

AFLATOKSİN B₁ VERİLMİŞ CİVCİVLERİN KARACİĞER PARENŞİMİ ÜZERİNDE IŞIK-, FLÜORESAN - ve ELEKTRON MİKROSKOPİK ÇALIŞMALAR¹

Levent Ergün²

Light-, fluorescence-and electron microscopic studies on liver in chicks fed aflatoxin B₁

Summary: *This study was carried out under light-, fluorescence - and electron microscopy to investigate the effects of aflatoxin B₁ in feeds on chicks' liver and its relation with vitamin A metabolism.*

Thirty chicks were used throughout the study. Oil red o dye was used for the demonstration of fats in the liver and gold impregnation was performed to show the perisinusoidal cells' localisation.

Results showed that there were focal areas of fat depending on excess fat accumulation in the hepatocytes, endothelial lining cells which compose the basic structure of sinusoids had negative effects arising from disorganization of liver plates. Kupffer cells were decreased and their phagocytic abilities was reduced. Depending on decrease of perisinusoidal cells, liver was regressed the ability to store vitamin A.

Key words : *Chicken, liver, aflatoxin B₁, vitamin A.*

Özet: *Bu çalışma, yemlerdeki aflatoksin B₁'in civciv karaciğerindeki etkilerini, A vitamini metabolizması ile ilişkilerini ışık-, flüoresan - ve elektron mikroskopik düzeylerde ortaya koymak amacıyla yapıldı.*

Araştırmada 30 civciv kullanıldı. Karaciğerde yağların demonstrasyonu için oil red o boyaması uygulandı. Perisinuzoidal hücrelerin lokalizasyonunu göstermek amacıyla da altın impregnasyonu yapıldı.

Sonuçta, hepatositlerin aşırı yağlanmasıyla ilgili olarak yağ odaklarının meydana geldiği, Remark kordonlarındaki bozulmayla birlikte sinuzoidlerin çatısını oluşturan endotel hücrelerinin olumsuz şekilde etkilendikleri, Kupffer hücreleri sayılarının ve fagositoz yeteneklerinin azaldığı, perisinuzoidal hücrelerin de sayıca azalmasına bağlı olarak karaciğerin A vitamini depolama görevini aksattığı saptandı.

Anahtar kelimeler : *Civciv, karaciğer, aflatoksin B₁, vitamin A.*

1. Aynı başlıklı doktora tezinden özetlenmiş olan bu çalışma AÜ Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (Proje no: 92-30-00-22)

2. Dr., AÜ Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

Giriş

Tavuklarda karaciğer yağlanması, beslenme (1,4,10,42) ve toksik (24,26,27,28,33) nedenlerin yol açtığı ortaya konmuştur.

Aflatoksine duyarlılıkta türler arasında büyük farklılıklar bulunmakla birlikte, primer toksisitenin görüldüğü organ, hepsinde karaciğerdir (28,35). Piliçlerde aflatoksikozisin karaciğerdeki makroskopik bulguları nodüller, hematomlar ve ekimotik hemorajiler ile soluk sarı renkteki görünümüdür (33,36). En önemli mikroskopik değişiklikler ise karaciğer epitel hücrelerinde dejenerasyon, vakuolizasyon, büyüme ve nekroz, sinuzoidal konjesyon (23,26,33,38) ile safra kanalı epitellerinin kümelenme biçimindeki proliferasyonudur (11,23,33,47). İntersellüler safra kanalcıkları, mikrovilluslarındaki azalma yanında genişleme de gösterirler (18,26). Sinuzoidler genişlemişlerdir ve bol miktarda lökosit içerirler (9,26,39).

Portal bölgelerdeki hücrelerde yağ değişiklikleri daha belirgin olup (32,37,41), hücre duvarlarını ve çekirdeklerini kaybeden üç veya dört hücreli grupların birbirleriyle birleşmesi sonucu fokal yağ alanları meydana gelir (12). Karaciğer epitel hücrelerinde mitokondriyal anomaliler de görülür (26).

Aflatoksin B₁, total karaciğer proteinlerinde hızlı bir azalma meydana getirmektedir (30,35). Hepatositlerin polizomlarında bozulma ve buna koşut olarak monomer ve dimer sahalarında artışlarla beraber (35), granüllü endoplazma retikulumunun paralel görünümündeki düzensizlikler ve degranülasyon, RNA, DNA ve protein sentezinin inhibisyonuna atfedilmiştir (18,26,28). Aflatoksin, yağ asidi sentezinde gerekli olan enzimlerin oluşumunu engellemek suretiyle lipogenezis üzerine etki etmektedir (19). Yağ asidi sentezindeki azalmaya, karaciğerde lipid birikimi eşlik eder (37). Buna bağlı olarak hepatik lipidlerin periferel dokulara taşınması baskılanır (19).

Aflatoksin B₁, bağışıklık sistemi üzerine de etkilidir (34). Piliçlerde, bu toksinle kontamine yem tüketimine bağlı olarak nötrofil

granülositlerin sayısında artma, bazofil granülositler, lenfositler, monositler ve trombositlerin miktarlarında azalmalar görülür; eozinofil granülositlerde ise herhangi bir değişiklik meydana gelmez (32,43).

Aflatoksikozisde, nötrofil granülositlerin ve makrofajların fagositoz yapmaları için gerekli olan komplementin aktivitesi zayıflar (14,15,16,21,39). Bu hücrelerin fagositoz aktivitesi komplemente bağlı olduğundan, yemlerdeki çok düşük aflatoksin düzeylerinden bile (0.625 ppm) olumsuz şekilde etkilenirler (13,22,32).

Aflatoksin B₁ ve retinol, karaciğerde, aynı mikrozomal enzimlere substrat olarak etki yaparlar. Bu yüzden retinolün mikrozomal enzim komponentleri ile spesifik etkileşimi, aflatoksin B₁ metabolizmasını değiştirmektedir (20). Karaciğerdeki hücre tiplerinden hepatositler ve perisinuzoidal hücreler, vitamin A metabolizmasında görevlidirler (2,3,5,6,11).

Kanatlı aflatoksikozisinde, karaciğerdeki lezyonlar konusunda elde edilen bilgiler, hepatositlerde görülen değişikliklerle sınırlı kalmıştır. Bu çalışmada, hepatositlerle birlikte perisinuzoidal, endotel ve Kupffer hücrelerinin ne şekilde etkilendiği araştırılmıştır. Ayrıca karaciğer, A vitamini metabolizması yönünden de önem taşımaktadır. Bu amaçla adı geçen toksinin, karaciğerin tüm hücrelerinde meydana getirdiği lezyonlar ile A vitamini metabolizmasında şekillendirdiği etkiler ışık-, flüoresan - ve elektron mikroskobu düzeyinde incelenmiştir.

Materyal ve Metot

Çalışmada materyal olarak 30 adet "kullanma melezi ticari tavuk" tipinde "Ross" ırkı broyler civevler kullanıldı. Bunlar, kontrol ve deneme grupları şeklinde 15'erli iki ana gruba, her grup da kendi arasında 5'erli üç alt gruba ayrıldılar.

Kontrol grubundaki 15 civevden ilk 5 adedine aflatoksin B₁ içermediği belirlenen normal civev yemi, ikinci 5 adedine birinci hafta sonunda (kesimden 15 gün önce) normal yeme ek

olarak toplam 500.000 IU vitamin A palmitat subkutan verildi: üçüncü alt gruptaki 5 adet civcive ise normal yem ile birlikte, üçüncü hafta sonunda (kesimden 5 saat önce) V.subcutanea ulnaris'den 0.05 ml/100 g dozda (46), partikül çapı 0.3 µm olan latex'in aköz süspansiyonu enjekte edildi.

Deneme grubundaki 15 hayvanın hepsine de 4 ppm aflatoksin B₁² içerdiği saptanan civciv yemi yedirildi. Bunlardan ilk 5 adedine beslenme periyodu boyunca başka bir uygulama yapılmadı. İkinci 5 adetlik gruba birinci haftanın sonunda (kesimden 15 gün önce) toplam 500.000 IU vitamin A palmitat subkutan tatbik edildi: üçüncü 5 adetlik deneme grubuna ise üçüncü hafta sonunda (kesimden 5 saat önce), 0.05 ml/100 g dozda (46), partikül çapı 0.3 µm olan latex'in aköz süspansiyonu V.subcutanea ulnaris'den enjekte edildi.

Hayvanlara üç hafta boyunca ad libitum yem ve su verildi. Belirtilen sürenin bitiminde bütün hayvanlardan, hemen kesim sonrası alınan karaciğer örnekleri ışık -, flüoresan - ve elektron mikroskopik incelemeler için çeşitli işlemlere tabi tutuldular.

1. Aflatoksin B₁ İçeren Rasyonun Hazırlanması :

Aspergillus flavus'dan elde edilmiş olan 36 mg aflatoksin B₁ (C₁₇H₁₂O₆), bağlayıcı nitelikteki eşit miktar mısır nişastası ile karıştırıldı. Bu karışım 9 kg yem ile homojenize edildi ve alınan yem örneğinin, yarı-nicel analiz yöntemi kullanılarak (40) 4 ppm aflatoksin B₁ içerdiği saptandı.

2. Işık Mikroskopik İncelemeler İçin :

Her olguda karaciğerin çeşitli bölgelerinden alınan parçalar, Baker'in (8) %10 formol-kalsiyum tespit solüsyonunda +4 °C'de ve karanlıkta 16 saat süreyle tespit edildiler. Bu parçalardan elde edilen 12 µm kalınlığındaki kriyostat kesitlerine, yağların demonstrasyonu için oil red o (7) boyaması uygulandı. Vitamin

A depolayan hücrelerin lokalizasyonunu göstermek amacıyla da altın impregnasyonu (2,44) yapıldı.

3. Flüoresan Mikroskopik İncelemeler İçin:

Vitamin A'nın karaciğerde belirlenmesi amacıyla, spesifik primer flüoresansdan yararlanıldı (2,8). Bu amaçla, Baker'in (8) yöntemine göre tespit edilmiş parçalardan elde edilen 12 µm kalınlığındaki kriyostat kesitleri, Carl Zeiss marka epiflüoresan mikroskopta incelendiler.

4. Elektron Mikroskopik İncelemeler İçin:

Çalışmada her civcivden alınan karaciğer örneklerinin yarısı, Karnovsky (29) yöntemine göre işlenerek araldit M'de bloklandılar. Karaciğer örneklerinin diğer yarısı ise elektron mikroskopta altın klorür reaksiyonunu (2,44) göstermek için kullanıldı. Bloklardan alınan ince kesitler, Carl Zeiss EM 9S-2 model elektron mikroskopta incelendiler.

Bulgular

1. Işık Mikroskopik Bulgular

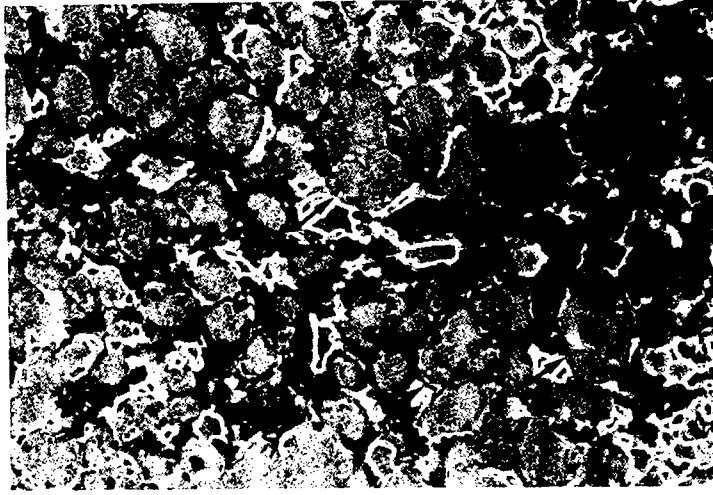
Aflatoxinsiz civciv yemi ile beslenen ve vitamin A verilmeyen kontrol grubuna ait hayvanların oil red o ve altın klorürle boyanan karaciğer kesitlerinde hepatositler negatif, az sayıdaki perisinüzoidal hücreler ise pozitif reaksiyon gösterdiler.

Deneme grubunda, aflatoksin B₁'li civciv yemi ile beslenen hayvanlara ait kesitlerde, hepatositlerde bulunan lipid içeriğinin oil red o'ya karşı pozitif (Şek.1), altın klorüre negatif reaksiyon gösterdiği saptandı. Yağlanma, başta lopçukların I.bölgesinde daha yoğun olmak üzere, organın her tarafında bol miktarda görüldü. Hepatositlerde önemli miktarlara ulaşan lipid damlacıklarının birbirleriyle birleşmeleri sonucu giderek daha büyüdükleri, hücre duvarlarını ve çekirdeklerini kaybettikleri izlendi. Tamamen yağ ile dolmak suretiyle dejenere olmuş hepatositler, kaynaşarak daha büyük yağ odakları meydana getirdiler (Şek.1,oklar).

Kontrol grubunda A vitamini verilen hayvanların altın klorür ile boyanan karaciğer kesitleri incelendiğinde, hepatositler negatif, pe-

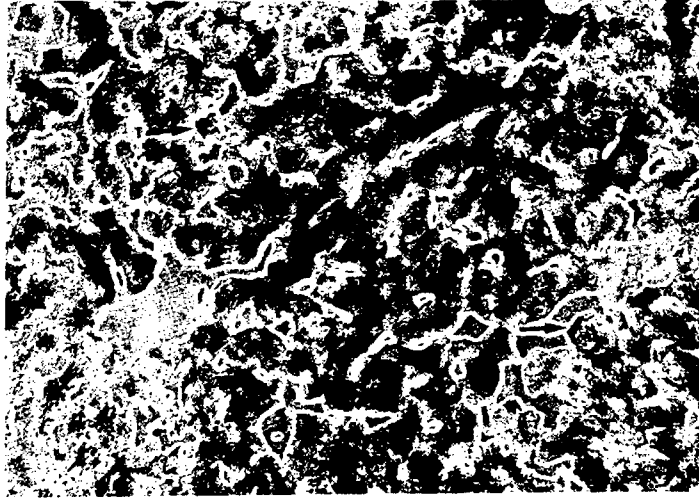
1. Vitamin A palmitat. Roche. İsviçre-Basel

2. Aflatoksin B₁ Sigm Chemical Company, USA.



Şekil 1 : Aflatoksin B₁'li rasyonla beslenmeden sonra. Hepatositlerde oil red o pozitif lipid damlacıkları görülmekte. (oklar) yağ odakları. Oil red o. x 250.

Figure 1 : After fed aflatoxin B₁, oil red o positive lipid droplets were seen in the hepatocytes. (arrows) focal areas of fat. Oil red o. x 250.



Şekil 2 : A vitamini verilmesinden sonraki durum. Altın klorüre Hepatositlerde negatif, perisinuzoidal hücrelerde (oklar) pozitif reaksiyon görülmekte. Altın klorid. x 250.

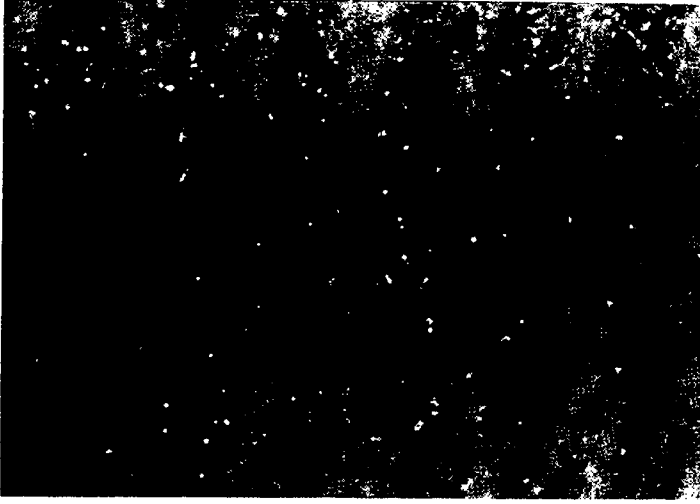
Figure 2 : After vitamin A administration, gold chloride negative reaction in the hepatocytes and positive reaction in the perisinusoidal cells were seen. Gold chloride. x 250.

risinuzoidal hücreler ise pozitif reaksiyon gösterdiler (Şek.2,oklar).

Allatoksin B₁'li yemle beslenen ve birinci haftanın sonunda (kesimden 15 gün önce) A vitamini verilen deneme grubunda, aşırı yağlanmaya bağlı olarak hepatositler oil red o boyamasına pozitif, altın klorüre ise negatif reaksiyon gösterdiler.

2. Flüoresan Mikroskopik Bulgular

Kontrol grubunun aflatoksinsiz civeci yemi ile beslenen ve vitamin A verilmeyenlerinde karaciğer kesitleri, perisinuzoidal alanlarda zayıf flüoresans gösterdi. Deneme grubunun aflatoksin B₁'li civeci yemi tüketen ve vitamin A verilmeyenlerine ait



Şekil 3 : A vitamini verilmesinden sonra bu vitamime karşı kuvvetli flüoresans görülmekte. x 150.
Figure 3 : After vitamin A administration, strong fluorescence were seen against this vitamin. x 150.

karaciğer kesitlerinde ise flüoresans çok daha az idi.

Kontrol grubunun birinci haftanın sonunda (kesimden 15 gün önce) A vitamini verilen hayvanlarına ait karaciğer örneklerinin, bu vitamene, kısa süreli kuvvetli flüoresans verdikleri saptandı (Şek.3). Yine aflatoksin B₁'li civciv yemi ile beslenirken, birinci haftanın sonunda (kesimden 15 gün önce) A vitamini verilen deneme grubunun karaciğer kesitlerinde ise A vitamini verilen kontrol grubuna göre daha az, ama bu vitaminin verilmediği kontrol grubuna göre daha fazla flüoresans görüldü.

Kontrol ve deneme gruplarına ait hepatositlerin, flüoresans vermedikleri saptandı.

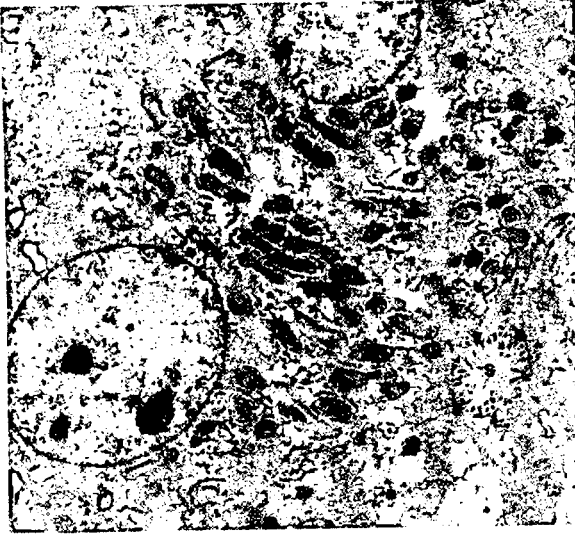
3. Elektron Mikroskopik Bulgular

Karaciğer dokusunda, tamamen yağ ile dolmuş hepatositlerin topluluklar halinde buldukları ve yağ odakları meydana getirdikleri görüldü. Hepatosit çekirdeklerinin solgun renkte olduğu ve çekirdekçiklerin ise gayet belirgin görünüşleriyle eksantrik konumda buldukları izlendi.

Kontrol grubuna ait hepatositlerin normal boyutlardaki mitokondriyonları (Şek.4,m), deneme grubundakilerde (Şek.5,m) bir hayli kü-

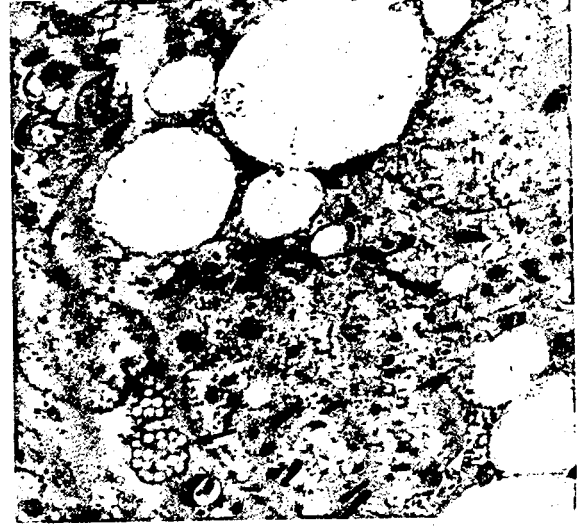
çülmüştü. Hepatositlerdeki lipid kitlesi yüzünden, granüllü endoplazma retikulumunda paralel düzenin bozulduğu, kontrol grubu (Şek.6,oklar) ile karşılaştırıldığında ribozomlarının sayıca azaldığı (Şek.7.ok), intersellüler safra kanalcıklarına ait mikrovillusların da kontrol grubundakilere (Şek.4,s) göre yer yer kaybolduğu (Şek.8,ok) görüldü. Kupffer hücrelerinin sayıca büyük ölçüde azaldığı, kontrol grubuyla (Şek.9) karşılaştırıldığında, fagosite edilen latex partikülleri sayısının da çarpıcı düzeyde azaldığı görüldü (Şek.5,ok). Gerek kontrol, gerekse deneme gruplarında endotel hücrelerinin fagositoz yapmadıkları saptandı (Şek.9.c).

Aflatoksinsiz rasyon verilen ve A vitamini uygulanmayan kontrol grubundaki civcivlerde sitoplazmalarında 1-2 adet lipid damlacığı taşıyan az sayıda perisinüzoidal hücrelere rastlanırken (Şek.9.p,oklar), aynı şekilde toksinsiz yem ile beslenen ve birinci haftanın sonunda (kesimden iki hafta önce) A vitamini verilen kontrol grubuna ait ince kesitlerde, bu hücrelerin ve içlerindeki lipid damlacıklarının sayıca artmış oldukları görüldü (Şek.10,oklar). Toksik yemle birlikte birinci haftanın sonunda (kesimden iki hafta önce) A vitamini verilenlerde perisinüzoidal hücrelerin, toksinsiz



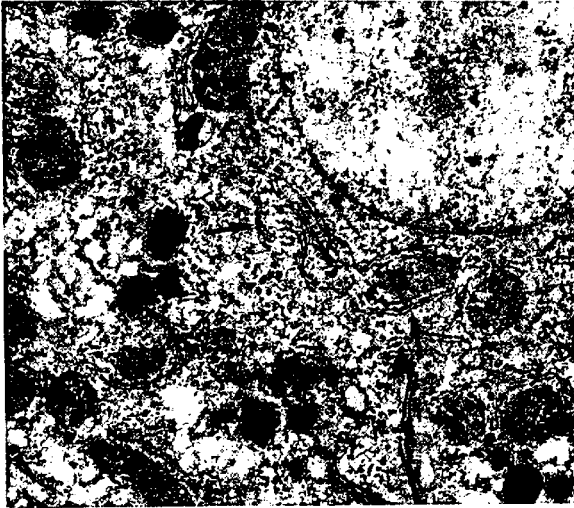
Şekil 4 : Hepatositlerde normal büyüklükteki mitokondriyonlar (m) ve safra kanalcığına ait mikrovilluslar (s). x 7000.

Figure 4 : Normal size of mitochondria (m) in the hepatocytes and the microvilli of the bile canaliculus (s). x 7000.



Şekil 5 : Aflatoksin B₁'li rasyonla beslenmeden sonra Kupffer hüresince (k) fagosite edilmiş az sayıda latex partikülleri (ok) ve hepatosite (h) ait boyutları küçülmüş mitokondriyonlar (m). x 7000.

Figure 5 : After fed aflatoxin B₁ phagocytosed a few number of latex particles by Kupffer cell (k) and the smaller mitochondria (m) in the hepatocytes. x 7000.



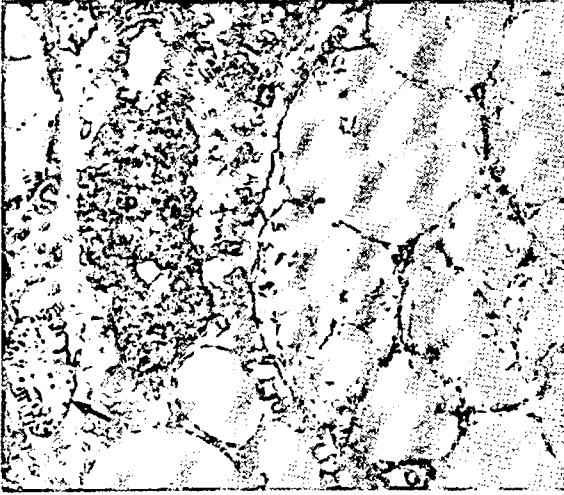
Şekil 6 : Kontrol grubunda hepatositteki granüllü endoplazma retikulumu (oklar). x 13000.

Figure 6 : The rough endoplasmic reticulum (arrows) in the normal hepatocyte. x 13000.

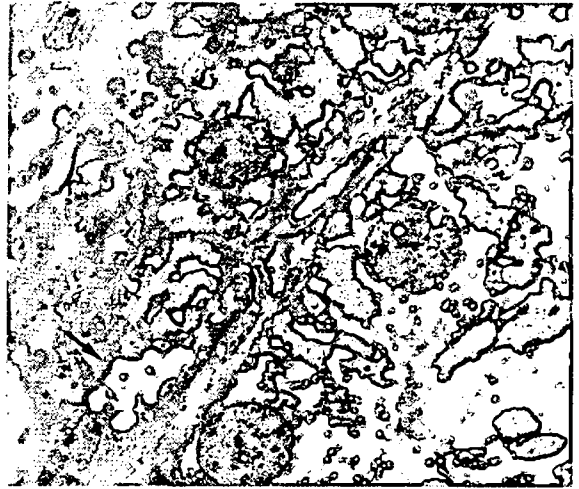


Şekil 7 : Aflatoksin B₁'li rasyonla beslenmeden sonra hepatositin granüllü endoplazma retikulumundaki ribozomlarında yer yer azalma görülmekte (ok). x 13000.

Figure 7 : After fed aflatoxin B₁, degranulation of the rough endoplasmic reticulum were seen in the hepatocyte. x 13000.



Şekil 8 : Aflatoksin B₁'li rasyonla beslenmeden sonra, Intersellüler safra kanalığına ait mikrovilluslarda yer yer azalma görülmekte (ok), perisinuzoidal hücre (p). x 7000.
Figure 8 : After fed aflatoxin B₁, the microvilli of the bile canaliculus were seen reduced. x 7000.



Şekil 10 : A vitamini verilmesinden sonra perisinuzoidal hücrelerdeki altın klorür pozitif lipid damlacıkları sayısının arttığı görülmekte (oklar). Altın klorür. x 2700.
Figure 10 : After vitamin A administration gold chloride positive lipid droplets were increased in the perisinusoidal cells (arrows). Gold chloride. x 2700.



Şekil 9 : Kupffer hücresinde (k) fagositoz pozitif, endotel hücresinde (e) fagositoz negatif. Perisinuzoidal hücrede (p) az sayıdaki yağ damlacıkları (oklar). x 4000.
Figure 9 : Phagocytosis positive in the Kupffer cell (k), phagocytosis negative in the endothelial cell (e). A few lipid droplets (arrows) in the perisinusoidal cell (p). x 4000.

yemle beslenen, fakat A vitamini verilmeyen kontrol grubuna göre daha fazla, toksinsiz yemle birlikte yüksek dozda A vitamini verilen kontrol grubuna göre ise daha az oldukları dikkati çekti.

Elektron mikroskopik incelemeler sonucunda kontrol ve deneme gruplarının hepsinde hepatositler, altın klorüre negatif re-

aksiyon gösterdiler. Aynı şekilde endotel ve Kupffer hücrelerinde de vitamin A verilmesiyle ilgili olarak bir değişim dikkati çekmedi ve sitoplazmalarında lipid damlacıklarının bulunmadığı görüldü.

Tartışma ve Sonuç

Karaciğer yağlanması toksik maddeler (24,26,27,28,33), metabolitler veya beslenme faktörleri (1,4,10,42) gibi çeşitli nedenler sonucunda meydana gelebilir. Carnaghan ve arkadaşları (12) ile Smith ve Hamilton (37), portal bölgelerdeki hücrelerde yağlanmanın daha belirgin olduğunu belirtmişlerdir. Klasik öğretilerde de lopçuklara giren kanın ilk olarak 1.bölgedeki hücrelerle karşılaştığı, toksikasyon olgularında öncelikle karaciğer lopçuklarının 1.bölgesindeki hücrelerin zarar gördüğü vurgulanmıştır (41). Aflatoksinli rasyonla beslenen deneme grubuna ait bütün pilçelerin karaciğer kesitleri ışık mikroskopik düzeyde incelendiğinde, yağlanmanın bu bölgelerde daha yoğun olduğu gözlenmiştir.

Hepatositlerde, aflatoksikozise bağlı olarak mitokondriyonların boyutlarındaki küçülme, Deborah ve Butler'in (18) ratlarda, Hilton ve ar-

kadaşlarının (26) piliçlerdeki bulgularına uymaktadır. Elektron mikroskopik incelemelerimizde, Deborah ve Butler'in (18) bildirdikleri gibi, yağlanmaya bağlı olarak hepatositlerin granüllü endoplazma retikulumlarının paralel düzeninde bozulmalara ve bunlara ait ribozom sayılarında azalmalara sıklıkla rastlandı. Bu durum, bir çok araştırmacı tarafından protein sentezinin aksamasına atfedilmiştir (18,26,28).

Elektron mikroskopik büyültmelerde, aflatoksikozise bağlı olarak, hepatosit çekirdeklerinin soluk renkli görünümüleri ve dolayısıyla daha belirgin gözüken çekirdekçikleriyle karşılaşıldı. Deborah ve Butler (18) bu durumun, çekirdeklerin kromatin materyallerini tüketmiş olmalarından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir; aynı araştırmacılar çekirdeklerde, mitokondriyonlarda ve granüllü endoplazma retikulumlarındaki bu değişiklikleri aflatoksikozis için karakteristik bulduklarını bildirmişlerdir.

Elektron mikroskopik incelemelerde, Deborah ve Butler'in (18) intersellüler safra kanalcıklarına ait mikrovilluslarda gözledikleri sayısal azalma tablosuna sıklıkla rastlandı.

Latex enjeksiyonu yapılan kontrol grubuna ait civcivlerin karaciğer endotel hücrelerinde fagositözün saptanamamış olması Dan ve Wake'in (17) bulgularıyla bağdaşmaktadır. Kupffer hücrelerinin ise bu partiküllerin endositozunda çok yüksek kapasiteye sahip oldukları yönündeki bulgular, Widmann ve arkadaşları'nın (46) bildirimlerine uymaktadır.

Aflatoksin B₁ içeren rasyonla beslenirken latex uygulaması yapılan deneme grubuna ait piliçlerin karaciğerlerinin elektron mikroskopisinde, Kupffer hücrelerinin sayılarındaki azalma çok çarpıcı bulunmuştur. Monositlerden köken alan bu hücrelerdeki azalma, Tung ve arkadaşları'nın (43) aflatoksikozis olgularında kan dolaşımındaki monositlerin sayıca azaldıkları yönündeki bildirimleri ile paralellik göstermektedir. Yine bu hücrelerin aflatoksikoziste, fagositik aktivitelerini büyük

ölçüde kaybettiklerini ve buna bağlı olarak fagosite ettikleri partikül sayısının da azaldığını bildiren Tung ve arkadaşları (43), Michael ve arkadaşları (31), Mohiuddin ve arkadaşları (32) ile Chang ve Hamilton'un (13,15,16) görüşleri, bu çalışmanın sonuçlarına uymaktadır.

Karaciğerdeki perisinuzoidal hücrelerin A vitamini depolamasındaki rollerini Aştı (2,5), Aştı ve arkadaşları (3,6), Wake (44,45) ile Blomhoff ve arkadaşları (11) ayrıntılarıyla açıklamışlar, vitamin A metabolizmasında hepatositlerle işbirliği içerisinde çalıştıklarını göstermişlerdir. Aflatoksin B₁'li rasyonla beslenen ve vitamin A verilmeyen deneme grubundaki hayvanların karaciğerlerinde, aflatoksine bağlı olarak şekillendiği çeşitli araştırmacılar (12,25,27,28) tarafından da bildirilen yağlı karaciğer tablosu bu çalışmada da gözlemlendi. Perisinuzoidal hücrelerin ve bunların sitoplazmalarındaki lipid damlacıklarının sayısında ise bir değişim izlenmedi. Buna karşılık, aflatoksinli rasyonla beslendikten bir hafta sonra yüksek dozda vitamin A verilen ve uygulama periyodunun sonunda kesilen deneme grubundaki hayvanlarda, hepatositlerde aflatoksikozise ait tüm bulgular yanında, perisinuzoidal hücrelerin sitoplazmalarında lipidlerin depolandığı da görüldü. Piliçlerde aflatoksikozis şekillendiğinde hepatositlerde lipid birikiminin arttığı, perisinuzoidal hücrelerin sayısında ise dikkati çekecek düzeyde bir azalmanın meydana geldiği saptandı.

Sonuç olarak: civciv karaciğerinin aflatoksinden büyük ölçüde etkilendiği, özellikle portal bölgelerdeki hepatositlerin yağlandıkları, bunun sonucu çekirdeklerinin ve hücre membranlarının parçalanarak birbirine komşu durumdaki hücrelere ait yağ kitlelerinin kaynaşmak suretiyle geniş yağ alanları oluşturdukları, Remark kordonlarındaki bozulmayla birlikte sinuzoidlerin çatısını şekillendiren endotel hücrelerinin de bundan olumsuz biçimde etkilendikleri, Kupffer hücreleri ve fagosite ettikleri latex partiküllerinin sayılarında çarpıcı düzeyde düşüşler görüldüğü, perisinuzoidal hücrelerin miktarlarının azalmasına bağlı olarak da karaciğerde A vitamini depolama görevinin gerilediği söylenebilir.

Kaynaklar

1. AKKILIÇ,M., TANYOLAÇ,A. (1974) *Kafeste Beslenen Tavuk Rasyonlarındaki Enerji Düzeyinin Karaciğer Yağlanması Üzerine Etkisi*. AÜ Vet Fak Derg XX, No : 3-4.
2. AŞTI,R.N. (1982) *Kanatlılarda Perisinuzoidal Hücrelerin (Fat Storing Cell) Varlığı, Bunların Vitamin A ve Lipid Metabolizması ile İlişkisi Üzerinde Işık-Elektron ve Fluoresan Mikroskopik Çalışmalar*. Doçentlik Tezi. AÜ Vet Fak Hist Emb Bilim Dah. Ankara.
3. AŞTI,R.N., ÖZCAN,Z., ÇELİK,İ. ve ÇINAR,K. (1986) *Vitamin A'nın Sığır Karaciğerinde Hücresel Depolanması*. SÜ Vet Fak Derg 2,53-64.
4. AŞTI,R.N., TUNCER,Ş.D., KALAYCIOĞLU,İ., COŞKUN,B., BAŞPINAR,N. ve ÇELİK,İ. (1987) *Broylerlerde Yağlı Karaciğer Sendromu Üzerinde Histolojik ve Biyokimyasal Çalışmalar*. SÜ Vet Fak Derg 3,233-246.
5. AŞTI,R.N. (1990) *Kanatlı Karaciğerindeki Perisinuzoidal Hücrelerin A Vitamini, Lipid Metabolizması, Yağlı Karaciğer Hastalığı ile İlişkisi Üzerinde Işık ve Elektron Mikroskopik Çalışmalar*. SÜ Vet Fak Derg 6,7-12.
6. AŞTI,R.N., SAĞLAM,M., TANYOLAÇ,A., KURTDEDE,N. ve ERGÜN,İ. (1994) *Vitamin A'nın Tavuk Karaciğerinde Hücresel Depolanması*. AÜ Vet Fak Derg 41,254-269.
7. AYKAÇ,İ. (1977) *Histolojik ve Histoşimik Boya Teknikleri Ders Kitabı*. Atatürk Üniv Tıp Fak Yayınları, No: 26, Ders Kitabı, 203.
8. BAKER,J.R., (1946) *The Histochemical Recognition of Lipide*. Quart Micr Sci 87,441-463. In: Romeis,B. (1989) *Microscopische Technik*. pp.376-377. Urban und Schwarzenberg München-Wien- Baltimore.
9. BİLGİÇ,H.N. (1991) *Civcivlerde Deneysel Aflatoksikozis Olaylarında Patolojik Bulgular*. Doktora tezi. İÜ Sağ Bil Enst Patoloji ABD İstanbul.
10. BLAIR,R., WHITEHEAD,C.C., BANNISTER, D.W. and EVANS,A.J. (1973) *Involvement of Diet in Fatty Liver and Kidney Syndrome in Broiler Chickens*. Vet Rec 92,118-119.
11. BLOMHOFF,R., GREEN,M.H., GREEN,J.B., BERG,T. and NORUM,K.R. (1991) *Vitamin A Metabolism : New Perspectives on Absorption, Transport, and Storage*. Physiol Rev 71,951-990.
12. CARNAGHAN,R.B.A., LEWIS,G., PATTERSON, D.S.P. and ALLCROFT,R. (1966) *Biochemical and Pathological Aspects of Groundnut Poisoning in Chickens*. Pathol Vet 3,601-615.
13. CHANG,C.F. and HAMILTON,P.B. (1976) *Altered Phagocytosis during Aflatoxicosis*. Poult Sci 55,2018.
14. CHANG,C.F. and HAMILTON,P.B. (1979) *Impaired Phagocytosis by Heterophils from Chickens during Aflatoxicosis*. Toxicol Appl Pharmacol 48,459-466.
15. CHANG,C.F. and HAMILTON,P.B. (1979) *Refractory Phagocytosis by Chicken Trombocytes during Aflatoxicosis*. Poult Sci 58,559-561.
16. CHANG,C.F. and HAMILTON,P.B. (1979) *Impairment of Phagocytosis in Chicken Monocytes during Aflatoxicosis*. Poult Sci 58,562-566.
17. DAN,C. and WAKE,K. (1985) *Modes of Endocytosis of Latex Particles in Sinusoidal Endothelial and Kupffer Cells of Normal and Perfused Rat Liver*. Exp Cell Res 158, 75-85.
18. DEBORAH,J.P. and BUTLER,W.H. (1988) *The Ultrastructural Features of Aflatoxin B₁-Induced Lesions in the Rat Liver*. Br J Exp Pathol 69,793-804.
19. DONALDSON, W.E., TUNG, H.T. and HAMILTON, P.B. (1972) *Depression of Fatty Acid Synthesis in Chick Liver (Gallus Domesticus) by Aflatoxin*. Comp Biochem Physiol 41B,843-847.
20. FIROZI, P.F., ABOOBAKER, V.S. and BHATTACHARYA, R.K. (1987) *Action of Vitamin A on DNA Adduct Formation by Aflatoxin B₁ in a Microsome Catalyzed Reaction*. Cancer Lett 34, 213-220.
21. GIAMBRONE,J.J., EWERT,D.L., WYATT,R.D. and EIDSON,C.S. (1978) *Effect of Aflatoxin on the Humoral and Cell-Mediated Immune Systems of the Chicken*. Am J Vet Res 39,305-308.
22. GIAMBRONE,J.J., DIENER,U.L., DAVIS,N.D., PANANGALA,V.S. and HOER,F.J. (1985) *Effects of Aflatoxin on Young Turkeys and Broiler Chickens*. Poult Sci 64, 1678-1684.
23. GUPTA,R.K.P., BHATIA,K.C., RAM,G.C. and SINGH,J. (1985) *A Report of Aflatoxicosis in Poultry*. Indian Vet J 62,203-208.
24. HAMILTON,P.B. and GARLICH,J.D. (1971) *Aflatoxin as a Possible Cause of Fatty Liver Syndrome in Laying Hens*. Poult Sci 50,800-804.
25. HARDING,J.D.J., DONE,J.T., LEWIS,G. and ALLCROFT,R. (1963) *Experimental Groundnut Poisoning in Pigs*. Res Vet Sci 4,217-229.
26. HILTON,H.M., DONALD,E.C., WILLIAM,E.H., LEON,F.K., ROGER,B.H. and ROBERT,E.D. (1989) *Ultrastructure of Hepatic and Renal Lesions in Chickens Fed Aflatoxin*. Am J Vet Res 50,771-777.
27. HUFF,W.E., KUBENA,L.F., HARVEY,R.B., CORRIER,D.E. and MOLLENHAUER,H.H. (1986) *Onset of Aflatoxicosis in Broiler Chickens*. Poult Sci 65 (Suppl. 1) 60.
28. HUFF,W.E., KUBENA,L.F., HARVEY,R.B., CORRIER,D.E. and MOLLENHAUER,H.H.

- (1986) *Progression of Aflatoxicosis in Broiler Chickens*. *Poult Sci* **65**,1891-1899.
29. **KARNOVSKY, M.J.** (1965) *Formaldehyde-Glutaraldehyde Fixative of High Osmolality for Use in Electron Microscopy*. *J Cell Biol* **27**,137A-138A.
30. **MASHALY, R.I., SALEM, M.H., MAHMOUD, Z.H., EL-DEEB, S.A., EL-SHAARAWI, G. and ISMAIL, A.A.** (1986) *Effect of Aflatoxins on Body-Weight Gains, and on Protein and RNA Synthesis in Chickens*. *Indian J Anim Sci* **56**,698-702.
31. **MICHAEL, G.Y., THAXTON, P. and HAMILTON, P.B.** (1973) *Impairment of the Reticuloendothelial System of Chickens During Aflatoxicosis*. *Poult Sci* **52**,1206-1207.
32. **MOHIUDDIN, S.M., REDDY, M.V., REDDY, M.M. and RAMAKRISHNA, K.** (1986) *Studies on Phagocytic Activity and Haematological Changes in Aflatoxicosis in Poultry*. *Indian Vet J* **63**,442-445.
33. **MOORTHY, A.S., MAHENDAR, M. and RAO, P.R.** (1985) *Hepatopathology in Experimental Aflatoxicosis in Chickens*. *Indian J Anim Sci* **55**,629-632.
34. **ÖZER, A., MİNBAI, A., ÖZCAN, Z., YAKIŞIK, M., ÇARLI, T.** (1989) *DeneySEL Aflatoksin Zehirlemesinin Tavuklarda Immun Sistem Hücrelerine ve Antikor Oluşumuna Etkisi*. *Doğa TU Vet Hay D* **13**,164-170.
35. **RAO, K.S.** (1971) *Aflatoxin B₁ Induced Inhibition of Liver Protein Synthesis In Vivo and Its Role in Fatty Liver*. *Biochem Pharmacol* **20**:2825-2831.
36. **SCHROEDER, E.C., NAIR, K.P.C. and CARDEILHAC, P.T.** (1972) *Response of Broiler Chicks to a Single Dose of Aflatoxin*. *Poult Sci* **51**:1552-1556.
37. **SMITH, J.W. and HAMILTON, P.B.** (1970) *Aflatoxicosis in the Broiler Chicken*. *Poult Sci* **49**,207-215.
38. **SMITH, J.A., ADEKUNLE, A.A. and BASSIR, O.** (1975) *Comparative Histopathological Effects of Aflatoxin B₁ and Palmotoxins B₀ and G₀ on Some Organs of Different Strains of the Newly Hatched Chick (Gallus Domesticus)*. *Toxicology*, **3**,177-185.
39. **STEWART, R.G., SKEELES, J.K., WYATT, R.D., BROWN, J., PAGE, R.K., RUSSELL, I.D. and LUKERT, P.D.** (1985) *The Effect of Aflatoxin on Complement Activity in Broiler Chickens*. *Poult Sci* **64**,616-619.
40. **ŞANLI, Y., YAVUZ, H. ve AKAR, F.** (1990) *Kuru İncir Örneklerinde Mikotoksin Kirlilikleri* AÜ Vet Fak Derg **37**,293-308.
41. **TANYOLAÇ, A.** (1993) *Özel Histoloji*. AÜ Vet Fak Ankara.
42. **TUNCER, Ş.D., AŞTI, R., COŞKUN, B., ERER, H. ve TEKEŞ, M.A.** (1987) *Farklı Enerji Kaynaklarının Broilerlerde Besi Performansı, Abdominal Yağ Birikimi ve Karaciğer Yağlanması Üzerine Etkisi*. II. Karaciğer Yağlanmasına Etkisi. SÜ Vet Fak Derg **3**, 41-62.
43. **TUNG, H.T., COOK, F.W., WYATT, R.D. and HAMILTON, P.B.** (1975) *The Anemia Caused by Aflatoxin*. *Poult.Sci.* **54**,1962-1969.
44. **WAKE, K.** (1971) "Sternzellen" in the Liver: *Perisinusoidal Cells with Special Reference to Storage of Vitamin A*. *Am J Anat* **132**,429-461.
45. **WAKE, K.** (1980) *Perisinusoidal Stellate Cells (Fat-Storing Cells, Interstitial Cells, Lipocytes). Their Related Structure in and Around the Livers Sinusoids, and Vitamin A-Storing Cells in Extrahepatic Organs*. *Int Rev Cytol* **66**,303-353.
46. **WIDMANN, J.J., COTRAN, R.S. and FAHIMI, H.D.** (1972) *Mononuclear Phagocytes (Kupffer Cells) and Endothelial Cells*. *J Cell Biol* **52**,159-170.
47. **YAKIŞIK, M.** (1992) *Aflatoksin B₁ Verilmiş Newcastle'a Aşılı Cıvıclerde Karaciğer Parenşimi Üzerinde Işık Mikroskopik İncelemeler*. UÜ VetFak Derg **2**,43-51.