Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences
20 (1996) 1-8
© TÜBİTAK

Broiler Piliçlerde Deneysel Pamuk Tohumu Toksikasyonunda Patolojik ve Biyokimyasal Çalışmalar

Erkan KARADAŞ, Harun ÖZER, Nursal METİN
Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı Elazığ-TÜRKİYE
Necmi ÖZDEMİR
Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi : 30 / 1 / 1995

Özet : Deneysel olarak, pamuk tohumu toksikasyonu broiler piliçlerde oluşturuldu. Kontrol grubu (Grup I, % 0) dahil 5 gruba ayrılan, 60 adet 10-günlük broiler piliçler % 5 (Grup II), % 10 (Grup III), % 15 (Grup IV) ve % 20 (Grup V) oranlarında öğütülmüş pamuk tohumları (Gossypium hirsutum) içeren rasyonla 7 hafta süre ile beslendi. Canlı ağırlık artışında yavaşlama ve kursak dilatasyonu en önemli klinik bulgulardı. Total ölüm oranı % 23 olarak kaydedildi. Makroskobik olarak, akciğerlerde şiddetli ödem ve konjesyon; tracheada köpüklü sıvı birikimi; kalpte solgunluk ve ventrikülür dilatasyon; kursakta genişleme, kursak ve muskuler mide mukozasında fokal ülserler; karaciğerde şiddetli konjesyon ve fokal nekrozlar ile dalak ve böbreklerde orta şiddette konjesyon gözlenen başlıca lezyonlardı. Mikroskobik olarak da, bunlara ilişkin lezyonlar dikkati çekti. Biyokimyasal olarak, karaciğer ve laktat dehidrogenaz enzim aktivitelerinin yükseldiği; total albumin, glikoz ve hemoglobin düzeylerinin azaldığı tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Pamuk Tohumu, Piliç, Morfoloji

Pathological and Biochemical Evaluations of Experimental Cottonseed Poisoning (Gossypol Toxicosis) in White Broiler Chickens

Abstract: Cottonseed poisoning was produced experimentally in white broiler chickens. Ten-day-old sixty chickens were divided into five groups. Each group, composed of twelve animals, was fed on ground cottonseed added to the daily commercial ration in the ratio of 0 % (Group I - Control group), 5 % (Group II), 10 % (Group III), 15 % (Group IV) and 20 % (Group V) for seven weeks. The most important clinical findings were losses in the growth rate and distended crop. Total death rate in all trial groups was recorded as 23 %. Macroscopically, main lesions observed, were severe edema and congestion of the lungs; an accumulation of frothy fluid in the trachea; pale heart with marked dilatation of the ventricles; distention of the crop; diffuse focal ulcers on the mucosa of the crop and proventriculus; severe congestion and focal necrosis of the liver. In addition, moderate congestion of the spleen and kidney was also noticed. Microscopic lesions related to macroscopic ones in these organs were confirmed as well. In the biochemical examinations, it was found that the activities of liver and lactate dehydrogenase (LDH) enzymes were increased and levels of total abumin, glucose and haemoglobin (Hb) were decreased.

Key Words: Cottonseed, Chickens, Morphology

Giriş

Malvaceae familyasının gossypium (G) cinsinde yeralan pamuk, çeşitli endüstri dallarında hammadde olarak kullanılmakta, tohumlarının küspesi de yem sanayiinde bitkisel protein kaynağı olarak değerlendirilmektedir (1-3).

Bitkininin, özellikle tohumunda, gossipol adı verilen bir glikozit ile birlikte diaminogossypol, gossypurpurin, gossyfulvin, gossycaerulin ve gossyverdurin gibi glikozitler de identifiye edilmiş, sözkonusu glikozitlerin tek mideli hayvanlarda yol açtığı toksik etkileri "gossipol toksikosis olarak adlandırılmıştır (4).

Evcil hayvanlarımızda, gossipol içeren rasyonlara tek mideli hayvanların ve buzağıların duyarlı; sığır ve koyunların duyarlı olmadıkları bidirilmiştir (2, 5-9). Buzağı, domuz ve köpeklerde deneysel "gossipol toksikosis" olaylarında; şiddetli dispnö, zayıflama, iştahsızlık ve depresif bir görünüm en önemli klinik bulgular olarak değerlendirilmiştir (5-8). Makroskobik olarak pleural, perikardial ve peritoneal kavitelerde seröfibrinöz eksudasyon, akciğerlerde ödem ve tracheada aşırı köpük birikimi, akciğer ve karaciğerde daha şiddetli olmak üzere böbrek, dalak ve lenf düğümlerinde konjesyon, kalpte ventrikülüslerde dilatasyon, miyokardda ve ayrıca iskelet kaslarında solgunluk, safra ve sidik kesesi duvarında ödem dikkati çeken başlıca lezyonlar olarak kaydedilmiştir (5-8).

Gossipol içeren rasyonların etçi ve yumurtacı tavuk ırklarında (1-3, 10,11) yem tüketimi ve yemden yarar-

lanma oranında azalma ile gelişimde yavaşlama ve ölülere yol açtığı, yumurtacı ırklarda ise bunlara ilaveten yumurta verimi, kalitesi ve ağırlığı üzerine olumsuz etkileri bildirilmiştir (12). Fakat yapılan literatür taramalarında, her iki ırka ilgili olarak patolojik bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışma ile, literatürdeki eksikliği gidermenin yanısıra, toksikasyonda organ ve dokularda ne gibi morfolojik değişimlerin meydana gelebileceğini saptamak, biyokimyasal paramatrelerin toksikasyonun teşhisindeki önemini ortaya koymak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada kullanılan toplam 60 adet 10 günlük broiler piliçler Köy-Tür Elazığ Tav. San. ve Tic. A.Ş.'n den, ticari yemlerde aynı işletmenin yem fabrikasından sağlanmıştır. Yeme belirli oranlarda ilave edilen pamuk tohumu (G. hirsutum) çekirdeği ise Elazığ Çukobirlik Tarım Satış Kooperatifi'nden sağlanan pamuk tohumlarının öğütülüp elenmesiyle (4 mm. gözenekli elekte) elde edilmiştir. Bir günlükken işletmeden alınan civciler 9 gün boyunca civciv büyütme yemi ile beslenmişlerdir. On günlük olduklarında, cinsiyet ayırımı yapılmaksızın kontrol grubu dahil 12'şerli 5 gruba ayrılmış haftalık olarak hazırlanan ticari yemlerine, öğütülüp elenmiş pamuk tohumu çekirdeği sırasıyla % 0 (I. grup-kontrol grubu), % 5 (II. grup), % 10 (III. grup), % 15 (IV. grup) ve % 20 (V. grup) oranlarında ilave edilmiştir. Deneme süresince bütün grupların haftalık olarak total canlı ağırlıkları ile bunlara ilişkin standart sapmaları ve deneme sonunda birinci haftaya göre kazanılan % ağırlık artışları, ayrıca birgün boyunca total olarak tüketilen yem, su ve atılan dışkı miktarları klasik olark hesaplanmıştır. Kontrol grubu ile deneme grupları arasındaki istatistiksel farkın ortaya konulması için "SPSS for Windows Release" programında tüm verilere T testi uygulanmış ve probability (P) değerleri kaydedilmiştir (13).

Gerek deneme süresince ölen, gerekse denemenin sonunda kesilen piliçlerin sistemik nekropsileri yapılarak; akciğer, kalp, kursak, glanduler ve muskuler mide, bağırsaklar, karaciğer, pankreas, dalak, böbrek., timus, tiroid, bursa Fabricius ile serebrum ve serebellumdan ayrıca, but ve göğüs kasları, nervus işiadikus ve deriden alınan doku örnekleri % 10'luk formalin solusyonunda 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 (14).

Biyokimyasal muayeneler için de sadece kesilen piliçlerin kanları alınarak serumları çıkartılmış; karaciğer enzimleri (Serum Glutamic Oxalacetic Transaminase-SGOT, Serum Glutamic Pyruvic Transaminase-SGPT ve Alkalin Phosphatase-ALP) ile birlikte LDH (enzimatik-kolorimetrik metotla), total albumin (Brom Creosol Green metodu ile), Hb (Hb-siyanid metodu ile) ve glikoz (O-Toludin metodu ile) düzeyleri tayin edilmiştir (15). İstatistiksel olarak tüm veriler, "SPSS for Windows Release" programında T testine göre değerlendirilmiştir (13). Pamuk tohumu çekirdeğinin analizi Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Ankara İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü'nde Weende Yem Analiz Yöntemi ile yapılmıştır (16).

Bulgular

Denemenin 3, 4, 5 ve 6. haftasonu tartımlarından itibaren klinik olarak sırasıyla V, IV, III ve II. gruplarda başta tüketilen yem ve su ile buna paralel olarak da atılan dışkı miktarlarında belirgin bir azalma gözlendi ve bu azalmalar istatistiksel yönden oldukça önemli ($P<0.001$) bulundu (Tablo 2). ilk 2 haftasonu tartımlarında ise sözkonusu değerlere ilişkin istatistiksel bir fark saptanmadı. Deneme gruplarında 3. haftasonu tartımlarından itibaren gözlenmeye başlayan yem ve su tüketimindeki azalma ile birlikte piliçlerin total canlı ağırlıklarında yavaşlama ve azalmalar tespit edildi (Tablo 1). Total canlı ağırlıklardaki bu yavaşlama, kontrol grubu ile IV. ve V. gruplar arasında 1. haftasonu tartımlarından itibaren deneme boyunca oldukça önemli ($P<0.001$) bulundu. Birinci, 2., ve 3. haftasonu tartımlarında, kontrol grubu ile III. grup arasındaki ağırlık farkı önemli ($P<0.01$), 4. haftasonu tartımı ile birlikte oldukça önemli ($P<0.001$) olarak değerlendirildi. Yine 1., 2. ve 3. haftasonu tartımlarında kontrol grubu ile II. grup arasındaki ağırlık fark önemsiz ($P>0.05$), 4, 5, 6 ve 7. haftasonu tartımlarında ise önemli ($P<0.05$) olarak değerlendirildi.

Klinik Bulgular

Canlı ağırlık artışındaki yavaşlama dikkati çeken en belirgin kilink bulguydu. Önce aşırı duyarlılık bunu takiben depresif bir görünüm, aşırı yorgunluk ve bitkinlik, şiddetili dispnö, yürütülmük istendiğinde sendeleme ve kaz yürüyüşü pozisyonu alma, tüylerin kabarık, kirli ve mat bir görünümü gözlenenen diğer kilinik bulgulardı. Ölümden 3-8 saat önce göğüs üstü pozisyonda birdenbire düşme, daha sonra bir tarafının üstüne yatıp, çırpınarak şekillenen ölümler (terminal konvülsiyonlar) bütün gruplarda dikkati çekti.

Tablo 1. Deneme Süresince Haftalık Canlı Ağırlık Artışları ile Deneme Sonunda Kazanılan % Ağırlık Artış Oranlarını Gösterir Tablo (Ortalama Değerler).

Gruplar	Total Canlı Ağırlıklar (Gr)							%
	1. Hafta sonu	2. Hafta sonu	3. Hafta sonu	4. Hafta sonu	5. Hafta sonu	6. hafta sonu	7. Hafta sonu	Ağırlık artışı
I. Grup (Kontrol)	318.8±6.78	504.7±9.11	673.4±11.48	1086.3±19.48	1438.3±21.18	1984.6±24.20	2446.0±30.76	795.48
II. Grup (% 5)	320.9±4.43	478.5±9.63	642.5±12.0	880.0±12.87	1204.6±18.71	1368.6±21.14	1298.0±18.74	552.02
III. Grup (% 10)	251.2±3.11	370.2±4.16	525.0±4.16	586.6±7.24	896.6±8.18	814.0±13.4	1117.8±14.64	446.21
IV. Grup (%15)	227.4±3.22	284.5±4.12	465±6.43	597.4±6.56	561.1±8.21	561.6±8.21	685.5±13.21	292.95
V. Grup (%20)	191.3±3.26	209.1±3.78	268.2±4.43	252.8±4.14	266.8±5.58	326.4±7.28	365.5±8.21	365±7.28

Tablo 2. Deneme Süresince Total Olarak Tüketilen Yem ve Su ile Atılan Dışkı Miktarlarını Gösterir Tablo*

	Gruplar	1. Hafta sonu	2. Hafta sonu	3. Hafta sonu	4. Hafta sonu	5. hafta sonu	6. Hafta sonu	7. Hafta sonu
Tüketilen Total yem (Gr)	I. Grup	374.90	814.00	1010.40	2046.20	2114.42	2280.62	2250.16
	II. Grup	370.48	826.74	1020.16	1280.46	1284.61	1290.82	969.38
	III. Grup	374.90	830.62	1056.60	1060.28	1068.80	904.50	700.18
	IV. Grup	386.58	872.20	1084.32	1090.86	780.24	410.60	402.48
	V. Grup	396.12	886.64	1108.38	886.36	562.18	386.44	350.16
Tüketilen Total Su (cc)	I. Grup	56.70	74.86	120.00	150.00	182.50	184.25	190.60
	II. Grup	55.00	74.20	108.26	117.80	120.50	125.60	95.56
	III. Grup	55.24	74.80	112.10	115.15	118.40	105.55	75.25
	IV. Grup	56.60	76.70	104.10	108.25	71.60	52.10	45.80
	V. Grup	58.76	75.84	110.00	87.50	50.30	41.35	34.75
Atılan Total Dışkı (Gr)	I. Grup	42.80	78.66	150.28	302.86	848.16	1034.40	1640.80
	II. Grup	38.40	81.58	154.00	214.40	198.38	210.26	203.48
	III. Grup	40.24	80.20	152.60	158.24	163.20	152.86	141.80
	IV. Grup	59.50	98.64	144.26	154.00	124.80	112.84	104.62
	V. Grup	53.80	89.90	128.42	118.36	96.00	84.22	72.24

*: Bir günlük ortalama değerler

Denemenen 4-5. haftalarından itibaren II. ve III gruplardaki piliçlerin tamamında ayrıca, IV ve V. gruplara ait sağ kalan piliçlerde; göğüs bölgesini tamamen kaplayan, yumruk büyüklüğünde ve hafif sert kıvamda bir kitle ile dolu kursak dilatasyonu (dilatatio ingluviei) dikkati çekti.

Deneme süresince günlere göre gruplarda şekillenen ölüm olayları ve bunlara ilişkin % ölüm oranları ayrıca total ölüm oranı hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 3' de sunulmuştur.

G. hirsutum'un yapılan yem analizinde yüzde olarak; su (4.36), kuru madde (95.64), ham protein (31.28), ham selüloz (9,16), ham yağ (38.86), ham kül (5.57) ve azotsuz öz madde (12.77) oranları hesaplandı.

Morfolojik Bulgular

Bütün deneme gruplarında hemen hemen biribirinin benzeri morfolojik bulgular gözlenmiş olup, ancak şiddet bakımından farklılıklar göstermişlerdir.

a) Makroskobik bulgular

Makroskobik lezyonların şiddetinin, deneme süresince ölen piliçlerde, denemenin sonunda kesilen piliçlere oranla; IV. ve V. gruplarda da II. ve III. gruplara oranla daha şiddetli olduğu saptandı. Lezyonların akciğerler ve kalp ile özafagus dahil tüm sindirim sistemi ayrıca dalak ve böbreklerde şekillendiği dikkati çekti.

Tablo 3. Gruplarda Şekillenen Ölüm Olayları ve % Ölüm Oranları ile Total Ölüm Oranını Gösteririr Tablo.

Gruplar	Deneme Günleri									%
	16	20	24	28	32	36	40	44	49	Ölüm Oranları
I. Grup										-
II. Grup								+		8.3
III. Grup						+	+			16.6
IV. Grup				+	+	++				33.3
V. Grup		+	+	++	++	+				58.3
Total ölüm oranı										23.3

+: Bir ölüm olayı

Deneme süresince ölen IV. ve V. grup piliçlerde daha belirgin olarak kaşektik bir görünümle birlikte, ölen veya kesilen bütün piliçlerde; karın boşluğunda 20-30 ml., perikardda da 5-10 ml. arasında değişen, keskin kokulu, bulanık, mat görünümlü bir içeriğin varlığı göze çarptı. Ölen piliçlerde; akciğerlerde şiddetli konjesyon ve ödem, tracheade II. ve III. gruplarda daha belirgin olan köpük birikimi dikkati çekti. Kalpte sulkus koronaryus ve sulkus longitudinalis boyunca subepikardiyal ve ayrıca subendokardiyal diffuz, peteşiyal kanamalara rastlandı. Bilateral olarak şekillenen ventriküler dilatasyonda her iki ventrikülüsün de büyüdüğü ve kan ile dolu oldukları tespit edildi. Beşinci grupta 2, diğer deneme gruplarının hemen hemen tamamında özafagusta, özellikle kursağa açıldığı bölgede, 6, 5-7.0 cm. çapına kadar varabilen dilatasyon dikkati çekti. Kursakların ise yumruk büyüklüğüne kadar varan bir hacimde, tam sindirilmemiş pamuk tohumu çekirdeklerinin de bulunduğu yapışkan, gri-mat görünümlü bir

içerikle dolu olduğu tespit edildi. Kursak duvarının inceldiği ve şeffaf bir zar görünümü aldığı gözlendi (Şekil 1). Bütün deneme gruplarında, kursak mukozasında serpiştirilmiş tarzda, muskuler mide mukozasında da mukoza dürümlerine paralel, çok sayıda ülserler ve erozyonlar dikkati çekti (Şekil 2). Ayrıca 4 olguda muskuler mide duvarında perforasyon gözlendi. Glanduler mide mukozasında serpiştirilmiş tarzda peteşiyal ve ekimotik kanamalara rastlandı. Yine glandular ve muskuler midede, kursakta olduğu gibi, tam sindirilmemiş pamuk tohumu çekirdeklerinden oluşan bir içerik vardı.

Bağırsakların seröz yüzeyi hafif hiperemik, mukozası ise ödematöz görünümde, yer yer benekli veya çizgili bir biçimde hemorajikti. Bağırsak mukozası sindirilmemiş pamuk tohumu çekirdeklerinin de bulunduğu koyu boz renkte, parlak, yapışkan, hafif sulu bir içerikle kaplıydı. Bazı olgularda duodenum mukozasında eroziv ve ülseratif odaklara rastlandı.



Figure 1. Kursakta Şiddetli Dilatasyon ve Duvarında İncelme (II. Grup, 5. Hafta).

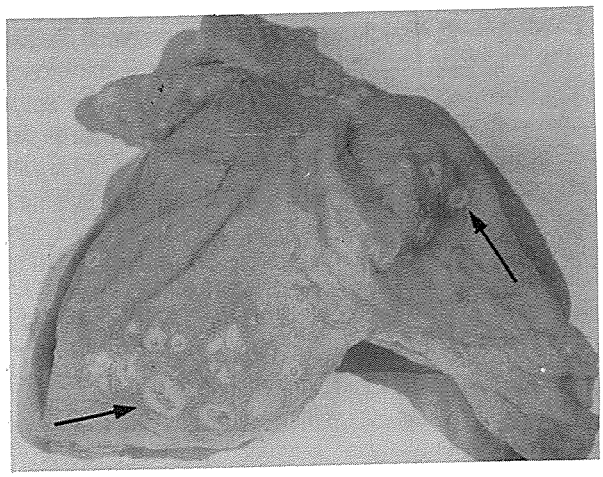


Figure 2. Kursak Mukozasında Fokal Ülserler (Oklar, II. Grup, 5. Hafta).

Hindistan cevizi görünümünde ve gevrek bir kıvamda olan karaciğerde şiddetli konjesyon ile birlikte parietal, viseral ve kesit yüzlerinde fokal, hemorajik ve nekrotik odaklar mevcuttu. Ayrıca safra kesesi duvarı ödemli ve dolgundu.

Dalak ve böbreklerdeki konjesyon ile but ve göğüs kaslarındaki solgunluk ve yarı pişmiş bir görünüm gözlenen diğer makroskobik bulgulardı. Pankreas, timus, tiroid, bursa Fabricius, sinir sistemi ve deride önemli makroskobik bir bulguya rastlanmadı.

b) Mikroskobik Bulgular

Mikroskobik olarak gruplar arasında değişen derece ve şiddette farklı lezyonlar gözlenmesine rağmen, aynı grup içerisinde ölen veya deneme sonunda kesilen hayvanlarda benzer lezyonlar tespit edildi.

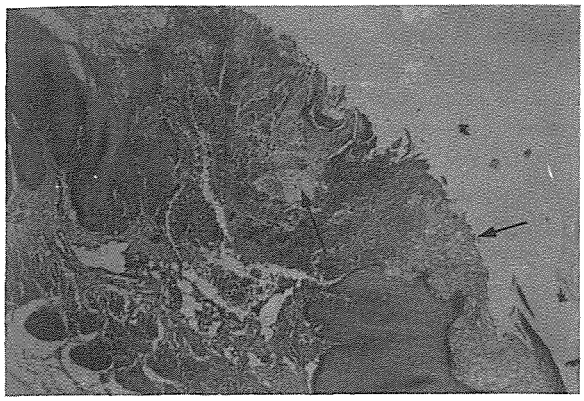
Akciğerlerdeki şiddetli konjesyon dikkati çeken en belirgin bulguydu. Alveollerin lumeni genişlemiş olup, köpüklü, pempemsi renkte ödem sıvısı ve tek tük eritrositlerle doluydu. İnteralveoler septumlarda ödem ve makrofaj infiltrasyonları (epiteloid görünüm) ile karakterize kalınlaşmalar gözlendi.

Kalpte, subepikardiyal ve subendokardiyal ödem ve kanama; miyokardda hiyalin dejenerasyonu ve hafif şiddette mononuklear hücre infiltrasyonları ölen piliçlerde daha şiddetliydi. İkinci grupta olguların tamamında, III. ve IV. grupta bazı olgularda, miykardda kas hücrelerinde hipertrofi ve çekirdek sayılarında artış gözlendi. İskelet kaslarında da, miyokardda olduğu gibi, hiyalin dejenerasyonu ve kanamaların şekillendiği tespit edildi.

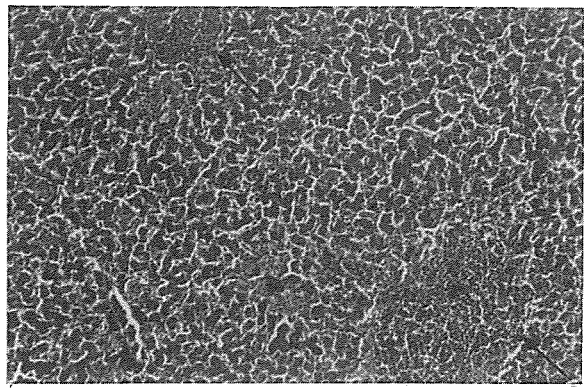
Kursakta ve muskuler midede, hemen hemen bütün deneme gruplarında, submukozaya kadar inen çok sayıda fokal ülseratif odaklar ve bu odakların çevresinde, epitel hürelerinde dejenerasyonlar dikkati çekti (Şekil 3). Propriya mukozada mononuklear hücre infiltrasyonları, bezlerde kistik dilatasyon diğer mikroskobik bulgulardı.

Tüm bağırsak bölümlerinde epitel katta yer yer dökülme, propria mukoza ve submukozada damarlarda hiperemi ve kanamalar dikkati çekti. Kriptlerde dilatasyon, bazı kript epitellerinde de vakuolizasyon gözlendi. Ayrıca bir kısım olgularda, duodenum mukozasında submukozaya ulaşan derin fokal ülserler dikkati çekti. Nekrotik epitel hücre artıkları, eritrosit ve mononuklear hücrelerle birlikte nötrofillerin de bulunduğu bu fokal odakların çevresinde fibröz bağdoku artışı gözlendi.

Karaciğerde deneme gruplarının hemen hemen tamamında dikkati çeken bulgu sentrilobüler konjesyon ve nekrozdu. Bu karaciğerlerde sinuzoidler genişlemiş ve kan ile doluydu. ikinci ve III. gruplarda olguların tama-



Şekil 3. Kursak Mukozasında Ülser ve Çevresinde Epitel Hücrelerinde Dejenerasyonlar (Oklar. II. Grup, 5. hafta). H.E., X 52.8.



Şekil 4. Karaciğerde Lenfoid infiltrasyon (Oklar. II. Grup. 6. Hafta). H.E., x 132.

mında, IV. ve V. gruplarda da deneme sonunda kesilenlerde fokal odaklar halinde ve içlerinde demir pozitif materyal (hemosiderin) bulunan, sitoplazmaları tamamen bununla dolu çok sayıda hepatositlerin ve daha az sayıda da Kupffer hücrelerinin (siderosit) varlığı en önemli mikroskobik bulguydu. Hepatositler şişkin, çekirdek kenara itilmiş ve yarımay görünümündeydi. Bazı bölgelerde bu görünümde olan hücrelerin biraraya gelmesiyle daha geniş çaplı fokal odakların şekillendiği ve bu odakların çevresine çok sayıda lenfositlerin de gelmesiyle tablonun tamamen lenfoid infiltrasyon görünümü aldığı dikkati çekti (Şekil 4). Bu lenfoid infiltrasyon odaklarının çevresinde fibröz bağdoku proliferasyonu gözlendi.

Dalakta, lenfoid merkezlerdeki arterlerde ve trabeküler venlerde konjesyon; venöz sinuslarda dilatasyon ve kanamalar saptandı.

Böbreklerde, olguların hemen hemen tamamında dikkati çeken en belirgin bulgu damarlardaki konjesyondu. Ayrıca proksimal ve distal tubuluslar ile terminal toplayıcı kanal epitellerinde çok sayıda dejenere ve piknotik çekirdekli epitel hücrelerine de rastlandı. ikinci grupta olguların tamamında, III. grupta bazı olgularda tubuluslarda dilatasyon, tubulus eptilellerinde yassılaşma ve lumende hiyalin silindirleri dikkati çekti.

Pankreas, timus, trioid, bursa Fabricius, sinir sistemi ve deride kaydadeğer bir mikroskobik bulguya rastlanmadı.

Biyokimyasal Bulgular

Biyokimyasal analizlerde, verilen pamuk tohumu çekirdeği miktarına paralel bir biçimde SGOT, SGPT, ALP ve LDH enzim aktivitelerinde artışlar saptandı ve bu artışlar T testine göre oldukça önemli ($P<0.001$) bulundu (Tablo 4). Total albumin, Hb ve glikoz düzeylerinin ise azaldığı tespit edildi; bu azalmalar total albumin yönünden önemli ($p<0.05$), Hb ve glikoz değerleri yönünden önemsiz ($P>0.05$) olarak değerlendirildi.

Tartışma

Pamuğun başlıca tohumunda olmak üzere , kök ve küspesinde 15'e yakın toksik glikozit bileşiğin olabileceği bildirilmekte, bu bileşkiler arasında, en yüksek konsantrasyonda gossipolun bulunması nedeniyle, toksikasyonlar da bu ad altında (gossypol toxicosis) ifade edilmektedir (2, 4,6-8). Tohum yada küspedeki gossipol konsantrasyonu ile birlikte protein ve yağ düzeyleri bitkinin türü, yetiştiği toprak ve iklime bağlı olarak değişmektedir (2, 4). Nitekim, G. barbadense türünün sıcak iklimde yetişen G. hirsutum türünden daha toksik

Tablo 4. Gruplara Göre Biyokimyasal Parametrelerin Ortalama Değerleri ile Standart Sapmalarını Gösterir Tablo.

Gruplar	SGOT (I.Ü/ml)	SGPT (I.Ü./ml)	ALP (I. Ü./ml)	LDH (I.Ü./ml)	Total Albumin (g/l)	% gr Hb	Glikoz (mg/dl)
I. Grup (Kontrol)	13.20± 1.91	7.13±0.22	5.08±0.66	75.46±5.42	26.40±2.42	11.34±0.82	249.08±12.04
II. Grup (% 5)	20.08± 1.61	12.81± 0.79	8.21±2.31	112.84±7.68	20.16± 1.82	10.26± 0.96	240.21± 7.76
III. Grup (%10)	33.84± 2.28	21.64±2.15	9.68± 2.84	138.71± 12.52	18.86± 1.74	9.84± 0.78	234.14±10.36
IV. Grup (% 15)	59.46± 4.12	38.71± 3.19	12.42± 3.12	171.44± 13.41	16.38± 1.52	8.64± 0.52	228.86±12.54
V. Grup (% 20)	87.16± 7.94	54.31± 4.03	14.62± 3.96	196.08± 13.60	13.63± 1.30	8.05± 0.74	211.13±10.70

olduğu ifade idlimştir (4). Bu çalışmada G. hirsutum'un yem analiz sonuçları, bir çalışmada (2) bildirilen G. barbadense'ye ait analiz sonuçlarından farklı oranlarda bulunmuştur. Çalışmada G. hirsutum'a ait ham protein, ham yağ, ham selüloz ve ham kül değerleri sırasıyla % 31.28, % 38.86, %9.16 ve % 5.57 olarak hesaplanırken, aynı değerler G. barbadense'de % 49.70, % 21.48, % 6.32 ve % 7.15 olarak bildirilmiştir (2).

Bazı araştırıcılar (17, 18), pamuk tohumu küspesi (PTK)'nin yeme % 30'a kadar; bazıları da (1) %10 oranında ilave edilebileceğini ifade etmişledir. Bu çalışmada, standart ticari yeme en az % 5 ve en fazla % 20 oranlarında herhangi bir işleme tabi tutulmamış pamuk tohumu çekirdeği ilave edilmiş ve toksikasyonun şekillendiği görülmüştür. Yeme % 30'a kadar varan oranlarda PTK ilave edilen broiler piliçlerde toksikasyonun bildirilmeyip, bu çalışmada % 5 oranında pamuk tohumu ilave edilen grupta dahi toksikasyonun şekillenmiş olmasını, ısı ile gossipol toksisitesi arasındaki ters orantı ile açıklamak mümkündür. Nitekim, PTK elde edilmesinde, uygulanan ekstraksiyon işlemi sırasında, ısının etkisiyle pamuk tohumundaki serbest gossipol amino asitlerin epsilon-amino gruplarına bağlanmaktadır. Böylece, daha büyük moleküler ağırlıklı gossipol-protein kompleksinin absorbsiyonu güçleşmekte ve dolayısıyla toksisitesi de azalmaktadır (4,17).

Bir kısım çalışmalarda (3, 11) yumurtacı ırklarda bildirilen yem tüketiminde azalma ve gelişimdeki yavaşlama bu çalışmada da ortaya konan benzer bulgular olmuştur. Ayrıca bir çalışmada (2), belirli oranlarda PTK içeren rasyonla yapılan yedirme denemelerinde yem tüketiminde azalma ve canlı ağırlık artışındaki yavaşlamanın dışında ölümler de bildirilmiş ve bu oran % 12.1 olarak kaydedilmiştir. Bu çalışmada Tablo 2'nin incelenmesinden de anlaşılacağı üzere, yem ve su tüketimindeki azalmaya paralel olarak canlı ağırlık artışında yavaşlama (Tablo 1) ve takiben ölümler şekillenmiş ve % 23 olarak hesaplanmıştır (Tablo 3). Bu çalışmada deneme gruplarında canlı ağırlık artış oranlarındaki yavaşlama ve duraklama yem ve su tüketiminin azalması ile izah edilebilirse de, yem ve su tüketimindeki azalma ayrı bir yorumlamayı gerektirmektedir. Yine çalışmada ölüm oranının diğer çalışmadan (2) oldukça yüksek olması muhtemelen ısı, ekstraksiyon gibi özel bir işleme tabi tutulmayan pamuk tohumundaki gossipolun serbest formda ve dolayısıyla toksisitetesinin yüksek olması ile izah edilebilir. Çalışmada en son ölüm olayının rasyona % 5 oranında pamuk tohumu ilave edilen grupta ve denemenin 44. gününde şekilenmiş olması ise pamuk tohumundaki gossipolun kümültatif toksik etkisine yorumlanabilir.

Literatür taramalarında, gerek yumurtacı gerekse etçi tavuk ırklarında gossipol toksikasyonu üzerine patolojik bir çalışmaya rastlanılmaması, bu çalışmada saptanan klinik ve morfolojik bulguların buzağı, domuz ve köpeklerde bildirilen bulgularla karşılaştırılması zorunluluğunu doğurmuştur. Bir kısım çalışmalarda (5, 7, 8), klinik olarak bildirilen iştahsızlik, kaşeksi, dispnö ve terminal konvülsiyonlar bu çalışmada da gözlenen benzer bulgular olmuştur. Ayrıca, çalışmamızda klinik olarak, toksikasyonun hemen hemen en önemli bulgusu olarak kaydedebileceğimiz "dilatatio ingluviei" olaylarının şekillenmesiyle, kanatlılarda bu toksikasyonun klinik tanısının da kolaylaşacağı düşüncesine varılmıştır.

Çalışmamızda akciğer, kalp, karaciğer, böbrek, dalak ve safra kesesinde gözlenen makroskobik lezyonların diğer çalışmalarda (5, 7, 8) bildirilen lezyonlara paralel olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, sindirim kanalında; domuzlarda (7) enteritis; sığırlarda (5, 6) abomasitis ve enteritis; köpeklerde (8) ise gastroenteritis tablosu ortaya konulmuş, bu çalışmada da benzer olarak, tüm bağırsak bölümlerinde enteritis tablosu dikkati çekmiştir.

Klinik olarak, toksikasyonun en spesifik bulgusu kabul ettiğimiz "dilatatio ingluviei", nekropside kursak mukozasına serpiştirilmiş çok sayıda ülseratif odakların varlığıyla en önemli makroskobik lezyon olarak değerlendirilmiştir. İkinci, III. ve IV. gruplarda olguların tamamında, V. grupta da kesilen piliçlerde kursak ile birlikte muskuler mide mukozasında şekillenen bu fokal ülserler, aynı zamanda "dilatatio ingluvei" olaylarının nedenini de açıklamaktadır. Bu ülserler benzer biçimde, domuzlarda da (7) mide ve ince bağırsak mukozasında bildirilmiştir. Bu çalışmada özafagusta, özellikle kursağa açıldığı bölgede dilatasyon gözlenmesine rağmen, mukozada ülserlere rastlanmamıştır.

Mikroskobik olarak da bu, bu çalışmada; kalp ve akciğer lezyonlarının diğer çalışmalarda (5, 7, 8) bildirilen bulgular ile benzer oluduğu gözlenmiştir. Kalp kası hücrelerindeki dejeneratif değişiklikler gossipolun direk kardiyotoksik etkisyle, hipertrofi ve çekirdek sayılarındaki artış kompenzasyon ile, akciğer lezyonları da, kronik progressiv kalp yetmezliğinden ileri gelen pasif konjesyon ve venöz stasis ile açıklanmıştır (7, 9). Bu çalışmada da diğer çalışmalarda olduğu gibi, klasik olarak da sepesifik bir bulgu özelliği taşımayan akciğerlerde kalp hatası hücrelerine rastlanmamıştır. Fakat bir araştırmada da (7) ifade edildiği gibi hemosiderin ile yüklü olmayan çok sayıda makrofajlara rastlanmıştır. Buzağı, domuz, köpek ve ratlarda (5, 7, 8, 19) karaciğerde bildirilen lezyonlardan farklı olarak dikkati

çeken, toksikasyonun hemen hemen en önemli mikroskobik bulgusu olarak değerlendirebileceğimiz, demir pozitif materyal içeren (hemosiderin) çok sayıda hepatositlerin ve daha az olarak da siderositlerin varlığı ile bu hücrelerin bulunduğu bölgede, fokal odaklar halinde şekillenen, lenfoid infiltrasyondu. Hepositlerdeki dejeneratif ve nekrotik değişiklikler konjesyon ve stasisin bir sonucu olarak şekillenen anoksi ile; hemosiderin pigmentinin varlığı karaciğerin şiddetli kronik pasif konjesyonu ile, Kupffer hücre aktivasyonları da eritrofagositosis ile izah edilebilir. Hemosiderinin kimyasal yapısının % 25-30 oranında demir, diğer kısmının da proteinden ibaret olduğu gözönünde bulunduruluğunda, lenfoid infiltrasyonun bu proteinlerin muhtemel antijenik etkilerinden ileri gelebileceği söylenebilir.

Domuzlarda (7), böbreklerde konjesyon ile birlikte yağ dejenerasyonu da bildirilmesine karşın, bu çalışmada benzer olarak, intertubuler arter ve venlerde konjesyon gözlenmiş fakat yağ dejeneresyonu ortaya konamamıştır.

Kursak, muskuler mide ve duodenum mukozasındaki ülserler, toksikasyonun tanısında diğer önemli mikroskobik bulgulardan biri olark değerlendirilmiştir. Domuzlarda da (7) bildirilen bu ülserlerle birlikte, çalışmamızda ayrıca, epitel hücrelerindeki hidropik dejenerasyonu anoksi ile açıklamak mümkündür.

Gossipol'un toksik etkisi hayvanın türü, yaşı ve toksinin veriliş yoluna bağlı olmakla birlikte, toksikasyonlar hemen hemen benzer mekanizmalar ile şekillenmektedir. Temel metabolik fonksiyonların (eritrositlerin lysisi, Hb'den O_2 salınmasının engellenmesi ve Hb düzeyinin azalımı) değişimine yol açmasının yanısıra, gossipol aynı zamanda, biyokimyasal olarak doğrudan glutathione transferaz'ın inhibisyonuna yol açmaktadır (15, 20). Bazı çalışmlarda (19, 20) karaciğer ve LDH enzim aktivitelerinde bildirilen artışlar, Tablo 4'ün incelenmesinden anlaşılacağı üzere, bu çalışmada da bütün deneme gruplarında saptanmış ve kontrol grubunun üzerinde olan bu artışlar, toksikasyonun teşhisinde biyokimyasal olarak oldukça önemli bulunmuştur. Kontrol grubuna göre serum albumin düzeyindeki azalmalar istatistiksel yönden önemli bulunurken Hb ve glikoz değerlerindeki azalmalar ise önemsiz olarak kaydedilmiştir. Biyokimyasal değerlerdeki bu değişmeler; Hepatositlerin şiddetli nekrozu (a) anoksi (b) ve glutathione transferaz'ın inhibisyonu (c) ile izah edilebilir. Nitekim, karaciğer enzim düzeylerindeki artış hepatositlerdeki nekrozun; LDH enzim aktivitesindeki artış da miyofibrillerdeki (kalp ve iskelet kaslarındaki) dejenerasyon ve nekrozun biyokimyasal kanıtı olarak gösterilmiştir (19, 20). Anoksi ise hücrede ATP düzeyinin azalmasına yol açarak biyokimyasal değişimlere sebep olmaktadır. Zira, ATP düzeyinin azalımı hücrelerdeki glikoz konsantrasyonunun azalmasına yol açmakta ve dolayısıyla protein sentezi engellenmektedir. Karaciğerde, toksik bileşiklerin detoksifikasyonunda rol oynayan ve gossipol tarafından inhibe edilen glutathione transferaz'ın, detoksifikasyondaki fonksiyonunu yerine getirememesi, gossipolun hepatositler üzerindeki kümülatif toksik etkisinin daha da artmasına neden olmaktadır (20).

Bu çalışmada; gözlenen klinik belirtiler, organ ve dokularda şekillenen morfolojik lezyonlar ve ayrıca, biyokimyasal parametrelerdeki değişimlerin, broiler piliçlerde pamuk tohumu toksikasyonlarının tanısında yardımcı olabileceği kanısını vermiştir. Ayrıca, rasyona % 5 oranında pamuk tohumu ilave edilen grupta dahi toksikasyonun şekillenmiş olması, hiçbir işleme (ısı, ekstraksiyon) tabi tutulmamış pamuk tohumlarının, broiler piliçlerin rasyonlarında kullanılmasının uygun olmayacağı sonucunu doğurmuştur.

Teşekkür

Bu çalışmanın gerçekleşmesine katkılarından dolayı Köy-Tür Elazığ Tav. San. ve Tic A.Ş., Elazığ Çukobirlik Tarım Satış Kooperatifi, Ankara il Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü ve Fırat Üniversitesi Bilgi İşlem Daire Başkanlığına teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. 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.
2. Dongmo, T., Pone, D.K., Ngoupayou, J.D.N.: Cottonseed Cake in Breeder Hens Diets: Effect of Supplementation 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. Clarke, E.G.C., Clarke, M. L.: Veterinary Toxicology. Bailliere Tindall, London, 1975.
5. Rogers, P.A.M., Haneghan, T.P., Wheeler, B.: Gossypol Poisioning in young Calves. Irish. Vet. J. 1975: 29: 9-13.
6. Kerr, L.A.: Gossypol Toxicosis in Cattle. The Comp. Food. Anim. 1989: 9: 1139-1146.
7. Smith, H.A.: The Pathology of Gossypol Poisoning. Am. J. Pathol. 1957: 33: 353-365.
8. West, J.L.: Lesions of Gossypol Poisoning in the Dog. J. Am. Vet. M.A. 1940: 96: 74-76.

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

10. 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.

11. Panigrahi, S., Morris, T.R.: Effects of Dietary Cottonseed Meal and Iron-treated Cottonseed Meal in Different Laying Hen Genotypes. Brit. Poult. Sci. 1991: 32: 167-184.

12. Panigrahi, S.: Effects of Treating Cottonseed Meal With a Solution of Ferrous Sulphate on Laying Hen Performance and Discolourations in Eggs. Anim. Feed. Sci. Tech. 1992: 38: 89-103.

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

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

15. Kaneko, J.J., Cornelius, C.E.: Clinical Biochemistriy of Domestic Animals. Vol. 1, Acedemic Press, New York, 1971.

16. A.O.A.O.: Official Methods of Analysis 11 th Edition Association of Official Analitical Chemists. Wasthington, D.C. 1970.

17. Wedegaertner, T.C.: Making the Most of Cottonseed Meal. Feed Man. 1981: 32: 1-2.

18. Ngoupayou, J.D.N., and Njoya, J.: Effect of Feeding Graded Levels of Cottonseed Meal to Broiler Chickens. Rev. sci. et. Techn. Ser. Sci. Zootech. 1985: 1: 13.18.

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

20. Mergner, W.J., Marzella, L., Mergner, C., Kahng, M.W., Smith, M.W. and Trump, B. F.: Studies on the pathogenesis of ischemic cell injury. VII. Proton gradient and respiration of renal tissue cubes, renal mitochondrial and submitochondrial particles following ischemic cell injury. Beitr. Pathol., 1977: 161: 230-243.