

Aspergillus parasiticus NRRL 2999 Suşu ile Küflendirilmiş Bulgurlarla Beslenen Beyaz Farelerdeki Patolojik Bulgular*

Mehmet TUZCU,** M.Kemal ÇİFTÇİ***

**Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı- SİVAS

***Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı- KONYA

Özet

Bu çalışmada gıdaların aspergillus türü mantarlarla kirlenmesi ile oluşan kronik aflatoksikozisin önemine dikkat çekilmesi ve farelerde kronik aflatoksikoziste görülen patolojik bulguların ortaya konulması amaçlanmıştır.

Çalışmada her biri 16 fareden oluşan biri kontrol 4'ü çalışma grubu olacak şekilde gruplandırılmış 80 adet beyaz fare kullanıldı. Çalışma grupları çalışma süresince 200 ppb, 400 ppb, 800 ppb ve 1600 ppb total aflatoksin içeren yemle beslendi. Bütün farelerin 0, 10, 30, 60, 90 ve 180. günlerdeki canlı ağırlıkları tartıldı. Çalışmanın 90. ve 180. günlerinde farelerin nekropsileri yapılarak patolojik muayeneler için doku örnekleri alındı.

Aflatoksin verilen grupların karaciğerlerinde çalışmanın ilk dönemlerinde sentrilobüler bölgede bulanık şişkinlik, ilerleyen dönemlerde hidropik dejenerasyona dönüş ve 90. günden sonra vakuoler dejenerasyon ve nekrozlar belirlendi. 180. günde nekropsi yapılan farelerin karaciğerlerinde dejenerasyonun arttığı ve bu değişikliklerin sentrilobüler bölgenin yanı sıra intermedier bölgeye doğru ilerlediği 800 ve 1600 ppb aflatoksin alan gruplarda ise diffuz bir yerleşim gösterdiği dikkati çekti. Farelerin böbrek tubuluslarının lümenlerinin eozinofilik homojen bir materyal ile dolu olduğu, tubulusları döşeyen epitelin alınan aflatoksin miktarı ve süresine bağlı olarak şiddetli artan hidropik dejenerasyona uğradığı, tubul epitel hücrelerinin çekirdeklerinin yoğun boyandığı ve farklı büyüklükte oldukları belirlendi.

Sonuç olarak aflatoksinle kontamine gıdaların insan ve hayvan sağlığı açısından oldukça tehlikeli olduğu belirlendi. Bu yönde şüpheli bütün gıdaların insan ve hayvan gıdası olarak kullanılmaması gerektiği ortaya konuldu.

Anahtar Kelimeler: aflatoksin, *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999, fare, patoloji

The Pathological Findings In Mice Fed With Bulgur Moulded With *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 Summary

In this study; It was attracted to attention the importance of cronic aflatoxicosis caused by contaminated with fungi like aspergillus species of food and it was aimed that is produced to be seen pathological findings to chronic aflatoksikosis in mice.

In this study, 80 white mice who were divided 5 group, each consist of 16 mice and one of control group were experimented. Experimental groups were fed with fodder in which 200 ppb, 400 ppb, 800 ppb and 1600 ppb total aflatoxin respectively. All of groups were weighted at 0,10,30,60,90 and 180 th days. The mice were necropsied and tissue samples were collected at 90 and 180 th days. It was determined to cloudy swelling at centrilobuler area in the firs time of study and moderately hydropic degeneration to later in the period, after the 90 th day there was vacuoler degeneration and necrosis in the liver to groups of mice that were given aflatoxin. In the livers of mice at 180 th day there was increase of degeneration and this challenges is progressed not only centrilobuler region but also intermedier region and this challenges is diffuse settlement in the groups of 800 and 1600 ppb aflatoxin. There was filled with a eozinoflic homogeneous material in the lumen of kidney tubules. There was seen increasing the violence to hydropic degeneration on the epithelium lining the tubulus depending the duration and the amount of aflatoxin also the, nucleus of tubular epithelial cells were painted intensive and different size.

As a result; the food of contaminated with aflatoxin is known to be very important for human and animal health; therefore suspecious feed must not to be used in human and animal nutrition

Key words: aflatoxin, *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999, mouse, pathology

*Aynı isimli doktora tezinden özetlenmiş ve I. Veteriner Patoloji Kongresinde sunulmuştur.

Giriş

Yem ve besinlerin küflenmelerine neden olan mantar türleri, gıdaların besin değerini azaltmaların yanında eksojen metabolitleri mikotoksinler ile zehirlenmelere sebep olurlar. Aflatoksinler başta olmak üzere çoğu mikotoksin ısıtma işlemlere ve kimyasallara dayanıklı olmalarından dolayı, gıdaların hazırlanması aşamasında stabil kalarak mikotoksikozis risklerini sürdürürler (1,2,3).

Düşük miktarlarda, uzun süre aflatoksin alımına bağlı olarak canlı ağırlık artışında ve yem alımında azalma, kıllarda düzensizlik, anemi ve ölüm oranlarının artması gibi belirtiler görülür (4,5).

Aflatoksinler, bütün türlerde oldukça geniş spektrumlu biyolojik etkinliğe sahiptir. Çok yönlü toksisite niteliğindeki etkileri hücresel nükleoproteinler ve nükleik asitler gibi makromoleküllerle kolayca ve hızla tepkimeye girerek protein sentezi ve hücresel bütünlüğün bozulmasına yol açmalarından kaynaklanmaktadır (6). Aflatoksinlerin toksik etkilerinin özellikle B1'in intraselüler makromoleküllere karşı olan aşırı ilgisinden dolayı nükleer DNA'ya bağlanmak suretiyle öncelikle RNA ve daha sonra da enzim ve protein sentezini inhibe ederek ortaya çıktığı kaydedilmektedir (4,6). Aflatoksin B1'in sitotoksik ve karsinojenik etkilerinin özgün molekülden değil, 2-3 epoksit şekli ile muhtemelen de aflatoksin Q1, P1, M1 ve aflatoksikolon 2-3 epoksit metabolitlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (6,7). Epoksit şeklindeki etkin metabolitlerin özellikle hepatik mikrozomal stokrom P450 ye bağımlı karışık işlevli oksijenaz sistemi etkinliği ile özgün aflatoksinlerden sentezlendiği saptanmıştır (7). Bu nedenle aflatoksinlerin özellikle hepatositlerde lezyona neden olduğu kaydedilmektedir (8,9,10,11).

Toksikasyonun ilk dönemlerinde karaciğer büyümüş kapsülası gergin, kenarları kütleşmiş, kırmızı görünümünde, ileri safhalarında ise cam macunu renginde görüldüğü safra kesesi duvarının kalın jelatini görünüşte ve ödemli olduğu bildirilmektedir (12,13). Uzun süre düşük dozlarda aflatoksin alınması durumunda karaciğerde hafif derecede büyüme gözlemlendiği bu büyümenin de kısmen hepatositlerde ki düz endoplazmik retikulum hipertrojisinden ve yağlanmadan kaynaklandığı rapor edilmiştir (14).

Mikroskopik olarak kronik aflatoksikozis olaylarında tanıtıcı lezyonun safra kanalı proliferasyonu olduğu kaydedilmektedir (10,11,12,15). Hepatositlerde ve çekirdeklerinde büyüme, fokal nekrozlar görüldüğü, karaciğer hücrelerindeki hidropik ve yağ dejenerasyonlarının toksikasyonun ileri dönemlerinde 25-30 hücreden ibaret yağlanma bölgelerine dönüşebileceği belirtilmektedir (12).

Deneyisel aflatoksikozis çalışmalarında makroskopik olarak böbreklerin büyümüş ve konjesyone durumda olduğu, yer yer küçük çapta kanamalara rastlandığı çeşitli araştırmacılar tarafından kaydedilmektedir (12,13,16). Mikroskopik olarak toksikasyonun ilk dönemlerinde proksimal tubulusların epitel hücrelerinde dejeneratif değişikliklerin gözlemlendiği daha ileri dönemlerde ise bu değişikliklerin nekrotik olaylara dönüştüğü gösterilmiştir (12,17,18). Glomeruluslarda mezangial hücrelerdeki hiperplaziden dolayı selülaritenin arttığı ve buna bağlı olarak glomerulusların büyüdüğü, glomerulus bazal membranlarının kalınlaştığı, bazal membranlarının bowman kapsülünün parietal yaprağına yapıştığı rapor edilmektedir. Ayrıca böbrek tubuluslarının lümenlerinin asidofilik homojen bir materyal ile dolu olduğu proksimal tubulus epitellerinde PAS pozitif hiyalin damlalarının bulunduğu belirtilmektedir (12,17,18).

Aflatoksikozis olaylarında dalağın konjesyone görünümünde olduğu, dalak, timus ve lenf düğümleri gibi organlarda lenfoid tükenmenin bulunduğu, kaydedilmektedir (12,17,18).

Beyinde konjesyon, purkinje hücrelerinde vakuolizasyon ve nekroz, orta derecede gliozisin yanında miyelin dejenerasyonu, kromatolizis, satelitosis, nöronofaji görüldüğü bildirilmektedir (17).

Bu çalışmada aflatoksin ürettiği bilinen, *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 suşu ile küflendirilmiş bulgurlarla beslenen, beyaz farelerde görülen zehirlenmeye ilişkin patolojik bulguların doz-zaman ilişkisi içerisinde incelenerek, patolojik bulguların belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada canlı ağırlıkları ortalama 21 gram olan 60 günlük 80 adet beyaz fare kullanıldı. Fareler 16 fareden oluşan biri kontrol 4 tanesi de çalışma grubu olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Kontrol grubu fareler çalışma süresince aflatoksin içermeyen yemle beslenildi. Çalışma grubu farelere aflatoksin bulunmadığı tespit

edilen yem ile USDA'dan (Agricultural Research Service, Peoria, IL) temin edilen *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 suşu kullanılarak Shotwell ve ark'ın (19) bildirdiği metot ile küflendirilen bulgurlar 200 ppb, 400

ppb, 800 ppb ve 1600 ppb total aflatoksin içecek şekilde karıştırılarak adlibitum olarak verildi. Bütün farelerin 0, 10, 30, 60, 90 ve 180. günlerde canlı ağırlıkları tartıldı.

Çalışmanın 90. günü her grupta 8 fare bırakılarak kalan fareler eter anestezisi altında servikal dekapitasyon ile ötenazi edilerek nekropsileri yapıldı. Bu farelerin beyin, akciğer, karaciğer, böbrek ve dalaklarından parçalar alındı. Yine 180. güne kadar ölen ve 180. günde kalan farelerin de nekropsileri yapılarak benzer şekilde doku örnekleri alındı. Alınan doku parçaları %10'luk tamponlu formalinde, yağ boyamaları için karaciğerlerin bir bölümü kalsiyum formol solusyonunda tespit edildi. Tespit edilen dokular, trimlendikten sonra çeşme suyunda yıkandıktan sonra dereceli alkoller, ksilol ve parafin serilerinden geçirilerek parafin blokları hazırlandı. Hazırlanan parafin bloklardan 6 mikron kalınlığında kesitler alınarak bütün kesitlere Hematoksilen Eozin, gerekli görülen kesitlerde PAS ve Gomori'nin gümüşleme boyası uygulandı (20). Kalsiyum-formolde tespit edilen dokulardan dondurma mikrotomunda 10 mikron kalınlığında kesitler alınarak Sudan Black ile boyandı. 90. 180. günlerde ötenazi yapılan farelerin karaciğer ağırlıkları belirlendi.

Bütün gruplardan elde edilen 0. gün, 10. gün, 30. gün, 60. Gün ve 90. Günlerdeki canlı ağırlık ortalamaları ile 90. Gün ve 180. Günlerde nekropsileri yapılan farelerin karaciğer ağırlıkları arasında t testi uygulanarak oranlar arasındaki farkların önem kontrolleri yapıldı.

Bulgular

Aspergillus parasiticus NRRL 2999 suşu ile küflendirilen bulgurlarda toplam 4586 ppb total aflatoksin ürettiği belirlendi.

Çalışmanın 90. ve 180. gününde ölçülen kontrol grubu farelerin canlı ağırlık ortalamaları ile yemlerine küflendirilmiş bulgur ilave edilen grupların canlı ağırlık ortalamaları arasında % 99.9 istatistiki önemle fark bulunmuştur ($P<0.001$). Kontrol ve deney gruplarının canlı ağırlık ortalamaları ile standart hataları ve canlı ağırlık kayıp oranları tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1: Çalışma gruplarının günlere göre canlı ağırlık ortalamaları ile standart hataları ve canlı ağırlık kayıp oranları

	1. gün	10.gün	30.gün	60. gün	90.gün	180. gün	Kontrole Göre Canlı Ağırlık Kaybı %
200 ppb	21.25±0.45	23.06±0.46	29.21±0.50	41.16±0.86	29.10±1.00	27.22±0.89	38.03
400 ppb	21.25±0.45	23.35±0.41	28.64±0.54	35.10±2.20	28.60±1.71	27.6±1.50	37.17
800 ppb	20.68±0.43	22.28±0.36	28.00±0.39	33.63±1.73	24.81±1.68	22.7±1.89	48.32
1600 ppb	21.18±0.44	22.38±0.34	24.76±2.12	30.9±2.00	23.45±1.33	19.81±0.74	54.9
Kontrol	21.43±0.45	23.26±0.41	30.06±0.52	42.06±0.45	43.33±0.37	43.93±0.49	

Ötenazi sonrası ölçülen karaciğer ağırlıkları bakımından kontrol grubu ile diğer gruplar arasında ve deneme gruplarının kendi aralarında % 99.9 güvenle istatistiki açıdan fark olmadığı tespit edilmiştir ($P<0.001$).

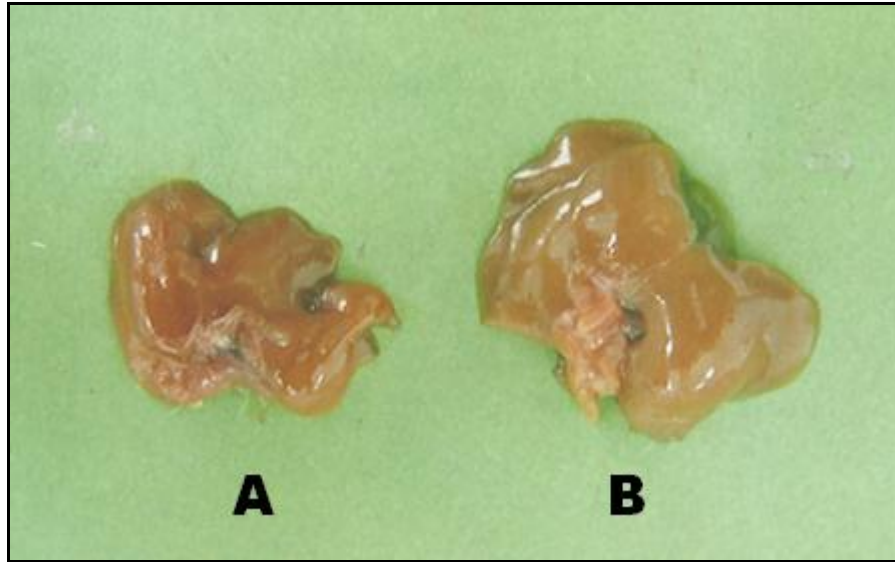
Makroskobik olarak aflatoksin verilen gruplarda karaciğerlerin, kenarlarının kütleştiği, renginin solgundan sarımsak kahveye kadar değiştiği (Resim 1B) ve safra

keselerinin dolgun olduğu görüldü. Çalışma süresince ölen ya da ötenazi edilerek nekropsileri yapılan farelerin karaciğer ve böbreklerinde belirlenen makroskobik bulgular ve görülme oranları tablo 2'te gösterilmiştir. Çalışma grubu farelerin diğer organlarında ve kontrol grubu farelerde makroskobik bulgu belirlenmemiştir.

Tablo 2: Çalışma süresince ölen yada ötenazi edilerek nekropsileri yapılan farelerin karaciğerler ve böbreklerinde belirlenen makroskobik bulgular

Makroskobik Bulgu	90. gün süre ile beslenen				180. gün süre ile beslenen			
	200 ppb	400 ppb	800 ppb	1600 ppb	200 ppb	400 ppb	800 ppb	1600 ppb
Karaciğer Bulguları								
Kenarlarda kütleleşme	3/8	7/8	8/8	4/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Koyu kırmızı renk	0/8	3/8	2/8	3/8	0/8	1/8	0/8	0/8
Solgun renk	4/8	3/8	4/8	1/8	7/8	8/8	2/8	0/8
Sarımtırak renk	0/8	0/8	2/8	3/8	1/8	0/8	8/8	8/8
Safra kesesinde dolgunluk	0/8	0/8	0/8	3/8	0/8	5/8	8/8	8/8
Böbrek Bulguları								
Soluk renk	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	0/8
Kesit yüzünde taşkın görünüm	0/8	6/8	6/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8

* lezyonlu fare sayısı/incelenen fare sayısı



Şekil 1: A. Kontrol grubu farenin karaciğeri, B. 800 ppb aflatoksin verilen farenin karaciğeri

Mikroskobik incelemelerde 200 ve 400 ppb aflatoksin alan farelerden 90. günde ötenazi yapılanlar ve öncesinde ölenlerin vena sentralislerinde hiperemi ile birlikte hepatositlerde hidropik dejenerasyon geliştiği (Şekil 2A), intermedier bölgede bulunan hepatositlerin stoplazmalarının granüler bir hal aldığı ve stoplazmalarında değişik büyüklükte yağ vakuolleri içerdiği görüldü. Vena sentralislerin çevresinde apoptotik hepatositler dikkati çekti (Şekil 2B). 180. günden önce ölen farelerin karaciğerlerinde yukarıda belirtilen bulgular izlenirken hepatosit stoplazmalarında bulunan yağ vakuollerinin irileştiği dikkati çekti (Şekil 2C). 180. günde ötenazi yapılan farelerin

karaciğerlerinde gelişen hidropik dejenerasyonun 90. günde ötenazi edilenlere kıyasla daha şiddetli olduğu, nekrotik hepatosit sayısının arttığı ve 400 ppb aflatoksin verilen farelerden iki farede safra kanallarının etrafında lenfosit infiltrasyonlarının bulunduğu belirlendi.

Çalışmada 800 ve 1600 ppb aflatoksin alan farelerden 90. günde ötenazi yapılanlar ve öncesinde ölenlerin vena sentralislerinde hiperemi ile birlikte hepatositlerde vaküler dejenerasyonun geliştiği (Şekil 2D), intermedier bölgede yoğun olmak üzere lopcuğun tamamına yayılmış şekilde hepatositlerin stoplazmalarında yağ vakuolleri içerdiği görüldü (Şekil 2E). Karaciğer parankimine

dağılmış şekilde 3-5 hepatositten oluşan nekroz odakları dikkati çekti. 180. günde ötenazi yapılan ve 180. günden önce ölen farelerin karaciğerlerinde yukarıda sayılan bulgulardan farklı olarak hepatositlerinde şekillenen yağ vakuollerin üç beş tanesinin birleşerek geniş yağ vakuollerini yaptıkları dikkati çekti. 800 ppb aflatoksin verilen 2 farede 1600 ppb aflatoksin

verilen farelerden 3 farede safra kanallarının sayısının arttığı ve safra kanal epitellerinde hiperplazi şekillendiği görüldü. Bu bulgulara ilave olarak vena sentralislerin etrafında fokal mono nükleer hücre infiltrasyonları belirlendi (Şekil 2F). Çalışma süresince ölen ya da ötenazi yapılan farelerin karaciğerlerinde belirlenen mikroskobik bulgular tablo 3 de verilmiştir.

Tablo 3 : Çalışma süresince ölen veya ötenazi edilen farelerin karaciğerlerinde belirlenen mikroskobik bulgular

Mikroskobik Bulgu	90. gün süre ile beslenen				180. gün süre ile beslenen			
	200 ppb	400 ppb	800 ppb	1600 ppb	200 ppb	400 ppb	800 ppb	1600 ppb
Hiperemi	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Kanama	0/8	3/8	2/8	4/8	6/8	8/8	8/8	8/8
Hidropik dejenerasyon	8/8	8/8	2/8	4/8	1/8	0/8	0/8	0/8
Vakuoler dejenerasyon	0/8	0/8	6/8	4/8	7/8	8/8	8/8	8/8
Küçük damlalı yağlanma	4/8	3/8	1/8	2/8	1/8	0/8	0/8	0/8
Büyük damlalı yağlanma	0/8	3/8	7/8	6/8	7/8	8/8	8/8	8/8
Çift çekirdekli hepatositler	8/8	7/8	5/8	6/8	8/8	8/8	6/8	5/8
Apoptozis	4/8	6/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
Fokal nekroz	0/8	3/8	7/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Anizonükleozis	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Mononükleer hücre infiltrasyonu	1/8	2/8	6/8	6/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Safra kanalı proliferasyonu	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	2/8	3/8
Safra kanalı epitellerinde hiperplazi	0/8	0/8	1/8	1/8	0/8	2/8	4/8	3/8

* lezyonlu fare sayısı/incelenen fare sayısı

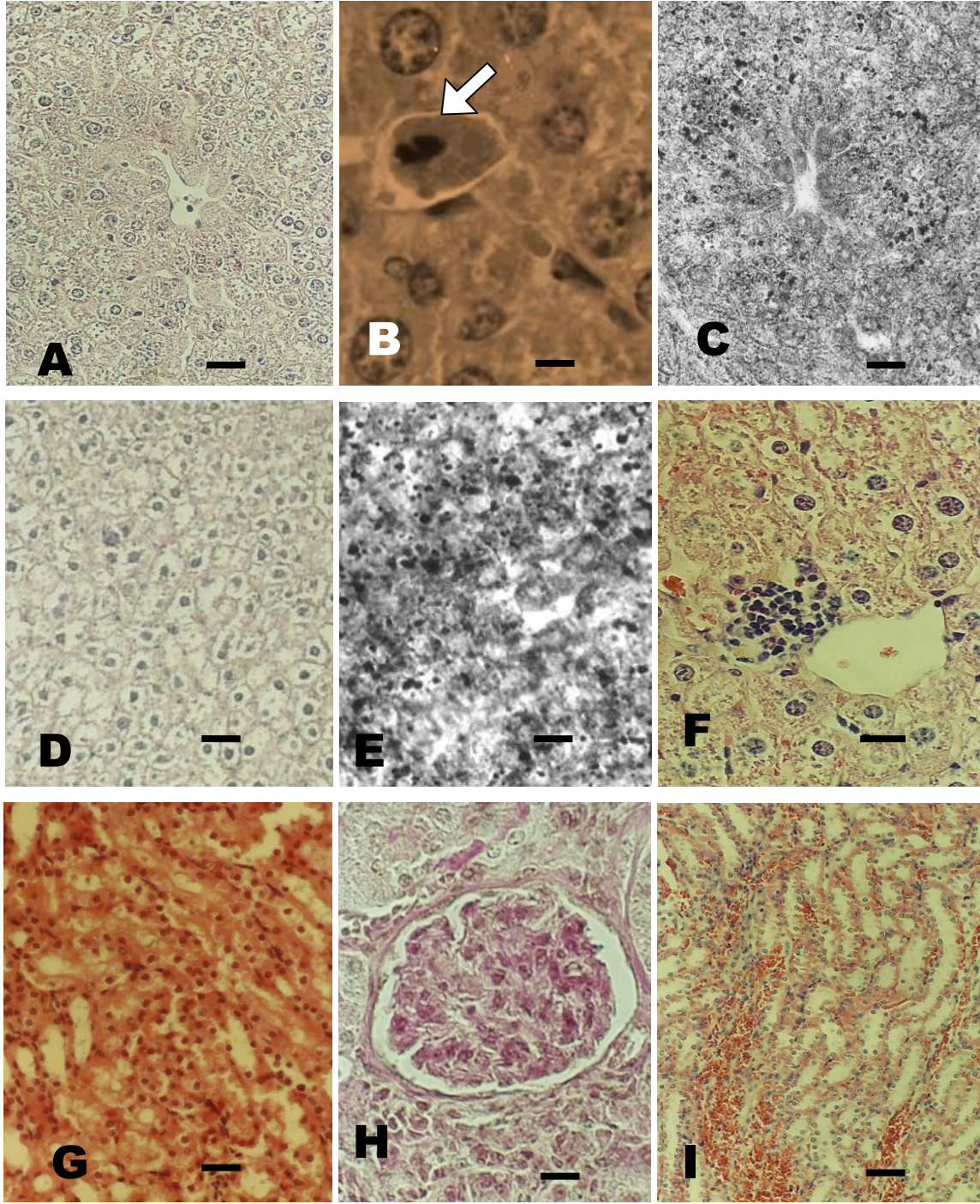
Aflatoksin verilen bütün farelerin böbrek tubuluslarının lümenlerinin eozinofilik homojen bir materyal ile dolu olduğu, tubulusları döşeyen epitelin alınan aflatoksin miktarı ve süresine bağlı olarak şiddeti artan hidropik dejenerasyona uğradığı (Şekil 2G), çekirdeklerinin yoğun boyandığı ve farklı büyüklüklerde olduğu belirlendi. 800 ve 1600 ppb aflatoksin alan gruptaki farelerde daha şiddetli olmak üzere glomeruluslarda mezangiyal hücrelerde artış ve bowman kapsülünün parietal yaprağında kalınlaşma dikkati çekti (Şekil 2H). Yine 400, 800 ve 1600 ppb aflatoksin verilen farelerin bazılarında intertubuler yerleşimli kanamalar belirlendi (Şekil 2I). Aflatoksin alan bütün çalışma gurubu farelerin böbreklerinde bazı tubulusların yassı epitelle döşeli olduğu ve buna ilgili olarakta lümenlerinin değişen derecelerde genişlediği

dikkati çekti. Aflatoksin alan grupların hepsinde tubulus epitellerinde PAS pozitif hiyalin damlacıklarına rastlandı.

Aflatoksin verilen grupların dalaklarının mikroskobik muayenesinde periarterioller lenfoid dokuda aflatoksin miktarı ve süreye bağlı olarak şiddeti artan, atrofi belirlendi.

Beyinlerinin mikroskobik muayenesinde aflatoksin verilen guruplarda hiperemi ve nöron dejenerasyonları dikkati çekti.

Çalışmanın sonunda ötenazi edilen ve son dönemde ölen farelerin akciğerlerinin interalveolar kapillarların hiperemik olduğu, alveol lümenlerinin pembe homojen bir sıvı ile dolu olduğu belirlendi.



Şekil 2: A. Hidropik dejenerasyon ve nekroz, karaciğer, 400 ppb aflatoksin, H.E., Bar=45µm. B. Apoptozis (ok), karaciğer, 400 ppb aflatoksin, H.E., Bar=4 µm. C. Küçük damlalı yağlanma, karaciğer, 400 ppb aflatoksin, Sudan Black., Bar=60µm. D. Vakuoler dejenerasyon, karaciğer, 1600 ppb aflatoksin, H.E., Bar=35µm. E. yağlanma, karaciğer, 800 ppb aflatoksin, Sudan Black, Bar=40µm. E. Perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonu, karaciğer, 1600 ppb aflatoksin, H.E., Bar=25µm. G. Tubul epitellerinde hidropik dejenerasyon, böbrek, 400 ppb aflatoksin, H.E., Bar=40µm. H. Glomerulus bazal membranında kalınlaşma, böbrek, 1600 ppb aflatoksin, PAS, Bar=8µm. I. İntertubuler kanama, böbrek, 1600 ppb aflatoksin, H.E., Bar=50µm.

Kontrol grubu farelerin dokularının mikroskopik muayenesinde herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı.

Tartışma ve Sonuç

Çalışma guruplarında belirlenen canlı ağırlık artışında azalma 1600 ppb aflatoksin alanlarda 30. gün 800 ppb ve 400 ppb aflatoksin alanlarda 60. günlerde belirgin olarak görülmesine karşın 200 ppb aflatoksin alanlarda 90. günden sonra ortaya çıkmıştır. Bu sonuçlar aflatoksine maruz kalma süresinin, aflatoksinin dozu kadar önemli olduğuna ve uzun süre düşük dozlarda aflatoksin alınmasının, canlı ağırlık artışını engellediğine işaret etmektedir.

Aflatoksin alan farelerin karaciğer ağırlıklarının kontrol grubu farelerin karaciğer ağırlıkları ile karşılaştırılmasında aflatoksin alan gruplar ile kontrol grubu farelerin karaciğer ağırlıkları arasında %99.9 güven sınırında istatistiksel olarak fark olmadığı görülmüştür. Bu durum Bilgiç'in (12) bildirdiği yemle birlikte alınan aflatoksinin 2.5 ppm'in üzerinde olduğu durumlarda aflatoksinin karaciğer ağırlıkları üzerine etkili olduğu kanısını doğrulamaktadır. Bu çalışmada her ne kadar gruplar arasında karaciğer ağırlıkları arasında istatistiksel olarak fark bulunamadı ise de mikroskopik muayeneler sonucu bütün deneme guruplarının kontrol grubu farelerden farklı olduğu ortaya konulmuştur.

Farklı deney hayvanlarında oluşturulan aflatoksikozis çalışmalarında (9,18,21,22) karaciğerin büyüdüğü, kenarlarının kütleştiği, renginin solgunlaştığı veya cam macunu renginde görüldüğü belirtilmektedir. Çalışmada aflatoksin verilen bütün gruplardaki farelerin karaciğerlerinde görülen makroskopik bulgular araştırmacıların kaydettikleri ile benzer bulgulardır.

Araştırmacıların aflatoksikozis çalışmalarında bildirdiği (9,12,16) böbreklerin büyümesi ve kesit yüzlerinin taşkınca olması bu çalışmada da böbreklerde belirlenen başlıca makroskopik bulgu olarak kaydedildi.

Çalışmada oluşan patolojik lezyonların şiddetini etkileyen en önemli unsur kullanılan aflatoksin miktarıdır. Fakat kullanılan deney hayvanının duyarlılığı da bu patolojik değişikliklerin oluşumunu etkileyen diğer bir unsurdur. Hanigan ve Larshes C57BL/6 erkek fareleri ile F344 erkek ratların pirimer fare karaciğer hücre kültürlerinde yaptıkları bir çalışmada aflatoksin B1'in LD 50 değerinin farelerde ratlardan 1000 kat daha fazla olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar bu sonuca dayanarak aflatoksine ilgili oluşan hepatotoksisite yönünden farelerin ratlardan daha dirençli olduklarını vurgulamışlardır (23). Bu sonuç çalışmada farelerde elde edilen patolojik değişikliklerin şiddetinin diğer deney hayvanlarında bildirilenlerden daha az olmasının nedenini açıklamaktadır.

Çeşitli araştırmacılar tarafından aflatoksikozis olaylarında hepatosit çekirdeklerinin büyüdüğü, çekirdeğin belirginleştiği, marjinal hiperkromazi şekillendiği, çekirdeğin kromatinden fakir içi boş ve şeffaf görünümde olduğu yer yer de çift çekirdekli hepatositlerin görüldüğü bildirilmiştir (8,12,18). Çalışmada da genel olarak bütün gruplarda benzer şekilde marjinal hiperkromazili, çekirdeği iri bazen çift çekirdekli hepatositlere rastlanmıştır.

Literatüre (8,14,24) uyumlu şekilde çalışmada aflatoksin verilen grupların hepatositlerinde gözlenen patolojik değişiklikler çalışmanın ilk dönemlerinde sentrilobüler bölgede bulanık şişkinlik, ilerleyen dönemlerde hidropik dejenerasyona dönüş ve en sonrada fokal nekrozların gelişmesi idi. Çalışmanın ilerleyen günlerinde dejenerasyonun şiddeti artmış ve bu değişikliklerin sentri lobüler bölgenin yanı sıra intermedier bölgeye doğru ilerlediği 800 ve 1600 ppb aflatoksin alan gruplarda ise diffuz bir yerleşim gösterdiği dikkati çekmiştir.

Slowik ve ark'ın ördek yavrularına 1.5 miligram aflatoksin B1'i peros vererek yaptıkları çalışmada safra kanallarında proliferasyon belirlediklerini (11), Yaklaşık 5 mikrogram/gün aflatoksin B 1 dozunun civcivlerde 60. günde safra kanallarında proliferasyon ve epitellerinde hiperplaziye sebep olduğunu bildirmektedir (25). Çalışmada belirlenen safra kanalı epitellerindeki hiperplazi ve safra kanalı sayısının artışı literatürle uyum göstermektedir.

Aflatoksin verilen bütün grupların böbreklerinde gözlenen tübul epitellerinde dejeneratif değişiklikler, bazı tübuluslarının lümenlerinde PAS (+) homojen bir materyal ve yer yer dilatasyonlar, glomeruluslarda selülaritenin artması ve Bowman kapsülünün parietal yaprağında kalınlaşmalar ile intertübuler kanamalar gibi patolojik değişiklikler diğer araştırmacıların (13,16,18) kaydettiklerine benzer bulgulardır. Bu sonuçlardan aflatoksikozis olaylarında böbreklerin de önemli derecede etkilenen bir organ olduğu anlaşılmaktadır.

Çalışmada aflatoksin alan gruplarda dalakta periarterioller lenfoid dokunun boşaldığı dikkat çekti. Benzer şekilde farklı araştırmacılar aflatoksinle kontamine yemle beslenen broilerlerde yaptıkları çalışmalarda dalakla lenfoid tükenmenin olduğunu kaydetmişlerdir (16,26,27).

Sahoo ve ark. (18) bu çalışmada farelerin beyinlerinde görülen hiperemi, neuron dejenerasyonu ve gliosis gibi patolojik değişiklikleri tavşanlarda da kaydetmişlerdir.

Sonuç olarak bu çalışma ile aflatoksine dayanıklı olduğu kabul edilen farelerin karaciğer ve böbrek gibi parankim organlarında 200 ppb gibi düşük sayılabilecek dozda bile önemli patolojik değişikliklerin ortaya çıktığı, aflatoksikozis olaylarında alınan toksinin miktarı kadar alınma

süresinin de etkili olduğu ve aflatoxinle kontamine gıdaların ve bu yönde şüpheli bütün besinlerin insan ve hayvan gıdası olarak kullanılmaması gerektiği kanısına varıldı.

Kaynaklar

1. Simon CTM, Fernandez GS. (1983). Determination of Aflatoxins in Bread and Bakery Products. Journal of Food Protection, 47, 627-928
2. Sungur S, Pamuk F. (1989). Türkiye'nin Değişik Bölgelerinden Temin Edilen Mısır Örneklerinde Aflatoxin Tayini. Türk Hij Der Biyol Derg, 46, 69-75
3. Samarajeewa U, Sen AC, Cohen MD and Wei CI. (1990). Detoxification of Aflatoxins in Foods and Feeds by Physical and Chemical Methods. J of Food Prot, 53, 6, 489-501
4. Hamilton PB. (1982). Mycotoxins and Farm Animals. Refush Vet, 39, 1-2, 17-45
5. Robb J. (1993). Mycotoxins. In Practice, November, 278-279
6. Zachary A, Wong H and Dennis PH. (1980). The Comparative Metabolism and Toxicokinetics of Aflatoxin B1 in Monkey, Rat and Mouse. Toxicol Applied Pharm, 55, 115-125
7. Kerenlampi OS. (1987). Mechanism of Cytotoxicity of Aflatoxin B1. Biochemical and Biophysical Res Com, 145, 2, 854-860
8. Dafalla R, Yagi AI and Adam S.E. (1987). Experimentally Aflatoxicosis in Hybro Type Chicks: Sequential Changes in Growth and Serum Constituents and Histopathological Changes. Vet. Hum Toxicol, 29, 3, 222-226
9. Rao SK and Gehring P. (1970) Acute Toxicity of Aflatoxin B1 in Monkeys. Toxicol Appl Pharm, 19, 169-175
10. Shank RC, Johnsen OD, Tanticharoenyos P, Wooding WL and Bourgeois HC. (1971). Acute Toxicity of Aflatoxin B1 in the Macaque Monkey. Toxicol Appl Pharm, 20, 227- 231
11. Slowik J, Graczyk S and Madej JA. (1985). The Effect of a Single Dose of Aflatoxin B1 on the Value of Nucleolar Index of Blood Lymphocytes and on Histological Changes in the Liver, Bursa Fabricii, Suprarenal Glands and Spleen in Ducklings. Felio Histochem et Cytobiol, 23, 1-2, 71-81
12. Bilgiç N. (1992). Akut Aflatoxikosis Olaylarında Patolojik Bulgular. Türk Vet Hek Derg, 4, 3, 38-40
13. Nizamlioğlu F ve Gözün H. (1996). Yemlerinde Aflatoxin Tesbit Edilen Kanatlıların Karaciğer ve Böbreklerinde Meydana Gelen Patolojik Değişiklikler. Veterinarium, 7, 1- 2, 46-49
14. Mollenhauer BB, Corrier DE, Huff WE, Kubena LF, Harvey RB and Droleskey RE. (1989). Ultrastructure of Hepatic and Renal Lesions in Chickens Fed Aflatoxin. Am J Vet Res, 50, 5, 771-777
15. Richard JL, Pier AC, Stubblefield RD, Shotwell OL, Lyon RL and Cutlip RC. (1983). Effect of Feeding Com Naturally Contaminated With Aflatoxin on Feed Efficiency, on Physiologic, Immunologic, and Pathologic Changes, and on Tissue Residues in Steers. Am J Vet Res, 44,7, 1294-1299
16. Kıran MM, Demet Ö, Ortatatlı, M ve Oğuz H. (1996). Broilerlerde Deneysel Aflatoxikoziste Meydana Gelen Lezyonlar ve Adsorban Ararak Kullanılan MycofixR Plus (PVPP Etken Maddeli)'in Toksikiteyi Azaltıcı Etkisi Üzerine Patolojik İncelemeler. III.Uluslararası Tavukçuluk ve Tavuk Hastalıkları Sempozyumu, 3-5 Ekim 1996, Manisa
17. Krishna L, Rajinder KD and Vald J. (1991). An Outbreak of Aflatoxicosis in Angora Rabbits. Vet. Human Toxicol, 33, 2, 159-161
18. Sahoo PK, Chattopadhyay SK, Johrp TS, Chftran K and Sıkdar A. (1991). Pathology of Experimental Aflatoxicosis in Rabbits. In Jour of Animal Sciences. 63, 3, 268-273
19. Shotwell OL, Hesseltine CV, Stubblefield RD and Sorenson WG. (1966). Production of Aflatoxin on Rice. Applied Microbiol, 14, 3, 425-429
20. Luna, LG. (1968). Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3rd Edition, Mc Graw-Hill Book Company, New York
21. Halderen AV, Green JR, Marasass WFO, Thiel PG and Stockenstrom S. (1989). A Field Outbreak of Chronic Aflatoxicosis in Dairy Calves in the Western Cape Province. JS Mr Vet Ass, 60,4, 210-211
22. Suliman BH, Mohamed FA, Avadelsied AN and Shommein MA. (1987). Acute Mycotoxicosis in Sheep. Vet Hum Toxicol, 29, 3, 241-243
23. Hanigan HM, Larshes BA. (1984). Toxicity of Aflatoxin B1 in Rat and Mouse Hapatocytes In vivo and In vitro. Toxicology, 30, 185-193
24. Doerr JA, DuIT WE, Wabeck CJ, Chaloupka GW, May JD and Merkley WJ. (1983). Effects of Low Level Chronic Aflatoxicosis in Broiler Chickens. Poultry Science, 62, 1971-1977
25. Yakışık M. (1992). Aflatoxin B1 Verilmiş Newcastle Aşılı Cıvcivlerde Karaciğer Parankimi Üzerinde Işık Mikroskopik İncelemeler. UÜ. Vet Fak Derg, 11, 2, 43-51
26. Espada Y, Domingo M, Gomez J and Calvo, MA. (1992). Pathological Lesions Following an Experimental Intoxication With Aflatoxin B1 in Broiler Chickens. Res in Vet Sci, 53, 275-279
27. Okoye JAO, Asuzu IU and Gugnani HC. (1988). Paralysis and Lameness Associated With Aflatoxicosis in Broilers. Avian Pathology, 17, 3, 731-734