

AFLATOKSİN VE GLUKOMANNANIN TAVŞANLARDA BAZI HEMATOLOJİK PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİLERİ*

Nurcan Dönmez^{@1} Banu Atalay¹ Deniz Fedai¹

The Effects of Aflatoxin and Glucomannan on some Hematological Parameters in Rabbits

Özet: Bu çalışma tavşanlarda aflatoksin ve glukomannan uygulamasının bazı hematolojik parametreler üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapıldı. Araştırmada 40 adet Yeni Zelanda tavşanı kontrol (K), glukomannan (G), glukomannan+ aflatoksin (AG) ve aflatoksin (A) olmak üzere dört gruba ayrıldı. 10 hafta süren deneme sonunda aflatoksin uygulanan grupta (A) kontrol (K) grubuna göre alyuvar ve hemoglobin düzeyinde önemli ($p<0.05$) azalma görülürken, gruplar arasında MCV, MCH ve MCHC de farklılık gözlenmedi. A ve AG gruplarında lökosit sayısının kontrole göre önemli oranda ($p<0.05$) arttığı tespit edildi. Ayrıca A grubunda heterofil yüzdesinde kontrole göre önemli bir artış, lenfosit yüzdesinde ise önemli bir azalma belirlendi ($p<0.05$). Sonuç olarak, araştırmada elde edilen veriler aflatoksikozis de klinik belirtiler ortaya çıkmadan hematolojik parametrelerdeki değişiklikleri ve uygulamada kullanılan glukomannanın etkinliğini ortaya koyması açısından önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Aflatoksin, glukomannan, tavşan, hematolojik parametreler

Summary: The aim of this study was to evaluate the effects of aflatoxin and glucomannan on some hematological parameters. In the study, 40 New Zealand rabbits were used and the rabbits were separated equally to four groups as control (K), glucomannan (G), glucomannan+ aflatoxin (AF) and aflatoxin (A). At the end of the (10 week) experiment, erythrocyte and haemoglobin levels decreased significantly ($p<0.05$) in A and AG groups compared with control group and there was no differences in MCV, MCH and MCHC levels between groups. When compared with control leukocyte count increased in A and AG groups ($p<0.05$). Additionally, heterofil count was higher and lymphocyte count was lower in A group ($p<0.05$) than control. In conclusion, the results determined in the study might be important to demonstrate the effects of aflatoxicosis and glucomannan on some haematological parameters before the clinical symptoms appear.

Key Words: Aflatoxin, glucomannan, rabbit, hematological parameters.

Giriş

Aspergillus flavus ve *Aspergillus parasiticus* tarafından üretilen aflatoksin B1 toksik bir metabolit olup gıda kontaminasyonlarına neden olmaktadır (Çelik ve ark., 2000a). Hayvanların duyarlılığı ve alınan toksinin miktarına bağlı olarak aflatoksinler akut ve kronik zehirlenmelere yol açarlar (Oğuz ve ark., 2000). Aflatoksikozis; organ ve dokularda patolojik bozukluklar, büyüme hızının gerilemesi, ölüm oranının artması, immun sistem baskılanması, anemi, kanın pıhtılaşma süresinin uzaması, yağ, karbonhidrat ve protein metabolizmasının bozulması ile he-

patotoksik, mutojenik, teratojenik, karsinojenik gibi olumsuz etkilere yol açmaktadır (Çelik ve ark., 2000b).

Aflatoksinin toksik etkisi sonucu biyokimyasal ve hematolojik parametrelerde önemli değişiklikler meydana geldiği bildirilmektedir (Keçeci ve ark., 1998; Oğuz ve ark., 2000). Kronik ve subklinik aflatoksikozis olaylarında biyokimyasal ve hematolojik parametrelerdeki değişiklikler klinik bulgulardan önce meydana geldiği bildirilmektedir (Arawind ve ark., 2003). Nitekim broylerlerde rasyona 2,5mg /kg aflatoksin (AF) ilave edilmesinin hemoglobin miktarı, hematokrit değeri, trombosit sayısı, lenfosit ve bazofil yüz-

delerinde azalmaya neden olurken heterofil yüzdesini artırdığı bildirilmektedir (Keçeci ve ark 1998). Abdel Wahhab ve ark., (2002) ratlarda yaptıkları çalışmada AF uygulamasının hemoglobinin, eritrosit ve lökosit düzeylerini azalttığını tespit etmişlerdir. Yine Yousef ve ark., (2003) tavşanlarda yapmış oldukları çalışmada farklı oranlarda verilen AF'nin hemoglobinin miktarını, eritrosit sayısını ve hematokrit değerini önemli derecede azalttığını belirlemişlerdir.

AF'nin olumsuz etkilerini önleyebilecek uygulamaların araştırılmasında kullanılan en popüler metot, kolay uygulanabilmesinden dolayı yemlere AF bağlama özelliğine sahip bileşiklerin ilave edilmesidir (Eraslan ve ark., 2004). Son yıllarda bu amaçla doğal ve sentetik zeolitler gibi aliminyumsilikatlar, bentonitler, fillosilikatlar ve klinoptilolit kullanılarak bazı çalışmalar yapılmıştır (Eraslan ve ark., 2004, Basmacıoğlu ve ark., 2005). Biyolojik detoksifikasyonda farklı bir yaklaşım da, *Saccharomyces cerevisiae* (SCE) ve onun hücre duvarı komponentinin (glukomannan) AF'nin yan etkilerini azaltmak için kullanımudur (Diaz ve ark., 2002, Raju ve Devegowda 2000). Esterifiye glukomannan AF'i oldukça yüksek bağlayabilme (%80-97) kapasitesi göstermektedir (Diaz ve ark., 2002, Basmacıoğlu ve ark 2005). Farklı dozlarda adsorban olarak glukomannan uygulanan çalışmalarda glukomannanın, AF'nin biyokimyasal (Basmacıoğlu ve ark., 2005) ve hematolojik parametreler (Clark ve ark., 1986) ile performans (Raju ve Devegowda 2000) ve immun (Çelik ve ark., 1996) cevap üzerine olan olumsuz etkilerini kısmen ya da tamamen ortadan kaldırdığı ifade edilmektedir (Raju ve Devegowda 2002, Aravind ve ark., 2003, Santin ve ark., 2003).

Bu çalışmada, yemle birlikte aflatoksin verilen tavşanlarda aflatoksinin ve adsorban olarak glukomannan ilavesinin hematolojik parametreler üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod

Araştırmada sağlıklı, 40 adet Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Tavşanlar her grupta 10 adet ve grup canlı ağırlık ortalamaları birbirine yakın olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Gruplardaki tavşanların her biri ayrı kafeslerde tutularak 10 haftalık deneme boyunca aşağıdaki şekilde ad libitum olarak beslendiler:

1. grup (K), tavşan pelet yem
2. grup (A), 125 ppb aflatoksin içeren normal pelet yem
3. grup (G), 1000 ppm MG içeren pelet yem
4. grup (AG), 125 ppb aflatoksin + 1000 ppm MG içeren pelet yem

Deneme boyunca hayvanların önlerinde daima temiz su bulundurulmasına özen gösterildi.

Deneme sonunda hayvanlardan analizler için intrakardiyak punktur ile antikoagülanlı tüplere alınan kan örneklerinde alyuvar, akyuvar sayıları, hemoglobin (Hb) miktarı, hematokrit değer, alyuvar indekslerinden MCV (Mean Corpuscular Volume), MCH (Mean Corpuscular Haemoglobine), MCHC (Mean Corpuscular Haemoglobine Concentration), sedimentasyon hızı ve akyuvar tiplerinin yüzde oranları belirlendi. Hemoglobin miktarı ticari kit (Biosystem) kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenirken alyuvar ve akyuvar sayıları hemositometre; hematokrit değer mikrohematokrit santrifüj; sedimentasyon hızı, westergreen yöntemi; alyuvar indeksleri ise formül yardımıyla belirlendi.

Çalışma sonunda verilerin istatistiksel analizleri yapılarak, gruplar arası farklılıkların önemi SPSS 10.0 paket programından faydalanılarak tespit edildi.

Bulgular

Çalışmada elde edilen veriler Tablo 1 ve Tablo 2'de sunulmuştur.

Tablo 1. Kontrol ve deneme gruplarında bazı hematolojik parametreler, (n=10, X± SX)

Parametre	K	G	AG	A
Alyuvar(x10 ⁶ /mm ³)	6.036 ± 0.432a	5.265 ± 0.107ab	5.012 ± 0.336b	4.886 ± 0.283b
Akyuvar(x10 ³ /mm ³)	6.560 ± 3.87b	7.730 ± 5.50ab	8.160 ± 8.78a	9.040 ± 6.38a
Hematokrit (%)	42.00 ± 1.366a	39.10 ± 1.29a	38.90 ± 1.004a	38.30 ± 1.41a
Hemoglobin (gr/dl)	14.51 ± 1.015a	13.05 ± .440ab	12.67 ± .563ab	12.20 ± 0.46b
Sedimentasyon1(mm/h)	2.21 ± 0.84b	2.37 ± 0.19a	3.08 ± 0.15a	3.31 ± 0.08a
Sedimentasyon2(mm/h)	4.27 ± 0.28b	4.83 ± 0.28ab	4.98 ± 0.22a	5.2 ± 0.10a
MCV (μ ³)	69.036 ± 3.41	74.26 ± 2.36	77.61 ± 7.31	78.38 ± 4.53
MCHB (pg)	24.03 ± 1.71	24.78 ± 1.31	25.27 ± 3.23	24.96 ± 1.29
MCHBC (%)	34.54 ± 2.33	33.37 ± 1.05	32.57 ± 1.04	31.85 ± 1.87

a, b; p< 0,05

Tablo 2. Kontrol ve deneme gruplarında lökosit % oranları, (n=10, X± SX)

	K	G	AG	A
Heterofil	17.90 ± 2.45b	17.80 ± 2.45b	26.60 ± 2.53ab	34.70 ± 3.99a
Lenfosit	77.70 ± 3.13a	77.50 ± 2.59a	69.70 ± 4.77b	62.40 ± 2.52c
Monosit	2.20 ± 0.59	2.30 ± 0.58	2.10 ± 0.93	2.00 ± 0.78
Eozinofil	1.00 ± 0.36	1.20 ± 0.29	0.80 ± 0.32	0.40 ± 0.22
Bazofil	1.20 ± 0.38	1.20 ± 0.36	0.80 ± 0.78	0.50 ± 0.16

a, b, c; p< 0,05

Tartışma

Tavşanlar aflatoksin aşırı duyarlılıkları ile bilinmektedirler. Buna karşın çok az çalışmada aflatoksikozis ve aflatoksin mekanizması bu türde çalışılmıştır (Clark ve ark., 1986). Bundan dolayı çalışmada mutajenik, teratojenik, karsinojenik ve immunosupresif (Çelik ve ark., 2000b) gibi etkileri olan aflatoksinin hematolojik parametreler üzerine etkisi belirlenmeye çalışıldı.

Çalışmada, aflatoksin uygulanan grupta belirlenen hematolojik parametrelerden alyuvar, hematokrit değer ve hemoglobin düzeyleri kontrol grubuna oranla bir azalma gösterirken, bu azalma sadece alyuvar ve hemoglobin düzeylerinde önemliydi (Tablo 1). AG grubunda aynı parametreler açısından kontrole göre bir azalma belirlense de bu azalma sadece alyuvar sayısında önemliydi. Gruplar arasında MCV, MCH ve MCHC açısından önemli bir farklılık yoktu. Buna karşın birçok faktörden de etkilenebilecek sedimentasyon hızı kontrol verileriyle kıyaslandığında A grubunda önemli derecede artmış olarak belirlendi (Tablo 1). Yine A ve AG grubundaki lökosit sayısı kontrol grubuna

göre önemli oranda arttığı belirlenirken, A grubundaki artış oldukça belirgindi. Ayrıca A grubunda kontrol grubuna göre heterofil yüzdesinde önemli bir artış, yine A ve AG grubunda lenfosit yüzdesinde ise önemli bir azalma belirlendi (Tablo 1, 2). Çalışmada G grubunda hematolojik parametrelerde kontrole göre önemli değişiklikler meydana gelmedi (Tablo 1, 2).

Keçeci ve ark., (1998) yaptıkları çalışmada hematokrit değer, hemoglobin miktarı, MCH ve trombosit sayısının aflatoksinle beslenen broylerde deprese olduğunu bildirirken, aflatoksinli grupta sedimentasyon hızında ise artış bildirmişlerdir. Oğuz ve ark., (2000) da aflatoksin verilen broylerde hematokrit değer, hemoglobin miktarı, eritrosit sayısı, MCV, trombosit sayısı ve lenfosit yüzdesinde azalma olduğunu belirtmişlerdir. Yine bir başka çalışmada aflatoksinle maruz bırakılan broylerde hematokrit, hemoglobin, RBC, trombosit ve lenfosit sayısında bir azalma olduğu, glukomannan (1g/kg) ilavesinin ise bu olumsuz etkileri azalttığı bildirilmektedir (Basmacıoğlu ve ark., 2005). Bu çalışmada elde edilen veriler yukarıdaki çalışmaları olduğu gibi Yousef ve ark., (2003) ile Abdel Wahhab

ve ark., (2002)'nin bulgularını da destekler niteliktedir.

Aflatoxin tek başına normositik normokromik anemi olarak sonuçlanan total eritrosit sayısında azalmaya neden olmaktadır (Abdel Wahhab ve ark., 2002). Hematolojik parametrelerdeki bu azalmanın protein sentezinin inhibisyonu (Kaneko ve ark., 1989), total demir kapasitesindeki azalma (Harvey ve ark., 1991) ve AF'den dolayı oluşan hemapoetik selüler defekt (Van Vleet and Ferrans 1992) gibi faktörlerden kaynaklanabileceği ileri sürülmektedir (Abdel Wahhab ve ark., 2002). Yine aflatoxikozisin lenfositopeni ve monositopeniye neden olmakla birlikte WBC ve heterofil sayısında bir artışa neden olduğu bildirilmektedir (Çelik ve ark., 1996; Abdel Wahhab ve ark., 2002, Oğuz ve ark., 2000, Basmacıoğlu ve ark., 2005). WBC ve heterofil yüzdesindeki bu artış toksine karşı immun sistemin yangısal bir cevabı olarak değerlendirilebilir. Bunun yanı sıra diğer lökosit türlerinde azalma ise aflatoxinin immun sistemi basılmasıyla kaynaklanabilir (Keçeci ve ark., 1998; Çelik ve ark., 2000).

Sonuç olarak çalışmada da AF'nin olumsuz etkilerini azaltmak için glukomannan uygulanan G grubuna ait verilerin K grubu ile benzerliği ve AG grubunda ki değerlerin ise G ve A grubu düzeyleri arasında yer alması glukomannanın olumlu etkisine bağlanabilir. Ayrıca çalışmada elde edilen veriler kronik toksikasyon bulguları ortaya çıkmadan aflatoxinin hematolojik yansımalarının belirlenmesinin yanı sıra uygulanan glukomannan dozunun etkinliği açısından da önem arz etmektedir.

Kaynaklar

Abdel-Wahhab, M.A., Nada, S.A., Khalil, F.A. (2002) Physiological and toxicological responses in rats fed aflatoxin-contaminated diet with or without sorbent materials. *Animal Feed Sci. Thec.* 97: 209-219.

Arawind, K.L., Patil, V.S., Devegowda, G., Umakantha, B., Ganpule S.P. (2003) efficacy of esterified glucomannan to counteract mycotoxicosis in naturally contaminated feed on performance and serum biochemical, haematological parameters in broilers. *Poultry Sci.* 82: 571-576.

Basmacıoğlu, H., Oğuz H., Ergül M., Çöl R., Birdane Y.O. (2005) Effect of dietary esterified glucomannan on performance, serum biochemistry and haematology in broilers exposed to aflatoxin. *Czech. J. Anim. Sci.* 50, 1, 31-39.

Clark, J.D., Greene, C.E., Calpin, J.P., Hatch, R.C. and Jain, A.V. (1986) Induced Aflatoxicosis in Rabbits: Blood coagulation Defects. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 86, 353-361.

Çelik, İ., Demet, Ö., Dönmez, H.H., Oğuz, H., Boydak, M.

(1996) Aflatoxin ve Aflatoxin Bağlayıcısı Olan Polivinil Polipirrolidon (PVPP) Verilen Broyerlerde Peritoneal Makrofajların Fagositik ve Mikrobisidal Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Veteriner Bilimleri Dergisi.* 12,1,145-151.

Çelik, İ., Oğuz, H., Demet, Ö., Boydak, M., Dönmez, H.H., Sur, E., Nizamioğlu, F. (2000)a Embryotoxicity Assay of Aflatoxin Produced by *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999. *British Poultry Science,* 41, 401-409.

Çelik, İ., Oğuz, H., Demet, Ö., Dönmez, H.H., Boydak, M., Sur, E. (2000)b Efficacy of Polyvinylpyrrolidone in Reducing the Immunotoxicity of Aflatoxin in Growing Broilers. *British Poultry Science,* 41, 430-439.

Diaz, D.E, Hagler, W.M., Hopkins, B.A., Whitlow, L.W. (2002) Aflatoxin Binders I: In vitro Binding Assay For Aflatoxin B1 by Several Potential Sequestering Agents. *Mycopathologia,* 156, 223-226.

Eraslan, G., Liman, B.C., Güçlü, B.K., Atasever., Koç, A.N., Beyaz, L. (2004) Evaluation of aflatoxin toxicity in Japanese quails given various doses of hydrated sodium calcium aluminosilicate. *Bull. Vet. Inst. Pullawy.* 48: 511-517.S

Harvey, R.B., Kubera, L.F., Phillips, T.D., Cornier, D.E., Ellisade, M.H., Huff, W.E. (1991) Diminution of aflatoxin toxicity to growing lambs by dietary supplementation with HSCAS. *Am. J. Vet. Res.,* 52: 152-156.

Kaneko, J.J. (1989) *Clinical Chemistry of Domestic Animals,* 4th Edition, Academic Press, San Diego, CA.

Keçeci, T., Oğuz, H., Kurtoğlu, V., Demet, Ö. (1998) Effects of polyvinylpyrrolidone, synthetic zeolite and bentonite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis. *British Poultry Science.* 39, 452-458.

Oğuz, H., Keçeci, T., Birdane, Y.O., Önder, F., Kurtoğlu, V. (2000) Effect of clinoptilolite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis. *Research in Veterinary Science.* 69, 89-93.

Raju, MVLN., Devegowda, G. (2000) Influence of esterified glucomannan on performance and organ morphology, serum biochemistry and haematology in broilers exposed to individual and combined mycotoxicosis (aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin). *Br. Poult. Sci.* 41, 640-650.

Santin, E., Paulillo, A.C. Maiorka, A., Nakaghi, L.S.O., Macari, M., Silva, A.V.F. Alessi, A.C. (2003) Evaluation of the efficacy of *Saccharomyces Cerevisiae* Cell Wall to Ameliorate the Toxic Effects of Aflatoxin in Broilers. *Int. J. Poultry Sci.* 2, 341-344.

Van Vleet, J.F., Ferrans, V.J. (1992) Etiological Factors and Pathologic Alterations in Selenium- Vitamin E Deficiency and Excess in Animals and Humans. *Biol.Trace Elem. Res.,* 33, 1-12.

Yousef, M.I., Salem, M.H., Kamel, K.I., Hassan, G.A., El-Nouty, F.D. (2003) Influence of ascorbic acid supplementation on the haematological and clinical biochemistry parameters of male rabbits exposed to aflatoxin B1. *J. Environ Sci. Health B.* 38 (2), 193 - 209.