

BROYLERLERDE YAĞLI KARACİĞER SENDROMU ÜZERİNDE
HİSTOLOJİK VE BİYOKİMYASAL ÇALIŞMALAR

*The histological and biochemical investigations on fatty liver syndrome
in broilers.*

Reşat AŞTI¹
Şakir Doğan TUNCER²
Leyla KALAYCIOĞLU³
Behiç COŞKUN⁴
Nuri BAŞPINAR⁵
İlhami ÇELİK⁶

Summary : This study was carried out to investigate the correlation between the fatty liver syndrome and some blood values in broilers fed with rations containing corn, sunflower oil and animal fat.

Totally 150 day - old Arbro - 7 female chicks were used in the experiment. There were three groups each containing 50 chicks. The experiment lasted in 56 days.

At the end of the experiment, a severe case of fatty livers was observed in the group fed with corn based ration. The highest SGOT ($P < 0.05$) and FFA values were found in this group.

In the other two groups fed differently with ration containing sunflower oil and the animal fat, the lesser amount of lipid infiltrations were observed. The total serum cholesterol levels in the group fed with animal fat were higher than the other groups ($P < 0.01$).

-
- (1) Doç. Dr., S. Ü. Vet. Fak. Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı, Konya.
 - (2) Doç. Dr., S. Ü. Vet. Fak. Hayvan Bes. ve Besl. Hast. Anabilim Dalı, Konya.
 - (3) Prof. Dr., İ. Ü. Vet. Fak. Biyokimya Bilim Dalı, İstanbul.
 - (4) Yrd. Doç. Dr., S. Ü. Vet. Fak. Hayvan Bes. ve Besl. Hast. Anabilim Dalı, Konya.
 - (5) Araş. Gör., S. Ü. Biyokimya Bilim Dalı, Konya.
 - (6) Araş. Gör., S. Ü. Vet. Fak. Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı, Konya.

As a result, it can be deduced that the determination of SGOT values as well as the histological investigation would be helpfull in the diagnosis of subclinical fatty liver syndrome.

Özet : Bu çalışma mısır, ayçiçek yağı ve hayvansal yağ kapsayan rasyonlarla beslenen broylerlerde karaciğer yağlanması ile bazı kan değerleri arasındaki ilişkinin tesbit edilmesi amacı ile yapılmıştır.

Araştırmada 150 adet Arbro - 7 adlı dişi günlük broyler civcivi kullanılmıştır. Herbiri 50 adet civcivden oluşan 3 grup düzenlenmiş ve deneme 56 gün sürdürülmüştür.

Mısıra dayalı rasyonla beslenen grupta şiddetli derecede karaciğer yağlanması meydana gelmiş, bu grupta SGOT ($P < 0.05$) ve FFA değerleri de diğer gruplardan yüksek bulunmuştur.

Ayçiçek yağı ve hayvansal yağ kapsayan rasyonlarla beslenen gruplarda, mikroskopik olarak, karaciğerde dikkate değer bir yağlanma gözlenememiştir. Hayvansal yağ verilen grupta total serum kolesterolü en yüksek olarak tesbit edilmiştir ($P < 0.01$).

Sonuç olarak, tavuklarda subklinik olarak seyreden karaciğer yağlanmasının teşhisinde histolojik incelemeler ile birlikte SGOT değerinin tesbit edilmesinin yardımcı olabileceği kanısına varılmıştır.

Giriş

Karaciğer yağlanması et ve yumurta yönlü tavuklarda %10 - 20 oranında mortaliteye yol açabilen metabolik bir hastalıktır. Yağlı karaciğer sendromuna neden olan faktörler kesin olarak aydınlatılamamış ise de beslenme, çevre ve toksik faktörler bu hastalığın çıkışında etkili olmaktadır (7, 24, 28, 30).

Karaciğer yağlanmasının biyokimyasal yönünü inceleyen bir çalışmada (11) hastalığın şekillenmesinde pankreas tarafından salgılanan glukagon hormonunun da etkili olabileceği üzerinde durulmuştur. Araştırmacılar (11) bu hormonun kanatlılarda memelilere göre daha fazla salgılandığını bildirmişlerdir.

Rasyondaki enerji düzeyinin yüksek olması, enerjinin büyük oranlarda karbonhidratlardan karşılanması, protein miktarının düşük veya yüksek olması gibi beslenmeye bağlı faktörler karaciğer yağlanması olaylarını hızlandırmaktadır (8, 29). Kanatlı rasyonlarında enerji kaynağı olarak kullanılan mısırın yağlı karaciğer sendromu olaylarını artırdığı (18,

19, 20), rasyonlara optimum düzeylerde katılan bitkisel ve hayvansal yağların ise yağlanmayı azalttığı (9) ve yağlanmaya bağlı ölüm oranını düşürdüğü (19) bildirilmektedir.

Karaciğer epitel hücrelerinde lipid infiltrasyonlarının artması, organın solgun bir görünüme sahip olması bu hastalıkta meydana gelen belli başlı bozukluklardır (10, 21). Karaciğerde görülen bu histolojik bozukluklar hücrelerde harabiyete yol açmaktadır. Karaciğerde yoğun şekilde bulunan glutamikokzalasetik transaminaz enzimi, hücrelerde oluşan harabiyet sonucu kana geçmekte ve enzimin kandaki düzeyi yükselmektedir (17, 22). Diğer taraftan karaciğer yağlanması olgularında kanda serbest yağ asitleri miktarının yükseldiğine işaret edilmektedir (7). Serum kolesterol düzeyinin karaciğer yağlanması görülen tavuklarda yükseldiği (16), sığırlarda düştüğü (25) tesbit edilmiştir. Whitehead (28) yağlı karaciğer - böbrek sendromunda kan glikoz düzeyinin serbest yağ asitlerinin mobilize olması sonucu düştüğünü bildirmiştir.

Bu çalışma mısır, ayçiçek yağı veya hayvansal yağ verilen broylerde karaciğer yağlanması ile bazı kan değerleri arasındaki ilişkilerin tesbit edilmesi amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

1. Materyal

Bu çalışmada 150 adet Arbro - 7 adlı dişi günlük broyler civcivi kullanılmıştır. Araştırma rasyonları isokalorik ve isonitrojenik esasa göre hazırlanmıştır (tablo 1). Rasyonlarda enerjinin bir bölümü mısır (I. deneme grubu), ayçiçek yağı (%5) (II. deneme grubu) ve hayvansal yağ (%5) (III. deneme grubu) ile karşılanmıştır. Rasyonların bileşimleri ile ham protein ve metabolik enerji değerleri tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Araştırmada kullanılan rasyonların bileşimi ile ham protein ve metabolik enerji değerleri

Yem maddeleri, %	D e n e m e g r u p l a r ı		
	I	II	III
Mısır	63.6	22.9	26.1
Buğday	—	14.0	14.0
Kepek	—	6.0	6.0
Arpa	—	17.2	14.0
Soya fasülyesi küşpesi	18.5	17.0	17.0
Ayçiçeđi küşpesi	7.0	7.0	7.0
Et - kemik unu	5.0	5.0	5.0
Balık unu	5.0	5.0	5.0
Ayçiçek yağı	—	5.0	—
Hayvansal yağ	—	—	5.0
Tuz	0.40	0.40	0.40
Vitamin karması*	0.25	0.25	0.25
Mineral karması**	0.10	0.10	0.10
Avatec	0.10	0.10	0.10
Etoxquin	0.05	0.05	0.05
Ham protein, %	21.11	21.08	21.03
Metabolik Enerji, kcal/kg	2965	2979	2983

(*) Rovimix 124 her 2.5 kg'da: 15000000 IU vitamin A, 1500000 IU vitamin D₃, 20000 IU vitamin E, 5000 mg vitamin K₃, 3000 mg vitamin B₁, 250000 mg niasin, 10000 Ca D - Pantotenat, 5000 mg vitamin B₆, 30 mg vitamin B₁₂, 750 mg folik asit, 50 mg D - biotin, 400000 mg kolin klorid ve 25000 mg karofil sarı kapsar.

(**) Romin L'nin her kg'ında: 80 g manganez, 30 g demir, 60 g çinko, 5 g bakır, 0.5 g kobalt, 2 g iyot, 235.68 g kalsiyum kapsamaktadır.

2. Metot

Deneme her birinde 50 adet civciv bulunan 3 grup halinde yürütülmüştür. Hayvanlar Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi deneme kümesinde 56 gün süre ile beslenmiştir.

2.1. Histolojik incelemeler

Deneme sonunda her gruptan rasgele seçilen 6'şar hayvan kesilerek karaciğer örnekleri alınmıştır. Örnekler Baker'in (4) formol - kalsiyum tesbit solusyonunda +4°C de ve karanlıkta 16 saat süre ile tesbit edilmiştir. Dokularda yağın demonstrasyonunu sağlamak için kryostat'ta 15-20 µ kalınlığında alınan dondurma kesitleri Sudan Black boyası ile boyanmış ve ışık mikroskobik düzeyinde incelenmiştir.

2.2. Biyokimyasal incelemeler

Denemenin 56. gününde kesilen hayvanlardan, her gruptan 10'ar ade-di rasgele seçilmiş ve bunlardan biyokimyasal analizler için kan numuneleri alınmıştır. Serum glutamikokzalasetik transaminaz (SGOT) tayinleri Boehringer testi kombinasyonu kullanılarak yapılmıştır (6). Plasma serbest yağ asitleri (FFA) kolorimetrik olarak (12), serum kolesterol tayini ise Leffler metodu (2) kullanılarak yapılmıştır.

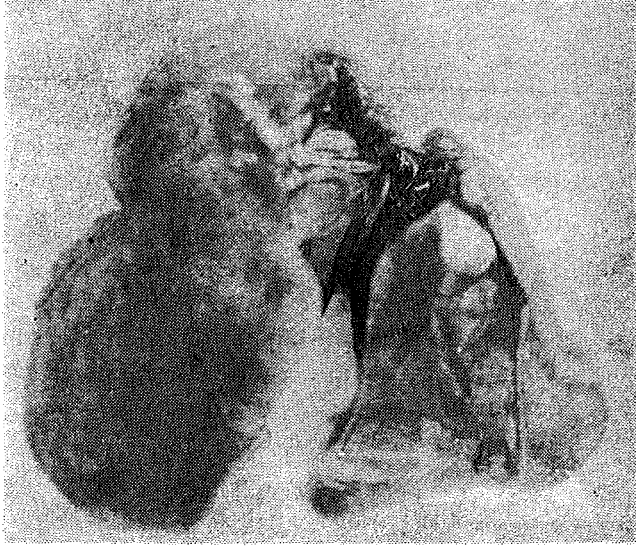
2.3. İstatistik analizler

Gruplara ait istatistiki hesaplamalar ve gruplararası farklılıkların önemliliği varyans analiz metodu (13), grup ortalamaları arasındaki farkların istatistiki önem kontrolünde en küçük önemli fark (LSD) metodu kullanılmıştır (26).

Bulgular

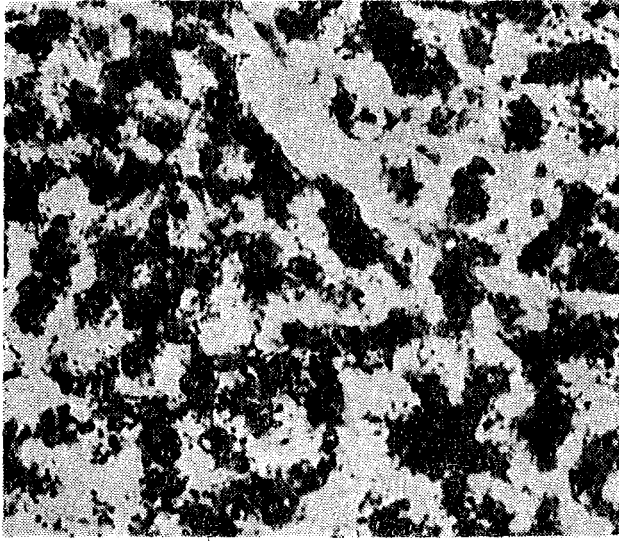
Piliçlerden elde edilen makroskobik ve mikroskobik bulgular 1 - 6 no-lu resimlerde gösterilmiştir.

Deneme hayvanlarından alınan kan numunelerinde SGOT, FFA ve serum kolesterol miktarları tesbit edilmiş olup istatistiki analize tabii tutulan bu sonuçlar tablo 2'de, bu değerler arasındaki korelasyonlar ise tablo 3'de verilmiştir.



Resim 1. Birinci deneme grubunda karaciğerin makroskopik görünümü

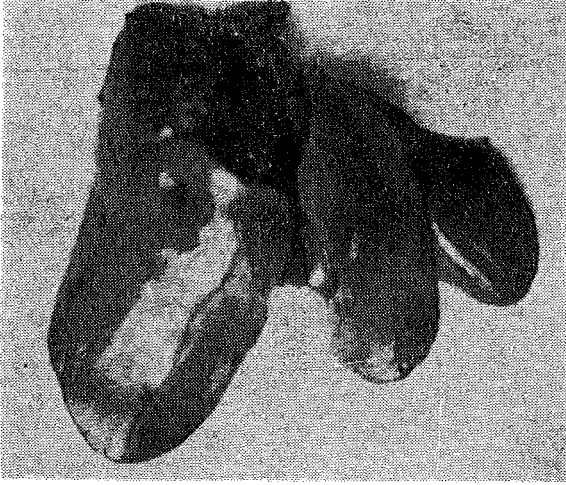
Figure 1. Macroscopic appearance of the liver in the group I



Resim 2. Birinci deneme grubunda karaciğerin mikroskopik görünümü

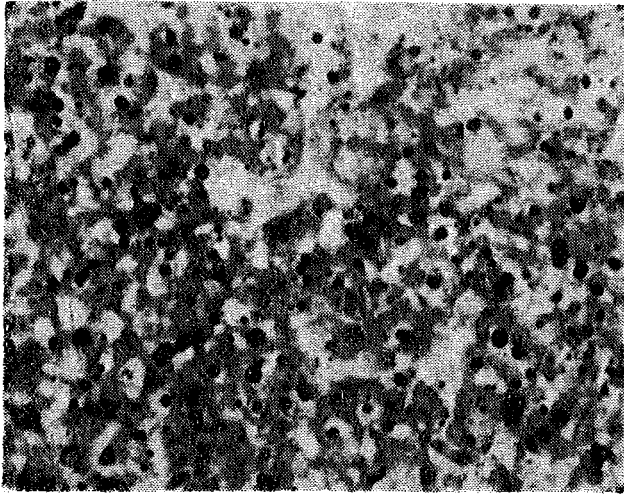
Figure 2. Microscopic appearance of the liver in the group I

Sudan Black., x 400



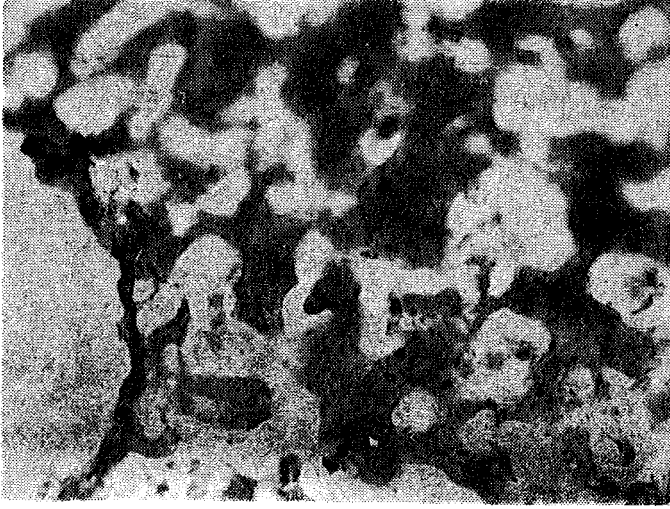
Resim 3. İkinci deneme grubunda karaciğerin makroskopik görünümü

Figure 3. Macroscopic appearance of the liver in the group II



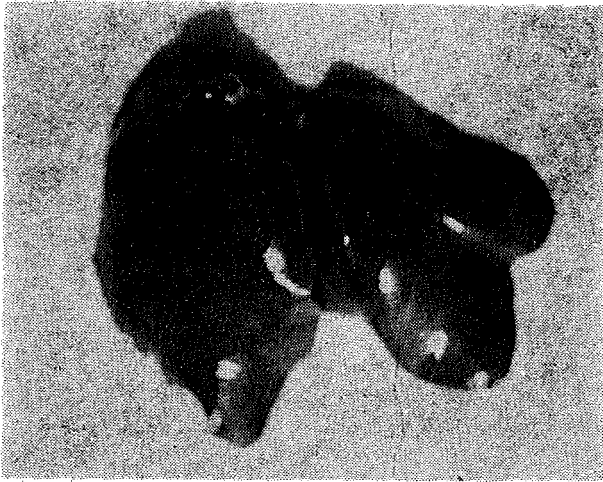
Resim 4. İkinci deneme grubunda karaciğerin mikroskopik görünümü

Figure 4. Microscopic appearance of the liver in the group II
Sudan Black., x 450



Resim 5. Üçüncü deneme grubunda karaciğerin makroskopik görünümü

Figure 5. Macroscopic appearance of the liver in the group III



Resim 6. Üçüncü deneme grubunda karaciğerin mikroskopik görünümü

Figure 6. Microscopic appearance of the liver in the group III
Sudan Black., x 600

Tablo 2. Gruplarda SGOT, plazma FFA ve serum total kolesterol değerleri

Kan değerleri	G r u p l a r			F
	Mısır I	Ayçiçek yağı II	Hayvansal yağ III	
FFA (mM/L)	0.429 ± 0.099	0.395 ± 0.720	0.266 ± 0.309	1.004 ⁻
SGOT (U/L)	188.0 ± 8.40 ^a	156.0 ± 15.36 ^b	142.5 ± 12.5 ^b	3.540 [*]
Serum total kolesterolü, % mg	96.20 ± 7.84 ^b	74.11 ± 4.40 ^c	113.15 ± 6.33 ^a	341.28 ^{**}

Aynı sırada aynı işareti taşıyan değerler arasında istatistiki bir fark bulunamamıştır ($P > 0.05$).

(—) $P > 0.05$; (*) $P < 0.05$; (**) $P < 0.01$.

Tablo 3. Gruplarda SGOT, FFA ve total kolesterol değerleri arasında ilişkiler (r)

İlişkiler	G r u p l a r		
	Mısır I	Ayçiçek yağı II	Hayvansal yağ III
SGOT - FFA	0.056 ⁻	-0.301 ⁻	0.182 ⁻
SGOT - Total kolesterol	0.515 ⁻	0.071 ⁻	0.271 ⁻
FFA - Total kolesterol	0.156 ⁻	0.080 ⁻	0.455 ⁻

(—) : $P > 0.05$.

Tartışma ve Sonuç

Araştırma gruplarında karaciğer yağlanması ile ilgili makroskopik ve mikroskopik bulguların gösterildiği resimler incelendiğinde mısıra dayalı rasyonla beslenen I. deneme grubunda diğer gruplara göre daha şiddetli bir yağlanmanın meydana geldiği görülecektir. Bu grupta karaciğer epitel hücrelerinin diffüz lipid damlacıkları ile dolu olduğu, makroskopik incelemede karaciğerin solgun bir görünüm kazandığı gözlenmiştir (Resim 1 ve 2). Ayçiçek yağı ve hayvansal yağ ilave edilmiş rasyonları alan II. ve III. deneme gruplarında yağlanma görülmemiş, makroskopik incelemede karaciğerlerin normal bir görünüme sahip olduğu tesbit

edilmiştir (Resim 3, 4, 5 ve 6). Hayvansal yağ verilen gruplarda lipid damlacıkları sayısının ayçiçek yağı grubundan da az olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, rasyonlara enerji kaynağı olarak katılan mısırın karaciğer yağlanması artırdığını bildiren araştırma sonuçlarına (1, 3, 18, 23, 28) tamamen benzerlik göstermektedir. Diğer taraftan II. ve III. deneme gruplarında herhangi bir karaciğer yağlanması olayının görülmediğı dikkate alınır, bu sonuçların rasyona optimum düzeylerde katılan bitkisel ve hayvansal yağların hastalığın çıkışını azalttığı veya önlediğini ortaya koyan araştırma sonuçları (5, 8, 14, 15) ile de uyum içinde olduğu anlaşılır.

Gruplarda elde edilen SGOT değerleri mısır grubunda 188.0; ayçiçek yağı grubunda 156.0 ve hayvansal yağ grubunda ise 142.5 u/L miktarındadır (Tablo 2). Aynı gruplarda plazma FFA ve serum total kolesterol değerleri sırasıyla 0.429 mM/L ve %96.2 mg; 0.395 mM/L ve %74.11 mg; 0.266 mM/L ve %113.15 mg olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre şiddetli yağlanmanın meydana geldiğı mısır grubunda SGOT değeri diğer iki gruba ait değerlerden önemli derecede daha yüksektir ($P < 0.05$). Aynı şekilde FFA değerleri bakımından da gruplar arasında benzer bir fark tesbit edilmiş ise de bu farklılıklar istatistik bakımdan önemlilik arz etmemiştir ($P > 0.05$). Serum total kolesterolü yönünden sonuçlar karşılaştırıldığında en yüksek değer hayvansal yağ verilen grupta elde edildiğini bunu mısır ve ayçiçek yağı gruplarının izlediğı görülmüştür ($P < 0.01$). Gruplarda SGOT, FFA ve serum total kolesterol değerleri arasında bir korrelasyon tesbit edilememiştir (Tablo 3).

Pearson ve Butler (22) ısı stresine bağılı olarak meydana gelen kanamalı yağlı karaciğer sendromunda SGOT değerinin 127 umol/dak./L den 246 umol/dak./L değerine yükseldiğini bulmuşlardır. Yapılan bu çalışmada ise şiddetli derecede yağlanma görülen I. grupta SGOT değerinin diğer gruplardan yüksek olması her iki araştırma sonucunun, yağlanma sebebinin farklı olmasına rağmen, birbirini desteklediğini göstermektedir.

Pearson ve arkadaşları (23) tavuklarda kanamalı karaciğer yağlanmasında FFA değerini 33 umol/100 ml olarak bildirmişlerdir. Bu çalışmada ortaya çıkan sonuçlar araştırmacıların (23) elde ettiğı değerlere yakın bulunmuş olup FFA değerleri yağlanma derecesine paralel olarak bir artış göstermiştir.

Histolojik ve biyokimyasal sonuçlar karşılaştırıldığında mısıra dayalı rasyonla beslenen grupta ortaya çıkan karaciğer yağlanmasında SGOT ve FFA değerlerinin yükseldiğı, buna karşılık ayçiçek yağı ve hayvansal

yağ verilen gruplarda karaciğer yağlanması görülmemesi, SGOT ve FFA düzeylerinin düşük oluşu rasyonlara optimum düzeyde katılan bitkisel ve hayvansal yağın sendromun çıkışını azalttığı veya önlediği görüşünü doğrular niteliktedir. Diğer taraftan yağlanmayı artırıcı yönde etki yapan mısırın besi performansını her iki yağ çeşidi verilen gruplara göre olumsuz şekilde etkilediği bildirilmektedir (27).

Sonuç olarak, karaciğer yağlanması olaylarına paralel olarak SGOT değerinin önemli derecede artış göstermesi, tavukçulukta subklinik olarak seyreden bu hastalığın teşhisinde histolojik incelemelerle birlikte SGOT değerinin tesbit edilmesinin yardımcı olabileceği kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

1. Akkılıç, M ve Tanyolaç, A. (1975). Kafeste beslenen tavuk rasyonlarındaki enerji düzeyinin karaciğer yağlanması üzerine etkisi. A. Ü. Vet. Fak. Derg., XXI, (3 - 4): 370 - 389.
2. Aras, K. (1964). «Klinik Biyokimya». A. Ü. Tıp Fak. Yayınları, No: 126, A. Ü. Basımevi, Ankara.
3. Aştı, R. (1982). Kanatlılarda perisinuzoidal hücrelerin (fat storing cell) varlığı, bunların vitamin A ve lipid metabolizması ile ilişkisi üzerinde ışık, elektron ve fluoresan mikroskopik çalışmalar. Doçentlik tezi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi (Basılmamış).
4. Baker, J. R. (1946). The histochemical recognition of lipine. Quart. J. Micr. Sci. 87: 441 - 463.
5. Balnave, D. and Pearce, J. (1969). Adaptation of the laying hen (gallus domesticus) to dietary fat with special reference to changes in liver and ovarian lipid content and liver enzyme activity. Comp. Biochem. Physiol., 29: 539 - 550.
6. Biochemica - Boehringer (1981). Bestimmung der Aktivität der GOT und ALP in serum. (uv Test mit DPNH). Testeinleitung C. F. Boehringer M. Söhne, Mannheim.
7. Blair, R. and Whitehead, C. C. (1974). An assessment of the factors associated with fatty liver and kidney syndrome in broilers. Proc. Abstr. XV. World's Poultry Congress, New Orleans, August 11 - 16, 1974.

8. Blair, R., Whitehead, C. C. and Teague, P. W. (1975). The effect of dietary fat and protein levels, form and cereal type on fatty liver and kidney syndrome in chicks. *Res. Vet. Sci.*, 18: 76 - 81.
9. Coon, C. N., Backer, W. A. and Spencer, J. V. (1981). The effect of feeding high energy diets containing supplemental fat on broiler weight gain, feed efficiency and carcass composition. *Poultry Sci.*, 60: 1264 - 1271.
10. Deaton, J. W., McNaughton, 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.
11. De Oya, M., Prigge, W. F., Swenson, D. E. and Grande, F. (1971). Role of glucagon on fatty liver production in birds. *Am. J. Physiol.*, 221: 25 - 30.
12. Devilliers, S., van Der Walt, J. G. and Procos, J. (1977). An accurate, sensitive and reproducible method for the colorimetric estimation of free fatty acids in plasma. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 44: 169 - 172.
13. Düzgüneş, O., Kesici, T. ve Gürbüz, F. (1983). «İstatistik Metotları I» A. Ü. Ziraat Fak. Yayınları. No: 861, Ankara.
14. Haghghi - Rad, F. and Polin, P. (1982). Lipid: The unidentified factor for alleviating fatty liver syndrome. *Poultry Sci.*, 61: 2075 - 2082.
15. Haghghi - Rad, F. and Polin, P. (1982). Lipid alleviates fatty liver hemorrhagic syndrome. *Poultry Sci.*, 61: 2465 - 2472.
16. Harms, R. H. and Simpson, C. F. (1978). Serum and body characteristics of laying hens with fatty liver syndrome. *Poultry Sci.*, 58: 1644 - 1646.
17. Hazen, K. R., Creger, C. R. and Couch, J. R. (1976). The use of liver function tests to study fatty liver syndrome. *Poultry Sci.*, 55: 1595.
18. Jensen, L. S., Chang, C. H. and Wyatt, R. D. (1976). Influence of carbohydrate source on liver fat accumulation in hens. *Poultry Sci.*, 55: 700 - 709.
19. Jensen, L. S., Falen, L. and Chang, C. H. (1974). Effect of distillers dried grain with solubles on reproduction and liver fat accumulation in laying hens. *Poultry Sci.*, 53: 586 - 592.
20. Maurice, D. V. and Jensen, L. S. (1977). Effect of dietary cereal source on in vivo and in vitro lipogenesis and hepatic fatty acid composition in Japanese quail. *Poultry Sci.*, 56: 1353 (Abstr).

21. Maurice, D. V., Jensen, L. S. and Tojo, H. (1979). Comparison of fish meal and soybean in the prevention of fatty liver. Hemorrhagic syndrome in caged layers. *Poultry Sci.*, 58: 864 - 870.
22. Pearson, A. W. and Butler, E. J. (1978). Environmental temperature as a factor in the aetiology of fatty liver - haemorrhagic syndrome in the fowl. *Res. Vet. Sci.*, 25: 133 - 138.
23. Pearson, A. W., Arkhipov, A. V. and Butler, E. J. (1978). Influence of dietary cereal and energy content on the accumulation of lipids in the liver in fatty liver haemorrhagic syndrome in the fowl. *Res. Vet. Sci.*, 24: 72 - 76.
24. Polin, D. and Wolford, J. H. (1977). Role of oestrogen as a cause of fatty liver hemorrhagic syndrome. *J. Nutr.* 107: 873 - 866.
25. Reid, I. M., Rowlands, G. J., Dew, A. M., Collins, R. A., Roberts, C. J and Manson, R. (1983). The relationship between postparturient fatty liver and blood composition in dairy cows. *J. Agric. Sci., Camb.*, 101: 473 - 480.
26. Snedecor, G. W. (1957). «Statistical Methods». The Iowa State Collage Press, Iowa, USA.
27. Tuncer, Ş. D., Aştı, R. Coşkun, B., Tekeş, M. A. ve Erer, H. (1986). Farklı enerji kaynaklarının broylerlerde besi performansı, abdominal yağ birikimi ve karaciğer yağlanması üzerine etkisi. I. Besi performansı ve abdominal yağ birikimine etkisi. *S. Ü. Vet. Fak. Derg. (basımda)*.
28. Whitehead, C. C. (1977). The use of biotin in poultry nutrition. *World's Poultry Sci.* 33: 140 - 154.
29. Whitehead, C. C. and Blair, R. (1976). The involvement of further nutritional factors in fatty liver and kidney syndrome in chicks. *Res. Vet. Sci.*, 21: 141 - 145.
30. Wolford, J. H. and Polin, D. (1972). Lipid accumulation and hemorrhage in livers of laying chickens. A study on fatty liver hemorrhagic syndrome (FLHS). *Poultry Sci.*, 51: 1707 - 1713.

