

Aflatoksin B₁ Verilmiş Newcastle'a Aşılı Civcivlerde Karaciğer Paranzimi Üzerinde Işık Mikroskopik İncelemeler

Mine YAKIŞIK*

ÖZET

Araştırmada aşılanmış civcivlerin karaciğerlerinde kronik aflatoksikozisin etkileri incelenmiştir. Bu amaçla, civcivlere 5 mikrogram/ civciv/gün Aflatoxin B₁ 2 ay süre ile içme sularında verilmiştir. Civcivlere Newcastle hastalığına karşı aşı programları uygulanmıştır. Aşılamalardan 15'er gün sonra civcivler öldürülerek karaciğerleri alınmış ve histolojik yönden incelenmiştir. İncelemeler sonunda karaciğer epitel hücrelerinde vakuolizasyon, yağ dejenerasyonu, safra kanallarında proliferasyon ve epitellerinde hiperplazi, aynı safra kanalları çevresinde yaygın lenf nodülleri tesbit edilmiştir.

Aşılanmış aflatoksikozisli civcivlerde karaciğer yapısının, aşılanmış aflatoksin almayanlara göre bozulduğu ve yapı değişikliğinin dikkat çekici olduğu görülmüştür.

* Yard. Doç. Dr.; U.Ü. Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı, Bursa-Türkiye.

SUMMARY

A Light Microscopic Study on Liver Parenchyma of Chicks Treated with Aflatoxin B₁ and Vaccinated for Newcastle Disease

In this study the effects of chronic aflatoxicosis on vaccinated chick livers were investigated. For this purpose aflatoxin B₁ (5 microgram/chick/day) was given daily in drinking water for two months. The chicks were vaccinated for four times against Newcastle disease. The livers of the chicks were taken for histological examinations 15 days after each examination. The vacuolization and lipid degeneration of hepatocytes, proliferation of bile ducts, hyperplasia of bile duct epithelia and diffuse lenfoid nodules were observed on each liver samples examined.

The degree of damage on structure of livers taken from vaccinated and aflatoxin treated chicks were more prominent than those samples taken but non-treated chicks.

Key words: Aflatoxin B₁, Chicks, Aflatoxicosis, Liver, NDV vaccine.

GİRİŞ

Aflatoksinler genellikle yem maddelerinde *Aspergillus flavus* tarafından üretilen metabolitlerdir^{1.2.3.4.5.6}. Bu metabolitlerden en önemlisi aflatoksin B₁'dir. Aflatoksinler, büyümenin yavaşlamasına, akut ve kronik karaciğer hastalıklarına, karaciğer tümörlerinin şekillenmesine ve değişik hayvan türlerinde karsinogenik etkiye sebep olurlar. Aflatoksinin etkilerinin çoğu, hücrelerde protein sentezi yeteneğinin azalmasını ortaya çıkarır. Bu da immunogenezisi baskı altında tutar⁵.

Aflatoksinlerin karaciğer paranzimi üzerine histolojik etkilerini Krishna-machari ve arkadaşları⁷ insanlarda; Giambrone ve arkadaşları^{1.2.3.4} hindi ve broiler tipi tavuklarda; Butler ve Neal⁸ Choline noksanı diyetle besledikleri sıçanlarda; Slowik ve arkadaşları⁹ Pekin ördeğinde; Pier ve Heddleston⁵ hindilerde; Toskulkao ve arkadaşları¹⁰ ethanol uyguladıkları erkek Wistar sıçanlarda; Park¹¹ *Clonorchis sinensis*'le enfekte edilmiş sıçanlarda; Dafalla ve arkadaşları¹² yağlı ve hemorajik karaciğerli damızlık tavuklarda incelemişlerdir.

Tavuklarda deneysel olarak oluşturulan aflatoksikozisin immun sistem hücreleri ve antikor oluşumu üzerine etkilerini Özer ve arkadaşları¹³; Özcan¹⁴; Giambrone ve arkadaşları^{1.2.3.4}; Thaxton ve arkadaşları¹⁵; Pier ve Heddleston⁵; Galikeev ve arkadaşları¹⁷ incelemişlerdir.

Mert ve arkadaşları¹⁸, kronik aflatoksikozisli civcivlerde kan glukozu, total kolesterol, total protein ve ürik asit düzeylerini incelemişler, Yaman ve arka-

daşları¹⁹ ise, kronik aflatoksikozisli piliçlerde hematolojik araştırmalar yapmışlardır.

Kanatlılarda çok sık uygulanan aşılamalar metabolik denge üzerinde farklı tepkiler yaratmaktadır^{13,20}. Bu tepkiler, hayvanların davranışlarında, lenfoid sistem organlarında görüldüğü gibi, sindirim sisteminde ve özellikle karaciğerde de gözlenebilmektedir^{18,19}.

Araştırmamızda aflatoksikozisin protein sentezini baskı altında tutup, immunogenezi etkilemesinden yola çıkarak, deneysel olarak oluşturduğumuz kronik aflatoksikozisli civcivlerde Newcastle hastalığına karşı aşılamalardan sonra karaciğer paranziminde görülecek histolojik değişiklikleri incelemeyi amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

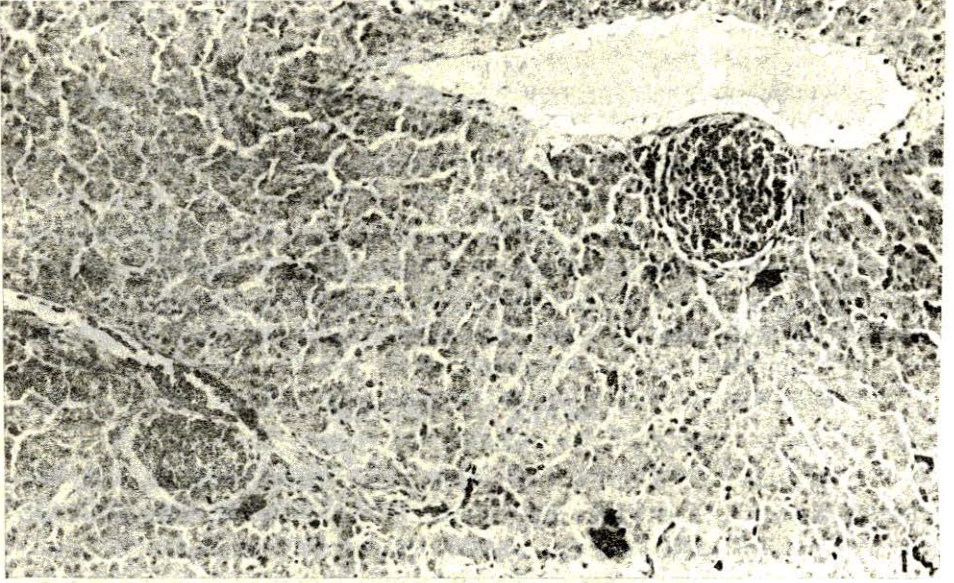
Araştırma için alınan 32 adet günlük civciv 2 gruba ayrılarak, deney grubuna Aflatoxin B₁ 2. günden itibaren kronik aflatoksikozis oluşturacak düzeyde-5 mikrogram/gün/civciv-¹³ içme sularında eritilerek 2 ay süreyle verildi. Kontrol grubu civcivler ise aynı yaşam koşullarında normal yem ve su ile beslendiler.

Deneme ve kontrol grubu civcivlerde 14. ve 28. günlerde 2 göz-burun (Hitchner B₁) ve 45. ve 150. günlerde iki kas içi (Roakin) Newcastle aşısı yapıldı. Aşılamalardan 15'er gün sonra her iki gruptan da alınan karaciğer parçaları % 10 formolde tesbit edildiler ve uygun teknik işlemlerden geçirildikten sonra parafinde bloklandılar. Bloklardan elde edilen 5-7 mikronluk kesitler Hematoksilin-Eosin²¹ ve Mc Manus'un PAS²² tekniği ile boyanıp ışık mikroskobunda incelendiler.

BULGULAR

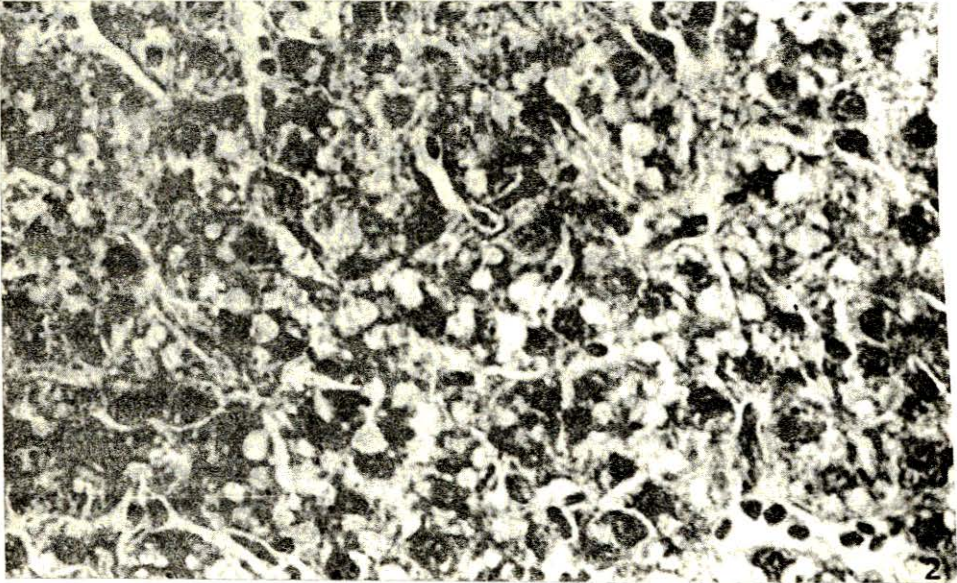
Aşılamalardan sonra incelediğimiz kontrol grubu karaciğer kesitlerinde, kanatlı karaciğerinin esas yapı itibarı ile memeli karaciğeri ile benzerlik gösterdiği, ancak interlobuler septumlardan yoksun olduğu için belirgin bir lobcuk kavramına rastlanmadığı tesbit edilmiştir. Paranzimi, sinuzoitlerle çevrili hücre kordonlarının oluşturduğu ve bu hücre kordonları arasında küçük safra kanalcıklarının birleşmesiyle oluşan büyük çaplı safra kanallarının yer aldığı belirlenmiştir. 1. ve 2. kas içi aşılamalardan sonra incelediğimiz kesitlerde, paranzimde yer yer lenfosit infiltrasyonlarına ve lenf nodüllerine (Resim: 1) rastlanmıştır. PAS tekniği ile boyayıp incelediğimiz kesitlerde safra kanallarını döşeyen hücrelerin apikal yarımaları ile paranzim hücrelerinin PAS pozitif reaksiyon gösterdiği tesbit edilmiştir.

İncelediğimiz deney grubu kesitlerinde, karaciğer epitel hücrelerinde vakuolizasyon (Resim: 2), safra kanallarında proliferasyon (Resim: 3) ve epitelle-



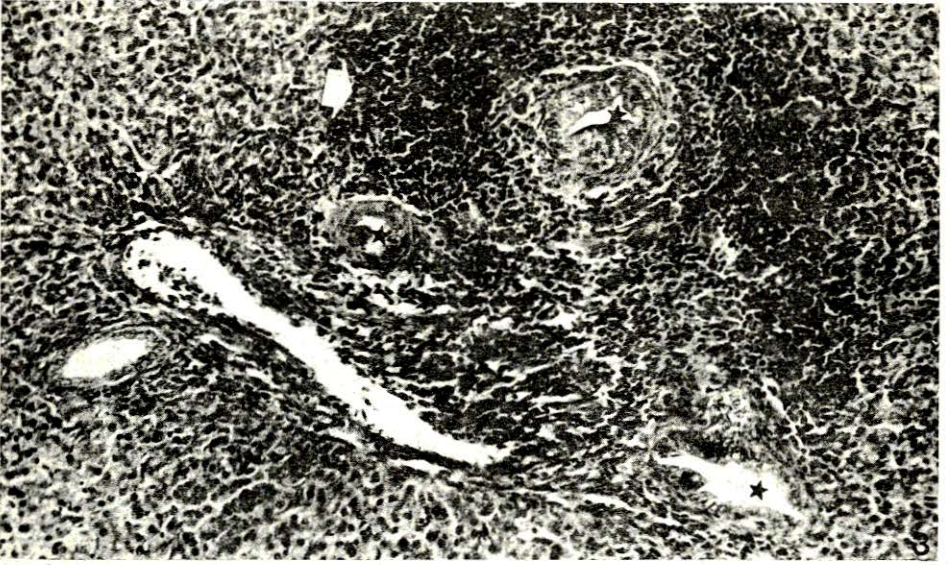
Resim: 1

*Damarlar çevresinde lenf nodülleri (oklar).
(H.E. Lenfoid nodules around blood vessels (arrows))*



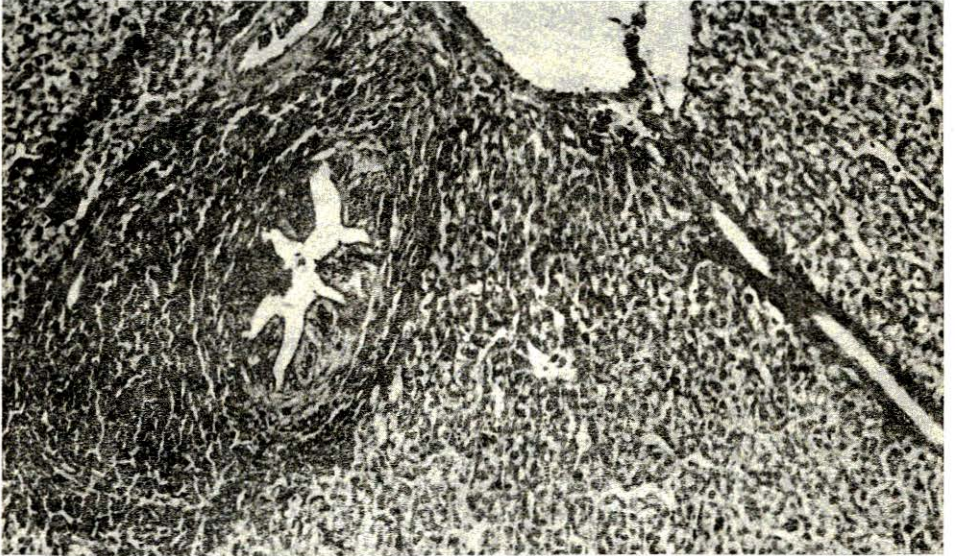
Resim: 2

*Karaciğer epitel hücrelerinde vakuolizasyon.
(H.E. Vacuolization of liver epithelial cells).*



Resim: 3

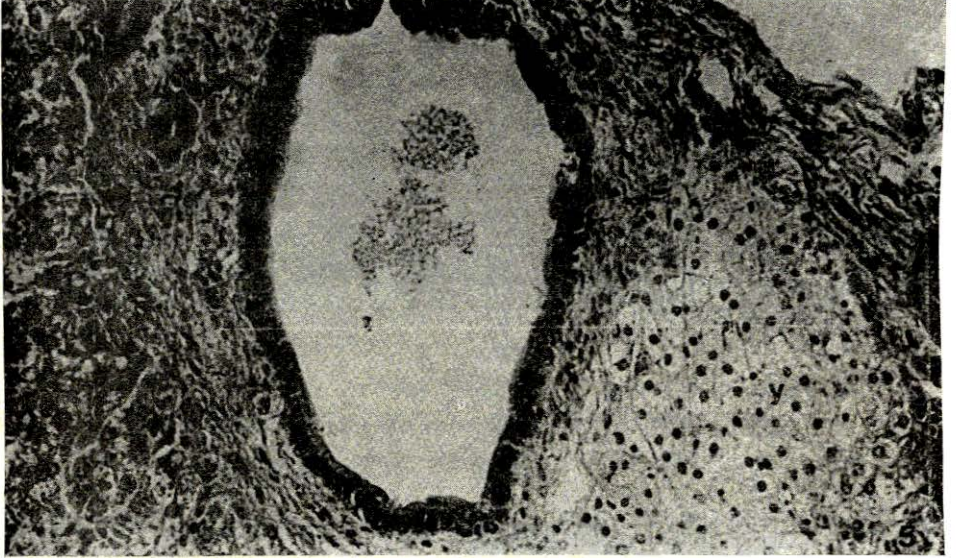
Safra kanallarında proliferasyon (★) ve çevrelerinde lenf nodülü (ok). (H.E. Proliferation of bile ducts (★) and lenfoid nodule around them (arrow)).



Resim: 4

Safra kanalı epitel hücrelerinde hiperplazi (★) ve çevresinde lenf nodülü (ok). (H.E. Hyperplasia of duct epithelia (★) and lenfoid nodule around it (arrow))

rinde hiperplazinin (Resim: 4) ileri derecede olduğu gözlenmiştir. Hücreleri hiperplazik kanalların çevresinde lenf nodülleri görülmüştür (Resim: 3, 4). Bazı safra kanalları yakınında da paransim hücrelerinin yağ dejenerasyonuna uğradıkları tesbit edilmiştir (Resim: 5). PAS ile boyayıp incelediğimiz kesitlerde safra kanallarını döşeyen epitellerin apikal yarımalarında ve karaciğer paransim hücrelerinde kontrol grubunda görülen PAS pozitif reaksiyonun azaldığı saptanmıştır.



Resim: 5

Karaciğer paransiminde fokal yağ dejenerasyonu (y).
(H.E. Focal lipid degeneration in liver parenchyma (y))

TARTIŞMA VE SONUÇ

Aflatoxin B₁ etkisini en çok karaciğerde paransimi oluşturan hücreler ve safra kanallarında göstermektedir. Dafalla ve arkadaşları¹², Slowik ve arkadaşları⁹ ve Giambone ve arkadaşları^{1.2.3.4} hepatositlerde vakuolizasyon, Jones ve Hunt²³ bunlara ilaveten hepatositlerde yağ dejenerasyonları, paransim kaybı, piknoz ve nekroz saptamışlardır. Krishnamachari ve arkadaşları⁷, araştırmasında karaciğer hücrelerini, köpüksü sitoplazmaya sahip hücreler olarak tarif etmiş ve çok çekirdekli dev hücrelerinden bahsetmiştir. Slowik ve arkadaşları⁹, Toskalkao ve arkadaşları¹⁰ ve Dafalla ve arkadaşları¹² ise, hepatositlerde fokal adipoz dejenerasyonu gözlemişlerdir. Pier ve Heddleston⁵, karaciğer epitel kordonlarında orientasyonun bozulduğunu, kordonların yuvarlaklaşarak tüpçük benzeri

yapılara dönüştüklerini bildirmiştir. Araştırmamızda kronik aflatoksikozis sonucunda karaciğer epitellerinde yaygın vakuolizasyon ve fokal yağ dejenerasyonuna rastladık.

Jones ve Hunt²³ ve Giambro ne ve arkadaşları^{1.2.3.4}, aflatoksikozis sonucunda safra kanallarında proliferasyon görüldüğünü, Pier ve Heddlestone⁵ ve Giambro ne³ ise, safra kanallarını döşeyen epitellerde hiperplazinin oluştuğunu tespit etmişlerdir. Araştırmamızda safra kanallarının çoğunda kanal epiteli hiperplazisi ile kanallarda proliferasyon gözlemlendi.

Dafalla ve arkadaşlarının¹² aflatoksikozisli tavukların karaciğer paranziminde varlığından bahsettikleri lenf nodüllerine, biz yaygın bir şekilde safra kanalları çevresinde rastladık.

Kontrol grubu kesitlerde rastladığımız damar çevresindeki lenfosit infiltrasyonları ve lenf nodüllerinin varlığından hiçbir araştırmacı bahsetmemiştir.

Hodges²⁴, kanatlıların normal karaciğer safra kanallarını döşeyen epitellerin apikal yarımalarının PAS ile boyandıklarında pozitif reaksiyon verdiklerini bildirmiştir. Yaptığımız çalışmada kontrol grubu hayvanlarda karaciğer epitel hücrelerinde ve safra kanalları epitellerinin apikal yarımalarında PAS pozitif reaksiyonu tesbit ettik. Ancak aflatoksikozisli hayvanlarda PAS pozitif reaksiyonun azaldığını gösteren bulgumuzdan bahseden bir araştırmaya rastlayamadık.

1. ve 2. kas içi aşılamalardan sonra kontrol grubu kesitlerde damarlar çevresinde rastladığımız lenfosit infiltrasyonları ve lenf nodüllerine deney grubu hayvanlarda rastlayamadık. Bu olgunun, hayvanlara uygulanan canlı aşılamalara bağlı bir tepki olduğu, deney grubunda ise, aflatoksikozis sonucu böyle bir tepkinin ortadan kalkmış olabileceği düşüncesindeyiz.

Sadece deney grubu kesitlerinde tesbit ettiğimiz, epitelleri hiperplazik ve proliferatif safra kanalları çevresinde yoğunlaşmış lenf nodülleri, paranzim hücrelerinde vakuolizasyon ve yağ dejenerasyonu olguları aşılama aflatoksikozisli civciv karaciğerlerinde yapılaşmada farklılığın daha da fazla oluştuğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. GIAMBRONE, J.J., EWERT, D.L., WYATT, R.D., EIDSON, C.S.: Effect of Aflatoxin on the Humoral and Cell-Mediated Immune System of the Chicken, American Journal of Veterinary Research, 39: (2), 305-307 (1978).
2. GIAMBRONE, J.J., DIENER, U.L., DAVIS, N.D., PANANGALA, V.S., HOERR, F.J.: Effect of Purified Aflatoxin on Turkeys. Poultry Science, 64: 859-865 (1985).

3. GIAMBRONE, J.J., DIENER, U.L., DAVIS, N.D., PANANGALA, V.S., HOERR, F.J.: Effects of Purified Aflatoxin on Broiler Chickens. *Poultry Science*, 64: 852-858 (1985).
4. GIAMBRONE, J.J., DIENER, U.L., DAVIS, N.D., PANANGALA, V.S., HOERR, F.J.: Effects of Aflatoxin on Young Turkeys and Broiler Chickens. *Poultry Science*, 64: 1678-1684 (1985).
5. PIER, A.C., HEDDLESTON, K.L.: The Effect of Aflatoxin on Immunity in Turkeys. I. Impairment of Actively Acquired Resistance to Bacterial Challenge. 107th Annual Meeting of the American Veterinary Medical Association, Poultry Section, Las Vegas, Nevada (1970).
6. MİNBAI, A.: Tavukçuluğu Etkileyen Önemli Mikotik Hastalıklar. Türkiye IV. Tavukçuluk Kongresi Tavukçuluk Derneği Yayını (1986).
7. KRISHNAMACHARI, K.A.Y.R., BHAT, R.V., NAGARAJAN, V., TILAK, T.B.G.: Hepatitis due to Aflatoxicosis. *The Lancet* 1061-1063 May 10 (1975).
8. BUTLER, W.H., NEAL, G.E.: The Effect of Aflatoxin B₁ on the Hepatic Structure and RNA Synthesis in Rats Fed a Diet Marginally Deficient in Choline. *Cancer Research*, 33: 2878-2885 (1973).
9. SLOWIK, J., GRACZYK, S., MADEJ, J.A.: The Effect of a Single Dose of Aflatoxin B₁ on the Value of Nucleolar Index of Blood Lymphocytes and on Histological Changes in the Liver, Bursa Fabricii, Suprarenal Glands and Spleen in Ducklings. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 23: (1-2) 71-80 (1985).
10. TOSKULKAO, C., YOSHIDA, T., GLINSUKON, T., KUROIWA, Y.: Potentiation of Aflatoxin B₁ Induced Hepatotoxicity in Male Wistar Rats With Ethanol Pretreatment. *The Journal of Toxicological Sciences*, 11: 41-51 (1986).
11. PARK, H.K.: Effect of Clonorchis Sinensis Infection on the Histopathology of the Liver in Rats Administered Aflatoxin B₁. *Jpn. J. Parasitol.*, 38: (4), 198-206 (1989).
12. DAFALLA, R., HASSAN, Y., ADAM, S.E.I.: Fatty and Hemorrhagic Liver and Kidney Syndrome in Breeding Hens Caused by Aflatoxin B₁ and Heat Stress in the Sudan. *Vet. Bulletin*, 5: (12), 1017/7775 (1987).
13. ÖZER, A., MİNBAI, A., ÖZCAN, Z., YAKIŞIK, M., ÇARLI, T.: Deneysel Aflatoxin Zehirlenmesinin Tavuklarda Immun Mekanizma Hücrelerine ve Antikor Oluşumuna Etkisi. *Doğa, Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi* 13: (2), 164-170 (1989).

14. ÖZCAN, Z.: Tavuklarda Aflatoxinin Etkisinde Plazma Hücrelerinin Histometrik ve Histomorfolojik İncelenmesi, A.Ü. Vet. Fakültesi Dergisi 31: (1), 137-153 (1984).
15. THAXTON, J.P., TUNG, H.T., HAMILTON, P.B.: Immunosuppression in Chickens by Aflatoxin. Poultry Science, 53: 721-725 (1974).
16. GALIKEEV, Kh. L., RAIPOX, O.R., MANYASHEVA, R.A.: Effect of Aflatoxin on Dynamics of Antibody Formation. Bull. Exp. Biol. Med. 65: 88-90 (1968).
17. LANZA, G.M., WASHBURN, K.W., WYATT, R.D.: Variation with age in Response of Broilers to Aflatoxin. Poultry Science. 59: (2), 282-288 (1980).
18. MERT, N., YAKIŞIK, M., ANTAPLI, M., TANRIVERDİ, M.: Civcivlerde Kronik Aflatoksikozis Üzerinde Biyokimyasal Araştırmalar. U.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi, 5-6: (1-2-3) (1986-1987).
19. YAMAN, K., YAKIŞIK, M., CENGİZ, F.: Normal ve Aflatoksin Verilmiş Piliçlerde Hematolojik Araştırmalar. U.Ü. Veteriner Fak. Derg. 7: (1-2-3) (1988).
20. KREIER, J.P., MORTENSEN, R.Y.: Infection Resistance and Immunity, Harper and Row, Publishers, New York, 294-295 (1990).
21. SMITH, A., BRUTON, J.: A Colour Atlas of Histological Staining Techniques, 2ed., Wolfe Medical Publications, London, 122-123 (1978).
22. McMANUS, J.F.A.: McManus Method for Glycogen, Stain Techn. 23: 99-108 (1948).
23. JONES, T.C., HUNT, R.D.: Veterinary Pathology. Lea and Febiger, Philadelphia, 708-712 (1983).
24. HODGES, R.D.: The Histology of the Fowl. Academic Press London, New York, San Fransisco. 100 (1974).