Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences
20 (1996) 267-276
© TÜBİTAK

Farelerde Deneysel Pamuk Tohumu Toksikasyonu Üzerine Patolojik Araştırmalar

Erkan KARADAŞ
Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi : 27 / 6 / 1995

Özet : Bu çalışmada, deneysel olarak, farelerde pamuk tohumu toksikasyonu oluşturuldu. Çalışmada toplam 65 adet fare kullanıldı. Kontrol grubu (Grup I, % 0) ile birlikte 5 gruba ayrılan fareler % 10 (Grup II), % 15 (Grup III), % 20 (Grup IV) ve % 25 (Grup V) oranlarında öğütülüp elenmiş pamuk tohumları içeren rasyonla 17 hafta süre ile beslendi. Deneme süresince canlı ağırlık artışındaki yavaşlama ve doğum olaylarının şekillenmemesi en önemli klinik bulgulardı. Total ölüm oranı % 21 olarak hesaplandı. Makroskobik olarak, kaşeksi ile birlikte pleural, perikardial ve peritoneal kavitelerde seröfibrinöz eksudasyon ve midedeki alimenter dilatasyon ilk bakıda dikkati çeken lezyonlardı. Akciğerlerde şiddetli konjesyon ve ödem, tracheada köpüklü sıvı birikimi, kalpte bilateral ventriküler dilatasyon ve miyokard dejenerasyonu, kataral enteritis ile birlikte mide ve bağırsak mukozasında diffuz eroziv ve ülseratif odaklar, karaciğer, dalak ve böbreklerde konjesyon, ayrıca karaciğerde fokal nekrozlar saptanan diğer lezyonlardı. Testisler ödematoz, soluk, yumuşak görünümde idi. Mikroskobik olarak da makroskobik lezyonlara ilişkin bulgular gözlendi. Karaciğer ve dalaktaki diffuz hemosiderozis tablosu ile testiküler dejenerasyon toksikasyonun en önemli mikroskobik bulguları olarak değerlendirildi.

Anahtar Kelimeler: Pamuk tohumu, Fare, Morfoloji

Pathological Evaluations of Experimental Cottonseed Poisoning in Mice

Abstract: In this study, cottonseed poisoning was induced experimentally in mice. A total of 65 adult mice were used. Mice were divided into five groups one of which served as the control group. Each group, composed of 13 mice, were fed on ground and sifted cottonseed added to the standart ration in the ratio of 0 % (Group I, Control group), 10 % (Group II), 15 % (Group III), 20 % (Group IV) and 25 % (Group V) for 17 weeks. The most important clinical findings were the reduced growth rate and no birthing in female mice. Total death rate in all groups was calculated as 21 %. Macroscopically, primer lesions were serofibrinous exudation in pleural, pericardial and peritoneal cavities along with emaciation and fullness of stomach (alimentary dilatation). Secondarily, severe edema and congestion of the lungs, an accumulation of frothy fluid in the trachea. Myocard degeneration and marked bilateral dilatation of ventricles of the heart, diffuse focal ulcers and erosions on the mucosa of the stomach and intestine along with catarrhal enteritis were noticed. There were congestion of the liver, spleen and kidney. In addition, focal necrosis of the liver was also found. The testes were enlarged by edema and had soft and flabby appearence. In all the organs, microscopic changes connected to macroscopic lesions were also observed. Moreover, manifestations of diffuse hemosiderosis in the liver and the spleen along with severe common testicular degeneration were recorded as the most important microscopic findings of the toxication.

Key Words: Cottonseed, Mice, Morphology

Giriş

Malvaceae familyasının gossypium (G) türünde yeralan pamuk, başka tekstil olmak üzere, birçok endüstri alanında hammadde olarak kullanılmakta, tohumlarının küspesi de yem sanayiinde bitkisel protein kaynağı olarak değerlendirilmektedir (1-5). Beş ayrı türü (G. hirsutum, G. barbadense, G. herbaceum, G. peruvianum ve G. arboreum) bildirilen pamuğun tohumlarında, toksik bir bileşik olan gossipol ile birlikte diğer bazı glikozitler de identifiye edilmiştir. Bu glikozitlerin, özellikle tek mideli hayvanlarda, sebep olduğu toksikasyonlar da "gossipol toksikosis" olarak tanımlanmıştır (6-8).

Evcil hayvanlarımızda gossipol toksikasyonlarına, başta kanatlılar ve domuzlar olmak üzere tek mideli hayvanların ve genç ruminantların duyarlı oldukları bildirilmiştir (9-14). Domuz (12), köpek (13) ve genç sığırlarda (14-16) gerek deneysel gerekse doğal gossipol toksikosis olaylarında, klinik olarak iştahsızlık, kaşeksi, gastroenteritis, şiddetli dispnö, terminal konvülsiyonlar ve ölümler; broiler piliçlerde bunlara ilaveten canlı ağırlık artışında belirgin bir yavaşlama (9, 10) ve kursak dilatasyonu (9) en önemli bulgular olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, gossipol'un kanatlılarda ve ratlarda reproduktif sistem üzerinde antifertilite özelliği de vurgu-

lanmıştır (17-19). Makroskobik olarak da vücut boşluklarında ve perikardda seröfibrinöz eksudasyon, akciğerlerde ödem ve tracheada köpüklü sıvı birikimi; akciğer ve karaciğerde daha şiddetli olmak üzere dalak, böbrek ve lenf düğümlerinde konjesyon, karaciğerde fokal nekrozlar, kalpte ventriküler dilatasyon ve miyokard dejenerasyonu kaydedilmiştir. Bunlara ilaveten domuz ve köpeklerde mide ve bağırsak, piliçlerde de kursak ve proventrikulus mukozasında fokal ülserlerin varlığından sözedilmiştir (9, 12-15).

İnceleyebildiğimiz kadarıyla, ülkemizde broiler piliçler dışında (9) gerek evcil, gerekse deney hayvanlarında pamuk tohumu toksikasyonu ile ilgili patolojik bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışma ile, pamuk tohumlarının farelerde hangi oranlarda toksikasyona yol açıp açmadığını, ayrıca şekillenen toksikasyonda organ ve dokularda ne gibi morfolojik değişikliklerin meydana gelebileceğini saptamak, evcil hayvanlarımızda toksikasyonun teşhisine ışık tutmak ve tedaviye yönelik çalışmalara zemin hazırlamak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada kullanılan toplam 65 adet SWR-İsviçre türü beyaz fare Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden sağlanmıştır. Yem olarak standart fare yemi kullanılmıştır. Yeme belirli oranlarda ilave edilen pamuk tohumu (G. hirsutum) çekirdeği ise Elazığ Çukobirlik Tarım Satış Kooperatifi'nden sağlanan pamuk tohumlarının öğütülüp elenmesi ile (4 mm gözenekli elekte) elde edilmiştir. Fareler bir hafta boyunca standart fare yemi ile beslenmişlerdir. Bu süre sonunda erkek ve dişi birlikte olmak üzere 13'erli 5 gruba (her grupta 10 dişi, 3 erkek fare) ayrılan farelerin yemlerine pamuk tohumu çekirdeği sırasıyla % 0 (I. grup - kontrol grubu), % 10 (II. grup), % 15 (III. grup). % 20 (IV. grup) ve % 25 (V. grup) oranlarında ilave edilmiştir. Yedirme denemesi 17 hafta boyunca devam etmiştir. Denemenin başlangıcında ve deneme süresince 3 haftada bir olmak üzere, bütün gruplardaki farelerin birgün boyunca total olarak tükettikleri yem ve su miktarları ile atılan dışkı miktarları tartılmıştır. Yine 3 haftada bir olmak üzere farelerin total canlı ağırlıkları ile birlikte bu değerlerin standart sapmaları ve denemenin sonunda kazanılan % canlı ağırlık artışları (denemenin başlangıcına oranla) hesaplanmıştır. Kontrol grubu ile deneme grupları arasındaki istatistiksel farkın ortaya konulması için "SPSS for Windows Release" proğramında tüm verilere T testi uygulanmış ve probability (P) değerleri saptanmıştır (20).

Denemenin başlangıcından itibaren fareler sürekli gözlenmiş, toksikasyonun klinik belirtileri ve süresi kaydedilmiştir. Denemenin bitiminde, yaşayan fareler kontrol grubu farelerle birlikte eter ile euthanasie yapılmıştır.

Gerek deneme süresince ölen, gerekse denemenin sonunda öldürülen farelerin sistemik nekropsileri yapılarak akciğer, kalp, mide, ince ve kalın bağırsaklar, pankreas, karaciğer, dalak, böbrekler ve testisler ile serebrum ve serebellumdan ayrıca gluteal kaslar (m. gluteus superficialis ve m. gluteus medius), nervus işiadikus ve deriden (sırt ve but bölgesi) alınan doku örnekleri % 10'luk tamponlu nötral formalin solüsyonunda tespit edilip, bilinen klasik işlemlerden geçirildikten sonra, hazırlanan parafin blokları 5 mikrona ayarlanmış mikrotomda kesilip, Hematoksilen Eozin (H.E.) ile, gerekli görülenler van Gieson ve Prussian Blue Reaction yöntemlerine göre boyanmışlardır (21).

Çalışmada, pamuk tohumu çekirdeğininin kaba yem analizi Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Ankara İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü'nde Weende Yem Analiz Yöntemi ile yapılmıştır (22).

Bulgular

Denemenin 6, 9, 12 ve 15. haftalarında yapılan tartımlarda, klinik olarak sırasıyla; V, IV, III ve II gruplarda başta yem ve su tüketimlerinde, buna paralel olarak da atılan dışkı miktarlarında azalmalar gözlendi (Tablo 1). Deneme gruplarının tamamında saptanan bu azalmalar istatistiksel yönden kontrol grubu ile karşılaştırıldığında V. grup için denemenin 6., IV. grup için 9., III. grup için 12. ve II. grup için de 15. haftalarında önemli ($P<0.05$) bulunurken, söz konusu haftalardan itibaren denemenin sonuna kadar yapılan diğer tartımlarda oldukça önemli ($P<0.001$) olarak değerlendirildi. Denemenin 6. haftasına kadar gerek yem ve su tüketiminde, gerekse atılan dışkı miktarları yönünden deneme grupları ile kontrol grubu arasında istatistiksel bir fark ($P>0.05$) saptanmadı. Deneme gruplarında 6. haftadan başlamak üzere gözlenmeye başlayan yem ve su tüketimindeki azalmalarla birlikte farelerin total canlı ağırlık artışlarında yavaşlamalar tespit edildi (Tablo 2). Canlı ağırlık artışlarındaki bu fark istatistiksel olarak; III., IV. ve V. gruplar ile kontrol grubu arasında denemenin 12. haftasına kadar önemli ($P<0.05$), 15. ve 17. haftalarda ise çok önemli ($P<0.001$) bulundu. Yine II. grup ile kontrol grubu arasında canlı ağırlık artışındaki istatistiksel fark 6. haftaya kadar önemsiz ($P<0.05$) olarak değerlendirilirken, 9. haftadan itibaren tüm deneme süresince önemli ($P<0.05$) olarak yorumlandı.

Tablo 1. Deneme Süresince Total Olarak Tüketilen Yem ve Su ile Atılan Dışkı Miktarlarını Gösterir Tablo.*

	Gruplar	Deneme Başlangıcı	3. Hafta	6. Hafta	9. Hafta	12. Hafta	15. Hafta	17. Hafta
Tüketilen Total Yem (gr)	I. Grup	18.74	22.30	26.70	29.10	31.50	34.60	38.45
	II. Grup	18.50	21.30	23.28	25.62	28.00	24.20	20.62
	III. Grup	18.10	21.24	22.00	22.90	19.80	17.68	15.44
	IV. Grup	18.60	21.00	22.14	19.76	17.54	16.40	14.65
	V. Grup	18.20	20.86	18.52	17.24	15.60	13.46	12.84
Tüketilen Total Su (ml)	I. Grup	9.75	12.50	15.80	16.40	17.10	18.50	20.15
	II. Grup	9.80	12.45	14.50	14.75	17.20	15.50	14.20
	III. Grup	9.25	12.75	13.75	14.80	14.15	13.50	12.10
	IV. Grup	9.50	12.10	13.60	13.25	12.50	12.30	11.25
	V. Grup	9.60	12.40	11.80	11.10	11.00	9.75	9.40
Atılan Total Dışkı (gr)	I. Grup	5.81	9.62	10.46	12.82	13.74	14.10	14.86
	II. Grup	5.46	7.80	9.56	10.50	11.42	11.00	9.58
	III. Grup	5.60	7.76	9.34	10.28	9.78	9.16	8.68
	IV. Grup	5.74	7.44	8.20	7.66	7.10	6.87	6.22
	V. Grup	5.56	7.14	7.00	6.80	6.24	5.40	5.10

* : Bir günlük ortalama değerler.

Tablo 2. Deneme Süresince Haftalık Canlı Ağırlık Artışları ile Deneme Sonunda Kazanılan % Ağırlık Artış Oranları Gösterir Tablo (Ortalama Değerler).

Gruplar	TOTAL CANLI AĞIRLIKLAR (Gr)							% Ağırlık Artışı
	Deneme Baş.	3. Hafta	6. Hafta	9. Hafta	12. Hafta	15. Hafta	17. Hafta	
I. Grup (Kontrol)	18.26±2.12	22.50±2.24	25.80±2.54	27.76±2.82	29.40±3.17	34.82±3.82	42.62±4.26	227.92
II. Grup (% 5)	18.26±2.14	22.10±2.68	22.76±2.52	23.40±2.62	24.10±2.86	26.40±2.92	28.30±3.17	161.16
III. Grup (% 10)	18.10±2.21	21.28±2.24	21.90±2.26	22.70±2.42	23.64±2.58	25.54±2.72	27.38±3.34	143.35
IV. Grup (% 15)	18.32±2.24	21.14±2.40	21.76±2.56	21.92±2.62	22.86±2.68	23.42±2.82	26.50±2.94	137.16
V. Grup (% 20)	18.36±2.10	20.10±2.00	21.16±2.38	21.70±2.46	22.24±2.78	22.66±2.96	23.14±3.12	126.03

Çalışmada standart fare yemine ilave edilen G. hirsutum'un yem analizinde yüzde olarak; su (4.36), kuru madde (95.64), ham yağ (38.86), ham protein (31.28), ham selüloz (9.16), ham kül (5.57) ve azotsuz öz madde (12.77) oranlarında hesaplandı.

Klinik Bulgular

Deneme gruplarında 6. haftadan itibaren yem ve su tüketimindeki azalma ve buna paralel olarak da canlı ağırlık artışlarında yavaşlama dikkati çeken en belirgin klinik bulgu idi. Canlı ağırlık artışındaki yavaşlama IV. ve V. grup farelerde daha da belirgindi (Şekil 1). Çalışmada, tüm deneme gruplarında toplam 14 farede kronik toksikasyon belirtileri gözlendi ve bu farelerin tamamı öldü. Deneme süresince günlere göre gruplarda şekillenen ölümler ve bunlara ilişkin % ölüm oranları ile deneme gruplarındaki total ölüm oranı hesaplanarak sonuçlar Tablo 3'de verilmiştir.

Bütün deneme gruplarındaki ölümler klinik belirtilerin başlamasından sonraki 36-72. saatler içinde meydana geldi. Farelerde başlangıçta aşırı duyarlılık, devamlı hareketlilik ve uyarımlara karşı reaksiyonlar gözlendi. Bunu takiben hareketlerde isteksizlik, depresyon, gözlerde durgunluk ve donuk bakışlar, biraraya kümelenme, sırtta kamburlaşma ile tüylerin kabarık, karışık ve kirli kahverengimsi, mat bir görünüm aldığı dikkati çekti. Bu klinik belirtiler ölümden 4-10 saat önce daha şiddetli idi. Bu dönemde şiddetli dispnö, terminal konvülsiyonlar, sallantılı yürüyüş, arka ayaklarda felç ve bunu takiben yere uzanma, sık ürinasyon, zayıf refleksler, koma ve tonik nöbetler gözlenen önemli klinik bulgulardı.



Şekil 1. Kontrol Grubu ile Birlikte Deneme Gruplarının Genel Klinik Görünümleri (8. Hafta; a: I. Grup-Kontrol Grubu, b: III. Grup, c: V. Grup).

Tablo 3. Gruplarda Şekillenen Ölüm Olayları ve % Ölüm Oranları ile Total Ölüm oranını Gösterir Tablo.

Gruplar	DENEME GÜNLERİ										% Ölüm Oranları
	20	30	40	50	60	70	80	90	100	120	
I. Grup											
II. Grup							+				7.69
III. Grup				+	+			+			23.07
IV. Grup				+	+	+		+			30.76
V. Grup			+++	++	+						46.15
Total ölüm oranı											21.53

+ : Bir ölüm olayı

Yedirme denemesi süresince kontrol grubuna ait dişi farelerde 3-4 ayrı doğum olayı (her batımda 8-10 yavru) gözlenirken, deneme gruplarına ait dişi farelerde hiçbir doğum olayı şekillenmedi.

Morfolojik Bulgular

Bütün deneme gruplarında benzeri morfolojik değişimler gözlenmekle beraber, bu morfolojik lezyonların şiddetinin yeme ilave edilen pamuk tohumu çekirdeği miktarı ile doğru orantılı olarak arttığı tespit edilmiştir.

Makroskobik Bulgular

Makroskobik lezyonların şiddetinin klinik belirtilerle ölen farelerde, deneme sonunda öldürülen farelere oranla daha şiddetli olduğu gözlendi. Lezyonların akciğer, kalp, mide, bağırsaklar, karaciğer, dalak ve böbrekler ile testislerde lokalize olduğu dikkati çekti.

Gerek deneme süresince ölen, gerekse denemenin sonunda öldürülen farelerde ilk bakıda dikkati çeken bulgu, kaşektik bir görünüm ile birlikte pleural, perikardial ve peritoneal boşluklarda hafif bulanık, mat görünümlü seröfibrinöz bir içeriğin varlığı idi. Ölen farelerde akciğerlerde daha şiddetli konjesyon ve ödem; tracheada köpüklü bir sıvı gözlendi. Bilateral ventriküler dilatasyonun şekillendiği kalp konik görünümde olup, apeks-bazis uzunluğu 1.5-1.8 cm (kontrol 0.6-0.8 cm), sağ ve sol ventriküler endokardiyal çapı da 1.0-1.2 cm (kontrol grubu 0.4-0.6 cm) arasında ölçüldü. Ayrıca ventrikülüslerin pıhtılaşmış kan ile dolu oldukları ve duvarlarının incelmiş olduğu gözlendi. Özellikle sulkus koronaryus ve sulkus longitudinalisler boyunca yaygın subepikardiyal ve yer yer subendokardiyal kanamalar ölen farelerde daha şiddetli idi.

Ceviz büyüklüğüne varan bir hacimde olan midenin ortalama olarak, uzun ekseni (kardiya pyloris) 5.8-6.2 cm (kontrol grubu 2.0-2.2 cm), en geniş bölümünde enine ekseni de 1.4-1.8 cm (kontrol grubu 0.6-0.8 cm) olarak ölçüldü. Midedeki bu görünüm alimenter dilatasyon olarak değerlendirildi (Şekil 2). Mide mukozasında olguların tamamına yakınında ince kum taneleri



Şekil 2. Midede Şiddetli Alimenter Dilatasyon (9. Hafta, IV. Grup).

serpiştirilmiş tarzda erosiv ve 0.5-1.0 mm. çapında fokal ülseratif odaklara rastlandı. Mukoza sindirilmemiş pamuk tohumu çekirdeklerinin de bulunduğu koyu yeşilimtrak renkte bir içerik ile kaplı idi.

Kataral enteritis tablosuna benzer makroskobik lezyonların şekillendiği bağırsakların serozası hafif hiperemik, mukozası ise yer yer benekli veya çizgili bir biçimde hemorajik, ödematoz görünümde idi. Bağırsakların lumeninde midede olduğu gibi, partiküller halinde, sindirilmemiş pamuk tohumu çekirdekleri ile birlikte mukuslu, jelatinöz, yapışkan, hafif sulu, yeşilimtrak renkte bir içerik mevcuttu. Dördüncü ve V. gruba ait bir kısım olgularda bağırsak mukozasında daha çok erosiv ve tek tük ülseratif odakların varlığı dikkati çekti.

Karaciğer konjesyone, şişkin ve büyümüş bir görünümde idi. Hem diaframatik hem de viseral yüzlerinde subkapsüler olarak fokal hemorajik ve nekrotik odaklara rastlandı. Bu nekrotik odaklar organın kesit yüzünde de dikkati çekti. Dört olguda (IV. gruba ait 1, V. gruba ait 3 fare) karaciğer ikterik bir görünümde idi. Safra kesesi dolgun ve duvarı ödemliydi.

Dalak ve böbreklerde konjesyonun dışında makroskobik bir bulguya rastlanmadı. Altı olguda (III. gruba ait 1, IV. gruba ait 2 ve V. gruba ait 3) dalak atrofik bir görünüm kazanmıştı.

Testisler bilateral olarak hafif ödematoz olup, yumuşamış, gevşek, kesit yüzleri de soluk renkte ve pürüzlü bir görünüm almıştı.

Mikroskobik Bulgular

Mikroskobik lezyonların şiddeti gruplar arasında farklı olmakla birlikte, aynı grupta gerek deneme süresince ölen, gerekse deneme sonunda öldürülen farelerde kısmen benzerdi.

Akciğerlerde dikkati çeken en belirgin bulgu şiddetli konjesyondu. Bütün kapillar damarlarda genişleme ile birlikte intravasküler hemoliz ve damar duvarında kalınlaşmalar tespit edildi. Alveollerin lumeni genişlemiş, içleri eritrositler ve pembe eozinofilik ödem sıvısı ile doluydu. İnteralveolar septumlar hafif ödemli ve infiltre olan mononuklear hücrelerle kalınlaşmış görünümde idi. Denemenin sonunda öldürülen IV. ve V. grup farelerde, bazı alveoler makrofajların hemosiderin ile yüklü oldukları (kalp hatası hücreleri) tespit edildi.

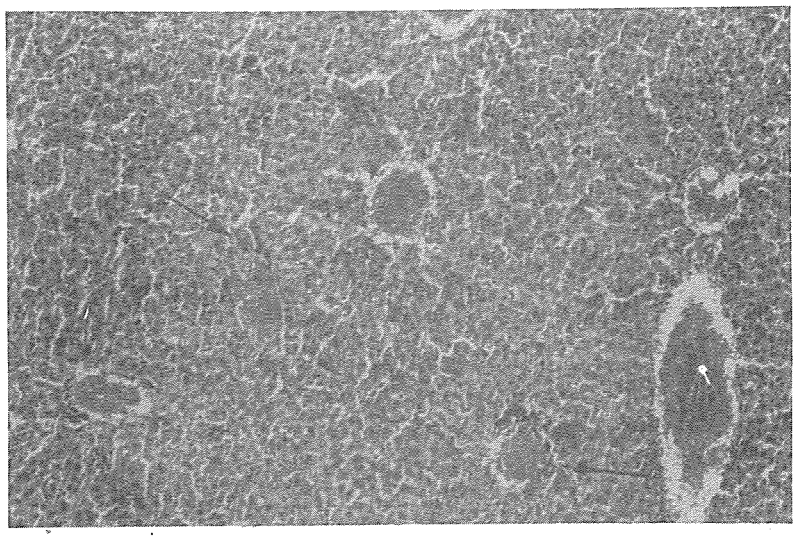
Kalpte subepikardiyal ödemle birlikte damarlarda hiperemi ve kanamalar olguların tamamına yakınında dikkati çekti. Benzer olarak endokardda da kanamalara rastlandı. Miyokardda hiyalin dejenerasyonu, bazı hücrelerde hipertrofi ve çekirdek sayılarında artış tüm deneme gruplarında saptanan diğer mikroskobik bulgulardı.

Mide mukozası olguların çoğunda yerinden ayrılmış ve dökülmüştü. Yine mukozada muskularis mukozaya kadar inen fokal ülserler dikkati çekti. Bu ülserler nekrotik epitel hücre artıkları ile birlikte eritrosit, mononuklear hücreler ve nötrofillerle dolu idi. Propria mukozada, bezlerde kistik dilatasyon gözlendi. Makroskobik olarak kanamalı görülen bölgelerde propria mukoza ve submukozada çok sayıda serbest eritrositlere rastlandı.

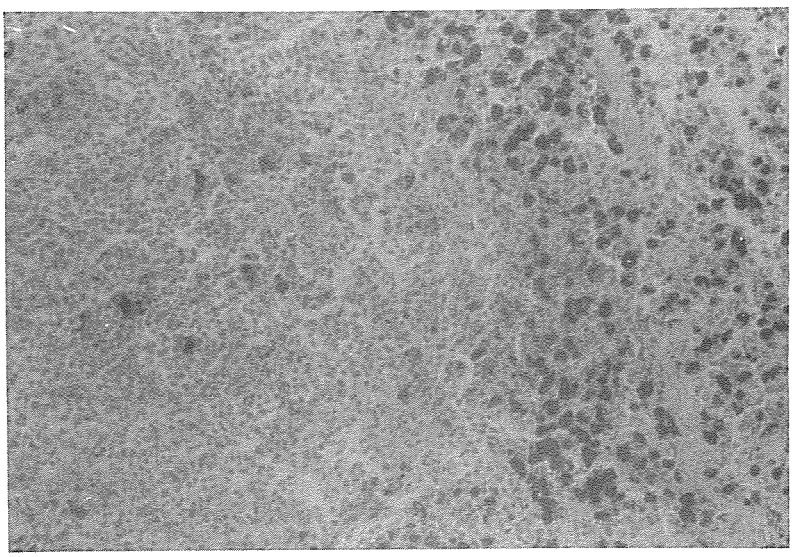
Bağırsak mukozasında yer yer ayrılmalar, dökülmeler ve fokal ülserler tespit edildi. Propria mukoza ve submukozada damarlarda hiperemi ve kanamaların dışında mikroskobik bir bulguya rastlanmadı.

Karaciğerde vena (v) portanın kolları ile v. sentralislerde şiddetli konjesyon, bunların çevresinde kanamalar ve bu damarların bir kısmında intravasküler hemoliz ilk bakıda dikkati çeken bulgulardı (Şekil 3). Damarlar çevresinde ve kanamalı alanlarda fokal odaklar halindeki makrofaj hücre infiltrasyonlarının yanısıra, çok sayıda Kupffer hücrelerinin, Prussian Blue ile demir pozitif reaksiyon veren yeşilimtrak, koyu mavi renkte hemosiderin ile yüklü oldukları (siderositler) gözlendi. Bazı makrofajların birbirleri ile birleşme eğiliminde oldukları (dev hücresine benzer bir görünüm) tespit edildi. Sinuzoidler genişlemiş ve içleri eritrositlerle dolu idi. Bu alanlar çevresinde tek tük olarak bazı hepatositlerin sitoplazmalarının da hemosiderin ile dolu oldukları tespit edildi. Denemenin sonunda öldürülen farelerde v. porta ve v. sentralisler ile kanamalı alanlar çevresindeki makrofaj hücre infiltrasyonlarının yerini tamamen lenfoid infiltrasyonların aldığı gözlendi. Ayrıca bu farelerde v. sentralisler çevresinde hafif şiddette fibröz bağdoku proliferasyonları (kardiyak siklerosis) da gözlendi. Parasentral olarak bazı hepatositlerde vakuolizasyon, volüm yönünden azalma; bazılarında ise megalositosis saptanan diğer mikroskobik bulgulardı.

Dalakta, özellikle IV. ve V. gruplara ait deneme sonunda öldürülen farelerde, tüm dokuda, şiddetli konjesyon ile birlikte diffuz hemosiderozis tablosu en önemli mikroskobik bulgulardan biri idi. Makrofajların sitoplazmaları, Prussian Blue ile yeşilimtrak, koyu mavi; H.E. ile altın sarısı veya koyu kahvemsi görünümlü hemosiderin ile dolu idi (Şekil 4). Bununla birlikte Prussian Blue ile boyanmayan, koyu kahvemsi görünümde pigment granüllerin varlığı da dikkati çekti. Lenfoid nodül-



Şekil 3. Karaciğerde Damarlarda Konjesyon ve Perivasküler Makrofaj Hücre İnfiltrasyonları (Oklar; 6. Hafta, V. Grup H.E., X 132).



Şekil 4. Dalakta Diffuz Hemosiderozis (17. Hafta, V. Grup) Prussian Blue Reaction, X 264.

lerde atrofi, kapsulada ve trabekülalarda kalınlaşmalar dalakta tespit edilen diğer mikroskobik bulgulardı.

Böbreklerde; glomeruluslarda ve kortikomedullar bölgeden başlamak üzere medulladaki konjesyon ilk bakıda dikkati çeken bulgu idi. Bazı tubulus epitel hücrelerinin dejenerasyona uğradıkları, bir kısmının da piknotik çekirdekli bir görünüm kazandıkları saptandı. Kapillarların çoğunda intravasküler hemolizle birlikte damar duvarında kalınlaşmalar tespit edildi. Deneme sonunda öldürülen farelerde ise böbrek tubuluslarında değişen derecelerde dilatasyon, epitel hücrelerinde yassılaşma ve intersititiel bölgede fokal mononuklear hücre infiltrasyonları gözlendi.

Testislerde, tubulus seminiferus kontortus'larda testiküler dejenerasyon gözlendi. Bu tubuluslarda germinal epitelin inceldiği ve yer yer tamamen eridiği dikkati çekti. Vakuolizasyon, germinal hücrelerde dökülme ve piknoz, intratubuler çok çekirdekli dev hücre formasyonu ve lumende hiyalini artıklar tubuluslardaki dejenerasyonun önemli mikroskobik bulguları idi (Şekil 5). Şekillenen spermatidlerde birbirine yapışıp kümelenme ve baş kısımlarında büyüme ile karakterize olan deformasyonlar da gözlendi. İntersititiel dokuda damarlarda hafif şiddette hiperemi ve kanamanın dışında mikroskobik bir bulguya rastlanmadı.

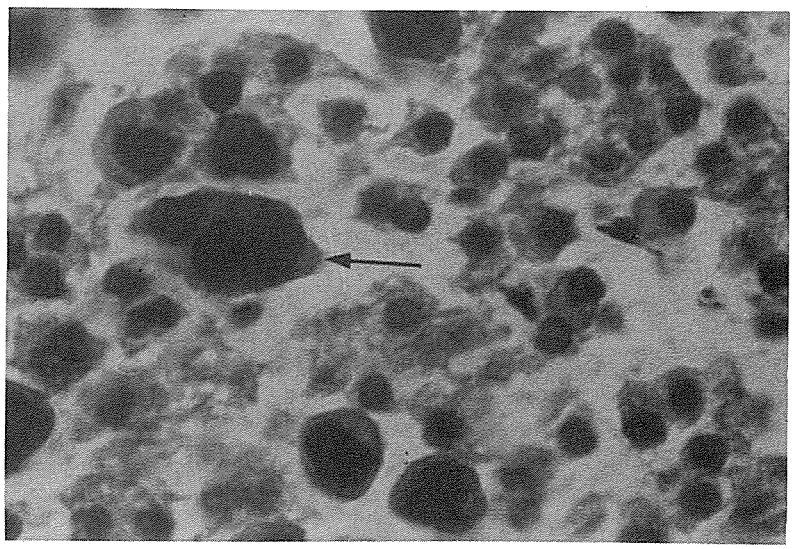
Pankreas, gluteal kaslar, serebrum, serebellum ve nervus işiadikus ile deride kaydadeğer makroskobik ve mikroskobik bir bulgu saptanmadı.

Tartışma

Pamuk tohumu küspesi (PTK) ham protein ve enerji yönünden zengin, ayrıca diğer küspelere oranla daha ucuza mal olması yönleri ile pek çok ülkede yem endüstrisinde temel bitkisel protein kaynağı olarak değerlendirilmektedir. Bununla birlikte gerek bitkinin tohum ve kökünde, gerekse elde edilen küspede gossipol'un dışında diaminogossypol, gossypurpurin, gossyfulvin, gossycearulin ve gossyverdurin gibi toksik glikozitler de identifiye edilmiştir. Bu bileşikler arasında en yüksek konsantrasyonda gossipol'un bulunması nedeni ile pamuk tohumundan ileri gelen toksikasyonlar da bu ad altında (gossypol toxicosis) ifade edilmiştir (6-8).

Gossipol bütün hayvanlarda benzer olarak, temel metabolik fonksiyonlarda değişimlere (Eritrositlerin lysisi, Hemoglobin'den oksijen ayrılmasının önlenmesi) yol açarak toksikasyonlara sebep olmaktadır. Bununla birlikte toksikasyonun şiddeti hayvanın türü, yaşı, ırkı, rasyonun bileşimi ve gossipol'un serbest ya da proteinlere bağlı formda olup olmamasına göre de değişmektedir (1, 5, 15, 16). Nitekim, domuzların ve kanatlıların diğer hayvan türlerine, genç ruminantların erişkin ruminantlara, Holstein ırkı sığırların Jersey ırkına, konsantre yem ile beslenen hayvanların da kaba yem ile beslenenlere oranla toksikasyona daha duyarlı oldukları bildirilmiştir (7, 12, 15).

Toksikasyonda domuz, köpek ve sığırlarda bildirilen canlı ağırlık artışındaki yavaşlama (12-15, 23) piliçlerde yapılan pek çok çalışmada (2, 3, 9, 17) da bildirilmiştir. Bu çalışmada da benzer olarak total canlı ağırlık artışında yavaşlama ve duraklama gözlenmiş ve toksikasyonun en önemli klinik bulgularından biri olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada, tüketilen yem ve su ayrıca atılan dışkı miktarlarındaki azalmalar Tablo 1'in incelenmesinde de anlaşılacağı üzere denemenin 6. haftasına rastlamış, yem ve su tüketimindeki azalmalara para-



Şekil 5. Testislerde, Tubulus Seminiferus Kontortus'larda İntratubuler Çok Çekirdekli Dev Hücresi (Ok, 17. Hafta V. Grup). H.E., X 1332.

lel olarak, Tablo 2'de görüleceği gibi, canlı ağırlık artışlarında yavaşlama gözlenmiş, fakat canlı ağırlıklarda bir önceki tartımlara göre azalmalar dikkati çekmemiştir. Gossipol'un domuz, köpek, sığır ve kanatlılarda, bu çalışmada da farelerde canlı ağırlık artışında yavaşlamalara yol açması, tür farkı gözetmeksizin hayvanlarda benzer mekanizma ile bu etkisini gösterdiği söylenebilir. Bu durum, bir çalışmada da (19) ifade edildiği şekilde, hayvanlarda östrojen ve testesteron gibi bazı anabolizanların üretiminin gossipol tarafından inhibe edilmesine yorumlanabilir.

Birçok çalışmada (9, 12-15) klinik olarak bildirilen gastroenteritis, dispnö, depresyon, terminal konvülsiyonlar ve arka ayaklardaki felçler bu çalışmada da ölümden önce dikkati çeken benzer bulgular olmuştur. Bir çalışmada (12) total ölüm oranı % 88, diğer bir çalışmada (9) % 23 olarak bildirilirken bu çalışmada total ölüm oranı Tablo 3'ün incelenmesinden de anlaşılacağı üzere % 21 olarak hesaplanmıştır. Yine bir çalışmada (9) ilk ölüm olayı rasyona % 20, en son ölüm olayı da % 5 oranında pamuk tohumu ilave edilen gruplarda şekillenmiş ve verilen pamuk tohumu miktarına paralel bir biçimde geometrik olarak ölümler de artmıştır. Bu çalışmada da benzer olarak ilk ölüm olayı rasyona en fazla oranda pamuk tohumu ilave edilen grupta, en son ölüm olayı da en az oranda pamuk tohumu ilave edilen grupta şekillenmiş ve ölümler yönünden gruplar arasında verilen pamuk tohumu miktarı ile mutlak bir paralellik gözlenmemekle birlikte artışlar kaydedilmiştir. Çalışmada ilk ölüm olayının % 25 oranında pamuk tohumu ilave edilen grupta şekillenmiş olması, toksikasyonun şekillenmesinde yemdeki miktarın etkili bir faktör olduğu görüşünü (12) destekler niteliktedir. En son ölüm olayının % 10 oranında pamuk tohumu ilave edilen grupta şekillenmiş olması ise gossipol'un kümülatif toksik etkisi ile izah edilebilir.

Onyedi haftalık deneme süresince kontrol grubuna ait dişi farelerde doğum olaylarının görülmesine karşın, deneme gruplarındaki dişi hayvanların tamamında hiçbir doğum olayı görülmemiştir. Ratlarda yapılan diğer bir çalışmada (19) da benzeri bir gözlem bildirilmiş ve bu durum, gossipol'un östrojen ve progesteron hormonlarının yapımını inhibe etmesi ile izah edilmiştir.

Bu çalışmada makroskobik olarak olguların tamamına yakınında dikkati çeken kaşeksi, özellikle karın ve göğüs boşluğundaki seröfibrinöz eksudasyon, akciğerlerde konjesyon ve ödem, tracheada köpüklü sıvı birikimi, kalpte bilateral venktriküler dilatasyon ve miyokard dejenerasyonu ile midede alimenter dilatasyon ve gastointestinal ülserler, karaciğer dalak ve böbreklerde konjesyon ayrıca karaciğerde fokal nekrozlar birçok çalışmada (9, 12-15) bildirilen bulgular ile büyük ölçüde paralellik arzetmektedir.

Mikroskobik olarak da viseral organlarda ortaya konan bulgular diğer çalışmalarda bildirilen bulgular ile büyük ölçüde paralellik göstermiştir. İki ayrı çalışmada (9, 12) da ifade edildiği gibi, bu çalışmada, miyokarddaki dejeneratif değişiklikler gossipol'un doğrudan kardiyotoksik etkisi ile, hipertrofi ve çekirdek sayılarındaki artışlar kompenzasyon ile, akciğer lezyonları da kalp yetmezliğinden ileri gelen pasif konjesyon ve venöz stasis ile izah edilebilir. Her iki çalışmada da akciğerlerde hemosiderin ile yüklü olmayan çok sayıda makrofajların varlığı bildirilmesine karşın, bu çalışmada ancak deneme sonunda öldürülen IV. ve V. grup farelerde bazı alveoler makrofajların hemosiderin ile yüklü oldukları tespit edilmiştir. Çalışmada kalp hatası hücrelerinin varlığı, gossipol'un kardiyotoksik etkisine bağlı olarak şekillenen pasif konjesyon ve venöz stazis ile izah edilirse de, bu çalşımada deneme süresinin domuz (90 gün - 13 hafta) ve broiler piliçlerdeki (49 gün - 7 hafta) deneme süresinden daha uzun olması ile de ilgili olabileceği yorumunu getirmektedir.

Birçok çalışmada (9, 12, 15, 24) karaciğerde bildirilen sentrilobüler konjesyon ve nekroz bu çalışmada da gözlenmiş, ayrıca bazı kapillarlarda intravasküler hemoliz de dikkati çekmiştir. Bu çalışmada yağ dejenerasyonuna rastlanmamıştır. Bir çalışmada (9), demir pozitif materyalin (hemosiderin) hepatositlerin stoplazmaları içinde bulunduğu bildirilmesine karşın, bu çalışmada, sözkonusu materyale esas olarak Kupffer hücrelerinin stoplazmalarında ve tek tük olarak hepatositler içinde rastlanmıştır. Bu durum, hemosiderinin esas olarak Kupffer hücrelerinin stoplazmalarında bulunduğunu ifade eden klasik kitaplardaki görüşler ile de paralellik göstermektedir. Bununla birlikte, hemosiderinin lokalizasyonunda broiler piliçler ile (9) bu çalışmada saptanan fark, evcil hayvanlarda toksikasyonun diferensiyal tanısına yardımcı olabilecek önemli bulgulardan biri olarak değerlendirilmiştir. Diğer çalışmalarda bildirilmemekle birlikte bu çalışmada denemenin sonunda öldürülen bazı hayvanlarda parasentral olarak hepatositlerde azalma, vakuolizasyon ve megalositozis ayrıca v. sentralisler çevresinde fibrosisin (kardiyak siklerozis) şekillenmeye başladığı dikkati çekmiştir. Çalışmada, hepatositlerdeki dejeneratif ve nekrotik değişiklikler konjesyon ve stazisin bir sonucu olarak şekillenen anoksi ile (12), diğer bir çalışmada (24) ise gossipol'un doğrudan hepatotoksik etkisi ile izah edilmiştir. Kupffer hücre aktivasyonları ve dev hücresi görünümünde olan yapılar ise eritrofagositozisin şiddetine yorumlanabilir. Hemosiderinin kimyasal bileşiminin % 25-30 oranında demir, %

70-75 oranında da protein içerdiği dikkate alındığında şekillenen lenfoid infiltrasyonların, diğer bir çalışmada (9) da ifade edildiği gibi, bu proteinlerin muhtemel antijenik etkilerinden ileri gelebileceği söylenebilir.

Dalakta bildirilen benzer lezyonların dışında, bu çalışmada hemosiderin ile yüklü çok sayıda makrofajların varlığı ile karakterize diffuz hemosiderozis tablosu en önemli mikroskobik bulgulardan biri olarak değerlendirilmiştir. Fakat bu çalışmada demir pozitif reaksiyon vermeyen altın sarısı, koyu kahverengimsi granüller halinde yapılar da dikkati çekmiştir. Hemosiderin'de olduğu gibi, demirin yalnız 3 değerlikli formunun (ferrik formu) Prussian Blue ile pozitif reaksiyon verdiği dikkate alındığında, bu çalışmada demir pozitif reaksiyon vermeyen yapılar, demirin boya ile reaksiyona girmeyen 2 değerlikli formları (ferro formu) olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Böbreklerde tanımlanan konjesyon (9, 12, 13) bu çalışmada da gözlenmiş, fakat proksimal tubuluslarda bildirilen yağ dejenerasyonu ortaya konamamıştır. Diğer bir çalışmada (9) bildirilen tubulus epitellerinde dejenerasyon ve nekroz ile tubuluslarda dilatasyon ve hiyalini artıklar çalışmamızda da gözlenmiş, ayrıca bazı kapillarlarda intravasküler hemoliz ve damarlar çevresinde fibröz bağdoku artışları da dikkati çekmiştir.

Deneysel olarak yapılan iki ayrı çalışmada (17, 25), testislerde bildirilen dejenerasyon bu çalışmada da saptanmış ve deneme gruplarında hiçbir doğum olayının meydana gelmemiş olması, gossipol'un germinal hücrelerde yol açtığı bu dejeneratif değişikliklere ve deformasyonlara yorumlanmıştır. Yine bu çalışmada şekillenen intratubular çok çekirdekli dev hücre formasyonları muhtemelen identik spermatitlerin birbirleriyle birleşmeleri ile izah edilebilir. Deneme süresince hiçbir doğum olayının meydana gelmemiş olması testislerdeki histopatolojik değişimler ile izah edilebilirse de, gossipol'un dişi farelerde endometriyal atrofiye ve böylece uterusta implantasyonun engellenmesine yol açtığı dikkate alındığında (18), bu toksikasyonda muhtemelen dişi farelerin de genital organlarında histopatolojik değişimlerin şekillenmiş olabileceği ve antifertilitede erkek fareler ile birlikte sorumlu olabilecekleri söylenebilir. Ancak dişi farelere ait genital organların mikroskobik muayenelerinin yapılamamış olması bu çalışmanın bir eksikliği olarak değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak bu çalışma ile, hiçbir işleme tabi tutulmamış pamuk tohumlarının farelerde, verilen bütün oranlarda da toksik olduğu saptanmış, gözlenen klinik belirtiler, organ ve dokularda şekillenen morfolojik değişikliklerin yardımıyla toksikasyonun tanısının mümkün olabileceği kanısına varılmıştır. Bu konuda ayrıca, dişi farelerde gossipol'un genital sistemdeki morfolojik etkilerini ortaya koymak ve bu çalışmanın da eksikliğini gidermek, yine pamuk tohumu çekirdeği ile PTK'dan ileri gelen toksikasyonları karşılaştırmalı olarak inceleyebilmek için de diğer bir deneysel çalışmanın yapılması önerilebilir.

Teşekkür

Bu çalışmanın gerçekleşmesine katkılardan dolayı Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'ne, Elazığ Çukobirlik Tarım Satış Kooperatifi'ne ve Fırat Üniversitesi, Bilgiişlem Daire Başkanlığına teşekkür ederim. Ayrıca, çalışma süresince yardımlarını esirgemeyen Hocam Prof. Dr. Nursal METİN'e ve tüm emeği geçenlere en içten saygı ve şükranlarımı sunarım.

Kaynaklar

1. Berardi, L.C., Goldblatt, L.A.: Gossypol. in liener IE (ed). Toxic Costituents of Plant Foodstuffs Academic Press Inc., New York, 1980.
2. Dongmo, T., Pone, D.K., Ngoupayou, J.D.N.: Cottonseed Cake in Breeder Hens Diets: Effect of Suplementation with Lysine and Methionine. Arch. Geflügelk. 1985: 53: 231-234.
3. Fitzsimmons, R.C., Newcombe, M., Moul, I.E.: The long-term Effects of Feeding Ground and Whole Cottonseed to Laying Hens. Can. J. Anim. Sci. 1989: 69: 425-429.
4. Ryan, J.R., Kratzer, F.H., Grau, C.R., Vahra, P.: Glandless Cottonseed Meal for Laying and Breeding Hens and Broiler Chicks. Poult. Sci. 1986: 65: 949-955.
5. Wedegaertner, T.C.: Making the Most of Cottonseed Meal. Feed. Man. 1981: 32: 1-2.
6. Clarke, E.G.C., Clarke, M.L.: Veterinary Toxicology. Bailliere Tindall, London, 1975.
7. Derivaux, J., Liegeois, F.: Toxicologie Veterinarie. First Ed., Paris, 1962.
8. Radeleff, E.D.: Veterinary Toxicology. Second Ed., Philadelphia, 1970.
9. Karadaş, E., Özer, H., Metin, N., Özdemir, N.: Broiler Pliçlerde Deneysel Pamuk Tohumu Toksikasyonunda Patolojik ve Biyokimyasal Çalışmalar. Türk Vet. ve Hayv. Derg. 1996: 20: 1-8.
10. Ngoupayou, J.D.N. and Njoya, J.: Effect of Feeding Graded Levels of Cottonseed Meal to Broiler Chickens. Rew. Sci. Et. Techn. Ser. Sci. Zootech. 1985: 1: 13-18.
11. Reid, B.L., Galaviz-Moreno, S., Majarino, P.M.: A Comparison of Glandless and Regular Cottonseed Meals for Laying Hens. Poult. Sci. 1983: 63: 1803-1809.
12. Smith, H.A.: The Pathology of Gossypol Poisoning. Am. J. Pathol. 1957: 33: 353-365.

13. West, J.L.: Lesions of Gossypol Poisoning in the Dog. J. Am. Vet. M.A. 1940: 96: 74-76.

14. Rogers, P.A.M., Haneghan, T.P., Wheehler, B.: Gossypol Poisoning in Young Calves. Irish. Vet. J. 1975: 29: 9-13.

15. Kerr, L.A.: Gossypol Toxicosis in Cattle. The Comp. Food. Anim. 1989: 9: 1139-1146.

16. Smalley, S.A., Bicknell, E.J.: Gossypol Toxicity in Dairy Cattle. Compend. Contin. Educ. Pract. Vet. 1982: 4: 378-385.

17. Akanbi, O.C.: Reproductive Effects of Gossypol and Cottonseed Meal in Male Single Combs White Leghorn Chickens. Agric. Avim. Nutrit. 1985: 45: 1977.

18. Bender, H.S., Caceci, T., Mısra, H.P.: An Ultrastructural Study of the Effects of Gossypol on the Endometrium of Female Rat. J. Ultr. Mol. Struc. Res. 1988: 101: 137-144.

19. Hadley, M.A., Lin, Y.C., Dym, M.: Effect of Gossypol on the Reproductive System of Male Rats. J. Androl. 1981: 2: 190-199.

20. Snedecor, G.W.: Statistical Methods. The Iowa State College Press. Ames. Iowa 1975.

21. Luna, L.G.: Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. Mc. Grow-Hill Book Company. New York, 1968.

22. A.O.A.O.: Official Methods of Analysis 11th. Edition Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C. 1970.

23. Eisele, G.R.: A Perspective on Gossypol Ingestion in Swine. Vet. Hum. Toxicol. 1986: 28: 118-122.

24. Monabe, S., Nuber, D.C., Lin, Y.C.: Zone-Spesific Hepatotoxicity of Gossypol in Perfused Rat Liver. Toxicon. 1991: 6: 787-790.

25. MacNab, R.K. and Nollen, P.M.: The Effect of Gossypol on Spermatogenesis and Development of the Eye Fluke, Philopathogenus grolli, and its Chicken Host. J. Parasit. 1987: 73: 749-755.