

T.C.
MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OKRATOKSİN A’NIN DİABETOJENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ömür ŞENGÜL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Firdes MOR

Bu araştırma Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0276-YL-16 proje numarası ile desteklenmiştir.

BURDUR -2016

BURDUR -2016

KABUL ve ONAY

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

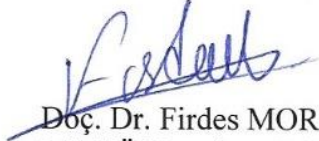
Ömür ŞENGÜL tarafından Doç. **Dr. Firdes Mor** yönetiminde hazırlanan **Okratoksin A'nun Diabetojenik Etkilerinin Araştırılması** başlıklı tez çalışması jüri üyeleri olarak tarafımızdan okunmuş; kapsamı ve niteliği açısından Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi

17 /06/ 2016



Doç. Dr. Asım KART
MAKÜ Veteriner Fakültesi
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı
Jüri Başkanı



Doç. Dr. Firdes MOR
MAKÜ Veteriner Fakültesi
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi



Prof. Dr. Özlem ÖZMEN
MAKÜ Veteriner Fakültesi
Patoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi

ONAY

Bu tez, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu **20.07.2016** Tarih ve **16/20** sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa Doğa TEMİZSOYLU
Müdür
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam sürecince ilgi ve uyarıları ile beni yönlendiren, tezimin oluşturulmasında ve her aşamasında bilgi birikimini, tecrübe ve görüşlerini esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Firdes MOR'a,

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Yönetim birimine, Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Birimi, çalışma materyalinin temininde yardımcı olan Doç. Dr. Mehmet Akif KILIÇ'a, Veteriner Hekim Doğa BESNE'ye,

Bilgi ve tecrübelerini paylaşarak yön veren Sayın Prof. Dr. Bayram Ali YUKARI'ya,

Yüksek lisans eğitimim ve öğretimim boyunca hiçbir zaman desteğini esirgemeyen Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Özlem ÖZMEN'e,

Araştırma sürecinde yardımlarını esirgemeyen Sayın Uzman Biyolog Sinan KAYNAŞ ve Sayın Uzman Biyolog Orhan YAVUZ'a,

Ayrıca yüksek lisans eğitimim sürecinde sonsuz özveri ile her zaman yanımda olan sevgili aileme,

Teşekkürlerimi sunarım.

BEYAN

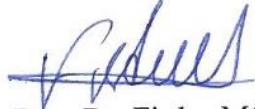
Okratoksin A'nın Diabetojenik Etkilerinin Araştırılması başlıklı tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

17.06/2016

Ömür ŞENGÜL



ONAY



Doç. Dr. Firdes MOR

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	
KABUL ve ONAY	<i>ii</i>
TEŞEKKÜR	<i>iii</i>
BEYAN	<i>iv</i>
İÇİNDEKİLER	<i>v</i>
ŞEKİLLER DİZİNİ	<i>vii</i>
TABLolar DİZİNİ	<i>viii</i>
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	<i>ix</i>
TÜRKÇE ÖZET	<i>xi</i>
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	<i>xii</i>
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Okratoksinler	4
2.1.1. Okratoksin A	4
2.2. OTA'nın Hayvanlarda Emilimi, Organ Dağılımı ve Metabolizması	6
2.3. OTA Toksisitesi	7
2.4. Hayvan Kanındaki OTA Kaynaklı Biyokimyasal Değişimler	8
2.5. OTA'nın Böbrek ve Karaciğerde Kanserojenik Etkisi	11
2.6. OTA'nın Teratojenik ve Mutajenik Etkisi	12
2.7. İmmunosupresyon Etkisi	13
2.8. DNA, Protein ve RNA Üzerindeki Etkileri	13
2.9. Nefrotoksisitesi	14
2.10. Hepatotoksisitesi	15
2.11. Panksreas Metabolizması ve İşlev Bozuklukları	15
2.11.1. Diabetes Mellitus ve Tipleri (Diabetes Mellitus'un Sınıflandırılması)	15
2.11.2. İnsülin ve Diyabet	18
2.11.3. Glukagon ve Diyabet	19

2.11.4. Glikoz ve Diyabet	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1. Deney Hayvanları	21
3.2. Deney Gruplarının Özellikleri ve Okratoksin A Uygulaması	22
3.3. Plazma Örneklerinin Toplanması	22
3.4. Glikoz, İnsülin, Glukagon Hormon Tayini	23
3.5. Verilerin İstatiksel Analizi	23
4. BULGULAR	24
4.1. GOD-POD Enzimatik Kolorimetrik Glikoz Tayini Sonuçları	24
4.2. ELISA (Plazma)-İnsülin ve Glukagon Teşhis Sonuçları	26
5. TARTIŞMA	30
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	36
7. KAYNAKLAR	37
8. ÖZGEÇMİŞ	47

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil numarası ve başlığı

Sayfa

Şekil 2.1. Okratoksin A'nın moleküler yapısı.

5



TABLULAR DİZİNİ

Tablo numarası ve başlığı	Sayfa
Tablo 2.1. Nefropati ve Kan Glikozu Arasındaki İlişki.	8
Tablo 3.1. Deney hayvanı grupları ve beslenme şekli.	22
Tablo 4.1. Farklı sürelerde OTA'lı yemle beslenen sıçanlarda plazma glikoz değerleri.	24
Tablo 4.2. Farklı sürelerde OTA'lı yemle beslenen sıçanlarda plazma insülin değerleri.	26
Tablo 4.3. Farklı sürelerde OTA'lı yemle beslenen sıçanlarda plazma glukagon değerleri.	28

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

µg/ml	Mikrogram/mililitre
A/G	Albümin/globülin oranı
ALP	Alkaleen fosfotaz
ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
BEN	Balkan Endemik Nefropati
BUN	Kan üre azotu
CAT-I	Karnitin Açıl Transferaz I enzimi
DM	Diabetes Mellitus
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
FB1	Fumonisin B1
FB1	Fumonisin B1
GC-MS	Gaz kromatografisi kütle spektrumu
GH	Büyüme Hormonu
GOD-POD	Glikoz oksidaz ve Peroksidaz
HPLC	Yüksek performans sıvı kromatografisi
IDF	Uluslararası Diyabet Federasyonu
IgA	İmmunglobulin A
IgG	İmmunglobulin G
IgM	İmmunglobulin B
mg/dl	Milligram/desilitre
OATP	Organik anyon taşıyıcı protein
OTA	Ochratoksin A
OTB	Ochratoksin B
OTC	Ochratoksin C
P	İstatistiksel anlamlılık
PEPCK	Fosfoenolpirüvat-karboksikinaz
pg/mL	Pikogram/mililitre
Phe	Fenilalanine

Phe-tRNA	Fenilalanin-tRNA kompleksi
ppb	μg çözünen/kg veya lt
ppm	Milyonda bir (Mikro)
sAMP	Siklik adenzin monofosfat
SE	Standart Hata
tRNA	Taşıyıcı RNA
uIU/ml	Mikro internasyonel ünite/mililitre
β	Beta



T.C.
MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Yüksek Lisans Tezi

OKRATOKSİN A’NIN DİABETOJENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ömür ŞENGÜL
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

Tez danışmanı
Doç. Dr. Firdes MOR

BURDUR – 2016

ÖZET

Bu çalışmada, Okratoksin A'nın (OTA), uzun dönemli kullanımının sıçanlardaki diabetojenik etkileri incelenmiş ve hastalık etiyojisindeki rolü araştırılmıştır. Çalışma 42 dişi Wistar ırkı sıçan üzerinde yürütülmüş, 3 farklı deney grubundaki sıçanlara günlük 45µg/sıçan doz hesabı ile 6, 9, 24 hafta boyunca yem ile OTA verilmiştir. Deney ve kontrol grubu kan plazma değerleri ELIZA, Glikoz oksidaz ve Peroksidaz enzimatik kolorimetrik yöntemlerle ölçülmüş, sonuçlar MiniTab istatistik paket programı ile değerlendirilmiştir. Araştırma sonucunda, OTA'nın pankreasta kalıcı hasar oluşturduğu, bunun sonucunda insülin değerlerinde düşme, glikoz ve glukagon değerlerinde ise önemli oranda artış görüldüğü belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Okratoksin A, insülin, glukagon, glikoz, sıçan plazma.

**Mehmet Akif Ersoy University
Institute of Health Science**

Master of Science Thesis

Investigation on Diabetogenic Effects of Ochratoxin A

Ömür ŞENGÜL

Department of Pharmacology and Toxicology

Supervisor

Assoc. Prof. Firdes MOR

BURDUR – 2016

ABSTRACT

In this study, diabetogenic effects of long term Ochratoxin A (OTA) administration in rats were investigated and its role in the etiology of diabetes mellitus was examined. In this study, 42 female Wistar rats were used. These rats were divided into 3 different study groups. Rats in these groups received 45 µg OTA per rat daily in their feed for 6, 9 and 24 weeks, accordingly. Plasma values of study and control groups were determined with ELISA, Glucose oxidase and Peroxidase enzymatic colorimetric methods and the results were evaluated by MiniTab statistical program. OTA was found to cause irreversible pancreatic damage in this study. Consequently, significant decrease in insulin levels and significant increases in glucagon and glucose levels were observed.

Key words: Ochratoxin A, insulin, glucagon, glucose, rat plasma.

1. GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM) dünya çapında yaygın ve epidemik hale gelmiş bir hastalıktır. Yapılan araştırmalara göre, dünyada 2007 yılında 246 milyon insanın diyabetli olduğu ve bu sayının 2025'te 300 milyona ulaşacağı düşünülmektedir (101). Bu hastalığın etiolojisinde rol oynayan birçok faktör bilinmekle birlikte, hastalığın karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasına bağlı bozukluklarla ilişkisi tam olarak ortaya konulmuş değildir (22, 61, 63).

Diabetes mellitus insülin salınımında veya vücutta kullanımında ya da fonksiyonel eksikliğine bağlı olarak gelişen, hiperglisemi ile karakterize kronik, metabolik ve hayatı ciddi derecede tehdit eden önemli bir hastalıktır (22, 61). Hastalığın tanısı ve tedavisi kadar, korunma için etiolojisinde rol oynayan faktörlerin ortaya konulması da önem arz etmektedir (54). İnsülin eksikliğinin yanı sıra insüline karşı gelişen direnç de, DM'un ortaya çıkışında rol oynamakta ve bu durum karbonhidrat, lipit ve protein metabolizmasını da doğrudan etkilemektedir (2, 32).

Diabetes mellitus, gençlerde tip 1, yetişkinlerde tip 2 diyabet olmak üzere, iki farklı klinik seyir göstermektedir. Diyabetli hastaların çoğunluğu tip 2 diyabettir. Gençlerde sık görülen tip 1 diyabetin aksine, toplumun %5-10'unda görülen ve hastaların %80'inden fazlasının 40 yaş üstü olduğu tip 2 diyabette, insülin salgısı normal veya normalden daha fazladır. Bu durumun tersine tip 1 diyabette glikozun organizmaya alınması sonucu artan plazma glikoz düzeyine karşın insülin cevabında yetersizlik olmaktadır (15). Dünyada hasta sayısının her geçen gün artması, şeker hastalığı konusunda yapılan çalışmaların, yeniden gözden geçirilmesini zorunlu kılmaktadır. Son verilere göre [Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) verileri] 11 yetişkinden 1'inde diyabet hastalığı görüldüğü, Ortadoğu ülkelerinde bu oranın %14'lere kadar yükseldiği ve her altı saniyede bir kişinin diyabet hastalığından hayatını kaybettiği açıklanmıştır. Ülkemizde toplam 10.000.000 hasta bulunmakta, bunların 9.500.000'unun Tip 2 diyabet olduğu bildirilmektedir (34).

Bu nedenle günümüzde, diyabet etiyolojisi üzerine yapılan çalışmalara yoğunlaşıldığı gözlenmektedir (45). DM, metabolik hastalıkların heterojen bir grubu olarak değerlendirilmekle birlikte, aynı zamanda kalıtsal, sistemik, sosyal ve ekonomik yönleri de olan bir hastalıktır (10).

Günümüzde, çeşitli küf türleri tarafından üretilen yaklaşık 300 mikotoksin tanımlanmıştır. Bu toksinler, çeşitli küfler tarafından salgılanan ikincil metabolitler olup, insan ve hayvanlarda farklı patolojik ve fizyolojik değişiklikler meydana getirebilmektedir. Farklı hayvan türleri üzerinde yapılan çalışmalar, mikotoksin türlerinin farklı organları etkilediği, bu toksinlerin akut, toksik, mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etkilere, hatta karbonhidrat metabolizmasında da bozukluklara sebep olduğu ve bazılarının bu etkilerin birkaçına birden yol açtığı ortaya konulmuştur (4, 89).

Okratoksin A (OTA), *Penicillium verrucosum* ve *Aspergillus ochraceus* başta olmak üzere, bazı fungus türleri tarafından üretilen bir mikotoksin türü olup, bütün memelilerde ve kümes hayvanlarında akut ve kronik patolojik lezyonlara sebep olabilmektedir. Bu toksinin etkisinin birinci derecede böbrekler üzerine olduğu bilinmekle birlikte, farklı organ ve sistemlere de (karaciğer, sinir sistemi ve immün sistem v.b) zarar verdiği ortaya konulmuştur (42). Ancak OTA'nın pankreas dokusu üzerine etkileri ve diyabetin etiyolojisindeki yeri tam olarak ortaya konulamamıştır. Önceki yıllarda bazı hayvan türleri üzerinde yapılmış bazı çalışmalar bulunmakla birlikte (87-89), OTA'lı yemle beslemiş Wistar ırkı genç dişi sıçanlarda, bu toksinin karbonhidrat metabolizmasına etkisi ve bunun sonucunda DM'a yol açması ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Yapılan sınırlı sayıda çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre, OTA'nın kemiricilerde kanserojenik etki gösterdiği renal neoplazmalara, karsinom ve adenomlara sebep olduğu ve bu oranın da erkek sıçanlarda, dişilere nazaran daha yüksek seviyelerde bulunduğu bildirilmiş olmakla birlikte, (8, 60, 98, 99), birçok besinde bulunan ve doğrudan gıdalarla insana geçebilen OTA'nın DM'un ortaya çıkmasına sebep olan plazma glikoz, insülin ve glukagon değerlerinin değişiminde herhangi bir rolü olup olmadığı bilinmemektedir.

Bu çalışmada, bazı funguslar tarafından üretilen ve çeşitli gıdalarla vucuda alınan nefrotoksik ve kanserojenik bir toksin olan OTA'nın uzun dönemde sıçanlarda diyabetojenik etki oluşturup oluşturmadığının ortaya konulması ve bu toksikasyonun hastalığın etiyolojisinde herhangi bir rolünün bulunup bulunmadığının araştırılması amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Okratoksinler

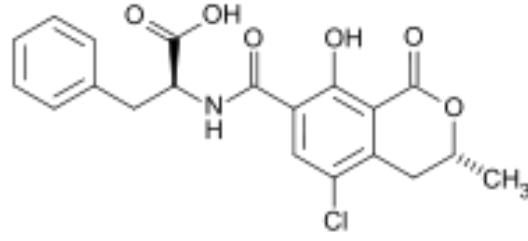
Aspergillus cinsindeki mantarlar genellikle yüksek nem ve sıcaklıklarda, *Penicillium* cinsi mantarlar ise daha düşük sıcaklıklarda (5°C gibi) üreyebilmektedir (40). Okratoksinler (O), başta *Aspergillus ochraceus* ve *Penicillium viridicatum* olmak üzere, iki tür tarafından salgılanan bir mikotoksin grubudur (31, 40). Okratoksinler peptid bağı ile fenilalanine (Phe) bağlanmış ve bir izokumarin yandall taşıyan 403 moleküler ağırlığa sahip olup, (53, 58), Okratoksin A, Okratoksin B (OTB) ve Okratoksin C (OTC) olmak üzere 3 grup olarak değerlendirilmekle birlikte kimyasal yapı bakımından birbirine benzerlik gösterirler (31, 40).

Okratoksin üreten mantarların gıda ve yemler için kontaminasyon kaynağı olduğu bilinmektedir (35, 62, 74). Okratoksin türleri içinde, toksikolojik etkisi en fazla olan OTA'dır (78). OTA'nın, doğal dekloro analogu olan OTB, OTA'dan 10 kat daha az toksik etkilidir (82). OTC'nin OTA'nın etil esteri olup, toksik etkisi de OTA'ya yakındır (24).

2.1.1. Okratoksin A

Okratoksin A; renksiz, kristal yapıda olup, polar organik çözücü ve aynı zamanda organik çözücüler ile seyreltik sulu bikarbonat çözeltisinde de iyi çözünebilen bir bileşiktir (62, 97, 103).

OTA,(R)-N-[(5kloro-3,4-dihidro-8-hidroksi-3-metil-1okzo-1H-2-benzopiran-7-yl)-karbonil]-L-fenilalanin, dihidroizokumarin halkasına amid bağı üzerinden bağlı L-β- fenilalanin moleküllerinden oluşmaktadır (Şekil 2.1.). OTA 12-karboksi grubundan L-fenilalanine bağlanmış bir şekilde olan pentaketit türevi hidroksikumarin yapısındadır (13, 57, 82).



Şekil 2.1. Okratoksin A'nın moleküler yapısı (18).

OTA, yapısal olarak doğal floresans ve optik aktivite göstermektedir. OTA belirleme çalışmaları farklı pH değerlerinde yürütülmüş olup, alkali çözeltide 10 kat daha fazla floresans özellik gösterdiği tespit edilmiştir (21). Yapılan çalışmalarda, OTA'nın termal ve hidrolitik stabilite oluşturabildiği gözlenmektedir (76). OTA'nın karanlık ortamda 4-28°C'de bir hafta saklandığında stabil kalabildiği, on iki haftanın sonunda toksinin %45'in örneklerden geri alınabilecek durumda olduğu belirlenmiştir. OTA ile kontamine ürünlerin 3 saat otoklavlanması, bu toksini tam olarak yok etmeyi sağlayamamıştır. Buna karşılık saf OTA ışığa karşı hassastır (18). OTA gıdalarda, dokularda ve kanda analitik metotlardan başta, ince tabaka kromatografisi olmak üzere, HPLC (yüksek performans sıvı kromatografisi), immunokimyasal yöntemler [Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), gaz kromatografisi kütle spektrumu (GC-MS)] gibi çeşitli yöntemlerle belirlenebilmektedir (23, 76).

OTA, küflerle kontamine olmuş gıdaların tüketilmesi ile insan ve çiftlik hayvanlarına geçebilen karsinojenik, genotoksik, immünotoksik ve nefrotoksik etkisi olduğu iyi bilinen bir mikotoksindir (33, 73, 91).

Okratoksin B; ilk defa 1965 yılında Güney Afrikalı kimya araştırmacıları tarafından tanımlanan, *Aspergillus ochraceus* K-804 suşundan izole edildiği bilinen 7 karboksi grubu üzerinden L-fenilalanine bir amid bağı ile bağlanmış dihidroksikumarin türevi olan sekonder bir metabolittir. OTA ile birlikte oluşabileceği gibi aynı mantarlar tarafından kontamine olmuş gıdalarda da bulunabilmektedir (44). Yapısal olarak OTA'ya çok benzer olmasına karşın daha az toksik ve OTA'ya göre daha hızlı metabolize olduğu rapor edilmiştir (48).

Deneysel olarak OTB verilen sıçanların proximal tubül hücrelerinde mitotik aktivitede (proliferasyon) hafif bir artış gözlenirken, tekrarlayan doz uygulanan hayvanların renal fonksiyonlar ve histopatolojilerinde herhangi bir değişikliğe rastlanılmadığı ve OTB'nin moleküler yapısında 5. pozisyonundaki klor eksikliğinin okratoksinlerin oluşturduğu toksisitede herhangi bir rol oynamadığı, ayrıca OTB'nin daha düşük toksisiteye sahip olmasının toksikokinetiğindeki farklılıktan (hızlı metabolize olması ve atılması) kaynaklanabileceği belirtilmiştir (48).

Okratoksin C; OTA'nın etil esteridir. Gıda ve yemlerde doğal kontaminant olarak nadiren rastlanılmaktadır. Çok yüksek konsantrasyonda OTA içeren yemlerde bulunabilmektedir. İnek ve koyunların işkembe sıvılarının analizlerinde OTA'nın hidrolize olması ile OTC olduğu gözlenmiş, bu durumu geviş getiren hayvanların ön midelerinde bulunan protozoa ve bakteriyel enzimlerin gerçekleştirdiği ifade edilmiştir (26). Hayvansal kaynaklı gıdalarda kalıntı olarak bulunan OTC'nin, insanlarda önemli sağlık problemlerine yol açabileceği belirtilmiştir (24).

Penitrem; Okratoksin türü olmamakla birlikte, *Penicillium* türü mantarlar tarafından hazırlanan bir dizi penitrem A-F isimli tremor yapıcı mikotoksin türüdür. Terreic Acid; Okratoksin türü olmamakla birlikte *Aspergillum terreus* tarafından hazırlanan tremor yapıcı etkili mikotoksin kabul edilmektedir (40).

2.2. OTA'nın Hayvanlarda Emilimi, Organ Dağılımı ve Metabolizması

OTA vücuda giren diğer ksenobiyotikler gibi, biyolojik birikime ve atılıma tabidir. OTA ince bağırsaklar başta olmak üzere, gastrointestinal sistemin üst kısmından emilmektedir (17). Sıçanlarda katı besinlerle alınan OTA'nın yaklaşık %60'ının bağırsaklardan emildiği gösterilmiştir (27). Absorbsiyonu takiben, OTA'nın plazma toksikokinetiği, doz, uygulama şekli, tür, cinsiyet ve yaşa bağlı olarak değişebilmektedir (66, 78, 98, 99). Kana geçen OTA'nın tamamına yakını (%99) serum proteinlerine (özellikle albümin proteinine) bağlanmaktadır (17). Bu yüzden OTA, böbrek yolu (glomerüler filtrasyonla) ile ortamdan kolaylıkla uzaklaştırılmamakta ve plazmada yüksek düzeyde OTA birikimi gerçekleşmektedir. OTA'nın böbreklerle atılımının, proksimal tubül hücresinin bazolateral hücre membranındaki ksenobiyotik taşıyıcılar tarafından gerçekleştirildiği düşünülmektedir

(14). Ayrıca insan ve sıçanlarda yalnızca %0,02'lik kısmı serum albümin bağlanmadan kalabilmektedir. OTA'nın domuz, sıçan, tavuk ve keçilerde en çok böbreklerde birikim yaptığı, daha düşük oranlarda kas ve yağ dokularında da bulunduğu bilinmektedir (76).

OTA'nın bütün nefron segmentlerinden geri emildiği, bu nedenle toksinin böbrek dokusunda biriktiği ve böbrek patolojilerine neden olduğu ifade edilmektedir. Ara taşıyıcıların bu toksini kandan ayırdığı, böylece böbrek ve karaciğerden atılımının sağlandığı düşünülmektedir (38). Toksinin kandan taşıyıcı aracılığı ile ayrılması organizma için toksisite riskini azaltmakta ancak böbrek ve karaciğer gibi atılımın gerçekleştiği organlarda toksisite artışına neden olmaktadır (30). OTA'nın karaciğerden uzaklaştırılmasının, karaciğer hücrelerinin membranında bulunan organik anyon taşıyıcı protein (OATP) sayesinde olduğu öne sürülmüştür (38). Karaciğerde ayrıştırılan toksin, safra yolu ile sindirim sistemine geçmekte ve bu yolla da dışarı atılabilmektedir (78, 96). Ancak safra yolu ile sindirim sistemine geçen OTA'nın bir kısmı enterohepatik yolla tekrar kana dönebilmektedir (78).

2.3. OTA Toksisitesi

OTA, domuz ve sıçan başta olmak üzere bazı memelilerde ve bir kısım kümes hayvanlarında hem akut, hem de kronik lezyonlara sebep olan önemli bir toksindir. Canlılar üzerinde bu toksik etkisinin daha çok böbreklerde şekillendiği bildirilmekle birlikte, birçok çalışmada toksinin farklı organ ve sistemlere de (karaciğer, sinir sistemi ve immün sistem) toksik etki gösterdiği ortaya konulmuştur (25, 42, 73). OTA'nın, akut ve sub-akut toksisitesi birçok farklı mekanizma ile gerçekleşmektedir. Bu etkileri daha çok membran peroksidasyonunu hızlandırması, kalsiyum hemostazını bozması, mitokondrial solunumu engellemesi ve DNA'da hasar oluşturmaya (DNA sentezinin inhibisyonu gibi) ile gerçekleşmektedir (79). Aynı zamanda fenilalanin metabolizmasında bozulma, fosfoenol pirüvat karboksikinas enziminde azalma, karbonhidratlardan yağ üretiminin azalması ve kanın pıhtılaşmasının engellenmesi gibi birçok biyokimyasal bozukluklara da neden olduğu açıklanmıştır (65, 79). Tüm bu bulgulardan dolayı insan, sıçan ve fareler üzerinde yapılan bazı çalışmalarda, OTA toksisitesine, erkeklerin dişilerden daha hassas olduğu belirlenmiş, ancak bu hassasiyetin mekanizması bugüne kadar tam olarak aydınlatılamamıştır (98, 99).

Mor ve arkadaşları tarafından yakın zamanda yapılan bir çalışmada OTA'nın erkek sıçanlarda daha zararlı olmasında, testosteron hormonunun önemli rolünün olduğu ortaya konulmuştur (60). Bu çalışma sonunda, literatürde iddia edildiği gibi, sıçanlarda OTA'nın toksik etkisinin yalnızca böbreklerle sınırlı olmadığı, diğer organlarda da (başta karaciğer ve testis/ovaryum olmak üzere) benzer derecede toksik etki gösterdiği ortaya konulmuştur. Aynı çalışmada dişilerde OTA plazma düzeyi erkeklerden iki kat fazla olmasına rağmen, dişilerin böbrek ve karaciğer lezyon düzeylerinin erkeklerden belirgin bir şekilde düşük olduğu da belirlenmiştir. Dişilerin bu yüksek plazma OTA seviyelerine rağmen organlarındaki lezyonların fazla olmaması, östrojen/testosteron hormonlarının karşılıklı etkileşimlerine bağlı olabileceği düşünülmüştür (43).

2.4. Hayvan Kanındaki OTA Kaynaklı Biyokimyasal Değişimler

Stoev ve arkadaşları'nın 1998 yılında, Bulgaristan'da domuzlarda nefropatinin görülme sıklığıyla ilgili yaptıkları bir çalışmada; nefropati görülme sıklığı ile kan glikoz seviyesi arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar Tablo 2.1.'de verilmiştir (84).

Tablo 2.1. Nefropati ve Kan Glikozu Arasındaki İlişki.

Nefropati Sıklığı	Kan Glikoz Seviyesi
1-2 %	5.58 ± 0.21mmol/l
10-20 %	6.11±0.26 mmol/l
50-60 %	7.02 ±0.26 mmol/l

Bu çalışmada nefropatinin görülme sıklığı arttığında kan glikoz, üre ve kreatin düzeyinin de arttığı rapor edilmiştir. Ayrıca kolesterol ve kırmızı kan hücreleri düzeyi önemli ölçüde azalırken, lökositlerde ise artış gözlenmiştir. Gelişen nefropatinin ilk aşamalarında idrar atılımının da azaldığı ve ilerleyen aşamalarda ise böbrek fonksiyonlarının bozulduğu rapor edilmiştir (84).

Stoev ve arkadaşları'nın 2012'de yaptığı çalışmada; mikotoksinlerin neden olduğu nefropatiyi açıklamak üzere yirmi dört genç domuzu dört gruba ayırarak, her grupta 3 erkek ve 3 dişi domuz olacak şekilde, 3 ay süre ile izledikleri başka bir çalışmada ise, küflü diyetle 3 deney ve bir kontrol grubuna 0,5 ppm OTA, 10 ppm FB1 (Fumonisin B1) ve OTA + FB1 (0,5 ppm + 10 ppm) vermişler ve en belirgin hasarın böbreklerde oluştuğunu, fibrosiz şekillendiği ve proksimal tubüllerde belirgin dejeneratif değişikliklerin meydana geldiğini gözlemişlerdir. Bu hayvanlarda kanda serum kreatin, üre, Aspartat aminotransferaz (AST) ve Alanin aminotransferaz'ın (ALT) arttığı, kolesterol, total protein ve albüminin azaldığı saptanmıştır. Kan glikoz düzeyinin sadece OTA verilen grupta azaldığı tespit edilirken, OTA ve FB1 (0,5 ppm OTA+ 10 ppm FB1) beraber verilen gruptaki değerlerin ise daha düşük olduğu ifade edilmiştir (83).

Stoev ve arkadaşları'nın 2001'de yaptığı çalışmada; 18 domuz üzerinde, Bulgaristan'da yaptıkları başka bir çalışmada ise, saf kontamine diyetle 90, 130 ve 180 ppb (μg çözünen/kg veya lt) arası değişen dozlarda OTA ve penisilik asit verilen, 3 deney ve bir kontrol grubu domuzlarda OTA'nın toksik etkisinin böbrekler üzerine yoğunlaştığı açıklanmış, patolojik etkinin doz ve detaya göre farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Üç ay boyunca 90 ppb ya da 130 ppb OTA'lı diyet ile beslenen domuzların böbrekleri incelendiğinde makroskobik lezyonlar oluştuğu, 180 ppb OTA içeren diyetle beslenen domuzların böbreklerinde ise gri beyaz renkli odakların meydana geldiği gözlenmiştir. Aynı çalışmada 90 ppb ya da 130 ppb OTA içeren diyetle beslenen domuzların böbreklerinin mikroskobik incelemelerinde ise proksimal tübül hücrelerinin bazılarında hafif dejenetarif değişiklikler görülmüştür. Domuzlarda serum kreatinin artmış olduğu, serum protein ve glikoz konsantrasyonlarının ise, bir aylık iyileşme döneminden sonra (OTA ve penisilik asit verilmesi kesildikten sonra) çeşitli dönem sonları itibariyle azaldığı tespit edilirken, ilerleyen zamanlarda artan bir eğilim gösterdiği rapor edilmiştir. Bu durum araştırmacılara böbrekler üzerine olan toksik etkinin devam ettiğini düşündürmüştür. Yine bu hayvanlarda OTA'ya maruz kaldıktan hemen sonra hemoglobin konsantrasyonunun azaldığı, en son OTA ve penisilik asit verildikten sonraki beşinci ayın sonunda kısa bir iyileşme dönemi sonrası tekrar yükseldiği rapor edilmiştir (85).

Pleadin ve arkadaşları'nın Zegers Hibrit tipi sekiz domuz üzerinde yaptıkları başka bir çalışmada ise, domuzlar otuz gün boyunca 300 ppb OTA'ya maruz bırakılmıştır. Çalışma sonucunda glikoz, albümin ve total protein düzeyinin azaldığı, üre, kreatin, potasyum ve alkalen fosfotaz (ALP)'da ise anlamlı bir artış görüldüğü tespit edilmiştir. Bu toksinin, proksimal tübül fonksiyon işlevlerini bozduğu, ilerleyen aşamalarda ise böbrek hasarı meydana getirdiği bildirilmiştir. Bu hayvanlarda glikoz yeterince hidrolize olamadığı için, kas ve karaciğerde glikojen olarak depo edildiği, böylece kan glikoz seviyesinin de azaldığı rapor edilmiştir (75).

Mir ve Dwivedi'nin Hindistan'da Yeni Zelanda ırkı beyaz tavşanları sekiz hafta boyunca 1 ve 2 ppm OTA'lı yemle ile besledikleri başka bir çalışma ise, kan glikoz değerinin üçüncü haftadan sonra azalmaya başladığı, sekizinci haftanın sonunda ise yarı yarıya düştüğü sonucuna varılmıştır. OTA alımından sonra bozulan karbonhidrat metabolizmasıyla beraber glikoz kaybı da meydana geldiği, bu durumun karaciğerde glikojen birikimine yol açtığı belirtilmiştir. OTA verilen gruplarda üre miktarının artması, kreatin ve klorür seviyesinin azalması araştırmacılara nefrotoksiteyi düşündürmüştür. Ayrıca tavşanlarda bu toksinle zehirlenme sonucunda azalmış albümin düzeyleri ile birlikte, serum protein seviyesinin de düştüğü gözlenmiştir. Toksin verildikten sonra proteinüri (idrarda yüksek protein bulunması) tablosu ortaya çıkmıştır. Aynı çalışmada toksinin karaciğer üzerindeki etkileri de incelenmiş ve artan ALP, ALT ve AST değerleri sonucu, karaciğer hasarı geliştiği kanaatine varılmıştır (59).

Daha önceki birçok çalışmada da ortaya çıkan bulgulardan anlaşılacağı gibi, okratoksikozisin domuzlarda ve diğer bazı hayvan türlerinde hipoglisemiye neden olabileceği rapor edilmiştir (77, 84).

Kumar ve arkadaşları'nın 2015 yılında, okratoksinlerin etkilerini incelemek üzere otuz gün boyunca Wistar ırkı sıçanlara yemle OTA, mısır yağı ve Endosulfan vermişler çalışmada; OTA verilen grupta ortalama d-hemoglobin (β -121 Glu-Gln) değerinde ve total serum protein, albümin, globülin ve kalsiyum fosforda azalma, kan glikoz, BUN, kreatin ve karaciğer enzimlerinde (ALT ile AST) artış bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar nefronlarda meydana gelen toksik hasarı, ortaya çıkan albüminüri (idrarda albümin bulunması) ve proteinüri ile açıklamışlardır.

Okratoksikozis sonucu meydana gelen kan glikoz seviyesindeki artışın, sıçan ve domuzlarda birbirine benzer olduğu sonucuna varılmış, bunun karaciğerde glikojen tükenmesi ile oluşabileceği, kan glikoz seviyesindeki yüksekliğin ve gelişen hiperglisemi tablosunun pankreas beta (β) hücrelerindeki azalmakta olan insülin sentezine bağlı oluşabileceği sonucuna varılmıştır (47).

2.5. OTA'nın Böbrek ve Karaciğerde Kanserojenik Etkisi

Okratoksin A'nın 1965'te güçlü bir toksin olduğunun ortaya konması, 1980'lerin sonlarında da kanserojenik özelliğinin keşfedilmesi ve insanlara özellikle de besi hayvanlarına gıda ürünleri ile kolaylıkla ulaşabilmesinden dolayı, bilhassa Avrupa Birliği ülkelerinde OTA konusunda duyarlılık ve farkındalık oluşmuş ve gıdalarda OTA kalıntısı yönünde birçok yasal düzenleme gerçekleştirilmiştir. Bu düzenlemelere, OTA'nın deney hayvanlarında kanserojenik (böbrek tümörü) olduğunun ortaya konması dayanak oluşturmuştur (8, 74). OTA'nın karsinojenik etkisi deney hayvanı türüne, cinsiyet, yaş ve deney hayvanlarına veriliş yoluna bağlı olarak değişebilmektedir (50, 52). Erkek sıçanlara gavaj yolu (bir aparatla toksinin doğrudan bağırsağa verilmesi) ile verildiğinde OTA kaynaklı böbrek tümörü oluşumu %30'un üzerine çıkmaktadır (12). Ancak aynı OTA dozu yem ile verildiğinde bu oran %20'de kalmaktadır (51). Bu çalışmalardan elde edilen veriler, OTA'nın insanlar için risk değerine model teşkil ettiğinden, deneylerdeki OTA uygulamasının veriliş yolu önemlidir. Geçmiş çalışmaların diğer bir probleminin de Fischer ırkı sıçan kullanımı olduğu görülmüştür. OTA uygulaması sonrası, Fischer ırkı sıçanlarda lösemi gözlenmekte ve bundan dolayı sıçanların ölümüne neden olarak olası böbrek tümörü ortaya çıkışını maskeleymektedir. OTA toksikolojisinin ve kanserojenitesinin sıçan ırkı ve türü ile değiştiği ve Fischer ırkı sıçan kullanımından kaynaklı problemlerin aşılabilirdiği, Dark aguati ve Fischer-Sprague Dawley hibrit ırkının kullanımı ile gösterilmiştir (51).

OTA ile kontamine yemlerin tüketimi kemirgenlerde organ lezyonları oluşturmanın yanında, uzun dönemde tümör oluşumuna neden olduğu (35, 62, 74), düşük düzeyde OTA alımının sıçan ve farelerde kansere ve özellikle böbrek tümörlerine yol açtığı ve erkeklerde böbrek tümörü görülme olasılığının, dişilerden daha fazla olduğu ancak bunun sebebinin bilinmediği (8, 12), böbrek tümörlerinin

yanında, OTA'nın sıçan ve farelerde yaş ve cinsiyete bağlı olarak karaciğer kanserlerine de sebep olduğu bildirilmiştir (66).

OTA'nın karaciğer ve böbrekler üzerindeki etkilerinin araştırılması için yirmi dört ay süre ile yapılan bir çalışmada, 50 erkek ve 50 dişi B6C3F1 ırkı fare 3 gruba ayrılmış ve grup 1 kontrol grubu olurken, grup 2'ye 1 ppm ve grup 3'e 40 ppm OTA yemle verilmiştir. Çalışma sonucunda, 40 ppm doz OTA uygulanan gruptaki erkek farelerde renal neoplazmalar, karsinom ve adenomların görülme sıklığının arttığı, nefropati renal tubüler genişleme, tubül epitellerinde yassılaşıma veya hiperplazi ve rejeneratif tubüllerde hücre çoğalması (nefropati) gibi patolojik reaksiyonlar gözlemlendiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada 40 ppm doz OTA uygulanan gruptaki dişi farelerde karsinom ve adenomlara rastlanmadığı, daha az renal değişiklikler gözlemlendiği bildirilmiştir. OTA ile beslenen erkek ve dişi farelerde karaciğerde hücre neoplazmalarının insidansında belirgin miktarda artış tespit edilmiştir (8). Tüm bu bulgulardan dolayı, Uluslararası Kanser Araştırma Enstitüsü tarafından OTA, insanda potansiyel kanserojen madde (Grup 2B) sınıfına dahil edilmiştir (36).

2.6. OTA'nın Teratojenik ve Mutajenik Etkisi

OTA'nın birçok hayvanda teratojen etkili olduğu bilinirken, bu etki hayvan türleri arasında farklılık göstermektedir. Bunun duyarlılık veya kan plesanta bariyerinde oluşan farklılıklardan meydana geldiği düşünülmektedir. Deneysel araştırmalarda OTA verilen sıçan yavruların merkezi sinir sistemi, göz ve iskelet yapısında anomali olduğu rapor edilmiştir (7, 30).

Jong Chun ve arkadaşları'nın 1994 yılında, sıçanlarda gebeliğin yedinci gününde yem ile OTA vererek yaptıkları bir çalışmada; farklı dozlarda OTA I (1mg/kg/gün), OTA II (3mg/kg/gün), OTA III (5mg/kg/gün) verilen gruplarda, tüm embriyolar gebeliğin yirminci gününde sezeryanla alınmış ve gruplardaki anomali bakılmıştır. OTA I grubundaki embriyolarda herhangi bir anomali gözlenmemiş, OTA II grubunda fetal vücut ağırlıklarında azalma, fetal ölümlerde ve fetal anomali sıklığında artış, kemik anomalileri ve belirgin malformasyonlar tespit edilmiştir. OTA III grubunda ise toksik etkilere bağlı fetal ölümler gözlenmiştir. Ortaya çıkan sonuçlara bakıldığında toksik dozlarda verilen OTA'nın embriyotoksik etkileri

olduğu gözlenmiş, gebelikte teratojenik etkinin OTA maruziyetine göre artabileceği açıklanmıştır (37). Başka bir çalışmada gebe farelere OTA uygulandıktan sonra gebeliğin 7. ve 8. günlerde hücre popülasyonunda aşırı hücre ölümünün gözlemlendiği bildirilmiştir (100).

2.7. İmmunosupresyon Etkisi

OTA'nın ng/ml seviyesindeki çok düşük konsantrasyonlarının bile bağışıklık sistemini olumsuz etkilediği ve immün sistemi baskıladığı yapılan çalışmalar ile tespit edilmiştir (71). OTA immunosupresif aktivite gösterip, antikor yanıtlarında değişiklikler oluşturarak timüs, dalak, lenf düğümlerinde fonksiyon bozuklukları ve bağışıklık hücrelerinin fonksiyonlarında azalma ile karakterize immün sistem problemlerine yol açmaktadır. OTA'nın immunotoksik etkisi, muhtemelen protein sentezinin inhibisyonuna neden olmakta ve bağışıklık sistemi hücreleri ile birlikte nekroz, apoptozis, dejeneratif hücre oranında artış ile de son bulmaktadır (3).

Farelerde ve piliçlerde yapılan bazı çalışmalarda ise, bu toksinin immunoglobulin seviyesini de olumsuz etkilediği açıklanmıştır. Chang ve Hamilton, tarafından 1980'de yapılan bir çalışmada kontrol grubu dışında, piliçlere 20 gün boyunca yeme katılarak 0, 0.5 ile 8.0 ug/g arasında değişen miktarlarda verilen OTA'nın lenfoid hücrelerin sayısını azalttığı, serum lenfoid dokularda IgG, (İmmunglobulin G), IgA (İmmunglobulin A) ve IgM'yi (İmmunglobulin M) baskıladığı gözlenmiştir (16).

2.8. DNA, Protein ve RNA Üzerindeki Etkileri

OTA verilen ratlar ile yapılan çalışmalarda dalak, böbrek ve karaciğer hücrelerindeki DNA zincirlerinde kopmalar meydana geldiği bildirilmiştir. Toksinin asıl etkisinin fenilalanin metabolizması üzerine olduğu ve bu durumun fenilalanin tRNA kompleksini (Phe-tRNA) engellemek suretiyle gösterdiği açıklanmıştır. OTA, tRNA (Phe-tRNA) sentetaz tarafından katalizlenen Phe-tRNA aminoaçilasyon reaksiyonunu fenilalanin ile rekabet edecek şekilde inhibe ettiği bildirilmiştir. Protein sentezine ilave olarak DNA ve RNA sentezi de inhibe edilmektedir (9).

2.9. Nefrotoksisitesi

OTA ile ilgili yapılan bazı çalışmalarda, bu toksinin en çok zarar verdiği organın böbrekler olduğu bildirilmiştir (8, 12). Bulgaristan'da domuzlar üzerinde yapılan bazı araştırmalarda bu toksinin nefropati, renal adenom ve karsinom görülme sıklığında artış ile birlikte nefronlarda sıvı elektrolit ve asit baz dengesinin bozulmasına neden olduğuna dair bulgulara rastlanmıştır (84). Kronik olarak OTA'ya uzun süre maruz kalma durumunda, renal kan akışı, glomerüler filtrasyon ile birlikte üre değerinde azalma saptanmış, doz ve maruz kalma süresine bağlı olarak tablo ağırlaşmıştır. Balkan Endemik Nefropati (BEN) olarak bilinen bu hastalıkta, glomerüler filtrasyon hızının azalması, böbrek fonksiyonlarının bozulması ile belirgin anemi ve proteinüri (idrarda protein bulunması) görülmektedir. Ayrıca halsizlik, yorgunluk, baş ağrısı, soluk cilt, iştah ve kilo kaybı da görülmekte, ilerleyen aşamalarda tubuler transport, aralıklı proteinüri ve kan nitrojeninde artış gibi spesifik bulgular da ortaya çıkabilmektedir (29, 92).

Danimarka, Polonya ve Macaristan'da domuzlar üzerinde yapılan bir çalışmada, OTA'nın nefropatilerde önemli rol oynadığı belirlenmiştir. Yemle 0.2, 1 ve 4 ppm miktarlarda karıştırılarak 1 ve 4 ppm dozlarda 3-4 aylık süreler içinde verilen OTA'nın domuzların böbreklerinde renk kaybı, nekrozlar ve proksimal tubül hücrelerinde lezyonlar oluşturduğu gözlenmiştir (73). Yapılan çalışmalarda uygun koşullarda depolanmayan yemlerde OTA kontaminasyonu ve domuzlardaki nefropati görülme sıklığı arasında pozitif bir ilişki olduğu, İtalya'da Alp bölgesinde yapılan bir çalışmada, yüksek miktarda OTA içeren yemle beslenen domuzların böbrek ve mesanelerinde makroskobik ve mikroskobik lezyonlar olduğu bildirilmiştir (72).

Yapılan araştırmalarda (11, 28), böbreğin %25 vasküler içerikten oluştuğu tespit edilmiştir. Mantle ve arkadaşları'nın 2015, yaptıkları bir çalışmada dokuz hafta OTA'lı diyet ile beslenen ratların bir böbreği çıkartılmış, diğer böbreği fizyolojik solüsyonla perfüze edilip cerrahi olarak çıkartıldıktan sonra, perfüze edilen ve edilmeyen her iki böbrekteki OTA miktarını karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada kandaki %25 OTA içeriğinin ($2.01 \pm 0.41 \mu\text{g/mL}$) perfüze edilmeyen böbrekteki OTA değerine ($2.24 \pm 0.61 \mu\text{g/mL}$) çok yakın olduğunu göstermiştir (49).

Isparta yöresinde Özçelik ve arkadaşları'nın 2001'de, sağlıklı bireyler ile farklı böbrek hastalarının kan örneklerinde OTA düzeylerini karşılaştırmışlar ve çalışma sonucunda diyaliz hastalarında OTA değerinin, diğer gruplardakine kıyasla önemli ölçüde artmış olduğunu gözlemişlerdir ($p<0.0001$). Aynı araştırmada mesane kanseri ile böbrek hastalarındaki OTA konsantrasyonu, kontrol grubundakilere oranla daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla, $p=0.002$, $p=0.0002$). Bu araştırmacılar diyaliz hastalarında bulunan yüksek OTA konsantrasyonunu hastaların azalan glomerüler filtrasyon değeri ile açıklamışlar, sonuç olarak uzun süreli OTA'ya maruz kalma durumunda bu toksinin, insan üriner sisteminde ciddi patolojiler oluşturacağı kanaatine varmışlardır (68).

2.10. Hepatotoksitesi

OTA ile yapılan çalışmalarda, bu toksinin karaciğerde apoptozise (hücre ölümü) sebep olduğu anlaşılmıştır (70). Atroski ve arkadaşları'nın 2000 yılında, fareler üzerinde iki hafta boyunca yaptıkları bir çalışmada, iki kez OTA uygulandıktan sonra karaciğer hücrelerinde apoptotik yapılar ile eozinofilik globüller ve karaciğerde hücre ölümüne dair bulgulara rastlamışlardır. Yapılan biyokimyasal ve histolojik çalışmalar sonucunda hücre sel nekrozlara rastlanmadığı, ikinci hafta sonunda ise sentrilobüler nekrozlar olduğu gözlenmiştir (6). OTA'nın sıçanlarda yaptığı değişiklikler ile ilgili yapılan başka bir araştırmada ise, OTA karıştırılan yem ile beslendikten sonra yapılan glikoz tolerans testinde kan glikoz değerlerinin normal sınırlarda olmadığı gözlenmiş, karaciğerde total karbonhidrat, glikojen seviyelerinde ve glikolitik enzimlerin aktivitelerinde düşme saptanırken, glukoneojenik enzim seviyesinde ise yükselme gözlemlendiği bildirilmiştir (86).

2.11. Pankreas Metabolizması ve İşlev Bozuklukları

2.11.1. Diabetes Mellitus ve Tipleri (Diabetes Mellitus'un Sınıflandırılması)

Diabetes mellitus karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasının bozulması sonucu ortaya çıkan heterojen bir metabolizma bozukluğudur. İnsülin salınımının yeterli olamaması veya insülin direncinin (insülinin hücreler tarafından kullanılamaması)' gelişmesine bağlıdır (22, 55, 61). Günümüzde, DM ile aynı risk faktörlerini paylaşan diğer bazı kronik hastalıklar da söz konusudur. Toplumda

beslenme şekli ve hareketsizlik gibi yaşam tarzlarındaki değişimler, özellikle tip 2 diyabet prevalansını hızla yükseltmektedir. Gelişmekte olan toplumlar ve bu ülkelerden gelişmiş ülkelere göç eden insanlarda diyabet epidemisinde sıklıkla bahsedilmektedir. Yine diyabetin nedenleri arasında nüfus artışı, yaşlanma ve kentleşmenin getirdiği yaşam tarzındaki değişimlere bağlı obezite sayılabilir (80, 105). Obezitenin derecesi ve prevalansı ırklar arasında da değişiklik gösterebilmektedir (41).

Klinik olarak diyabet; Tip 1 ve Tip 2 diyabet olmak üzere 2 farklı seyir göstermektedir. Tip 1 DM olgularının %90'dan fazlasının immun kaynaklı olduğu bilinirken, kalan %10' luk dilimin nedeni henüz tam olarak bilinmemektedir. Geçmişte "insüline bağımlı diyabet", "juvenil diyabet", "çocukluk çağına başlayan diyabet" veya "tip I diyabet" olarak da adlandırılan bu formda insülin yapımından sorumlu pankreas β hücrelerinin çoğunlukla otoimmun kaynaklı harabiyetine bağlı olarak mutlak insülin eksikliği tablosu ortaya çıkmaktadır. Diyabet hastalarının %5-10'unun tip 1 diyabetli olduğu bilinmektedir (93,102). İmmun kaynaklı tip1 Diabetes mellitus olarak bilinen bu form en çok İskandinav ve Kuzey Avrupa ülkelerinde görülmektedir. Hastalık yatkınlığının yaklaşık üçte birinin genlere bağlı olduğu, kalan üçte ikisinin de çevresel faktörler aracılığıyla oluştuğu bilinmektedir (56).

Tip 1 DM özellikle β -hücre yıkımına bağlı olan bir formudur. Pankreas β hücrelerinin yıkım hızı kişiden kişiye değişmektedir. Çocuk ve gençlerde yıkım hızlı olurken, erişkinlerde ise bu süreç daha yavaş olmaktadır. Bu kişiler hastalık belirgin hale gelmeden önce metabolik açıdan normaldirler. Bazılarında hafif düzeyde açlık hiperglisemisi tablosu ortaya çıkmakta bu durum ilerleyen aşamalarda hızlı bir şekilde hiperglisemiye ve ketoasidoza yol açmaktadır. Erişkinlerde ise rezidüel β -hücre fonksiyonlarının varlığı ile hastalığın belirgin hale gelmesi uzun zaman alabilmektedir (39). Bunun sonucu olarak kan dolaşımında ya insülin bulunmamakta ya da çok azalmakta olup, bu olay katabolik bir süreç ile birlikte oluşmaktadır. DM'ta plazma glukagon düzeyi yüksek olduğundan, pankreastaki β hücrelerinin yanıtında insülinojenik uyarılara karşı yetersizlik oluşmaktadır. Bu bireyler diyabetin tespitinde sonra bir kaç yıl daha insülin tedavisine ihtiyaç duymadan yaşamlarını idame ettirebilmektedirler. Daha sonra katabolik durumu geriye döndürmek,

ketoasidozu önlemek, hiperglukagonemiye azaltmak ve kan glikozunun düşmesini sağlamak için dışarıdan insülin takviyesine ihtiyaç duyulmaktadır (41).

Tip 2 Diabetes mellitus: “insüline bağımlı olmayan diyabet”, “erişkin diyabet veya tip II diyabet” olarak da isimlendirilen bu form, tüm dünyada tanı konulan diyabet vakalarının %90’dan fazlasını oluşturmaktadır (93, 102). Hastalığın bu formu normalde yetişkinlerde görülürken, günümüzde çocuk ve adölesanlarda da görülmeye başlamıştır. Hastalığın ortaya çıkışında genetik ve çevresel faktörlerin yanı sıra insülin direnci ve β hücre kaybı gibi sebepler öne çıkmaktadır. Diyabet sürecinin erken döneminde, pankreas β hücre hiperplazisi ortaya çıkmakta, abartılmış insülin ve proinsülin yanıtları şekillenmektedir. Langerhans adacıklarının kronik amiloid birikimi ile birlikte kalıtsal genetik defektler, β hücre işlevini bozacak şekilde ilerlemektedir (56).

Tip 2 diyabet, genellikle subklinik, klinik belirti vermediği ve hiperglisemi tablosu da kademeli olarak ortaya çıktığı için, teşhisi zor olmaktadır. Ancak bu kişilerde insülin düzeyi normal veya yüksek olmasına rağmen, kan şekeri seviyesi normal sınırlarda tutulamamaktadır. İnsülin resistansı denilen bu durum, diyet ve ilaçlar ile düzenlenebilmekte, böylece kan şekeri normal düzeylere gelebilmektedir. Tip 2 diyabet; yaşlılarda, obezite durumunda geçmişte aile hikayesi mevcudiyetinde, hipertansiyon ve gestasyonel diyabeti (hamilelikte diyabet) olanlarda daha sık görülmektedir. Hastalık bazı ırklarda (Kızıldereliler, Hawaii, Asya-Hindular ve Afrika kökenli Amerikalılar vb) Avrupa kökenlilere nazaran daha erken yaşlarda ortaya çıkabilmektedir (39).

Tip 2 diyabet, insülin sekresyonu veya insülinin hücelere girişindeki bozukluklar sonucu ortaya çıkmakta, bu da kan glikoz değerinin yükselmesine yol açmakta, devamında ise hiperglisemi şekillenmektedir (5, 64). Hastalarda hiperglisemiye bağlı olarak ağız kuruluğu, çok su içme, sık idrara çıkma, yorgunluk ve uyku hali görülmekte, bu kişiler nörolojik ve kardivasküler komplikasyonlarla birlikte doktora başvurumaktadırlar. Hastalarda kronik cilt enfeksiyonları yaygın görülmekte, kadınlarda kaşıntı ve vajinit başlangıç belirtileri arasında sayılmaktadır. Laboratuvar bulgularında idrarda glikozüri (idrarda glikoz) ve ketonüri (idrarda keton) görülürken, açlık ve tokluk kan şekerinde yükselmeler meydana gelmektedir (56).

Diyabet kardiyovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü olmasının yanında, metabolik sendromlarla ilişkilendirilmesi açısından da önem taşımaktadır (5). DM'ta zaman içinde mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar gelişmekte, Tip 2 diyabet prevalansı arttıkça komplikasyonlara bağlı morbidite ve mortalite oranları da artmaktadır. Diyabetin en önemli komplikasyonlarından olan arterosklerotik kardiyovasküler hastalıklar, özellikle koroner kalp yetmezliği, tip 2 diyabetlilerin önde gelen ölüm nedeni olduğu ve dünyada ölümlerin %34'ünden sorumlu olduğu ifade edilmektedir (20, 39).

2.11.2. İnsülin ve Diyabet

İnsülin, pankreastaki Langerhans adacıklarının β -hücreleri tarafından üretilen polipeptit yapıda 6000 dalton molekül ağırlığında bir hormon olup, iki disilfülfür köprüsü ile bağlı iki aminoasit zincirinden oluşmaktadır. β hücreleri pankreas kütesinin yaklaşık %1'ini oluşturmaktadır. İnsülin, dokular tarafından enerji kullanımında etkili ve enerji homeostazisini sürdüren en önemli hormonlardan biridir. İnsülin anabolik etkili olmakla birlikte; glikojen, triaçilgliserol ve protein sentezini uyardığı gibi, birçok membran enzimini de aktive ya da inaktive edebilmektedir. İnsülinin birçok protein ve mRNA'nın sentez veya yıkım hızını değiştirdiği, hücre büyüme ve farklılaşmasını da etkilediği bilinmektedir. İnsülinin glikoz metabolizması üzerine etkileri; karaciğer, kas ve yağ dokusu olmak üzere, üç dokuda belirginleşmektedir. Bu hormon karaciğerde glukoneogenezis sonucu glikojen sentezini artırmakta, glikojen yıkımını inhibe etmekte ve böylece glikoz sentezini azaltmaktadır. İnsülin seviyesi düştüğünde ise karaciğer, glukoneogenezis ve glikojenoliz yoluyla dolaşıma glikoz salmakta ve dokulara enerji sağlamaktadır. İnsülin seviyesi yükseldiğinde ise karaciğerde glikoz glikojene çevrilmekte ve depo edilmektedir (39). İnsülin aynı zamanda kas ve yağ dokusunda hücre membranlarındaki glikoz taşınmasını ve glikoz kullanımını da artırdığı ifade edilmektedir (41).

2.11.3. Glukagon ve Diyabet

Glukagon, tek zincir halinde dizilmiş 29 aminoasidden oluşan küçük molüküllü bir polipeptiddir. Molekül ağırlığı 3500 dalton olup, pankreas (Langerhans adacıklarının α alfa) hücreleri tarafından sentez edilerek salgılanmaktadır. Plazmadaki pankreatik glukagon konsantrasyonunun 100-250 pg/ml arasında değiştiği, pankreasta bu bezin yaş ağırlığının gramı başına 5-10 μ g glukagon bulunduğu bilinmektedir. Açlık ve hipoglisemi halinde glukagon salgılanması artarken, plazmadaki glikoz düzeyinin yükselmesi durumunda ise inhibe edilmektedir (41).

Glukagon, kan glikoz düzeyinin normal seviyede tutulmasını sağlamaktadır. Kan glikoz düzeyinin düşmesiyle uyarılan glukagon, kan şekerini hızla arttırıp, insülin etkisine zıt tepki göstermektedir. Glukagonun primer hedefi karaciğer olup, ilk etkisini karaciğerde c-AMP seviyesini artırarak göstermektedir. Hipoglisemi durumunda glukagon artarken, insülin salgısı azalmaktadır. Diğer yandan Epinefrin büyüme hormonu (GH) ve kortizol gibi stress hormonları, glukagon salgısını direkt olarak arttırdıkları bilinirken, vazopressin ve β -endorfinin ise glukagon salgısını dolaylı uyarmaktadır.

Karbonhidrat metabolizmasının temelini glikogenezis oluşturmaktadır. Glikogenez; glikozdan glikojen sentezlenerek depo edilmesi veya glikoz moleküllerinin mevcut glikojen moleküllerine eklenerek zincir oluşturulması olayıdır. Glikojenoliz ise glikojenin glikoza parçalanmasıdır. Glikoliz; glikozun önce anaerobik koşullarda glikojene daha sonra da pirüvik asit ve laktik aside kadar parçalanması olayıdır. Glikoneogenez; karbonhidrat olmayan maddelerden glikoz sentezlenmesi olayıdır (39).

Glukagon, hücre yüzeyindeki spesifik reseptörlerine bağlanarak etkisini göstermekte ve karaciğerde hem glikoliz hem de glikoneogenezisi uyararak glikoz yapımını artırmaktadır. Glukagon hormonu kan şekerini yükseltici etkisini, fosforilaz enzimini uyararak ve glikojenin glikoza dönüşmesini hızlandırmak suretiyle gerçekleştirmektedir. Bu nedenle insülin salınımının aksine glukagon salınımı açlık sırasında artmakta, glikozun yükselmesi durumunda ise baskılanmaktadır. İnsülin ve glukagonun zıt işleyişi kan glikoz düzeylerinin dar bir alanda tutulmasını

sağlamaktadır (toklukta 120 mg/dL, açlıkta 60 mg/dL) (39). Diğer yandan glukagonun lipojenezi inhibe edip, ketojenezi artırdığı da bilinmektedir. Glikolizin inhibe edilmesi asetil-CoA yapımını da inhibe edeceğinden, yağ asitlerinin özellikle de keton cisimlerinin yıkımı da artmaktadır. Yağ asitlerinin sitoplazmadan mitokondriye transferinde önemli bir enzim olan Karnitin Açıl Transferaz- I enzimi (CAT-I) yüksek glukagon ile uyarılmakta ve böylece mitokondriyal yağ asidi metabolizması da hızlanmaktadır (19).

2.11.4. Glikoz ve Diyabet

Metabolizmanın en önemli enerji kaynağı glikoz olup, tüm hücreler enerji için gerekli glikozu kandan sağlamaktadırlar. Glikozun kullanılabilmesi için hücre içine girmesi gerekmektedir. Glikozun hücre içine girmesi birçok dokuda insülin hormonu kontrolü altında meydana gelmekte ve glikoz hücreye aktif transportla girmektedir. İnsülin plazma glikoz düzeyini düşürmesi; kas ve adipoz dokuya glikoz girişini artırarak ve hepatik glikojen yıkımı ile birlikte glukoneogenezisi inhibe ederek gerçekleşmektedir. Böylece insülin, kan şekerinin yükselmesini önlemektedir (39). Glikozun, enerji olarak kullanımı dışında birçok maddenin yapısına da katıldığı bilinmektedir. Kan glikozu başlıca, laktoz, glikozaminoglikan, glikoprotein, glikolipit, glukuronat ve pentoz sentezlerinde kullanılmaktadır (69). Kan glikozu aynı zamanda glikojenez için de kullanılmaktadır. Glikoz düzeyi 5 mmol/L yi aştığı zaman glukokinaz aktive olurken, karaciğerde glikoz-6-fosfat oluşumu eş zamanlı olarak artmaktadır. Kandaki glikozun kaslara veya karaciğerdeki depolara girişini insülinin kolaylaştırdığı bilinmektedir. Yükselen insülin, glikojen sentezini hızlandırıp, lipogenez için gerekli gliserol ve yağ asitlerini glikozdan sentezlemektedir. İnsülinin yetersiz salgılandığı durumlarda kan glikozu vücut dokuları tarafından kullanılamamakta, böylece kan glikoz düzeyi de yükselmektedir (94). İnsanlarda kan glikoz düzeyi normalde 70-100 mg/dl'arasında değişmekte ve bu değerlerin aşılması durumunda diyabete yatkınlık (94), bu değerlerin 170-180 mg'ı aşması durumunda ise diyabet tablosu ortaya çıkmakta, bu durumda glikoz idrarla atılmakta ve bu olay glikozüri olarak adlandırılmaktadır (69).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışma daha önce Akdeniz Üniversitesi tarafından desteklenen 2012.01.0115.005 nolu ve “Wistar ırkı dişi sıçanlarda Okratoksin A toksikodinamiğinin östrojen ve testoron hormonu ile ilişkisinin araştırılması” isimli projenin plazma örneklerinden yapılmıştır.

Bu çalışmada Okratoksin A'nın (OTA), uzun dönemli kullanımında, Wistar ırkı sıçanlardaki diabetojenik etkilerinin incelenmesi amacı ile yürütülmüş olup, ayrıca bu toksinin hastalık etiyojisindeki rolü de araştırılmıştır.

Çalışmada kullanılan 16 haftalık, yaklaşık 4 aylık 42 dişi sıçan, Akdeniz Üniversitesi, Deney Hayvanları Yetiştirme ve Bakım Ünitesinden temin edilmiştir. Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi, Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulundan 12.12.2011 tarih ve 2011.12.02 protokol numarası ile onay almıştır.

Deneye dahil edilen sıçanlar, Akdeniz Üniversitesi, Deney Hayvanları Yetiştirme ve Bakım Ünitesinin temin ettiği ve sıçanların sağlık ve ferahı için optimize edilmiş oda şartlarında tutulmuştur. Dişi sıçanlar 4 veya 5'erli gruplar halinde kafeslerine yerleştirilmiş ve toz haline getirilmiş standart sıçan yemi ile beslenmiştir. Sıçanların su ihtiyacı musluk suyu ile karşılanmıştır. Sıçanların altlıkları ünitenin yetkili kişileri tarafından haftalık olarak değiştirilmiş ve sıçanların sağlık ve ferahları da günlük olarak ünitenin sorumlu Veteriner Hekimi tarafından periyodik olarak kontrol edilmiştir.

3.2. Deney Gruplarının Özellikleri ve Okratoksin A Uygulaması

Çalışmada kullanılan deney hayvanlarının gruplandırılması, grup sayısı, beslenme şekli ve süreleri Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Deney hayvanı grupları ve beslenme şekli.

Grup No	Grup Adı	Sıçan sayısı	Beslenme şekli ve süreleri
G-I	OTA verilen	7	6 hafta boyunca OTA'lı yem ile beslenmiştir.
	Kontrol grubu	7	6 hafta boyunca normal yem ile beslenmiştir.
G-II	OTA verilen	7	9 hafta boyunca OTA'lı yem ile beslenmiştir.
	Kontrol grubu	7	9 hafta boyunca normal yem ile beslenmiştir.
G-III	OTA verilen	7	24 hafta boyunca OTA'lı yem ile beslenmiştir.
	Kontrol grubu	7	24 hafta boyunca normal yem ile beslenmiştir.

Besleme işlemi günlük olarak gerçekleştirilmiş ve her sıçan başına yaklaşık 20 gr yem kafeslerin yanlarına yerleştirilmiş olan metal yemliklere konmuştur. OTA uygulaması da toz yemlere toksinin 5 mg/kg olacak şekilde eklenmesi ile gerçekleştirilmiştir. Bir dişinin günlük tükettiği yem ortalama 15 gr olarak hesaplanmış, her bir sıçanın günlük almış olduğu OTA dozu 45 µg/sıçan şeklinde gerçekleşmiştir.

3.3. Plazma Örneklerinin Toplanması

Deney hayvanı sıçanların kuyruklarından kan örnekleri (yaklaşık 1,5 ml) deney süresi boyunca haftada bir kez olmak üzere, heparinlenmiş kanül yardımı ile alınmıştır. Hayvanlara kan alımı öncesi eter ile kısa süreli anestezi uygulanmış,

alınan kan örnekleri hemen santrifügasyona (10.000 rpm, 1 dakika) tabi tutularak plazmaları ayrıştırılmış ve örnekler analiz yapılmıncaya kadar -40 °C'de saklanmıştır.

3.4. Glikoz, İnsülin ve Glukagon Hormon Tayini

Sıçanlardan elde edilen plazma örneklerinden insülin ve glukagon miktar tayini ELISA temelli insülin ve glukagon Tayin Kiti (Sigma- Aldrich Chemie GmbH, St.Louis, Insulin Catalog Number Rab 3050, Glucagon Catalog Number Rab 0202, St. Louis, USA) kullanılarak yapılmıştır. Okumalar BioTek Epoch mikropilaka spektrofotometresinde gerçekleştirilmiş ve sonuçlar insülin $\mu\text{U/mL}$, glukagon için pg/mL ve glikoz mg/dl olarak kaydedilmiştir.

Örnekler, insülin ve glukagon standartları kit protokolünde belirtildiği gibi hazırlanmış ve 450 nm'de okuma gerçekleştirilmiştir. İnsülin analizleri için standart eğri aralığı; 4.69 – 300 $\mu\text{IU/mL}$, glukagon analizleri için ise standart eğri aralığı 0.1 – 1000 pg/mL 'dir.

Plazma glikoz ölçümleri GOD-POD (Glikoz oksidaz ve Peroksidaz) enzimatik kolorimetrik metod ile Gesan Chem 200 SN: 1102422 nolu otoanalizörü ile çalışılmıştır.

3.5. Verilerin İstatiksel Analizi

İncelenen verilerin istatistiki olarak karşılaştırılmasında MiniTab (2011) istatistik paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Grup dağılımları One-way ANOVA analizi ile yapılmış; gruplar arası önem düzeyleri ise tek yönlü varyans analizi ile iki örnek t testiyle değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmada kullanılan önce 3 gruba daha sonra da kendi içinde deney ve kontrol grubu olarak 2'ye ayrılan 42 dişi sıçan 6, 9 ve 24 hafta süresince OTA içeren yem ile beslenmiş, sıçanların plazma OTA seviyeleri sırasıyla 12.50, 13.46 ve 12.21 µg/ml bulunmuştur. Bu sonuçlarla ilgili verilerin glikoz değerleri Tablo 4.1.'de, insülin değerleri Tablo 4.2.'de ve glukagon değerleri Tablo 4. 3.'de verilmiştir.

4.1. GOD-POD Enzimatik Kolorimetrik Glikoz Tayini Sonuçları

Tablo 4.1. Farklı sürelerde OTA'lı yemle beslenen sıçanlarda plazma glikoz değerleri.

Grup No	Grup Adı	Birey sayısı (n)	Minimum Değerleri (mg/dl)	Maksimum Değerleri (mg/dl)	Glikoz Değerleri (mg/dl) (ortalama ±SE)	P Değeri
G-I	Deney-OTA-6 hafta	7	164.00	230.00	194.00 ±8.30	0.009 **
	Kontrol	7	156.00	174.00	162.40±3.20	
G-II	Deney-OTA-9 hafta	7	192.00	352.00	234.30±21.00	0.048 *
	Kontrol	7	162.00	204.00	181.20±6.90	
G-III	Deney-OTA-24 hafta	7	182.00	232.00	205.60±8.00	0.007 **
	Kontrol	7	162.00	180.00	173.20±3.10	

*: P < 0.05, **: P < 0.01, ***: P < 0.001

Deney ve kontrol grubu haftaları (P) Ortalama \pm SE (Ortalama \pm Standart Hata) olarak gösterilmiştir.

Tablo 4.1.'de görüleceği üzere OTA'lı yemle beslenme süresine göre glikoz değerlerinde farklılık olduğu ve 6 hafta süreyle beslenen grupta, kontrol grubuna göre glikoz değerlerinde artış görüldüğü, en yüksek değer 9 hafta süreyle beslenen grupta bulunduğu, daha uzun süre (24 hafta) OTA'lı yemle beslenen grupta bu değer artmadığı görülmektedir. G-1 grubunda 6 hafta boyunca OTA verilen 7 sıçanın glikoz değerleri (minimum ve maksimum) 164 ile 230 arasında değişmiş, kontrol grubunda ise bu değerler 156, 174 olarak gerçekleşmiştir. G-1 grubunda 6 hafta OTA verilen deney grubu ile kontrol grupları arasında glikoz değerleri açısından istatistiksel olarak önemli farklılık bulunmuştur ($p < 0.01$).

G II grubunda 9 hafta boyunca OTA verilen 7 sıçanın glikoz değerleri (minimum ve maksimum) ise 192 - 352 arasında değişmiş, kontrol grubunda ise bu değerler 162-204 olarak gerçekleşmiştir. G-II grubunda 9 hafta OTA verilen deney grubu ile kontrol grupları arasında glikoz değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0.05$).

G III grubunda 24 hafta boyunca OTA verilen 7 sıçanın glikoz değerleri (minimum ve maksimum) 182-232 arasında değişmiş, kontrol grubunda ise bu değerler 162- 180 olarak gerçekleşmiştir. G-III grubunda 24 hafta OTA verilen deney grubu ile kontrol grupları arasında glikoz değerleri açısından istatistiksel olarak önemli farklılık bulunmuştur ($p < 0.01$).

4.2. ELISA (Plazma)-İnsülin ve Glukagon Teşhis Sonuçları

Tablo 4.2. Farklı sürelerde OTA'lı yemle beslenen sıçanlarda plazma insülin değerleri.

Grup No	Grup Adı	Birey sayısı (n)	Minimum Değerleri (uIU/ml)	Maksimum Değerleri (uIU/ml)	İnsülin Değerleri (uIU/ml) (Ortalama± SE)	P Değeri
G-I	Deney-OTA-6 hafta	7	20.00	24.79	22.80 ± 0.50	0.000***
	Kontrol	7	26.20	31.55	28.07 ± 0.81	
G-II	Deney-OTA-9 hafta	7	20.56	27.32	23.24 ± 0.68	0.010*
	Kontrol	7	27.32	45.35	33.28 ± 2.60	
G-III	Deney-OTA -24hafta	7	22.25	29.58	25.23 ± 0.90	0.003**
	Kontrol	7	29.01	58.36	39.70 ± 3.40	

*: P < 0.05, **: P < 0.01, ***: P < 0.001

Tablo 4.2.'de görüleceği üzere OTA'lı yemle beslenme süresine göre insülin değerlerinde farklılık bulunduğu ve 6 hafta süreyle beslenen sıçanlarda insülin değerlerinin kontrol grubuna göre düştüğü, 9 haftalıklarda bu değerlerin düşmeye devam ettiği, insülin değerinde en çok azalmanın 24 haftalık deney grubunda bulunduğu belirlenmiştir. G-1 grubunda 6 hafta boyunca OTA verilen 7 sıçanın insülin değerleri (minimum ve maksimum) 20 ile 24.79 arasında değişmiş, kontrol grubunda ise bu değerler 26.20 ile 31.55 olarak gerçekleştirilmiştir. G-1 grubunda 6 hafta OTA verilen deney grubu ile kontrol grupları arasında insülin değerleri açısından istatistiksel olarak önemli farklılık bulunmuştur ($p<0.001$).

G II grubunda 9 hafta boyunca OTA verilen 7 sıçanın insülin (minimum ve maksimum) değerleri 20.56 – 27.32 arasında değişmiş, kontrol grubunda ise bu değerler 27.32 - 45.35 olarak gerçekleşmiştir. G-II grubunda 9 hafta OTA verilen deney grubu ile kontrol grupları arasında insülin değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0.05$).

G III grubunda 24 hafta boyunca OTA verilen 7 sıçanın insülin değerleri (minimum ve maksimum) 22.25 ile 29.58 arasında değişmiş, kontrol grubunda ise bu değerler 29.01- 58.36 olarak gerçekleşmektedir. G-III grubunda yer alan ve 24 hafta OTA verilen deney grubu ile kontrol grupları arasında insülin değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.01$).

Tablo 4.3. Farklı sürelerde OTA'lı yemle beslenen sıçanlarda plazma glukagon değerleri.

Grup No	Grup Adı	Birey sayısı (n)	Minimum Değerleri (pg/mL)	Maksimum Değerleri (pg/mL)	Glukagon Değerleri (pg/mL) Ortalama ± SE	P Değeri
G-I	Deney-OTA-6 hafta	7	158.80	403.56	269.10±38.00	0.008 **
	Kontrol	7	68.40	162.40	122.80±18.00	
G-II	Deney-OTA-9 hafta	7	83.96	681.04	317.00±73.00	0.035*
	Kontrol	7	74.92	233.76	129.80±24.00	
G-III	Deney-OTA-24 hafta	7	203.92	936.48	559.00 ±104.00	0.004 **
	Kontrol	7	40.52	194.84	109.60±23.00	

*: P < 0.05, **: P < 0.01, ***: P < 0.001

Tablo 4.3.'te görüleceği üzere G-1 grubunda OTA'lı yemle beslenme süresine göre glukagon değerlerinde farklılık olduğu, 6 hafta süreyle beslenen sıçanlarda glukagon değerlerinin kontrol grubuna göre artmaya başladığı, 9 hafta süreyle beslenen grupta bu artışın devam ettiği, glukagon değerlerinde en çok artışın ise 24 haftalık deney grubunda bulunduğu saptanmıştır.

G I grubunda 6 hafta boyunca OTA verilen 7 sıçanın glukagon değerleri (minimum ve maksimum) ise 158.80- 403.56 arasında değişmiş, kontrol grubunda ise bu değerler 68.40 - 162.40 olarak gerçekleştirilmiştir. G-1 grubunda yer alan ve 6 hafta OTA verilen deney grubu ile kontrol grupları arasında glukagon değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (p<0.01).

G II grubunda 9 hafta boyunca OTA verilen 7 sıçanın glukagon (minimum ve maksimum) 83.96-681.04 arasında değişmiş, kontrol grubunda ise bu değerler 74.92 ve 233.76 olarak gerçekleşmiştir. G-II'de yer alan 9 hafta OTA verilen glukagon deney grubu ile kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0.05$).

G III grubunda yer alan ve 24 hafta boyunca OTA verilen 7 sıçanın glukagon değerleri (minimum ve maksimum) 203.92 ile 936.48 arasında değişmiş, kontrol grubunda ise bu değerler 40.52 ile 194.84 olarak gerçekleşmiştir. G-III grubunda 24 hafta OTA verilen deney grubu ile kontrol grupları arasında glukagon değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0.01$).

5. TARTIŞMA

İnsanlar için en önemli enerji kaynağı karbonhidratlar olup, bu nedenle alınan besin maddelerinin %60'ını karbonhidratlar oluşturmaktadır. Sindirim ağızda başlamakta midede tamamlanmakta emilim ise büyük oranda ince bağırsaklarda gerçekleşmekte ve kalın bağırsaklarda sonlanmaktadır. Karbonhidratların sindirimi ve emilimi de benzer şekilde gerçekleşmekte ve bu durum karbonhidrat metabolizmasını oluşturmaktadır.

Diabetes mellitus organizmanın karbonhidratı ve parçalanma ürünlerini kullanma yeteneğinin azalması ile karakterize olan bir çeşit metabolizma hastalığıdır (39). Özellikle Tip 2 diyabet, pre-diyabetin patogenezi ikincil hiperinsülinemiye rağmen anormal kan glikoz düzeylerine neden olan göreceli insülin yetersizliği ve doku insülin direnci ile ilişkilendirilmektedir (1).

Önemli bir mikotoksin türü olan OTA tarım ürünleri ve yemlerde sık karşılaşılan zehirlenmelere sebep olmaktadır. Bu mikotoksinin glikoz ve insülin metabolizmasını etkilediği ve karaciğerde glikojen birikmesine yol açtığı, son olarak da sAMP (Siklik adenosin monofosfat) bağımlı protein kinaz ve böbrekte glikojen sentezi için anahtar niteliğinde bir enzim olan fosfoenolpiruvat karboksikinazın etkinliğini engellediği açıklanmıştır (40).

Bu çalışmada son dönemlerde önemi artmış olan OTA'nın dişi ratlarda karbonhidrat metabolizmasına olası etkileri araştırılmış, glikoz, insülin ve glukagon parametreleri ile bunların birbiriyle olan ilişkileri değerlendirilmiş ve elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır. Bu toksinin insan ve hayvanlarda diyabetojenik etkileri üzerinde yapılan çalışma sayısı sınırlıdır. Bu sebeple yaptığımız araştırma ile bu konuya ışık tutulacağı düşünülmüştür.

Diğer bir çalışmada ise, Wistar ırkı ratlara 24 hafta boyunca intraperitoneal 0,2 mg/rat ve yemle 50 µg seviyesinde olacak şekilde 30-180 dakika arasında farklı sürelerde Terreik Asit (mikotoksin kabul edilen madde) verilmiştir. Çalışma sonucunda, intraperitoneal verilen ratlarda ilk 30 dakikada glikoz değerlerinin kontrol grubundakilere oranla daha yüksek olduğu, kontamine diyet ile beslenen ratlarda glikoz düzeyinin toksin enjekte edilen gruba göre daha düşük çıktığı ve

toksin enjekte edilen grubun en yüksek değerinin 91.9 ± 3.9^a ($p < 0.001$) olduğu açıklanmıştır (81).

Bu çalışmada da benzer sonuçlar bulunmuş, 24 hafta süre ile OTA verilmiş deney grubunun kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir.

Subramanian ve arkadaşları'nın 1985 yılında yaptıkları başka bir çalışmada, bir günlük civcivlere on beş gün boyunca 0.1 M (1 lt zeltide 0,1 Mol sulu sodyum bikarbonat zeltisi) ile 10 μg OTA intraperitoneal yolla ve kontamine diet ile verilmiş, deney grubunda glikoz seviyesinin kontrol grubuna göre daha yüksek bulunduğu ve en yüksek değerinin ise intraperitoneal verilen deney grubunda olduğu rapor edilmiştir. Bu araştırmacılar deney gruplarında glikojen sentetaz aktivitesinde belirgin bir düşüş ile artan fosforilaz aktivitesini karaciğer glikojen seviyesindeki azalmaya bağlamışlar ve okratoksin toksikozu sırasında yüksek kan şekeri seviyeleri gözlemişlerdir. Bu durumun düşük glikoz oksidasyonu ile glikojen sentezinin ve artmış glukoneogenezin kombinasyonuna bağlı olabileceği düşünülmüş, *Aspergillus ochraceus* toksikozunun insülin düzeyinde azalmaya neden olduğu ve diyabet koşullarına zemin hazırladığı sonucuna varılmıştır (87). Bizim alışmamızda da deney gruplarındaki yüksek glikoz değerleri, bu çalışmayla paralellik göstermiştir.

Mikotoksinlerin karbonhidrat mekanizması üzerine etkilerinin incelendiği bir diğer çalışmada, Wistar ırkı ratlara, yarım saatten iki saate kadar baz alınan süreler içinde kontamine diyetle ve intraperitoneal olarak 0.1 ml Penitrem (mikotoksin türü) uygulanarak, ratların glikozu kullanma ve kandan atabilme kabiliyetine bakılmıştır. Çalışma sonucunda, glikoz seviyesinde ve karaciğer lipit düzeyinde artış görülürken, insülin ve karaciğer glikojen düzeyinde düşme görüldüğü rapor edilmiştir (90).

Toksinlerin diabetojenik etkilerinin incelendiği başka bir çalışmada ise, OTA; ratlara 1-2 mg/kg olacak şekilde, domuzlara 0.2-1 mg/kg günlük doz olarak verildiğinde çalışma sonucunda, *sAMP'a bağımlı protein kinaz* ve böbrekteki glikojen sentezi için anahtar niteliğinde bir enzim olan fosfoenolprvat-karboksikinazın (PEPCK) azaldığı bildirilmiştir (46, 95).

Subramanian ve arkadaşları'nın 1989'da, OTA aktivitelerinin karbonhidrat metabolizmasında metabolitler ile insülin konsantrasyonu seviyesindeki değişimleri incelemek üzere yaptıkları bir çalışmada; süttten kesilmiş 120 ± 15 g ağırlığında albino her rata oral günlük 0,1 M sodyum bikarbonat içeren 100 µg OTA verilmiştir. Araştırma sonucunda karaciğer glikojen içeriğinin büyük ölçüde tükendiği, laktat ve pirüvat düzeylerinde önemli bir azalma olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre kan glikoz seviyesi 59.20 ± 4.80 iken, toksin verildikten sonra, 112.40 ± 5.10 'a kadar yükseldiği, diğer yandan insülin düzeyi normalde 21.30 ± 1.30 iken OTA uygulandıktan sonra 15.40 ± 1.80 seviyelerine kadar düştüğü gözlenmiştir. Burada glikoz hücre içine giremediği için, glikojen yıkımı artmakta ve depolardaki glikojen parçalanıp, serbest glikoz açığa çıkmaktadır. Bunun tersi durumunda ise hücre içine glikoz alınmadığı için, glukoneogenesis (karbonhidrat dışı kaynaklardan glikoz ve glikojen yapılması) ve glikogenolizi artmaktadır. Glikoliz (glikozun parçalanması) ve glikogenesis baskılanıp, glikojenezis (glikozdan glikojen sentezi) yapılamadığı için glikojen sentezi azalmaktadır. Araştırmacılar OTA toksikasyonu sırasında OTA'nın karaciğer hasarı yaptığı, total karbonhidrat düzeyinde azalma meydana getirdiği ve glikoz seviyesinde artışa sebep olabileceği sonucuna varmışlar, insülin seviyesindeki azalmayı pankreas hücrelerindeki insülinin serbest bırakılmasının azalması veya sentezinin inhibe olmasına bağlamışlardır. OTA'nın normalde diyabetojenik etkili olduğu ve insülin düzeyini azaltarak toksik etki gösterdiği bilinmektedir. Glikojen içeriğinde azalma, karbonhidrat rezervlerinde de azaltmaya yol açmaktadır. Çalışma sonucunda OTA'nın etkilerine bağlı olarak karbonhidrat metabolizmasında görev alan enzimlerin aktivitelerinin bozulduğu ve karbonhidrat metabolitlerinin insülin konsantrasyonları üzerine olumsuz etkileri olduğuna dair bulgular elde edilmiş, OTA toksikasyonu sırasında, karbonhidrat kullanımında ve glikoz-6-fosfat-dehidrogenaz aktivitesinde azalma, glikoz-6-fosfat ile fruktoz-1,6-bisfosfat aktivitesinde ise artma görülmüştür (89).

Bu çalışmada da Subramanian ve arkadaşları'nın bulgularına benzer sonuçlar elde edilmiş, OTA verilen deney gruplarında kontrol gruplarına göre, kan glikoz düzeyi yüksek bulunmuştur. En yüksek değer 9 hafta OTA verilen deney grubunda olduğu, bunu daha sonra, 24 hafta ve 6 hafta OTA verilmiş deney grubu hayvanların

izlediği tespit edilmiştir. Buna göre OTA'nın doz ve zamana bağlı olarak, diyabetojenik etkilerinin artabileceği kanaatine varılmıştır.

Subramanian ve arkadaşları'nın aynı yıl OTA'nın ratlarda diyabetojenik etkilerini araştırmak üzere yaptıkları başka bir çalışmada ise, sütten kesilmiş albino ratları deney hayvanı olarak kullanmışlar ve sekiz hafta süre ile her rata 0,5 M sodyum bikarbonat eşliğinde günlük oral 100 µg OTA verilmesi sonucunda, kan glikoz düzeyinin yükseldiğini, serum insülin düzeyinin ise düştüğünü belirlemişlerdir. Bu araştırmacılar OTA toksikasyonu bakımından bir önceki çalışmaları ile benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Subramanian ve arkadaşları'nın OTA toksisitesine bağlı olarak, kan glikoz seviyesinin artması ve insülinin seviyesindeki düşmenin, pankreas hücrelerindeki insülinin serbest bırakılmasının azalması veya insülin sentezinin inhibe olmasına bağlı olabileceğini düşünmüşler, kandaki glikoz seviyesinin artmasını ise karaciğer glikojenin tüketilmesinden kaynaklanabileceği kanaatine varmışlardır. Yine OTA toksikasyonu sonrasında karaciğer hücrelerinde total karbonhidrat seviyesindeki düşme, glikojenin azaldığının bir göstergesi olarak ifade edilmiştir. Glikojen sentezinde azalmanın ise, OTA'nın glikojen metabolizması üzerine toksik etkisine bağlı olarak, (karaciğer hasarından kaynaklanabileceği) varsayılmıştır (88).

Bu çalışmada da Subramanian ve arkadaşları'nın elde ettiği sonuçlara benzer bulgular elde edilmiş, 9 hafta boyunca OTA verilen deney grubundaki glikoz seviyesinin, kontrol grubuna oranla yüksek olması, istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Deney gruplarının serum insülin düzeyleri ise kontrol grubuna göre düşük olmakla birlikte, ancak deney grupları arasında insülin seviyeleri açısından istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır.

Mir ve Dwivedi'nin Hindistan'da Yeni Zelanda ırkı beyaz tavşanları sekiz hafta boyunca 1 ve 2 ppm OTA'lı yemle ile besledikleri başka bir çalışma ise, kan glikoz değerinin üçüncü haftadan sonra azalmaya başladığı, sekizinci haftanın sonunda ise yarı yarıya düştüğü belirtilmiştir. Bu hayvanlarda OTA'nın karaciğer hasarı oluşturduğu ve böylece glikoz kaybı meydana geldiği, bu hayvanlarda karbonhidrat mekanizmasının bozulmasının, glikojenoliz aktivasyonunu inhibe etmesi ile birlikte karaciğerde glikojen birikimine yol açtığı bildirilmiştir (59).

Pleadin ve ark Zegers Hibrit tipi sekiz domuz üzerinde yaptıkları başka bir çalışmada ise, domuzlar otuz gün boyunca 300 ppb OTA'ya maruz bırakılmıştır. Çalışma sonucunda glikoz değerinin azaldığı ve OTA'nın bu hayvanların böbreklerinde hasar meydana getirdiği bildirilmiştir (75).

Stoev ve arkadaşları'nın, yirmi dört genç domuzu dört gruba ayırarak, her grupta 3 erkek ve 3 dişi domuz olacak şekilde, 3 ay süre ile izledikleri başka bir çalışmada, küflü diyetle 3 deney ve bir kontrol grubuna 0,5 ppm OTA, 10 ppm FB1 ve OTA + FB1 (0,5 ppm + 10 ppm) vermişler, kan glikoz düzeyinin sadece OTA verilen grupta azaldığı tespit edilirken, OTA ve FB1 (0,5 ppm OTA+ 10 ppm FB1) beraber verilen gruptaki değerlerin ise daha da düşük bulunduğu ifade edilmiştir (83).

Zheqian Zhang ve arkadaşları'nın 36 sağlıklı sütten kesilmiş domuz yavrusu üzerinde 0.4 mg /kg ile 0.8 mg / kg arası değişen dozlarda OTA vererek 14, 28, 42 günlük periyotlarda takibini yaptıkları deneysel bir çalışmada ise, diğer çalışma sonuçlarından (sıçanlardaki çalışma sonuçlarından) farklı olarak OTA'nın 42. günde glikoz seviyesini yarıya düşürdüğü ileri sürülmüştür (104).

Kumar Nandar ve arkadaşları'nın 2015 yılında, yaptığı bir çalışmada, Wistar ırkı erkek ratlara otuz gün boyunca 4 ppm OTA vermişler, çalışma sonucunda kontrol grubunda kan glikoz düzeyi 80.13 ± 2.10 olduğunu, OTA verildikten sonra bu değer 100.23 ± 2.38 'lere kadar yükseldiğini bildirilmişlerdir. Yine bu hayvanlarda kreatin, ALT, ALP, BUN'un (kan üre azotu) arttığı, total protein, albümin kalsiyum ve globulin seviyelerinin ise düştüğü gözlenmiştir. Albümin ve AG (albümin /globulin oranı) azalmasının OTA' nın nefronda meydana getirdiği hasardan, karaciğerde glikojen tükenmesinin de kan glikoz düzeyinin artışına neden olacağı düşünülmüş, hipergliseminin ise pankreasın β hücrelerinden salgılanan insülinin serbest bırakılmasının azalması veya sentezinin inhibe olmasından kaynaklandığı kanaatine varılmıştır (47).

Bu çalışmada ise 6, 9, 24 hafta boyunca OTA verilen deney grubu ile kontrol grubunun glikoz seviyeleri karşılaştırıldığında, deney gruplarında belirlenen artışın istatistiksel açıdan önemli olduğu ve Kumar ve arkadaşlarının bulguları ile uygunluk

gösterdiği görülmüştür. Yine çalışmamızda 6, 9, 24 hafta boyunca OTA verilen deney grubunun insülin değerleri, kontrol grubunun insülin düzeylerine oranla daha düşük bulunmuş, buna göre deney grubunda kontrol grubuna nazaran glikoz düzeylerinin yüksek olması ile birlikte bu sonuçlar, OTA'nın diyabet gelişimine katkısının bir sonucu olarak değerlendirilmiş, pre-diyabetik dönemde ise glikoz homeostazındaki birçok metabolik hasarın diyabete zemin hazırlayabileceği sonucuna varılmıştır.

OTA ile ilgili farklı hayvan türlerinde (domuz sıçan vb) yapılan deneysel çalışmalarda glikoz ve insülin değerleri ile ilgili veriler yer almakla birlikte, glukagon değerleri ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamış, dolayısıyla bu çalışmada verilen glukagon değerleri ilk veriler olarak değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada glukagon düzeyleri deney gruplarında yüksek bulunmuştur. Bu durum OTA'nın pankreasın β hücrelerinde oluşturduğu yıkım sebebi ile α hücrelerinden salgılanan glukagon miktarının relatif olarak artması sonucunda olduğu düşünülmüştür. Bu bulgular Özmen ve arkadaşları'nın 2007 yılında yaptıkları çalışma sonuçları ile uyumlu bulunmuştur (67).

Çalışma sonucunda son zamanlarda insan ve hayvanlarda artış gösteren DM'un insidensinde birçok faktörün etkili olduğu belirtilmekle birlikte, gıdalarla alınan OTA'nın miktar ve süreye bağlı olarak diyabet oluşumundaki rolü tam olarak ortaya konulabilmiş değildir. Bu çalışmada sıçanlarda OTA'nın pankreas üzerinde patolojik etkileri ve dolayısı ile DM oluşumuna katkısı araştırılmış, glikoz, insülin ve glukagon değerleri ile ölçülen pankreas hasarının kalıcı olduğu ve bunun da DM'a sebep olduğu kanaatine varılmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Son zamanlarda Diabetes mellitus insidansının insan ve hayvanlarda günden güne arttığı, bu hastalığın gelişiminde birçok faktörün etkili olduğu, gıdalarla alınan OTA'nın miktar ve süreye bağlı olarak, DM'in oluşmasında etkili olabileceği ancak bu konu ile ilgili sınırlı çalışma bulunduğu bilinmektedir.

Bu çalışma ile DM patojenezinde OTA'nın pankreas üzerine patolojik etkisinin olduğu, glikoz, insülin ve glukagon düzeylerinin pankreas hasarına bağlı olarak kalıcı şekilde ilerlediği ve bu durumun DM riskini artırdığı ortaya konulmuştur.

Araştırmada 6, 9 ve 24 hafta boyunca OTA verilen sıçanlarda ölçülen plazma glikoz, insülin ve glukagon değerlerinin DM etiyojisine, hastalıktan korunma konusundaki bilgi birikimine ve Diabetes mellitus'un erken dönemde tanısına katkı sağlayacağı düşünülmüş, bu konudaki çalışmaların sürdürülmesi gerektiği kanaatine varılmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. **Abdul-Ghani MA, Tripathy D, DeFronzo RA** (2006): Contributions of beta-cell dysfunction and insulin resistance to the pathogenesis of impaired glucose tolerance and impaired fasting glucose. *Diabetes Care.*, **29**, 1130-39.
2. **Abou-Seif MA, Yousse AA** (2004): Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. *Clin Chem Acta.*, **346**, 161-70.
3. **Al-Anati L, Petzinger E** (2006): Immunotoxic activity of ochratoxin A. *J Vet Pharmacol Therap.*, **29**, 79-90.
4. **Alvarez L, Gil A, Ezpeleta JA** (2004): Immunotoxic effects of Ochratoxin A in wistar rats after oral administration. *Food Chem Toxicol.*, **42**, 825- 34.
5. **American Diabetes Association** (2005): Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care.*, **28**, 1-6.
6. **Atroshi F, Biese I, Saloniemi H** (2000): Significance of apoptosis and its relationship to antioxidants after ochratoxin a administration in mice. *J Pharm Pharm Sci.*, **3**, 281-91.
7. **Barlow S, Bolger PM, Pitt JI, Verger P** (2008): Ochratoxin A in: World health Organization, technical report series, safety evaluation of certain food additives and contaminants. *Who Food Add.*, **59**, 357-429.
8. **Bendele AM, Carlton WW, Krogh P, Lillehoj EB** (1985): Ochratoxin A carcinogenesis in the (C57BL/6J X C3H)F1 mouse. *J Natl Cancer Inst.*, **75**, 733-42.
9. **Bennett JW, Klich M** (2003): Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev.*, **16**, 497-516.
10. **Bennett PH, Knowler WC** (2005): *Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and glucose homeostasis*, Edrs: C. R. Kahn, G.C. Weir, G. L. King, A. M. Jacobson, A. C. Moses, and R. J. Smith, in Joslin's Diabetes Mellitus, Lippincott., Williams and Wilkins. p: 331–39.
11. **Bentley MD, Jorgensen SM, Lerman LO, Ritman EL, Romero JC** (2007): Visualisation of three-dimensional nephron structure with microcomputed tomography. *Anat Rec.*, **290**, 277-83.
12. **Boorman G** (1989): Ed NTP Technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of ochratoxin A in F344/N Rats (Gavage Studies) (NIH

- Publi-cation No. 89-2813): National Toxicology program. Research Triangle Park, NC:U.S Department of Health and Human Services. **303**, 47-9.
13. **Bruinink A, Sidler C** (1997): The neurotoxic effects of ochratoxin A are reduced by protein binding but are not affected by l-phenylalanine. *Toxicol Appl Pharmacol.*, **146**, 173-82.
 14. **Burckhardt BC, Burckhardt G** (2003): Transport of organic anions across the basolateral membrane of proximal tubule cells. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.*, **146**, 95-58.
 15. **Cengiz M, Cengiz S** (2000): Tip 2 diyabetli hastalarda C vitamini uygulamasının eritrosit glutatyon ve HbA1C düzeyleri üzerine etkisi, *Cerrahpaşa Tıp Derg.*, **31**, 211-5.
 16. **Chang CF, Hamilton PB** (1980): Impairment of phagocytosis by heterophils from chickens during ochratoxicosis. *Appl and Environ Microbiol.*, **39**, 572-5.
 17. **Chu FS** (1974): A comparative study of the interaction of ochratoxins with bovine serum albumin. *Biochem Pharmacol.*, **23**, 1105-7.
 18. **Çiçek M** (2012): Batı Akdeniz bölgesinde şaraplarda okratoksin A (OTA) varlığı. Yüksek lisans tezi danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Ayşegül Mutlu, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Burdur.
 19. **Çoşkun H** (2005): Sıçan Pankreatik Adacıklarının *In Vitro* Kültürdeki Canlılığına ve Glukoza Cevap Fonksiyonuna Enkapsülasyonun ve VGFE'nin Etkilerinin İncelenmesi. Yüksek lisans tezi danışmanı: Prof. Dr. Y. Murat Elçin, Ankara Üniversitesi. Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.
 20. **Dağ İ** (2009): Pre -Diyabetli ve Yeni Tanı Almış Tip 2 Diyabetli Bireylerde SERUM Fgf-21 Düzeyleri. Uzmanlık Tezi, Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bölümü, İSTANBUL.
 21. **Dall'Asta C, Galaverna G, Dossena A, Marchelli R** (2004): Reversed-phase liquid chromatographic method for the determination of ochratoxin A in wine. *J Chromatogr.*, **1024**, 275-9.
 22. **Expert Committee.** (1997): Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.*, **20**, 1183-97.

23. **Flajs D, Domijan AM, Ivić D, Cvjetković B** (2009): ELISA and HPLC analysis of ochratoxin A in red wines of Croatia. *Food Control.*, **20**, 590-2.
24. **Fuchs R, Hult K, Peraica M, Radic B, Plestina R** (1984): Conversion of ochratoxin C into ochratoxin A in vivo. *App and Environ Microb.*, **48**, 41-42.
25. **Fuchs R, Peraica M** (2005): Ochratoxin A in human kidney diseases. *Food Addit Contam.*, **22**, 53-57.
26. **Galtier P, Alvinerie M** (1976): In vitro transformation of ochratoxin A by animal microbial floras. *Ann Rech Vet.*, **7**, 91-8.
27. **Galtier PM, Alvinerie JL, Charpentreau F** (1981): The pharmacokinetic profiles of ochratoxin A in pigs, rabbit and chicken. *Food Cosmet Toxicol.*, **19**, 735-8.
28. **Garcia-Sanz A, Rodriguez –Barbero A, Bentley MD, Ritman EL, Romero JC** (1998): Three-dimensional microcomputed tomography of renal vasculature in rats. *Hypertension.*, **31**, 440-4.
29. **Gekle M, Silbernagl S** (1996): Renal toxicodynamics of ochratoxin A: a pathophysiological approach. *Kidney Blood Press. R.*, **19**, 225-35.
30. **Girgin G, Başaran N, Şahin G** (2001): Dünyada ve Türkiye'de insan sağlığını tehdit eden mikotoksinler. *Türk Hij Dern Biyo Derg.*, **58**, 97-118.
31. **Gümüüş T, Arıcı M, ve Demirci M** (2003): *Mikotoksinlerin Mikroorganizmalar Tarafından Parçalanması*. I. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu 18-19 Eylül, İstanbul, s:190.
32. **Hasselbank DM, Glatz JFC, Luiken JJFP, Roemen THM, Vusse GJV** (2003): Ketone bodies disturb fatty acid handling in isolated cardiomyocytes derived from control and diabetic rats. *Biochem J.*, **371**, 753-60.
33. <http://eurape.eu.int//comm/food/fs/sc/scf/out14.en.html>: Opinion on ochratoxin A expressed on 17 Semteper 1998. European Commission, Bruxelles (erişim tarihi:14.09.2015).
34. <http://www.diabetcemiyeti.org/c/diyabet-istatistikleri>: Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) 7. Diyabet Atlası (erişim tarihi: 16.04.2016).
35. **Huff WE, Kubena LF, Harvey RB, Phillips TD** (1992): Efficacy of hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the individual and combined toxicity of aflatoxin and ochratoxin A. *Poult Sci.*, **71**, 64-69.

36. **IARC** (1993): *Ochratoxin A (Group 2B)*. International Agency for Research on Cancer (IARC): Summaries & Evaluations. **56**, 489.
37. **Jong-Choon K, Moon-Koo C, Moo-Hyung J, and Sang-Seop H** (1994): Embryotoxic Effects of Ochratoxin A and Amelioration By Phenylalanine in Rats. *Korean Med Database.*, **10**, 193-206.
38. **Jung KY, Takeda M, Kim DK, Tojo A, Narikawa S, Yoo BS, Hosoyamada M, Cha SH, Sekine T, Endou H** (2001): Characterization of ochratoxin A transport by human organic anion transporters. *Life Sci.*, **69**, 2123-35.
39. **Kahn RC, Weir GC, King LG, Moses AC, Smith RJ, Jacobson AM** (2008): *Joslins Diabetes Mellitus*, 14. baskı, İstanbul Tıp Kitapevi, İstanbul, s: 329–51.
40. **Kaya S.** (2014): *Veteriner Toksikoloji*, 3. baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, s: 405-11.
41. **Kayaalp O.** (2012): *Tıbbi Farmakoloji*, cilt 1, 1. Baskı, Nobel Kitapevi, Ankara, s: 1252-72.
42. **Khoury A, Atoui A** (2010): Ochratoxin A: General Overview and Actual Molecular Status. *Toxins.*, **2**, 461-93.
43. **Kılıç MA, Mor F, Özmen Ö** (2014): *Dişi Sıçanlarda Östrojenin Okratoksin A Toksisitesindeki rolü.* 22. Ulusal Biyokimya Kongresi, 23-27 Haziran. Konya s: 64.
44. **Knasmüller S, Cavin C, Chakraborty A, Darroudi F, Majer BJ, Huber WW, Ehrlich VA** (2004): Structurally related mycotoxins ochratoxin A, ochratoxin B, and citrinin differ in their genotoxic activities and in their mode of action in human-derived liver (HepG2) cells: implications for risk assessment. *Nutr Cancer.*, **50**, 190-7.
45. **Koyutürk M, Tunalı S, Bolkent S, Yanardag R** (2005): Effects of vanadyl sulfate on liver of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biol Trace Elem Res.*, **104**, 233-247.
46. **Krogh P, Gyrd-Hansen N, Hald B, Larsen S, Nielsen JP, Smith M, Ivanoff C, Meisner H** (1988): Renal enzyme activities in experimental ochratoxin A-induced porcine nephropathy: diagnostic potential of

- phosphoenolpyruvate carboxykinase and gamma-glutamyl transpeptidase activity. *J Toxicol Environ Health.*, **23**, 1-14.
47. **Kumar SN, Gopal A** (2015): Toxic Manifestation of Endosulfan and Ochratoxin- A in Adult Male Rats. *Moj Toxicol.*, **1**, 1-6.
 48. **Mally A, Völkel W, Amberg A, Kurz M, Wanek P, Eder E, Hard G, Dekant W** (2005): Functional, biochemical, and pathological effects of repeated oral administration of ochratoxin A to rats. *Chem Resh Toxicol.*, **18**, 1242-52.
 49. **Mantle P, Kilic MA, Mor F, Ozmen O** (2015): *Contribution of organ vasculature* in rat renal analysis for ochratoxin a: relevance to toxicology of nephrotoxins. *Toxins.*, **7**, 1005-7.
 50. **Mantle PG** (2009): Minimum tolerable exposure period and maximum threshold dietary intake of ochratoxin A for causing renal cancer in male Dark Agouti rats. *Food Chem Toxicol.*, **47**, 2419-24.
 51. **Mantle PG, Kulinskaya E** (2010): Lifetime, low-dose ochratoxin A dietary study on renal carcinogenesis in male Fischer rats. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.*, **27**, 1566-73.
 52. **Mantle PG, Kulinskaya E, Nestler S** (2005): Renal tumourigenesis in male rats in response to chronic dietary ochratoxin A. *Food Addit Contam.*, **22**, 58-64.
 53. **Marquardt RR, Frohlich AA** (1992): A review of recent advances in understanding ochratoxicosis. *J Anim Sci.*, **70**, 3968-88.
 54. **McCrimmon RJ, Ryan CM, Frier BM** (2012): Diabetes and cognitive dysfunction. *Lancet.*, **379**, 2291-99.
 55. **McKee T., McKee J.** (1999): *Biochemistry*, 2nd Ed, WBC-McGraw Hill Company, USA, p: 446-61.
 56. **McPhee SJ, Papadakis MA** (2010): *Diabetes Mellitus & Hipoglisemi*. Editör: Müftüoğlu E. GÜNCEL Tıbbı Tanı & Tedavi, 49. Baskı, Nobel Kitabevi, Adana, Türkiye, s: 1079-111.
 57. **Merwe K, McMasters DR, Vedani A** (1999): Ochratoxin binding to phenylalanine-tRNA synthetase: Computational Approach to the mechanism of ochratoxicosis and its antagonism. *J Med Chem.*, **42**, 3075-86.

58. **Merwe KJ, Steyn PS, Fouire L** (1965): The constitution of ochratoxins A, B, and C, metabolites of *Aspergillus ochraceus* wilh. *J Chem Soc.*, 7083-88.
59. **Mir MS, Dwivedi P** (2010): Ochratoxin A-induced serum biochemical alterations in New Zealand White rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Turk J Vet Anim Sci.*, **34**, 525-31.
60. **Mor F, Kilic MA, Ozmen O, Yilmaz M, Eker I, Uran K, Haligur M, Mantle, PG** (2014): A Role for Testosterone in the Rat Gender Difference in Toxicological Response to Ochratoxin A. *Exp Toxicol Pathol.*, **66**, 267-75.
61. **National Diabetes Data Group (NDDG)** (1979): Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes.*, **28**, 1039-57.
62. **National Toxicology Program (NTP)** (1989). Toxicology and Carcinogenesis Studies of Ochratoxin A (CAS No. 303-47-9) in F344/N Rats (Gavage Studies). Technical Report Series No 358; NTIS Publication No. PB90-219478/AS.
63. **Nayak B, Roberts** (2006): Relationship between inflammatory markers, metabolic and anthropometric variables in the Caribbean type 2 diabetic patients with and without microvascular complications. *J Inflamm.*, **3**, 17.
64. **Nwose EU** (2009): Cardiovascular risk assessment in prediabetes: A hypothesis. *Med Hypotheses.*, **72**, 271-5.
65. **O'Brien E, Dietrich DR** (2005): Ochratoxin A: The continuing enigma. *Crit Rev Toxicol.*, **35**, 33-60.
66. **O'Brien E, Heussner AH, Dietrich DR** (2001): Species-, sex-, and cell type-specific effects of ochratoxin A and B. *Toxicol Sci.*, **63**, 256-64.
67. **Ozmen O, Topsakal S, Sahinduran S, Ozelik M** (2007): Effect of Insufficient Insulin Treatment in Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus. *Pancreas*, **34**, 354-55.
68. **Özçelik N, Koar A, Soysal D** (2001): Ochratoxin A in human serum samples collected in Isparta-Turkey from healthy individuals and individuals suffering from different urinary disorders. *Toxicology Lett.*, **121**, 9-13.
69. **Özüğür K** (2007): Tip 2 Diyabet tanısı alan Hastalarda ilk altı aylık tedavinin oksiatif stres ve carbohydrate deficient transferrin (CDT) üzerine etkisi.

Yüksek lisans tezi danışmanı: Doç. Dr. Tülay Köken, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyon.

70. **Petrik J, Grubisic TZ, Barisic K, Pepeljnjak S, Radic B, Ferencic Z, Cepelak I (2003):** Apoptosis and oxidative stress induced by ochratoxin A in rat Kidney. *Arch Toxicol.*, **77**, 685–69.
71. **Petzinger E, Weidenbach A (2002):** Mycotoxins in the food chain: The role of ochratoxins. *Livest Prod Sci.*, **76**, 245-50.
72. **Pfohl-Leszkowicz A (2009):** Ochratoxin A and aristolochic acid involvement in nephropathies and associated urothelial tract tumours. *Arh Hig Rada Toksikol.*, **60**, 465-83.
73. **Pfohl-Leszkowicz A, Manderville RA (2007):** Ochratoxin A: an overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Mol Nutr Food Res.*, **51**, 61–99.
74. **Pfohl-Leszkowicz A, Pinelli E, Bartsch H, Mohr U, Castegnaro M (1998):** Sex- and strain-specific expression of cytochrome P450s in ochratoxin A-induced genotoxicity and carcinogenicity in rats. *Mol Carcinog.*, **23**, 76–85.
75. **Pleadin J, Perši N, Mitak M, Terzić S, Milić D, Vulić A, Brstilo M (2012):** Biochemical changes in pig serum after ochratoxin A exposure. *Bull Environ Contam Toxicol.*, **88**, 1043-7.
76. **Pohland AE, Nesheim S, Friedmann L (1992):** Ochratoxin A. *Pure Appl Chem.*, **64**, 1029-46.
77. **Purchase IF, Theron JJ (1968):** The acute toxicity of ochratoxin A to rats. *Food Cosmet Toxicol.*, **6**, 479-83.
78. **Ringot D, Chango A, Schneider YJ, Larondelle Y (2006):** Toxicokinetics and toxicodynamics of ochratoxin A, an update. *Chem Biol Interact.*, **159**, 18-46.
79. **Ringot D, Lerzy B, Bonhoure J, Auclair E, Oriol E, Larondelle Y (2005):** Effect of temperature on in vitro Ochratoxin A biosorption onto yeast cell wall derivatives. *Process Biochemistry.*, **40**, 3008-16.
80. **Sekikawa A, LaPorte RE (1997):** *Epidemiology of insulin dependent diabetes mellitus*. Eds: KGMM Alberti, P Zimmet, RA DeFronzo, H Keen.

International Textbook of Diabetes Mellitus, 2nd Ed., Volume I, John Wiley & Sons Ltd, New York, p: 89-96.

81. **Shanmugasundaram ERB, Parameswari CS, Shanmugasundaram KR** (1984): Tereic Acid- A diabetogenic mycotoxin in rats. *Current Science.*, **53**, 24.
82. **Steyn PS, Stander MA** (1999): Mycotoxins with Special Reference to the Carcinogenic Mycotoxins: Aflatoxins, Ochratoxins and Fumonisin. In: Ballantyne B, Marrs TC, Syversen TLM, eds. *General and Applied Toxicology.*, **1**, 2145-76.
83. **Stoev SD, Gundasheva D, Zarkov I, Mircheva T, Zapryanova D, Denev S, Mitev Y, Daskalov H, Dutton M, Mwanza M, Schneider YJ** (2012): Experimental mycotoxic nephropathy in pigs provoked by a mouldy diet containing ochratoxin A and fumonisin B1. *Exp Toxicol Pathol.*, **64**, 733-41.
84. **Stoev SD, Stoeva JK, Anguelov G, Hald B, Creppy EE, Radic B** (1998): Haematological, biochemical and toxicological investigations in spontaneous cases with different frequency of porcine nephropathy in Bulgaria. *Zentralbl Veterinarmed A.*, **45**, 229-36.
85. **Stoev SD, Vitanov S, Anguelov G, Petkova-Bocharova T, Creppy EE** (2001): Experimental mycotoxic nephropathy in pigs provoked by a diet containing ochratoxin A and penicillic acid. *Vet Res Commun.*, **25**, 205-23.
86. **Storen O, Holm H, Stormer FC** (1982): Metabolism of ochratoxin a by rats. *Appl Environ Microbiol.*, **44**, 785-89.
87. **Subramanian S, Govindasamy S** (1985): A.Ochraceus toxicity on carbohydrate metabolism in chicks. *Curr Sci India.*, **54**, 860-61.
88. **Subramanian S, Balasubramanian N, Govindasamy S** (1989): Diabetogenic nature Ochratoxin A. *Curr Sci India.*, **58**, 878-80.
89. **Subramanian S, Kanthasamy A, Balasubramanian N, Sekar N, Govindasamy S** (1989): Ochratoxin A toxicity on carbohydrate metabolism in rats. *Bull Environ Contam Toxicol.*, **43**, 180-84.
90. **Suseela R, Shanmugasundaram ERB, Shanmugasundaram KR** (1986): Effect of Penitrem A on glucose tolerance studied in rats. *Current Science.*, **55**, 98-100.

91. **Tangni EK, Ponchaut S, Maudoux M, Rozenberg R, Larondelle Y** (2002): Ochratoxin A in domestic and imported beers in Belgium: Occurrence and exposure assessment. *Food Addit Contam.*, **19**, 1169-79.
92. **Tatu AC, Orem WH, Finkelman RB, Feder GL** (1998): The ethiology of Balkan Endemic Nephropathy: Still more questions than answers. *Environ Health Persp.*, **106**, 689-700.
93. **The Expert Committee on the Diagnosis and classification of 16. diabetes mellitus** (1998): Report on the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 21(Suppl. 1), s: 5-19.
94. **The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus** (2003): *Diabetes Care*, **26**, 3160-67.
95. **Thekkumkara TJ, Patel MS** (1989): Ochratoxin A decreases the activity of phosphoenolpyruvate carboxykinase and its mRNA content in primary cultures of rat kidney proximal convoluted tubule cells. *Biochem Biophys Res Commun.*, **162**, 916-20.
96. **Ünal AS** (2009): Kuru Üzüm ve Ürünlerinde Ochratoxin A Varlığının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi danışmanı: Prof. Dr. Buket Alpertunga, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
97. **Valenta H** (1998): Chromatographic methods for the determination of ochratoxin A in animal and human tissues and fluids. *J Chromatogr A.*, **815**, 75-92.
98. **Vettorazzi A, Gonzalez-Peñas E, Trocóniz IF, Arbillaga L, Corcuera LA, Gil AG, López de Cerain A** (2009): A different kinetic profile of ochratoxin A in mature male rats. *Food Chem Toxicol.*, **47**, 1921-27.
99. **Vettorazzi A, Trocóniz IF, González-Peñas E, Arbillaga L, Corcuera LA, Gil AG, de Cerain AL** (2011): Kidney and liver distribution of ochratoxin A in male and female F344 rats. *Food Chem Toxicol.*, **49**, 1935-42.
100. **Wei X, Sulik KK** (2005): Pathogenesis of craniofacial and body wall malformations induced by ochratoxin A in mice. *Am J Med Genet.*, **47**, 862 - 71.
101. **Whiting D R, Guariguata L, Weil, C., Shaw J** (2011): IDF diabetes atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for and 2030. *Diabetes Res*

Clin Pr., **94**, 311–21.

102. **World Health Organization** (1985): Diabetes mellitus. Report of a WHO Study Group. Technical Report, Geneva, **727**.
103. **Xiao H, Marquardt RR, Frochlich AA, Ling YZ** (1995): Synthesis and structural elucidation of analogs of ochratoxin A. *J Agric Food Chem.*, **43**, 524-30.
104. **Zhang Z, Gan F, Xue H, Liu Y, Huang D, Khan AZ, Chen X, Huang K** (2015): Nephropathy and hepatopathy in weaned piglets provoked by natural ochratoxin A and involved mechanisms. *Exp Toxicol Pathol.*, **68**, 205-13.
105. **Zimmet P, Williams J., de Courten M** (2009): *Diagnosis and classification 1. of diabetes mellitus*. Eds: J.A.M. Wass, S.M. Shalet, E. Gale, S. Amiel. Oxford Textbook of Endocrinology and Diabetes. Oxford University Press, Oxford, New York, p:1635-46.

8. ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Ömür ŞENGÜL

Doğum Yeri ve Yılı : Isparta-1977

Medeni Hali : Bekâr

Yabancı Dili : İngilizce

Uyruğu : T.C.

Telofon No : 05327709015

Elektronik Posta : omursengul@mehmetakif.edu.tr

İletilim Adresi : Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi İstiklal
Yerleşkesi/BURDUR



Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Lisans : Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans : Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

Çalıştığı Kurum / Kurumlar ve Yıl (Mesleki Deneyim) :

1. Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi (1997-2008)
2. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Kültür ve Spor Daire Başkanlığı (2008- Devam ediyor)

Yayımlar: Şengül Ö, Özmen Ö, Kocasari- Şahindokuyucu F, Mor F (2015): Okratoksin Ave Etkileri. *Uludag Univ.J.Fac.Vet.*, **34**, 71-76.