

## ENZİM KATILARAK HAZIRLANAN RASYONLARLA BESLENEN TAVUKLARDA KARACİĞERDE MEYDANA GELEN DEĞİŞİKLİKLERİN HİSTOLOJİK VE HİSTOŞİMİK YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ

Hatice ERDOST\*

Mine YAKIŞIK\*\*

Serdar KARDEŞ\*\*\*

### ÖZET

*Bu çalışmada arpa ve buğday ağırlıklı olarak hazırlanan rasyonlara yem katkı maddesi olarak enzimlerin katılmasıyla karaciğerde meydana gelebilecek değişikliklerin histolojik ve histoşimik yöntemler ile saptanmasını amaçladık.*

*Çalışmamızda günlük-etlik civcivler yedi farklı rasyonla beslenerek, denemenin 15., 21. ve 40. günlerinde karaciğer numuneleri alınmıştır. Alınan numuneler histoloji tekniğine uygun işlemlerden geçirilerek parafinde bloklanmıştır. Hazırlanan histolojik kesitlerin bir kısmına yapısal özelliklerin belirlenmesi için Crossmon'ın üçlü boyama tekniği, diğer bir kısmına ise glikozaminoglikanların belirlenebilmesi için Mc. Manus'un Periodio-Acide Schiff (PAS) metodu uygulanmıştır. Karaciğerde mevcut lipid varlığının belirlenmesi amacıyla da Sudan Black-B metodu kullanılmıştır. 15 günlük yaştaki civcivlerden hazırlanan karaciğer preparatlarında normal histolojik yapı dışında herhangi bir değişiklik görülmemiştir. Mısır ile beslenen 21 günlük yaştaki grubun hepatositlerinde hücre içi vakuoller saptanmıştır. Mısır, arpa, buğday, buğday+arpa ağırlıklı enzimsiz rasyonla beslenen kırk günlük yaştaki civcivlerin hepatositlerinde vakuoliasyonun oldukça arttığı görülmüştür. Enzim katılan özellikle arpa enzimli grupta, buğday enzimli ile buğday+arpa enzimli gruplarda glikozaminoglikan birikiminde belirgin artış belirlenmiştir. Enzimli rasyon ile beslenen gruplarda karaciğer hepatositlerinin orta derecede lipid içerdiği saptanmıştır.*

*Çalışmamızda rasyonda kullanılan enzim katkı maddelerinin karaciğerde herhangi bir dejenerasyona sebebiyet vermediği ve karaciğer yağlanmasını azalttığı sonucuna varılmıştır.*

*Anahtar Kelimeler: Enzim, Tavuk, Karaciğer, Histoloji.*

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

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

\*\*\* Dr.; U.Ü. Vet. Fak. Hayvan Besleme ve Besleme Hast. Anabilim Dalı, Bursa-Türkiye

## SUMMARY

### Histological and Histochemical Investigations on the Livers of the Chicken Fed With a Diet Supplementation of Enzyme

*The study was conducted to investigate the effects of enzyme supplementation of a diet based on barley and wheat on the livers of the chicken*

*Liver samples were taken from the broiler chickens at the 15th, 21st and 40th days after feeding with 7 different diets. Routine histological methods applied to the samples and then paraffine embedded. Some of the sections were stained by Crossmon's Triple Stain for structural properties and the others by Mc Manus's Periodic - Acide Schiff (PAS) for glycozaminoglicans. Sudan Black - B stain was applied to determine the lipid content of the liver. Apart from normal histological structures, no changes could be seen on the liver sections prepared from the 15<sup>th</sup> day old chicks. Some vacuols were observed in the hepatocytes of the livers of the 21<sup>st</sup> day - old chicks fed a diet based on corn. An increasing vacuolisation was rather in the hepatocytes of the 40<sup>th</sup> day - old chickens fed with a diet based on corn, barley, wheat and barley+wheat. Glycozaminoglican deposition was increased in the chicks fed with a diet supplemented with enzyme based on barley, wheat and barley+ wheat respectively. A moderate amount of lipid was seen in the hepatocytes of the chickens fed with the enzyme supplemented diets.*

*Any deeneration wasn't observed in the livers of the chickens fed with enzyme supplemented diets. Enzyme supplementation to the diets decreased lipid infiltration in the liver.*

*Key Words: Enzym Supplement, Chicken, Hepar, Histology.*

## GİRİŞ

Ülkemizde kişi başına düşen günlük hayvansal protein tüketimi 20 g civarında olmasına karşılık gelişmiş ülkelerde bu oran 35 g düzeyinde bulunmaktadır. Sağlıklı beslenme ve sağlıklı nesiller yetiştirilmesi için gerekli olan hayvansal proteininin en ekonomik şekilde karşılanması tavukçuluk sektörünün geliştirilmesi ile mümkündür. Bunun sebebi mevcut yem kaynaklarını en hızlı ve etkin bir biçimde et ve yumurtaya dönüştüren hayvan türünün tavuklar olmasıdır. Etlik piliçler 1 kg hayvansal protein üretmek için ortalama 21.5 kg yem tüketirlerken bu miktar sığırlar için 69 kg civarındadır<sup>1</sup>. Bu avantajından dolayı beyaz et üretim ve tüketimindeki doğal artış karma yem üretken sektöre de yansımaktadır. Diğer taraftan karma yem üretiminde kullanılan bitkisel yem ham maddelerinden olan ve üretim sırasında yetersizliği görüldüğü için zaman zaman ithal edilmek zorunda kalınan soya küspesi, mısır, sorgum özellikle kanatlı rasyonlarında kullanılan temel yem ham maddeleridir<sup>2</sup>. Bu maddelerin her yıl ithalat miktarlarında önemli artışlar olmaktadır<sup>3</sup>.

Ülkemizde üretim düzeyleri incelendiğinde, kanatlı rasyonlarında kullanılabilir tahılların başında mısırdan sonra buğday ve arpa gelmektedir. Ancak bu tahıl kaynaklarının Teorik Metabolize Olabilir Enerji (TME) değerlerinin mısırdaki değerlerden dikkat çekici düzeyde düşük olduğu göze çarpmaktadır<sup>4</sup>. Bu tahılların TME düzeylerinin nişasta yapısında olmayan polisakkarit bileşiklerinden (NOP) olumsuz yönde etkilendiği düşünülmektedir<sup>5</sup>. NOP bileşiklerinin bitkisel hücre duvarının yaklaşık % 70-95'ini oluşturdukları ve kanatlıların bu bileşiklere yönelik endojen enzimleri olmadığından dolayı besin maddesi ve enerji kaynağı olarak en az yararlanılabilen bileşikler olduğu bildirilmektedir<sup>6</sup>. Kanatlı rasyonlarında NOP bakımından zengin buğday, arpa, çavdar ve yulaf gibi yem ham maddeleri ağırlıklı olarak kullanıldığında karşılaşılan performans kayıpları, doğrudan NOP bileşiklerinin eriyebilirliklerine bağlanmaktadır<sup>7</sup>. Sindirim kanalı içeriğinin vizkozitesinin artması, endojen sindirim enzimleri ile bunların substratları ve ürünlerinin barsak yüzeyinden difüzyonunu güçleştirerek besin maddelerinin tamamının sindirimini engelleyebildiği belirtilmektedir<sup>8,9</sup>.

Rasyondaki içerikten gereği kadar yararlanamayan canlıda çeşitli metabolik fonksiyon yetersizlikleri meydana gelirken özellikle karaciğer fonksiyonlarında olumsuz gelişmeler söz konusu olmaktadır<sup>10</sup>. Rasyondaki enerjinin büyük oranda karbonhidratlardan karşılanması, protein oranının düşük veya yüksek olması ya da bağırsaklarda bazı esansiyel maddelerin (kolin, metiyonin, Vit E gibi) emiliminin yetersizliği lipidlerin sentez ile yıkımlanması arasındaki dengeyi bozmakta ve hepatositlerde yağ birikimi şekillendirmektedir<sup>11-16</sup>. Canlının gereksinim duyduğu enerji rasyonda büyük oranda karbonhidratlar tarafından sağlandığında, oluşan ara ürünler yağ asidi sentezini artırır. Trigliseridlerin enerji amacıyla kullanımı ileri derecede azalır, böylece mevcut yağ depoları enerji gereksinimi için kullanılmaz, hatta depoların artmasına yol açar<sup>10</sup>. Bunun sonucu şekillenen yağlı karaciğer sendromu özellikle etçi ve yumurta yönlü tavuklarda yüksek oranda mortaliteye neden olur<sup>12,15-20</sup>. Sendrom 3-5 haftalık civcivlerde felç semptomları ile aniden ortaya çıkarak, kanda glikoz seviyesinin ani düşmesine ve bir kaç saat içinde ölüme sebebiyet verdiği belirtilmektedir<sup>7,19-26</sup>.

Özellikle kanatlı rasyonlarının ekonomik olması amacıyla kullanımına ihtiyaç duyulan arpa, buğday, yulaf, çavdar gibi yem maddelerindeki NOP bileşiklerinin olumsuz etkilerini azaltan ya da tamamen ortadan kaldıran enzimlerin rasyona katılmasıyla rasyondaki besin maddelerinin sindirilebilirliğinde artışlar saptanmıştır<sup>27-30</sup>. Tavuklarda enzim katkılı besleme yapılan deney gruplarında serum kolesterol, total lipid, total protein düzeylerinin yükseldiği ve nişasta gibi besin maddelerinin sindirilebilirliğinin arttığı saptanmıştır<sup>28-32</sup>. Ancak yapılan literatür taramalarında enzimli rasyonla beslenen etçi tavuklarda karaciğerin histolojik görünümüyle ilgili bir çalışmaya rastlanamamıştır. Bu çalışmada rasyona yem katkı maddesi olarak enzimlerin katılmasıyla karaciğerde meydana gelebilecek değişikliklerin histolojik ve histoşimik yöntemler ile saptanması amaçlanmıştır.

**Tablo: I**  
**Araştırmada Kullanılan Broiler Başlangıç Rasyonlarının Yem Ham Maddesi İçerikleri (0-21. Günler Arası)**

Yem Maddeleri (%)	Mısır (Kontrol)	Arpa		Buğday		Arpa + Buğday	
		Enzimli	Enzimsiz	Enzimli	Enzimsiz	Enzimli	Enzimsiz
MISIR	59.20	--	--	--	--	--	--
ARPA	--	60.00	60.10	--	--	30.00	30.10
BUĞDAY	--	--	--	64.00	64.10	30.00	30.00
SOYA KÜSPESİ-48	16.90	8.15	8.15	12.51	12.51	6.87	6.87
TAM YAĞLI SOYA	15.70	21.56	21.56	13.30	13.30	24.50	24.50
ET-KEMİK UNU-35	2.00	4.28	4.28	3.43	3.43	3.15	3.15
BALIK UNU	4.50	0.93	0.93	4.50	4.50	3.38	3.38
BİTKİSEL YAĞ	--	3.00	3.00	--	--	--	--
MERMER TOZU	0.90	0.95	0.95	1.10	1.10	1.05	1.05
TUZ	0.20	0.27	0.27	0.25	0.25	0.24	0.24
DL-METHİONİNE	0.23	0.29	0.29	0.21	0.21	0.24	0.24
L-LYSİNE	0.12	0.22	0.22	0.35	0.35	0.22	0.22
VİT-MİN PEMİKSİ <sup>1</sup>	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
ENZİM 1 <sup>2</sup>	--	0.1	--	--	--	--	--
ENZİM 2 <sup>3</sup>	--	--	--	--	--	0.10	--
ENZİM 3 <sup>4</sup>	--	--	--	0.10	--	--	--
	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

<sup>1</sup>Kavimix VM 224:2.5 Kg'de Vitamin A 12 000 000 IU, Vitamin D<sup>3</sup> 1 500 000 IU, Vitamin E 30 000 mg, Vitamin B<sup>1</sup> 3000mg, Vitamin B<sup>2</sup> 6000mg, Vitamin B<sup>6</sup> 5000 mg, Vitamin B<sup>12</sup> 30 mg, Nicotin Amid 40 000 mg, Cal. D. Panth 10 000 mg, Folic Acid 750 mg, D-Biotin 75 mg, Choline Chloride 450 000 mg, Zinc Bacitracine 50 000 mg, Metiiclorpindol 125 000 mg, Mangan 80 000 mg, Demir 40 000 mg, Çinko 60 000 mg, Bakır 5000 mg, İyot 2000 mg, Kobalt 500 mg, Selenyum 150 mg, Antioksidan 125 000 mg, Kalsiyum 158 885 mg.

<sup>2</sup>Enzim 1: Avizyme 1100, 1 g'da β-glukonaz 100 U, Ksilanaz 300 U, Proteaz 800 U

<sup>3</sup>Enzim 2: Avizyme 1200, 1 g'da β-glukonaz 100 U, Ksilanaz 2500 U, Proteaz 800 U

<sup>4</sup>Enzim 3: Avizyme 1300, 1 g'da Ksilanaz 2500 U, Proteaz 800 U

**Tablo: II**  
**Araştırmada Kullanılan Broiler Geliştirme Rasyonlarının Yem Ham Maddesi İçerikleri (21-40. Günler Arası)**

Yem Maddeleri (%)	Mısır (Kontrol)	Arpa		Buğday		Arpa + Buğday	
		Enzimli	Enzimsiz	Enzimli	Enzimsiz	Enzimli	Enzimsiz
MISIR	61.00	5.74	5.84	--	--	--	--
ARPA	--	60.00	60.00	--	--	29.75	29.85
BUĞDAY	--	--	--	65.00	65.10	35.00	35.00
SOYA KÜSPESİ-48	12.41	--	--	7.00	7.00	2.26	2.26
TAM YAĞLI SOYA	19.70	27.50	27.50	19.80	19.80	27.00	27.00
ET-KEMİK-UNU	4.40	4.23	4.23	3.00	3.00	3.08	3.08
BALIK UNU	0.94	--	--	2.80	2.80	1.00	1.00
BİTKİSEL YAĞ	--	0.72	0.72	--	--	--	--
MERMER TOZU	0.67	0.65	0.65	1.21	1.21	0.76	0.76
TUZ	0.25	0.30	0.30	0.29	0.29	0.29	0.29
DL-METHİONİNE	0.20	0.23	0.23	0.20	0.20	0.21	0.21
L-LYSİNE	0.08	0.18	0.18	0.25	0.25	0.21	0.21
VİT-MİN PEMİKSİ <sup>1</sup>	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
ANTİOKSİDİAL <sup>2</sup>	0.10-	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
ENZİM 1 <sup>3</sup>	--	0.10	--	--	--	--	--
ENZİM 2 <sup>4</sup>	--	--	--	--	--	0.10	--
ENZİM 3 <sup>5</sup>	--	--	--	0.10	--	--	--

<sup>1</sup>Kavimix VM 224:2.5 Kg'de Vitamin A 12 000 000 IU, Vitamin D<sup>3</sup> 1 500 000 IU, Vitamin E 30 000 mg, Vitamin B<sup>1</sup> 3000mg, Vitamin B<sup>2</sup> 6000mg, Vitamin B<sup>6</sup> 5000 mg, Vitamin B<sup>12</sup> 30 mg, Nicotin Amid 40 000 mg, Cal. D. Panth 10 000 mg, Folic Acid 750 mg, D-Biotin 75 mg, Choline Chloride 450 000 mg, Zinc Bacitracine 50 000 mg, Metiiclorpindol 125 000 mg, Mangan 80 000 mg, Demir 40 000 mg, Çinko 60 000 mg, Bakır 5000 mg, İyot 2000 mg, Kobalt 500 mg, Selenyum 150 mg, Antioksidan 125 000 mg, Kalsiyum 158 885 mg.

<sup>2</sup>Karoban : 1kg'da 100 gr Monensin Sodyum

<sup>3</sup>Enzim 1: Avizyme 1100, 1 g'da β-glukonaz 100 U, Ksilanaz 300 U, Proteaz 800 U

<sup>4</sup>Enzim 2: Avizyme 1200, 1 g'da β-glukonaz 100 U, Ksilanaz 2500 U, Proteaz 800 U

<sup>5</sup>Enzim 3: Avizyme 1300, 1 g'da Ksilanaz 2500 U, Proteaz 800 U

## MATERYAL ve METOT

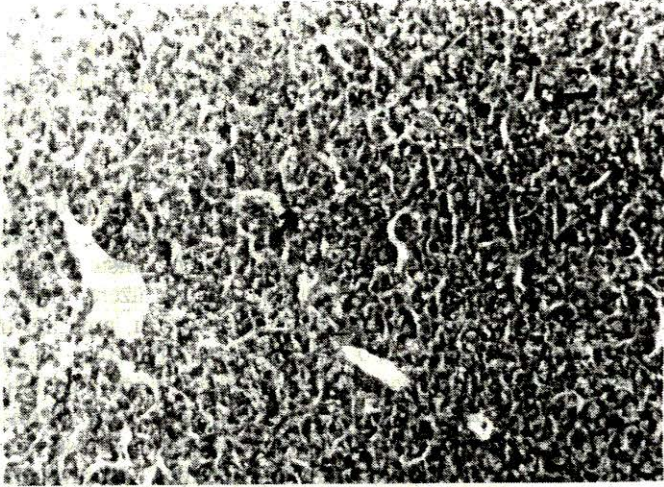
Araştırmada günlük-etçi civcivler 7 farklı rasyon ile beslenerek büyümenin farklı dönemlerinde karaciğerlerinden alınan örnekler materyal olarak kullanılmıştır.

Bakım ve besleme Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne ait Uygulama ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 84 adet Avian Farm broyler günlük civciv kullanılmıştır. Araştırmayı oluşturan temel rasyonlardan biri kontrol grubunu oluşturmak üzere mısır ağırlıklı, deneme grupları ise enzim katkılı ve enzim katkısız olmak üzere arpa, buğday ve arpa+buğday ağırlıklı olarak hazırlanmıştır. Enzim katkılı, arpa ağırlıklı rasyona B- glukonaz 100 U/kg, Ksilanaz 300 U/kg, Proteaz 800 U/kg, buğday ağırlıklı rasyona Ksilanaz 2500 U/kg, Proteaz 800U/kg ve buğday+arpa ağırlıklı rasyona ise B-glukonaz 100 U/kg, Ksilanaz, 2500 U/kg, Proteaz 800 U/kg enzim aktivitesine sahip karma enzim preparatları katılmıştır. Rasyonları oluşturan yem ham maddelerinin tümü bir yem fabrikasından sağlanmıştır. Araştırmada kullanılan rasyon bileşimi Tablo I ve II'de verilmiştir. Barınak her metrekaareye 11 civciv hesap edilerek bölmeler halinde hazırlanmış olup deneme boyunca araştırmayı oluşturan hayvanların tümü ad libitum olarak beslenmiştir.

Denemenin 15., 21. ve 40. günlerinde her gruptan (toplam 7 grup) rastgele 4 civcivden karaciğer örnekleri alınmıştır. Alınan örnekler tamponlu formolde tespit edilerek histoloji tekniğine uygun işlemlerden geçirilip parafinde bloklanmıştır. Bloklardan elde edilen 5-7 mikron kalınlığındaki histolojik kesitlerin bir kısmına yapısal özelliklerin belirlenmesi için Crossmon'ın üçlü boyama tekniği<sup>33</sup>, diğer bir kısmına ise glikozaminoglikanların saptanması için Mc. Manus'un Periodic-Acide Schiff (PAS)<sup>34</sup> metodu uygulanmıştır. Karaciğerde mevcut lipid varlığının ortaya konması amacıyla doku örnekleri % 10 formol-calcium solusyonunda +4 °C tespit edilmiştir. Dondurma mikrotomunda 10-15 mikron kalınlığında kesitler alınarak Sudan Black-B<sup>35</sup> metodu ile boyanmışlardır.

## BULGULAR

Kontrol ve deneme gruplarından üçlü boyama tekniği ile hazırlanan karaciğer preparatlarında karaciğer lobçuklarının birbiriyle yakın temasta oldukları, bu yüzden lobçukların kesin sınırları belli olmayıp ancak çevresinde safra kanalları, lenf damarları, sinirler ve kan damarları içeren bağ doku alanları (Portal Aralık) ile belirginleştikleri saptanmıştır. Parenşimin sinuzoitlerle çevrili hücre kordonlarından oluştuğu bu kordonların lopcüğün merkezinden periferine doğru ışnsal biçimde yerleşmiş iki sıralı hepatositlerden şekillendiği saptanmıştır. 15 günlük yaştaki civcivlerden üçlü boyama tekniği ile hazırlanan karaciğer preparatlarında normal histolojik yapı dışında herhangi bir değişiklik görülmemiştir. Ancak 21 günlük yaştaki civcivlerin kontrol ve deneme grupları arasında farklılıklar saptanmıştır. Mısır ağırlıklı rasyonla beslenen gruptaki hepatositlerde hücre içi vakuoller saptanmıştır. Yine aynı yaşta sadece arpa ve buğday enzimsiz rasyonla beslenen hayvanların hepatositlerinde mısır grubu kadar çok olmamakla birlikte vakuoller görülmüştür. 40 günlük yaştaki civcivlerin mısır, arpa, buğday, buğday +arpa enzimsiz rasyonla beslenen grupların hepatositlerinde vakuolizasyonun oldukça arttığı saptanmıştır (Resim I).

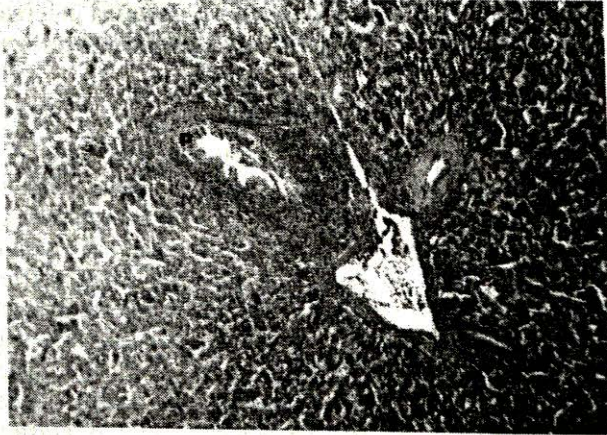


*Resim: 1*

*Mısır ağırlıklı rasyonla beslenen 40 günlük yaştaki civcivlerin hepatositlerinde vakualizasyon (oklar) Üçlü boy. tek. x600.*

*Vacuolization in the hepatocytes of the 40th day-old chickens fed with a diet based an corn (arrows). Triple x600.*

Ayrıca mısır ve buğday ağırlıklı rasyonlarla beslenen civcivlerde portal aralıkta yer yer lenfosit infiltrasyonlarına ve lenf nodüllerine rastlanmıştır. Bunlara ilaveten safra kanallarında proliferasyon ve kanal epitellerinde hiperplazi görülmüştür (Resim 2).

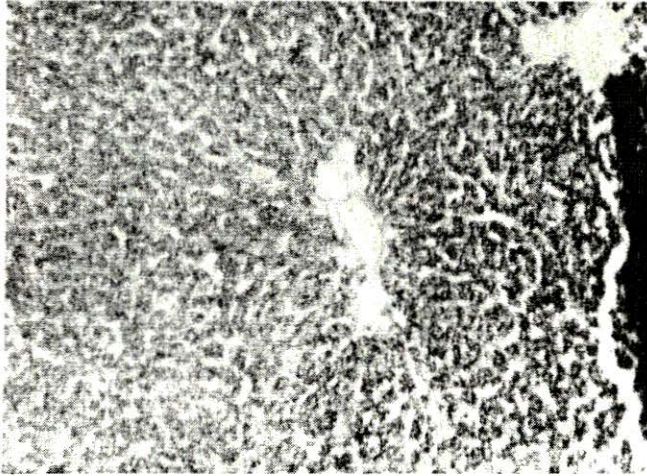


*Resim: 2*

*Buğday ağırlıklı rasyonla beslenen 40 günlük yaştaki civcivlerin safra kanallarında proliferasyon (p) ve portal aralık lenfosit infiltrasyonu (i). Üçlü. boy. tek. x 400.*

*Proliferation of bile ducts (p) and infiltration of lymphocyte in the portal area (i) of the 40th day old chickens fed with a diet based on wheat. Triple x 400.*

PAS boyama tekniği ile boyanarak hazırlanan preparatlar incelenerek karaciğerde bulunan glikozaminoglikanın miktarı reaksiyon derecelerine göre kalitatif olarak tespit edilmiş ve Tablo III'de gösterilmiştir. On beş günlük kesimde en güçlü reaksiyon mısır ile beslenen grupta bulunmuştur. Buğday+arpa içeren deney grubu en az reaksiyon veren grup olarak saptanmıştır. 21 günlük kesimlerde mısır içeren deney grubunda hepatositlerin diğer gruplara oranla oldukça yoğun reaksiyon verdiği saptanmıştır (Resim 3).



Resim: 3

*21 Günlük yaştaki mısır ağırlıklı rasyon ile beslenen civcivlerin hepatositlerinde glikozaminoglikanın yerleşimi. PAS x 350*

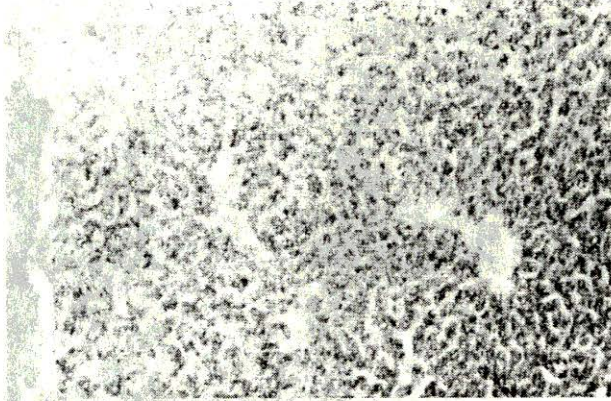
*Glycozaminoglican localisation in the hepatocytes of the 21 st day-old chickens fed with a diet based on corn. PAS x350.*

Enzim içeren arpa, buğday, arpa+buğday ağırlıklı, rasyonlarla beslenen gruplarda hepatositlerin enzimsiz olan aynı grup rasyonlarla beslenenlere göre daha yoğun reaksiyon verdiği grlmştir. Arpa enzimli ile buğday enzimli gruplarının diğerlerine oranla daha yoğun ancak mısırdan daha az reaksiyon verdiği saptandı (Resim 4).

Kırk günlük yaştaki civcivlerde mısır, buğday+enzimli ve arpa+enzimli rasyonla beslenen gruplarda karaciğerde PAS reaksiyonu yoğun olarak bulunmuştur. Yoğunluğun bütün gruplarda asinusların özellikle birinci bölgesinde fazla olduğu, ikinci ve cnc bölgelere doğru gittikçe azaldığı saptanmıştır (Resim 5).

Sudan Black B boyama yöntemiyle hazırlanan preparatlar incelenerek karaciğerde bulunan yağın mikroskopik bulguları Tablo IV'de verilmiştir. Bu tabloya göre civciv gelişiminin ilerleyen dönemlerinde asinuslardaki yağ miktarının her grupta arttığı saptanmıştır. Onbeş günlük civcivlerde özellikle mısır ile beslenen grupta karaciğer hepatositlerinde diğer gruplara oranla oldukça fazla yağ saptanmıştır. Enzim içeren rasyonla beslenen grubun hepatositlerinin enzim içermeyen rasyonla beslenenlere göre daha az yağ içerdiği grlmştir. Karaciğerin mısırlı rasyon ile beslenen 21 günlük civcivlerde en çok yağ içerdiği saptanmıştır. 21 günlük yaştaki mısır ile beslenen civcivlerin hepatositlerinde

görülen vakuollerin (Üçlü boyama tekniği ile hazırlanan preparatlarda) lipid içerdiği yapmış olduğumuz yağ boyamasıyla belirlenmiştir. Enzim içeren rasyonla beslenen gruplarda ise karaciğerde orta derecede lipid varlığının mevcut olduğu gözlenmiştir (Tablo IV). 40 günlük civcivlerde özellikle mısır içeren rasyonla beslenen grupta lipid hepatositleri tamamen doldurmuş, diffuz yayımlı yağ damlacıklar halinde olduğu saptanmıştır (Resim 6).



Resim: 4

21 Günlük yaştaki arpa enzimli rasyon ile beslenen civcivlerin hepatositlerinde glikozaminoglikanın yerleşimi. PAS x 350

Glicozaminoglycan localisation in the hepatocytes of the 21 st day old chickens fed with a diet based on barley+enzyme. PAS x350.

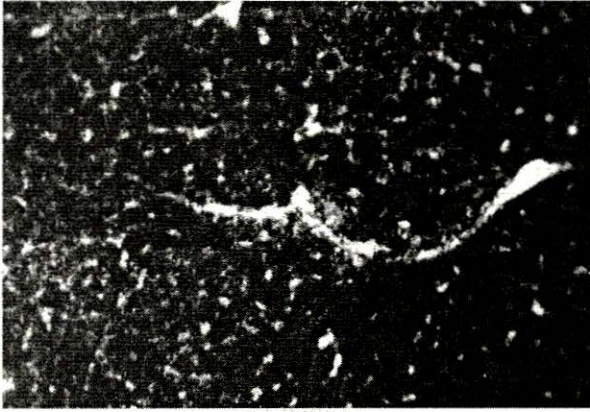


Resim: 5

Buğday+enzim rasyonla beslenen 40 günlük yaştaki civcivlerin karaciğer asinusunda glikozaminoglikanın yerleşimi 1. Bölge (1), 2. Bölge (2), 3. Bölge (3). PAS x 300.

Glicozaminoglycan localisation in the liver acini of the 40 th. day-old chickens fed with a diet bazal on wheat+enzyme, 1 st.. region (1), 2. nd. region (2), 3 rd region (3). PAS x300.



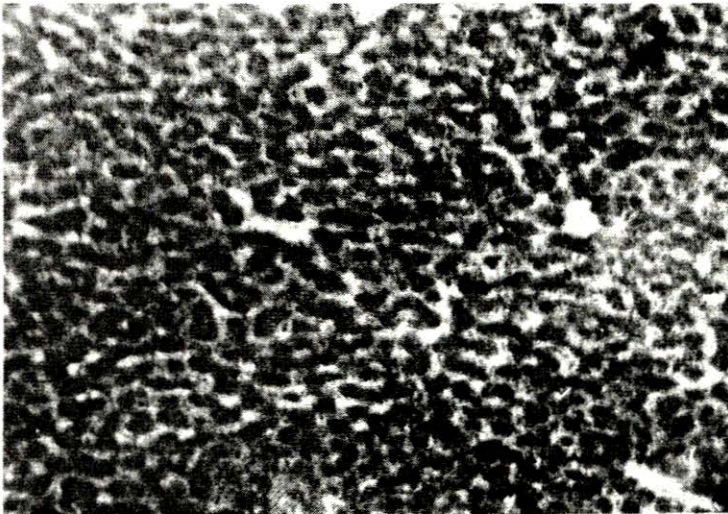


*Resim: 6*

*Mısır ağırlıklı rasyon ile beslenen 40 günlük yaştaki civcivlerin hepatositlerinde lipid. Sudan Black B x 500.*

*Lipid in the hepatocysts of the 40th day-old chickens fed with a diet basal on corn. Sudan Black B x700.*

Enzimli grupların ise orta derecede lipid içerdiği saptanmış olup (Tablo IV), lipid hücre içinde damlacıklar tarzında yerleşim göstermiştir. Enzim içeren rasyonlar ile beslenen gruplarda lipidlerin hepatositler içinde bir dejenerasyon şeklinde değil lipid damlacıkları toplanması tarzında olduğu görülmüştür (Resim 7).



*Resim: 7*

*Arpa enzimli rasyonla beslenen 40 günlük yaştaki civcivlerin hepatositlerinde lipid. Sudan Black. B x 500*

*Lipid in the hepatocysts of the 40th day-old chickens fed with a diet basal on barley+enzyme. Sudan Black B x500.*

**Tablo: III**  
**Karaciğerde Glikozaminoglikan Varlığının Mikroskopik Bulguları**

	15 GÜNLÜK	21 GÜNLÜK	40 GÜNLÜK
MISIR	++	+++	+++
ARPA	+-	+-	++
ARPA+ENZİMLİ	+-	++	+++
BUĞDAY	+	+	+
BUĞDAY+ENZİMLİ	+	++	+++
BUĞDAY+ARPA	-	+-	+
ARPA+BUĞDAY+ENZİMLİ	+-	+	++

- : Glikozaminoglikan içermeyen hepatositler      ++ : Orta derecede glikozaminoglikan içeren hepatositler  
 +- : Çok az glikozaminoglikan içeren hepatositler      +++ : Yoğun glikozaminoglikan içeren hepatositler  
 + : Az glikozaminoglikan içeren hepatositler      ++++ : Şiddetli glikozaminoglikan içeren hepatositler

**Tablo: IV**  
**Karaciğerde Yağ Birikimi ile İlgili Mikroskopik Bulgular**

	15 GÜNLÜK	21 GÜNLÜK	40 GÜNLÜK
MISIR	+++	++++	++++
ARPA	++	+++	+++
ARPA+ENZİMLİ	+	++	++
BUĞDAY	++	+++	+++
BUĞDAY+ENZİMLİ	+	++	++
BUĞDAY+ARPA	++	++	+++
ARPA+BUĞDAY+ENZİMLİ	+-	++	++

- + - : Çok az lipid içerenler      +++ : Çok lipid içerenler  
 + : Az lipid içerenler      ++++ : Şiddetli derecede lipid içerenler  
 ++ : Orta derecede lipid içerenler

## TARTIŞMA

Klasik kitaplarda karaciğerin fonksiyonel üniteleri olan karaciğer lobülleri klasik karaciğer lobülü, portal lobül ve asinus olarak tanımlanmaktadır<sup>36-37</sup>. Klasik karaciğer lobülü enine kesitlerde altıgen şeklinde olup her köşesinde Glisson Üçgeni (Portal Aralık), ortasında Vena Sentralis ve ışınsal seyirli karaciğer kordonlarından (Remark Kordonları) ibarettir. Üçlü boyama tekniği ile hazırlanan preparatlarda kanatlı karaciğerinin esas yapı itibarıyla memeli karaciğeri ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır<sup>36-37</sup>. İki komşu klasik lobül içinde aynı interlobuler venden kanlanan hücre grupları hepatik asinus olarak tanımlanmaktadır. Hepatik asinusta dağıtıcı venlere olan yakınlığına göre hücreler zonlara ayrılır. Birinci zondaki hücreler damarlara en yakın ve bu nedenle de gelen kandan ilk olarak değişen ya da etkilenen hücrelerdir. II. zondaki hücreler kana ikinci derecede cevap veren hücrelerdir. Üçüncü zondaki hücreler ise I. ve II. zondaki hücreler tarafından değiştirilmiş olan portal ven kanıyla karşılaşacaktır. Bu bilgilere uygun olarak çalışmamızda glikozaminoglikanın asinusların I. bölgesinden III. bölgesine doğru azalan şekilde yerleşim gösterdiği saptanmıştır.

Eröksüz<sup>11</sup> 78.000 adet etlik piliç karaciğeri ile yapmış olduğu araştırmasında portal bölgede heterofil ve mononükleer hücre infiltrasyonunu, arenşimde fibrosit ve fibroblastlardan ibaret bağdokunun varlığını saptamıştır. Çalışmamızda mısır ve buğday ağırlıklı rasyonla beslenen civcivlerde portal

aralıkta lenfosit infiltrasyonlarına, safra kanallarında proliferasyona ve kanal epitellerinde hiperplaziye rastlanmıştır.

Kanatlılarda rasyondaki protein ve karbonhidrat dengesinin önemi tüm araştırmacılar tarafından belirtilmektedir<sup>12,13,14,15,16</sup>. Kafes kuşlarıyla yapılan bir çalışmada<sup>19</sup> rasyondaki dengersiz karbonhidrat ile protein oranları ve diğer predispose faktörlerin bir araya gelmesiyle şekillenen yağlı karaciğer sendromunda (FLDS) ölüm oranının % 47 olduğu belirtilmiştir. Genç ve ergin ayrımı yapılmaksızın hem dişilerde hem de erkeklerde yağlı karaciğer sendromu tespit edilmiştir. Etçi tavuklar ile yapılan diğer bir çalışmada<sup>38</sup> 7-9 haftalık yaşta FLDS görülme oranı %51.1 olarak bulunurken bu oran yaz aylarında % 63.7'ye yükselmiştir. Bu oran bir başka çalışmada<sup>39</sup> % 16.48 olarak saptanmıştır. HE ve arkadaşları<sup>40</sup> 1981- 1983 yılları arasında belli bir bölgede FLDS bağlı ölümlerin % 31.4 - 37.8 olduğunu saptamışlardır. Sebep olarak hazırlanan rasyonların dengeli olmayışını, mısırın miktar olarak rasyonda oldukça fazla yer almasını göstermişlerdir. Aştı ve arkadaşları<sup>17</sup> mısır, ayçiçek yağı ve hayvansal yağ içeren rasyonlarla beslenen etçi tavukların karaciğerinde yağlanmanın mısıra dayalı rasyon ile beslenenlerde oldukça şiddetli olduğunu belirtmişler ve hayvansal yağ verilen gruplarda lipid damlacıklarının sayısının ayçiçek yağı verilen gruptan daha az olduğunu saptamışlardır. Aştı ve arkadaşları diğer bir çalışmalarında<sup>41</sup> yüksek enerjili rasyonla üç ay beslenen etçi tavuklarda karaciğerde lipidlerin bulunuşunun dejenerasyondan çok lipid toplanması şeklinde olduğunu tespit etmişlerdir. Yumurtacı tavuklarla yapılan çalışmalarda<sup>21,22</sup> yüksek enerjili rasyonla beslemenin 22-24. haftalarında karaciğer yağlanmasını arttırdığı saptanmıştır. Hillard ve arkadaşları<sup>42</sup> rasyondaki enerjinin % 25 oranında karbonhidratlardan sağlandığında canlıda yağ asitlerinin sentezinin arttığını belirtmişlerdir. Bu oran bir başka çalışmada<sup>21</sup> rasyondaki mısırın % 50'den fazla olarak kullanılmasıyla şekillendiği yönündedir. Bizim çalışmamızda mısır rasyonda % 59.20 oranında kullanılmıştır. Jensen ve arkadaşları<sup>43</sup> kanatlı rasyonlarında enerji kaynağı olarak mısırın kullanılması halinde FLDS görülme oranının arttığını belirtmişlerdir. Çalışmamızda mısır ağırlıklı rasyonla beslenen gruplarda 15,21. ve 40. günlerde karaciğer hepatositlerinde yağ birikiminin en fazla bulunması bir çok çalışmanın<sup>17,21,22,42,43</sup> bulgularıyla paralellik göstermektedir. Mısır ağırlıklı rasyonla beslenen kırk günlük yaştaki grupta karaciğer hepatositlerinde şiddetli derecede lipid varlığı saptanarak, mısırdan sonra buğday, arpa ve buğday+arpa ağırlıklı rasyonlarla beslemede karaciğerde lipid varlığının arttığı saptanmıştır.

FLDS görülen hayvanlarda karaciğer örneklerinin mikroskopik incelemelerinde karaciğer epitel hücrelerinin diffuz yağ damlacıkları ile dolu olduğu belirtilirken<sup>18</sup> bir başka çalışmada ise<sup>11</sup> sınırlı, berrak yuvarlak veya oval şekilde diffuz yayımlı, değişen büyüklükte yağ vakuelleri gözlenmiştir. Aştı ve arkadaşları<sup>41</sup> karaciğer epitel hücrelerinin sitoplazmaları içinde çok sayıda irili ufaklı lipid damlacıkları görmüşlerdir. Lipid damlacıklarının karaciğer epitel hücrelerinde bulunuşunun bir dejenerasyon şeklinde olmayıp lipid toplanması biçiminde olduğu belirtilmiştir. Literatür bilgileri ile paritel şekilde çalışmamızın 40. gününde mısır ağırlıklı rasyonla beslenen grupta da hepatositlerde damlacıklar tarzında şiddetli derecede lipid saptanmıştır.

Ülkemiz koşullarında mısırın büyük oranda rasyonda kullanımı ekonomik olmamaktadır. Aynı zamanda rasyonda dengeli kullanılmadığı takdirde karaciğer yağlanmasına da neden olabilmektedir. Yaptığımız histolojik muayene sonucunda rasyonda kullanılan enzim katkı maddelerinin karaciğerde herhangi bir dejenerasyona sebebiyet vermediği ve bu enzimlerin yemlere katılımının karaciğer yağlanmasını da azalttığı gözlenmiştir. Böylece enzim katkı maddeleri ile birlikte buğday ve arpanın rasyonlarda daha fazla kullanılabilme olanağı sağlanarak, mısır oranı düşük tutulabilecek ve ülke ekonomisine büyük oranda katkı sağlanacaktır.

#### KAYNAKLAR

1. TÜRKÖĞLU, M.: Türkiye tavukçuluğunun durumu. YUTAV 95 Uluslararası Tavukçuluk Fuarı ve Konferansı, İstanbul, 15-21 (24-27/05/1995).
2. ZINCİRLİÖĞLU, M.: Kanatlı yemleri üretimi yönünden karma yem sanayinin gelişimi, YUTAV 95 Uluslararası Tavukçuluk Fuarı ve Konferansı, İstanbul, 126-143 (24-27/05/1995).
3. ANONİM: Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Kayıtları, Ankara (1994).
4. ALLEN, RD.: Ingredient analysis table: 1990 edition. Feedstuff, 62:31, 24-32, 34-37, 1990.
5. BROZ, J.: Enzymes as feed additives in poultry nutrition-current applications and future trends. Mh.Vet. Med., 48:213-217 (1993).
6. ADAMS, C. A.; PUGH, R: Non-starch polysaccarides and their digestion in poultry. Feed Compaunder, 13:1, 19-21 (1993).
7. ANNISON, G.: Feed enzymes-the science, future development and practical aspects in feed formulation. 10th European Symposium on Poultry Symposium on Poultry Nutrition) Antalya, 193-201, October 15-19<sup>th</sup> (1995).
8. ANNISON, G.: The role of wheat non-starch polysaccarides in broiler nutrition. Aust. J. Agric. Res., 44: 405-422 (1993).
9. IKEDA, K.; KUSANO, T.: In vitro inhibition of digestive enzymes by indigestible polysaccarides. Cereal Chemistry, 60: 260-263 (1983).
10. GÖKHAN, N.; ÇAVUŞOĞLU, H.: Tıbbi Fizyoloji, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 2 cilt 1206-1245, (1986).
11. ERÖKSÜZ, H.: Broiler piliçlerde karaciğerde gözlenen morfolojik değişikler. Türk Veteriner ve Hayvancılık Dergisi, 19: 391-395 (1995).
12. CROSS, K., E., DODDS P., F., NOBLE, R.C., MCCARTNEY, R. and CONNOR, K.: Effects of age and diet on the lipid content and composition of gallbladder bile, liver and serum in laying strains of hen. British Poultry Science, 28 577-584 (1987).
13. CHANER, A., PINCHASOV, Y., NIR, I. and NITSAN, L: Effects of dietary protein under high ambient temperature on body weight breast meat yield, and abdominal fat deposition of broiler stocks differing in growth rate and fatness. Poultry Science, 74 968-975 (1995).

14. ZHONG, C., NAKAUE, HS., HU, C.Y. and MIROSH L.W.: Effect of full feed and early feed restriction on broiler performance, abdominal fat level, cellularity, and fat metabolism in broiler chickens, *Poultry Science*, 74: 1636-1643 (1995).
15. EVANS, A. J.; BANMSTER, DW.; WHITEHEAD, C.C. : Same aspects of lipid metabolism in fatty liver and kidney syndrome in chicks *Research in Veterinary-Science*, 18: 1 100-104 (1975).
16. BRUGERE-PICOUX, J.; BRUGERE, H.: Fatty liver in poultry *Receuil-de-Medicine Veterinaire*, 150: 11/12, 1023-1030 (1974).
17. AŞTI, R, TUNCER, Ş.D. ,KALAYCIOĞLU, L., COŞKUN, B., BAŞPINAR B., ÇELİK İ.: Broylerlerde yağlı karaciğer sendromu üzerinde histolojik ve biyokimyasal çalışmalar. *Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 3, 1, 233-246 (1987).
18. TUNCER, Ş. D.; AŞTI, R, COŞKUN, B., ŞEKER, E., DEMİRCİ, Ü.: Broyler rasyonlarına değişik miktarlarda katılan biotinün besi performansı ve karaciğer yağlanması etkisi. *Selçuk Üniv. Veteriner Fak. Dergisi*, 4 (1) 33-349 (1988).
19. NICHOLLS; P.K.; BAILEY, T.A.; SAMOUR, J.A.: Fatty liver syndrome captive bustards:clinical pathological and epidemiological findings. *Avian Pathology*, 26, 19-31 (1997).
20. WHITEHEAD, C.C. and BLAIR, R: Fatty liver and kidney syndrome in chicks, the involvement of dietary energy-protein ratio and house temperature. *Res. Vet. Sci*, 17, 86-90 (1974).
21. SALLMANN, H.P. ,SCHOLE, J.: The problem of fatty liver in laying hens. I. Effect of high- energy and restricted diets on bodyweight, performance, blood lipids and total liver lipids of hens in cages at the start of the laying period. *Zentralblatt-fur-Veterinarmedizin*, 20, 116-127 (1973).
22. WOLFORD, J.H.; POLİN, D.: Induced fatty liver-hemorrhagic syndrome (FLDS) and accumulation of hepatic lipid in force-fed laying chickens. *Poultry-Science*, 53: 1, 65-74 (1974).
23. BALNAVE, D., CUMIVIING, RB.; SUTHERLAND ,T. M.: The role of dietary fat in alieviating fatty liver and kidney syndrome in broilers. *Australian-Veterinary-Journal*, 52: 9,433-34 (1976).
24. WHITEHEAD, C.C; BANMSTER, D.W.; CLELAND, M. E.: Metabolic changes associated with the occurrence of fatty liver and kidney syndrome in chicks. *British-Journal of Nutrition* , 38: 3, 319-328 (1977).
25. BALNAVE, D.; CUMMING, RB.; SUTHERLAND, L M.: Abiochemical explanation for the fatty liver and kidney syndrome of broilers: Its alleviation by the short-term use of dietary fat. *British-Journal of nutrition*, 38, 319-328 (1977).
26. BALNAVE, D., WOLFENDEN, J., BALL, F.M., CUMMING, RB., LENG. R.A.: Studies of fatty liver and kidney syndrome in chickens: dynamics of glucose metabolism. *British Journal of Nutrition*, 36: 3, 329-339, 19 (1977).

27. MARQUARDT, R.R.; BOROS, D.; GUENTER, W.; CROW, G.: The nutritive value of barley, rye, wheat and corn for young chicks as affected by use of a *Trichoderma reesei* enzyme preparations. *Animal Feed Science and Technology*, 45: 363-378 (1994).
28. PETERSON, D.; GRAHAM, H.; AMAN, P.: The nutritive value for broiler of pelling and enzyme supplementation of a diet containing barley, wheat and rye. *Animal Feed Science and Technology*, 33: 1-14 (1991).
29. EDNEY, M.J.; CAMPBELL, G.L.; CLASSEN, H.L.: The effect of B-glucanase supplementation on nutrient digestibility and growth in broilers given diets containing barley, oat groats or wheat. *Animal Feed Science and Technology*, 25: 193-200 (1989).
30. FRIESEN, O.D.; GUENTER, W.; ROTTER, B.A.; MARQUAARDT, R.R.: The effect of enzyme supplementation on the nutritive value of rye grain for the young broiler chick. *Poultry Science*, 70: 2501-2508 (1991).
31. PETERSON, D.; AMAN, P.: Production responses and serum lipid concentration of broiler chickens fed diets based on oat bran and extracted oat bran with and without enzyme supplementation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 58: 4, 569-576 (1992).
32. SIRVIDIS, V.; MISHKINENE, M.: Blood chemical values and meat quality of turkey hens on a diet with the enzyme preparation Protosubtilin G3x. *Nauchnye Trudy Vuzov Litovskoi SSR, Biologiya*, 26: 30-35 (1988).
33. CROSSMONN, G.: A modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved, *Anat. Rec.*, 33-8 (1937).
34. MC MANUS, J. F. A.: Mc Manus method for glycozaminoglycan, *Stain Tech.*, 23: 99-108 (1948).
35. HERXHEIMER, G. W.: Sudan Black B Method for Fat Zbl. *Allg. Path. Anat.*, 14: 481 (1903).
36. GARTNER L.P.; HIAT, J. L.: *Color Textbook of Histology*, W. B. Saunders Company, Philadelphia, 346-350 (1997).
37. TELFORD, L.R.; BRIDGMAN C.F.: *Introduction to functional histology*, Harper & Row, Publishers, New York, 378-389 (1989).
38. REDDY, K.P., SIVARAMAKRISHNA, B., RADHAKRISHMAH, K.: Incidence of fatty liver hemorrhagic syndrome in broiler chicken. *Poultry-Adviser*, 28: 4; 21-23; 15 (1995).
39. GHODASARA, D. J., JOSHI, B. P., JANI P.B., GANGOPADHUAY, R. M., PARAJAPATI, K.S.: Pattern of mortality in chicken. *Indian-Veterinary-Journal*, 69: 14, 888-890 (1992).
40. HE-WM., LIV-HZ., YANGFY., WANG XP., ZHAO, TY.: Investigations on the fatty liver syndrome in chickens and study of its etiology. *Chinese-Journal of Veterinary-Science and Technology*, 7, 23-25, (1987).
41. AŞTI, R. N., TANYOLAÇ, A., ÇELİK, İ.: Kafeste tutulan tavukların yüksek enerjili ve yüksek dozda vitamin A'li rasyonla beslenmelerinde karaciğer yağlanması. *Selçuk Üniv. Vet. Fak. Derg. I. sayı*, 15-24 (1985).

42. HILLARD, B. L., LUNDIN, P., CLARKE, S. D.: Essentiality of dietary carbohydrate for maintenance of liver lipogenesis in the chick. *Journal of Nutrition*, 110:8, 1533-1542 (1980).
43. JENSEN, L. S., CHANG, C.H. and WYATT, R. D.: Influence of carbohydrate source on liver fat accumulation in hens. *Poultry Sci.*, 55: 700- 709, (1976).

---

**Yazının Geliş Tarihi: 27.07.1998**