

KAFESTE TUTULAN TAVUKLARIN YÜKSEK ENERJİLİ VE
YÜKSEK DOZDA VİTAMİN A'LI RASYONLA
BESLENMELERİNDE KARACİĞER YAĞLANMASI

*Fatty liver of hens laid in cages fed with ration containing higher
energy and high level of Vitamin A.*

Reşat Nuri AŞTI (*)
Attila TANYOLAÇ (**)
İlhami ÇELİK (***)

SUMMARY : This study was carried out at the light and electronmic-
roscopic level to investigate the effect of high energy and Vitamin A
levels in the ration over the fat deposition in the liver of the Bobcock
strains chickens fed in cages.

Fourty mature chickens were used as material. Lipid granules in the
liver epithelial cells were rarely appeared in the control group chickens.
Contrary to those in the cytoplasm of the perisinusoidal cells, the num-
bers of lipid granules were observed that not to increase in the hepatic
epithelial cells of the chicken subcutanely administrated with 50.000
I.U/kg Vitamin A palmitat.

All the findings were observed related to the fat deposition in the
liver of chickens that fed 3 months with high energyg rations.

Presence of lipids in the liver were determined as lipid accumulation
rather than dejeneration.

On the other hand diffuse lipid dejenerations were determined in the
hepatic epithelial cells of the chickens fed both high energy and Vitamin
A level ration.

(*) Doç. Dr., S. Ü. Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı.
Konya - Turkey.

(**) Prof. D., A. Ü. Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı.
Ankara - Turkey

(***)Araş. Gör., S. Ü. Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı.
Konya - Turkey.

In the case of high energy level together with high Vitamin A level in the ration. It is concluded that the intensity of fat deposition in the liver increased with the level of Vitamin A.

ÖZET: Bu araştırma, kafeste beslenen Bobcock tavuklarında, rasyondaki enerji ve vitamin A seviyesinin yüksek oluşunun karaciğer yağlanması üzerine etkisini ışık ve elektron mikroskopik düzeylerde saptamak amacıyla yapıldı.

Materyal olarak 40 adet erişkin «Bobcock» tavuk kullanıldı.

Kontrol grubundaki tavukların karaciğer epitel hücrelerinde lipid damlacıklarına çok az raslandı.

Subkutan yolla, 50.000 I.U/kg vitamin A palmitat verilen tavukların karaciğer epitel hücrelerinde lipid damlacıkları miktarında bir artış olmadığı, buna karşılık perisinuzoidal hücrelerin sitoplazmasında lipid damlacıkları miktarının arttığı gözlemlendi.

Yüksek enerjili rasyonla 3 ay beslenen tavuklarda karaciğer yağlanmasına ait bulguların tümü elde edildi. Böyle bir karaciğerde, lipidlerin bulunuşunun dejenerasyondan çok, lipid toplanması şeklinde olduğu tesbit edildi.

Enerji ve vitamin A seviyesi yüksek rasyonla beslenen tavukların karaciğer epitel hücrelerinde ise diffuz yağ dejenerasyonu saptandı. Rasyondaki enerji seviyesi ile birlikte vitamin A seviyesinin de yüksek olması halinde, A vitamini'nin karaciğer yağlanmasını şiddetlendirici etki yaptığı sonucuna varıldı.

G İ R İ Ş

Kafeste beslenen ve hareketleri kısıtlanan yumurta tavuklarında %10-20 dolayında mortaliteye neden olan karaciğer yağlanmasının (Fatty Liver Sendrom) şekillenmesinde, çeşitli etkenlerin rol oynadığı ve bu etkenler arasında özellikle rasyondaki enerji miktarının yüksek oluşunun birinci derecede sorumlu olduğu, birçok araştırmacı tarafından ileri sürülmüştür (1, 4, 5, 6, 7, 12, 15, 19, 23).

Marion (15), Tüller (23), Splitgerber (19), Ivy ve Nesheim (12) yaptıkları çalışmalarda, yüksek enerjili rasyonla besledikleri tavuklarda karaciğer yağlanmasının görüldüğünü bildirmektedirler.

Akkılıç ve Tanyolaç (1), yüksek enerjili rasyonla besledikleri tavukların, karaciğer epitel hücrelerindeki lipid damlacıklarının miktarca arttığından, başlangıçta küçük olan lipid damlacıklarının birbirleriyle birleşerek iri lipid damlacıklarını şekillendirdiğinden söz etmektedirler.

Wake (24), Nakane (16), Kobayashi ve Takahashi (14)'nin ratlarda, Hruban ve arkadaşlarının (11) insanda, Aşti (2), Tatsumi ve arkadaşlarının (22) tavuklarda, yüksek dozda vitamin A vererek yaptıkları çalışmalarda, perisinuzoidal hücrelerin sitoplazmasındaki lipid damlacıklarının sayısının arttığı, karaciğer epitel hücrelerinin sitoplazmasındaki lipid damlacıkları miktarında ise değişme olmadığı bildirilmektedir.

Bu çalışmada, rasyondaki enerji seviyesi ile birlikte vitamin A seviyesinin de yüksek oluşunun, karaciğer yağlanması üzerine etkilerini, ışık ve elektron mikroskopik düzeyde saptamaya çalıştık.

MATERYAL VE METOT

Çalışmamızda materyal olarak Çifteler Harası orijinli beyaz «Bobcock» tavuk ve horozlar kullanıldı. Bu hayvanlar 5 aylık iken getirilip, kafeslerde bakım ve beslemeye alındılar.

Çalışma süresince toplam 40 hayvandan karaciğer örnekleri alındı. Bunlar 3 gruba ayrıldı. Her üç gruptaki hayvanlar, Akkılıç ve Tanyo-laç'ın (1) tavuklarda uyguladıkları değişik enerji düzeyindeki rasyonlarla 3 ay süreyle beslendiler. Birinci ve ikinci gruptakilere 2550 k cal/kg, üçüncü gruptakilere ise 2850 k cal/kg metabolik enerji içeren yem verildi.

Birinci grupta bulunan 10 adet hayvan kontrol grubu olarak kullanıldı.

İkinci gruptaki 10 adet hayvana, beslemenin üçüncü ayında 5'er gün ara ile iki defa 50.000 I.U/kg vitamin A palmitat subkutan yolla verildi ve 15 gün sonra karaciğer örnekleri alındı.

Üçüncü grupta bulunan 20 hayvandan 10 adedinin yemine (2850 k cal/kg enerjili) 12.000 I.U/kg. Vitamin A katılarak 3 ay süre ile yedirildi ve sürenin bitiminde karaciğerden örnekler alındı. Diğer 10 adedinde de, aynı rasyon 2,5 ay verildikten sonra, 15 gün de bu rasyonun 50.000 I.U/kg Vitamin A içeren şekli hazırlanarak yedirildi ve bu süre sonunda karaciğer örnekleri alındı.

Alınan materyaller aşağıdaki işlemlere tabi tutuldu :

A - Işık mikroskopik incelemeler için :

Her vakada karaciğerin çeşitli yerlerinden parçalar alındı ve bu parçalar, Baker'ın (3) %10 formol - kalsiyum tesbit solusyonunda tesbit edildi. Kriyostatta 15 - 20 mikron kalınlığında alınan dondurma kesitleri, karaciğerde yağların demostrasyonunu sağlamak için sudan III ile boyandı.

(F. : 2)

B - Elektron mikroskopik incelemeler için :

Araştırmada kullanılan her hayvandan, öldürülür öldürülmez alınan çok küçük karaciğer parçaları, Karnovsky (13) yöntemine göre glutaraldehid - paraformaldehid tesbit sıvısı (pH 7,4) ile 60 dakika tesbit edildi. %1,3'lük ozmik asitte (pH 7,4) ikinci tesbitten sonra, dereceli alkollerden geçirilip, Araldit M'de bloğa alındı. Bu bloklardan elde edilen ince kesitlere Reynolds (18) yöntemine göre kontrast boyama yapıldı ve Carl Zeiss EM 9 S - 2 model elektron mikroskopta incelendi.

BULGULAR

Kontrol grubuna ait karaciğer örneklerinin ışık ve elektron mikroskopik incelenmesinde, karaciğer epitel hücre kordonlarının iki sıralı epitel hücrelerinden şekillendiği görüldü. Bu hücrelerin özellikle mitokondriyonlardan zengin olduğu, granüllü ve granülsüz endoplazma retikulumu ile Golgi aygıtının da iyi gelişmiş olduğu dikkati çekti. Sudan III ile boyanan kesitlerde, karaciğer epitel hücrelerinin sitoplazmasında lipid damlacıklarına çok ender raslandı.

50.000 IU/kg Vitamin A palmitat verilen ikinci gruptaki hayvanlara ait kesitler ışık ve elektron mikroskopik düzeyde incelendiğinde, karaciğer epitel hücrelerindeki lipid damlacıklarının miktarında herhangi bir artma olmadığı ve bu hücrelerin yağ boyamasına karşı oldukça zayıf reaksiyon verdiği gözlemlendi. Buna karşılık, vitamin A'ya bağlı olarak perisinüzoidal hücrelerin sitoplazmasındaki lipid damlacıklarının arttığı (şekil 1 oklar), ve bu hücrelerin yağ boyamasında kuvvetli reaksiyon gösterdikleri saptandı (şekil 2 oklar).

Yüksek enerjili rasyonla 3 ay beslenen hayvanlarda, yağlı karaciğer sendromuna ait bulguların tümü gözlemlendi: Işık mikroskopik kesitlerde, karaciğer epitel hücrelerinin sitoplazmaları içinde sudan III'le kuvvetli reaksiyon veren, çok sayıda irili ufaklı lipid damlacıkları görüldü (şekil 3). Elektron mikroskopik kesitlerde, başlangıçta ufak olan lipid damlacıklarının birbirleri ile birleşerek daha iri lipid damlacıklarını şekillendirdikleri, böylece aynı hücrenin sitoplazması içinde küçük lipid damlacıklarının yanında birden fazla iri lipid damlacıklarının da bulunduğu saptandı (şekil 4 ve 5). Mitokondriyonların lipid damlacıkları ile sıkı ilişki içinde olduğu (şekil 4 ve 5 oklar), granüllü endoplazma retikulumu keselerinin de genişlemiş olduğu dikkati çekti (şekil 4 g ve 5 g). Lipidlerin, karaciğer epitel hücrelerinde bulunuşunun bir dejenerasyon şeklinde değil, lipid toplanması biçiminde olduğu gözlemlendi (şekil 4 ve 5).

Yüksek enerjili rasyonla 2,5 ay beslendikten sonra, aynı rasyonun

50.000 I.U/kg Vitamin A içeren şekli ile de 15 gün daha beslenen hayvanlarda karaciğer yağlanması, sadece yüksek enerjili rasyonla beslenen gruba göre, çok daha şiddetli olarak gözlemlendi. Işık ve elektron mikroskopik kesitlerde, lipidlerin karaciğer epitel hücrelerinin sitoplazması içinde irili ufaklı damlacıklar şeklinde olmayıp, sitoplazmayı diffuz şekilde kapladığı ve karaciğer epitel hücrelerinin yağ boyamasına karşı çok kuvvetli ve yaygın reaksiyon verdikleri görüldü (şekil 6). Lipidlerin, karaciğer epitel hücrelerinde bulunuşunun, yağ depolanması şeklinde değil, diffuz yağlanma biçiminde olduğu dikkati çekti (şekil 7 ve8).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Hodges (10), Aştı (2) ve Purton (17), kanatlılarda karaciğer epitel hücrelerinin mitokondriyonlardan, granüllü ve granülsüz endoplazma retikulumundan, Golgi kompleksinden zengin olduğunu bildirmişlerdir. Biz de kontrol grubuna ait örneklerde, karaciğer epitel hücrelerinin söz konusu organellerden zengin olduğunu saptadık. Hodges'in de (10) bildirdiği gibi, hücrelerin sitoplazmasında lipid damlacıklarına ender rastladık.

Hruban ve arkadaşlarının (11) hipervitaminosis A'lı insanlarda; Wake (24), Nakane (16), Kobayashi ve arkadaşlarının (14) ratlarda; Aştı'nın (2) tavuklarda; Tatsumi ve arkadaşlarının (22) tavuk embriyonlarında; yüksek dozda Vitamin A vererek yaptıkları araştırmalarda, karaciğer epitel hücrelerinin sitoplazmasındaki lipid damlacıklarının sayısında bir artma görülmediği halde, Vitamin A'nın verilmesiyle birlikte, perisinuzoidal hücrelerin sitoplazmasındaki lipid damlacıklarının hızla artmaya başladığı ve bu hücrelerin Vitamin A depo ettiği bildirilmiştir. Biz de 50.000 I.U/kg Vitamin A palmitat verdiğimiz tavukların karaciğer epitel hücrelerinde benzer bulguları elde ettik. Karaciğer epitel hücrelerindeki lipid damlacıklarının artmadığını, perisinuzoidal hücrelerdeki lipid damlacıklarının ise Vitamin A'ya bağlı olarak arttığını saptadık.

Kafeste beslenen ve hareket olanakları kısıtlanmış olan yumurta tavuklarında, karaciğer yağlanmasını meydana getiren çeşitli etkenlerin bulunduğu ve bunlar arasında, rasyondaki enerji miktarının birinci derecede rol oynadığı bir çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (1, 4, 5, 6, 7, 12, 15, 19, 23). Marion (15), Tüller (23), Splitgerber (19), Ivy ve Nesheim (12) gibi çeşitli araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda, yüksek enerjili rasyonla besledikleri yumurta tavuklarında karaciğer yağlanmasının şekillendiğinden, Akkılıç ve Tanyolaç da (1), çeşitli metabolik enerji düzeyindeki rasyonları uygulayarak yaptıkları çalışmada, karaciğer yağlanmasının özellikle yüksek enerjili rasyonla beslenen tavuklarda görüldüğünü,

karaciğer epitel hücrelerindeki lipid damlacıklarının miktarca arttığını, başlangıçta küçük olan lipid damlacıklarının birbirleri ile birleşerek daha iri lipid damlacıklarını oluşturduğundan söz etmektedirler.

Yüksek enerjili rasyonla 3 ay beslediğimiz tavuklara ait karaciğerlerde, karaciğer yağlanması tüm görüntülerini elde ettik. Işık ve elektron mikroskopik kesitlerde, karaciğer epitel hücrelerinin sitoplazması içinde çok sayıda, irili ufaklı lipid damlacıklarının bulunduğunu gördük. Lipidlerin, karaciğer epitel hücrelerinde bulunuşunun dejenerasyondan çok, lipid depolanması şeklinde olduğunu saptadık. Yüksek enerjili rasyonla 2,5 ay besledikten sonra 15 gün de aynı rasyonun 50.000 I.U/kg Vitamin A içeren şekli ile beslenen hayvanlara ait kesitlerde ise, karaciğer yağlanması çok şiddetli olduğunu, lipidlerin sitoplazmayı diffuz şekilde kapladığını, lipidlerin bulunuşunun depolanmadan çok, yağ dejenerasyonu şeklinde olduğunu tesbit ettik.

Karaciğer yağlanması görülen hayvanların karaciğer epitel hücrelerinde, glukogenezisin ve yağ oksidasyonunun azaldığını bildiren çalışmaların (5, 9) yanında, karbonhidratların yağ sentezinde rol oynadığını bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (8, 20, 21). Bizim görüşümüze göre, yüksek enerjili rasyonla beslenen hayvanların karaciğerinde glukogenezis ve yağ oksidasyonu azalmaktadır. Glukogenezisin azalması sonucu karaciğerde, karbonhidratlardan glikojen sentezi azaltmakta, buna karşılık karbonhidratlardan yağ asitlerinin sentezi ise hızlanmaktadır. Yağ oksidasyonunun da azalmış olması, sentezlenen yağ asitlerinin karaciğer epitel hücrelerinin sitoplazması içinde trigliseridler şeklinde ve yağ damlacıkları halinde depolanmasına neden olmaktadır. Yüksek enerjili ve yüksek vitamin A'lı rasyonla beslenen hayvanların karaciğer epitel hücrelerinde yağlanmanın daha şiddetli ve yağ dejenerasyonu şeklinde görülmesinin, karaciğer epitel hücrelerinde karbonhidratlardan yağ asitlerinin sentezlenmesi yanında, Vitamin A'nın hücre membranının geçirgenliğini arttırması sonucu, kan plazmasındaki serbest yağ asitlerinin karaciğer epitel hücrelerine girişinin hızlanması ve trigliserid sentezinin daha da artmasından ileri geldiği görüşündeyiz.

Düşük enerjili yemle beslenen ve subkutan yolla Vitamin A palmitat verilen ikinci gruba ait tavukların karaciğerinde yağlanmanın görülmesi, enerji seviyesinin düşük olduğu durumlarda, Vitamin A seviyesindeki yüksekliğin tek başına karaciğer yağlanmasına neden olmadığını göstermektedir. Rasyondaki enerji ile birlikte, Vitamin A seviyesinin de yüksek olması, karaciğer yağlanmasının şekillenmesi üzerine hızlandırıcı etki yapmaktadır.

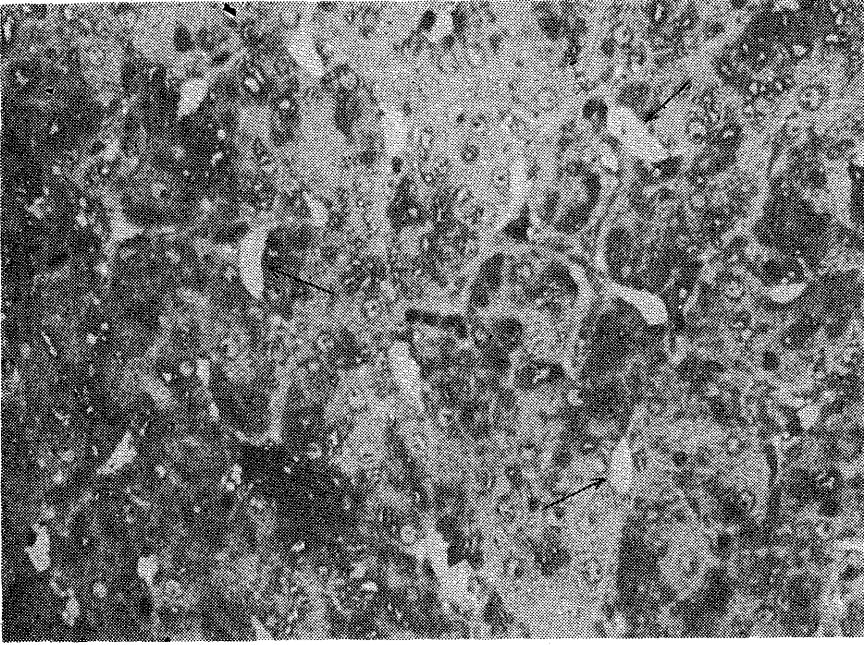
Sonuç olarak, yumurta tavukçuluğu hızla gelişen ülkemizde Vita-

min A preparatları, yumurta verimini arttırmak için üreticiler tarafından bilinçsizce, aşırı miktarda kullanılmakta, bu da tavukların yüksek dozda Vitamin A almalarına neden olmaktadır. Böylece, karbonhidratlardan zengin, yüksek enerjili rasyonla beslenen tavuklarda karaciğer yağlanması daha da şiddetlenmektedir. Bu yüzden, yüksek enerjili rasyonla beslenen hayvanlarda, Vitamin A seviyesinin normal düzeyde tutulmasının faydalı olacağı görüşündeyiz.

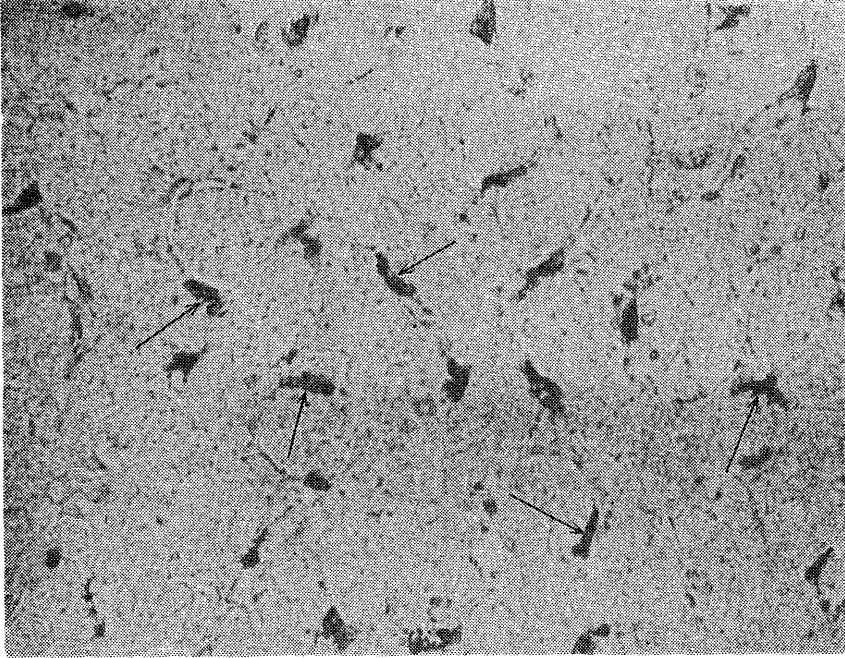
LİTERATÜR

- 1 - Akkılıç, M. ve Tanyolaç, A. (1974): Kafeste beslenen tavuk rasyonlarındaki enerji düzeyinin karaciğer yağlanması üzerine etkisi. A. Ü. Vet. Fak. Derg., Cilt: XXI, No: 3 - 4, 370 - 389.
- 2 - Aştı, R. N. (1982): Kanatlılarda perisinuzoidal hücrelerin (fat storing cell) varlığı, bunların A vitamini ve lipid metabolizmasıyla ilişkisinin ışık, elektron ve fluoresan mikroskopik incelenmesi üzerinde araştırmalar. Doçentlik tezi, A. Ü. Vet. Fak.
- 3 - Baker, J. R. (1946): The histochemical recognition of lipine. Quart. J. Micr. Sci., 87: 441 - 463.
- 4 - Barton, T. L., Fiegel, C. T. and Schaible, P. S. (1966): «Fatty liver» syndrom in laying hens as influenced by proteinenergy ration Poultry Sci., 45: 1068.
- 5 - Blair, R. and Whitehead, W. C. (1974): An assesment of the factors associated with fatty liver and kidney syndrome in broilers. Reprinted from proc. Abstr. XV world's poultry congress. New Orleans, August 11 - 16.
- 6 - Deaton, S. W., Mc Naughton, J. L. and Lott, B. D. (1983): The effect of dietary energy level and broiler body weight on abdominal fat. Poultry Sci., 62: 2394 - 2397.
- 7 - Greuel, E. und Hartfiel, W. (1968): Veraenderungen im Fettgehalt und Fettsaeurenmuster bei Hennen mit Fettlebersyndrom. Dtsch. Tieraerztl. Wschr., 75: 294 - 296.
- 8 - Haghghi, F. and Polin, D. (1982): Lipid alleviates fatty liver hemorragic syndrome. Poultry Sci., 61: 2465 - 2472.
- 9 - Harper, A. H., Rodwell, W. V. and Moyes, A. P. (1977): Physiological Chemistry. Los. Altos. California. Lange Medical Puplication pp: 280-309
- 10 - Hodges, D. K. (1972): The ultrastructure of the liver parenchyma of the immature fowl (Gallus domesticus) Z. Zellforsch., 133: 35 - 46.

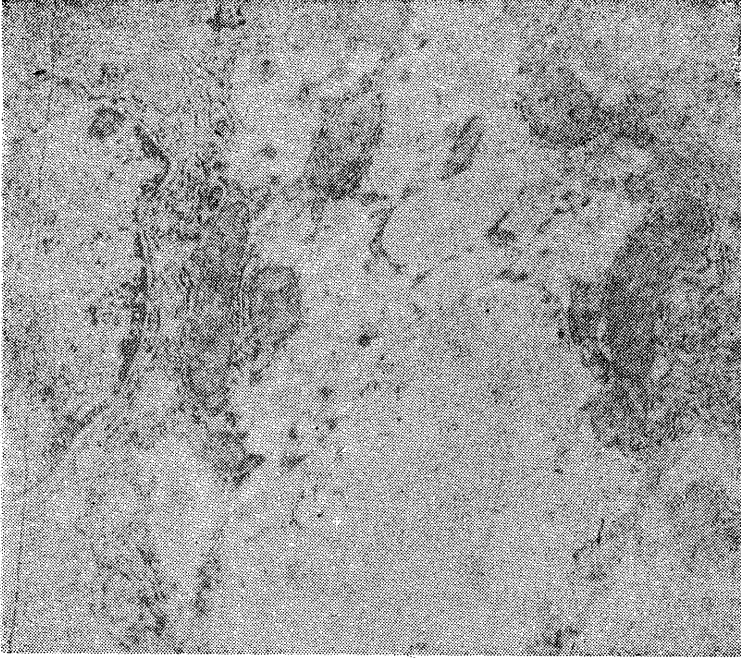
- 11 - Hruban, Z., Robert, R. M., James, B. L., Seymour, G. and Saeed, B. A. (1974): Ultrastructural changes in livers of two patients with hyper-
vitaminosis A. *Am. J. Path.*, 73: 451 - 459.
- 12 - Ivy, C. A. and Nesheim, M. C. (1973): Factor influencing the liver fat
content of laying hens. *Poultry Sci.*, 52: 281 - 291.
- 13 - Karnovsky, M. S. (1965): A formaldehyd - glutaraldehyd fixative of
high osmolality for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, 27:
137 A - 138 A.
- 14 - Kobayashi, K. and Takahashi, Y. (1971): Effect of the administration
of large doses of vitamin A on the fine structure of rat liver with
special reference to changes in the fat storing cell. *Arch. Histol. Jap.*,
Vol.: 33, No: 5 pp.: 421 - 443.
- 15 - Marion, J. E. (1968): An evaluation for processing of layers housed
in cages and on the floor. *Poultry Sci.*, 47: 1250 - 1254.
- 16 - Nakane, P. K. (1963): Ito's «fat storing cell» of the mouse liver. *The
Anat. Record*, 145: 265 - 266.
- 17 - Purton, D. M. (1969): The structure and ultrastructure of the liver
in *gallus domesticus*. *J. Anatomy*, 105: 212.
- 18 - Reynolds, E. S. (1963): The use of lead citrate at high pH as an
electronopaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, 17: 208-212.
- 19 - Splittgerber, H., Wein, F. K. und Arhelger, R. (1969): Untersuchungen
über die Höhe des Fettgehaltes der Lebern von Hennen bei verschi-
edenen Futtermischungen. *Dtsch. Geflügelwirtsch.*, 12 (24): 1021-1022.
- 20 - Tanuma, Y., Ohata, M. and Ito, T. (1981): An electron microscope
study on the hepatic parenchyma in a kitten with special reference
to the fat storing cell. *Arch. Histol. Jap.*, 44: 23 - 49.
- 21 - Tanuma, Y., Ito, T. and Shibasaki, S. (1982): Further electron-mic-
roscope studies on the human hepatic sinusoidal wall with special
reference to the fat storing cell. *Arch. Histol. Jap.*, 45: 263 - 274.
- 22 - Tatsumi, H. and Fujita, H. (1983): Fine structural aspect of the devel-
opment of Ito cells (Vitamin A uptake Cells) in chick embryo livers.
Arch. Histol. Jap., 46: 691 - 700.
- 23 - Tüller, R. (1969): Stellen Hühner Batterie und Käfighaltung beson-
dere Ansprüche an die Zusammensetzung des Futters. *Jahrb f.
Geflügelwirtschaft*, Ulmer. Stuttgart.
- 24 - Wake, K. (1971): «Sternzellen» in the liver: Perisinusoidal cells with
special reference to storage of Vitamin A. *Am. J. Anat.*, 132: 429-462.



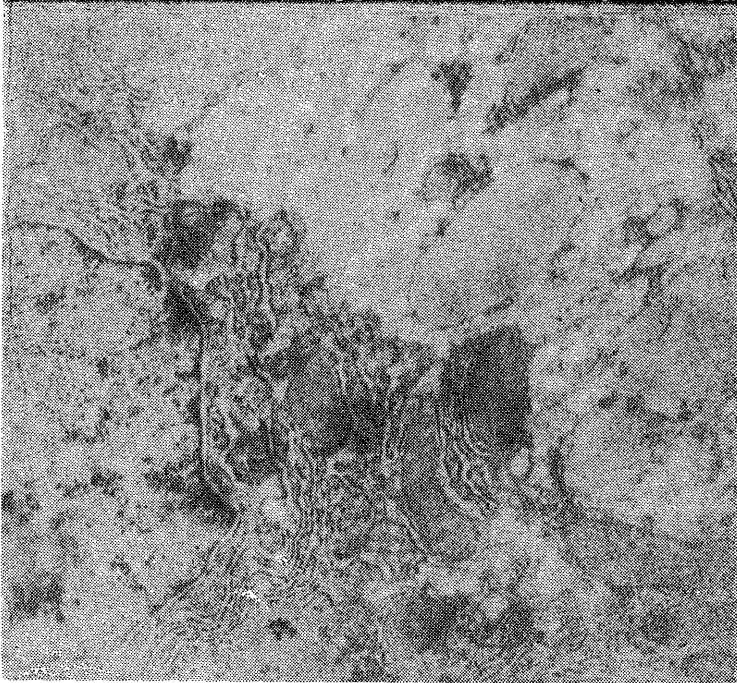
Şekil 1. Perisinuzoidal hücrelerde lipid toplanması (oklar), x 200



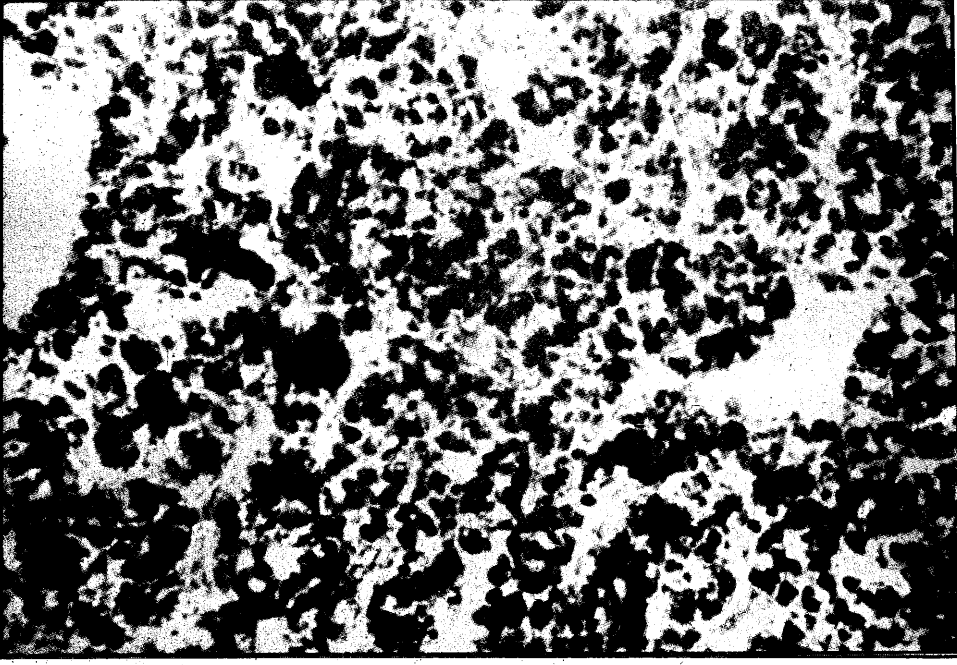
Şekil 2. Perisinuzoidal hücrelerde toplanan lipidin (oklar), yağ boyaması ile gösterilmesi., x 200



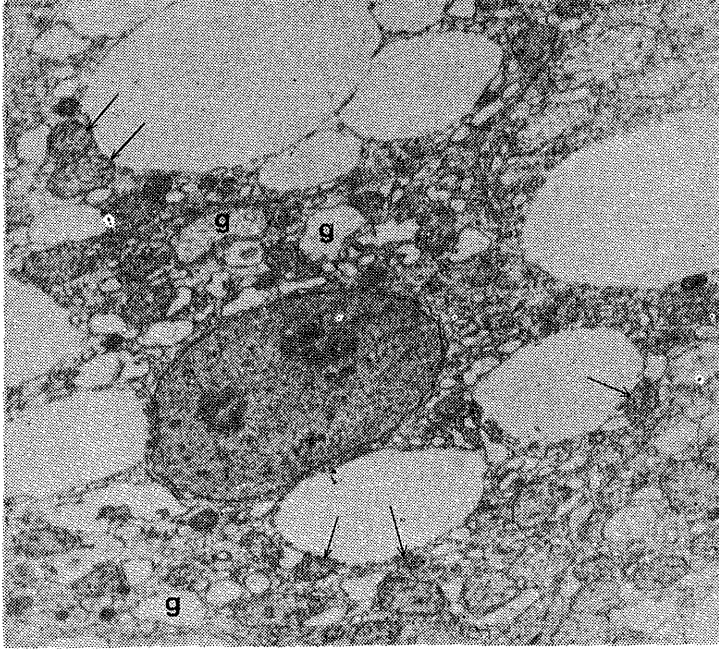
Şekil 7. Karaciğer epitel hücrelerinde diffuz yağlanma., x 19000.



Şekil 8. Karaciğer epitel hücrelerinde diffuz yağlanma., x 20900.

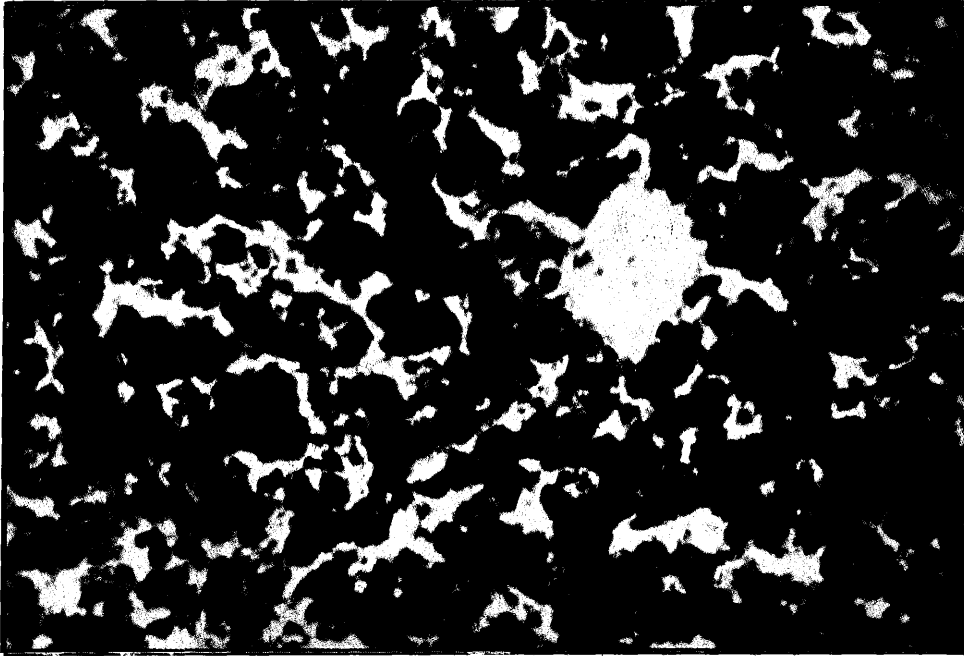
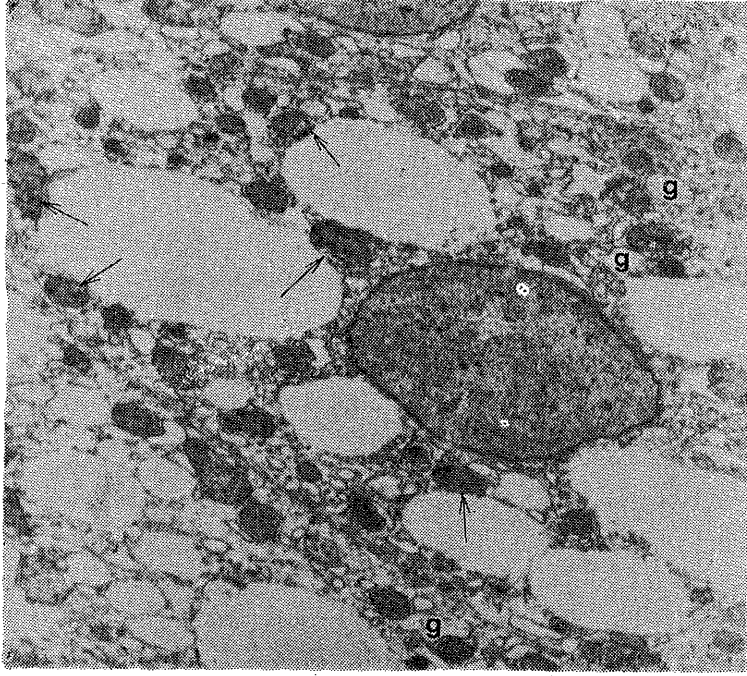


Şekil 3. Karaciğer epitel hücrelerinde irili ufaklı lipid damlacıkları, x 320



Şekil 4. Karaciğer epitel hücrelerinde irili ufaklı lipid damlacıkları. Mitokondriyonlar ile lipid damlacıklarının ilişkisi (oklar), genişlemiş granüllü endoplazma retikulumu (g), x 10350.

Şekil 5. Karaciğer epitel hücrelerinde irili ufaklı lipid damlacıkları. Mitokondriyonlar ile lipid damlacıklarının ilişkisi (oklar), genişleşmiş granüllü endoplazma retikulumu (g), x 9000.



Şekil 6. Karaciğer epitel hücrelerinde, lipidin sitoplazmayı yaygın biçimde doldurması, x 450.