



RESEARCH ARTICLE

Labidochromis caeruleus ve *Xiphophorus hellerii*'de non-alkolik steatohepatitis'in araştırılması

Mustafa Ünal Boyraz^{1*a}, Muhammet Yaşar Dörtbudak^{2,b}, Muhammet Bahittin Dörtbudak^{3,c}

¹Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

²Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Su ürünleri ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

³Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Bingöl, Türkiye

Geliş:06.11.2018, Kabul: 11.01.2019

*mupoyraz@yahoo.com

^aORCID: 0000-0002-5455-0353, ^bORCID: 0000-0001-7966-5678, ^cORCID: 0000-0001-5777-964X

Investigation of non-alcoholic steatohepatitis in *Labidochromis caeruleus* and *Xiphophorus hellerii*

Eurasian J Vet Sci, 2019, 35, 1, 49-55

DOI: 10.15312/EurasianJVetSci.2019.222

Öz

Amaç: "*Labidochromis caeruleus*" ve "*Xiphophorus hellerii*" ticari önem taşıyan akvaryum süs balıklarındandır. Bu türlerin optimum akvaryum koşulları ve standart besleme şartlarında çeşitli klinik belirtiler göstererek öldüklerinin görülmesi üzerine, ölüm nedenlerinin (histopatolojik olarak) araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda aynı akvaryumda bulunan,7 ayrı tür süs balığından, benzer semptomları göstererek ölen "*Labidochromis caeruleus*" ve "*Xiphophorus hellerii*" türlerinden 5'er örnek kullanılmıştır. Karaciğerde gözlemlenen değişikliklerden dolayı sırasıyla makroskopik inceleme, karaciğerin diseksiyonu ve rutin doku takibi, blokama, kesit alma, HxE boyaması yapılarak ışık mikroskopunda incelenmiştir.

Bulgular: İştahsızlık, zayıflama, su yüzeyine yakın yüzmeye, renkte koyulaşma ve matlaşma, solungaçlarda solgunluk, hareketlerinde azalma görülen balıkların makroskopisinde, abdomende serosanginoz eksudat, karında şişkinlik, mukozalarda anemi, karaciğerlerde yağlanmaya bağlı sarı-kahverengi renk değişikliği, yangı, karaciğerin total hacminde belirgin büyüme gevrek ve kırılğan bir kıvam, karaciğerin keskin kenarlarında kütleleşme ve karaciğerin parankim dokusunda peteşiyel kanama odakları gözlemlendi. Mikroskopik bakıda, Karaciğer parankiminde yer alan hepatositlerin şişkin bir şekilde dejenerasyon ve yer yer nekroze olduğu, sitoplazmalarının tamamını dolduran makro ve mikroveziküler şekilde büyük yağ damlacıklarının bulunduğu, santral venlerden lobülün ortalarındaki hepatositlere ve periportal alanlara kadar yağlanma ile ilgili değişiklikler olduğu görüldü.

Öneri: Bu çalışma ile karaciğerdeki histopatolojik değişiklikleri incelenen bu balıkların, optimum koşullar ve standart besleme şartlarında, karaciğer yağlanması yönünden aynı akvaryumdaki diğer türlere göre piyasa yemlerine karşı hassasiyetleri olduğu belirlenmiştir. Önemli bir sağlık sorunu olarak ortaya çıkan ve daha bu akvaryum balık türleri için önceden bildirilmeyen bu steatohepatit olgusuyla karaciğer yağlanmasının yaygın ve net bir şekilde görülebilenliği "*Labidochromis caeruleus*" ve "*Xiphophorus hellerii*" türlerinin karaciğer yağlanması üzerine yapılacak çalışmalarda model organizma olabilecekleri düşüncesini de ayrıca oluşturmuştur.

Anahtar kelimeler: *Labidochromis caeruleus*, *Xiphophorus hellerii*, steatoz, steatohepatitis, HxE

Abstract

Aim: "*Labidochromis caeruleus*" and "*Xiphophorus hellerii*" are commercially important aquarium ornamental fish. The aim of this study, upon the discovery that these species died by showing various clinical signs in optimum conditions and standard feeding conditions, was to investigate the causes of death and to determine the problems that may be encountered in the field.

Materials and Methods: In our study, five of "*Labidochromis caeruleus*" and "*Xiphophorus hellerii*", which were grown as seven species of ornamental fishes and died with similar clinical symptoms were used. Because of the changes observed in the liver, macroscopically, liver dissection, and H&E staining were carried out respectively and examined by light microscopy.

Results: Serosangioz exudate in the abdomen, anemi, livers yellow-brown, lipidosis with inflammation, excessive growth, crispand easily degradable consistency, bluntends and petechial hemorrhage foci were observed. Microscopically seen that the hepatocyte cytoplasm were filled by large oil droplets with macro and micro vesicular. Fatty changes in liver cells are widely distributed from central veins toward hepatocytes in the middle of the lobule and periportal areas.

Conclusion: The histopathological changes in the liver were investigated and under optimum conditions and standard feeding conditions, and the sensitivities of these commercially important aquarium ornamental fishes were determined against market baits. It has been concluded that the species can be a model organism for studies on fatty liver thanks to widespread/clear visualization of fatty liver and observation of a case of steatohepatitis, which is an important health problem and has not been previously reported for "*Labidochromis caeruleus*" and "*Xiphophorus hellerii*" species.

Keywords: *Labidochromis caeruleus*, *Xiphophorus hellerii*, steatosis, steatohepatitis,



Giriş

Karaciğerde yağ miktarının özellikle trigliseridlerin, karaciğer ağırlığının % 5' inden fazla olması veya histopatolojik incelemede hepatositlerin % 5'ten fazlasının yağ vakuelleri ile dolu olması karaciğer yağlanması olarak tanımlanmaktadır. Alkol alımı olmaksızın gerçekleşen karaciğer yağlanması hastalığında yangısal reaksiyon bulgularının gözlenmediği duruma; Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (NAYKH) ya da basit steatoz denir. Eğer non-alkolik karaciğer yağlanmasına yangısal bulgular; nekro inflamasyon eşlik ediyorsa bu Non-Alkolik Steato-Hepatit (NASH) olarak isimlendirilmektedir. NAYKH oluşumunda; genetik yatkınlık, beslenme (aşırı beslenme, yetersiz beslenme, sindirim sisteminde bozukluk v.s.), metabolizma bozuklukları (diabet, obezite, hiperlipidemi, lipoproteinemi v.s.), kronik hastalıklar (kronik kalp yetmezliği, kistik fibrozis v.s.), enfeksiyöz etkenler (hepatit c, hiv, tbc v.s.), stres/hipoksi, endokrinopatiler ve ilaç/toksik madde alımları etkili olmaktadır. Karaciğer patogeneğinde en önemli faktör insülin direnci ve bunun oluşumunda rol oynayan etkenlerdir. İnsülin direncinde ise; genetik predispozisyon, beslenme ve metabolik bozukluklar önemli yer almaktadırlar (Angulo P 2002, Çolak ve Tuncer 2010, Kumar ve ark 2017). NAYKH başlangıçta hepatositlerde trigliserit (TG) birikimi şeklinde olmaktadır. Bu olay trigliseridin sentezi ile yıkımı arasındaki dengenin bozulması ile meydana gelir (Sonsuz ve Baysal 2011). Karaciğer yağlanması ilkin hepatositlerde TG birikimi ile hepatosteatoz şekillenir. Karaciğerde aşırı TG birikimi yağ dokusundan serbest yağ asitlerinin (SYA)'nin aşırı salınması, azalmış çok düşük dansiteli lipoprotein kolesterol (VLDL-K) sekresyonu veya sentezine bağlı olarak karaciğerden SYA sekresyonunda azalma veya bozulmuş SYA β-oksidasyonu ile oluşabilir. TG'lerin majör kaynağını yağ dokusunda depolanan yağ asitleri ve karaciğerde yeniden sentezlenen yağ asitleri oluşturmaktadır. Bu olaya inflamasyon ve sonrasında fibrozis oluşumu katılır (Farrel ve Larter 2006, Kara ve Erdal 2011). İnflamasyon ve fibrozis oluşumundan ise oksidatif stres, mitokondrial fonksiyon bozuklukları, tümör nekrozis faktör alfa (TNF-α) gibi sitokinler ve adiponektin, leptin gibi hormonlar sorumludur. İnflamasyonun oluşumu ile steatohepatitis; fibrozis ile siroza ve devam eden süreçte ise hepatokarsinom oluşumuna kadar ilerleyen bir karaciğer hasarı söz konusu olur (Matteoni ve ark 1999, Sonsuz 2007, Carter ve ark 2008).

Dünyada "Electric Yellow Cichlid" olarak da adlandırılan "Labidochromis caeruleus" ülkemizde Sarı Prenses Balığı olarak bilinmektedir. Ortalama 8-12cm boylarında sarı-turuncu aralığında çekici renk tonları ve non-agresif yaşam biçimleri ile sıklıkla talep gören ve ticari önem taşıyan akvaryum balığı türüdür. Anavatanı Afrika kıtasının Malawi gölü olup, sığ kayalıklarda yaşayan, ortalama 28°C sıcaklıkta buradaki yosun tabakalarında beslenen tropikal bir balıktır (Balian ve ark 2008).

Ülkemizde Kılıç Kuyruk Balığı olarak bilinen, dünyada "Sword Tail Fish" olarak da isimlenen "Xiphophorus hellerii" maksimum boy uzunluğu dişilerde 12 cm, erkeklerde 10 cm (kuyruk hariç) kadardır. Neredeyse tüm populasyonlarında dorsal ve kaudal yüzgeçlerde kırmızı benekler bulunur. Hızlı akan nehirler ve derelerde, yoğun bitkili bölgelerde (kaynak sularında, otlu kanallarda, göletlerde) yaşarlar. Solucan, kabuklular, böcekler ve bitkiler ile beslenirler. Cinsiyet ayırımı, erkekte değişiklik göstererek "gonopodium" adını alan anal yüzgeç ile yapılır. Gebelik süreci ortalama 32-38 gündür. Ömürleri yaklaşık 5 yıldır. Kolay hastalanmayan dayanıklı balıklardır. Parazitler tarafından rahatsız edilen, yaşlanan veya sürülerinde erkek birey bulunmayan dişilerde erkeğe dönüşüm gözlenmiştir (Esmaeili ve ark 2010, Nazan Deniz ve ark 2014).

Çiftlik balıklarında karaciğer yağlanması üzerine yapılan bir araştırmada, ağır yağlı karaciğer oluşumunda yetersiz ve kalitesiz besleme, bağışıklık sistemindeki zafiyet, çevre kirliliği (ağır metaller ve organik kalıntılar) ve genetik faktörlerin etkili olduğu bildirilmiştir (Zhenyu 2014).

Balıkların, aşırı yağlı veya kolay sindirilebilir karbonhidratlardan zengin yüksek enerjili diyetlerle beslenmesinin karaciğerde yağlanmaya yol açtığı, karaciğerdeki yüksek lipid içeriği ile karaciğer ağırlıkları ve vücut ağırlığı ile doğrusal ilişkisi olduğu bildirilmiştir. Ayrıca esansiyel yağ asitleri yetersizliğinde de karaciğer yağlanması oluşumu görülmüştür (Phillips ve ark 1953, Korkut ve ark 2007). Diyetlerde fazla miktarda karbonhidrat bulunması bazı balıklarda hiper glisemiye (yüksek şeker), karaciğer hiper glikojenezise (glikozun glikojene dönüşmesi), karaciğerde glikojen depolanmasının artmasına, karaciğerin kitlesel büyümesine ve patolojik bozukluklarına yol açar (Yanong 1995, Arda ve ark 2005, Roberts 2012).

Yüksek enerjili özellikle karbonhidrat bakımından zengin yemlerle beslenen balıklarda hiperglisemi sonucu karaciğer yağlanması görüldüğü ve hasta hayvanların yavaş hareket ettikleri, dağınık olarak yüzeye doğru yüzdükleri, renklerinin koyulaştığı ve matlaştığı, anemi, ekzoftalmus gibi klinik bulgular taşıdıkları, otopsilerinde solungaçların solgun, karın da eksudat birikimi, karaciğerin sarardığı ve büyümüş olduğu gözlenmiştir (Masumoto ve ark 1991, Korkut ve ark 2002). Hastalık hazırlanan rasyonların dışında; yüksek sıcaklık ve düşük oksijenin vücutta yağ kullanımını azaltması sebebiyle de oluşabilir. Hastalığın önlenmesi için; yağ bakımından noksan rasyonlar verilmelidir. Ransiditeye ve oksidasyona uğramış yem ve yağ maddeleri kullanılmaması gerekmektedir. Yemlerin depolanma süreleri kısa olmalı ve hazırlanan rasyonlarında doymamış bitkisel yağlar olmalıdır (Sarıyüpoğlu 2009, Karaman ve Yüngül 2014).

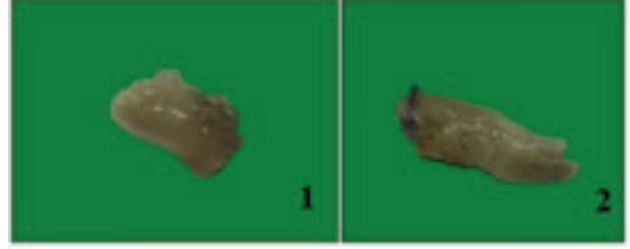
Çiftlik balıklarında karaciğer yağlanması üzerine yapılan bir araştırmada, ağır yağlı karaciğer oluşumunda yetersiz ve ka-

litesiz besleme, bağırsık sistemindeki zafiyet, çevre kirliliği (ağır metaller ve organik kalıntılar) ve genetik faktörlerin etkili olduğu bildirilmiştir (Gül ve ark 2004). Son yıllarda yapılan çalışmalarda insanlarda ciddi sağlık problemlerinden olan non-alkolik steatohepatoz için hayvan modelleme çalışmaları önem kazanmıştır. Dünya genelinde yaygınlığı nedeniyle, insan NAYKH'nın her evresinin histopatolojisini ve patofizyolojisini yansıtan çeşitli hayvan modelleri geliştirilmiştir. Uygun hayvan modellerinin seçimi bu alanda karşılaşılan temel sorunlardan biri olmaya devam etmektedir. Özellikle balıklarda yapılacak çalışmaların çeşitliliği ve süre yönünden fare ve diğer hayvan modellerindeki çalışmalardan daha kısa sürede sonuç verdiği için daha fazla tercih edildiği yönündedir (Asaoka ve ark 2013, Lau ve ark 2017, Pham ve ark 2017).

"*Labidochromis caeruleus*" ve "*Xiphophorus hellerii*" ticari önem taşıyan akvaryum süs balıklarındandır. Bu türlerin optimum koşullar ve standart besleme şartlarında çeşitli klinik belirtiler göstererek öldüklerinin görülmesi üzerine, ölüm nedenlerinin araştırılarak, sahada karşılaşılabilecek problemlerin ve saha hassasiyetinin saptanması ile NAYKH'nın çözümüne katkı sağlamak amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

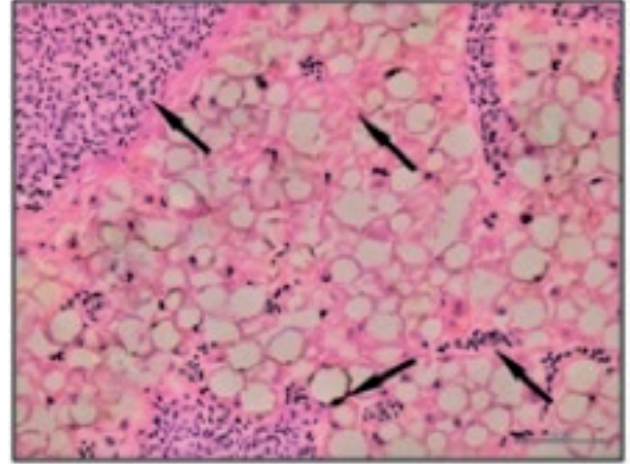
Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Kurulu tarafından desteklenen "İthal akvaryum balıklarının kültüre alınarak üretimi ve doğal koşullara adaptasyon düzeylerinin tespiti" konulu proje kapsamında, Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Su ürünleri ve Hastalıkları Anabilim Dalı bünyesindeki akvaryum ünitesinde 7 farklı türde süs balıklarından çeşitli klinik belirtiler gösterip, ölen balıkların ölüm sebeplerinin saptanması amacıyla inceleme yapıldı. Bu 7 türden sadece "*Labidochromis caeruleus*" ve "*Xiphophorus hellerii*" de benzer klinik semptomlar gözleendiğinden ve her iki türden 5'er tane alınıp, nekropsi yapılmıştır. Ölen balıklardan dış muayene sonrası karın boşluğu açılarak makroskopik gözlem yapılmıştır. Karaciğerde gözlemlenen değişikliklerden dolayı karaciğer bir bütün olarak çıkarılmış ve %10 Neutral Buffer Formalinde 48 saat süreyle fikzasyonu sağlanmıştır. Fikzasyon sonrası dokular akan çeşme suyunda gece boyunca yıkandıktan sonra rutin doku takibi işlemi (sırasıyla %70, %80, %90, %96 ve absolut alkoller, ksilol, ksilollü parafin, yumuşak parafin (46-48 °C'de erimiş) ve sert parafin (56-58 °C'de erimiş) gerçekleştirildi. Takip işlemi yapılan dokular parafin bloklara gömüldü ve her bir parafin bloktan rotary mikrotomla 4 mikron kalınlığında kesitler lamlara alındı. Kesitler etüvde 1 saat bekletildikten sonra 5'er dakika 3 kez ksilol ve ardından da %100, %96, %90, %80, %70'lik alkollerden geçirildi sonra Hematoksilin-Eosin (HxE) yöntemi ile boyandı (Nazan Deniz ve ark 2014) ve ışık mikroskopunda (Olympus BX51) incelendi. Gerekl görülen olgulardan fotoğraflar çekildi (Olympus DP12 Microscopic Digital Camera Systems).



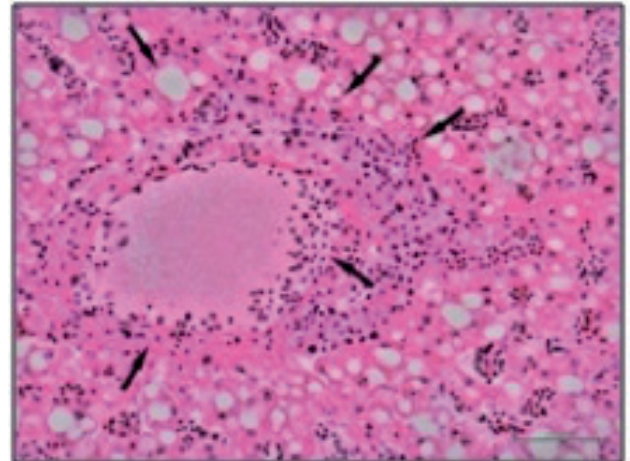
Şekil 1-2. "*Labidochromis caeruleus*" ve "*Xiphophorus hellerii*" balıklarında yağlı karaciğer görüntüsü

Bulgular

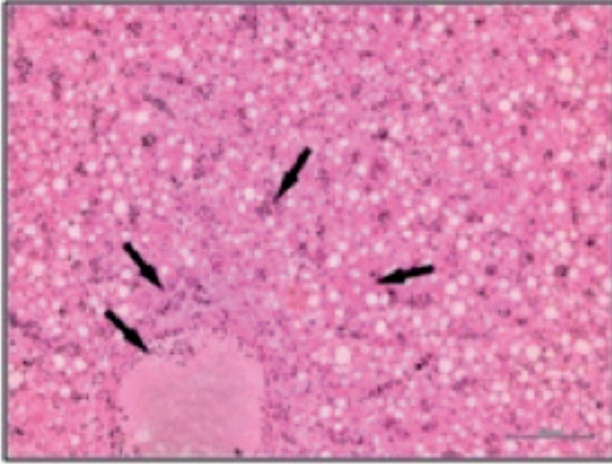
Klinik olarak "*Labidochromis caeruleus*" ve "*Xiphophorus hellerii*" balıklarında benzer klinik semptomlar gözlenmiştir. İştahsızlık, zayıflama, asites, su yüzeyine yakın yüzmeye, renkte koyulaşma ve matlaşma, solungaç hareketlerinde azalma, durgunluk, dengesiz yüzmeye, balıkların kendi aralarında dağınık olarak yüzdükleri gözleendi. Dış bakılarında balıklarda renkte koyulaşma, solungaçlarda solgunluk, ekzoftalmus, anüste prolapsus gözleendi. Karın boşluğu açıldığında ise içerisinin 1-2 ml kadar serosanginoz eksudatla dolu ve mukozaların anemik olduğu görüldü. Ayrıca mide ve bağırsakta



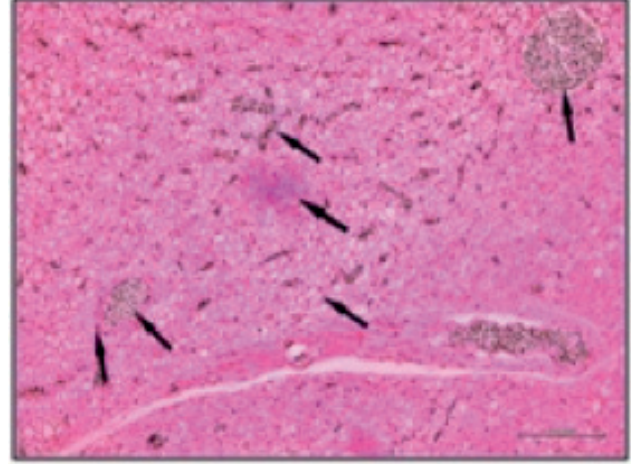
Şekil 3. Sarı prenses balığı karaciğeri histopatolojik bulgusu HxE40



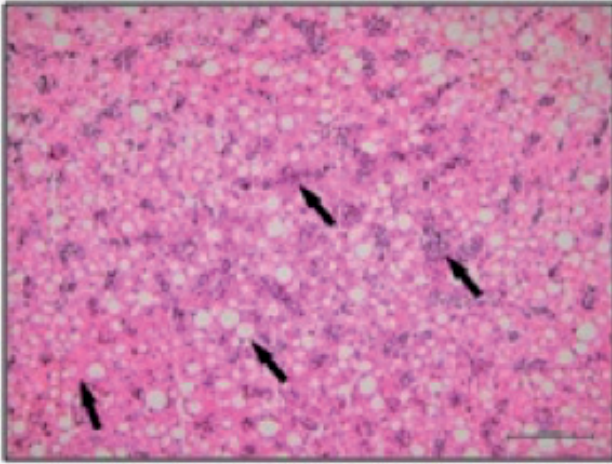
Şekil 4. Kılıç kuyruk balığı karaciğeri histopatolojik bulgusu HxE40



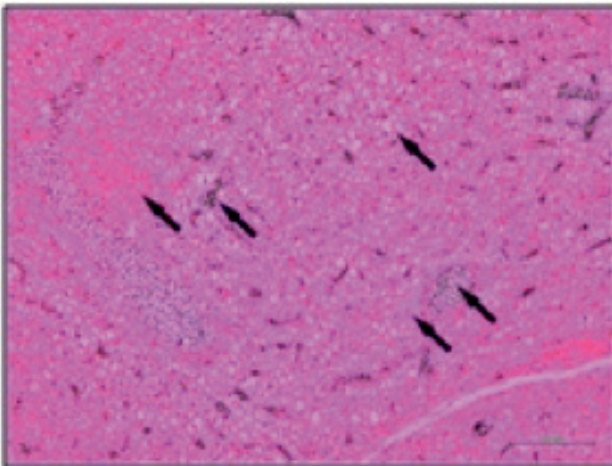
Şekil 5. Sarı prenses balığı karaciğeri histopatolojik bulgusu HxE20



Şekil 8. Kılıç kuyruk balığı karaciğeri histopatolojik bulgusu HxE10



Şekil 6. Kılıç kuyruk balığı karaciğeri histopatolojik bulgusu HxE20



Şekil 7. Sarı prenses balığı karaciğeri histopatolojik bulgusu HxE10

yer yer kanamaların olduğu ve lümenlerinde sarı mukoid bir salgı olduğu gözlemlendi. En dikkat çekici değişiklikler karaciğerde gözlemlendi. Karaciğer sarı-kahverengi bir renkte, aşırı büyümüş, gevrek ve kolayca parçalanabilecek bir kıvamda olup, kenarlarının kütleştiği ve yer yer peteşiyel kanamaların

olduğu gözlemlendi (Şekil 1 ve Şekil 2).

Mikroskopik bakıda ise, pek çok hepatosit sitoplazmasının makro ve mikro veziküler şeklinde, yağ damlacıkları ile dolu olduğu, bunlardan büyüklerinin neredeyse hücrenin tamamını doldurup, hücreyi aşırı genişlettiği ve hücre çekirdeğini hücre zarına doğru iterek, karyopiknoz yada karyoreksize uğrayan nükleer materyallerin koyu mavi veya mor noktacıklar şeklinde olduğu ancak hücre zarının bütünlüğünü korumakta olduğu gözlemlendi (Şekil 3,4). Karaciğer hücrelerindeki yağlı değişikliklerin santral venlerden lobülün ortalarındaki hepatositlere ve hatta periportal alanlara doğru yaygınlık gösterdiği izlendi (Şekil 5,6,7,8). Dağınık odaklar şeklindeki karaciğer hücrelerinin şişkin bir şekilde dejenere ve yer yer nekroze olduğu görüldü (Şekil 7,8). Steatoza eşlik eden yangısal reaksiyon neticesinde hücre infiltrasyonları damar çevrelerinden paransim dokuya doğru dağılım gösterdiği görüldü. Parankim dokudaki dejenere hepatosit çevrelerine infiltre olan Heterofil (balık nötrofil)'den ziyade ve çoğunluğunu mononükleer hücrelerin oluşturduğu lökosit infiltrasyonu gözlemlendi (Şekil 5,6). Hepatositler ile sinuzoidlerdeki disse aralıklarında eritrosit varlığı ile karakterize hemorajik alanlar çoğunlukla yangı hücreleri ile birlikte görüldü (Şekil 7,8). Yağlı değişikliklerin şiddetli olduğu ve yangısal değişikliklerin uzun sürdüğü bölgelerde yangı hücreleri ile beraber perisellüler fibröz bağ doku teşekkülü görüldü (Şekil 5,6). Damarlarda vaskülitte bağlı perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonları görüldü (Şekil 4,5). Damar lümenlerinde sağlam ve lize olmuş eritrosit, polimorf ve mononükleer hücreler ile dolgunluk gösterdiği bazı bölgelerde tromboz oluşturduğu görüldü. Birçok damardaki hiperemik durumla beraber vena portadaki eritrosit dolgunluğu oldukça şiddetliydi (Şekil 4,5,7,8).

Tartışma

Karaciğer, kemikli balıklarda anterior ve posterior olmak üzere iki loplulu, nispeten büyük bir organdır. Düz, koyu kahve renktedir. Sindirim kanalının kranial kısmının he-

men yanında yer alır. Karaciğerin anterior (sağ) lobu safra kesesini içerir. Posterior (sol) lobu da dalağı örter. Karnivor balıklarda genellikle kırmızımsı kahverengi renkte; herbivor balıklarda ise açık kahve renklidir. Ancak, yılın bazı dönemlerinde sarı veya beyaza yakın renkte olabilir. Bizim çalıştığımız tür olan *Labidochromis caeruleus*'un karaciğer genel yapısı diğer teleostlarla benzerlik göstermekteyse de, hepatositlerin merkezi ven etrafında düzgün kordonlar halinde izlenmesi birçok aynı türde görülmez (Üçüncü ve ark 2010, Karaman ve Dörücü 2017). Balıklarda karaciğer histolojisi, memeli karaciğer histolojisinden farklılıklar göstermektedir. Memelilerde karaciğer dokusunda lobüllere ayrılma, her lobülün köşesindeki bağ dokusunda (Kiernan aralığı) safra kanalının, hepatic arterin ve portal venanın bir kolu görülür. Memelilerdeki lobüller çok kenarlı şekilde olup, birbirinden bağ dokusu sınırları ile ayrılır, bu özellik balıklarda sadece alabalıklarda yalancı lobül şeklinde görülür. Bu yapı diğer balıklarda türlere göre değişiklik gösterir ve genellikle karışıktır. (Tanyolaç 1999, Genten 2009, Timur 2013).

Laboratuvarımızda yetiştirilen 7 tür balık içerisinde "*Labidochromis caeruleus*" ve "*Xiphophorus hellerii*" Balığı türlerinin benzer klinik semptomları, otopsi ve mikroskopik bakıları bizi non-alkolik steatohepatitis tanısına yöneltti. Her ne kadar karaciğer yağlanması kesin nedenleri ortaya konulmamış olsa da; balık karaciğer yağlanmasında bazı temel sebep sıralanmıştır. Bunlar; besleme hataları (kalitesiz yemlerle besleme, yüksek enerjili yemle besleme, dengesiz besleme, bazı mineral ve vitaminler bakımından yetersiz besleme v.s.), çevre kirliliği (toksik maddeler, bozuk yemler, ilaç v.s.) ve tür farklılığı gibi sebeplerdir (Roberts 2012, Zhenyu 2014). Beşeri hekimlikte yapılan çalışmalarda da benzer sebeplerle beraber enfeksiyöz etkenler stres, hormonal bozukluklar ve hipoksiye bağlı sebeplerin de karaciğer yağlanmasına yol açtığı bildirilmiştir (Kumar ve ark 2017). Aynı akvaryum ünitemizde yaşayan balıklar aynı piyasa yemleriyle ve standart yemlemeye tabi tutulmuşlardır. Bu durum söz konusu türlerimizin sağlıklı türlerimize göre karaciğer yağlanmasına daha hassas oldukları kanaatini aklı getirmiştir. Yemlerin uygun koşullarda muhafaza edilmesi, yeterli miktarda ve sıklıkta yemlemenin yapılması, gerekli vitamin mineral takviyelerinin yapılması durumları göz önüne alındığında yağlanma sebebinin bozuk yem, yetersiz ve aşırı yemlemeye bağlı olmadığını ortaya koymaktadır. Akvaryumdaki suyun ilaç/toksik maddelerden temiz olması, oksijenlenmenin yeterli yapılmış olması; toksikasyon, stres ve hipoksiye bağlı yağlanma ihtimallerini de ortadan kaldırmaktadır. Ayrıca toksikasyon gibi oksijen-enerji metabolizmasındaki bozukluklar ve ya doğrudan hipoksiye bağlı yağlanmalar daha çok ters kan akımı dolayısıyla artere yakın hepatositlerde steatoz oluşumuna yol açmaktadır. Bizim mikroskopik değerlendirmemizde yağlama sadece arter periferlerinde yoğunluk göstermemiş olması da yağlanmanın toksikasyon/hipoksiye bağlı gelişmediği kanısını destekl-

emektedir. Klinik bulgular değerlendirildiğinde her ne kadar enfeksiyon varlığını aklı getirmiş olsa da yapılan otopside sistemik olarak makroskopik bir değerlendirme yapıldığında viral ve bakteriyel enfeksiyon ve ya parazit enfestasyonuna işaret edecek spesifik herhangi bir patolojik bulguya da rastlanmamıştır. Mikroskopik incelemede karaciğerdeki yağlanmanın yanı sıra enfeksiyon durumunda baş gösteren yangısal hücre infiltrasyonlarının enfeksiyöz durumdan ziyade artan lipid peroksidasyon ve oksidatif stres reaktif ürünleri ile nekro-inflamasyona bağlı geliştiği düşünülmüştür. Çünkü bu bulguların aşırı yağlanmada daha sık gözlenmesi ve otopside septisemi durumunun görülmemesi bu düşüncemizi destekler niteliktedir. Balıkların, aşırı yağlı veya kolay sindirilebilir karbonhidratlardan zengin yüksek enerjili diyetlerle beslenmesinin karaciğerde yağlanmaya yol açtığı bildirilmiştir (Phillips ve ark1953, Roberts 2012). Çalışmamızdaki balık türlerinin de yağlanmanın genel sebepleri değerlendirildiğinde, yüksek enerjili yem tüketimine bağlı olarak karaciğerlerinde yağlanma oluştuğu düşüncesini aklı getirmiştir. Alabalıklarda yağlı değişikliklere ilişkin olarak ortaya çıkan yavaş hareket, dağınık olarak yüzeye doğru yüzmeye, renklerinin koyulaşması ve matlaşması, anemi, ekzoftalmus gibi klinik bulgular taşıdıkları, otopsielerinde ise solungaçların solgun, karınlarında eksudat birikiminin varlığı, karaciğer renginin sarardığı ve büyümüş olduğu bildirilmiştir (Korkut ve ark 2002). Çalışma materyallerimizde de gözlenen klinik ve mikroskopik bulgular alabalıklarda gözlenen yağlı karaciğer hastalığının bulguları ile uyum göstermektedir. Balıklarda karaciğer yağlanmasında erkek ve yaşlı balıkların, dişi ve genç balıklara göre daha duyarlı oldukları bildirilmiştir. Karaciğer yağlanması ciddi bir hastalık olup, önemli fonksiyonlar yüklenen bu organın bozukluğunda kan yapımı aksamakta immün sistem zayıflamaktadır. Bu nedenle yağlanmaya sebep olan çeşitli çevresel faktörlerle ilgili tedbir alınmalı, yüksek enerjili yemlemelerden kaçınılmalı ve beslemede vitamin mineral takviyesi yapılmalı (Karaman ve Yüngül 2014). Aksi takdirde organizma direncinin azalması ile çeşitli hastalıkların oluşumuna davetiye çıkacaktır. Hedef türlerimizin tümünün de ergin ve çoğunluğunun erkek olması (*Labidochromis caeruleus* (4/1), *Xiphophorus hellerii* (3/2)) bu kanıyı destekler niteliktedir. Ancak cinsiyet ve tür duyarlılığı bildirilmiş olmasına rağmen söz konusu olan bu her iki türümüzde de ne basit steatoz ne de steatohepatitis olgusu bildirilmemiştir. Genellikle yağlı değişikliklerin mikroskopik incelenmesi amacıyla Sudan-I, Sudan-II, Sudan Black ve OilRed boyama yöntemleri başarılı sonuçlar vermekle beraber biz, benzer çalışmalarda yaygın olarak kullanılan, HxE boyama yöntemini kullandık, yağlı değişikliklerde yuvarlak ve ovoid şekilli, kenarları keskin olan bu oluşumların hücre çekirdeğini hücre zarına sıkıştırıyor olması gözlemimizde glikojen birikimi ve hidropik dejenerasyonundan ayırımı sağlamaktadır. İncelenen iki türün makroskopik bulguları arasında ciddi farklar bulunmamaktadır. Her ikisinde de sarı kahverengi renk değişimi ve büyüme görülmüştür. Mikroskopik bulgularımız daha önceden

bildirilen (yağ vakuelleri, yangı hücreleri ve fibrozis) mikroskopik bulgularla uyum göstermektedir (Takashi ve Fukusato 2014). Mikroskopik olarak ise yine iki tür arasında önemli farklar bulunmasa da Sarı Prenses Balığında yağlanmanın daha şiddetli olduğu Kılıç Kuyruk Balığında da yangı hücrelerinin daha ön planda olduğu gözlemlendi.

Dünya çapında yaygınlığı nedeniyle, insan NAYKH 'sinin histopatolojisini ve patofizyolojisini yansıtan çeşitli hayvan modelleri geliştirilmiştir. Uygun hayvan modellerinin seçimi, bu alanda karşılaşılan temel soruların başında gelmektedir. İnsanlardaki NAYKH 'nın altında yatan, hâlâ bilinmeyen mekanizmaların açıklanabilmesi için Zebra balığı (Daniorerio) ve medaka (Oryziaslatipes) gibi küçük balık modellerinin, yararlı ve önemli olduğu, kolaylıkla manipüle edilebilen bu organizmaların, hastalığın tedavisi için çeşitli kimyasal bileşiklerin terapötik etkinliğinin değerlendirilmesinde kullanılmasının önemli avantajlar sağladığı ve moleküler patojenin çözülmesinde küçük balık modellerinin kullanımının önemli olduğu bildirilmektedir.

Kemirgen modelleri nispeten büyük bir vücut boyutuna sahiptir ve hayvancılık işletme maliyetleri oldukça yüksektir. Ayrıca, karaciğerlerini anormallikler açısından incelemek için çok sayıda kemirgen feda edilmeli ve iç organları cerrahi olarak izole edilmelidir. Bu gereksinim, çoklu hayvanlarda karaciğer durumunun eş ve gerçek zamanlı, sürekli olarak izlenmesine izin vermemektedir. Zebra balığı (Daniorerio) ve medaka (Oryziaslatipes) gibi küçük balıklar kısa bir üretim süresine sahip olduklarından verimlidir ve küçük boyutları nedeniyle barınma ve günlük bakım maliyeti düşüktür. Fakat karaciğer biyolojisini incelemek için zebrafish kullanmanın teknik avantajları olmasına rağmen farklı karaciğer hastalıklarının hangi yönlerinin balıklarda modellenebileceğini tanımlamak için zebrafish karaciğer homeostazisi ve fizyolojisi hakkında daha derin bir bilgi edinilmesi gerekliliğini belirlemektedirler. (Asaoka ve ark 2013, Pham ve ark 2017, Lau ve ark 2017).

"Labidochromis caeruleus" ve "Xiphophorus hellerii" türlerinin çok yaygın olması, barınma ve günlük bakım maliyetlerinin düşük olması ayrıca yağ dejenerasyonun bu denli yaygın lokalizasyonla ve ilerlemiş safhada net bir şekilde karaciğerdeki yağlanmaları histopatolojik incelemeye imkan tanıyor olması bu iki türün de karaciğer yağlanması için yapılan modellemelerde Zebra balığı (Danio rerio) ve medaka (Oryzias latipes) gibi farklı ve yeni bir model balık olabileceğini düşündürmektedir.

Öneriler

Söz konusu balık türlerin yapılan klinik gözlemler, nekropsi bulguları ve histopatolojik incelemeler ışığında hücrelerde makro ve mikro veziküler yağ damlacıklarının varlığı ve bu yağ dejenerasyonu ile beraber yangısal reaksiyonun görülme-

si nedeniyle non alkolik steatozhepatitis tanısı konulmuştur. Tüm balıklar için standart besleme ve bakımın yansırı optimum yetiştirme koşullarının sağlanması sonucunda diğer türlerin aksine bu iki türde benzer klinik bulgular ve patolojik değişiklikler gözlenmiştir. Bu durum her iki türünde diğer türlere göre piyasada yemlere karşı daha duyarlı olduklarını göstermiştir. Olgu materyalimizi oluşturan her iki türümüzde de ne basit steatoz ne de non alkolik steatozhepatitis vakası bildirilmemiştir. Bu dikkat çekici durum aynı zamanda yağ dejenerasyonunun bu denli yaygın lokalizasyonla ve ilerlemiş safhada net bir şekilde karaciğerdeki yağlanmaları histopatolojik incelemeye imkan tanıyor olması bu iki türün de karaciğer yağlanması üzerine yapılacak çalışmalarda model organizma olabileceği kanaatine varırmıştır. Ayrıca karaciğer yağlanması önemli bir metabolik hastalık olup, bunun önlenmesi için optimum yaşam koşullarının sağlanması ve uygun besleme yapılması gerekmektedir.

Kaynaklar

- Arda M, Selçuk S, Sarıeyyüpoğlu M, 2005. Balık hastalıkları, II. Baskı, Medisan Yayın serisi, 61, Ankara, Türkiye, s; 230.
- Angulo P, 2002. Non alcoholic fatty liver disease. New England Journal of Medicine, 346(16), 1221-1231.
- Asaoka Y, Terai S, Sakaida I, Nishina H, 2013. The expanding role of fish models in understanding on-alcoholic fatty liver disease. Disease models&mechanisms, 6(4), 905-14.
- Balian EV, Lévêque C, Segers H, Martens K, 2008. Fresh water animal diversity assessment. Springer Science& Business Media.
- Carter-Kent C, Zein N N, Feldstein AE, 2008. Cytokines in the pathogenesis of fatty liver and disease progressi on to steatohepatitis: implications for treatment. Am J Gastroenterol, 103(4), 1036-1042.
- Çolak Y, Tuncer İ, 2010. Nonalkolik karaciğer yağlanması ve steatohepatit. İst Tıp Fak Derg, 73(3),85-89.
- Esmaili HR, Gholamifard A, Teimori A, Baghbanı S, Coad BW, 2010. *Xiphophorus hellerii* heckel, 1848 (*Cyprinodontiformes Poeciliidae*), a newly introduced fish recorded from natural fresh waters of Iran. Journal of Applied Ichthyology, 26(6), 937-938.
- Farrell GC, Larter CZ, 2006. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosist ocirrhosis. Hepatology, 43(1), 99-112.
- Genten F, 2009. Atlas of fish histology. CRC Press.92.
- Gül Ş, Belge-Kurutaş E, Yıldız E, Şahan A, Doran F, 2004. Pollution correlated modifications of liver antioxidant systems and histopathology of fish (Cyprinidae) living in Seyhan Dam Lake, Turkey. Environment International, 30(5), 605-609.
- Kara M, Erdal M, 2011. Sıklığı artan bir halk sağlığı sorunu: nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı. Taf Prev Med Bull, 10(5), 593-604.
- Karaman Z, Dörücü M, 2017. Balıklarda bağışıklık sistemi organları ve histolojisi. Int J Pure Appl Sci, 3(1), 65-74.

- Karaman Z, Yüngül M, 2014. Balıklarda beslenme hastalıkları ve tedavi yöntemleri. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 2, 23-28.
- Korkut A Y, Kop A, Demirtaş N, Cihaner A, 2007. Balık beslemede gelişim performansının izlenme yöntemleri. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 24(1-2), 201-205.
- Korkut A Y, Hoşsu B, Gültepe N, 2002. Balıklarda beslenmeye bağlı hastalıklar. E. Ü. Su Ürünleri Dergisi, 19(3-4), 555-564.
- Kumar V, Abbas AK, Aster JC, 2017. Robbins basic pathology e-book. Elsevier Health Sciences, 652-656.
- Lau, JK, Zhang X, Yu J, 2017. Animal models of non-alcoholic fatty liver disease: current perspectives and recent advances. J Pathol, (241), 36-44.
- Masumoto T, Hardy RW, Stickney R R, 1991. Gillipid metabolism in pathogenic acid-deficient rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). IV. In International Symposium on Fish Nutrition and Feeding, 24-27.
- Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ, 1999. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. Gastroenterology, 116(6), 1413-1419.
- Nazan Deniz YÖN, Akbulut C, Abar M, Kayhan FE, Kaymak G, 2014. Histological changes in the liver of the sword tail fish, *Xiphophorus helleri*: (Pisces poeciliidae) after exposure to deltamethrin. E Int JA Sci Tec.1(3).
- Pham D H, Zhang C, Yin C, 2017. Using zebra fish to model liver diseases-where do we stand. Current patho biology reports, 5(2), 207-221.
- Phillips Jr AM, Lovelace FE, Brockway DR, Balzer Jr GC, 1953. The nutrition of trout. NY Cons Dep Fish Res Bull, 17-31.
- Roberts RJ, 2012. Fish pathology. John Wiley&Sons, 405-406.
- Sarıyüyoğlu M, 2009. Balıklarda beslenme hastalıkları ders notları. Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi. Elazığ.
- Sonsuz A, Baysal B, 2011. Karaciğer yağlanması ve non-alkolik steatoz hepatit. Güncel Gastroenteroloji, 15(2), 98-105.
- Sonsuz A, 2007. Nonalkolik karaciğer yağlanması. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi, 58, 91-98.
- Takahashi Y, Fukusato T, 2014. Histopathology of non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis. World J Gastroenterol, 20(42), 15539-15548.
- Tanyolaç A, 1999. Özel histoloji. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi. Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd. Şti. Ankara, 213s.
- Timur G, 2013. Balık histolojisi ve embriyolojisi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yayın No:15. İstanbul, 275s.
- Üçüncü Sİ, Ergen G, Önen Ö, Tekkan BK, Üreten M, Boz E, Gökçe B, 2010. Dioktiladipat'ın (DOA) *Labidochromis caeruleus* Fryer, 1956 (Cichlidae Teleostei) karaciğer histolojisi üzerindeki etkileri. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 16, 197-203.
- Yanong RP, 1999. Nutrition of ornamental fish. Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice, 2(1), 19-42.
- Zhenyu D, 2014. Causes of fatty liver in farmed fish: a review and new perspectives. Journal of Fisheries of China, 9, 53.