr/kg/gün ve C grubundakilere ise 0.010 mgr/kg/gün olacak şekilde, 3 ay süreyle, otomatik bir pipet ile havuçlara enjekte edilerek yedirildi. Aflatoksin B₁ enjekte edilen havuçlar yedirildikten sonra hayvanlar diğer gıdalarla beslendi. Ayrıca kontrol grubundaki tavşanlara da deney grubundaki hayvanlara verildiği kadar alkol, yedikleri havuçlara enjekte edilerek

yedirildi. Deney süresinin sonunda usulüne göre uyutulan tavşanlar ve çalışmada değerlendirilecek olan diğer organlar üstten yüklemeli dijital terazi (sartorius) ile tartıldı.

Aflatoksin B₁'in zamana bağlı etkileri kontrol ve deney gruplarında meydana getirdiği değişimler Kruskal -Wallis tek yönlü varyans analizi ve Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi¹⁷.

BULGULAR

Deneme süresince ölçümlerden elde edilen total ağırlık, karaciğer, sağ adrenal, sol ve sağ böbrek, sol ve sağ tükrük bezleri, kalp, mide, sol adrenal ve akciğere ilişkin istatistiksel ölçütler ve kullanılan istatistiksel test sonuçları sırasıyla Tablo I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI'de gösterilmiştir.

Tablolar gözden geçirildiğinde Kruskal-Wallis ve P değerlerinden anlaşılacağı gibi total ağırlık, karaciğer, sağ adrenal, sol ve sağ böbrekler, sağ tükrük bezi, kalp ve mide bakımından gruplar arasında bir fark bulunmadı. Öte yandan sol adrenal ve akciğer bakımından ise gruplar arasında farklılık görülmektedir. Farklılığın hangi grup veya gruplardan kaynaklandığını saptamak amacıyla ikişerli olarak Mann-Whitney U testi uygulanmıştır. Testin sonuçlarına göre sol adrenal yönünden kontrol

Tablo I. Total ağırlık yönünden grupların karşılaştırılması

Gruplar	Ortalama (X)	Standard sapma(S)	Standard hata(S _e)	Minimum	Maksimum
Kontrol	2331.67	178.04	72.68	2120.00	2560.00
A	2480.63	358.35	126.70	2000.00	3000.00
B	2396.87	78.73	27.84	2265.00	2520.00
C	2387.13	279.20	98.71	2000.00	2797.00

KW=1.01, P>0.05

Tablo II. Karaciğer ağırlığı yönünden grupların karşılaştırılması

Gruplar	Ortalama (X)	Standard sapma(S)	Standard hata(S _e)	Minimum	Maksimum
Kontrol	60.67	12.51	5.11	47.84	78.75
A	61.49	17.05	6.03	60.90	108.06
B	67.91	13.22	4.67	49.31	93.00
C	80.54	33.35	11.79	49.40	157.14

KW=5.279, P>0.05

Tablo III. Sağ adrenal ağırlığı yönünden grupların karşılaştırılması

Gruplar	Ortalama değer(X)	Standard sapma(S)	Standard hata(S _e)	Minimum	Maksimum
Kontrol	0.24	0.06	0.02	0.18	0.33
A	0.30	0.17	0.06	0.09	0.68
B	0.25	0.06	0.02	0.17	0.34
C	0.40	0.35	0.12	0.16	1.24

KW=2.32, P>0.05

Emre ve ark.

Aflatoxin B₁ 'in tavşanlarda total vücut ağırlığı ve çeşitli organ ağırlıkları üzerine etkileri

Tablo IV. Sol böbrek ağırlığı yönünden grupların karşılaştırılması

Gruplar	Ortalama değer(X)	Standard sapma(S)	Standard hata(S _x)	Minimum	Maksimum
Kontrol	5.68	0.58	0.24	5.12	6.53
A	5.84	0.88	0.31	4.66	7.15
B	5.95	0.73	0.26	4.84	6.91
C	6.14	1.29	0.46	4.16	7.65

KW=0.66, P>0.05

Tablo V. Sağ böbrek ağırlığı yönünden grupların karşılaştırılması

Gruplar	Ortalama değer(X)	Standard sapma(S)	Standard hata(S _x)	Minimum	Maksimum
Kontrol	5.71	0.37	0.15	5.15	6.25
A	5.76	0.86	0.30	4.55	6.88
B	5.89	0.70	0.25	4.80	6.87
C	6.06	1.33	0.47	3.64	7.46

KW=0.96, P>0.05

Tablo VI. Sol tükrük bezi ağırlığı yönünden grupların karşılaştırılması

Gruplar	Ortalama değer(X)	Standard sapma(S)	Standard hata(S _x)	Minimum	Maksimum
Kontrol	0.54	0.06	0.03	0.48	0.62
A	0.70	0.50	0.18	0.30	1.90
B	0.62	0.06	0.02	0.55	0.69
C	0.71	0.34	0.12	0.41	1.50

KW=4.52, P>0.05

Tablo VII. Sağ tükrük bezi ağırlığı yönünden grupların karşılaştırılması

Gruplar	Ortalama (X)	Standard sapma(S)	Standard hata(S _x)	Minimum	Maksimum
Kontrol	0.58	0.10	0.04	0.48	0.76
A	0.51	0.12	0.04	0.25	0.63
B	0.60	0.07	0.03	0.50	0.70
C	0.70	0.34	0.12	0.45	1.50

KW=3.17, P>0.05

Tablo VIII. Kalp ağırlığı yönünden grupların karşılaştırılması

Gruplar	Ortalama değer(X)	Standard sapma(S)	Standard hata(S _x)	Minimum	Maksimum
Kontrol	5.49	0.47	0.19	4.83	6.23
A	5.17	0.80	0.28	4.28	6.41
B	5.76	0.62	0.22	4.83	6.50
C	5.84	0.91	0.32	4.71	7.24

KW=3.73, P>0.05

Tablo IX. Mide ağırlığı yönünden grupların karşılaştırılması

Gruplar	Ortalama değer(X)	Standard sapma(S)	Standard hata(S _x)	Minimum	Maksimum
Kontrol	27.63	5.37	0.99	21.85	34.66
A	26.22	2.80	0.99	21.19	28.96
B	25.88	3.49	1.23	21.43	33.00
C	31.32	8.85	3.13	19.33	49.55

KW=3.53, P>0.05

Emre ve ark.

Aflatoksin B₁'in tavşanlarda total vücut ağırlığı ve çeşitli organ ağırlıkları üzerine etkileri

Tablo X. Sol adrenal ağırlığı yönünden grupların karşılaştırılması

Gruplar	Ortalama değer(X)	Standard sapma(S)	Standard hata(S _e)	Minimum	Maksimum
Kontrol	0.26	0.04	0.01	0.21	0.30
A	0.44	0.35	0.12	0.17	1.21
B	0.24	0.04	0.02	0.19	0.31
C	0.42	0.34	0.12	0.25	1.26

KW=7.66, P<0.05

Tablo XI. Akciğer ağırlığı yönünden grupların karşılaştırılması

Gruplar	Ortalama değer(X)	Standard sapma(S)	Standard hata(S _e)	Minimum	Maksimum
Kontrol	9.34	1.85	0.76	7.46	12.70
A	12.61	4.30	1.52	7.89	20.24
B	12.36	4.70	1.66	8.56	23.33
C	10.03	3.72	1.32	5.54	17.60

KW=6.42, P<0.05

ve C grubu arasında ayrıca B ile C grubu arasında farklılık tespit edilmiştir. Akciğer yönünden ise kontrol ile B grubu arasında farklılık tespit edilmiştir.

TARTIŞMA

Toksik maddelerin etkili dozlarının hesaplanması Dixon ve ark¹⁸'nin belirttikleri gibi uzun zamandan beri cevap bekleyen önemli bir sorundur.

Aflatoksinin etkili doz miktarının canlı türlerine göre değiştiği çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmektedir¹⁹⁻²¹. Doerr ve ark¹⁹, bir günlükten yedi haftalığa kadar olan tavuklara 0.075-2.00µg dozlarında aflatoksin bulaşmış besinler yedirmişler, her dozdaki aflatoksinin karaciğer ağırlığında azalmaya neden olduğunu, özellikle yüksek dozlarda bu azalmanın daha belirgin olduğunu bildirmişlerdir. Buna karşın Chang ve ark²¹, bildiriciler üzerinde yaptıkları bir çalışmada (sıfırdan 20.0 µg'a kadar besine aflatoksin katılmış) her düzeydeki aflatoksinin karaciğerde genişlemeye yol açtığını belirtmektedirler. Tablo II de görüldüğü gibi, sonuçlarımız Chang ve ark²¹'nin raporlarını desteklemektedir ancak gruplar arasında istatistiksel yönden anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Aflatoksinin tavuklarda total vücut ağırlığı üzerine etkisi Dalvi ve ark²², tarafından çalışılmıştır. Bu çalışmada farklı süre ve farklı dozlarda aflatoksin (1-56 günlük, 0-10 ppm) yedirilen tavuklarda total vücut ağırlığında daimi bir azalma tespit etmişlerdir. Araştırmamızda ise Tablo I'den anlaşıldığı gibi deney grupları arasında doza bağlı olarak total vücut ağırlığında bir azalmanın olduğu ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı

görülmüştür.

Aflatoksin B₁'in kalb ağırlığı üzerine etkili olmadığı Chang ve ark²¹, tarafından belirtilmektedir. Bizim sonuçlarımıza göre (Tablo VIII) deney grupları arasında doza bağlı olarak kalb ağırlığında istatistiksel olarak önemli bulunmayan bir artış gözlenmiştir. Çalıştığımız diğer organlar hakkında literatür bildirimlere raslamadık. Bu organlara ilişkin tesbitlerimiz Tablo III, IV, V, VI, VII, IX, X ve XI'da görülmektedir.

Sonuç olarak çeşitli araştırmacıların²³⁻²⁷, da işaret ettikleri gibi aflatoksinin etkisi, aflatoksinin veriliş şekline, deneklerin yaşına, beslenme durumuna, cinsiyetine, deneklerin daha önce başka bir maddeye maruz kalıp kalmadıklarına, aflatoksinle birlikte başka maddelerin verilip verilmediğine ve deneklerin içinde yaşadıkları ortam ısısına bağlı olarak değişebileceği görüşüne katılıyoruz. Ayrıca, aflatoksin B₁'in ele aldığımız tüm parametreler üzerindeki etkilerinin daha net olarak ortaya konulması için histopatolojik ve biyokimyasal yönden incelenmeleri gerektiği kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Çakmak EA, Başaran A. The effects of aflatoxin B₁ on rat blood cells. Doğa Tr J of Med Sci 1994;21:93-5.
2. Angsubhakorn S, Get-Ngern P, Miyatomo M, Bhamapravati N. A single dose-response aflatoxin B₁ on rapid liver cancer induction in two strains of rats. Int J Cancer 1990;46:664-8.
3. Çakmak EA, Başaran A, Gürer F. Aflatoksin B₁'in karaciğer ve böbrek üzerindeki histolojik etkileri. Doğa Tr J of Med Sci 1992;16:234-42.

Emre ve ark.

Aflatoksin B₁'in tavşanlarda total vücut ağırlığı ve çeşitli organ ağırlıkları üzerine etkileri

4. Dennig DW, Allen R, Wilkinson AP, Morgan MR. Transplacental transfer of aflatoxin in humans. *Carcinogenesis* 1990;11:1033-5.
5. Newbome PB, Butler WH. Acute and chronic effects of aflatoxin on the liver of domestic and laboratory animals. *Cancer Res* 1969; 29: 236-50.
6. Osweiler GD, Pho DVN, Trampel DW. Aflatoxicosis in feetlot cattle. *Jama* 1985;187:636-7.
7. Yamasaki T, Teel RW, Lau BH. Effect of allixin, a phytoalexin produced by garlic, on mutagenesis, DNA-binding and metabolism of aflatoxin B₁. *Cancer Lett* 1991;59:89-94.
8. Detroy RW, Lillehoj EB, Ciegler A. Aflatoksin and related compounds. *Microbial Toxins IV*. Academic Press, New York and London 1971;4-155.
9. Allameh A, Saxena M, Biswas G, Raj HG, Singh J, Srivasta N. Piperine, a plant alkaloid of the piper species, enhances the bioavailability of aflatoxin B₁ in rat tissues. *Cancer Lett* 1992; 61: 195-9.
10. Başaran A, Çakmak EA, Değirmenci I, Başaran N, Artan S, Can Başer KH, Kırimer N. Chromosome aberrations induced by aflatoxin B₁ in rat bone marrow cells in vivo and their suppression by *Ecballium elaterium*. *Fitoterapia*.LXIV 1993;310-3.
11. Barta I, Adamkova M, Petr T, Bartova J. Dose and time dependence of chromosomal aberration yields of bone marrow cells in male Chinese hamsters after a single i.p. injection of aflatoxin B₁. *Mutat Res* 1990; 244: 189-95.
12. Tjalve H, Larsson P, Andersson C, Busk L. Bioactivation of aflatoxin B₁ in the bovine olfactory mucosa : DNA binding, mutagenicity and induction of sister chromatid exchanges. *Carcinogenesis* 1992;13:1345-50.
13. El Zawahri MM, Morad MM, Khishin AF. Mutagenic effect of aflatoxin G₁ in comparison with B₁. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 1990; 10:45-51.
14. Baker DC, Green RA. Coagulation defects of aflatoxin intoxicated rabbits. *Vet Pathol* 11987;24:2-70.
15. Coulomb RA, Wilson DW, Hsieh DPH, Plopper CG, Serapjit-Singh CS. Metabolism of aflatoxin B₁'in the upper airways of the rabbit: role of the nonciliated tracheal epithelial cell. *Cancer Res* 1986;46:4091-6.
16. Lanza GM, Walsburn KW, Whatt RD. Variation with age in response of broilers to aflatoxin. *Poultry Science* 1980;59:282-8.
17. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V. *Biyoistatistik*. Özdemir Yay.Limited Şirketi Ankara 1993;145-52.
18. Dixon RC, Nelson LA, Hamilton PB. Dose-response relationships during aflatoxicosis in young chickens. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1982;64:1-9.
19. Doerr JA, Huff WE, Wabeck CJ, Chaloupka GW, May JD, Merkley JW. Effects of low level chronic aflatoxicosis in broiler chickens. *Poultry Science* 1983;62:1971-7.
20. Giambone JJ, Di ener UL, Davis ND, Panangala VS, Hoerr FJ. Effects of purified aflatoxin on broiler chickens. *Poultry Science* 1985;64:852-8.
21. Chang CF, Hamilton PB. Experimental Aflatoxicosis in young japanese quail. *Poultry Science* 1982;61:869-74.
22. Dalvi RR, McGowan C. Experimental induction of chronic aflatoxicosis in chickens by purified aflatoxin B₁ and reversal by activated charcoal, phenobarbital, and reduced glutathione. *Poultry Science* 1984;63:485-91.
23. Clark JD, Greene EC, Calpin JP, Hatch RJ, Jain VA. Induced aflatoxicosis in rabbits: blood coagulation defects. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1986;86:353-61.
24. Ling-Ling H, Tsang-Tsang H. Detection of aflatoxin B₁-DNA adducts in human placenta and cord blood. *Cancer Res* 1986;53:1278-80.
25. Mandel HG, Judah DJ, Neal GE. Effect of dietary protein level on aflatoxin B₁ actions in the liver of weaning rats. *Carcinogenesis* 1992; 13 (10): 1853-7.
26. Michael B, Stephen FS, Jhon UB, George TE. Aflatoxin B₁ toxicosis in dairy calves pretreated with selenium vitamin E. *Am J Vet Res* 1986; 47(1):179-83.
27. Shotwell OL, Hesseltine CW, Stubblefield RD, Sorensen WG. Production of aflatoxin in rice. *Applied Microbiology* 1966;14(3):425-8.

**Yazışma adresi : Yrd.Doç.Dr.M.Hanifi EMRE
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fizyoloji ABD MALATYA**