

UTJECAJ OHRATOKSINA A NA MASTI I BJELANČEVINE KRVNE PLAZME U PILIĆA

V. RUPIC, B. LIKER, S. MUŽIC, Č. BOGDANIĆ i I. BALZER

Fakultet poljoprivrednih znanosti, Zagreb

(Primljeno 30. IX 1977)

Istražen je utjecaj ohratoksina A u hrani na koncentraciju ukupnih masti, ukupnih bjelančevina i albumina, te na koncentraciju alfa₁, alfa₂, beta i gama-globulina u krvnoj plazmi pilića. Pilići kontrolne skupine hranjeni su komercijalnim starterom, II skupine istim starterom u koji je primiješano 0,5 ppm ohratoksina A, a koncentracija ohratoksina A u hrani III skupine pilića iznosila je 5,0 ppm. Koncentracija ohratoksina A od 0,5 ppm djelovala je nakon 56 dana pokusa na povećanje, a koncentracija od 5,0 ppm ohratoksina A na smanjenje sadržaja ukupnih lipida, ukupnih proteina te albumina u krvnoj plazmi pokusnih pilića.

Koncentracija ohratoksina A od 5,0 ppm djelovala je na smanjenje sadržaja alfa₁, alfa₂, beta i gama-globulina u krvnoj plazmi pilića kroz cijeli pokusni period.

U jednom su od prethodnih radova *Rupić* i suradnici (1) utvrdili da relativno velike koncentracije ohratoksina A (5,0 ppm) djeluju depresivno na hematopoezu i leukopoezu u pokusnih pilića. Manje koncentracije ohratoksina A (0,5 ppm) u hrani djeluju čak i stimulatивно na mnoge procese u organizmu, pa tako i na hematopoetske odnosno leukopoetske organe. Da bi se upotpunilo poznavanje te problematike, provedeno je istraživanje djelovanja ohratoksina A u hrani, na koncentraciju ukupnih masti, ukupnih bjelančevina te frakcija bjelančevina u plazmi pilića.

MATERIJAL I METODA RADA

Jednodnevni pilići Lohman B-975 razvrstani su u tri skupine, svaka po 20. Svi su pilići dobivali jednaku smjesu za tov s time da je u smjesi za drugu skupinu dodano 0,5 ppm ohratoksina A. Koncentracija ohratoksina A u smjesi za piliće III skupine iznosila je 5,0 ppm.

Postotak probavljivih bjelančevina i masnoća bio je u svim upotrijebljenim smjesama potpuno jednak. Ohratoksin A koji je upotrebljavan u pokusu dobiven je postupkom kako je to ranije navedeno (1). Krv je za biokemijske analize uzimana iz v. radialis i v. ulnaris 14, 28. i 56. dana pokusa.

U plazmi pilića određivali smo: ukupne masti, ukupne bjelančevine, albumine, te alfa₁, alfa₂, beta i gama-globuline, i to ukupne masti metodom *Zöllner-Kirsch* (2), ukupne bjelančevine po *Wolfsonu* (Wechselbaumov reagens, 3,4), albumine i globuline metodom elektroforeze prema uputama proizvođača opreme (Chemetron, Milano). Semimikroelektroforeza provedena je pod naponom od 260 V.

Frakcije s celogela eluirane su s 80%-tnom octenom kiselinom, a eluat fotometričan kod 520 nm.

REZULTATI I DISKUSIJA

Najveće su koncentracije lipida u plazmi (tablica 1) nađene u pilića II skupine 14. dana pokusa i one su signifikatno veće nego u plazmi pilića kontrolne skupine ($P < 0,05$). I u plazmi pilića III skupine bilo je više ukupnih lipida nego u plazmi pilića kontrolne skupine, no statistički značajna razlika u koncentraciji ukupnih lipida plazme između tih skupina pilića nije nađena ($P > 0,05$). Rezultati dobiveni 28. dana pokazuju približno izjednačenu koncentraciju lipida u plazmi svih skupina pilića. Oni su numerički veći, no ne i signifikantno kod skupina pilića koje su dobivale ohratoksin A u hrani.

Na završetku pokusa najveće su koncentracije lipida nađene u plazmi pilića II skupine, signifikantno veće nego u pilića III skupine, koji su imali manje lipida čak i od kontrolnih pilića, tako da razlika nije bila statistički značajna. Rezultati analiza plazmatskih lipida upućuju da je ohratoksin A vjerojatno mogao utjecati na jetrenu lipogenezu, no taj toksični učinak na jetreno tkivo (parenhim) nije bio bitan za cjelokupnu lipogenezu pilića u dobi od 56 dana.

Nakon prvog perioda pokusa najveće su koncentracije ukupnih bjelančevina plazme nađene u pilića I i II skupine, signifikantno veće nego u pilića III skupine (tablica 1, $P < 0,05$).

Nakon 28. dana pokusa najveće su koncentracije ukupnih bjelančevina plazme nađene u pilića kontrolne skupine, signifikantno veće nego u pilića II i III skupine. Na završetku pokusa, nakon 56. dana, signifikantno najveće koncentracije ukupnih bjelančevina imali su pilići II skupine a signifikantno najmanje pilići III skupine (tablica 1).

Količine od 0,5 ppm ohratoksina A u hrani djelovale su u početku (14. dan) i završetku (56. dan) pokusa stimulatивно na povećanje koncentracije plazmatskih proteina. Količine od 5,0 ppm ohratoksina A u hrani nakon 28. i 56. dana pokusa djelovale su depresivno na nivo plazmatskih proteina. Ovi rezultati upućuju na to da su veće koncentracije ohratoksi-

Tablica 1.
Koncentracije masti, bjelančevina i lipida u plazmi pilića

Skupina pilića	Dani pokusa	Ukupne masti (mg/100 ml plazme)			Ukupne bjelančevine (g/100 ml plazme)			Albumini (g/100 ml plazme)		
		N	X	SD	N	X	SD	N	X	SD
I Kontrolna (komercijalna hrana)	14	5	A _{1,39g} a	83,63	5	2,82a	0,29	5	C _{1,83a}	0,16
	28	6	A ₆₈₄	285,22	6	2,87a,b	0,21	6	D _{1,66a,b}	0,11
	56	11	D ₅₃₃	86,06	10	2,74a,b	0,18	10	C _{1,43a,b}	0,15
II komercijalna hrana + 0,5 ppm ohratoksina A	14	14	B ₅₉₂ a	21,30	14	A _{1,2} B _{2,58} b	0,20	12	A _{1,75} b	0,14
	28	11	BE ₇₈₂	118,32	10	A _{1,38a} ,C	0,25	11	A _{1,75a} ,C	0,12
	56	10	E _{313a}	46,57	10	B _{1,3} C _{3,10a} ,C	0,22	9	E _{1,79a} ,C	0,16
III komercijalna hrana + 0,5 ppm ohratoksina A	14	12	C ₄₈₃	26,38	12	D _{1,67} a,b	0,33	12	B _{1,16a} ,b	0,31
	28	10	C _{1,774}	170,17	10	D _{1,91} b,c	0,13	9	B _{1,68} b,c	0,08
	56	10	F _{493a}	38,86	10	E _{1,72} b,c	0,31	10	F _{0,88} b,c	0,14

a, b, c = $P < 0,05$ (signifikantnost razlika između skupina u jednom intervalu pokusa)
A, B, C, D, E, F = $P < 0,05$ (signifikantnost razlika između skupina u različitim intervalima pokusa)

na A u hrani štetno djelovale vjerojatno na sintezu plazmatskih proteina pokusnih pilića.

Najveće koncentracije albumina u plazmi nađene su u pilića iz kontrolne skupine, nakon 14 dana pokusa, a najmanje u pilića III skupine koji su dobivali u hrani ohratoksina A u količini od 5,0 ppm (tablica 1).

Takve su vrijednosti dobivene i nakon 28. dana pokusa. U posljednjem razdoblju pokusa najveću koncentraciju plazmatskih albumina našli smo u pilića II skupine. III skupina imala je tijekom pokusa značajno najmanji sadržaj albumina u plazmi. Dobiveni rezultati pokazuju da je koncentracija od 0,5 ppm ohratoksina A u hrani vrlo vjerojatno djelovala stimulatивно na sintezu albuminu i povećanje njihove koncentracije u plazmi pilića u trećem razdoblju (56. dana), a u prvom (14. dana) i drugom razdoblju (28. dana) pokusa depresivno. Isto tako valja pretpostaviti da je količina od 5,0 ppm ohratoksina A u hrani djelovala depresivno na sintezu albumina te njihov sadržaj u plazmi pokusnih pilića tijekom pokusa.

Nalazi pojedinih globulinskih frakcija prikazani su u tablici 2. Najmanje koncentracije alfa₁-globulina u plazmi nakon 14. dana pokusa nađene su u pilića III skupine, značajno manje nego u pilića II i I skupine ($P < 0,05$). Količina od 0,5 ppm ohratoksina A u hrani povećala je naprotiv koncentracije alfa₁-globulina u plazmi pokusnih pilića. Nakon 28. dana pokusa rezultati pokazuju da su obje koncentracije ohratoksina A djelovale na smanjenje sadržaja alfa₁-globulina odnosno smanjivale sintezu alfa₁-globulina. Osobito je taj učinak jako izražen kod III skupine pilića koja je u hrani primala 5,0 ppm ohratoksina A. Na završetku pokusa (56. dan) dobiveni rezultati pokazuju slične odnose kao i nakon 14 dana pokusa.

Pilići III skupine imali su značajno manje alfa₁-globulina od pilića kontrolne i II skupine. Za taj posljednji interval nalazimo da je ovaj put količina od 0,5 ppm ohratoksina A djelovala stimulatивно na sadržaj alfa₁-globulina u plazmi pokusnih pilića.

U prvom razdoblju pokusa (14. dan) najveće koncentracije alfa₂-globulina nađene su u pilića kontrolne skupine, a značajno najmanje u pilića III skupine (tablica 2, $P < 0,05$). U tom razdoblju uočen je značajan utjecaj ohratoksina A na koncentraciju alfa₂-globulina plazme naročito kod koncentracije od 5,0 ppm ohratoksina A u hrani. U drugom razdoblju pokusa (28. dan), obje koncentracije ohratoksina A hrane, značajno su snizivale sadržaj alfa₂-globulina u plazmi da bi u posljednjem razdoblju pokusa II skupina pilića pokazivala značajno najveću koncentraciju alfa₂-globulina plazme. Podaci za alfa₂-globuline plazme pokazuju da su obje koncentracije ohratoksina A negativno utjecale na koncentraciju alfa₂-globulina te snizivale njihovu koncentraciju u plazmi s razlikom da je viša koncentracija (5,0 ppm) ohratoksina A u hrani djelovala negativnije i jače od niže koncentracije (0,5 ppm). Nakon 14. dana pokusa najniže koncentracije beta-globulina nađene su u pilića III skupine, značajno niže nego u pilića I i II skupine (tablica 2, $P < 0,05$). Sličan

Tablica 2.
Nalazi pojedinih globulinskih frakcija

Skupina pilića	Dani pokusa	Alfa ₁ -globulini (g/100 ml plazme)		Alfa ₂ -globulini (g/100 ml plazme)		Beta-globulini (g/100 ml plazme)		Gamma-globulini (g/100 ml plazme)		
		N	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD
I Kontrolna (komercijalna hrana)	14	5	A, D _{0,16} a	0,031	A _{0,14} a	0,029	A _{0,47} a	0,071	A, B _{0,32} a	0,076
	28	6	A, G _{0,30} a,b	0,045	A _{0,24} a,b	0,022	D _{0,37} a,b	0,053	A _{0,31} a,b	0,035
	56	10	D, C _{0,32} a	0,046	0,15a,b	0,036	D _{0,48} a	0,046	B _{0,40}	0,065
II komercijalna hrana + 0,5 ppm ohratoksina A	14	12	B, E _{0,17} b	0,044	C _{0,11}	0,045	B _{0,38} b	0,218	C _{0,16} b	0,007
	28	11	B, H _{0,08} a,c	0,021	E _{0,08} a,c	0,007	E _{0,18} a,c	0,033	E _{0,14} a	0,029
	56	9	E, H _{0,26} b	0,047	E _{0,33} a,c	0,025	E _{0,41} b	0,092	C, E _{0,41}	0,092
III komercijalna hrana + 5,0 ppm ohratoksina A	14	12	C, F _{0,10} a,b	0,025	D _{0,08} a	0,033	C _{0,22} a,b	0,041	D _{0,10} a,b	0,022
	28	9	C _{0,07} b,c	0,014	F _{0,08} b,c	0,004	F _{0,12} b,c	0,240	F _{0,11} a	0,033
	56	10	F _{0,15} a,b	0,042	D, F _{0,11} b,c	0,027	F _{0,24} a,b	0,066	D, F _{0,31}	0,132

a, b, c = P < 0,05 (signifikantnost razlika između skupina u jednom intervalu pokusa)
A, B, C, D, E, F, G, H = P < 0,05 (signifikantnost razlika između skupina u različitim intervalima pokusa)

je odnos beta-globulina nađen, 28. i 56. dana pokusa, te je i ovaj put najniža koncentracija beta-globulina nađena u pilića III skupine. Rezultati za beta-globuline plazme pokazuju da je ohratoksin A smanjio količinu beta-globulina plazme i kod 0,5 i 5,0 ppm sadržaja hrane. Veće količine ohratoksina A u hrani imale su jači negativni učinak na plazmatske beta-globuline.

Najmanja koncentracija gama-globulina, nakon 14. dana pokusa nađena je u plazmi pilića III skupine, signifikantno manja nego u pilića I i II skupine ($P < 0,05$). I u pilića II skupine našli smo manje gama-globulina nego u pilića kontrolne skupine, no nađena razlika nije bila statistički značajna. U drugom intervalu pokusa (28. dan) nađen je isti odnos kao i u prethodnom, s tim da je utjecaj ohratoksina A bio još izražajniji. Na završetku pokusa, nakon 56 dana, statistički značajnih razlika u koncentraciji gama-globulina nije bilo.

Koncentracija gama-globulina plazme pilića kontrolne skupine tijekom pokusa neprestano se povećavala, dok je u pilića II skupine pri kraju pokusa porasla i bila signifikantno veća nego u prethodnim intervalima pokusa ($P < 0,05$). Kod pilića III skupine koncentracija gama-globulina bila je u prvom (14. dan) i drugom (28. dan) intervalu podjednaka, dok je u trećem (56. dan) intervalu pokusa bila signifikantno viša nego u prethodnim intervalima pokusa.

Značajno je naglasiti da je ohratoksin A znatno utjecao na koncentraciju gama-globulina plazme pokusnih pilića. I ovdje je veća količina ohratoksina A u hrani negativnije djelovala na koncentraciju gama-globulina od manje količine ohratoksina A u hrani. Zanimljivo je da je ohratoksin A jače djelovao na smanjivanje količine gama-globulina plazme u prvom (14. dan) a osobito u drugom (28. dan) intervalu pokusa, znači u mlađih pilića, dok je taj negativni učinak bio mnogo slabije izražen na kraju pokusa (56. dan).

Literatura

1. Rupić, V., Liker, B., Mužić, S., Bogdanić, Č., Balzer, I.: Vet. glas., 31 (1977) 725.
2. Zöllner, N., Kirsch, K.: Zschr. ges. exp. Med., 135 (1962) 545.
3. Wechselbaum, E.: Am. J. Clin. Path., 10 (1946) 40.
4. Wolfson, W. Q., Cohn, C., Calvary, E., Ichiba, F.: Am. J. Clin. Path., 18 (1948) 723.

Summary

THE EFFECT OF OCHRATOXIN A IN FEED ON THE BLOOD CONTENT OF LIPIDS AND PROTEINS IN CHICKENS

The effect of ochratoxin A in the feed on the concentration of total lipids, total proteins and albumin, and on the concentration of alpha₁, alpha₂, beta and gamma globulins in the blood plasma of chickens was investigated. The chickens of the control group were fed with a commercial feed, the chickens of the second group received the same feed mixed with 0.5 ppm ochratoxin

A and those of the third the same feed with 5.0 ppm ochratoxin A. After 56 days the concentration of 0.5 ppm ochratoxin A provoked a higher content of total lipids and total proteins in blood plasma. The concentration of 5.0 ppm ochratoxin A in feed reduced the content of total lipids, total proteins and albumin. The concentration of 5.0 ppm ochratoxin A reduced the content of alpha₁, alpha₂, beta and gamma globulins in the blood plasma of chickens.

*Institute for Veterinary Science and Zoohygiene
and Institute for Animal Nutrition,
Faculty of Agriculture,
University of Zagreb, Zagreb*

*Received for publication
September 30, 1977*