

Wistar Tipi Sıçanlarda Aflatoksin B₁'in Böbrek Korteksi Üzerine Etkilerinin Ultrastrüktürel Yönden İncelenmesi

Müberra UYGUN¹, İsmail SEÇKİN²

ÖZET

Araştırmamızın amacı aflatoksin B₁ verilmiş Wistar tipi sıçanların böbrek kortekslerinde ortaya çıkan değişikliklerin ultrastrüktürel yönden incelenmesidir.

Deneylerimiz için aynı soydan, aynı biyolojik ve fizyolojik ortam koşullarında tutulmuş 40 Wistar tipi erkek sıçan kullandık. Sekiz tanesinden bir grup oluşturduğumuz hayvanların bir grubunu kontrol grubu olarak ayırdık. Diğer dört grup hayvanın her birine, vücut ağırlığını göz önüne alarak, 15mg/kg aflatoksin B₁'i intraperitoneal olarak verdik.

Aflatoksin B₁ injeksiyonundan 3 ay sonra, kontrol ve deney grubu hayvanlarının böbrek kortekslerinin daima aynı bölgesinden biyopsi materyali alarak elektron mikroskopunda gözleyebilmek amacıyla işlemlendirdik.

Gözlemlerimizi, a/Glomerülde görülen değişiklikler, b/Proksimal tübülde görülen değişiklikler, olmak üzere iki grupta topladık.

a/Glomerülde görülen değişiklikler: Glomerülü oluşturan kapillerlerin bazal membranında duplikasyon ve yer yer kalınlaşma, bazı kalınlaşma bölgelerinde ise globuler veya linear karakterde madde birikimine rastladık. Kesitlerde bazen kollabe olmuş kapillerleri ve linear deposit içeren bazal membranlarını gördük. Çoğunlukla endotel hücre nükleusları kompaktlaşmış, zaman zaman derin invaginasyonlar oluşturuyorlardı. Glomerülün mesangial matriksinde de artış vardı.

b/Proksimal tübülde görülen değişiklikler: Nefrositlerde ileri derecede vakuolleşme, lizozom sayısında ve büyüklüğünde artış görüldü. Mitokondrilerde de sık sık hipertrofiye rastlanıyordu.

Böbrek korteksinde gördüğümüz bu değişiklikler, aflatoksin B₁ alımından sonra, glomerül ve proksimal tübülde bazı önemli dejenerasyonların ortaya çıktığını gösterdi.

Anahtar kelimeler: Aflatoksin B₁, Böbrek Korteksi, Ultrastrüktür, Wistar Sıçanları.

RESUME

ETUDE ULTRASTRUCTURALE DES EFFETS DE L'AFLATOXINE B₁ SUR LA ZONE CORTICALE DU REIN CHEZ LES SOURIS DE TYPE WISTAR

Le but de notre travail est d'observer les changements ultrastructuraux de la zone corticale du rein chez les souris de type Wistar ayant pris l'aflatoxine B₁.

Pour nos expériences, nous avons utilisé 40 souris mâles, de type Wistar, toutes de même race, gardées dans les mêmes conditions physiologiques et biologiques. Nous avons formé 5 groupes de ces animaux dont le 1er groupe était témoin. A chaque souris des autres groupes, nous avons donné 15mg/kg d'aflatoxine B₁, selon son poids corporel, par la voie intrapéritonéale.

Trois mois après l'injection de l'aflatoxine B₁, nous avons fait des prélèvements toujours de la même endroit de la zone corticale du rein par biopsie et nous les avons préparés afin de les observer en microscope électronique. D'après nos observations, nous avons surtout aperçu des changements dans les deux domaines:

a/Au niveau du glomérule: On voyait la lame basale de capillaires glomérulaires faire des duplications et des épaississements ou l'on apercevait de la matière déposée de forme linéaire ou globulaire. Quelquefois, nous avons

¹ Doç. Dr., Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, EDİRNE

² Doç. Dr., İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

rencontré les capillaires collabés dont les lames basales contenaient une matière de forme linéaire. On voyait la plupart des nuclei endothéliaux faire une invagination, présenter une chromatine d'aspect compact. La matrice mésangiale se voyait augmentée.

b/Au niveau du segment proximal: Nous avons vu les néphrocytes faire des vacuolisations et augmenter le nombre et la grandeur de leurs lysosomes.

Dans nos constatation expérimentales, les changements importants aux deux endroits de la zone corticale du rein, nous ont emmené à dire que l'aflatoxine a des effets dégénératifs sur les glomérules et les segments proximaux chez les souris blanches.

Mots à clef: *Aflatoxine B₁, Zone corticale du rein Ultrastructure, Souris de type Wistar.*

İlk aflatoksin problemi, 1960 yılında, İngiltere'de 100. 000 den fazla genç hindinin ölmesiyle ortaya çıkmıştır (1). Yapılan otopsilerde, ileri boyutlarda karaciğer hasarı ve iç kanamalar görülmüştür. "Hindi x hastalığı", adı verilen bu hastalığın ölüm sebebini araştırmak için yapılan çalışmalarda, ölen hindilerin beslenmesi için Güney Amerika'dan getirilmiş yer fıstığı ununun kullanıldığı anlaşıldı. Aynı dönemde Doğu Afrika'da da benzer problemlerin görülmesi araştırmaların bu konu üzerine yoğunlaşmasını sağladı. Uzun süre, özenle yapılan kimyasal çalışmalar sonucunda, bu tür problemlerin ortaya çıktığı tüm canlıların besi maddelerinde "Aspergillus flavus" bulunduğu ve bunun mikotoksinlerinden biri olan aflatoksinin ise ileri derecede toksik ve hepatokarsinogenik etkisiyle (2, 3), "hindi x hastalığı"na neden olduğu saptandı.

Doğadaki aflatoksinleri; glikozid ve azot içeren bitkilerde B₁, B₂, G₁, G₂, Q, P₁, HL₁, L türevleri şeklinde, süt ve sütlü ürünlerde ise aflatoksin M olarak görebiliriz (4, 5). Bu türevler içerisinde en etkin şeklin aflatoksin B₁ olduğu ileri sürülmektedir. Aspergillus flavus ve Aspergillus parasiticus mantarları tarafından oluşturulan bu mikotoksinin ortaya çıkması ve çoğalması, bulunduğu ortamdaki depolama koşullarına, sıcaklığa ve neme bağlıdır.

Aflatoksin B₁ metabolizmasının büyük bir bölümü karaciğerde gerçekleşir. Vücutta dağılım ve metabolizmasına göz atacak olursak, oral yolla alınan aflatoksinin sindirim kanalından geçtiğini, önemli miktarının plazma albuminlerine bağlandığını, karaciğer yoluyla hepato portal sisteme taşındığını görürüz (6). Karaciğer mikrozomlarında yer alan sitokrom p-450' ye bağlı monooksijenazlar tarafından NADPH ve O₂'in varlığında, aflatoksin B₁, epoksid şekline döner. Bu formun büyük bir kısmı, epoksid hidraz ile trans-dihidrodiol haline geçer; bunlar da glukuronik asit veya sülfat ile konjuge edilerek safra yoluyla itrah edilir (7, 8). Bir diğer epoksid grubu ise sitozolde yer alan GSH (indirgenmiş glutation) transferaz enzimi tarafından katalize edilir ve GSH-epoksid

konjugatını ortaya çıkarır. Bu maddenin eliminasyonu ise böbrek yoluyla yapılır (9).

Yurdumuzun önemli bir kesiminin geçim kaynağını oluşturan tarım ve hayvancılıkta; gerek insanlar için, gerekse hayvanlar için yetiştirilen ürünlerin korunma ve saklanması depolama işlemi önemlidir. Depolandıkları yerde uygun nem ve sıcaklığın bulunması halinde bu yiyeceklerde küflenmenin ortaya çıkması doğaldır. Bu mantarlar ise üretecekleri mikotoksin ile yiyeceklere aflatoksinin kontamine olmasını sağlayacaklardır.

Bu kontamine olmuş ürünleri gerek direkt, gerekse bunlarla beslenmiş hayvan ürünlerini kullanmak suretiyle, indirekt yolla almış kişilerde, aflatoksinin karaciğerde biyotransformasyona uğradığını göz önüne alarak tahribatını da orada göstereceğini düşündük. İnsanlardaki benzer bir model oluşturmak için ise, karaciğerinin ultrastrüktürel yapısı insana benzerlik gösteren Wistar tipi sıçana aflatoksin B₁ vererek, bir süre sonra da karaciğerinden parça alıp, elektron mikroskopunda inceleyerek, bulgularımızı değerlendiren bir çalışma yaptık (10).

Ancak epoksid haline geçen aflatoksinin büyük kısmı karaciğerin safra yoluyla, ama bir kısmı da indirgenmiş glutatyon transferaz enzimi ile katalize edilerek GSH-epoksid konjugatı şeklinde böbrekten atılır. Bu atılım sırasında böbreklerde süzülme gerçekleşirken bazı hasarların ortaya çıkabileceğini düşünerek, yine insan böbreği ultrastrüktürüyle uyum gösteren Wistar sıçan böbreğini model alarak, belirli miktar aflatoksin verdiğimiz Wistar sıçanlarının böbrek kortekslerini ultrastrüktürel yönden incelemeyi plânladık.

MATERYAL VE METOD

Deneklerimizi, İstanbul Tıp Fakültesi DETAM'da üretilmiş, aynı soydan, her biri 170-220 g ağırlığında, 3 aylık Wistar tipi erkek beyaz sıçanlar oluşturdu. Sekiz tanesinden bir grup oluşturduğumuz bu hayvanların birinci grubunu kontrol grubu olarak ayırdık. Diğer 5 grubu oluşturan deneklere aflatoksin B₁ (Sigma Chemical



RESİM I. Deney grubu hayvanlarının glomerülünden geçen bir kesitte, nükleusu (N) aşırı invaginasyon yapmış aktif görümlü podosit (Po) ve Golgi aygıtı (Go) ile, kollabe olmuş bir kapilerin (Ka) endotel sitoplazmasının apikalinde unit zar bozulma belirtisi "tırnaksı yapılar (T1)" ve bazal membran kalınlaşmaları (B. M), içerdikleri depozitler (ok) gözleniyor. X 4500

Co. USA) maddesini dimetilsulfoksit (Merck) içerisinde çözündürerek her birine 15 mg/kg olacak şekilde intraperitoneal olarak uyguladık.

Aflatoksin B₁ uygulanmasından 3 ay sonra tüm deneklerin sağ böbreklerinin kortikal zonunun aynı noktasından biyopsi materyeli alarak, %4 glutaraldehit (Merck) içeren, 7, 3 lük pH'ya sahip fosfat tamponlu fiksatörde 1 sa. 30 dak. 'lık bir prefiksasyon uyguladık. Fiksasyon sonrası 12 saat fosfat tamponunda yıkanan parçalara, aynı tamponun %1'lik OsO₄ (Merck)'li çözeltisi ile 1 sa. 'lık bir post fiksasyon uyguladık. Dehidratasyon ve propilen oksit (Merck) banyolarından sonra araldit (Merck) gömme ortamına yerleştirerek elde ettiğimiz bloklardan Reichert UM2 ve UM3 ultramikrotomlarıyla 500 A°'lük ince kesitler aldık. Kesitlerimizi, kontrastı arttırmak amacıyla, uranil

asetat ve kurşun sitrat çift boyama tekniği ile boyayarak (11) Carl Zeiss EM 9 S2 elektron mikroskopunda inceledik.

BULGULAR

Kontrol grubu hayvanları ile aflatoksin almış hayvanların böbrek kortekslerinin aynı noktalarından alıp, elektron mikroskopunda incelemek üzere işlemlendirdiğimiz parçaların incekesitlerine baktığımızda; aflatoksin alanlar ile almamışların böbrek kortekslerinin ultrastrüktüründe önemli değişikliklerle karşılaştık. Bu değişiklikler özellikle corpusculum renalis Malpighi glomerüllerinde ve tubulus proximalis nephrocyt'lerinde olmak üzere iki bölgede toplanmışlardı.



RESİM II. Glomerüler bölgede oldukça normal görünümlü kapilerin (Ka) yanı sıra, bazal membranı kalınlaşmış, depozit içermekte (ok), endotel yüzeyi düzensiz (EnD) görünümlü kapiler (Ka*) yer almaktadır. X 1900

a/Corpusculum renalis Malpighi glomerülünde görülen ultrastrüktürel değişiklikler:

Kontrol grubu kesitlerinde "filtrasyon seddi"ni oluşturan "delikli kapiler endoteli, müşterek bazal membran ve pediseller" den oluşan düzgün üçlü yapının aflatoksinli grup kesitlerinde bir çok yönden bozulduğunu gördük; glomerülü oluşturan kapiler kangalların bazal membranlarında aşırı kıvrımlara (Resim I, II), duplikasyonlara (Resim V) ve bir çok bölgede kalınlaşmalara rastladık (Resim I, II, IV, V); genellikle bu kıvrılma, duplikasyon ve kalınlaşma bölgelerinin önünde yer alan endotel hücrelerinin; por yerleşiş periodisitesinde düzensizlik, nükleuslarında kompaktlaşma, apikal sitoplazmanın lümene doğru yaptığı pek çok ince sitoplazmik uzantıları ve hücre organellerinde azalma vardı (Resim I, II, IV). Bazı endotel hücrelerinin sitoplazmalarının apikalinde unit zarın fosfolipid yapısının bozunma belirtisi olan "tırnaksı uzantılar"a rastladık (Resim I).



RESİM III. Glomerülün paramesangial sahasında görülen depozitler (ok). X 10500

Membranların kalınlaştığı bölgelere çoğunluğu lineer karakterde elektron yoğun intramembranöz depozitler yerleşmişti (Resim I-V). Genellikle podosit nükleusları çok girintili çıkıntılı bir şekil almış olup, sitoplazmalarında yer yer aydınlık görünümlü sahalara rastladık (Resim I). Pediselleri şişkinleşmiş (Resim I, II, V, VI), zaman zaman kaynaşmış olup, filtrasyon membranı üzerinde porsuz, yaygın sitoplazma tabakası oluşturuyordu (Resim I, II, V). Mesangiumda artışa, mesangial ve paramesangial sahalarda depozitlere rastladık (Resim III). Bazı kapillerlerin kollabe olduğunu gördük (Resim II).

b/Tubulus proximalis nephrocytlerinde görülen ultrastrüktürel değişiklikler:

Kontrol grubu kesitlerinin nefrositlerine ve deney grubu kesitlerinin nefrositlerine elektron mikroskopunda baktığımızda; deney grubu kesitlerindeki nefrositlerin çok etkilendiğini gördük; nefrositlerin üzerine oturduğu bazal membranda kalınlaşmalar, hücre bazalinde yer alan sitoplazmik kıvrımlarda incelip, sıklaşmalar ve yer yer kopmalar vardı. Perinüklear sitoplazma hafif bir



RESİM IV. Kapiler (Ka) bazal membranında intramembranöz depozitler (ok) ve endotel konturlarında düzensizlik (*), pedisellerde (pe) şişkinlik gözlemlendi. X 12500

boşluk oluşturmuş, tüm sitoplazmada yaygın vakuolizasyon gözleniyordu (Resim VI). Zaman zaman birbiriyle kaynaşmış bu vakuoller, özellikle bazal bölgede, farklı yoğunlukta maddenin yanı sıra, elektron yoğun madde veya myeloid figür içeriyordu. Sekonder lizozomların gerek büyüklüğü, gerekse sayıları çok artmıştı (Resim VI). Mitokondrilerin çoğunluğu hipertrofiye olmuştu (Resim VI).

TARTIŞMA

Drogların ve bunlardan ortaya çıkan çeşitli metabolizma ürünlerinin vücuttan atılımları çeşitli şekillerde olur. "Güç" bölümünde de açıklamaya çalıştığımız gibi bu atılımların biri hepatositler ile safra yollarına salgılanmak, bir diğeri ise böbrekler aracılığı ile vücuttan atılmaktır. Oral yolla alınan aflatoksin, sindirim kanalından geçip, plazma albuminlerine bağlanır ve hepato-portal sisteme taşınır. Hepatosit mikrozomlarında yer alan



RESİM V. Kapiler (Ka) bazal membranlarının duplikasyon yaptığı ve içlerinde lineer karakterde depozit (ok) bulundurduğu, zaman zaman pedisellerin kaynaşarak yaygın sitoplazmik yüzeyler (çift ok) oluşturduğu gözlemlendi. X 7500

sitokrom p-450'ye bağlı monooksijenazlar tarafından NADPH ve oksijenin varlığında epoksid şekline dönüştürülür; bunun da büyük bir kısmı epoksidhidraz ile trans -dihidrodiol haline geçip glukuronik asit veya sülfat ile konjuge edilerek safra yoluyla atılır; diğer epoksid kısmı, sitozolde yer alan GSH transferaz enzimi ile katalize edilerek, GSH-epoksid türevini yapar; eliminasyonu ise böbrek yoluyla yapılır (7). Böbreklerden drog veya metabolitlerinin itrahi ya "glomerüler filtrasyon" veya "tubulus epitel hücreleri tarafından salgılanma" şeklinde yapılır.

Droglar, böbrek tübüllerinden genelde pasif difüzyon yoluyla, pek az bir grubu ise aktif transport yoluyla, reabsorbe olur. Tübül etrafındaki kapiler ağa gelen kanın drog konsantrasyonu, tübül lümeninde yer alan ultrafiltratunkine oranla, çoğu zaman daha düşüktür. Çünkü kan glomerülden geçerken, içindeki drog moleküllerinin büyük bir kısmı da glomerüler filtrata aktarılır. Bu konsantrasyon farkı ise lümeden peritübüler



RESİM VI. Proksimal tubulus nefrositlerinde yaygın vakuolizasyon (Va), bazalinde dejenerasyon (çift ok), mikrovillide (Mv) incelmeye görülmektedir. Tübül bazal membranı ise kalınlaşmıştır (ok). X 1900.

kapilerlere doğru pasif difüzyonu, yani reabsorpsiyonu sağlar. Ultrafiltratın en fazla reabsorbe olduğu yer proksimal tübül olup filtrat hacminin %80'ini kaybeder. Henle kangalını aşır, distal tübüle ulaşan filtrat içindeki drog molekülleri burada da reabsorbe olur. Nefronun bu kısmında filtratın daha da konsantre hale geçmiş olması, drog moleküllerinin lümeninden kana pasif difüzyonunu kolaylaştırır (9).

Bu genel verilere, Dafalla R. ve arkadaşlarının "aflatoksin B₁'in ileri derece endoteliotoksik bir nörode olduğu" tezini de ekleyecek olursak (12), böbrek korteksinde elde ettiğimiz bulgular kolaylıkla anlam kazanır. Arteriola afferens duvarından itibaren, glomerül kapillerlerinde de rastladığımız endotel hücrelerinin nükleuslarındaki invaginasyonlar, kromatin kompaktlaşmaları ve sitoplazmalarındaki fenestrasyon düzensizlikleri, hücre organellerinde azalma, GER'e bağlı ribozom kaybı, apikal kısımlarının lümenine doğru yaptığı çok

sayıda düzensiz ince sitoplazmik çıkıntılar, yer yer kopmalar Daffalanın aflatoksin B₁ için ileri sürdüğü endoteliotoksik karakteri açıklar (12). Hatta bunun daha da ileri şekli olabilecek, "anoksiye, metabolizma inhibitörlerine, antijen-antikor karışıklıklarına bir tür hücresel cevap olarak ortaya çıkan" tırnaksı yapıya (13) rastlamamızı yine aflatoksinin bu özelliği ile açıklamayı uygun bulduk. Seyrek olarak endotel hücrelerinin lümenine bakan yüzünde gördüğümüz bu oluşum hücre biyokimyasındaki temel bozukluğa bağlı olarak, hücre yüzeyine dik yerleşmiş, membran orta tabakasını oluşturan fosfolipid moleküllerinin hidrasyonu ve dağılımıyla hidrokarbon veya hidrofob zincirlerinin karşılıklı gelmesiyle ortaya çıkmış yapılardır (13).

Normal, erişkin glomerül membranı trilameller görünümde olup, ortada 80nm kalınlığında lamina densa, her iki yanında 40nm kalınlığında lamina lucida yer alır. Epitel bazal membranının lamina densa'sı ile, endotel bazal membranındaki birbiriyle kaynaşmıştır. Bazal membranlar, biyokimyasal olarak, buldukları dokuya göre miktarları değişen, ancak kendileri değişmeyen "İntrinsek bileşikler"den oluşur. Bunların biri endotel tarafından salgılanan, fibriler yapı göstermeyen "tip-IV kollagen", diğeri glikoprotein karakterli, hücrelerin bazal membrana yapışmasını sağlayan "laminin", bir diğeri anyonlardaki elektrostatik yükü sayesinde bazal membran filtrasyonlarında rol alan proteoglikan yapılı "heparan sülfat", bir başkası sülfatlı glikoprotein olan "entaktin" ve sonuncusu "nidojen"dir. Ancak seçici ve temel filtrasyon bazal membranlarının yapısına katılan, fakat sabit bileşikler olmayan ekstrensek bileşikler de vardır; plazma veya membrana bitişik fibroblast tarafından yapılırlar. Fibronektin, tip-V kollagen, kondroitin sülfat bu bileşiklerdendir.

Bu bazal membran kalınlaşmalarında: biyokimyasal olarak, heparan sülfat sentezinde azalma, bunun kompensasyonu için tip-IV kollagen ve laminin salgısında artış vardır (13). Ayrıca buraya glomerüler filtrasyon sonucu, lineer veya globüler depozit şeklinde, dolaşım plazma proteinleri, antijenler, antikorlar, antijen-antikor kompleksleri, komplemanlar gibi çeşitli sübstanların da birikebileceğini düşündük.

Kapiler endoteli ve glomerül bazal membranında ortaya çıkacak bu bozukluklar mesangiuma da aksederek, gerek mesangial hücre sayısında, gerekse mesangial matrikste artmaya ve hatta matriksinde depozit yerleşimine neden olacaktır.

Kendisini adaptasyona uyduramayan veya adaptasyon eşliğini geçmiş hücreler, farklı derecede morfolojik değişiklikler gösterirler. Bu değişiklikler

başlangıçta ultrastrüktürel düzeyde olup, giderek artar. Metabolik agresyona (hipoksi, toksin) adapte olamayan hücre, yapısal proteinlerini imal etmeyi durdurur; elektrolit derecesini ve diğer membran fonksiyonlarını muhafaza etmeğe gerekli enerjiyi yapamazsa, giderek soluk ve vakuoler görünüm alır (13, 14).

Foksiyonel ve fizyopatolojik yönden; glomerül oldukça pasif bir yapı, tübül ise yoğun hücre metabolizmasının görüldüğü yerdir. Bu yüzden glomerüller fonksiyon, glomerül yapısındaki hafif değişiklikler ile bir miktar bozulacak, ancak tübüler fonksiyonlar, nefrositlerin maruz kaldığı metabolik agresyonlar (hipoksi, toksin) ile çok değişecektir (14).

Gerek çevresinde yer alan kapillerleri, gerekse lümeninden geçen filtrat nedeniyle en çok metabolik agresyona maruz kalan nefrositlerde

bozukluğun en fazla olması doğal olup Cabanne'ın çalışmalarıyla (14) da uyum göstermektedir. Çoğu mitokondrilerde şişme, düzenli krista yerine vakuoler boşluk veya erimiş kopuk krista gözlenmesi mitokondrial membran-Na pompasının enzimlerinin erken değişimi sonucu, su ve elektrolitlerin akümülyasyonundan dolayıdır. Bu olay daha ileri giderek, krista kaybına ve şişmenin artmasına neden olabilir. Nitekim yine aşırı metabolik agresyon; hücrenin bazal kıvrımlarının bazal membran ile ilişkisinin kopmasına, ribozom kaybına, organellerde çözünmeye, otofaji yoluyla atılanlardan dolayı lizozomların ve myeloid figürlerin artmasına neden olmuştur.

Glomerul ve nefrositlerde açıklamağa çalıştığımız değişimleri meydana getiren aflatoxin B₁, bu yapıların ultrastrüktürlerinde de bu doğrultuda önemli değişiklikler meydana getirmiştir.

KAYNAKLAR

1. Dustin P., Dourov N. : Agents Cancérigènes Physiques et Chimiques. In: Maloine S. A. ed. Leçons d'Anatomie Pathologique Générale, 3^{ème} édit. Paris. Imprimerie de Compiègne, 1981, pp 340-353
2. Pitot H. C. : The Etiology of Cancer: Chemical and Physical Agents. Pitot H. C. ed Fundamentals of Oncology, 2nd edit. New York and Basel Marcel Dekker Inc, 1981, pp 33, 37, 83, 84
3. Hanigan H. M. and Laishes B. A. : Toxicity of Aflatoxin B₁ in Rat and Mouse Hepatocytes in vivo and in vitro. *Toxicology*. 30: 185-193, 1984
4. Pong R. S., Wogan G. N. : Toxicity and Biochemical and Fine Structural Effects of Synthetic Aflatoxins M₁ and B₁ in Rat Liver. *J. Natl. Cancer Inst.* 45:585-592, 1971
5. Wogan G. N. : Chemical Nature and Biological Effects of the Aflatoxins. *Bacteriol. Rev.* 30:460-470, 1966
6. Dirr H. W., Schabort J. C. : Intracellular Aflatoxin B₁-Binding Proteins in Rat Liver. *Biochem. Int.* 14 (2):297-302, 1987
7. Kärenlampi S. O. : Mechanism of Cytotoxicity of Aflatoxin B₁: Role of Cytochrome p-450. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 15:854-60 1987
8. Dökmeci I.: Toksikokinetik. Dökmeci I. Ed. Toksikoloji Akut Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi, 2. Baskı, İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri, 1994, pp. 50-60
9. Kayaalp O. : İlaçların Metabolizması. In: Tıbbi Farmakoloji, 2. Baskı Ankara, Nüve Matbaası, 1981, pp 79-118
10. Yılmaz G., Uygun M., Yılmaz S. : Aflatoxinin Sıçan Karaciğeri Üzerine Etkisinin Elektron Mikroskopik Düzeyde İncelenmesi. X. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongre Kitabı. İstanbul 1991, p 24
11. Hayat M. E. : Fixation, Embedding, Staining. Hayat M. E. Ed. Principles and Techniques of Electron Microscopy. Biological Applications, London. Von Nostrand Reinhold Company, 1970, pp 65281
12. Dafalla R., Yagi A. I., Adam S. E. I. : Experimental Aflatoxicosis in Hybro-Type Chicks: Sequential Changes in Growth and Serum Constituents and Histopathological Changes. *Vet. Hum. Toxicol.* 29 (3):222-226, 1987
13. Cabanne F., Bonenfant J. L. : Lésions Élémentaires des Cellules et des Tissus. In: Quebec Maloine S. A. ed. Anatomie Pathologique, 2^{ème}, édit. Paris, Les Presses de l'Université Laval, 1986, 9-78
14. Wheeler P. R., Burkitt H. G., Stevens A., Lowe J. S. : Aggression Cellular. In: Wheeler P. R., Burkitt H. G., Stevens A., Lowe J. S. eds. Histopathology: A Color Atlas and Text, 2nd edit. London. Churchill Livingstone, 1991 pp 2-7