

TAVUKLARDA AFLATOKSİNİN ETKİSİNDE PLAZMA HÜCRELERİNİN
HİSTOMETRİK VE HİSTOMORFOLOJİK İNCELENMESİ*

Ziya Özcan**

The histomorphologic and histometric investigations of plasma cells under the effect of aflatoxin in chickens

Summary: *The aim of study was to determine whether aflatoxin prevented the immune response of plasma cells in chickens. To reach this of light and electron microscopic technics were used.*

In this investigation, 25 female Newhampshire unvaccinated chickens of 4-week-old were used. The chickens were divided into 5 groups of 5 animals each.

First group was kept as control. Second group contained the chickens which were vaccinated against Newcastle disease on the 5th day of aflatoxin application and killed on the following 7th day after vaccination. The chickens in the third group were decapitated 7 days after vaccination. Fourth group of chickens were vaccinated on the 5th day of aflatoxin application and were killed on the 15th day following the vaccination. The chickens in the fifth group were killed after 15 days following the vaccination.

A total amount of 0,22 mg aflatoxin B₁ dissolved in water was administered orally for four successive days per animal and the chickens were vaccinated against Newcastle disease.

In all groups, the materials for light-and electron microscopy were taken from small intestine, spleen, thymus and bursa Fabricius. The preparations for light microscopy were stained with methylgreen-pyronine.

Pyroninophilic cell counts were performed in the preparations from intestinal mucosa. In the evaluation of the results, biostatistically significant differences were found among the groups.

In the electron microscopic preparations, young and mature plasma cells were identified according to their well-known structures. In the intestinal and

* Doktora tezinden özetlenmiştir (1982).

** Dr., A.Ü.Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı. Ankara-Turkey.

spleen samples both young and mature type of plasma cells were encountered. The ratio between young and mature cells varied from one group to another.

It is concluded that aflatoxin affects the immunity in the chickens, and probably is reterdative rather than being preventive in nature.

Özet: *Bu çalışma, tavuklarda aflatoksinin, plazma hücreleri üzerine etki yaparak, immun yanıtı engelleyip engellemediğini ışık ve elektron mikroskopik olarak saptamak amacıyla yapıldı.*

Çalışmada kullanılan hiç bir aşı yapılmamış 4 haftalık 25 adet New-hampshire ırkı dişi civcivler, her biri 5 hayvandan oluşan 5 gruba ayrıldılar :

Birinci grup kontrol, ikinci gruba 4 gün süreyle hayvan başına toplam 0,22 mg suda çözülmüş aflatoksin B₁ ağızdan verilip 5. günde Newcastle burun göz damla aşısı yapıldı ve aşı uygulamasından 7 gün sonra kesildiler. Üçüncü gruba Newcastle burun göz damla aşısı yapıp aşadan 7 gün sonra kesildiler. Dördüncü gruba 4 gün süreyle hayvan başına toplam 0,22 mg suda çözülmüş aflatoksin B₁ ağızdan verilip 5. günde Newcastle burun göz damla aşısı yapıldı ve aşı uygulamasından 15 gün sonra kesildiler. Beşinci gruba ise Newcastle burun göz damla aşısı yapıp 15 gün sonra kesildiler.

Bütün gruplardaki hayvanlardan ince barsak, dalak, timus ve bursa Fabricius'dan ışık ve elektron mikroskop için parçalar alındı. Işık mikroskopisi için hazırlanan preparatlar methylgreen-pyronine ile boyandı.

Elektron mikroskop için hazırlanan kesitlerde genç ve olgun plazma hücreleri klasik yapılarıyla tanındılar. Barsak ve dalakta, gruplara göre değişen oranlarda genç ve olgun tip plazma hücrelerine raslanıldı.

Işık mikroskopisi için hazırlanan ve methylgreen-pyronine ile boyanan ince barsak preparatlarının mukozasında pironinofilik hücre sayımları yapıldı. Araştırma sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesiyle gruplar arası önemli farklılıklar ortaya çıktı.

Araştırmadan elde edilen bulgulara göre civcivlerde aflatoksinin immunité üzerine etkili olduğu, bu etkinin immunitenin gelişmesini engellemekten çok, geciktirici nitelik taşıdığı ortaya konuldu.

Giriş

Kanatlılarda mikotoksikozise neden olan çeşitli mantar türleri (küfler) bulunmaktadır. Aspergillus cinsi mantarların toksinlerinden olan aflatoksinler zehirlenmelere neden olmaktadır. Kanatlılar mantar toksinlerine karşı değişik duyarlılık derecesine sahiptirler (1, 2).

Aflatoxinlerin protein metabolizmasını bozduğu, gelişmeyi ve çeşitli organ fonksiyonlarını olumsuz yönde etkilediği, kan protein düzeylerinde değişimlere neden olduğu bildirilmiştir (7, 8, 18, 19, 20), 22, 29).

Bazı araştırmacılar (2, 9, 10) aflatoksikozisli hayvanların diğer infeksiyöz hastalıklara karşı duyarlı hale geldiklerini, immun yanıtın felç olduğunu, aşılamaların etkisiz kaldığını ve aşılamalara rağmen hayvanların yine de o infeksiyona yakalandıklarını bildirmektedirler.

Birçok araştırmacı (7, 8, 18, 19, 20, 22, 29) civciv ve tavukların yemlerine değişen oranlarda katılan aflatoxinlerle deneysel çalışmalar yapmışlardır. Ancak bunlar, daha çok beslenme ile ilgili immunolojik ya da biyokimyasal amaçlı olup, aflatoxinin immun sistem hücrelerine etkisi üzerine morfolojik bir araştırma niteliğinde değildirler.

Bu çalışmanın amacı, immun sistem hücrelerinden olan plazma hücreleri üzerinde aflatoxinin etkisini morfolojik düzeyde ortaya koymaktır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada deney hayvanları, A.Ü. Veteriner Fakültesi araştırma çiftliğinden sağlandı. Newcastle hastalığına karşı aşılanmamış Newhampshire ırkı günlük dişi civcivler, 4 hafta süreyle bakım ve beslenmeden sonra denemeye alındılar.

Çalışmada kullanılan Newhampshire ırkı 25 adet dişi civciv herbiri 5 hayvandan oluşan 5 gruba ayrıldı.

Birinci grup kontrol grubu olarak ayrıldı. İkinci grupta hayvanların herbirine 4 günde toplam 0,22 mg suda çözünmüş aflatoxin B*, ağızdan verilip 5. günde Newcastle burun göz damla aşısı uygulandı ve aşidan 7 gün sonra kesildiler. Üçüncü gruba sadece Newcastle burun göz damla aşısı uygulandı ve aşidan 7 gün sonra kesildiler. Dördüncü grupta hayvanların herbirine toplam 0,22 mg aflatoxin B₁ ağızdan 4 gün süreyle verilip 5. günde Newcastle burun göz damla aşısı yapıldı ve aşılamadan 15 gün sonra kesildiler. Beşinci grup hayvanlara ise sadece Newcastle burun göz damla aşısı yapıp aşu uygulamasından 15 gün sonra kesildiler.

* Aflatoxin B₁: Sigma Chemical Company, U.S.A.

Kesilen hayvanların ince barsak (duodenum sonu), dalak, timus ve bursa Fabricius'undan parçalar alındı. Işık mikroskobunda yapılacak incelemeler için hazırlanan kesitler methylgreen-pyronine yöntemiyle boyandı (23).

Işık mikroskobu incelemeleri için alınan parçalar alkol-formolde 48 saat süreyle tespit edildi. Methylbenzoate celloidinden geçirilip paraplastta bloklandı. Bu bloklardan elde edilen 7 mikrometre kalın lığındaki kesitler methylgreen-pyronine ile boyandı.

Elektron mikroskopik incelemeler için alınan doku parçaları Karnovsky (11) yöntemine göre tespit edildi. Dehidrasyon ve parlatmayı takiben Araldit M'de bloğa alındılar. Bu dokulardan LKB Ultratom III ile alınan ince kesitler Reynolds (21) yöntemine göre kontrast boyama yapıp Carl Zeiss EM 9 S-2 model elektron mikroskobuyla incelendiler.

Işık mikroskobu için hazırlanan ve methylgreen-pyronine ile boyanan barsak preparatlarında sadece bağ dokuyu içeren ve tamamı 1 cm²'yi bulan alanlarda pironinofilik hücre sayımları yapıldı. Sayım sonuçlarının analizleri için istatistiksel yöntemler kullanıldı ve grupların karşılaştırılmasında varyans analizi (25) yapıldı. Ayrıca varyans analizi yardımıyla aralarında önemli fark bulunduğu tespit olunan ikiden fazla gruplar için "en küçük önemli fark" (LSD_{0,05}) (15) hesaplandı.

Bulgular

Işık mikroskobu bulguları

Barsak mukozası : Methylgreen-pyronine ile boyanan barsak kesitlerinde pironinofilik hücreler, özellikle lamina propria içersinde gözlemlendiler (Şekil 1). Bu hücreler arasında olgun plazma hücreleri, uygun düşmüş kesitlerde, nukleuslarının ekzantrik konumu ve heterokromatinin araba tekerleği biçiminde dağılımıyla belirgin durumda görüldüler (Şekil 2). Nukleus yakınında pironini az almış ya da hiç almamış soluk bir bölge, Golgi kompleksi ile sentrozom alanı olarak belirlendi. Olgun plazma hücreleri, sitoplazmaları koyu boyanan pironinofilik hücreler olarak görüldüler.

Barsak mukozasında yer yer soliter lenf folliküllerine de raslandı (Şekil 3 ve 4). Gerek bu lenf folliküllerinde, gerekse etraftaki bağ dokuda sitoplazmaları pironin ile az boyanmış soluk renkli genç pironinofilik hücreler görüldü. Olgun plazma hücrelerine oranla daha

iri olan genç pironinofilik hücrelerde, sitoplazma/nukleus oranı birbirine yakındı. Nukleusda heterokromatin yok denecek kadar azdı ve nukleolus belirgindi. Bu lenf folliküllerinde olgun plazma hücreleri görülemedi. Genç pironinofilik hücreler arasında mitoz aşamaları gösterenleri oldukça fazlaydı (Şekil 5).

Pironinofilik hücrelerin büyük çoğunluğuna, barsak villuslarının dip kısımlarında raslandı.

Her grupta barsak mukozasından hazırlanan preparatlarda pironinofilik hücreler sayıldı. Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesiyle önemli farklılıklar ortaya çıktı.

Tablo 1. Gruplardan elde edilen 1 cm²'deki pironinofilik hücre sayılarının ortalama değerleri ve standart hataları.

	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
1. Grup: Kontrol	238.8 \pm 15.99
2. Grup: 4 gün süreyle aflatoksin verilip 5. günde aşı, aşidan 7 gün sonra kesim	267.6 \pm 2.68
3. Grup: Sadece aşı yapılıp aşidan 7 gün sonra kesim	390.0 \pm 30.67
4. Grup: 4 gün süreyle aflatoksin verilip 5. gün aşı, aşidan 15 gün sonra kesim	458.2 \pm 29.59
5. Grup: Sadece aşı yapılıp aşidan 15 gün sonra kesim	489.9 \pm 22.64

LSD_{00,5} = 64.4

Aşı yapıldıktan 7 gün sonra alınan materyallerde, kontrol grubundakilere (Şekil 6) oranla çarpıcı bir pironinofilik hücre artışı görüldü (Şekil 7). Bu artış, aflatoksin verildikten sonra aşı uygulanan ve bu uygulamadan 7 gün sonra alınan materyallerde oldukça az oldu (Şekil 8).

Aynı durum, aşılama 15 gün sonra alınan ve aflatoksin verilip aşı yapıldıktan 15 gün sonra alınan materyallerde de görüldü. Ancak, bu gruplar arasındaki farkın, 7 gün beklemeli gruplardakine göre gide rek azaldığı da dikkati çekti.

Tüm gruplar arasındaki farklılıkların önemli olup olmadıkları varyans analizi ile araştırıldı ve önemli farklılıklar tespit olundu (P < 0,01).

Varyans analizi ile saptanan bu farklılığın hangi gruplar arasında önemli olduğunu belirlemek amacıyla en küçük önemli farklılık

Tablo 2. Varyans Analizi.

Kaynak	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Gruplar arası	4	251121.4	62780.35	4.973**
Gruplar içi Fertler arası	20	51837.6	2591.88	
Toplam	24	302959.00	12623.29	

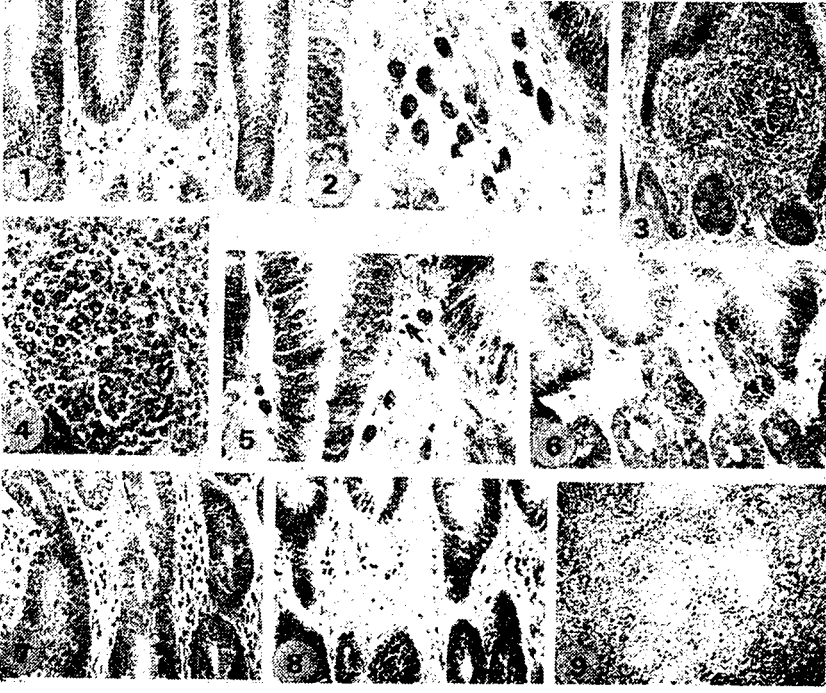
** : $P < 0.01$

($LSD_{0,05}$, $LSD_{0,01}$) hesaplandığında 5 ve 4 numaralı gruplar ile 1 ve 2 numaralı gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel yönden önemsiz görülürken ($P < 0,05$), diğer tüm gruplar arası farklılıklar ise yüksek derecede önemli bulunmuştur ($P < 0,01$).

Dalak: Dalaktan alınan kesitlerin methylgreen-pyronine ile boyanmasında, dalağın her tarafına yayılmış küçük gruplaşmalar halinde pironinofilik hücreler görüldü. Bu gruplaşmaların daha çok küçük arterler çevresinde olduğu belirlendi (Şekil 9). Dalak parenşiminde, pironinofilik hücreler içeren folliküler yapılara da raslandı. Folliküler yapılarda görülen hücrelerden çoğunun, sitoplazmalarının açık renkte boyanmaları, sitoplazma/nukleus oranının hemen hemen birbirine denkliği ve mitotik figürlerin bol oluşları nedenleriyle pironinofilik hücrelerin genç tipleri olduğu kanısına varıldı. Kontrol grubu hayvanların dalağında görülen bu tablo, diğer gruplardaki görüntüden farklı değildi.

Timus: Timustan alınan kesitlerin methylgreen-pyronine ile boyanmasıyla, kortekste lenfositlerin çokluğu ve medullada daha az sayıda hücre bulunması nedeniyle, korteks medulla ayrımı kolaylıkla yapılabilirdi. Medulla bölgesinde çok az sayıda pironinofilik hücreye raslandı. Kontrol grubunda saptanan bu durum diğer araştırma gruplarında da aynen görüldü.

Bursa Fabricius: Bursa Fabricius'dan hazırlanan preparatların boyanmasında, folliküllerin medullasında kortekstekinden daha bol genç pironinofilik hücreler görüldü. Genç hücreler medullanın kortekse komşu bölgelerinde daha da çoktu. Bu hücrelerin sitoplazmalarının açık renkte boyanmaları, nukleus/sitoplazma oranının hemen hemen birbirine denk oluşu, nukleusun ökromatinden zenginliği ve buna bağlı olarak nukleolusun belirgin biçimde görülmesi, bunların genç pironinofilik hücreler olduklarını gösteriyordu. Ayrıca, bu hücrelerde mitotik figürlerin fazlalığı da dikkat çekiciydi (Şekil 10).



Şekil 1. Barsak mukozasında, lamina propriada pironinofilik hücreler. Pyroninophilic cells in lamina propria of intestinal mucosa. X 155.

Şekil 2. Barsak mukozasında lamina propriada olgun plazma hücreleri. Mature plasma cells in lamina propria of intestinal mucosa. X 720.

Şekil 3. Barsak mukozasında soliter bir lenf follikülü. A solitary lymph follicle in intestinal mucosa. X 80

Şekil 4. Şekil 3'ün büyük büyütmedeki görünümü. A section from the picture 3 in higher magnification. X 320.

Şekil 5. Barsak mukozasında pironinofilik hücreler ve bunlardan birinde mitoz figürü (ok). Pyroninophilic cells and a mitotic figure (arrow) in the intestinal mucosa. X 166

Şekil 6. Kontrol grubu materyalde barsak mukozasında çok az sayıda görülen pironinofilik hücreler. Few pyroninophilic cells in the intestinal mucosa of control group. X 200

Şekil 7. Aşı yapıldıktan 7 gün sonra alınan materyalde barsak mukozasında sayıları artmış pironinofilik hücreler. The increased number of pyroninophilic cells in intestinal mucosa 7 days after the vaccination. X 113

Şekil 8. Aflatoksin verildikten sonra aşı uygulanan ve bu uygulamadan 7 gün sonra alınan materyalde barsak mukozasında daha az sayıda pironinofilik hücreler görülmekte. A small amount of pyroninophilic cells in the intestinal mucosa of a aflatoxin administered chicken slaughtered 7 days after the vaccination. X 200

Şekil 9. Dalakta pironinofilik hücrelerin dağılımı. The distribution of pyroninophilic cells in the spleen. X 113

Bursa Fabricius'da olgun plazma hücrelerine raslanamadı. Bütün bu bulguların, tüm araştırma gruplarındaki materyalde aynı olduğu saptandı.

Elektron mikroskobu bulguları

Pironinofilik hücrelerin ince yapıları, farklı özelliklerinden dolayı genç ve olgun plazma hücreleri olmak üzere ayrı ayrı incelendi.

Plazma hücrelerinin en genç tipleri olan immunoblastlar oldukça iriydiler (Şekil 11).

Nukleus/sitoplazma oranında, gelişme derecesine bağlı olarak daima sitoplazma yönünde gittikçe artan bir fazlalık görüldü (Şekil 12). Sitoplazma içersinde ribozomlar çok belirgin ve yaygın polizomlar oluşturmuşlardı (Şekil 11). Bir kaç mitokondriyon sitoplazma içersine yayılmıştı. Genç tiplerin ileri evrelerinde granüllü endoplazma retikulumunu meydana getirmek üzere nukleus dış membranından evaginasyonlar şekillendiği dikkati çekti (Şekil 13).

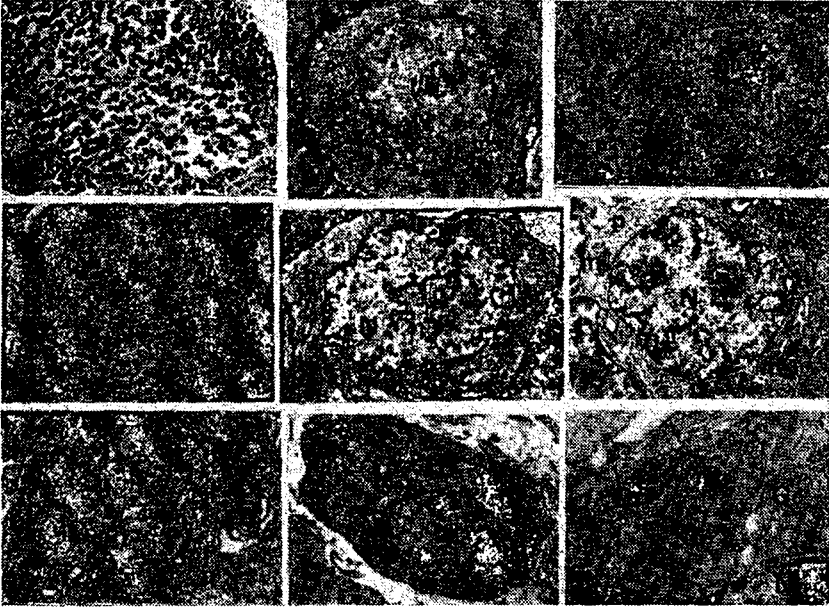
Sitoplazma içersinde de tek tek ve az sayıda granüllü endoplazma retikulumu, ökromatik yapıda nukleus ve belirgin bir nukleolus görüldü (Şekil 14).

Olgunluk evresine doğru nukleusda heterokromatinin (Şekil 15), sitoplazmada da granüllü endoplazma retikulumunun (Şekil 16) arttığı, Golgi kompleksinin de belirginleştiği saptandı.

Olgun plazma hücrelerinde ise uygun düşmüş kesitlerde sitoplazmanın nukleusdan daha geniş bir alanı kapladığı ve heterokromatinin dağılışı ile araba tekerleğini andıran nukleusun, ekzantrik bir yerleşim gösterdiği belirlendi (Şekil 17). Nukleusun çift membran yapısı ve dış membrandan granüllü endoplazma retikulumu keseciklerinin köken aldığı gösteren tablo belirgindi. Granüllü endoplazma retikulumu, fonksiyon durumuna göre yassı ya da içleri sentez ürünleri ile az ya da çok dolu yuvarlak kesecikler halinde görüldüler. Bu kesecikler arasında bir kaç mitokondriyon gözlemlendi.

Golgi kompleksinin oldukça geniş bir alanı kapladığı, daha çok kesecik ve veziküllerden oluştuğu saptandı (Şekil 17 ve 18). Sentrozom bölgesinde mikrotubuler yapısıyla bir çift sentriyol belirgin olarak görüldü (Şekil 19).

Genç ve olgun plazma hücrelerinde saptanan bu ince yapı özellikleri dışında, bazı deney gruplarında gözlenen ayrıcalıklar ise organlara göre şöyle belirlendi:



Şekil 10. Bursa Fabricius'da genç pironinofilik hücreler ve bunların mitoz gösterenleri (oklar). Young pyroninophilic cells and mitotic figures (arrows) in bursa Fabricius. X 272

Şekil 11. Bir immunoblast (bursa Fabricius). An immunoblast (bursa Fabricius). X 7885

Şekil 12. Genç tip bir plazma hücresi (dalak). A young type plasma cell (spleen). X 6255

Şekil 13. Bir immunoblastta granüllü endoplazma retikulumunun çekirdek zarından şekillenmesi (oklar). The formation of granular endoplasmic reticulum from the outer nuclear membrane in an immunoblast. X 8170

Şekil 14. Genç tip bir plazma hücresinde granüllü endoplazma retikulumunun artmaya başlaması. The appearance of independent granular endoplasmic reticulum in the cytoplasm of a young plasma cell. X 7110

Şekil 15. Olgunluk evresine yakın bir plazma hücresi, oklar: heterokromatin. A plasma cell close to maturity stage, arrows: heterochromatin. X 8075

Şekil 16. Olgunlaşmakta olan bir plazma hücresi. A plasma cell in the maturation stage. Note the Golgi complex. X 9500

Şekil 17. Olgun tip bir plazma hücresi (barsak mukozası). Nükleus dış membranında evaginasyonlar (oklar). A mature plasma cell (intestinal mucosa). Evaginations on the outer membrane of the nucleus (arrows). X 8265

Şekil 18. Olgunluk evresindeki plazma hücresinden bir bölüm. Değişik yoğunlukta madde içeren veziküller (oklar). A part of a matured plasma cell. Vesicles with a material of varying density (arrows). X 24080

N:nucleus, n:nucleolus, m:mitochondria, gr:granular endoplasmic reticulum, p:polysome, s:centriol, G:Golgi complex

Barsak mukozası: Aflatoksin verilip aşı yapıldıktan 7 gün sonra kesilen materyalde, plazma hücrelerinin genç tipleri yanı sıra olgun

tipleriyle de karşılaştı. Olgun plazma hücrelerinden istirahat halinde olanlarına (birbirine paralel seyirli granüllü endoplazma kesecikleri içerenler) raslandığı gibi fonksiyon halinde ve yer yer genişlemiş kesecikleri olanları da görüldü (Şekil 20).

Sadece aşı uygulaması yapıp 7 gün sonra kesilen materyalde söz konusu hücrelerin daha çok genç tiplerine, az olarak da fonksiyon halinde olgun tiplerine raslandı.

Aflatoksin verildikten sonra aşı yapıp 15 gün sonra alınan materyalde, diğer gruplardan farklı olarak, fonksiyon halinde, olgun tipte plazma hücreleri görüldü. Granüllü endoplazma retikulum kesecikleri yer yer genişlemiş şekilde bulundu.

Aşı uygulamasından 15 gün sonra alınan materyalde de fonksiyon halinde olgun tipte plazma hücrelerine raslandı; ancak bunlardaki granüllü endoplazma retikulum keseciklerinin çoğunlukla genişlemiş olduğu izlendi (Şekil 21 ve 22).

Dalak: Kontrol grubunda, plazma hücrelerinin çeşitli gelişme basamaklarındaki tipleriyle karşılaştı. Olgun hücrelerde, aşırı bir fonksiyon belirtisi saptanamadı.

Aflatoksin verildikten sonra aşı uygulanan ve bu uygulamadan 7 gün sonra alınan materyalde plazma hücrelerinin değişik evrelerindeki genç tipleri görüldü (Şekil 23). Bu grupta olgun hücreler çok az gözlemlendi.

Aşı yapıldıktan 7 gün sonra alınan materyalde, plazma hücreleri arasında genç tipte olanlara çok raslandı. Daha az sayıdaki olgun plazma hücrelerinde, oldukça şişkin granüllü endoplazma retikulumu görüldü (Şekil 24).

Aflatoksin verilip aşı yapıldıktan 15 gün sonra elde edilen materyalde, daha çok genç tiplere ve çok az sayıda olgun plazma hücrelerine raslandı.

Aşılardan 15 gün sonra alınan materyalde, pironinofilik hücreler arasında, genç tipler olgun plazma hücrelerine göre çoğunlukta idi.

Timus: Timusa ait bloklardan alınan ince kesitlerde korteks medulla ayrımı kolaylıkla yapıldı. Işık mikroskopunda çok az olarak gördüğümüz pironinofilik hücrelere elektron mikroskopta raslayamadık.

Bursa Fabricius: Buradaki folliküler yapıda, medulladan alınan ince kesitlerde plazma hücrelerinin tipik genç şekilleriyle karşılaşıldı (Şekil 25 ve 26). Genç tipteki bu hücrelerde mitoz figürlerine de raslandı (Şekil 27). Ne kontrol grubunda ne de diğer araştırma gruplarında olgun plazma hücreleri görülemedi.

Tartışma ve Sonuç

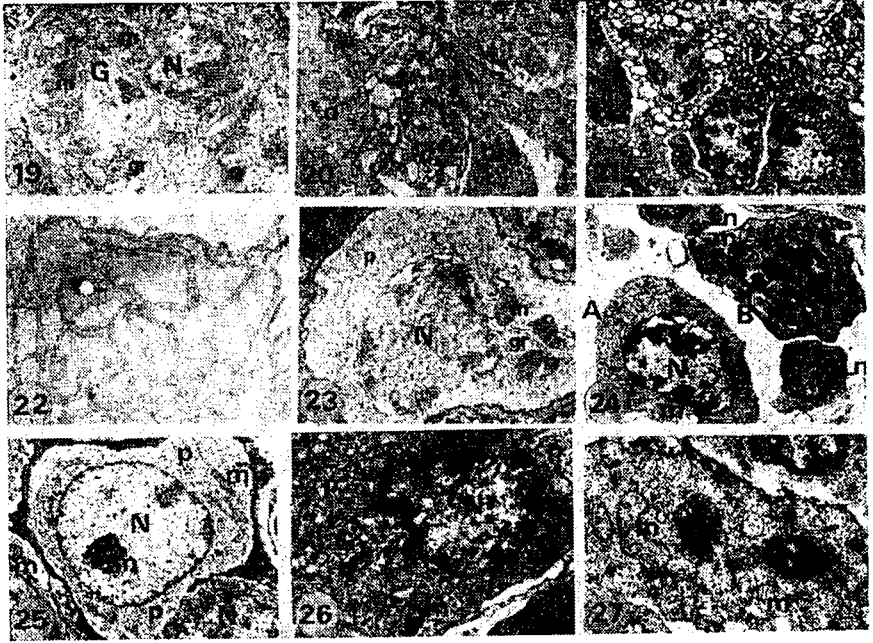
Methylgreen-pyronine ile boyanan preparatlarda olgun pironinofilik hücrelerin sitoplazması kırmızı ya da pembe, genç tiplerinki ise daha açık renkte görülmektedir. Genç tiplerde nukleus/sitoplazma oranı yaklaşık birbirine eşit olmakta bu oran olgunluk evresine doğru nukleus aleyhine gelişmektedir. Genç hücrelerde belirgin bir nukleolus taşıyan ökromatik yapıdaki nukleus hücrenin ortasında yer almaktadır. Ayrıca genç pironinofilik hücrelerde oldukça sık mitoz figürlerine raslanmaktadır. Olgun tiplerde ise sitoplazma içinde nukleus ekzantrik konum almakta ve artan heterokromatin, araba tekerleğini andıran bir biçimde dizilmektedir.

Elektron mikroskopta, ışık mikroskobunda belirlenen özellikler yanında genç tip hücrelerin sitoplazmalarında bol ve yaygın olarak bulunan ribozomlar çoğu durumlarda polizom oluşturmakta belirgin bir kaç mitokondriyon ve yeni gelişen Golgi kompleksi ile karşılaşılmaktadır. Olgunlaşmaya yüz tutmuş hücrelerde granüllü endoplazma retikulumunun nukleus dış membranından geliştiği görülmektedir.

Olgun plazma hücreleri, fonksiyona bağlı olarak değişik görünümde yaygın bir granüllü endoplazma retikulumu, çok belirgin bir kaç mitokondriyon taşımakta, Golgi kompleksi kesecikli ve veziküllü bir yapı göstermektedir. Golgi alanında nukleusa yakın sentrozom bölgesinde belirgin mikrotubuler yapısıyla bir çift sentriyol (diplozom) yer almaktadır.

Araştırma gruplarının tüm bireylerinde saptanan bu bulgular klasik bilgi (3, 4, 24) ile tam bir uyum içindedir.

Aflatoksinin kanatlılarda immun sistem üzerindeki etkisi, bir çok araştırmacı tarafından incelenmiştir. Pier (18) aflatoksinin deoksiribonukleik aside bağlanarak protein formasyonunu önlediğini ve düşük dozlarda aflatoksin verilen hayvanlarda bazı infeksiyonlara karşı rezistansın azaldığını bildirmiştir.



Şekil 19. Olgun tip bir plazma hücresi (barsak mukozası). A matured plasma cell (intestinal mucosa). X 8550

Şekil 20. Aflatoxin verilip aşı yapıldıktan 7 gün sonra kesilen bir hayvanda çeşitli evrelerde plazma hücreleri (barsak mukozası). a: genç tip, b: olgun tip (istirahat halinde), c: olgun tip (fonksiyon halinde) plazma hücreleri. Plasma cells in different functional stages. From the intestinal mucosa of a aflatoxin administered chicken slaughtered 7 days after the vaccination. a: young type b: mature type (in resting stage), c: mature type (active) plasma cells. X 4500

Şekil 21. Aşı uygulamasından 15 gün sonra alınan materyalde barsak mukozasında plazma hücreleri. Plasma cells in the intestinal mucosa of a chicken slaughtered 15 days after the vaccination. X 3960

Şekil 22. Aşı uygulamasından 15 gün sonra alınan materyalde, barsak mukozasında plazma hücrelerinin genişlemiş granüllü ER kesecikleri. The enlarged sacs of granular ER of a plasma cell in the intestinal mucosa of a chicken slaughtered 15 days after the vaccination. X10925

Şekil 23. Aflatoxin verildikten 7 gün sonra aşı uygulanan materyalde, dalakta genç tip bir plazma hücresi. A young type plasma cell in the spleen of a chicken vaccinated 7 days after the aflatoxin application. X 8075

Şekil 24. Aşı yapıldıktan 7 gün sonra alınan materyalde, dalakta istirahat halinde (A) ve aktif (B) plazma hücreleri. Mature plasma cells in resting (A) and active (B) stages in the spleen of a chicken slaughtered 7 days after vaccination. X 4500

Şekil 25. Bursa Fabricius'da genç tip plazma hücreleri. Young type plasma cells in bursa Fabricius. X 7200

Şekil 26. Bursa Fabricius'da genç tip bir plazma hücresi. A young type plasma cell in bursa Fabricius. X 9880

Şekil 27. Bursa Fabricius'da mitotik figür gösteren genç tip bir plazma hücresi. A young type plasma cell from the bursa Fabricius that shows mitotic figure. X 10165

N:nucleus, n:nucleolus, m:mitochondria, gr:granular endoplasmic reticulum, G:Golgi complex, p:polysome, s:centriol, Ln:lymphocyt.

Galikeev ve ark. (7) tifo aşısı ile immunize edilmiş farelere aflatoksin verilmesinin, antikor şekillenme dinamizmi üzerinde olumsuz etkisi bulunduğunu göstermişlerdir.

Pier ve Henddleston (19) Pasteurella multocida infeksiyonlarına karşı immunizasyon esnasında ve immunizasyondan sonra aflatoksin B₁ verilmesinin, hindi ve piliçlerin % 20-67'sinde kazanılmış bağışıklığın gelişmesinde zararlı etkisi olduğunu ortaya koymuşlardır.

Pier ve ark. (20) tarafından Pasteurella multocida infeksiyonlarına karşı aşlanmış hindi palazlarına aflatoksin içeren rasyonların verilmesiyle kazanılmış bağışıklığın harabiyeti ortaya konmuştur. Aynı araştırmacılar, bu tür hayvanlara normal veya immun hayvanlardan plazmanın pasif transferinin, kazanılmış immunitenin devamında etkili olmadığını da bildirmektedirler.

Bu bildiriler, immunizasyondan önce aflatoksin verme biçimindeki uygulamalara bağlı bulguları doğrular niteliktedir. İnce barsak kesitlerinde pironinofilik hücrelerin birim alandaki sayımında ve bunların istatistik hesaplama sonuçlarına göre: aflatoksin verilmesinden sonra aşı yapılan grupla, sadece aşı yapıp 7 gün sonra kesilen grup arasında Tablo 1'de görüldüğü gibi çarpıcı bir fark belirmektedir. Bu durum aşidan önce aflatoksin verilmiş hayvanlarla aflatoksin almamış olanlarda bağışıklığın şekillenmesinde büyük farklılık olduğunu ortaya koymaktadır.

Yine tablonun incelenmesinden, uygulanan deney koşullarında, aflatoksin bağışıklığın şekillenmesini engelleyici olmaktan çok geciktirici rol oynamaktadır. Nitekim aşı yapıldıktan iki hafta sonraki görüntü, aşidan önce aflatoksin verilen hayvanlarla aflatoksin verilmemiş olanlar arasında pironinofilik hücrelerin sayılarındaki farklılığın giderek azaldığını ve bu farklılığın da istatistik yönden önemli olmadığını ortaya koymaktadır.

Galikeev ve ark. (7) tarafından farelere immunizasyondan önce, immunizasyon esnasında ve immunizasyondan sonra aflatoksin verilerek dalak ve lenf yumrularında birim alanda plazma hücreleri sayılmış, antikor titre değerleri bulunarak lenfatik sistemin aflatoksin etkisiyle plazma hücreleri yönünde cevap vermesinin engellendiği ortaya konulmuştur. Bu çalışma bulguları destekler niteliktedir.

Aflatoksinin bağışıklık üzerine etkisinde kan serum porteinleri düzeyindeki değişimler çeşitli araştırmacılar tarafından incelenmiştir.

Giambrone ve ark. (8) civcivlerde aflatoksinin serum immunglobulinlerinden IgG ve IgA konsantrasyonlarını önemli olarak artırdığını, fakat IgM konsantrasyonunu artırmadığını bildirmektedirler. Tung ve ark. (29) kümes hayvanlarında aflatoksinin serum IgM fraksiyonunu değiştirmedeğini, serum IgG'nin azalmasına neden olduğunu bildirmişlerdir. Richard ve ark. (22) hindi palazlarında aflatoksinin serum proteinlerinden alfa albumin, beta globulin ve albuminin azaldığını, gamaglobulinin ise çoğalmadığını söylemektedirler. Pier ve Henddleston (19) hindi palazlarının ve civcivlerin aflatoksin verilşi ile birlikte immunizasyonunda, alfa globulin, beta globulin ve albumin seviyesinde azalmalar olduğunu, gamaglobulinin ise normal düzeyde kaldığını bildirmişlerdir. Pier (18) kanatlılarda düşük dozlarda aflatoksinin devamlı alınmasıyla alfa, beta globulinlerin ve albumin volümlerinin azaldığını, gamaglobulinlerin değişmediğini veya çoğu hallerde arttığını bildirmektedir.

Bu çalışmada deneme hayvanlarının serum proteinleri üzerinde biyokimyasal bir inceleme yapılmadı. Ancak, aşı uygulamasından 7 ve 15 gün sonra kesilen materyalde pironinofilik hücrelerin özellikle plazma hücrelerinin sayılarındaki artışlar ve bunların hiperfonksiyon belirtileri dikkat çekiciydi. Bu durumun aflatoksin uygulamasından 7 ve 15 gün sonra kesilen materyalde gözlenememesi, aflatoksinde sonra aşı uygulanan materyalde serum proteinlerinden gamaglobulinlerin blokajını, fakat yalnızca aşı uygulanan materyalde ise gamaglobulin düzeyinde artışların söz konusu olabileceğini akla getirmektedir.

Plazma hücrelerinin organlardaki dağılımları araştırılmış ve bu arada Weis (31) barsak mukozasının lamina propriasında bol miktarda plazma hücrelerinin görüldüğüne değinmiştir. Tizard (28) kanatlılarda B lenfositlerin ve plazma hücrelerinin, epitel altında barsak lenfoid dokusu içersinde lokalize olduklarını bildirmiştir.

Bu bildirimlere paralel olarak araştırma gruplarına göre değişen oranlarda barsak mukozasının lamina propria katında pironinofilik hücrelere raslandı.

Taliaffero (26), Lucas ve Jamroz (16) normal dalakta seyrek görülen plazma hücrelerinin infeksiyonlarda arttığını bildirmişlerdir. Vanner ve Szenberg (30) normal dalağın temel özelliklerinden biri olarak plazma hücrelerinin varlığına değinmişlerdir. Thorbecke ve ark. (27) iki haftalıktan itibaren normal veya germ free civcivlerde dalağın sinus duvarlarında plazma hücrelerinin varlığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada plazma hücrelerini dalağın normal yapısı içerisinde yer aldığı bütün gruplarda saptandı.

Langevoort (13) tavşanda tek doz antijenin intravenöz verilmesiyle plazma hücrelerinin ve folliküler merkezlerin tepkisini incelemiştir. Dalağın beyaz pulpasında plazma hücrelerinin, periarterioller lenfosit topluluklarından meydana geldiğini görmüştür. Tizard (28) antijen verilmesinden 24 saat sonra dalakta kırmızı pulpada plazma hücreleriyle karşılaşabileceğini bildirmiştir. Movad ve Fernando (17) tavşanlarda primer cevapta büyük pironinofilik blast hücrelerin dalağın periarterioller lenfositik topluluklarından geliştiğini, daha sonra bu hücrelerin beyaz pulpanın periferine göç ederek yavaş yavaş plazma hücrelerine dönüştüğünü ileri sürmüştür.

Bu çalışmada tüm araştırma gruplarında, dalakta beyaz pulpayı oluşturan periarterioller lenfosit toplulukları ile bunlar arasında genç ve olgun pironinofilik hücreler gözlemlendi. Bu pironinofilik hücrelere sinus duvarında ve kırmızı pulpa içerisinde de raslandı.

Bradley ve Grahame (5) plazma hücrelerinin timus korteksinde bulunduğunu, Thorbecke ve ark. (27) ise medullanın dış bölgelerinde rasladıklarını bildirmişlerdir.

Işık mikroskobu için hazırlanan timus preparatlarında çok az sayıda pironinofilik hücrelere medullada raslandı.

Bursa Fabricius'da pironinofilik hücrelerin varlığı ve lokalizasyonuna Weis (31) tarafından değinilmiş, burada bulunan folliküler yapının hem korteks hem de medullasında plazma hücrelerinin varlığından söz etmiştir.

Bu çalışmada bursal folliküllerin ne korteks ne de medullasında olgun pironinofilik hücreler görülemedi. Sadece çok sayıda genç pironinofilik hücreler görüldü.

Literatürde plazma hücrelerinin granüllü endoplazma retikulumu içerisinde "Russel cisimciği" denen oluşumlardan söz edilmiştir. Kerse ve ark. (12) beyaz farelerin mezenter lenf düğümlerindeki plazma hücrelerinde nadiren, fakat tekrarlanan antijenik stimulationslarda daha sık olarak granüllü endoplazma kesecikleri içerisinde değişik çap ve yoğunlukta bir takım inklüzyonlardan söz etmişlerdir. Weis (31) "Russel cisimciği"lerinin, sentez veya salgı ürününün transportunda bir defekt olduğunun işareti sayılacağını belirtmiştir. Leduc ve Avrames de (14) antijenik uyarım sonu tavşanların lenf

yumrularındaki plazma hücreleri içerisinde "Russel cisimciği"lerinin görüldüğünü bildirmişlerdir.

Bu çalışmada hiç bir araştırma grubunda, plazma hücreleri içerisinde "Russel cisimciği"lerine raslanamadı.

Denemeler sonunda pironinofkili hücrelerin ışık-ve elektron mikroskopik yapı özelliklerinin saptanması yanında, aflatoksin B₁'in, immun sistem hücrelerinde immun cevabı ortadan kaldırmaktan çok geciktirici bir etkiye sahip olduğu kanısına da varıldı. Ayrıca, saptanan yapısal özelliklere göre, civcivlerin de aflatoksine duyarlılık gösterdikleri, aşya rağmen bağışıklığın oluşmadığı ve erken dönemde infeksiyonlara yakalanabilecekleri konusundaki yargımız, literatür bildirimleri (1, 2, 6, 9, 10) ile de uyumaktadır.

Literatür

- 1- **Arda, M.** (1975): *Mikotoksinler ve mikotoksikozis*. Veteriner Hekimler Derneği Dergisi. 45(3): 5-18.
- 2- **Arda, M.** (1979): *Mikoloji ders kitabı*. A.Ü.Veteriner Fakültesi yayımları No: 366, Ders kitabı: 264.
- 3- **Bargmann, W.** (1977): *Histologie und Mikroskopische Anatomie des Menschen*. 7. Edit. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- 4- **Bloom, W. and Fawcett, D.W.** (1975): *A Textbook of Histology*. W.B. Saunders Co., Philadelphia-London-Toronto.
- 5- **Bradley, O.C. and Grahame, T.** (1960): "*The Structure of the Fowl*". Edinburg: Oliver and Body.
- 6- **Cheville, N.F.** (1979): *Environmental factors affecting the immune response of birds*. Avian Dis., 23(2): 308-314.
- 7- **Galikeev, K.L., Raipov, O.R. and Manyasheva, R.A.** (1968): *Effect of aflatoxin on dynamics of antibody formation*. Byull. Exp.Biol.Med. 65: 88-90.
- 8- **Giambrone, J.J., Ewert, D.L., Wyatt, R.D. and Eidson, C.S.** (1978): *Effect of aflatoxin on the humoral and cell-mediated immune system of the chicken*. Am.J.Vet.Res., 39(2): 305-307.
- 9- **İstanbuluoğlu, E.** (1977): *Küfler ve mikotoksinler*. Vet.Hek.Dern.Derg., 47(4): 55-60.
- 10- **İstanbuluoğlu, E. ve Arda, M.** (1979): *Kanatlılarda mikotoksikozis*. 3. Ulusal Tavukçuluk Kongresi, Ankara.
- 11- **Karnovsky, M.J.** (1965): *A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy*. J. Cell.Biol., 27: 137A-138A.
- 12- **Kerse, İ., Soylu, R., Aşan, E., Özoran, A., Balta, D., Memikoğlu, A. ve Çakar, N.** (1981): *Plazma hücreleri ve salgılama mekanizması*. Hacettepe Tıp Cerrahi Bülteni, 14(2): 170-204.

- 13- **Langevoort, H.L.** (1963): *The Histophysiology of the antibody Response. I. Histogenesis of the plasma cell reaction in rabbit spleen* Lab. Invest., 12(1): 106-118.
- 14- **Leduc, E.H. and Avrames, S.** (1970): *Cellular origins of humoral antibodies*. Triangle. 9(6): 220.
- 15- **Li, J.C.R.** (1961): *Introduction to statistical inference*. Edward Brothers Inc. Ann Arbor, Michigan.
- 16- **Lucas, A.M. and Jamros, C.** (1961): *Atlas of Avian Haematology*. Agriculture Monograph No.25. U.S.Department of Agriculture, Washington.
- 17- **Movat, Z. and Fernando, V.F.** (1965): *Lymphoid tissue in antibody formation*. Exp.and Mol. Pathol., 4: 155-187.
- 18- **Pier, A.C.** (1973): *Effect of aflatoxin on immunity*. J.Am.Vet.Med.Ass., 163(11): 1268-1269.
- 19- **Pier, A.C. and Henddleston, K.L.** (1970): *The effect of aflatoxin on immunity in turkey. I. Impairment of actively acquired resistance to bacterial challenge*. Avian Dis., 14: 797-809.
- 20- **Pier, A.C., Henddleston, K.L., Cysevski, S.J. and Patterson, J.M.** (1972): *Effect of aflatoxin on immunity in turkeys. II. Reversal of impaired resistance to bacterial infection by passive transfer of plasma*. Avian Dis., 16: 381-387.
- 21- **Reynold, E.S.** (1963): *The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy*. J.Cell., Biol., 17: 208-212.
- 22- **Richard, J.L., Pier, A.C., Cysevski, S.J. and Graham, C.K.** (1973): *Effect of aflatoxin and Aspergillosis on turkey poults*. Avian Dis., 17: 111-121.
- 23- **Romeis, B.** (1968): *Mikroskopisch Technik*. R. Oldenbourg Verlag München-Wien.
- 24- **Sağlam, M.** (1977): *Genel Histoloji*. A.Ü.Veteriner Fakültesi yayınları 334 Ders kitabı: 234.
- 25- **Snedecor, G.W. and Cochran, W.G.** (1974): *Statistical Methods*. The Iowa State University Press, Ames, Iowa, U.S.A.
- 26- **Taliaffero, W.H. and Taliaffero, L.G.** (1955): *Reactions of the connective tissue in chickens to Plasmodium gallinaceum and Plasmodium lophurae. I. Histopathology during initial infections and super infections*. J. Infect.Dis., 97: 99-136.
- 27- **Thorbecke, G.J., Gordon, H.A., Wostman, B., Wagner, M. and Reyniers, J.A.** (1957): *Lymphoid tissue and serum globulin in young germ free chickens*. J. Infect.Dis., 101: 237-251.
- 28- **Tizard, I.** (1978): *Avian immun responses: A brief review*. Avian Dis., 23 (2): 290-297.
- 29- **Tung, H.T., Wyatt, R.D., Thaxton, P. and Hamilton, P.B.** (1975): *Concentrations of serum proteins during aflatoxicosis*. Toxicol. Appl. Pharmacol., 34: 320-326.
- 30- **Warner, N.L. and Szenberg, A.** (1964): *The immunological function of the bursa Fabricius in the chickens*. A.Rev.Microbiol., 18: 253-268.
- 31- **Weiss, L.** (1972): *The cells and tissue of the immune system*. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs.

Yeni Bir Kitap

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Bilim Dalı Başkanı sayın meslekdaşım Prof.Dr.Şevket Yaşarol, yeni eklerle ve bu konuda yayınlanmış en son araştırma ve deneylerin sonuçlarını da içeren "Medikal Parazitoloji" adlı kitabının ikinci baskısını yayınlamış bulunmaktadır.

Bu değerli ders kitabı, genel parazitoloji, medikal protozoloji, helmintoloji, entomoloji, parazitolojinin tanı yöntemleri, kemoterapi, Türkiye parazitleri listesi ve paraziter hastalıklar konularının özetlerini kapsamaktadır.

Toplam 515 sahifeyi içeren bu değerli kitap, sadece tıp öğrencilerinin değil, pratikte ve kliniklerde çalışan tüm tıp mensuplarının, parazitlerin bir çoğunun zoonoz karakteri göstermeleri nedeniyle veteriner hekimlerin, zoolog ve biyologların gerek özel hayatlarında ve gerekse öğretim ve eğitim alanlarında yakından ilgilendiren konu ve sorunlarını cevaplandıracak bir nitelik taşımaktadır.

Medikal parazitolojinin teşhis ve sağıtma alanlarında en son bilgi ve deneyimleri içeren ve bu konulara somut bir yaklaşım gösteren bu değerli eserde, yalnız dış yazarların değil, güç şartlar altında bilimsel araştırmalarını büyük bir dikkat, sabır ve titizlikle devam ettiren yurdumuz bilim adamlarının değerli çalışmalarına da yer verilmektedir.

Kitap belki fazla kabarık ve hacimli görülmektedir. Ancak Türkiye'nin gerek insan ve gerekse hayvan parazitleri faunası, bütün çabalara rağmen henüz tam ve kesin olarak saptanmış değildir. Bu nedenle, yurdumuz için henüz varlığı bilinmeyen fakat komşu ülkelerde görülen, ya da son yıllarda gittikçe artan turistik gezilerle, bu fauna gün geçtikçe genişlemektedir. Bu durumu yakından izleyen Yaşarol, kitabına yeni ekler koymak gereğini duymuştur.

Genç ve değerli parazitoloji uzmanları arttıkça ve bunlar yurdumuzun henüz gelişmekte olan yörelerinde görev aldıkça bu paraziter faunanın yakın bir zamanda daha da belirli bir hale geleceği aşikârdır.

Yukarıda izah etmeye çalıştığım nedenlerle her yönüyle mükemmel bir ders ve müracaat kitabı niteliği taşıyan bu yapıtı bütün meslekdaşlarıma tavsiye etmekteyim.

Ankara 2.4.1984

Prof.Dr.Nevzat Güralp