

Serbest ve Bağlı Aflatoksin B₁ Kalıntısı İçeren Piliç Karaciğeri ile Beslenen Sıçanlarda Serbest ve Bağlı Kalıntı Durumunun Araştırılması*⁺

Mehmet ÖZDEMİR

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Afyon – TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 23.03.2001

Özet: Bu çalışmanın amacı, etlik piliçlerde, kursağa sondayla 1 mg/kg canlı ağırlık miktarında ve tek dozda verilen ³H-aflatoksin B₁'in karaciğer dokusunda serbest ve bağlı kalıntı miktarını ölçmek ve bu kalıntılı karaciğer dokusunun sıçanlar tarafından tüketilmesi durumunda bu hayvanların karaciğer ve kas dokularında tekrar serbest ve bağlı aflatoksin B₁ kalıntılarının şekillenip şekillenmediğini belirlemektir.

Çalışmada 30 adet Ross PM-3 ırkı etlik piliç ve 49 adet Sprague-Dawley ırkı, erkek sıçan kullanıldı.

Piliç deneme grubu karaciğer dokusunda 12. saatte serbest aflatoksin B₁ kalıntısı 39,30±2,32 ng/g ve bağlı kalıntı 100,17±6,80 pmol/mg DNA düzeyinde bulundu.

Bağlı halde aflatoksin B₁ kalıntısı verilen gruptaki sıçanların karaciğer ve kas dokularında gerek serbest ve gerekse bağlı kalıntı tespit edilemedi.

Serbest halde aflatoksin B₁ kalıntısı verilen gruptaki sıçanların karaciğer ve kas dokularında serbest kalıntı miktarı sırasıyla (12., 24. ve 48. saatlerde) 0,52±0,04; 0,35±0,02; 0,11±0,02; 0,20±0,02; 0,13±0,01; 0,06±0,01 ng/g doku olarak ölçüldü. Yine aynı gruptaki sıçanların karaciğer ve kas dokularında bağlı kalıntı miktarı ise sırasıyla 1,40±0,12; 1,19±0,08; 0,80±0,04; 0,84±0,07; 0,69±0,07; 0,49±0,06 pmol/mg DNA düzeyinde belirlendi.

Anahtar Sözcükler: Aflatoksin B₁, serbest kalıntı, bağlı kalıntı, piliç, sıçan

Investigation on the Situation of Free and Bound Residues on Rats Fed Chicken Liver Containing Free and Bound Aflatoxin B₁ Residues

Abstract: The aim of the present study is to determine free and bound residues of ³H-aflatoxin B₁ given orally by a gavage at a single dose (1 mg/kg body weight) in the liver tissues of broilers, and to show whether they accumulate as free and bound aflatoxin B₁ residues in the tissues of liver and muscle of the rats that consumed the liver of those broilers.

A total of 30 Ross PM-3 broilers and 49 male Sprague-Dawley rats were used in the study.

Free aflatoxin B₁ residue in the liver tissues of the chicken treatment group after 12h was found to be 39.30±2.32 ng/g, and bound residue to be 100.17±6.80 pmol/mg DNA.

Free and bound residues were not determined in the liver and muscle tissues of the rats that received bound aflatoxin B₁ residue.

Free residue levels in the liver and muscle tissues of the rats given free aflatoxin B₁ residues at 12, 24 and 48h of the waiting period were measured to be 0.52±0.04, 0.35±0.02, 0.11±0.02, 0.20±0.02, 0.13±0.01 and 0.06±0.01 ng/g, respectively. Likewise, bound residue levels in the same tissues of the same rats were found to be 1.40±0.12, 1.19±0.08, 0.80±0.04, 0.84±0.07, 0.69±0.07 and 0.49±0.06 pmol/mg DNA.

Key Words: Aflatoxin B₁, free residue, bound residue, broiler, rat

*: TAEK (Proje No: 97504004) tarafından desteklenen araştırma doktora tezinden özetlenmiştir.

⁺: A.Ü.Vet. Fak. Etik Kurulu'ndan 21 Mayıs 1999 tarih ve 4 sayılı kararı ile Onay alınmıştır.

Giriş

Hayvansal üretimin artırılması için hayvanların sağlıklı olması, iyi ve kaliteli yemlerle beslenmesi zorunludur. Rasyondaki besin maddeleri içeriğinin hayvanın gereksinimini karşılayacak şekilde hazırlanması ve aynı zamanda olumsuzluk faktörlerinden arındırılması gerekir (1).

Hayvan yemlerindeki olumsuzluk faktörleri ile kimyasal kirlilikler; zirai mücadele ilaçları, endüstriyel kimyasallar, metaller ve doğal toksinleri (mikotoksinler, fitotoksinler gibi) içine alacak şekilde geniş bir gruba kapsar (1,2,3).

Evcil hayvanlar mikotoksinlerle bulaşmış yemlerle beslendiklerinde sadece kendileri mikotoksinlerle kirlenmekle kalmayıp bu tür zehirleri et, süt, yumurta gibi ürünleriyle dolaylı yoldan insanlara da yansıtırlar (1,2,4).

Hayvanlarda hastalıkların sağaltımı, önlenmesi ve kontrolü ile gelişmenin hızlandırılması amacıyla doğrudan veya yem ya da suya katılarak uygulanan ilaç veya diğer kimyasal maddelerin kullanılmalarını takiben hayvanın doku ve organlarında biriken veya depolanan değişmemiş metabolitleri, parçalanma ürünleri, serbest veya bağlı haldeki ilaç ya da kimyasal madde miktarı kalıntı olarak tanımlanmaktadır (5,6). Hayvansal besinlerde bulunan kalıntılar bulunma şekli bakımından temelde ikiye ayrılabilir. Bunlar; dokulardan ekstrakte edilebilen *serbest kalıntılar* ve mevcut olan çözücülerle kolayca ekstrakte edilemeyen *bağlı kalıntılar* (5,7,8,9).

Serbest kalıntılar, ilacın yasal bekletme süresine uyulması şartıyla tüketici insanlar üzerinde herhangi bir risk oluşturmayabilir. Ancak bağlı kalıntı oluşturma riski taşıyan ilaç ve kimyasal maddeler yükseltgenme tepkimeleri sonucunda elektrofilik özellikte etkili metabolitlere dönüşmektedirler. Bu metabolitler, hücresel yapılarıdaki DNA, RNA ve proteinlerin amin, hidroksil veya tiyol gibi nükleofilik gruplarıyla reaksiyona girerek kovalent bağ oluştururlar. Bu bağlar o maddeye ilişkin mutajenezis, karsinogenezis karaciğer ve böbrek bozukluklarının ortaya çıkmasına sebep olabilmektedir (9-12).

Yemlerden kaynaklanan çok çeşitli zehirleyici faktörler arasında mantar invazyonları ve dolayısıyla mikotoksinlerden ileri gelen yem ve besin kirlenmeleriyle sıkça karşılaşılmalıdır (2,13,14). Mikotoksin hazırlayan mantarlar dünyanın her tarafında yaygın bir şekilde

bulunurlar. Aflatoksin B₁ özellikle *Aspergillus flavus*, *A. oryzae* ve *A. parasiticus* olmak üzere diğer bazı *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* türleri tarafından hazırlanmaktadır. Güçlü hepatotoksik ve hepatokarsinogenik etkinlik gösteren ve bifuranokumarin grubuna dahil ikincil metabolitlerdir (15-19).

Aflatoksin B₁ doğrudan etkili olmayıp, karaciğerde mikrozomal sitokrom P-450 enzimi vasıtasıyla uğradıkları metabolik değişiklikler sonucunda ortaya çıkan 8-9-epoksit aflatoksin B₁ [daha önceleri 2,3-epoksit aflatoksin B₁ olarak adlandırılmıştı (20)] ile etkili olmaktadır (21-24). Aflatoksin B₁'in 8,9-epoksitleri DNA'nın N⁷ guanil bölgesine bağlanarak eddaktları meydana getirir (16,18,25). AFB₁-DNA eddaktları 8,9-dihidro-8-(N⁷-guanil)-9-hidroksi-aflatoksin B₁ ve aflatoksin B₁-formamidopirimidin olarak teşhis edilir (26). Şekillenen bu türevler karaciğer hücre makromolekülleri ile bir çok noktada tepkimeye girer ve aflatoksinlerin karsinogenik etkinliklerinin şekillenebilmesi için nükleik asitlerle kovalent bağ oluşturur (27,28,29).

Bu çalışmada, aflatoksin kalıntısı içeren birincil türlerle ait dokuların, ikincil türler tarafından tüketilmesi sonucunda, ikincil türlerin vücudunda yeniden serbest ve bağlı kalıntı oluşturup oluşturmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada, 30 adet Ross PM-3 ırkı et-tipi civciv ve 49 adet Sprague-Dawley ırkı, erkek sıçan kullanıldı. Çalışma sırasında, hayvanların bakım ve beslenmesi A.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Araştırma Ünitesinde gerçekleştirildi.

Civcivler, Şanlı ve ark'ları (30) tarafından bildirilen metoda göre analiz edilerek aflatoksin B₁ kalıntısı içermediği belirlenen broiler civciv yemi ve broiler 1 piliç yemleri ile beslendi. Beşinci haftanın sonunda piliçler 10 adet kontrol ve 20 adet deneme grubu olmak üzere iki gruba ayrıldı. Deneme grubundaki piliçlere tek doz halinde 1 mg ³H-aflatoksin B₁/kg canlı ağırlık miktarında sonda ile ağızdan kursağa girilerek verildi. ³H-aflatoksin B₁ uygulamasından 12 saat sonra piliçler kesildi. Piliç karaciğer dokusunda DNA miktarları spektrofotometrik (Shimadzu UV-1206) yöntemle ölçüldü (31,32). Serbest kalıntı (33) ve bağlı kalıntı miktarlarının ölçümleri (29,34,35) ise sıvı sintilasyon sayacı (Rackbeta LKB 1211) ile radyoaktivite ölçülerek gerçekleştirildi.

İki aylık erkek sıçanlar önceden hazırlanmış olan kafeslere ayrı ayrı yerleştirildi. Çalışma ortamına uyum sağlamaları için normal yemle beslendi. Sıçanlar kontrol grubu (Grup 1, 7 adet), piliç karaciğer DNA molekülü (bağlı ^3H -aflatoksin B_1 kalıntısı içermekte) verilen grup (Grup 2, 21 adet) ile piliç karaciğer homojenatı (serbest ve bağli ^3H -aflatoksin B_1 kalıntısı içermekte) verilen grup (Grup 3, 21 adet) olarak 3 gruba ayrıldı.

İkinci gruptaki sıçanlara $150 \text{ ng } ^3\text{H}$ -aflatoksin $\text{B}_1/100$ g canlı ağırlık miktarında bağli kalıntı içeren piliç karaciğer DNA molekülleri karıştırılarak hazırlanan pelet yem, üçüncü gruba ise $200 \text{ ng } ^3\text{H}$ -aflatoksin $\text{B}_1/100$ g canlı ağırlık miktarında serbest kalıntı içeren homojenize piliç karaciğer dokusu karıştırılarak hazırlanan pelet yem tek seferde verildi. İkinci ve üçüncü gruplarda bulunan her sıçan için, pelet yem ayrı ayrı hazırlandı ve tüketilebilmesi amacıyla sıçanlar bir gün süreyle aç bırakıldılar.

Kontrol grubundaki sıçanlar 12. saatte, deneme gruplarındaki sıçanlar ise 12., 24. ve 48. saatlerde eter anestesisini müteakip 7'şer adet kesildiler. Her sıçandan yeterli miktarda arka bacak kas dokuları ile birlikte karaciğerleri tartılarak alındı ve analizler yapıncaya kadar -20°C 'de muhafaza edildi. Piliçlerde belirtilen metotlarla sıçan karaciğer ve kas dokularında serbest ve bağli kalıntı analizleri gerçekleştirildi.

İstatistik hesaplamalarda SYSTAT 5.01 bilgisayar programı kullanıldı. Grup içi değişkenler arasındaki önemlilik *Eşleştirilmiş t Testine* göre yapıldı. $P < 0,05$ farklılık önemli olarak değerlendirildi (36).

Bulgular

Çalışmada kullanılan kontrol grubundaki piliçlerin canlı ağırlıkları ortalama $1299,00 \pm 43,30$ g, karaciğer ağırlıkları $31,60 \pm 1,47$ g, deneme grubundaki piliçlerin canlı ağırlıkları $1142,50 \pm 21,72$ g, karaciğer ağırlıkları ise $30,70 \pm 0,82$ g olarak tartıldı.

Deneme grubu piliçlerin karaciğer dokularındaki aflatoksin B_1 'in serbest ve bağli kalıntı miktarları Tablo 1'de verildi.

Sıçanların ortalama canlı ağırlıkları, kontrol grubunda $93,28 \pm 5,26$ g, bağli kalıntı verilen grupta sırasıyla $95,71 \pm 4,80$; $90,57 \pm 3,76$; $91,85 \pm 4,52$ g ve serbest kalıntı verilen grupta ise sırasıyla $87,28 \pm 4,15$; $85,00 \pm 2,95$; $89,85 \pm 4,94$ g olarak belirlendi.

Kontrol grubu sıçanların karaciğer ağırlıkları ortalama $4,29 \pm 0,45$ g, ikinci grubun ortalama karaciğer ağırlıkları 12., 24. ve 48. saatlerde sırasıyla $4,88 \pm 0,35$; $4,12 \pm 0,27$; $4,15 \pm 0,42$ g ve üçüncü grubun ortalama karaciğer ağırlıkları ise aynı saatlerde sırasıyla $4,08 \pm 0,30$; $3,85 \pm 0,16$; $4,18 \pm 0,34$ g olarak bulundu.

İkinci gruptaki sıçanların karaciğer ve kas dokularında yapılan analizler sonucunda hem serbest hem de bağli aflatoksin B_1 kalıntısı tespit edilemedi.

Üçüncü gruptaki sıçanların karaciğer dokularında şekillenen bağli kalıntı miktarları Tablo.2'de, kas dokularındaki bağli kalıntı miktarları ise Tablo 3'de sunuldu. Yine üçüncü grup sıçanların karaciğer dokularındaki serbest kalıntı miktarları Tablo 4'de, kas dokularındaki serbest kalıntı miktarları ise Tablo 5'de verildi.

Tartışma

Bu deneysel çalışma kapsamında hayvanlardaki aflatoksin B_1 kalıntılarının ikincil türlerdeki akıbetini araştırmak için deney hayvanından elde edilen kalıntılı karaciğer dokusu, ikinci bir deney hayvanına verilerek, dokularında kalıntı meydana gelme durumu araştırıldı.

Ağızdan sondayla tek doz halinde $1 \text{ mg } ^3\text{H}$ -aflatoksin B_1/kg canlı ağırlık miktarında kimyasal madde verilmesinden 12 saat sonra, piliçlerin karaciğer dokularında bağli ve serbest kalıntı miktarları ölçüldü. Tablo 1'de görüldüğü gibi elde edilen değerler, bağli kalıntı için ortalama $100,17 \pm 6,80$ pmol aflatoksin B_1/mg

	Ortalama \pm Standart hata	En alt – En üst değerler
Bağli kalıntı	$100,17 \pm 6,80$ pmol aflatoksin B_1/mg DNA ($146,70 \pm 9,94$ ng aflatoksin B_1/g doku)	59,64 – 164,08 (84,68 – 227,11)
Serbest kalıntı	$39,30 \pm 2,32$ ng aflatoksin B_1/g doku	25,20 – 62,24

Tablo 1. Bir kez ^3H -aflatoksin B_1 ($1 \text{ mg}/\text{kg}$ CA) verilen deneme grubu piliçlerin karaciğer dokularındaki kalıntı düzeyleri.

Grup		Ortalama ± Standart hata (pmol aflatoksin B ₁ /mg DNA)	En alt - En üst değerler
Serbest aflatoksin B ₁ kalıntısı verilen sıçanlar	12. saat karaciğer n = 7	1,40 ± 0,12 ^a (2,01 ± 0,13*)	1,02 – 1,79 (1,30 – 2,58*)
	24. saat karaciğer n = 7	1,19 ± 0,08 ^a (1,73 ± 0,09*)	1,05 – 1,62 (1,49 – 2,19*)
	48. saat karaciğer n = 7	0,80 ± 0,04 ^b (1,11 ± 0,04*)	0,67 – 0,96 (0,95 – 1,33*)

*: ng aflatoksin B₁/g doku.^{a, b}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arası fark önemlidir (P<0,05).

Grup		Ortalama ± Standart hata (pmol aflatoksin B ₁ /mg DNA)	En alt - En üst değerler
Serbest aflatoksin B ₁ kalıntısı verilen sıçanlar	12. saat kas n = 7	0,84 ± 0,07 ^a (0,46 ± 0,03*)	0,55 – 1,06 (0,33 – 0,58*)
	24. saat kas n = 7	0,69 ± 0,07 ^b (0,39 ± 0,03*)	0,40 – 0,93 (0,23 – 0,52*)
	48. saat kas n = 7	0,49 ± 0,06 ^b (0,28 ± 0,03*)	0,17 – 0,73 (0,09 – 0,46*)

*: ng aflatoksin B₁/g doku.^{a, b}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arası fark önemlidir (P<0,05).

Grup		Ortalama ± Standart hata (ng aflatoksin B ₁ /g doku)	En alt - En üst değerler
Serbest aflatoksin B ₁ kalıntısı verilen sıçanlar	12. saat karaciğer n = 7	0,52 ± 0,04 ^a	0,39 – 0,68
	24. saat karaciğer n = 7	0,35 ± 0,02 ^b	0,26 – 0,46
	48. saat karaciğer n = 7	0,11 ± 0,02 ^c	0,05 – 0,20

^{a, b, c}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arası fark önemlidir (P<0,05).

Grup		Ortalama ± Standart hata (ng aflatoksin B ₁ /g doku)	En alt - En üst değerler
Serbest aflatoksin B ₁ kalıntısı verilen sıçanlar	12. saat kas n = 7	0,20 ± 0,02 ^a	0,13 – 0,29
	24. saat kas n = 7	0,13 ± 0,01 ^b	0,09 – 0,19
	48. saat kas n = 7	0,06 ± 0,01 ^c	0,02 – 0,10

^{a, b, c}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arası fark önemlidir (P<0,05).

Tablo 2. Serbest kalıntı olarak 200 ng/100 g CA dozunda ³H-aflatoksin B₁ verilen sıçanların karaciğer dokularında şekillenen bağlı kalıntı miktarları.

Tablo 3. Serbest kalıntı olarak 200 ng/100 g CA dozunda ³H-aflatoksin B₁ verilen sıçanların kas dokularında şekillenen bağlı kalıntı miktarları.

Tablo 4. Serbest kalıntı olarak 200 ng/100 g CA dozunda ³H-aflatoksin B₁ verilen sıçanların karaciğer dokularında şekillenen serbest kalıntı miktarları.

Tablo 5. Serbest kalıntı olarak 200 ng/100 g CA dozunda ³H-aflatoksin B₁ verilen sıçanların kas dokularında şekillenen serbest kalıntı miktarları.

DNA ($146,70 \pm 9,94$ ng aflatoksin B₁/g doku) ve serbest kalıntı için ortalama $39,30 \pm 2,32$ ng aflatoksin B₁/g doku düzeyinde tespit edildi.

Piliçlerden alınan karaciğer dokuları, sıçanlara verilecek materyal olarak kullanıldığından zamana bağlı kalıntı düzeylerine bakılmadı.

Çalışmanın ikinci aşamasında kullanılan sıçanların ikinci grubuna 150 ng/100 g canlı ağırlık dozunda bağlı ³H-aflatoksin B₁ kalıntısı ve üçüncü grubuna ise, 200 ng/100 g canlı ağırlık dozunda serbest ³H-aflatoksin B₁ kalıntısı yeme karıştırılarak, pelet halinde, tek seferde verildi.

Sadece bağlı kalıntı halinde aflatoksin B₁ verilen ikinci gruptaki sıçanlarda yapılan analizler sonucunda karaciğer ve kas dokularında gerek bağlı ve gerekse serbest aflatoksin B₁ kalıntısının şekillenmediği belirlendi.

Üçüncü grup sıçanların karaciğer dokularında (Tablo 2) 12. ve 24. saatlerde ölçülen bağlı kalıntı miktarları arasında istatistiki olarak fark önemli bulunmazken ($P > 0,05$), 48. saatte ölçülen kalıntı ile diğer saatler arasındaki farkın önemli ($P < 0,05$) olduğu gözlemlendi. Kas dokusunda (Tablo 3) ise 12. saatte ölçülen miktar ile 24. ve 48. saatlerde ölçülen miktarlar arasında farkın önemli ($P < 0,05$) olduğu belirlendi. Yine aynı gruptaki sıçanların hem karaciğer (Tablo 4) hem de kas (Tablo 5) dokularında farklı saatlerde belirlenen serbest kalıntı düzeyleri kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiki olarak farkın önemli ($P < 0,05$) olduğu gözlemlendi.

Obioha ve ark. (13) 3 haftalık piliçleri kullanarak yemlerde bulunan aflatoksinin hayvanlardaki etkilerini ve dokulardaki dağılımlarını araştırmışlardır. Bu araştırmaya göre 12. saatte piliçlerin karaciğer dokularındaki total aflatoksin B₁ kalıntısı yaklaşık olarak 250 ng/g doku düzeyinde olduğu görülmektedir. Yapılan bu çalışmada ise 12. saatte piliç karaciğer dokularındaki serbest ve bağlı kalıntı miktarlarının toplamı 186 ng/g doku düzeyindedir. Çalışmada total aflatoksin B₁ miktarı ölçülmediğinden bu yönden farklılık görülmektedir.

Chen ve ark (37), bir haftalık broiler civcivlere yemleriyle birlikte aflatoksin B₁'i 5 hafta süreyle vermişler. Kontamine yemin verilmesi durdurulduktan 3 saat sonra piliç karaciğer dokularında ortalama 0,17 µg/kg, 1. günde ise ortalama 0,10 µg/kg düzeyinde aflatoksin B₁ varlığı tespit edilmiştir. Sonraki günlerde ise aflatoksin B₁ kalıntısı bulunamamıştır. Yapılan çalışmada

piliç karaciğer dokusunda, 12. saatte ölçülen serbest aflatoksin B₁ miktarı (39,30 ng/g) Chen ve ark (37) ölçtükleri miktardan yüksek bulunmuştur. Bu farklılığın nedeni aflatoksinin uygulama şekli, işaretli aflatoksin B₁ ölçülmesi ve ölçümün farklı zamanlarda yapılmış olmasından kaynaklanmış olabilir.

Wang ve ark (35) sıçanlarda aflatoksin B₁'in karaciğer DNA'sına kovalent bağlanması üzerine etanolün etkisini araştırmışlardır. Aflatoksin B₁ uygulamasından 2 saat sonra karaciğer DNA'sında meydana gelen bağlı aflatoksin B₁ kalıntısı, pmol/mg DNA olarak, kontrol için 1,97; 6 saat önce etanol verilen grupta 2,90 ve 18 saat önce etanol verilen grupta ise 2,22'dir. Yapılan çalışmada bulunan karaciğer DNA'sındaki bağlı kalıntı miktarları araştırmadaki kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamsız boyutta farklılığın bulunduğu görülmektedir. Bu farklılık, deney hayvanının ayrı ırktan olması, kimyasal maddenin uygulama şekli ve dozundaki farklılık ile özellikle ölçüm zamanlarının değişik zamanlarda yapılmış olmasından kaynaklanmış olduğu tahmin edilmektedir.

Biswas ve ark (16) tarafından yapılan başka bir araştırmada, trake içi yolla aflatoksin B₁ verilen sıçanların akciğer ve karaciğer dokularında DNA'ya bağlanmanın karşılaştırılması yapılmıştır. Bu amaçla tek seferde 40 µg/100 g canlı ağırlık dozunda ³H-aflatoksin B₁ uygulaması yapılmıştır. Yapılan ölçümler sonucunda karaciğer dokusunda 26 pmol aflatoksin B₁/mg hepatik DNA düzeyinde bağlı kalıntı bulunurken akciğer dokusunda ise 2 pmol aflatoksin B₁/mg DNA bağlı kalıntı belirlenmiştir. Aflatoksin B₁'in karaciğer dokusuna ilgisinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Çalışmada ise karaciğer ve kas dokularındaki serbest ve bağlı kalıntı oluşma durumu araştırılmıştır. Kas dokusunda karaciğere göre bağlanma daha az meydana gelmiştir. Dolayısıyla aflatoksin B₁'in kalıntı oluşturmaması bakımından dokular arasında farklılık görülmektedir. Çalışma, karaciğerdeki bağlı kalıntının kas dokudaki kalıntıdan daha yüksek düzeyde şekillenmesi yönünden yapılan araştırmaya benzerlik göstermektedir.

Lotlikar ve ark (38)'da, erkek, Sprague-Dawley ırkı 180-190 g canlı ağırlığında sıçanları kullanarak fenobarbitalin aflatoksin B₁-hepatik DNA bağının inhibisyonunu araştırmışlardır. Aflatoksin B₁ uygulamasından 2 saat sonra, sıçanlar kesilmiş ve kontrol grubunda 29,8 pmol aflatoksin B₁/mg hepatik DNA kalıntısı tespit edilirken fenobarbital uygulanmış grupta

ise 8,6 pmol aflatoksin B₁/mg hepatik DNA miktarında kalıntı tespit edilmiştir. Çalışmada bulunan değerlerin araştırmadan daha düşük düzeylerde bulunması deney hayvanlarının yaşlarının, verilen aflatoksin B₁'in uygulama yolu, miktarı ve kalıntının ölçüm zamanlarının farklılığından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmada belirlenen karaciğer dokusundaki serbest kalıntı ve kas dokularındaki serbest ve bağlı kalıntı, konu ile ilgili bazı araştırmalarda (11,16,17,20,34,35,38) benzer veriler olmamasından dolayı karşılaştırılamamıştır.

Sonuç olarak, piliç karaciğer dokusunda bağlı halde bulunan aflatoksin B₁ kalıntısının sıçanlarda serbest veya bağlı kalıntıya neden olmadığı, serbest kalıntının ise piliçlere benzer şekilde hem bağlı hem de serbest kalıntıya yol açabildiği ortaya konulmuştur. Buna bağlı olarak uygulanan doz düzeyinde serbest aflatoksin B₁'in hedef canlıdakine benzer etkisinin ikincil türlerde de meydana gelebileceği ancak çalışmada verilen dozdaki bağlı kalıntının herhangi bir sakıncaya neden olmayacağı sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

1. Yarsan, E., Özdemir, M.: Aflatoksinlerin insan ve hayvan sağlığı yönünden önemi ve aflatoksinlerin yıkımına yönelik uygulamalar. *Türk-Koop Ekin Derg.* 1997; 1: 41-49.
2. Kaya, S.: Yem ve Besinlerdeki Mikotoksinler: İnsan ve hayvan sağlığı için önemleri. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* 1989; 36: 226-253.
3. Biehl, M.L., Buck, W.B.: Chemical Contaminants: their metabolism and their residues. *J. Food Prot.* 1987; 50: 1058-1073.
4. Betina, V.: Aflatoxins. *Mycotoxins; Chemical, Biological and Environmental Aspects.* Vol: 9., Elsevier Science Publishing Company, Inc. 655 Avenue of Americas, New York, p.: 120-139., 1989.
5. Şanlı, Y.: İlaç kalıntılarının tanımı, oluşumu bilimsel ve yasal denetimi. *Veteriner Klinik Farmakoloji ve İlaçla Sağlık Seçenekleri.* 3. Baskı, Özkan Matbaacılık Ltd. Şti. Ankara, s.:1049-1081., 1999.
6. Kaya, S.: Besinlerde ilaç kalıntıları ve denetimi. *Veteriner Uygulamalı Farmakoloji.* Birinci Baskı. İçinde: Editörler: S. Kaya, İ. Pirinççi, A. Bilgili. Cilt 2., Ankara. Medisan Yayınevi., s.: 605-622., 1997.
7. Fitzpatrick, S.C.: New food safety initiatives in the food and drug administration. *J. Anim. Sci.* 1990; 68: 870-873.
8. Vilim, A.: Definition of bound residues. *Drug, Metab. Rev.* 1990; 22: 591-593.
9. Yavuz, H.: Bağlı kalıntılar ve toksikolojik değerlendirilmesi. *Türkiye'de Veteriner İlaçları, Üretimi, Pazarlanması, Güvenli Kullanımı ve Kalıntı Sorunları Sempozyumu,* 13-14 Ekim 1994, Ankara. Şafak Matbaacılık Ltd. Şti. s.: 135-148., 1994.
10. Hsieh, D.P.H.: Biological reactive intermediates of mycotoxins. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1985; 197: 597-610.
11. Buss, P., Caviezel, M., Lutz, W.K.: Linear dose-response relationship for DNA adducts in rat liver from chronic exposure to aflatoxin B₁. *Carcinogenesis* 1990; 11: 2133-2135.
12. Hodgson, E., Levi, P.E.: *Carcinogenesis. Introduction to Biochemical Toxicology.* Second Ed. Appleton & Lange, 25 Van Zant Street., East Norwalk, Connecticut 06855. Chapter 17, 1994.
13. Obioha, W.I., Stahr, H.M., Kraft, A.A.: Distribution and effects of aflatoxin in chicken tissues after feeding radiolabeled (¹⁴C) aflatoxin B₁. *J. Food Prot.* 1986; 49: 799-805.
14. Reddy, C.S., Hayes, A.W.: *Mycotoxins. Principles and Methods of Toxicology.* In: Ed. A.W. HAYES., Third Ed. Raven Press Ltd. 1185 Avenue of the Americas, New York, p.: 338-340., 1994.
15. Allameh, A., Saxena, M., Raj, H.G.: Differential effects of butylated hydroxyanisole on metabolism of aflatoxin B₁ in vitro by liver and lung microsomes. *Cancer Lett.* 1988; 40: 49-57.
16. Biswas, G., Raj, H.G., Allameh, A., Saxena, M., Srivastava, N., Mukerji, K.G.: Comparative kinetic studies on aflatoxin B₁ binding to pulmonary and hepatic DNA of rat and hamster receiving the carcinogen intratracheally. *Teratog. Carcinog. Mutagen.* 1993; 13: 259-268.
17. Ch'ih, J.J., Ewaskiewicz, J.I., Taggart, P., Devlin, T.M.: Nuclear translocation of aflatoxin B₁-protein complex. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1993; 190: 186-191.
18. Pitot, H.C., Dragan, Y.P.: *Carcinogenesis by chemicals.* In: Casarett and Doull's *Toxicology the Basic Science of Poisons.* Ed: C.D. Klaassen, Fifth Edition. New York., p.: 202-210., 1996.
19. Şanlı, Y.: Bilingçli ilaç kullanımı, buna ilişkin bilimsel ve yasal uygulamalar. *Veteriner İlaç Rehberi ve Bilingçli İlaç Kullanımı El Kitabı,* Ankara. ICC İletişim Tanıtım ve Organizasyon Ticaret Ltd. Şti. s.:790-1031., 1998.
20. Salbe, A.D., Bjeldanes, L.F.: Effect of diet and route of administration on the DNA binding of aflatoxin B₁ in the rat. *Carcinogenesis* 1989; 10: 629-634.
21. Harrison, J.C., Garner, R., Carvajal, M.: Analysis of rat and human liver DNA for aflatoxin B₁ adducts by immunoassay. *Mutat. Res.* 1990; 234: 383.
22. Ball, R.W., Coulombe, R.A.: Comparative biotransformation of aflatoxin B₁ in mammalian airway epithelium. *Carcinogenesis* 1991; 12: 305-310.
23. Anwar, W.A., Khalil, M.M., Wild, C.P.: Micronuclei, chromosomal aberrations and aflatoxin-albumin adducts in experimental animals after exposure to aflatoxin B₁. *Mutat. Res.* 1994; 322: 61-67.

24. Troxel, C.M., Reddy, A.P., O'Neal, P.E., Hendricks, J.D., Bailey, G.S.: In vivo aflatoxin B₁ metabolism and hepatic DNA adduction in zebrafish (*Danio rerio*). *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1997; 143: 213-220.
25. Kaya, S.: Mikotoksinler ve mikotoksin zehirlenmeleri. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Birinci Baskı. İçinde: Editörler: S. Kaya, İ. Piriñçi, A. Bilgili. Ankara. Medisan Yayınevi., s.: 341-375., 1998.
26. Chou, M.W., Chen, W.: Food restriction reduces aflatoxin B₁ (AFB₁)-DNA adduct formation. AFB₁-Glutathione conjugation and DNA damage in AFB₁-treated male F344 rats and B6C3F₁ mice. *J. Nut.* 1997; 127: 210-217.
27. Ch'ih, J.J., Devlin, T.M.: The distribution and intracellular translocation of aflatoxin B₁ in isolated hepatocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1984; 122: 1-8.
28. Park, D.L., Rua, S. M.: Biological evaluation of aflatoxins and metabolites in animal tissues. *Drug Metab. Rev.* 1990; 22: 871-890.
29. Loury, D.N., Hsieh, D.P.H.: Effects of chronic exposure to aflatoxin B₁ and aflatoxin M₁ on the in vivo covalent binding of aflatoxin B₁ to hepatic macromolecules. *J. Toxicol. Environ. Health* 1984; 13: 575-587.
30. Şanlı, Y., Ceylan, S., Kaya, S.: Karma yemlerde aflatoksin analizi. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* 1982; 29: 50-70.
31. Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T.: Commonly used techniques in molecular cloning. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*. Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York. p.: E: 1-39, 1989.
32. Verimli, R.: Bazı kanser hücrelerinden nükleik asitlerin izolasyonu ve analizi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 1996.
33. Helferich, W.G., Baldwin, R.L., Hsieh, D.P.H.: [¹⁴C]-Aflatoxin B₁ metabolism in lactating goats and rats. *J. Anim. Sci.* 1986; 62: 697-705.
34. Toskulkao, C., Glinsukon, T.: Effect of ethanol on the in vivo covalent binding and in vitro metabolism of aflatoxin B₁ in rats. *Toxicol. Lett.* 1986; 30: 151-157.
35. Wang, C.J., Wang, S.W., Shiah, H.S., Lin, J.K.: Effect of ethanol on hepatotoxicity and hepatic DNA-binding of aflatoxin B₁ in rats. *Biochem. Pharmacol.* 1990; 40: 715-721.
36. Systat: Systat Version 5.01 for Windows., Copyright, SYSTAT Inc., 1800 Sherman Ave. Evanston, IL USA. 1990-1992.
37. Chen, C., Pearson, A.M., Coleman, T.H., Gray, J. I., Pestka, J.J., Aust, S.D.: Tissue deposition and clearance of aflatoxins from broiler chickens fed a contaminated diet. *Food Chem. Toxicol.* 1984; 22: 447-451.
38. Lotlikar, P.D., Raj, H.G., Bohm, L.S., Ho, L.L., Jhee, E-C., Tsuji, K., Gopalan, P.: A mechanism of inhibition of aflatoxin B₁-DNA binding in the liver by phenobarbital pretreatment of rats. *Cancer Res.* 1989; 49: 951-957.