

## KARMA YEMLERE AVILAMİSİN VE LİZOFOSFATİDİLKOLİN İLAVESİNİN ETLİK PİLİÇLERİN KARACİĞERİNDE MEYDANA GETİRDİĞİ YAPISAL DEĞİŞİKLİKLER

Hatice ERDOST\*

### ÖZET

*Bu çalışmada, karma yemlere katılan avilamisin ve lizofosfatidil-kolinin etlik piliçlerin karaciğerinde meydana getirebilecekleri yapısal değişikliklerin histolojik ve histoşimik yöntemler ile saptanması amaçlanmıştır.*

*Kırkdört gün sürdürülen araştırmada, kontrol grubu piliçler normal rasyonla beslenirken, I, II. ve III. deney grupları için hazırlanan yemlere sırasıyla 10mg/kg avilamisin, 0,25g/kg lizofosfatidilkolin ve 10mg/kg avilamisin+0.25g/kg lizofosfatidilkolin katılmıştır. Besleme denemeleri tamamlanınca karaciğerlerden alınan doku örnekleri histoloji tekniğine uygun işlemlerden geçirilmiştir.*

*Histolojik incelemeler sonucunda avilamisin ilaveli yemlerin karaciğer epitel hücrelerinde PAS pozitif reaksiyonu arttırdığı ve lipidin hücre içinde daha az birikimine neden olduğu saptanırken, lizofosfatidilkolin ilaveli yemlerin karaciğer epitel hücrelerindeki lipid birikimini arttırdığı belirlenmiştir. Lizofosfatidilkolin+avilamisin ilavesi yapılan deney grubunda ise hem lipid hem de glikojen birikiminde artış saptanmıştır.*

*Anahtar Kelimeler: Etlik piliç, avilamisin, lizofosfatidilkolin, karaciğer, histoloji.*

\* Yrd. Doç. Dr.; U.Ü. Vet. Fak., Histoloji Anabilim Dalı, Bursa-TÜRKİYE.

## SUMMARY

### Structural variation on the liver of the chicken fed with diet supplementation of avilamycin and lysophosphatidylcholine

*The purpose of this study was to determine the structural effect of avilamycin and lysophosphatidylcholine, supplemented to mixed feeds, on the liver of the chicken with histological and histochemical methods.*

*The experiment was lasted 44 days. Feeds prepared for the 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> experimental groups were supplemented with 10mg/kg avilamycin, 0,25g/kg lysophosphatidylcholine and 10mg/kg avilamycin+0,25g/kg lysophosphatidylcholine respectively, whereas the control group was fed with normal diet. At the end of the research, liver samples were taken and the routine histological methods were applied.*

*It was observed that PAS positive reaction increased and lipid content decreased in the hepatocytes by supplemented with avilamycin. However lipid content increased in the hepatocytes by supplemented with lysophosphatidylcholin. Supplemented lysophosphatidylcholine+ avilamycin in the experimental group increased both lipid and glicogen accumulation.*

*Key words: Broiler, avilamycin, lysophosphatidylcholine, liver, histology*

## GİRİŞ

Hayvansal üretimin artırılması için genotipik verim potansiyelleri en yüksek hayvanlara sahip olmak ve en mükemmel yetiştirme şartları sağlamak her zaman yeterli olmayabilir. Bunların yanısıra hayvanın uygun olmayan çevre koşullarında yemden yararlanmanın en üst düzeye çıkarılması, direncinin artırılması ve sağlığının korunması için ilaç, biyolojik maddeler ile yem katkı maddelerinin kullanılmasına ihtiyaç vardır<sup>1</sup>.

Lizofosfatidilkolin (spesifik fosfolipid) yağların sindirim ve emiliminde rol alan spesifik bir fosfolipiddir<sup>2</sup>. Fosfolipidler güçlü surfactant olarak sindirim sisteminde önemli bir görev almaktadır. Bu maddeler safra salgısının doğal bileşenleri olup yemlerde de bulunmaktadır<sup>3</sup>. Lizofosfatidilkolin'in moleküler bazda sadece bir yağ asidi içermesi nedeniyle diğer fosfolipidlere göre daha fazla suda eriyebildiği ve diğer fosfolipidlerden daha etkili bir emülsifiyer özellik gösterdiği belirtilmektedir<sup>4</sup>. Fosfolipid molekülleri lipofilik ve hidrofilik özelliklerin bir kombinasyonuna sahiptir<sup>5</sup>. Fosfolipid grubunda yer alan lesitin serbest yağ asitleri ve kolesterol emilimini kısmen inhibe ettiği saptanırken lizofosfatidilkolinin böyle bir etki göstermediği bildirilmektedir<sup>6-8</sup>. Genç hayvanlarda doymuş yağ asitlerinin doymamış yağ asitlerine göre daha güç emilebildiği ve buna bağlı olarak da yemlere ilave

edilen lizofosfatidilkolinin genç hayvanların performansını önemli derecede iyileştirdiği saptanmıştır<sup>3</sup>. İnce bağırsağın epitel yüzeyi üzerindeki sıvı tabaka lipid absorpsiyonu için önemli bir bariyerdir. Miseller, bağırsak mukozasını kaplayan bu tabaka içine kolayca girerek daha fazla emilim şekillendirmektedir. Böylece misellerin varlığı ile lipidlerin, özellikle kolesterol ve yağ asitlerinin absorpsiyon oranı artar. Lizofosfatidilkolinin diğer fosfolipidlerin oluşturduğu misellere göre daha küçük daha stabil miseller şekillendirdiği ve yağ asitlerinin, özellikle de doymuş yağ asitlerinin absorpsiyonunda belirgin bir artışa yol açtığı bildirilmiştir<sup>2,3</sup>. Lizofosfatidilkolin küçük küre şeklindeki miseller içine organize olabildiği gibi, membranlardaki lipid bölgeleri içine girdiği ve bağırsakların hücresele yüzeylerine bağlanabildiği de bildirilmiştir<sup>7,9</sup>. Lizofosfatidilkolin, yağ asitlerinin mukozal trigliseridler içerisine dahil olmasını artırarak, oleik asit absorpsiyonunu da arttırmıştır<sup>6</sup>. Hücre membranları boyunca minerallerin taşınmasında etkili olduğu ve proteinleri bağlayabildiği üzerinde de durulmaktadır<sup>2,10</sup>. İnce bağırsak epitel hücrelerinde membran geçirgenliğini arttırmak suretiyle K, Ca, ve Mg gibi önemli minerallerin absorpsiyonunu fazlaştırdığı belirtilmektedir<sup>10</sup>. Gastrointestinal kanaldaki enzimatik yıkımdan sonra besin maddelerinin absorpsiyonunu ve dolayısıyla yemden yararlanma ile hayvanların performansını önemli oranda arttırmaktadır<sup>5</sup>. Lizofosfatidilkolin diğer fosfolipidler ile karşılaştırıldığında lipid absorpsiyonunda çok farklı etkilere sahip olduğu belirtilmektedir<sup>2</sup>. Bir çok araştırmacı<sup>5,11,12</sup> tarafından Lysoforte<sup>R</sup> (lizofosfatidilkolin içeren ticari preparat) katılan yemlerle beslenen kanatlı hayvanlarda yemden yararlanma değerlerinin önemli oranda iyileştiği saptanmıştır. Ratlar üzerinde yapılan bir araştırmada<sup>8</sup> lesitin serbest yağ asitlerinin ince bağırsaklardan emilimini azalttığı, lesitin yerine lizofosfatidilkolin kullanıldığında ise serbest yağ asitlerinin absorpsiyon oranlarının arttığı saptanmıştır. Yine lizofosfatidilkolinin ratlarda yağ asitlerinin absorpsiyonunu kamçıladiğı ve oleik asit emilimini de arttırdığı ileri sürülmektedir<sup>13</sup>.

Huyghebaert ve ark.<sup>14</sup> etlik piliçlerde lizofosfatidilkolinin yağ sindirilebilirliği, azot tutulumu ve rasyonun metabolize olabilir enerji değeri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Deneme grubundaki hayvanların rasyonlarına 1 g/kg düzeyinde Lysoforte<sup>R</sup> katılarak araştırmanın sonunda Lysoforte<sup>R</sup> katkısının yağ sindirilebilirliğini % 66.4'den % 68.8'e, azot tutulumunu 655kj/kg'dan 663 kj/kg'a, metabolik enerjiyi ise 13.183 mj/kg'dan 13.246 mj/kg'a yükselttiğini belirlemişlerdir (P>0.05). Etlik civciv rasyonlarına Lysoforte<sup>R</sup> katılmasının performans üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla yapılan bir başka çalışmada<sup>15</sup> deney gruplarının yemlerine 0,025 g/kg, 0,5 g/kg ve 1g/kg dozda Lysoforte<sup>R</sup> ilavesi yapılmıştır. Toplam 42 gün sürdürülen araştırma sonunda yemlerine Lysoforte<sup>R</sup> katılan grupların yemden yararlanma oranlarında kontrol grubuna göre (P<0.01) bir iyileşme olduğu belirlenmiştir. Belçika'da Louvain Üniversitesinde gerçekleştirilen bir

çalışmada<sup>5</sup> etlik civciv rasyonlarına 0,5g/kg dozda Lysoforte<sup>R</sup> ilavesinin canlı ağırlık, yem tüketimi ve yemden yararlanma üzerindeki etkileri araştırılmıştır; toplam 45 gün sürdürülen araştırma sonunda Lysoforte<sup>R</sup> içeren yemlerle beslenen hayvanlarla kontrol grubundaki hayvanların yemden yararlanma oranları arasındaki farkın deney grubu lehine istatistiki olarak önemli bulunduğu ( $P<0,05$ ) ancak, canlı ağırlık ve yem tüketim değerlerinin Lysoforte<sup>R</sup> kullanımıyla istatistiki düzeyde etkilenmediği belirtilmiştir. Lysoforte<sup>R</sup>'in etlik piliç performans değerlerine etkisini belirlemek amacıyla yapılan diğer çalışmalarda<sup>11,12</sup> Lysoforte<sup>R</sup> katılmasının canlı ağırlık ve yemden yararlanma değerlerini önemli düzeyde ( $P<0,05$ ) iyileştirdiği bildirilmiştir. Bu çalışmaların yanında Samia ve ark.<sup>16</sup> hayvanların yemlerine 0,5g/kg dozda Lysoforte<sup>R</sup> katıldığında gerek karkas ağırlığı gerekse karkas randımanına ait değerlerin kontrole göre istatistiki bir öneme sahip olmadığını saptamışlardır.

Germ-free hayvanlarda yağ asitlerinin esterifikasyonunda rol alan enzim düzeyleri daha yüksektir buna bağlı olarak palmitik ve stearik asit düzeyi de artmaktadır<sup>17,18</sup>. Bu sebeple sindirim sisteminde yağ asidi emilimi germ-free hayvanlarda diğerlerine oranla daha fazla olmaktadır<sup>17</sup>. Konvansiyonel hayvanlarda primer safra asitleri bağırsaktaki mikrobiyal enzimler tarafından dehidrasyon ve dekonjugasyona uğrayarak sekonder safra asitlerini oluşturur. Bu safra asitlerinin bir bölümü karaciğerde tekrar primer safra asitlerine dönüştürülebilir. Bir çok anaerobik ve aerobik intestinal bakteri, safra asitlerinin dekonjugasyonuna yol açabilir. Bunun sonucu yağların ve diğer besin maddelerinin absorpsiyonu da bozulabilir<sup>18</sup>. Germ-free hayvanlara kolesterol içeren bir rasyon uygulandığında karaciğer ve serum kolesterol düzeylerinin konvansiyonel hayvanlardan iki kat daha fazla olduğu görülmüştür. Konvansiyonel hayvanlarda intestinal mikroorganizmaların kolesterol emilimini olumsuz yönde etkilemesi nedeniyle germ-free hayvanların konvansiyonel hayvanlara göre dışkı ile daha az kolesterol attığı da belirtilmiştir<sup>18</sup>. Konvansiyonel hayvanlarda kolesterol absorpsiyonunun iyi yapılamamasının sebebi olarak bağırsak mukozasının absorbe etme yeteneğinin azalması, ince bağırsaktaki sekonder safra asitlerinin artması ve besin maddelerinin bağırsaklardan hızlı geçişi gösterilmektedir<sup>18-21</sup>. Bağırsak mikroflorası bağırsak duvarını ve fonksiyonlarını etkileyerek çeşitli endojen ve eksojen maddeleri absorbe edilmeyen ya da toksik bileşiklere dönüştürerek istenmeyen etkilere yol açabilmektedir<sup>18</sup>. Böylece germ-free hayvanlarda büyümenin konvansiyonel hayvanlara göre daha hızlı olduğu, konvansiyonel hayvanlarda büyümenin bağırsak bakterilerinin toksik etkisiyle yavaşladığı bildirilmektedir<sup>12</sup>.

Antibiyotiklerin düşük düzeyde yemlere katılmasıyla konvansiyonel hayvanlardaki büyüme oranı hemen hemen germ-free hayvanlarla aynı düzeye getirilebilir. Avilamisin, büyümeyi kamçılayan yem katkı maddesi olarak özellikle domuz, buzağı, etlik piliç, hindi ve ruminant rasyonlarında etkili

olmaktadır<sup>22,23</sup>. Avilamisin, intestinal bakterilerin fermentasyonda kullandığı laktik asit üretimini azaltmaktadır. Laktik asit miktarındaki düşüş ince bağırsakların peristaltik hareketlerinde azalmaya yol açarak besin maddesi absorpsiyonunun daha iyi yapılmasına neden olmaktadır<sup>23</sup>. Domuz yavrularına değişik dozlarda verilen avilamisin düşük dozlarda yemlere ilavesi (5ppm) ile canlı ağırlık ve yemden yararlanmayı olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir<sup>23</sup>. Antibiyotiklerin bağırsak epitel hücrelerinde meydana getirdikleri değişikliklerle besin maddelerinin absorpsiyonunu iyileştirdiklerini belirten çok sayıda çalışma bulunmaktadır<sup>17,19-21,24</sup>.

Lizofosfatidilkolin ve avilamisin gibi yem katkı maddelerinin kanatlı hayvan rasyonlarında kullanımı hayvanların yemden yararlanma oranlarını arttırmaktadır<sup>5,14,19-21</sup>. Ancak bu yararlanma sırasında rasyonda karbonhidratlar ve trigliseridler dengeli bir şekilde olmadığında özellikle karaciğer olumsuz yönde etkilenebilmektedir<sup>25-27</sup>. Karaciğer, öncelikle kanda normal glikoz konsantrasyonunun devamı bakımından önemlidir. Vücutta karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezi büyük ölçüde karaciğerde yapılır. Karaciğer glikozun fazlasını kandan alıp depo eder, kolesterol ile fosfolipid sentezini, karbonhidrat ve proteinin fazlasını da yağa çevirerek hücre içinde saklar<sup>28</sup>. Yüksek enerjili rasyonla beslenen hayvanların karaciğerinde glikogenezis ve yağ oksidasyonu azalmaktadır. Glikogenezisin azalması sonucu karaciğerde karbonhidratlardan glikojen sentezi azalmakta buna karşılık karbonhidratlardan yağ asitlerinin sentezi hızlanmaktadır. Yağ oksidasyonunun da azalmış olması, sentezlenen yağ asitlerinin karaciğer epitel hücrelerinin sitoplazmasında trigliseridler şeklinde ve yağ damlacıkları halinde depolanmasına neden olur<sup>28,29</sup>. Bu durum özellikle kanatlı hayvanlarda oldukça olumsuz sonuçlar doğurarak, kanatlılarda karaciğer yağlanması oluşturup oldukça büyük ekonomik kayıplar şekillendirmektedir<sup>25-27</sup>.

Çalışmada etlik piliç yemlerine spesifik bir fosfolipid olan lizofosfatidilkolin ve büyümeyi hızlandıran bir yem katkı maddesi olan avilamisin ilavesiyle karaciğerde meydana gelebilecek yapısal değişikliklerin histolojik ve histoşimik yöntemler ile saptanması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Araştırmada kullanılan civcivler, karma yemlere katılan avilamisin ve lizofosfatidilkolinin etlik civcivlerin besi performansı ile bazı kan parametrelerine etkilerini incelemek amacıyla düzenlenmiş bir tez çalışmasından<sup>30</sup> sağlanmıştır.

Etlik civcivler başlangıç ve geliştirme dönemi olmak üzere birbirini takip eden iki farklı aşamada beslenmişlerdir. Bütün gruplara izokalorik ve izonitrojenik olarak hazırlanmış broyler başlangıç ve geliştirme yemleri verilmiştir. Kontrol grubu dışındaki I., II. ve III., deney grupları için hazırlanan yemlere sırasıyla 10mg/kg avilamisin, 0,25g/kg lizofosfatidilkolin ve 10mg/kg avilamisin+0,25g/kg lizofosfatidilkolin katılmıştır. Araştırmada kullanılan başlangıç ve geliştirme dönemine ait yemlerin hammadde kompozisyonları sırasıyla Tablo I ve Tablo II’de gösterilmiştir.

**Tablo: I**  
**Araştırmada Kullanılan Etlik Civciv Başlangıç Yemlerinin Ham Madde Kompozisyonları (0-21. Günler Arası)**

Ham Maddeler (%)	Kontrol	1. Deney *	2. Deney **	3. Deney ***
Mısır	43.20	43.20	43.20	43.20
Buğday	10.00	10.00	10.00	10.00
Tam Yağlı Soya	17.50	17.50	17.50	17.50
Soya Küspesi (%44 proteinli)	20.75	20.65	20.65	20.55
Balık Unu	2.99	2.99	2.99	2.99
Bitkisel Yağ	2.00	2.00	2.00	2.00
Mermer Tozu	1.25	1.25	1.25	1.25
Tuz	0.39	0.39	0.39	0.39
Dikalsiyumfosfat	1.21	1.21	1.21	1.21
DL- Metiyonin	0.11	0.11	0.11	0.11
Vit-Min Premiks	0.50	0.50	0.50	0.50
Antikoksidial	0.05	0.05	0.05	0.05
Antioksidan	0.05	0.05	0.05	0.05
Kavimix Maxus <sup>a</sup> 10 <sup>1</sup>	-	0.10	-	0.10
Lysoforte <sup>a</sup> 2 <sup>2</sup>	-	-	0.10	0.10
<b>TOPLAM</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>

1- Kavimix Maxus<sup>a</sup>-10 : 1 Kg premiks içerisinde 10.000 mg avilamisin mevcuttur.

2- Lysoforte<sup>a</sup> : 1 Kg premiks içerisinde 250 g lizofosfatidilkolin mevcuttur.

\* Yemlerine avilamisin (10mg/kg) katılan grup.

\*\* Yemlerine lizofosfatidilkolin (0.25g/kg) katılan grup.

\*\*\* Yemlerine avilamisin (10 mg/kg) + lizofosfatidilkolin (0.25g/kg) katılan grup.

Civcivler U.Ü. Veteriner Fakültesi Hayvan Sağlığı ve Hayvansal Üretim Uygulama ve Araştırma Çiftliği’nde hazırlanan bölmelerde bakılmış

ve tüm hayvanlar ad libitum olarak beslenmişlerdir. Araştırmanın 44. gününde kontrol ve deney gruplarından rastgele 10 piliç seçilerek karaciğer örnekleri alınmıştır. Alınan örnekler ışık mikroskopik düzeyde inceleme yapmak amacıyla tamponlanmış formolde ve Maximov solusyonlarında tesbit edilmişlerdir. Tesbit edilen örneklerden rutin histolojik yöntemler ile parafin bloklar hazırlanmış ve 5-7 mikron kalınlığındaki kesitlere karaciğerin yapısal özelliklerinin belirlenmesi için Crossmonn'ın üçlü boyama<sup>31</sup>, karaciğer epitel hücrelerindeki glikojenin saptanması için Mc.Manus'un Periodic-Acide Schiff (PAS)<sup>32</sup> metodu uygulanmıştır. Karaciğerde mevcut lipid varlığının ortaya konması amacıyla doku örnekleri % 10 formol- calcium solusyonunda, + 4°C de tesbit edilmiştir. Dondurma mikrotomunda 10-15 mikron kalınlığında kesitler alınarak Sudan Black-B<sup>33</sup> boyama metodu ile boyanmışlardır.

**Tablo: II**

**Araştırmada Kullanılan Etlik Cıvıv Geliştirme Yemlerinin Ham Madde Kompozisyonları (21-44. günler arası)**

Ham Maddeler (%)	Kontrol	1 Deney *	2 Deney**	3 Deney ***
Mısır	43.00	43.00	43.00	43.00
Buğday	15.00	15.00	15.00	15.00
Tam Yağlı Soya	11.80	11.80	11.80	11.80
Soya Küspesi (%44 proteinli)	22.60	22.50	22.50	22.40
Et Kemik Unu	2.00	2.00	2.00	2.00
Bitkisel Yağ	3.00	3.00	3.00	3.00
Mermer Tozu	1.10	1.10	1.10	1.10
Tuz	0.28	0.28	0.28	0.28
Dikalsiyumfosfat	0.50	0.50	0.50	0.50
DL- Metiyonin	0.12	0.12	0.12	0.12
Vit-Min Premiks	0.50	0.50	0.50	0.50
Antikoksidial	0.05	0.05	0.05	0.05
Antioksidan	0.05	0.05	0.05	0.05
Kavimix Maxus <sup>R</sup> 10 <sup>1</sup>	.	0.10	.	0.10
Lysoforte <sup>R</sup> 2	.	.	0.10	0.10
<b>TOPLAM</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>

1- Kavimix Maxus<sup>R</sup> 10 :1 Kg premiks içerisinde 10.000 mg avilaminis mevcuttur.

2- Lysoforte<sup>R</sup> : 1 Kg premiks içerisinde 250 g lizofosfatidilkolin mevcuttur.

\* Yemlerine avilaminis (10mg/kg) katılan grup.

\*\* Yemlerine lizofosfatidilkolin (0.25g/kg) katılan grup.

\*\*\* Yemlerine avilaminis (10 mg/kg) + lizofosfatidilkolin (0.25g/kg) katılan grup.

## BULGULAR

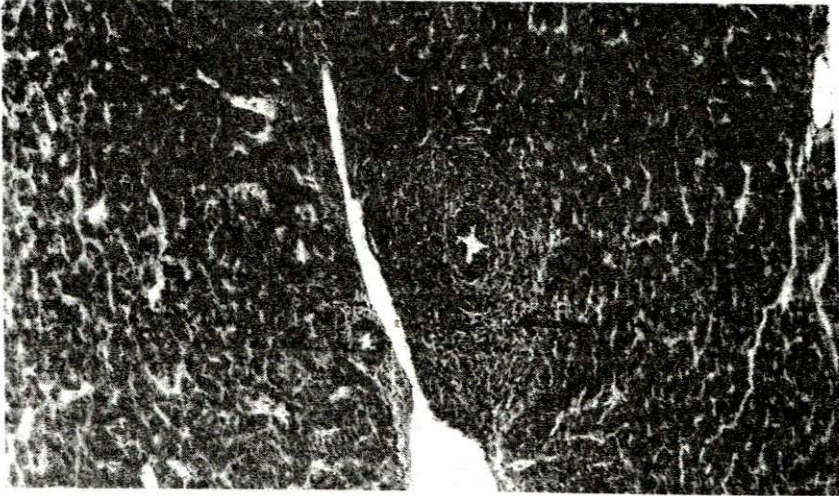
Üçlü boyama tekniği ile hazırlanan preparatlar incelendiğinde kontrol ve deney grubuna ait karaciğer örneklerinde parankim hücrelerinin poligonal şekilli olup oval ya da yuvarlak ökromatik çekirdeklere sahip olduğu saptandı. Kontrol grubunda portal alanda yer yer mononükleer hücre infiltrasyonlarına rastlandı (Resim 1). Aynı bulgular lizofosfatidilkolin verilen grupta da saptandı. Ayrıca her iki grupta da safra kanalı epitellerinde hiperplazi görüldü (Resim 2). Karaciğer parankim hücrelerinde vakuolizasyonun, kontrol ve avilamisın verilen deney gurubunda az lizofosfatidilkolin ve avilamisın + lizofosfatidilkolin verilen deney gruplarında ise belirgin olduğu görüldü (Resim 3,4)

Tablo: III

### Karaciğerde Glikojen Varlığının Mikroskopik Bulguları

	Kontrol grubu	I.Deney grubu	II.Deney grubu	III.Deney grubu
PAS(+) reaksiyon derecesi	++	+++	++	+++

- : glikojen içermeyen hepatositler      ++ : Orta decede glikojen içeren hepatositler  
+ : çok az glikojen içeren hepatositler      +++ : Yoğun glikojen içeren hepatositler  
\* : Az glikojen içeren hepatositler      ++++ : Şiddetli derecede glikojen içeren hepatositler



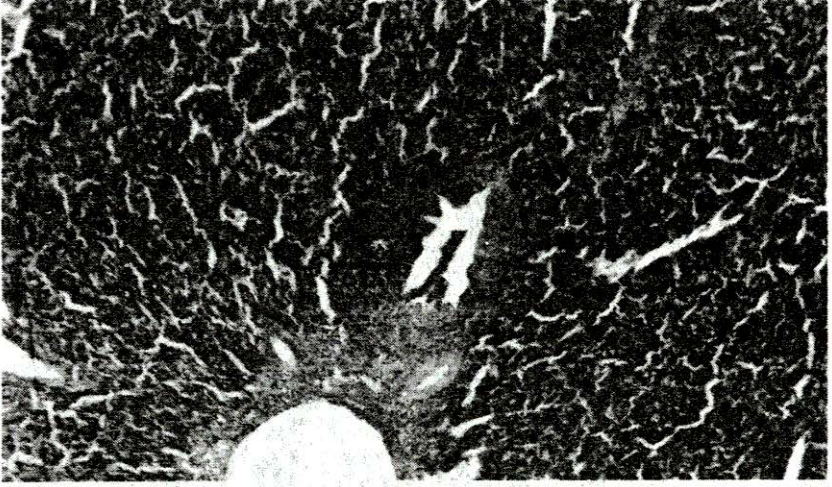
Resim: 1

Kontrol grubuna ait portal alanda mononükleer hücre infiltrasyonu (ok).

Üçlü. Boy. Tek. X 250.

Mononuclear cells infiltration in the portal area of the control group (arrow). Triple X 250.

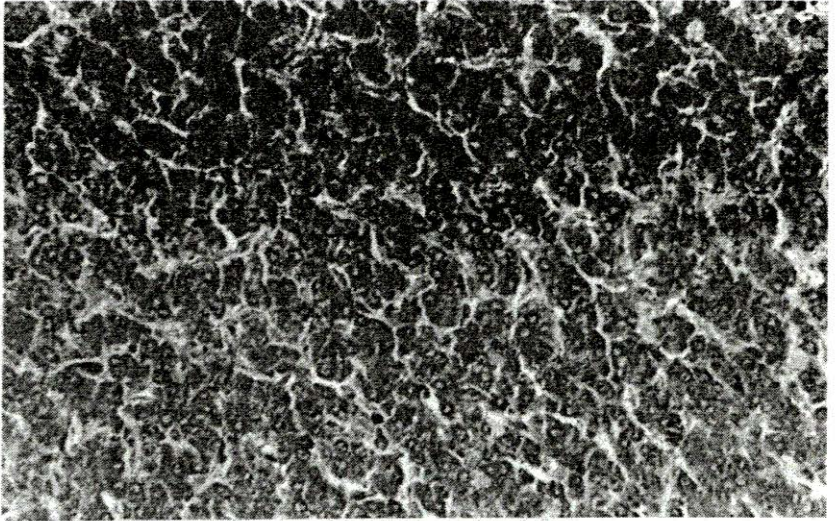




*Resim: 2*

*II. Deney grubunun safra kanalı epitellerinde proliferasyon ve mononükleer hücre infiltrasyonu (ok). Üçlü. Boy. Tek. X 250.*

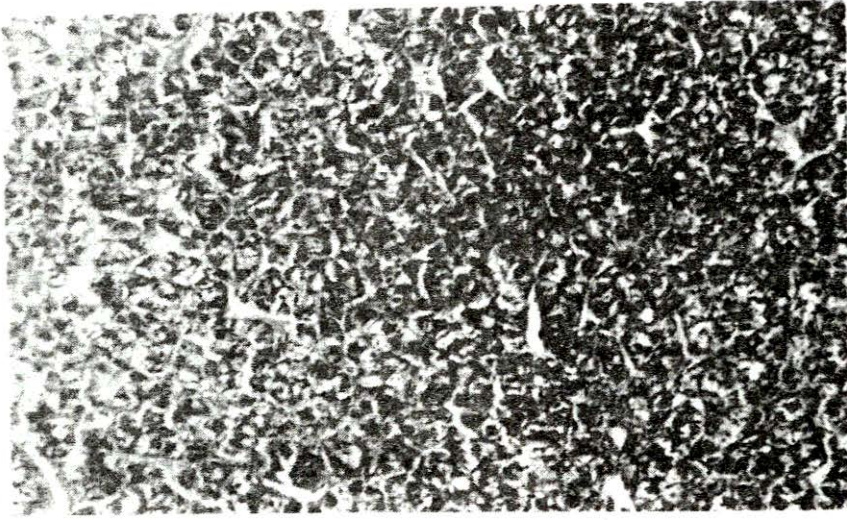
*Proliferation on the bile duct epithelia and mononuclear cells infiltration of II. Experimental group (arrow). Triple. X 250.*



*Resim: 3*

*I. Deney grubu hepatositler. Üçlü. Boy. Tek. X 600.*

*The hepatocytes of I. Experimental group. Triple X 600.*



Resim: 4

II. Deney grubu hepatositlerde vakuolizasyon. Üçlü. Boy. Tek. X 600.  
*Vacuolization in the hepatocyt's of II. Experimental group. Triple. X 600.*

Karaciğer epitel hücrelerinde bulunan glikojen miktarının mikroskopik değerlendirilmeleri PAS boyama tekniği ile hazırlanmış preparatlarda yapılmıştır. Tablo III'de kontrol ve deney gruplarına ait karaciğer örneklerinde bulunan glikojen miktarı reaksiyon derecelerine göre belirtilmiştir. Kontrol grubuna ait hepatositler orta derecede glikojen içerirlerken (Resim 5), avilamisin grubunda yoğun glikojen içeren hepatositlere rastlanmıştır (Resim 6). Lizofosfatidilkolin verilen grupta hepatositler kontrol grubuna ait hepatositler gibi orta derecede glikojen içermektedir. Avilamisin + lizofosfatidilkolin verilen grupta ise yoğun glikojen içeren hepatositler belirlenmiştir. Tüm gruplarda glikojenin vermiş olduğu PAS pozitif reaksiyonun asinusların özellikle birinci bölgesinde kuvvetli olduğu, ikinci ve üçüncü bölgelerine doğru reaksiyonun zayıfladığı görülmüştür.

**Tablo: IV**  
**Karaciğerde lipid varlığının mikroskopik bulguları**

	Kontrol grubu	I. Deney grubu	II. Deney grubu	III. Deney grubu
Yağlanma derecesi	++	++	+++	++++

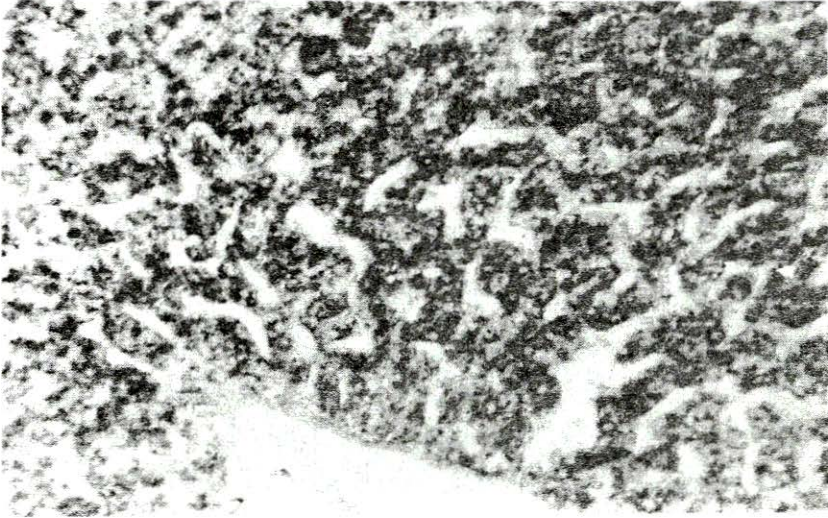
+ - : Çok az lipid içerenler

+ : Az lipid içerenler

++ : Orta derecede lipid içerenler

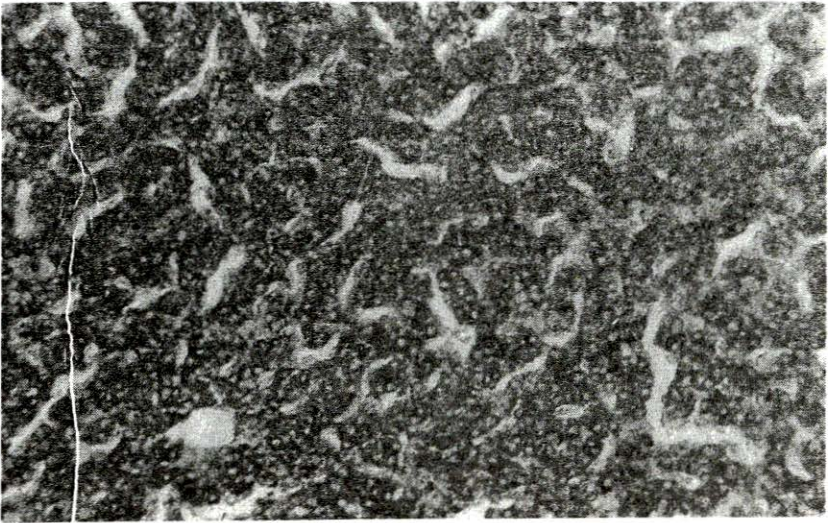
+++ : Çok lipid içerenler

++++ : Şiddetli derecede lipid içerenler



*Resim: 5*

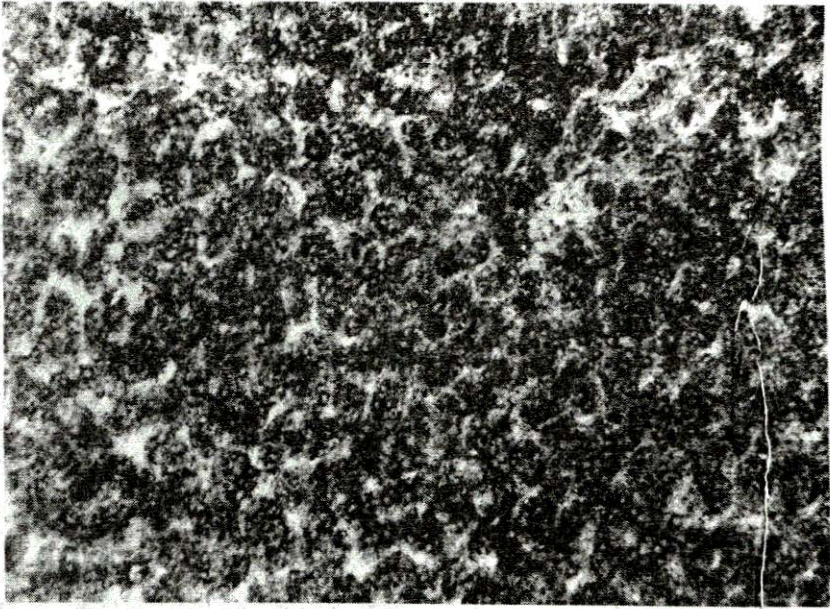
*II. Deney Grubu hepatositlerde glikojen. PAS X 500.  
Glucogen in the hepatocysts of II. Experimental group. PAS X 500.*



*Resim:6*

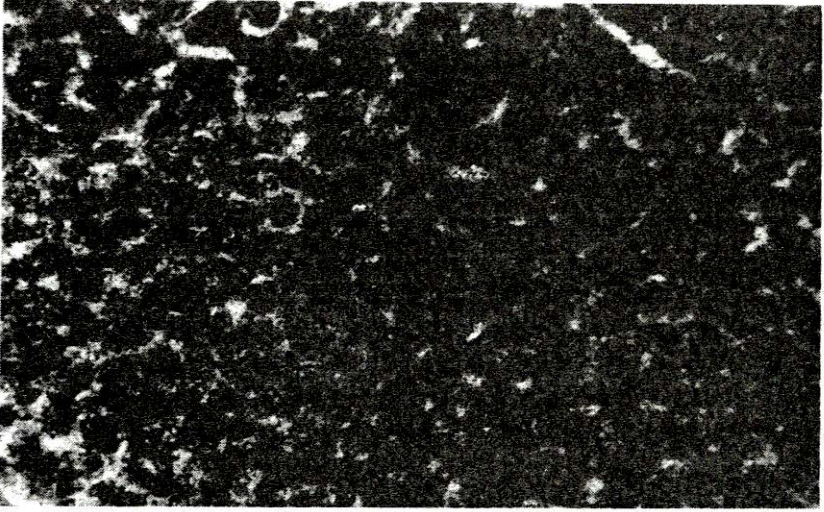
*III. Deney grubu hepatositlerde glikojen, PAS X 500.  
Glucogen in the hepatocysts of III. Experimental group. PAS X 500.*

Sudan Black B boyama yöntemiyle hazırlanan preparatlar incelenerek karaciğerde bulunan lipid kalitatif olarak değerlendirilmiştir. Bu tabloya göre kontrol ve yemlerine avilamisin ilavesi yapılan deney grubu karaciğer parankim hücrelerinde orta, lizofosfatidilkolin içeren grupta çok ve lizofosfatidilkolin + avilamisin katılan grupta ise şiddetli derecede lipid varlığı saptanmıştır (Tablo IV). Kontrol grubunda, karaciğer epitel hücreleri Sudan Black B boyama yöntemine karşı orta derecede reaksiyon vermiştir (Resim 7). Avilamisin verilen deney grubunda da kontrol grubuna benzer bulgular elde edilmiştir. Lizofosfatidilkolin verilen deney grubunda lipid, hepatositlerde oldukça iri yağ damlacıkları şeklinde görülmüştür (Resim 8). Avilamisin + lizofosfatidilkolin içeren grupta ise lipidin hepatositleri tamamen doldurduğu diffuz ve şiddetli lipid infiltrasyonu ile karaciğerde yağlanma şekillendirdiği saptanmıştır (Resim 9). Ancak karaciğer epitel hücrelerinin çekirdeği hücrenin ortasında olup lipid hücre içinde herhangi bir dejenerasyon şekillendirmeksizin lipid depolanması şeklinde yer almıştır (Resim 9).



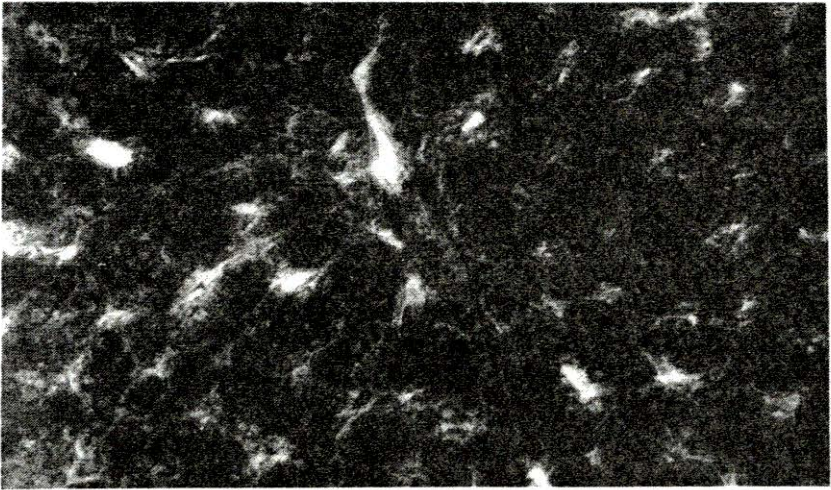
*Resim: 7*

*I. Deney grubu hepatositlerde glikojen. Sudan Black B X 400.*  
*Lipid in the hepatocysts of I. Experimental group. Sudan Black B X 400.*



*Resim: 8*

*II. Deneý grubu hepatositlerde lipid. Sudan Black B X 400.  
Lipid in the hepatocytys of II. Experimental group. Sudan Black B X 400.*



*Resim: 9*

*III. Deneý grubu hepatositlerde lipid. Sudan Black B X 800.  
Lipid in the hepatocytys of III. Experimental group. Sudan Black B X 800.*

## TARTIŞMA

Kontrol grubunda ve lizofosfatidilkolin ilavesi yapılan deney grubunda portal alanda görülen mononükleer hücre infiltrasyonları avilamisın ve avilamisın + lizofosfatidilkolin içeren deney gruplarında görülmemiştir. Formica ve Giannone<sup>22</sup> ile Krinke ve Jamroz<sup>34</sup> yemlerine antibiyotik ilavesi yaptıkları kanatlı hayvanların kontrol grubuna ait karaciğer örneklerinde aynı bulguları saptamışlardır. Antibiyotik verilmeyen kontrol grubu hayvanların bağırsaklarında çok sayıda bakterinin olduğu, bu bakterilerin immun sistemi uyardığı ve karaciğer epitel hücrelerinde detoksifikasyona sebebiyet verdiğini belirtmişlerdir<sup>34</sup>.

PAS boyama tekniği ile elde edilen bulguların tartışılabilceği bir kaynak bulunmamakla birlikte glikojenin lobül içerisindeki yerleşimi klasik kitap bilgileri<sup>35,36</sup> ile uyum göstermektedir. Glikojenin özellikle I. ve III. deney gruplarında hücre içinde yoğun olarak bulunduğu saptanmıştır. I. deney grubunda avilamisın, III. deney grubunda ise avilamisın + lizofosfatidilkolin bulunmaktadır. II. deney grubunda sadece lizofosfatidilkolin ilavesi yapılarak orta derecede PAS pozitif reaksiyon elde edilmiştir. I. ve III. deney gruplarında saptanan kuvvetli PAS pozitif reaksiyonun, rasyona katılan avilamisinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Histolojik inceleme sonucunda lizofosfatidilkolin ve özellikle lizofosfatidilkolin + avilamisın ilavesi yapılan rasyonlarla beslenen grupların karaciğer epitel hücrelerinde lipidin oldukça fazla olduğu saptanırken avilamisın içeren grupta daha az saptanması, II. ve III. deney gruplarındaki lipid artışının rasyona lizofosfatidilkolin ilavesinden kaynaklandığını göstermektedir. Karaciğer yağlanması olgularında kanda serbest yağ asitleri miktarının kolesterol düzeyini yükselttiği, kan glikoz düzeyini ise düşürdüğü belirtilmektedir<sup>25-27,37</sup>. Materyalin sağlandığı araştırmada<sup>30</sup> kontrol ve deney gruplarına uygulanan biyokimyasal analizlerde rasyona avilamisın+lizofosfatidilkolin katılan deney grubunun serum trigliserid düzeyinin; kontrol, avilamisın, lizofosfatidilkolin ilavesi yapılan deney gruplarına göre önemli derecede daha yüksek ( $P>0,001$ ) bulunduğu, serum glikoz düzeyinin ise önemli derecede düşük ( $P<0,001$ ) saptandığı belirtilmiştir. Ayrıca avilamisın+lizofosfatidilkolin katılan deney grubunun total kolesterol düzeyi ise diğer gruplara oranla daha yüksek ancak istatistiki olarak bir anlam ifade etmediği belirtilmektedir.

Araştırmada histolojik bulgular göz önüne alındığında karaciğerde hem lipid hem de glikojeni en yoğun olarak lizofosfatidilkolin+avilamisın ilavesi yapılan deney grubunda saptandı. Lizofosfatidilkolin+avilamisın ilavesi yapılan deney grubunda histolojik incelemeler ile saptanan karaciğer yağlanmasını, aynı hayvanlara ait biyokimyasal analizler de desteklemektedir<sup>30</sup>.

Lizofosfatidilkolin yağ emilimini, dolayısıyla da yemin enerji değerini yükseltmektedir. Ancak, yüksek enerjili rasyonla beslenen hayvanların karaciğerinde glikogenezis ve yağ oksidasyonu azalmaktadır. Glikogenezis'in azalması sonucu karaciğerde karbonhidratlardan glikojen sentezi azalmakta buna karşılık karbonhidratlardan yağ asitlerinin sentezi hızlanmaktadır. Yağ oksidasyonunun da azalmış olması, sentezlenen yağ asitlerinin karaciğer epitel hücrelerinin sitoplazması içinde trigliseridler şeklinde ve yağ damlacıkları halinde depolanmasına neden olmaktadır<sup>29</sup>. Rasyondaki enerji daha da yükseldiğinde kanatlı hayvanların özellikle besili olanlarında "Yağlı Karaciğer Sendromu" oluşturarak ani ölümlere sebebiyet verebilmektedir<sup>25-27,37</sup>. Materyalin sağlandığı çalışmada<sup>30</sup>; ölüm oranları kontrol, avilamisin, lizofosfatidilkolin ve avilamisin + lizofosfatidilkolin ilavesi yapılan deney gruplarında sırasıyla % 4.76, % 3.57, % 7.14 ve % 10.71 olarak bulunmuştur. Canlı ağırlık artışı ise sırasıyla 1935.75g, 1974.02g, 1980.30g, 2028.80g olarak saptanmıştır. Ortalama canlı ağırlık artışları arasındaki farklar istatistiki olarak önemli bulunmamıştır.

Lizofosfatidilkolin + avilamisin ilavesi yapılan deney grubunda histolojik incelemelerle saptanan karaciğer yağlanması, aynı hayvanlara ait biyokimyasal analiz sonuçları ile de desteklenmektedir<sup>30</sup>. Histolojik muayene sonunda, rasyona avilamisin ilavesinin etlik piliçleri germ-free hayvanlara benzer özellikler kazandırdığı, karaciğer epitel hücrelerinde glikojen varlığını arttırdığı, lipidin hücre içinde daha az birikimine neden olduğu; lizofosfatidilkolin ilavesinin ise karaciğerde lipid birikimini arttırdığı saptanmıştır. Her iki preparatın birlikte kullanımıyla karaciğer epitel hücrelerindeki yağlanma oranı daha da yükselmiştir. Bu nedenle yemlere katılacak lizofosfatidilkolinin dozu, karaciğerde yağlanmayı önlemek amacıyla daha kontrollü yapılmalıdır.

## KAYNAKLAR

1. AYTUĞ, N., ÖZDEMİR, İ.: Yemlerde Antibiyotik Kullanımı. Performans, 9, 19-20 (1999).
2. ADAMS, C.A.: Characteristics of lysophosphatidylcholine (Lysoforte), a specific phospholipid, which are important for absorption of feed components, Proc. Joint Congress of 2 nd and 50 th DGF conference Münster, Germany, 3 (1994).
3. SCHWARZER, K., ADAMS; C.A.: The influence of specific phospholipids as absorption enhancer in animal nutrition, Fett/Lipid 98, 9, 304-308 (1996).
4. MINE, Y.; KOBAYASHI, H.; CHIBA, K.; TADA, M.: <sup>31</sup>P NMR study on the interfacial adsorptivity of ovalbumin promoted by

- lysophosphatidylcholine and free fatty acids, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40:1111-1115 (1992).
5. ADAMS, C.A.: A Specific Phospholipid for Pig and Poultry Nutrition, *Kraftfutter*, 5, 170-175 (1994).
  6. RAMPONE, A.J.; LONG, L.R.: The effect of phosphatidylcholine and lysophosphatidylcholine on the absorption and mucosal metabolism of oleic acid and cholesterol in vitro. *Biochimica et Biophysica Acta*, 486, 500-510 (1977).
  7. REYNIER, M.O., LAFONT, H., CROTTE, C., SAUVE, P., GEROLAMI, A.: Intestinal cholesterol uptake: comparison between mixed micelles containing lecithin or lysolecithin. *Lipids*, 20, 145-150 (1985).
  8. SAUNDERS, D.R., SILLERY, J.: Lecithin inhibits fatty acid and salt absorption from rat small intestine in vivo. *Lipids*, 11, 830-832 (1976).
  9. FIEMS, L.O.; COTTYN, B.G.; BOUCQUE, V.: Growth promoters and meat yield, *Animal Biotechnology and the Quality of Meat Production*, 31-48, (1991).
  10. FIELD, F.J., BORN, E., CHEN, H., MURTHY, S., MATHUR, S.N.: Lysophosphatidylcholine increases the secretion of cholesteryl ester-poor triacylglycerol-rich lipoproteins by CaCo-2 cells. *Biochem. J.* 304, 35-42 (1994).
  11. VAN BEEK, E.: Results of lysoforte dry at industrial scale obtained in field trials at two independent farms in Spain, *Kemin Technical Newsletter*, KEMIN EUROPA N.V., Industriezone Wolfstee, Toekomstlaan, Herentals, Belgium, 42 (1993).
  12. ADAMS, C.A.: Lysoforte dry improves broiler performance in Belgium, *Kemin Technical Newsletter*, KEMIN EUROPA N.V., Industriezone Wolfstee, Toekomstlaan Herentals, Belgium, 42 (1994).
  13. MAYNARD, L.A.; LOOSLI, J.K.; HINTZ, F.H.; WARNER, R.G.: *Animal Nutrition*, Tata McGraw-Hill Pub. Co. Ltd., New Delhi, 113-116 (1983).
  14. HUYGHEBAERT, G.; De GROOTE, G.; ADAMS, C.A.; VAN BEEK, E.: Influence of lysoforte, kemzyme-w and a growth promoter on feed utilization and nutrient digestibility in broiler chickens, 10 th European Symposium on Poultry Nutrition, Antalya, 399-400 (1995).
  15. ADAMS, C.A.: The effect of lysoforte on the production of broilers in the Netherlands, *Kemin Technical Newsletter*, KEMIN EUROPA N.V., Industriezone Wolfstee, Toekomstlaan Herentals, Belgium 42 (1993).
  16. SAMIA, M.H.; EL-GHAMRY, A.; IBRAHIM, Sh.A.: The effect of using kemzyme, zinc bacitracin, lysoforte, and fermacto on carcass and meat



- quality in broiler chicks, 10 th European Symposium on Poultry Nutrition Antalya, 403-404 (1995).
17. BOYD, F.M.; EDWARDS, H.M., Jr.: Fat absorption by germ-free chicks, *Poultry Science*, 46:1481-1483 (1967).
  18. EYSEN, H.: Role of the gut microflora in metabolism of lipids and sterols, *Proceedings of the Nutrition Society*, 32:59-63 (1973).
  19. VISEK, W.J.: The mode of growth promotion by antibiotics, *J. Animal Sci.*, 46:(5), 1447-1469 (1978).
  20. BOARMAN, K.N.: Mode of action of gut-active (antibiotic) performance promoters, 6 th European Symposium on Poultry Nutrition (October 11-15 th 1987), 12-20, Konigslutter (1987).
  21. EYSEN, H.; De SOMER, P.: Effect of antibiotics on growth and nutrient absorption of chicks, *Poultry Science*, 42:1373-1379 (1963).
  22. FORMICA, G.; GIANNONE, C.: Gas chromatographic determination of avilamycin total residues in pig tissues, fat, blood, feces and urine, *Journal of the Official Analytical Chemistry*, 69:5, 763-766 (1986).
  23. SCHEIFINGER, C.C.: Avilamycin premix for swine. Eli Lilly and Company New Animal Drug Application, 138-466 (1985).
  24. HENRY, P.R.; AMMERMAN, C.B.; CAMPBELL, D.R.; MILES, R.D.: Effect of antibiotics on tissue trace mineral concentration and intestinal tract weight of broiler chicks, *Poultry Science*, 66:1014-1018 (1987).
  25. BLAIR, R., WHITEHEAD, C.C: An assesment of the factors associated with fatty liver and kidney syndrome in broilers. Proc. Abstr. XV. World's Poultry Congress, New Orleans, Augst, 11-16 (1974).
  26. WHITEHEAD, C.C.: The use of biotin in poultry nutrition. *World's Poultry Sci.* 33:140-154 (1977).
  27. BANNISTER, D.W., EVANS, A.J. WHITEHEAD, C.C.: Evidence for a lesion in carbohydrate metabolism in fatty liver and kidney syndrome in chicks. *Res. Vet. Sci.*, 18,149-156 (1975).
  28. GÖKHAN, N., ÇAVUŞOĞLU, H.: *Tıbbi Fizyoloji*, Nobel Tıp Kitapevi İstanbul, 2cilt, 1205- 1211 (1986).
  29. AŞTI, R., TANYOLAÇ A., ÇELİK, İ.: Kafeste tutulan tavukların yüksek enerjili ve yüksek dozda vitamin A'lı rasyonla beslenmelerinde karaciger yağlanması. *Selçuk Üniv. Vet. Fak. Derg. I, I*, 15-24 (1985).
  30. DENİZ, G.: Karma yemlere katılan avilamisin ve lizo fosfatidilcolin'in etlik piliçlerin besi performansı ile bazı kan parametrelerine etkileri (Doktora tezi) Ulu. Üniv. Vet. Fak. Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları A.B.D. (1998).

31. CROSSMONN, G.: A modification of mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved, *Anat. Rec.*, 33-8 (1937).
32. MC MANUS, J.F.A.: Mc Manus metod for glycogen, *Stain Tech.*, 23:99-108 (1948).
33. HERXHEIMER, G. W.: Sudan Black B Method for Fat *Zbl. Allg. Path. Anat.*, 14: 481 (1903).
34. KRINKE , A.L., JAMROZ, D.: Effects of feed antibiotic Avoparcine on organ morphology in broiler chinkens. *Poultry science* 75, 705-710 (1996).
35. JUNGUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J.; KELLEY, R.: *Basic Histology*, Appleton & Lange, California, 316-331 (1989).
36. DELLMANN, H.D., BROWN, E.M: *Textbook of Veterinary Histology* Lea & Febiger, Philadelphia, 250-254 (1981).
37. HARMS, R.H., SIMPSON, C.F.: Serum and body characteristics of laying hens with fatty liver syndrome. *Poultry Sci.*, 58, 1644-1646 (1978).

---

**Yazının Geliş Tarihi: 29.04.1999**