

Kronik Aflatoksikozis Oluşturulan Bildircinlarda (*Coturnix coturnix japonica*) L-Karnitin, Biyokimyasal, Hematolojik ve Patolojik Parametreler Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Mehmet ÇİTİL* Mahmut KARAPEHLİVAN** Mehmet TUZCU*** Abdullah DOĞAN****
Erdoğan UZLU* Emine ATAKİŞİ** Ayşe KANICI**** Metehan UZUN****

- * Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kars -TÜRKİYE
** Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Kars -TÜRKİYE
*** Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Adana - TÜRKİYE
**** Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Kars -TÜRKİYE
***** Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Kars -TÜRKİYE

Yayın Kodu: 2007/11-A

Özet

Bu çalışma, bildircin yemlerine aflatoksin (AF) (60 µg/kg yem) ilavesiyle deneysel olarak oluşturulan kronik aflatoksikoziste, içme suyuna 200 mg/l dozda L-karnitin verilmesinin etkilerinin araştırılması amacıyla yapıldı. Araştırmada 8 haftalık yaşta 80 adet bildircin kullanıldı. Hayvanlar dört eşit gruba (n=20) ayrıldı. Grup II'teki hayvanlara 200 mg/l içme suyu dozunda L-karnitin (Carbitol, DİF-İstanbul), grup III'teki hayvanlara 60 µg/kg yem dozunda AF yeme katılarak ve grup IV'teki hayvanlara 60 µg/kg yem dozunda AF ile 200 mg/l içme suyu dozunda L-karnitin oral olarak 60 gün boyunca verildi.

Yemlere düşük düzeyde AF (60 µg/kg yem) ilavesinin toplam bilirubin düzeyleri (p<0.001) ile AST enzim aktivitelerinde önemli (p<0.001) bir artışa neden olduğu; glikoz (p<0.05), toplam kolesterol (p<0.05), VLDL (p<0.001), trigliserit (p<0.001), albümin (p<0.001) ve kalsiyum (p<0.001) değerlerinde ise kontrol grubuna kıyasla önemli düşüşler olduğu belirlendi. Yeme katılan AF'nin (60 ppb) koagülasyon zamanında anlamlı derecede uzamalar (p<0.001) ile PCV (p<0.01) ve RBC (p<0.001) değerlerinde ise anlamlı düşüşlere neden olduğu tespit edildi.

AF+L-karnitin (grup IV) verilen grupta yalnızca AF (grup III) verilen gruba göre istatistik olarak AST enzim aktiviteleri (p<0.001) ve toplam bilirubin düzeylerinde (p<0.001) önemli düşüşler ile glikoz (p<0.05), albümin (p<0.001), hematokrit değerleri (p<0.01) ve eritrosit sayısında (p<0.001) önemli artışlar belirlenirken, pıhtılaşma zamanında ise önemli bir kısalma (p<0.001) tespit edildi. Çalışmada L-karnitin ilavesinin, glikoz, toplam bilirubin, albümin düzeyleri, eritrosit sayısı ve koagülasyon zamanı üzerinde AF'nin olumsuz etkilerini kısmen önlediği, AST enzim aktivitesi ve hematokrit değer üzerinde ise bu koruyucu etkinin tam olarak ortaya çıktığı gözlemlendi.

Sonuç olarak, yemlere düşük düzeyde AF (60 ppb) ilavesinin hayvanlarda biyokimyasal ve hematolojik değerler üzerine önemli etkilere sahip olduğu, 60 ppb düzeyinde AF ile 200 mg/l içme suyu dozunda L-karnitin birlikte verilmesinin AF'nin biyokimyasal ve hematolojik toksik etkilerini kısmen engelleyerek AF nedeniyle oluşan değişiklikleri olumlu yönde etkilediği ortaya konuldu. Buradan hareketle, kanatlı yemlerindeki AF kontaminasyonunda içme suyuna L-karnitin ilavesinin önemli bir koruyucu role sahip olabileceği kanısına varıldı.

Anahtar sözcükler: Aflatoksin, L-karnitin, Biyokimya, Hematoloji, Patoloji, Bildircin

İletişim (Correspondence)

Phone: +90 474 2426800/1252
e-mail: mcitil@hotmail.com

Effect of L-Carnitine Supplementation on Biochemical, Haematological and Pathological Parameters of Quails (*Coturnix coturnix japonica*) during Chronic Aflatoxicosis

Summary

The aim of this study was to evaluate the protective efficacy of L-carnitine administration in the prevention of toxic effects of experimental chronic aflatoxicosis. A total of 80 and eight weeks old Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) were used in this experiment. They were divided into one control and three treatment group each containing 20 quails [group I L-carnitine 200 mg/l via drinking water, group II aflatoxin (AF) 60 µg/kg feed, group III AF (60 µg/kg feed) plus L-carnitine (200 mg/l via drinking water)]. The experimental period lasted 60 days. Control group was fed with unsupplemented basal diet and water.

The low dose of AF (60 µg/kg feed) significantly increased the level of total bilirubin ($p<0.001$) and AST enzyme activity ($p<0.001$); and significantly decreased the levels of glucose ($p<0.05$), total cholesterol ($p<0.05$), VLDL ($p<0.001$), triglyceride ($p<0.001$), albumin ($p<0.001$) and calcium ($p<0.001$). The low dose of AF (60 µg/kg feed) significantly decreased the count of PCV ($p<0.01$) and RBC ($p<0.001$) and significantly prolonged the coagulation time ($p<0.001$) when compared with control group.

AST enzyme activity and bilirubin concentrations statistically decreased in AF+L-carnitine (group IV) when compared to AF (group III) ($p<0.001$) while glucose ($p<0.05$), albumin ($p<0.001$) haematocrit ($p<0.01$) and RBC ($p<0.001$) increased and coagulation time shortened ($p<0.001$). L-carnitine supplementation was shown to partially protect on glucose, albumin, bilirubin concentrations, RBC and coagulation time and to fully protect haematocrit level and AST enzyme activity against adverse effect of AF.

It is concluded that the supplementation of the low dose AF (60 µg/kg feed) had significantly alterations and toxic effects on pathological, biochemical and haematological parameters and L-carnitine administration (200 mg/l via drinking water) had partial protective effect against the toxic effects of AF on pathological, biochemical and haematological parameters of quails (*Coturnix coturnix japonica*) during experimental chronic aflatoxicosis.

Keywords: Aflatoxin, L-carnitine, Biochemistry, Haematology, Pathology, Quail

GİRİŞ

Aspergillus flavus ve *Aspergillus parasiticus* tarafından üretilen aflatoksinler (AF), yem maddelerinin doğal kontaminasyonuna neden olarak kanatlı sektöründe önemli ekonomik kayıplara yol açarlar^{1,2}. Kanatlıların kontamine yemleri tüketmesi ile yaygın olarak ortaya çıkan aflatoksikozis, durgunluk, anoreksi, gelişme geriliği³⁻⁶, anemi^{7,8}, hemoraji^{9,10} yemden yararlanma, canlı ağırlık kazanımı ve yumurta veriminde düşüş^{3,11-13} hepatotoksikozis^{14,15} ve immün sistemin baskılanması^{16,17} sonucu kanatlılarda yüksek mortalite oranı^{4,6,13} ile seyreder.

Kanatlılarda, aflatoksikozisin klinik tanısında biyokimyasal ve hematolojik parametre değişikliklerinin belirlenmesi oldukça önemlidir ve bu konuda bir çok çalışma mevcuttur^{3,8,18-20}. Bu çalışmalarda aflatoksikozisin serum toplam protein, albümin, kolesterol, trigliserit ve glikoz^{4,19,21}, fosfor ve kalsiyum²² düzeylerinde düşüşler ile AST ve ALT gibi karaciğer enzim aktivitelerinde artışlara^{5,23} neden olduğu rapor edilmiştir.

Küçük molekül ağırlıkta ve suda kolayca eriyebilen bir amin olan L-karnitin, canlı organizmalar için hayati öneme sahip doğal bir maddedir²⁴. L-karnitin lizin ve metionin gibi amino asitlerden endojen olarak iskelet kası, kalp, karaciğer, böbrek ve beyinde sentezlenir. Mitokondrielerde β -oksidasyon yolu ile uzun zincirli yağ asitlerinden enerji üretiminde önemli bir rol oynar. Fazla miktarlarda asetil-CoA üretilmesi hücreler için toksik etkili olabilir^{24,25}. L-karnitin fazla miktarda üretilen serbest veya bağlı asetil gruplarının detoksifiye edilmesinde önemli rol oynadığı ve böylece hücre membranlarının korunmasını sağladığı bildirilmiştir^{25,26}.

Toksik etkenlere karşı L-karnitin doku ve hücrelerde koruyucu etkileri üzerine yapılan birçok çalışmada, L-karnitin ve derivelerinin peroksidasyon olaylarında serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek hücreleri peroksidatif stresten korudukları bildirilmiştir²⁷⁻³². Atroshi ve ark.³³ AFB1 toksinleri ile yaptıkları bir çalışmada antioksidan olarak L-karnitin ile birlikte koenzim Q10 kullanılmasının serbest radikallere karşı hücrelerde belirgin bir koruyucu etki sağladığını ortaya koymuşlardır. Sachan ve Yatim³⁴ ratlarda 6 hafta süreyle diyete L-karnitin ilave edilmesinin, AFB1 toksinlerinin karaciğer hücre DNA ve RNA'larına bağlanmalarını belirgin bir şekilde azalttığını rapor etmişlerdir. Yine benzer bir çalışmada Yatim ve Sachan³⁵ L-karnitin, AFB1'in plazma pro-

teinleri tarafından tutulmasını arttırarak AFB1'in hepatosit DNA'larına bağlanma oranını azalttığı ve serbest AFB1'in karaciğer hücreleri tarafından metabolize edilmesini sağladığını bildirmişlerdir.

Yemlerden AF'nin uzaklaştırılması veya toksik etkilerinin azaltılması amacıyla farklı doğal ve sentetik adsorban maddeler ile birçok çalışma yapılmıştır^{5,8,12,19-21,36}. Bu çalışmada ise, kronik aflatoksikozis oluşturulan bıldırcınlarda karnitin hücre koruyucu özelliği göz önüne alınarak, AF'in karaciğer, biyokimyasal ve hematolojik toksik etkilerinin hangi ölçülerde önlenebileceğinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Hayvanlar ve Beslenme

Bu çalışmada 8 haftalık 80 adet bıldırcın kullanıldı. Hayvanlar kontrol (Grup I), L-karnitin verilen (Grup II), sadece AF verilen (Grup III) ve AF+L-karnitin verilen (Grup IV) olmak üzere 4 eşit gruba (n=20) ayrıldı. Grup II'teki hayvanlara 200 mg/l dozunda L-karnitin (Carbitol, DİF-İstanbul) içme suyuna ve grup III'teki

Tablo 1. Rasyon içeriği ve kompozisyonu (%).

Table 1. The composition and integrants of ration (%).

İçerik	Başlangıç periyodu	Büyüme periyodu
Mısır	58.20	49.90
Soya küspesi	32.10	25.00
Balık unu	7.50	4.00
Arpa	-	18.70
Kireç taşı	1.10	1.20
Dikalsiyum	0.50	0.60
Fosfat	0.25	0.25
Tuz	0.35	0.35
Vitamin mineral premiksi*		
<i>Kimyasal analiz</i>		
Kuru madde	92.40	91.45
..... Kuru Madde %		
ME** kcal/kg	2895	2850
Ham protein	24.12	20.16
Eter ekstraktı	4.14	3.79
Kaba lif	4.27	4.58
Kül	6.02	5.11

* 1 kg yem için sağlanan ilave içerik: Vitamin A, 21 000 IU; Vitamin D3, 4 200 IU; Vitamin E, 52.5 mg; Vitamin K3, 4.38 mg; Vitamin B1, 5.25 mg; Vitamin B2, 12.25 mg; Vitamin B6, 7 mg; Vitamin B12, 0.03 mg; Folik asit, 1.75 mg; D-Biotin, 0.08 mg; Vitamin C, 87.5 mg; Niasin, 70 mg; Cal-D-Pantothenat, 14 mg; Kolin chloride 218.75 mg, Fe, 140 mg; Zn, 105 mg; Cu, 14 mg; Co, 0.35 mg; I, 1.75 mg; Se, 0.26 mg; Mn, 140 mg.

** Yemden hesaplama ile elde edilen metabolik enerji (NRC, 1984).

hayvanlara 60 µg/kg yem dozunda AF yeme katılarak verildi. Grup IV'teki hayvanlara 60 µg/kg yem dozunda AF ile 200 mg/l içme suyu dozunda L-karnitin oral olarak 60 gün boyunca verildi. Kontrol ve deneme gruplarına National Research Council tarafından bildiriciler için önerilen rasyon³⁷ kullanıldı. Yem ve su tüm çalışma periyodu boyunca ad libitum olarak sağlandı. Yem ve su tüketimi yem için g/hayvan/gün ve su için ml/hayvan/gün formülü ile günlük olarak hesaplandı.

Aflatoksin Üretimi

Aflatoksin üretimi Shotwell ve ark.³⁸ tarafından bildirilen metot kullanılarak yapıldı. Bu amaçla USA'dan (Agricultural Research Service, Peoria, IL) temin edilen liyofilize *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 suşu kullanıldı³⁹. Otoklavda sterilize edilen pirinçlerin her birinin üzerine 2'şer ml (yaklaşık 2.000.000) *Aspergillus parasiticus* sporu ilave edilerek 28°C etüvde fermentasyona bırakıldı. Daha sonra başarılı şekilde fermente olan pirinçler otoklavda sterilize edilerek mantarların yıkımlanması sağlandı. Pirinçler kurutulduktan sonra öğütülüp toksin analizi için hazır hale getirilip, Shotwell ve ark.'nın³⁸ bildirdiği şekilde kloroform ile ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra toplam aflatoksin düzeyleri ince tabaka kromatografisi (İ.T.K.) ile yarı kantitatif olarak belirlendi. *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 suşu ile küflenendirilen pirinçlerde İ.T.K ile yapılan ölçümlerde toplam 62 ppm aflatoksin ürettiği, üreyen aflatoksinin yaklaşık %45'inin AFB1, %13'nün AFB2, %24'ünün AFG1, %18'inin AFG2 olduğu belirlendi.

Biyokimyasal ve Hematolojik analizler

Biyokimyasal analizler için kan örnekleri 60 günlük deneme süresinin sonunda kanat venasından tüplere alındı. Kan alma işleminden sonra alınan örnekler oda ısısında 1 saat bekletildikten sonra 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serum ve plazmalar analiz edilene kadar -20°C'de saklandı.

Serum toplam protein (TP), albümin, glikoz, trigliserit, VLDL, kolesterol, toplam bilirubin, kalsiyum, fosfor ve magnezyum düzeyleri (Ektachem DT II, Kodak, USA) ve aspartat amino transferaz (AST) enzim aktiviteleri 37°C'de otoanalizör ile (DTSC II, Kodak, USA) belirlendi.

Hematolojik analizler 60 günlük deneme süresi sonunda alınan taze kan örneklerinde yapıldı. Eritrosit

sayıları Natt-Herrick çözeltisi kullanılarak hemostometrik yöntemle, hematokrit değerleri ise mikrohematokrit yöntemle belirlendi. Hemoglobin miktarı spektrofotometrede 578 nm dalga boyunda syanomethemoglobin yöntemi kullanılarak ortaya konuldu. Pıhtılaşma süresi ise, antikoagülsüz mikropiller tüpler kullanılarak hesaplandı⁴⁰.

Histopatolojik analizler

Çalışmanın 60. günü bütün deneklerin ağırlıkları tartılarak eter anestezisi altında servikal dekapitasyon ile ötenazi edildi. Makroskobik olarak incelenen hayvanların karaciğer, dalak, böbrek, bursa fabricius ve timüslerinden doku örnekleri alınıp %10'luk tamponlu formaldehit çözeltisinde tespit edildi. Tespit edilen dokular, daha sonra rutin işlemlerden geçirilerek parafin blokları hazırlandı. Hazırlanan parafin bloklardan 6 mikron kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilin&Eozin ile boyanıp oluşan lezyonlar değerlendirildi. Karaciğerdeki yağlanmayı ortaya koyabilmek için kalsiyum-formolde tespit edilen dokulardan dondurma mikrotomunda 10 mikron kalınlığında kesitler alınarak laboratuvarında Sudan Black ile boyandı.

İstatistiksel analizler

Sonuçlar ortalama ± standart hata ile gösterildi ve SPSS istatistik programında değerlendirildi. Gruplar arasındaki farklılık ANOVA ile Duncan Testi kullanılarak tespit edildi.

BULGULAR

Aflatoksin içeren rasyona L-karnitin ilavesinin bazı kan serumu biyokimyasal parametreler ve enzim aktiviteleri üzerine etkisi Tablo 2'de, hematolojik parametreler üzerine etkisi Tablo 3'te gösterilmiştir.

Bu çalışmada yemlere düşük AF (60 ppb) (grup III) ilavesinin toplam protein, fosfor ve magnezyum değerleri üzerinde önemli etkisi bulunmadığı tespit edildi. Ancak total bilirubin düzeyleri (p<0.001) ile AST enzim aktivitelerinde (p<0.001) istatistik olarak önemli bir artışa neden olduğu, glikoz (p<0.05), toplam kolesterol (p<0.05), VLDL (p<0.001), trigliserit (p<0.001), albümin (p<0.001) ve kalsiyum (p<0.001) değerlerinde diğer gruplara göre istatistik olarak önemli düşüşler olduğu belirlendi (Tablo 2).

AF+L-karnitin (grup IV) verilen grupta yalnızca AF (grup III) verilen gruba göre istatistik olarak AST

Tablo 2. Altmış gün süreyle AF (60 ppb) içeren yem ve L-karnitin (200 mg/l su) ile beslenen bıldırcınlarda serum biyokimyasal parametreler (mean±SE)
Table 2. Serum biochemical parameters in quails fed on a diet containing AF (60 ppb) and L-carnitine (200 mg/l water) for 60 days (mean±SE)

Parameter	Kontrol	Karnitin	Aflatoksin	Afl + Karnitin	P
Glikoz (mg/dl)	267.43±4.11 a	264.75±7.194 a	230.78±9.99 b	253.50±11.33a,b	P<0.05
Kolesterol (mg/dl)	196.43±12.94 a	176.38±3.57 b	169.10±1.98 b	175.29±4.46 b	P<0.05
Trigliserit (mg/dl)	79.75±2.23 a	83.43±4.24 a	64.30±1.64 b	68.86±1.44 b	P<0.001
VLDL (mg/dl)	15.50±0.43 b	21.57±2.43 a	11.14±0.88 b-	14.29±0.94 b	P<0.001
T. Bilirubin (mg/dl)	0.24±0.51 b,c	0.17±0.42 c	0.95±0.15 a	0.61±0.12 a,b	P<0.001
AST (U/l)	193.83±17.39 b	191.17±13.37 b	323.83±14.73 a	240.00±20.11 b	P<0.001
T. Protein (g/dl)	2.56±0.48	2.52±0.75	2.29±0.15	2.39±0.11	P<0.05
Albumin (g/dl)	1.57±0.57 a,b	1.69±0.86 a	1.20±0.63 c	1.38±0.70 b,c	P<0.001
Kalsiyum (mg/dl)	8.52±0.23 a	8.40±0.22 a	7.06±0.16 b	7.53±0.34 b	P<0.001
Fosfor (mg/dl)	6.63±0.56	6.78±0.33	5.33±0.73	5.67±0.24	P<0.05
Magnezyum (mg/dl)	4.24±0.39	4.06±0.42	3.33±0.17	3.48±0.26	P<0.05

enzim aktiviteleri ($p<0.001$) ve toplam bilirubin düzeylerinde ($p<0.001$) önemli düşüşler ile glikoz ($p<0.05$) ve albümin ($p<0.001$) değerlerinde önemli artışlar tespit edilmekle birlikte toplam protein, toplam kolesterol, trigliserit, VLDL, kalsiyum, fosfor ve magnezyum düzeylerinde rakamsal olarak tespit edilen artışların istatistik olarak önemli olmadığı belirlendi. Çalışmada L-karnitin ilavesinin, glikoz, toplam bilirubin ve albümin düzeyleri üzerinde AF'nin olumsuz etkilerini kısmen önlediği, AST enzim aktivitesi üzerinde ise bu koruyucu etkinin tam olarak ortaya çıktığı gözlemlendi (Tablo 2).

AF+L-karnitin (grup IV) verilen grupta yalnızca AF (grup III) verilen gruba göre hematokrit değerinde ($p<0.01$) ve eritrosit sayısında ($p<0.001$) istatistik olarak önemli artışlara belirlenirken, pıhtılaşma zamanında ise önemli bir kısalma ($p<0.001$) tespit edildi. Yapılan bu çalışma L-karnitin ilavesinin, hematokrit değer üzerine AF'nin olumsuz etkilerini tam olarak önlediği, ancak eritrosit sayısı ve pıhtılaşma süresinde ise bu koruyucu etkinin kısmi olarak ortaya çıktığı gözlemlendi (Tablo 3).

Tablo 3. Altmış gün süreyle AF (60 ppb) içeren yem ve L-karnitin (200 mg/l su) ile beslenen bıldırcınlarda hematolojik parametreler (mean±SE)
Table 3. Haematological parameters in quails fed on a diet containing AF (60 ppb) and L-carnitine (200 mg/l water) for 60 days (mean±SE)

Grup / Değer	Kontrol	Karnitin	Aflatoksin	Afl + Karnitin	P
Hematokrit (%)	46.90±1.22 a	46.40±1.14 a	39.40±1.05 b	44.40±1.86 a	P<0.01
Hemoglobin (g/dl)	12.44±0.16	12.43±0.16	11.38±0.40	12.08±0.42	P>0.05
Eritrosit ($10^6/mm^3$)	3398.9±3.60	3237.0±99.7	2357.0±53.0	2677.8±77.8	P<0.001
Pıhtılaşma Zamanı (sn)	129.0±8.1 c	130.0±7.7 c	330.5±32.7 a	190.0±9.5 b	P<0.001

Kullanılan düşük AF seviyesinin (60 ppb) hemoglobin değerlerinde kontrol grubuna göre istatistik olarak önemli değişikliklere neden olmadığı, ancak hematokrit değer ($p<0.01$) ile alyuvar sayılarında ($p<0.001$) anlamlı azalmalara neden olduğu belirlendi. Yine pıhtılaşma zamanının AF uygulanan grupta anlamlı düzeyde uzadığı gözlemlendi ($p<0.001$) (Tablo 3).

Makroskobik Bulgular

Denemenin sonunda ötenazi edilerek nekropsileri yapılan bıldırcınlarda görülen makroskobik patolojik bulgular tablo 4'de verildi.

İncelenen aflatoksin grubu bıldırcınların karaciğer-

lerin tamamının keskin kenarlarının kütleştiği, büyük çoğunluğunun renginin solgun veya sarımtırak olduğu ve bazı olgularda ise kanamaların varlığı tespit edildi. Böbreklerin büyümüş, kesit yüzünün taşkınca ve ıslak görüldüğü ve tamamının solgun renkte olduğu ve iki bildircinde da deri altında kanama alanlarının varlığı belirlendi. Bursa fabriciusların tamamına yakınının aflatoksin+karnitin ve karnitin grubuna kıyasla küçük olduğu dikkati çekti (Tablo 4).

Aflatoksin+karnitin grubundaki bildircinların karaciğerlerinin bazılarının renginin solgun olduğu, solgun renkte görülen böbreklerin kesit yüzünün taşkınca ve ıslak görüldüğü belirlendi. Bursa fabriciusların tama-

daha yoğun olmak üzere lobcuğun her yerinde iri vakuollere rastlandı. Ayrıca karaciğer paranzimine dağılmış olarak görülen multifokal nekrozlar da belirlendi. Özellikle intermedier bölgedeki hepatositlerin sitoplazmasında iri yağ vakuollerin bulunduğu, yer yer de bir kaç vakuolün birleşerek küçük yağlanma alanları yaptıkları dikkati çekti. Yapılan Sudan Black boyamalarda bu vakuollerin yağ vakuolleri olduğu ve bu değişikliklerle ilgili olarak lobcuklardaki Remark Kordonları'nın dizilişinin de bozulduğu belirlendi. Aflatoksin grubundaki bildircinların karaciğerlerinde bazofilik sitoplazmalı daha küçük çekirdekli rejenere hepatositlere de rastlandı. Bu grupta, safra kanallarının genellikle genişlediği, safra

Tablo 4. Altmış gün süreyle AF (60 ppb) içeren yem ve L-karnitin (200 mg/l su) ile beslenen bildircinlarda çalışma sonunda nekropside belirlenen makroskopik patolojik bulgular

Table 4. Macroscopic pathologic evidences by necropsy at the end of study in quails fed on a diet containing AF (60 ppb) and L-carnitine (200 mg/l water) for 60 days

Makroskopik Bulgu	Grup			
	Kontrol	Karnitin	Aflatoksin	Afl + Karnitin
BARSAKLAR				
Mukozada ödem ve hiperemi	-	-	20/20*	18/20*
Kanama	-	-	4/20	-
BÖBREK				
Solgun renk	-	-	18/20	2/20
BURSA FABRİCİUS				
Atrofi	-	-	18/20	12/20
Kanama	-	-	1/20	-
DERİ ALTINDA KANAMA	-	-	2/20	-
KARACİĞER				
Kenarlarda Kütleşme	-	-	19/20	14/20
Koyu kırmızı renk	-	7/20-	1/20-	6/20
Solgun renk	-	-	19/20	14/20
Sarımtırak renk	-	5/20-	14/20	1/20
Kanama	-	-	4/20	-

* Lezyonlu b ld rc n say s /incelenen b ld rc n say s

mına yakınının kontrol ve karnitin grubuna kıyasla küçük olduğu dikkati çekti (Tablo 4).

Mikroskopik Bulgular

Denemenin sonunda ötenazi edilerek nekropsileri yapılan bildircinlarda görülen mikroskopik patolojik bulgular tablo 5 ve 6'da verildi.

Çalışmada aflatoksin ve aflatoksin+karnitin verilen bütün bildircinların karaciğerlerinde belirgin bir hipereminin geliştiği ve hepatositlerin sitoplazmalarının bulanıklaştığı görüldü. Aflatoksin gurubunda daha yoğun olmak üzere dejeneratif değişiklikler ile birlikte özellikle intermedier bölgede

kanallarının sayısında artış olduğu ve epitellerinde hiperplazi geliştiği dikkati çekti. Bu bulgulara ilave olarak çoğunlukla V. sentralislerin etrafında olmak üzere karaciğer paranzimine yayılmış olarak izlenen fokal mononükleer hücre infiltrasyonları da belirlendi (Tablo 5).

Çalışmada karaciğerlerde görülen mikroskopik değişikliklerin aflatoksin+karnitin grubunda şiddetinin azaldığı nekrozların ve kanamaların bu grupta görülmediği dikkati çekti. Yine karnitin verilen gruptaki bildircinlardan 3 tanesinin karaciğerlerinde dejenerasyonla ilgili değişiklikler belirlendi (Tablo 5).

Aflatoksin alan bütün bildircinların dalaklarının mikroskopik incelemesinde kırmızı pulpanın normal

Tablo 5. Altmış gün süreyle AF (60 ppb) içeren yem ve L-karnitin (200 mg/l su) ile beslenen bildircinlarda çalışma sonunda nekropside belirlenen mikroskopik patolojik bulgular**Table 5.** Microscopic pathologic evidences by necropsy at the end of study in quails fed on a diet containing AF (60 ppb) and L-carnitine (200 mg/l water) for 60 days

Mikroskopik Bulgu	Grup			
	Kontrol	Karnitin	Aflatoksin	Afl + Karnitin
KARACİĞER				
Hiperemi	.*	2/20	20/20*	20/20*
Kanama	-	-	11/20	-
Hidropik dejenerasyon	-	3/20	20/20	17/20
Büyük damlalı yağlanma	-	-	18/20	1/20
Küçük damlalı yağlanma	-	2/20	20/20	16/20
Remark kordonlarında disesiasyon	-	3/20	20/20	20/20
Anizonukleozis	-	-	20/20	16/20
Fokal nekroz	-	-	4/20	3/20
Multifokal nekroz	-	-	16/20	-
Mononükleer hücre infiltrasyonu	-	2/20	20/20	-20/20
Safra kanalı proliferasyonu	-	-	16/20	3/20
Safra kanalı epitellerinde hiperplazi	-	-	20/20	6/20
DALAK				
Hiperemi ve ödem	-	-	20/20	12/20
Lenfois foliküllerde boşalma	-	-	20/20	12/20
BURSA FABRİCİUS				
Lenfois foliküllerde boşalma	-	-	20/20	12/20
Hiperemi ve ödem	-	-	20/20	12/20

* Lezyonlu b ld rc n say s /incelenen b ld rc n say s

Tablo 6. Altmış gün süreyle AF (60 ppb) içeren yem ve L-karnitin (200 mg/l su) ile beslenen bildircinlarda çalışma sonunda nekropside belirlenen mikroskopik patolojik bulgular**Table 6.** Microscopic pathologic evidences by necropsy at the end of study in quails fed on a diet containing AF (60 ppb) and L-carnitine (200 mg/l water) for 60 days

Mikroskopik Bulgu	Grup			
	Kontrol	Karnitin	Aflatoksin	Afl + Karnitin
AKCİĞER				
Hiperemi ve ödem	.*	.*	16/20*	2/20*
BARSAKLAR				
Mukozada ödem ve hiperemi	-	-	20/20	18/20
Barsak epitellerinde deskuamasyon	-	-	18/20	12/20
Kanama	-	-	5/20	1/20
BEYİN VE BEYİNCİK				
Hiperemi ve ödem	-	-	20/20	18/20
Gliozis	-	-	16/20	2/20
nöron dejenerasyonu	-	-	16/20	2/20
BÖBREKLER				
İntertübüler kanama	-	-	12/20	-
Tubul epitellerinde dejenerasyon	-	6/20	-	-
Tubullerde genişleme	-	-	-	-
Glomeruluslarda hiperselülarite	-	-	-	-
Glomerular boşlukta genişleme	-	-	-	-
Bowman kapsülünde genişleme	-	-	-	-
Tubul lümenlerinde kitle	-	6/20	-	-

* Lezyonlu b ld rc n say s /incelenen b ld rc n say s

histolojik yapısını koruduğu, fakat beyaz pulpadaki periarterioller lenfoid dokunun boşalmış olduğu görüldü. Aflatoksin+karnitin alan grup bildircinlarda bu değişikliklerin daha az şekillendiği, kontrol ve karnitin

grubunda ise dalağın normal histolojik yapısını koruduğu belirlendi. Benzer şekilde yemlerine aflatoksin verilen grupta ve aflatoksin+karnitin alanlarda daha az olmak üzere bursa fabriciuslarda lenf foli-

küllerinde boşalma, lenfosit sayısında azalma belirlendi (Tablo 5).

Aflatoksin+L-karnitin verilen bütün bildircinların böbrek tubuluslarının lümenlerinin eozinofilik homojen bir materyal ile dolu olduğu, tubulusları döşeyen epitellerin şişkin ve sitoplazmasının bulanık görüldüğü çekirdeklerinin yoğun boyandığı ve farklı büyüklükte oldukları belirlendi. Yemleriyle 60 ppb aflatoksin alan gruptaki bildircinlarda ise, yukarıdaki bulgulara ek olarak glomeruluslarda mezenşiyal hücrelerde artış ve bowman kapsülünün parietal yaprağının kalınlaşması ile bazı bildircinların böbreklerinde intertubuler alanlarda kanamaların olduğu belirlendi. Aflatoksin alan bildircinların böbreklerinde bazı tubulusların yassı epitelle döşeli olduğu ve bununla ilgili olarak da lümenlerinin değişen derecelerde genişlediği dikkati çekti. Bazı bildircinlarda ise tubulus epitellerinde PAS pozitif hiyalin damlacıklarına ve lümenlerinde de hiyalin silindirlerine rastlandı. Ayrıca çalışmada karnitin verilen grupta bulunan bildircinlardan 6 tanesinde tubul epitellerinde dejenerasyonlarla birlikte lümenlerinde pembe homojen kitlelerin bulunduğu belirlendi (Tablo 6).

Aflatoksin içeren diyetle beslenen bildircinların beyinlerinin mikroskopik incelemesinde bütün bildircinlarda dikkati çeken en önemli bulgunun hiperemi ve perivasküler boşlukta genişlemenin olduğu bu değişikliklerin aflatoksin+L-karnitin grubunda hafiflediği hatta bazı bildircinlarda ise görülmediği karnitin grubunda ise her hangi bir değişikliğe rastlanmadığı belirlendi (Tablo 6).

Çalışmada akciğerlerle ilgili belirlenen lezyonlar, aflatoksin alan gruptaki 16 bildircin ile aflatoksin+L-karnitin grubunda 2 bildircinde interalveolar kapıllarların hiperemik oluşu ile alveol lümenlerinin pembe homojen bir sıvı ile dolu olarak görünmesiydi (Tablo 6).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Kanatlı sektöründe ciddi ekonomik kayıplara ve sağlık problemlerine neden olan aflatoksikozis, AF üreten mantarlar ile yemlerin kontaminasyonu sonucu ortaya çıkan subklinik, akut veya kronik seyirli bir hastalıktır⁸. AF ile kontamine yemlerin kanatlı beslenmesindeki zararlı etkilerinin ortadan kaldırılması için birçok adsorban veya antagonist maddeler^{21,41,42} kullanılmaktadır. Ancak başarılı bir detoksifikasyon sürecinin ekonomik olması, zararlı kalıntılar bırak-

madan AF toksinlerinin tamamını elimine etmesi, beslenme ve ürün kalitesini olumsuz yönde etkilemesi temel amaçtır^{3,4,11}. Bu çalışmada ise, bildircinlarda 60 ppb miktarında aflatoksin içeren rasyonla oluşturulan kronik aflatoksikozisin etkilerini önlemek amacıyla yukarıda belirtilen adsorban ve antagonist maddelere bir alternatif olarak içme suyuna 200 mg/l dozda L-karnitin ilavesinin, serum biyokimyasal ve hematolojik parametreler üzerine etkileri incelenmiştir.

Uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondrilerde oksidasyon yoluyla enerji kazanımında kofaktör olan L-karnitin aynı zamanda hücrelerin yaşayabilmesi için karbonhidrat metabolizmasında da önemli bir rolü vardır. Bununla birlikte L-karnitin serbest radikal oluşumunu önleyebilen güçlü bir antioksidandır²⁵. Birçok çalışma bulguları L-karnitin paraquat, doksorubicin, adriamycin gibi antikanserjenik ajanların toksik etkilerine karşı oldukça etkili olduğunu da göstermiştir^{43,44}. Mikotoksinlerin sebep olduğu Membran hasarlarına karşı vitamin A, E, C ve Selenyum gibi bir çok antioksidan kullanılmaktadır. Son zamanlarda L-karnitin de içinde bulunduğu diğer antioksidanların (tamoksifen, melatonin ve koenzim Q10) oksidatif hasara karşı olan etkileri sebebiyle bu amaçla kullanılabileceği önerilmektedir³³. L-karnitin membran yapısı için gerekli fosfolipitlerin sentezini artırır ve fosfolipitlerin yeniden açılmesiyle membran yapısının bütünlüğünün sağlanması veya hasarlarının düzeltilmesinde önemli bir role sahiptir⁴⁵.

Çalışmamızda yalnızca AF verilen grupta diğer gruplara göre toplam kolesterol (p<0.05), VLDL (p<0.001), trigliserit (p<0.001), glikoz (p<0.05) ve toplam bilirubin düzeylerinde (p<0.001) istatistik olarak önemli düşüşler belirlendi. Çalışma bulguları kanatlılarda aflatoksikozisin bir göstergesi olarak serum kolesterol ve glikoz düzeylerinde düşüşlerin ortaya konulduğu çalışma bulguları^{4,19-21} ile uygunluk göstermektedir. Bu düşüşlerin sebebi olarak AF toksik etkileri sonucu karaciğerde protein, karbonhidrat ve lipit metabolizmasında meydana gelen bozukluklardan^{4,15,20} kaynaklandığı düşünülmektedir. Özellikle kolesterol düzeylerindeki önemli düşüşlerin lipogenezin genel olarak azalması⁴⁶ ve lipit transport bozukluklarına⁴⁷ bağlı olarak gelişen spesifik hepatik kolesterol biyosentezinin inhibisyonu⁴⁸ sonucu ortaya çıkmaktadır. Çalışmada elde edilen biyokimyasal parametrelerdeki istatistiksel önemli değişikliklerin aflatoksikozisin tanısında önemli bir gösterge olabileceği görüşünü^{4,19,49} desteklemektedir.

Sunulan bu çalışmada, yemlere düşük AF (60 ppb) (grup III) ilavesinin AST enzim aktivitelerinde ($p<0.001$) önemli bir artışa neden olduğu tespit edildi. Bu sonuç kanatlılarda daha önceleri yapılmış çalışma^{23,49} bulgularıyla uyum göstermektedir. Serum enzim aktivitelerinin belirlenmesi aflatoksikozis durumlarında klinik belirtiler ortaya çıkmadan önce toksikasyonun tanısında yardımcı olabileceği bildirilmiştir¹⁹. Çünkü AST ve ALT aktivitelerinin artmış olması hepatosellüler hasar veya fonksiyon yetmezliği, karaciğer yangısı ve lezyonu veya safra kanalları tıkanıklıklarının teşhisinde oldukça duyarlı bir indikatör olduğu⁴ ve bu nedenle karaciğer hasarına bağlı olarak AST aktivitesinin artmış olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızda yalnızca AF verilen grupta toplam protein değerlerinde önemli olmayan ve albümin değerlerinde ise önemli olan ($p<0.001$) düşüşler (Tablo 2), daha önceki yıllarda farklı kanatlı türlerinde aflatoksikozisin toplam protein ve albümin düzeylerinde düşüşlerin bildirildiği çalışma bulgularıyla uyum göstermektedir^{4,19-21,49}. Protein fraksiyonlarındaki bu düşüşlerin AF'nin hepatotoksik etkilerinin karakteristik bir göstergesi olan hepatik protein sentezinin inhibisyonundan²⁰ kaynaklandığını düşünülmemektedir. Ayrıca AF DNA'ya bağlı RNA polimerazı inhibe ettiği ve böylece nükleer DNA kalıbında bozulmalara bağlı olarak genel protein sentezinin inhibe edildiği rapor edilmiştir^{50,51}. Yine ratlarda yapılan bir başka çalışmada albüminin AFB1'i bağlayan ve kanda taşınmasında görevli olan önemli bir protein olduğu bildirilmiştir⁵².

Bu çalışmada yemlere düşük AF (60 ppb) (grup III) ilavesinin fosfor ve magnezyum değerleri üzerinde istatistik olarak önemli etkisi bulunmadığı, kalsiyum ($p<0.001$) değerleri diğer gruplara göre istatistik olarak önemli düşüşlerin daha önceki yapılan çalışmalar ile kısmen uyum göstermektedir^{21,53}. Çünkü daha önceki çalışmalarda AF hem kalsiyum hem de fosfor düzeylerinde önemli değişikliklere neden olduğu bildirilmektedir. Glahn ve ark.⁵⁴ yaptıkları bir çalışmada AF'in kalsiyum ve fosfor metabolizmasında değişikliklere neden olabileceğini ortaya koymuşlardır. Böylece aflatoksikozisin kalsiyum ve fosforun böbrek, bağırsak ve paratiroid bezi tarafından düzenlenmesinde direk değişiklik meydana gelebileceği ve buna bağlı olarak ta serum kalsiyum ve fosfor düzeylerinde düşüşlerin olabileceği görüşünü paylaşmaktayız. Aflatoksin+L-karnitin grubu bıldırcınlarda aflatoksin grubuna göre daha yüksek

kalsiyum ve fosfor düzeylerinin elde edilmesi, L-karnitin ilavesinin AF'in nefrotoksik etkilerini^{21,53} kısmen önlediğinin bir göstergesi olabilir.

Bıldırcınlara AF ile L-karnitin birlikte verildiği grupta sadece AF verilen gruba göre anlamlı derecede daha yüksek kolesterol, trigliserit, glikoz, albümin, kalsiyum, fosfor ile daha düşük AST ($p<0.001$) ve toplam bilirubin değerleri elde edilmiştir. Bu durumun, L-karnitin hücre yapısını koruyucu, karaciğer fonksiyonlarını destekleyici etkileri ile lipit metabolizması ve detoksifikasyonda oynadığı rolün²⁶⁻³² bir göstergesi olabileceği kabul edilmektedir. Sachan ve Yatim³⁴ ratlarda yaptıkları bir çalışmada karnitin uygulamasının AFB1'in neden olduğu hepatik stazis ile hipolipidemilerde faydalı etkilere sahip olduğunu, AFB1'in hepatik DNA, RNA ve plazma proteinlerine kovalent bağlarla bağlanmasını azalttığını ve AFB1 kökenli karaciğer yağlanmasını baskılayarak hepatik fonksiyonları desteklediğini bildirmişlerdir.

Bu araştırmada, aflatoksin uygulanan bıldırcınların alyuvar sayıları ve hematokrit değerleri kontrol ve diğer deneme gruplarına göre anlamlı düzeyde azalmışken hemoglobin değerlerindeki azalmanın anlamlı olmadığı belirlendi (Tablo 3). Bu bulgular AF'nin hematopoezis üzerindeki baskılayıcı etkilerini bildiren birçok çalışma bulguları ile uyumludur^{6-8,13,19,49}. Koruyucu olarak L-karnitin verilen grupta alyuvar sayılarındaki azalmanın ortadan kalkmadığı ancak hematokrit değerinin ise kontrol grubuna yakın düzeye ulaştığı ($p<0.001$) görülmektedir. Yapılan birçok çalışmada L-karnitin uygulamalarının eritrositlerin membran stabilizasyonunu koruyarak yaşam sürelerini ve miktarını arttırdığı, hemoglobin seviyesi ile hematokrit değerini yükselttiği bildirilmiştir⁵⁵⁻⁵⁷. Bu bulgular aflatoksinin hemapoetik sistem üzerindeki baskılayıcı etkisini karnitin kısmen düzelttiği kanaatini uyandırmaktadır.

Aflatoksin uygulanan grupta ayrıca pıhtılaşma zamanının anlamlı derecede uzadığı da gözlemlendi (Tablo 3). Aflatoksin karaciğer dokusunda hasar oluşturarak pıhtılaşma faktörlerinin sentezlenmesini engelleyerek yol açtığı düşünülmektedir. Nitekim hem AST sonuçları hem de mikroskopik bulgular karaciğerde böyle bir hasarın oluştuğunu göstermektedir. Fernandez ve ark.⁵⁸ yaptıkları bir çalışmada aflatoksikozisin pıhtılaşma zamanında artışa sebep olabileceğini ve bu artışın aflatoksinden etkilenen kanatlılarda önemli bir indikatör olduğunu bildirmişlerdir.

Koruyucu olarak L-karnitin verilen grupta pıhtılaşma süresinin AF verilen gruba göre kısalmasının L-karnitinin karaciğer ve hemapoetik sistem üzerindeki kısmi koruyucu etkisinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Kanatlılarda daha önce yapılan çok sayıda çalışmada aflatoksikozisin hemapoetik, immün ve retikulo-endotelyal sistemde histolojik olarak olumsuz etkilerinin olduğu ortaya konulmuştur^{4,14,15,59,60}. Bu çalışmada da, daha önce bildirilen çalışmalarla uyumlu olan, farklı organlarda (karaciğer, böbrek, dalak, timüs, Bursa Fabricius, beyin ve akciğer) hafiften şiddetliye kadar değişik seviyelerde birçok patolojik bulgularla karşılaşıldı (Tablo 4-6). Karaciğerde belirlenen büyüme, solgunluk, mononükleer hücre infiltrasyonu, safra kanallarında hiperplazi, nodüler lenfoid hücre birikimi, fokal ve multifokal nekroz gibi bulgular AF'in hepatotoksik etkilerinden kaynaklanmaktadır. Bu bulgular daha önce yapılan çalışmalarda karakteristik olarak nitelenen genişleme, gevrekleşme ve yağlanma bulguları ile uyum gösterdi^{18,36,59,60}.

Sonuç olarak, bu çalışma ile yemlere 60 ppb dozunda AF ilavesinin serumda biyokimyasal ve hematolojik parametreler üzerine önemli etkilerinin olduğu, ancak içme suyuna 200 mg/l dozda L-karnitin ilavesinin AF'in toksik etkilerinin azaltılmasında önemli bir role sahip olabileceği ortaya konulmuştur. L-karnitinin hücre yapısını koruyucu, karaciğer fonksiyonlarını destekleyici ve detoksifikasyonda görev alması nedeniyle AF kontaminasyon riski olan işletmelerde koruyucu olarak kullanılmasının faydalı olabileceği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. **Giambone JJ, Diener UL, Davis ND, Panangala VS, Hoerr FJ:** Effects of aflatoxin on young turkeys and broilers chickens. *Poult Sci*, 64, 1678–1684, 1985.
2. **Moss MO:** Mycotoxic fungi. In, Eley AR (Ed): Microbial food poisoning. Second ed. Chapman and Hall, USA, 1996.
3. **Bailey RH, Kubena LF, Harvey RB, Buckley SA, Rottinghaus GE:** Efficacy of various inorganic sorbents to reduce the toxicity of aflatoxin and T-2 toxin in broiler chickens. *Poult Sci*, 77, 1623–1630, 1998.
4. **Kubena LF, Harvey RB, Bailey RH, Buckley SA, Rottinghaus GE:** Effects of hydrated sodium calcium aluminosilicate (T-Bind) on mycotoxicosis in young broiler chickens. *Poult Sci*, 77, 1502–1509, 1998.
5. **Santurio JM, Mallmann CA, Rosa AP, Appel G, Heer A, Dageforde S, Bottcher M:** Effect of sodium bentonite on the performance and blood variables of broiler chickens intoxicated with aflatoxin. *Br Poult Sci*, 40, 115–119, 1999.
6. **Oğuz H, Kurtoğlu V:** Effect of clinoptilolite on performance of broiler chickens during experimental aflatoxicosis *Br Poult Sci*, 4,; 512–517, 2000.
7. **Huff WE, Harvey RB, Kubena LF, Rottinghaus GE:** Toxic synergism between aflatoxin and T-2 toxin in broiler chicken. *Poult Sci*, 6, 1418–1420, 1988.
8. **Keçeci T, Oğuz H, Kurtoğlu V, Demet Ö:** Effects of polyvinylpyrrolidone, synthetic zeolite and bentonite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis, *Br Poult Sci*, 39, 452–458, 1998.
9. **Sengstag C, Weibel B, Fasullo M:** Genotoxicity of aflatoxin B1: Evidence for a recombinant-mediated mechanisms in *Saccharomyces cerevisiae*. *Cancer Res*, 56, 5457-5465, 1996.
10. **Çelik I, Oğuz H, Demet Ö, Boydak M, Dönmez HH, Sur E, Nizamlıoğlu F:** Embryotoxicity assay of aflatoxin produced by *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999. *Br Poult Sci*, 41, 401-409, 2000.
11. **Parlat SS, Yıldız AÖ, Oğuz H:** Effect of clinoptilolite on performance of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) during experimental aflatoxicosis *Br Poult Sci*, 40, 495–500, 1999.
12. **İbrahim İK, Shareef AM, Al-Joubory KMT:** Ameliorative effects of sodium bentonite on phagocytosis and Newcastle disease antibody formation in broiler chickens during aflatoxicosis. *Res Vet Sci*, 69, 119–122, 2000.
13. **Oğuz H, Hadimli HH, Kurtoğlu V, Erganiş O:** Evaluation of humoral immunity of broiler during chronic aflatoxin (50 and 100 ppb) and clinoptilolite exposure. *Revue de Med Vet*, 154, 483-486, 2003.
14. **Kıran MM, Demet Ö, Ortatlı M, Oğuz H:** The preventive effect of polyvinylpyrrolidone on aflatoxicosis in broilers. *Avian Pathol*, 27, 250–255, 1998.
15. **Ledoux DR, Rottinghaus GE, Bermudez AJ, Alanson-Debolt M:** Efficacy of hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broiler chicks. *Poult Sci*, 78, 204–210, 1999.
16. **Çelik I, Demet Ö, Dönmez HH, Oğuz H, Boydak M:** Determination of phagocytic and candidacidal activities of peritoneal macrophages isolated from chickens fed with aflatoxin and an aflatoxin adsorbing agent, polyvinylpyrrolidone. *Vet Bil Derg*, 12, 145–151, 1996.
17. **Gabal MA, Azzam AH:** Interaction of aflatoxin in the feed and immunisation against selected infectious diseases in poultry. II. Effect on one-day-old layer chicks simultaneously vaccinated against Newcastle disease infectious bronchitis and infectious bursal disease. *Avian Pathol*, 27, 290–295, 1998.
18. **İbrahim İK, Al-Joubory KMT, Shareef AM:** Reducing aflatoxicosis in growing chicks by dietary sodium bentonite. *IPA J Agri Res*, 69, 130-138, 1998.
19. **Oğuz H, Keçeci T, Birdane YO, Önder F, Kurtoğlu V:** Effect of clinoptilolite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during experimental aflatoxicosis. *Res Vet Sci*, 69, 89–93, 2000.
20. **Rosa CA, Miazzo R, Magnoli C, Salvano M, Chiac SM, Ferrero S, Saenz M, Carvalho EC, Dalcero A:** Evaluation of the efficacy of bentonite from the south of Argentina to ameliorate the toxic effects of AF in broilers. *Poult Sci*, 80, 139–144, 2001.
21. **Harvey RB, Kubena LF, Ellisalde MH, Phillips TD:** Efficacy of zeolitic ore compounds on the toxicity of aflatoxin to growing broiler chickens. *Avian Dis*, 37, 67–73, 1993.
22. **Fernandez A, Verde M, Gascon M, Ramos J, Gomez J, Luco DF, Chavez G:** Variations of clinical, biochemical parameters of laying hens and broiler chickens fed aflatoxin-containing

- feed. *Avian Pathology*, 23, 37–47, 1994.
23. **Amer AMM, Fahim EMM, Ibrahim RK:** Effect of aflatoxicosis on the kinetic behaviour of ceftiofur in chickens. *Res Vet Sci*, 65, 115–118, 1998.
 24. **Bremer J:** Carnitine metabolism and functions, *Physiol Rev*, 63, 1420-80, 1983.
 25. **Rebouche CJ, H Seim:** Carnitine metabolism and its regulation in microorganisms and mammals. *Annu Rev Nutr*, 18: 39-61, 1998.
 26. **Fritz IB, Arrigoni-Martelli E:** Sites of action of carnitine and its derivatives on the cardiovascular system. Interactions with membranes, *Trend Pharmacol Sci*, 14, 355-60, 1993.
 27. **O'Connor CE, Costel M, Grisolia S:** Protective effect of L-Carnitine on hiperammonemia. *FEBS Lett*, 166, 331-334, 1984.
 28. **Tremblay GC, Bradley TM:** L-Carnitine protects fish against acute ammonia toxicity. *Comp Biochem Physiol*, 101, 349-351, 1992.
 29. **Çitil M, Güneş V, Atakişi O, Özcan A, Tuzcu M, Doğan A:** Protective Effect of L-Carnitine against oxidative damage caused by experimental chronic aflatoxicosis in quail (*Coturnix coturnix*). *Acta Vet Hung*, 53(3): 319-324, 2005.
 30. **Kart A, Yapar K, Karapehlivan M, Tunca R, Ögün M, Çitil M:** Effects of L-carnitine on kidney histopathology, plasma and tissue total sialic acid, malondialdehyde and glutathione concentrations in response to gentamicin administration in Balb/C Mice. *Revue de Med Vet*, 157(4): 179-187, 2006.
 31. **Kart A, Yapar K, Karapehlivan M, Çitil M:** The possible protective effect of L-carnitine on tilmicosin-induced cardiotoxicity in mice. *J Vet Med-A*, 54(3): 144-146, 2006.
 32. **Abd-Allah ARA:** L-Carnitine ameliorates immunological-induced hepatitis in rats. *Saudi Pharmaceut J*, 14(1): 59-68, 2006.
 33. **Atroshi F., Rizzo A, Westermarck T, Ali-Vehmas T:** Effects of tamoxifen, melatonin, coenzyme Q10, and L-carnitine supplementation on bacterial growth in the presence of mycotoxins. *Pharmacol Res*, 38(4): 289-295, 1998.
 34. **Sachan DS, Yatim AM:** Suppression of aflatoxin B1-induced lipid abnormalities and macromolecule-adduct formation by L-carnitine. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 11(4): 205-210, 1992.
 35. **Yatim AM, Sachan DS:** Carnitine alters binding of aflatoxin to DNA and proteins in rat hepatocytes and cell-free systems. *J Nutr*, 131, 1903–1908, 2001.
 36. **Ortatatlı M, Oğuz H:** Ameliorative effects of dietary clinoptilolite on pathological changes in broiler chickens during aflatoxicosis. *Res Vet Sci*, 71, 59-66, 2001.
 37. **NRC:** Nutrient Requirement of Poultry, Washington, D.C., 1984.
 38. **Shotwell OL, Hesseltn CV, Stubblefield RD, Sorenson WG:** Production of aflatoxin on rice. *Appl Microbiol*, 14, 425–429, 1966.
 39. **Oğuz H:** Broiler yemlerinde aflatoksikozise karşı polivinil-polyppirrolidone'nun (PVPP) tek başına veya diğer absorbanlarla kombinasyonunun koruyucu etkileri. Doktora tezi, Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimler Enstitüsü, Konya, 1997.
 40. **Konuk T:** Pratik Fizyoloji I. , II. Baskı, AÜ Basımevi, Ankara, 1981.
 41. **Scheideler SE:** Effects of various types aluminosilicates and aflatoxin B1 on aflatoxin toxicity, chick performance, and mineral status. *Poult Sci*, 72, 282–288, 1993.
 42. **Huff WE, Kubena LF, Harvey RB, Phillips TD:** Efficacy of hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the individual and combined toxicity of aflatoxin and ochratoxin A. *Poult Sci*, 71, 64–69, 1992.
 43. **Andrieu-Abadie N, Jaffrezou J, Levade T, Mercadier JJ:** L-carnitine prevents doxorubicin-induced apoptosis of cardiac myocytes: role of inhibition of ceramide generation. *FASEB J*, 13(12): 1501-1510, 1999.
 44. **Miguez MP, Soler F, Garcia-Rubio L:** Accentuation of paraquat-induced toxicity by L-carnitine in mice. *Biofactors*, 8(1-2): 73-78, 1998.
 45. **Kashiwagi A, Kanno T, Arita K, Ishisaka R, Utsumi T, Utsumi K:** Suppression of T(3)- and fatty acid-induced membrane permeability transition by L-carnitine. *Comp Biochem Physiol Biochem Mol Biol*, 130, 411- 418, 2001.
 46. **Donaldson WE, Tung HT, Hamilton PB:** Depression of fatty acid synthesis in chick (*Gallus domesticus*) liver by aflatoxin. *Comp Biochem Physiol*, 41, 843–847, 1972.
 47. **Tung HT, Donaldson WE, Hamilton PB:** Altered lipid transport during aflatoxicosis. *Toxicol Appl Pharmacol*, 22, 97–104, 1972.
 48. **Kato R, Onoda K, Omori Y:** Effect of aflatoxin B1 on the incorporation of 14 C-acetate into cholesterol by rat liver. *Exper*, 25, 1026, 1969.
 49. **Basmacıoğlu H, Oğuz H, Ergül M, Çöl R, Birdane YO:** Effect of dietary esterified glucomannan on performance, serum biochemistry and haematology in broilers exposed to aflatoxin. *Czech J Anim Sci*, 50, 31–39, 2005.
 50. **Gelbolin HV, Wortham JS, Wilson RG, Freidman M, Wogan GN:** Rapid and marked inhibition of ratliver RNA polymerase by aflatoxin B1. *Sci*, 154, 1205–1206, 1966.
 51. **Yu S:** Mechanism of aflatoxin B1 inhibition of rat hepatic nuclear RNA synthesis. *J Biol Chem*, 252, 3245–3251, 1977.
 52. **Dirr HW, Schabort JC:** Aflatoxin B1 transport in rat blood plasma. Binding to albumin in vivo and in vitro and spectrofluorimetric studies into the nature of the interaction. *Biochem Biophys Acta*, 881, 383–390, 1986.
 53. **Glahn RP, Beers KW, Bottje WG, Wideman RF, Huff WE:** **Research note:** Altered renal function in broilers during aflatoxicosis. *Poult Sci*, 69, 1796–1799, 1990.
 54. **Glahn RP, Beers KW, Bottje WG, Wideman RF, Huff WE, Thomas W:** Aflatoxicosis alters avian renal function, calcium, and vitamin D metabolism. *J Toxicol Environ Health*, 34, 309–321, 1991.
 55. **Bertelli A, Conte A, Ronca G:** L-propionyl carnitine protects erythrocytes and low density lipoproteins against peroxidation. *Drugs Exp Clin Res*, 20, 191-197, 1994.
 56. **Nikolaos S, George A, Telemachos T, Maria S, Yannis M, Konstantinos M:** Effect of L-carnitine supplementation on red blood cells deformability in hemodialysis patients. *Ren Fail*, 22, 73-80, 2000.
 57. **Matsumoto Y, Amano I, Hirose S, Tsuruta Y, Hara S, Murata M, Imai T:** Effects of L-carnitine supplementation on renal anemia in poor responders to erythropoietin. *Blood Purif*, 19, 24-32, 2001.
 58. **Fernandez A, Verde MT, Gomez J, Gascon M, Ramos JJ:** Changes in prothrombin time, haematology and serum proteins during experimental aflatoxicosis in hens and broiler chickens. *Res Vet Sci*, 58, 119-122, 1995.
 59. **Karaman, M., Basmacıoğlu H., Ortatatlı M., Oğuz H:** Evaluation of the detoxifying effect of yeast glucomannan on aflatoxicosis in broilers as assessed by gross examination and histopathology. *Br Poult Sci*, 46(3): 394–400, 2005.
 60. **Ortatatlı M, Oğuz H, Hatipoğlu F, Karaman M:** Evaluation of pathological changes in broilers during chronic aflatoxin (50 and 100 ppb) and clinoptilolite exposure. *Res Vet Sci*, 78, 61–68, 2005.