

Zeranol İmlante Edilen Erkek Kuzuların İç Salgı Bezleri İle Genital Organlarındaki Patolojik Bulgular*

M.Yavuz GÜLBAHAR¹

Cemalettin KÖKÜUSLU²

Özet

Bu çalışmada zeranol (Ralgro®) implante edilen erkek kuzuların genital organları ile iç salgı bezlerinde meydana gelen değişiklikler değerlendirilmiştir.

Çalışmada 32 adet, 3 aylık (± 10 gün) erkek, Akkaraman ırkı kuzu kullanıldı. Deneme grubundaki kuzuların kulak derisi altına sırasıyla 12 (I. grup), 24 mg (II. grup) ve 96 mg (III. grup) zeranol implante edilerek, 33 gün sonra nekropsileri yapıldı.

Adenohipofizde asidofil hücrelerin sayısı ve büyüklük olarak arttığı, bazofil hücrelerin ise sayısı ve büyüklük olarak azaldığı dikkati çekti. Deneme süresinin sonunda tiroid bezlerinin aktivasyon durumlarının bazı kuzularda azaldığı, bazılarının etkilenmediği veya aktivasyonun arttığı gözlemlendi. Adrenal korteks kalınlığını ise önemli şekilde artırdığı dikkati çekti ($p < 0.01$).

Genital sistemde deneme ve kontrol grupları arasında testiste tubulus çapları ve hücreleri ile Leydig hücrelerinin morfolojileri arasındaki farklılığın önemli olmadığı saptandı.

Zeranolun en belirgin etkisinin eklenti bezleri üzerinde olduğu gözlemlendi. Prostat ve glandula bulbouretralisde hiperplazi ve yassı epitel metaplazisi; ampulla ve glandula vezikülozada ise stromada bağ dokusu artışının daha belirgin olduğu ve bu etkinin zeranol dozundaki artışa paralel olarak belirginleştiği dikkati çekti.

Deneme grubundaki kuzuların hem pelvik hem de penil üretra mukozasında hiperplazi ve epitel hücrelerinde deskuamasyon saptandı. Ayrıca meme başlarında büyüme ile meme başı derisinde çok katlı yassı epitelde hiperplazi ile birlikte, meme bezlerinde alveoler gelişim ve bez lumenlerinde sekresyon artışı gözlemlendi.

Bu bulgular ışığı altında, zeranolun östrojenik etkili bir madde olduğu ve zeranol implantasyonunun Akkaraman erkek kuzuların hem genital hem de endokrin sistemlerini etkilediği ve ileride bu kuzuların damızlık olarak kullanılmalılarının bazı sakıncalara yol açabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Zeranol, Kuzu, Genital sistem, Endokrin sistem.

Summary

Pathological Findings in the Endocrine Glands and Genital Organs of the Male Lambs Implanted with Zeranol

This experiment was conducted to examine the changes on the endocrine glands and reproductive organs in zeranol (Ralgro®) implanted male lambs.

Three-months old thirtytwo male Akkaraman lambs were used for this study. The treatment groups were implanted subcutaneously at the ear of the lambs with 12 mg (Group I), 24 mg (Group II) and 96 mg (Group III) zeranol. The non-treatment group was served as control. After 33 days, all the lambs were necropsied.

The acidophil cells showed a significant increase in number and size, however, there was a significant decrease in number and size of basophil cells in the pars distalis of pituitary glands. Thyroid gland activity in treated groups were noticed to increase in the first treatment and to decrease or remain unchanged in the second treatment in generally. In the treatment groups, a significant increase was observed in adrenal cortex width over the controls ($P < 0.01$).

There was no difference in diameter of seminiferous tubules and morphology of seminiferous epithelium or Leydig cells in testes of zeranol-implanted lambs compared with control lambs.

The effects of zeranol implantation were more evident in accessory sex glands. Epithelial changes as hyperplasia and squamous metaplasia were observed frequently in the prostate and bulbouretral glands whereas, in the ampullae and vesicular glands, stromal changes as an increase of connective tissue associated with increasing the zeranol doses in the treatment groups were more obvious. Hyperplasia and epithelial desquamation in the epithelium of urethra were observed in the treatment groups.

In the mammary glands, alveolar development and secretion in collecting ducts or secretory glands' lumens and an increase in the teat lengths and hyperplasia in squamous epithelium of teats was detected.

This results indicate that zeranol has estrogen-like activity and that zeranol implantation would cause some problems in crossbreeding in male lambs, since effecting both genital tract and endocrine glands.

Key Words: Zeranol, Lamb, Genital organs, Endocrine glands

* Bu çalışma, A.Ü. Araştırma Fonu tarafından desteklenen doktora tezinden özetlenmiştir. (Proje No: 92-30-00-36)

¹ Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, VAN.

² Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, ANKARA

Giriş

İlk kez 1950'li yılların başında yaygın olarak uygulamaya giren büyüme hızlandırıcı maddelerin kullanılması sonucu, insan sağlığı yönünden bazı sakıncaların olabileceği gündeme gelmiştir (1). Özellikle uygulandığı hayvanların doku ve organlarındaki kalıntılarının insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu yönünde bilgiler bulunmaktadır. İtalya (2, 3) ve Porto Riko'da (4-6) 1970'li yılların sonunda incelenen çocuklarda epidemi şeklinde jinekomasti, erken cinsel gelişme ve ovaryum kistleri gözlenmiş ve bu durumdaki çocukların yedikleri hayvansal ürünlerde kökeri bilinmeyen östrojenik maddelere rastlanmıştır. Bu maddeler aynı zamanda, verim artırmak amacıyla uygulandıkları hayvanların bazı organlarında da olumsuz etkiler oluşturmaktadırlar (7-9).

Verim artırıcı olarak kullanılan zeranol, kimyasal olarak farklı yapıda olmasına rağmen, etki şekli ve mekanizması yönünden östrojenlere benzemektedir (10-13). Buna rağmen zeranolum anabolik aktivitesini temelindeki mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir. Zeranol ve benzeri diğer östrojenik yapıdaki eksojen anabolik ajanların etkilerini, dolaşımdaki endojen hormon konsantrasyonlarını değiştirerek gösterdikleri ileri sürülmektedir (14). Zeranol implante edilen sığır ve koyunların endokrin ve diğer reproduktif organlarında gözlenen patolojik değişikliklerin de zeranolum östrojenik etkisinin sonucu olduğu bildirilmektedir (10,11,15-18).

Son yıllarda ülkemizde de güncel olan zeranol'un, kullanıldığı hayvanların genital organlarında oluşturduğu patolojik bulgulara ilişkin bazı çalışmalar bulunmaktadır (19, 20). Bunun yanında genital organlardaki ve bu organlarla çok yakın ilişkili endokrin bezlerde meydana gelen değişikliklerin birarada değerlendirildiği bir çalışmaya ise rastlanılmamıştır. Çalışmada zeranol implante edilen kuzuların bazı iç salgı bezleri ile genital organlarında oluşturulan patolojik bulguların değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada toplam 32 adet, 90 günlük (± 10 gün), erkek, Akkaraman kuzu kullanıldı. Kuzuların bakım ve besleme koşulları gözönüne alınarak, çalışmanın iki yılda tamamlanması planlandı ve denemeler Nisan-Mayıs aylarında yürütüldü. Birinci uygulamada kullanılan 20 adet kuzu, Polatlı Tarım İşletmesi'nden temin edildi ve bunların bakımları Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Eğitim-Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nde; ikinci uygulamada kullanılan 12 adet kuzu ise Bala Tarım İşletmesi'nden temin edildi ve kuzuların bakımları da Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı'na ait hayvan barınağında yapıldı.

Kuzular, denemeye alınmadan önce, çevre koşullarına adaptasyonlarının sağlanması için, bir ay süre ile bekletildiler. Kuzular her iki uygulama döneminde de adaptasyon ve deneme sırasında günde iki kez olmak üzere, %17 protein içeren, 2600 Kcal Metabolik enerji (ME)'li kuzu büyütme yemi, kuru ot ve samandan oluşan

rasyon ile beslendi. Bu sürede kuzuların gerekli klinik ve parazitolojik muayeneleri ile aşılama yapılarak sürekli kontrol altında tutuldular. Adaptasyon süresinin sonunda kuzular daha önceden hazırlanan bölmelere, 1 kontrol, 3 deneme grubu olmak üzere 4 ayrı grup halinde ve her grupta eşit sayıda (birinci denemede 5'er, ikinci denemede ise 3'er kuzu) olmak üzere, kuzular rastgele seçilerek yerleştirildi ve toplam olarak 32 kuzu kullanıldı. Her bir kuzunun sol kulaklarına numara takıldı ve bunların kayıtları yapıldı.

Deneme grubundaki kuzuların sağ kulak derileri altına sırasıyla 12 mg (I.grup), 24 mg (II.grup) ve 96 mg (III.grup) zeranol (Ralgro®, International Mineral and Chemical Corporation= IMC) pelletleri özel implantasyon tabancası ile implante edildi. Kontrol grubuna hiçbir işlem yapılmadı. Kuzular 33 gün süre ile aynı rasyonla beslendi. Bu sürenin sonunda kuzuların Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı'nda otopsileri yapıldı ve makroskopik bulguları belirlendi.

Kontrol ve deneme gruplarına ait kuzulardan alınan genital organlar (testis, epididimis, duktus deferens, ampulla, gl. veziküloza, prostat, gl. bulboüretalis=Cowper bezi, üretra ve meme) ve iç salgı bezleri'ne (hipofiz, tiroid, adren ve pankreas) ait doku parçaları %10'luk tamponlu nötral formalinde tespit edildi. Parafin bloklarından elde edilen 5-6 mikron kalınlığında kesitler hematoksilin-eosin (HE) ile boyandı. Ayrıca hipofizden alınan kesitler Mallory boyası ile; testis, epididimis ve adrenden alınan kesitler ise PAS ve Masson üçlü boyama tekniğine göre boyandı (21).

Mikroskopik incelemede, testiste seminifer tubullerin çapları ile bazal membran kalınlıkları; kauda epididimiste duktus çapı ve epitel uzunlukları; adrenlerde ise korteks kalınlığı oküler mikrometre ile ölçüldü. Bu işlem için testisin tüm bölümlerinden (kaput, korpus ve kauda) seçilen, sirküler yapıdaki 24 adet seminifer tubulusun bazal membranlarından itibaren çapları ölçüldü ve ortalamaları alındı. Kauda epididimiste de sirküler yapıda olan 10 adet duktusun hem çapı hem de epitel uzunluğu ölçülerek ortalamaları alındı. Adrenal korteks kalınlığının ölçümünde ise sol adren dikkate alındı ve 10 değişik yerinden ve hemen kapsula altından itibaren medullanın başlangıç yerine kadar ölçüldü ve ortalama değerleri alındı. Her üç organdan alınan değerler "student t" testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular

Endokrin Sistem

Hipofiz: Makroskopik olarak, kontrol ve deneme gruplarındaki hipofizlerde herhangi bir bulguya rastlanmadı.

Pars distalisten alınan kesitlerin Mallory tekniğine göre yapılan boyanmalarında 3 farklı hücre tipi ayırt edildi.

Buna göre, kontrol ve deneme gruplarının tümünde asidofil hücrelerin bazofil hücrelerden daha fazla sayıda

olduğu gözlemlendi. Sitoplazmik granülleri kırmızıya boyanan, oval ya da yuvarlak şekilli asidofililerin çoğunlukla pars distalisin lateral ve dorsal bölgelerinde yoğunlaştıkları gözlemlendi. Asidofililerin deneme gruplarında ve özellikle de III.grupta sayıca belirgin şekilde arttıkları ve kontrol grubundakilere göre daha iri yapıda oldukları görüldü (Resim 1B). Bu hücreler yer yer küçük gruplar ya da kordonlar halinde, dorsale doğru uzanmışlardı.

Mallory tekniği ile mavi renge boyanan bazofiller ise pars distalisin hemen her tarafına dağıldıkları, ancak asidofililerin yoğun görüldükleri bölgede daha az sayıda olmaları dikkati çekti. Bu hücreler pars distalisin her tarafında ve sinuzoidler çevresinde yoğun olarak gözlemlendi. Deneme gruplarında bu hücrelerin sayısal ve hacim olarak da azaldıkları dikkati çekti (Resim 1B).

Kromofob hücrelerin pars distalisin her tarafına dağılmış halde ve diğer hücrelere oranla yoğun olduğu dikkati çekti. Mallory tekniği ile yapılan boyamada bu hücreler gri renge boyandı. Ayrıca bu hücrelerin gruplar arasında, sayısal ve hacim olarak farklı olmadıkları gözlemlendi (Resim 1B).

Tiroid: Makroskobik olarak kontrol ve deneme gruplarındaki tiroidlerde lezyon gözlenmedi.

Mikroskobik inceleme sonunda kontrol ve deneme gruplarındaki kuzulara ait tiroid bezlerin aktivite durumları Tablo 1'de görülmektedir. Deneme gruplarındaki kuzuların tiroid bezlerinin kontrol grubundakilere göre genellikle daha aktif durumda olduğu, aktivitenin II. ve III. gruplarda ise arttığı görüldü. Ancak ikinci uygulamada, kuzuların tiroid bezi aktivasyonunun ilk uygulamaya göre azaldığı veya etkilenmediği dikkati çekti.

Tablo 1. Tiroid bezlerindeki aktivasyon durumları.

Kontrol	Aktivite	I.Grup	Aktivite
146/93	*	151/93	**
147/93	**	152/93	**
148/93	*	153/93	*
149/93	*	154/93	*
150/93	*	155/93	**
189/94	*	192/94	0
190/94	*	193/94	*
191/94	0	194/94	0
II.Grup	Aktivite	III.Grup	Aktivite
156/93	**	161/93	**
157/93	**	162/93	**
158/93	*	163/93	**
159/93	**	164/93	*
160/93	**	165/93	**
195/94	0	198/94	*
196/94	*	199/94	0
197/94	*	200/94	*

Aktivite : 0 hipoaktif, * aktif, ** hiperaktif

Hipoaktivite gösteren bezlerde folliküllerin yassı epitelle döşeli, yoğun ve homojen dağılımlı kolloide sahip oldukları gözlemlendi. Kenar vakoulezasyonuna ise

rastlanmadı (Resim 2A). Aktif durumdaki tiroid bezlerinde follikül çaplarının genelde küçük oldukları ve follikül epitellerinin silindirik durumdan kübik duruma değiştiği gözlemlendi. Bu şekildeki folliküllerde kolloid yoğunluğunun azaldığı ve kenar vakoulezasyonlarında artış dikkati çekti. Aktif olarak nitelendirilen bezlerde hipoaktiviteyi belgeleyen, iri çaplı ve kolloidi yoğun, yassı epitel hücreleri ile döşeli folliküllere rastlanmış, ancak bunların sayıları az olduğu için değerlendirmeye alınmamıştır.

Hiperaktivite gösteren bezlerde genellikle soluk pembe renkteki kolloid, hemen hemen rezorbe olmuş durumdaydı. Ayrıca kenar vakuelleri geniş boşluklar halindeydi. Bu şekildeki bezlerde, folliküller silindirik epitele sahipti ve bazılarında epitel çekirdeklerinin hiperkromatik görünümde olduğu dikkati çekti. Kolloidi tamamen rezorbe olan folliküllerin çoğunluğunun duvarında katlanmalar ile lumene doğru invaginasyonlar şekillenmişti. Bazı folliküller ise tamamen kollabe olmuştu. (Resim 2B).

Yine hem kontrol ve hem de deneme gruplarında, parafolliküler hücrelerde (C hücreleri) ve folliküler hücrelerde fokal hiperplaziye rastlandı. Bu durum belli bir grup seçiciliği göstermedi. Ayrıca tüm gruplarda duvarı çok katlı yassı epitelle döşeli ve yer yer de keratinize ultimobronşiyal kistlere rastlandı.

Adren: Makroskobik olarak kontrol ve deneme grupları arasında farklılık gözlenmedi.

Histolojik incelemede, korteks kalınlıklarının oküler mikrometre ile yapılan ölçümlerinden elde edilen sonuçlar Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Adrenal korteks kalınlıkları (μm).

	n	X	SX
Kontrol grubu	8	1681,0	\pm 113,0
I. Grup	8	2228,2	\pm 76,5*
II. Grup	8	2163,0	\pm 137,0*
III. Grup	8	2126,0	\pm 98,5*

* ($P < 0.01$)

Kontrol grubu ile deneme grupları arasındaki fark ayrı ayrı önemli olmasına ($P < 0.01$) rağmen, deneme grupları arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır (Tablo 2).

Deneme gruplarındaki kuzulara ait adrenlerin çoğunluğunda kortekste diffuz hiperplazi gözlemlendi. Böyle adrenlerde zona fasikülata ve z. retiküleristeki hücreler yer yer vakuollü yapıdaydı ve çekirdeklerinin ise daha koyu renkte olduğu gözlemlendi. Korteks ile medullar sınır daha düzensizdi ve yer yer kortikal hücrelerin medullaya doğru kordonlar halinde girinti yaptıkları dikkati çekti. Ayrıca I. ve II.grupta ikişer, III.grupta ise bir kuzuda kortekste noduler hiperplazi saptandı.

Pankreas: Kontrol ve deneme gruplarında makroskobik ve mikroskobik herhangi bir lezyona rastlanmadı.

Genital Sistem:

Testis: Makroskopik olarak kuzuların hiçbirisinde lezyona rastlanmadı.

Mikroskopik olarak kontrol grubu ile deneme grupları arasında seminifer tubuluslarda spermatogenezin aşamaları bakımından farklılık yoktu. Seminifer tubulusların genellikle bir-iki sıralı spermatogonial germ hücreleri ve indiferent hücrelerle döşeli oldukları ve spermatogenezin aktif olarak başlamadığı dikkati çekti. Bununla birlikte kontrol grubunda üç, I.grupta bir, II. ve III.gruplarda ise ikişer kuzuya ait testiste tubuluslarda az sayıda spermatozoid ve Sertoli hücreleri yanında, intratubuler lumen oluşumu gözlemlendi. Ancak hiç bir kuzuda spermatozoid ve spermatozoaya rastlanmadı.

Mikrometre ile ölçülen seminifer tubulus çapları ile bazal membran kalınlığı bakımından kontrol ve deneme grupları arasında farklılık yoktu.

İnterstitiyel hücreler incelendiğinde, tüm gruplarda genelde oval-yuvarlak çekirdekli differensiyel Leydig hücreleri yanında, diffuz veya fokal olarak, lenfosit benzeri, koyu çekirdekli küçük indiferent hücrelere de rastlandı. Bunun dışında herhangi bir bulgu saptanmadı.

Epididimis: Makroskopik olarak hiçbir kuzuda epididimis bölümlerinde lezyon görülmemesine karşın, deneme gruplarındaki bazı kuzulara ait (Kuzu No:154/93, 155/93, 157/93, 161/93, 162/93, 163/93, 164/93, 165/93, 199/94, 200/94) kauda epididimisinin biraz büyükçe oldukları dikkati çekti.

Kauda epididimisteki duktusların lumen çapı ve epitel uzunluklarının mikrometre ile yapılan ölçümlerinde kontrol ve deneme grupları arasında farklılık önemli bulunmamıştır. Bunun yanında deneme gruplarındaki bazı kuzularda bazal hücreler yer yer proliferasyon gösterdiğinden prinsipal hücrelerle aralarındaki sınır seçilemedi. Bu şekildeki duktusların siliasız olduğu ve supranükleer sitoplazmik boşluğun da kaybolduğu gözlemlendi. Duktusları çevreleyen fibromusküler dokuda ise hafif artış kaydedildi. Ayrıca deneme gruplarındaki bazı kuzularda (Kuzu No: 151/93, 152/93, 153/93, 155/93, 157/93, 158/93, 163/93, 164/93, 195/94, 199/94, 200/94) daha çok korpus ve kauda epididimisteki duktuslarda fokal olarak kistik genişlemeler dikkati çekti. Bunların çevrelerinde de hafif mononükleer hücrelere rastlandı. Kistik durumdaki duktuslar, her kuzuda ve yaygın olmadığından ölçüm dışında tutuldu.

Duktus Deferens: Kontrol ve deneme gruplarında makroskopik ve mikroskopik lezyona rastlanmadı.

Ampulla: Makroskopik olarak, deneme gruplarındaki bazı kuzularda ampulla bölgesinin daha kalın görünümde olduğu dikkati çekti.

Histolojik olarak bezlerde yer yer alveoler yapının azaldığı, bez epitelinin hiperplazik oldukları ve interstitiyumda da bağ doku artışı gözlemlendi. Bu lezyonlar II. ve III.gruplarda daha belirgindi. Ampulla ve diğer eklenti bezlerinde gözlenen lezyonlar Tablo 3'de gösterilmektedir.

Glandula veziküloza (Veziküla seminalis): Deneme gruplarında zeranol dozundaki artışa bağlı olarak,

özellikle de III.gruptakilerde bezin total olarak büyüdüğü dikkati çekti (Resim 3B).

Mikroskopik incelemede deneme gruplarında bezlerde alveoler yapı azalmıştı ve bez epitelileri hiperplazik görünümdeydi. Bazılarının kistik şekilde genişlediği ve hiperplazik epitelilerin lumenine papiller çıkıntılar yaptığı dikkati çekti (Resim 4B). Kistik tarzda genişleyen bezlerin lumenlerinde sekresyon birikimi ve dökülmüş epitel hücreleri görüldü. Bazı kuzulara ait bezlerde ise hafif şekilde metaplaziye rastlandı. Deneme gruplarındaki kuzuların glandula vezikülozalarında göze çarpan en belirgin bulgu interstitiyumda bağ doku artışı idi (Resim 4B). Bu bulgular II. ve III.gruplarda daha belirgindi (Tablo 3). Bir kuzunun (164/93) gl.vezikülozasında interstitiyumda fokal mononükleer hücre infiltrasyonlarına rastlandı.

Prostat: Prostata ait bezlere pelvik üretra boyunca, üretranın dorsal ve lateralinde dissemine olarak rastlandı. Deneme gruplarındaki kuzuların pelvik üretra bölgesinin kontrollere göre daha hipertrofik görünümde olduğu dikkati çekti (Resim 3B).

Prostatada rastlanan mikroskopik bulgular II. ve III. gruptaki kuzularda daha belirgindi (Tablo 3). Bu gruplardaki kuzularda şiddetli hiperplazi ve metaplazi gösteren bazı bezlerin kistik hal aldığı ve lumenlerinin pembe homojen sekret ve dökülmüş epitel hücreleri ile dolu olduğu gözlemlendi (Resim 5B). Bunun yanında deneme grubundaki tüm kuzuların prostatlarının akıtıcı kanal epitelinde belirgin derecede hiperplazi dikkati çekti.

İnterstitiyumda ise bağ doku artışının yanı sıra bazı olgularda (Kuzu No:153/93, 164/93) diffuz mononükleer hücre infiltrasyonuna rastlandı.

Glandula bulboüretalis (Cowper Bezi): Pelvik üretranın sonunda çift olarak bulunan bezde, zeranol uygulananlarda belirgin bir büyüme gözlemlendi. Üçüncü gruptaki bazı kuzulara ait bezlerde (Kuzu No:161/93, 163/93, 165/93, 198/94) nodül oluşumuna rastlandı (Resim 3B). Hipertrofik görünümdeki bezlerin kesit yüzlerinin gözenekli yapıda olduğu ve yer yer kistik hal aldığı ve lumenlerinden akışkan olmayan bir sıvının sızdığı dikkati çekti.

Mikroskopik incelemede, prostattakine benzer bulgularla karşılaşıldı. Belirgin şekilde hiperplazi ve metaplazi yanında, kistik şekilde genişlemiş ve duvarı çok katlı yassı epitel halini almış bezlere sıklıkla rastlandı (Resim 6B). Bunların lumenleri dökülmüş epitel hücreleri ve homojen pembe renkte materyal ile doluydu. Akıtıcı kanal epitelinde de belirgin hiperplazi gözlemlendi.

İnterstitiyumda bağ doku artışı yanında, özellikle kistik yapıdaki bezlerin daha sık olduğu bazı olgularda (Kuzu No: 161/93, 164/93, 165/93, 198/94) aralarında nötrofil lökositlerin de bulunduğu mononükleer hücre infiltrasyonuna rastlandı. Mikroskopik lezyonlar III. grupta daha şiddetliydi (Tablo 3).

Üretra: Deneme grubundaki kuzuların pelvik üretra lumenlerinin kontrollere göre daha geniş olduğu dikkati çekti. Ayrıca prostatta şekillenen bulgulara bağlı olarak,

üretanın dorsal ve lateralden baskılandığı ve lumeninin girintili çıkıntılı görünümde olduğu gözlemlendi. Penil uretrada ise herhangi bir makroskopik bulguya rastlanmadı.

Üretanın her iki bölümünde de I. ve II.gruplarda hiperplazinin, III.grupta ise metaplazinin daha belirgin olduğu görüldü (Resim 8). Bazı olgularda hiperplazi nedeniyle penil uretra lumeninin oldukça daraldığı ve mukozanın dantela görünümünün kaybolduğu dikkati çekti. Şiddetli hiperplazi ve metaplazi gözlenen olgularda yer yer epitel hücrelerinde deskuamasyon ile bazı kuzularda (Kuzu No:152/93, 160/93) pelvik uretra çevrelerinde hafif mononükleer hücre infiltrasyonuna rastlandı.

Kontrol grubundaki kuzulara ait eklenti bezleri (Resim 4A,5A,6A) ile üretralarında (Resim 7) herhangi bir lezyona rastlanmadı.

Meme: Deneme grubundaki kuzuların meme başları zeranol dozundaki artışa paralel olarak, kontrollere göre daha büyük yapıda idi (Resim 9).

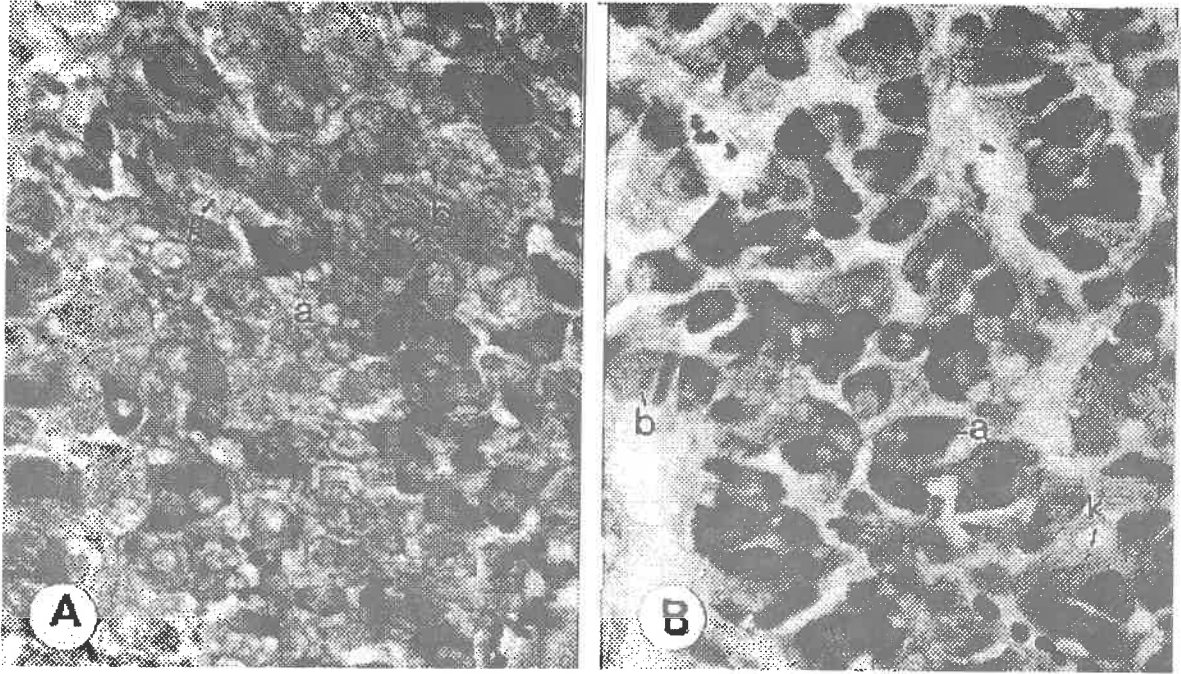
Mikroskopik incelemede, kontrol grubu kuzularda meme dokusunun gelişmemiş duktuslardan ibaret olduğu ve stromasının ise daha gevşek yapıda bulunduğu gözlemlendi (Resim 10A). Ayrıca alveoler yapıya rastlanmadı. Deneme gruplarındaki kuzularda alveoler gelişim yanında, bazı kuzuların (Kuzu No:152/93, 153/93, 156/93, 157/93, 158/93, 196/94, 162/93, 164/93, 165/93, 198/94, 199/94, 200/94) duktus epitellerinde hiperplazi görüldü. Deneme gruplarında alveoler gelişim gösteren meme bezlerinde ve toplayıcı kanallarda pembe renkte, homojen bir sekresyon materyaline rastlandı (Resim 10B). Ayrıca meme başı derisinde çok katlı yassı epitelin daha hiperplazik olduğu saptandı.

Tablo 3. Eklenti bezlerinde gözlenen bulgular

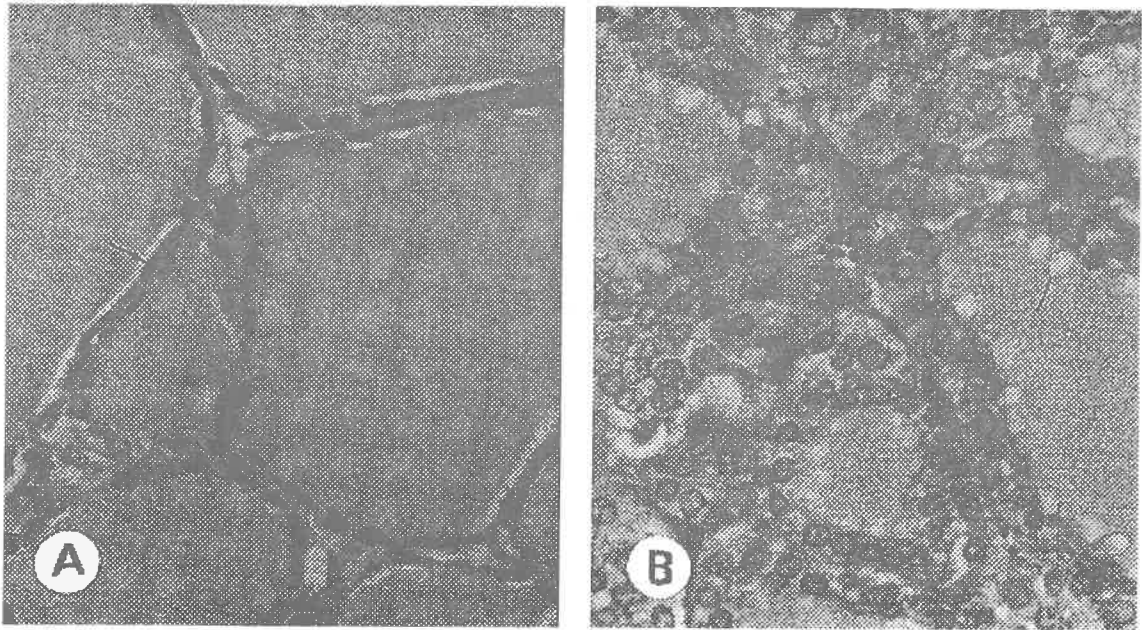
Kuzu No Organ	I. Grup (12 mg)						II. Grup (24 mg)						III. Grup (96 mg)							
	151 93	152 93	153 93	154 93	155 93	156 93	157 93	158 93	159 93	160 93	161 93	162 93	163 93	164 93	165 93	166 93	167 93	168 93	169 93	170 93
Ampulla																				
Hiperplazi	++	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Metaplazi	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Alveoler yapıda azalma	++	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Bağ doku artışı	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Gl. Vezikuloza																				
Hiperplazi	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Metaplazi	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Alveoler yapıda azalma	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kistik genişleme, *desk. ve sekr.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Bağ doku artışı	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Prostat																				
Hiperplazi	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Metaplazi	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Kistik genişleme, *desk. ve sekr.	+	++	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Aktıcı kanal																				
epitel hiperplazisi	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Bağ doku artışı	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Gl. Inhibütralis																				
Hiperplazi	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Metaplazi	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Kistik genişleme, *desk. ve sekr.	+	+++	+++	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Aktıcı kanal																				
epitel hiperplazisi	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Bağ doku artışı	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Bulgunun derecesi: + hafif, ++ orta, +++ şiddetli, 0 bulgu yok

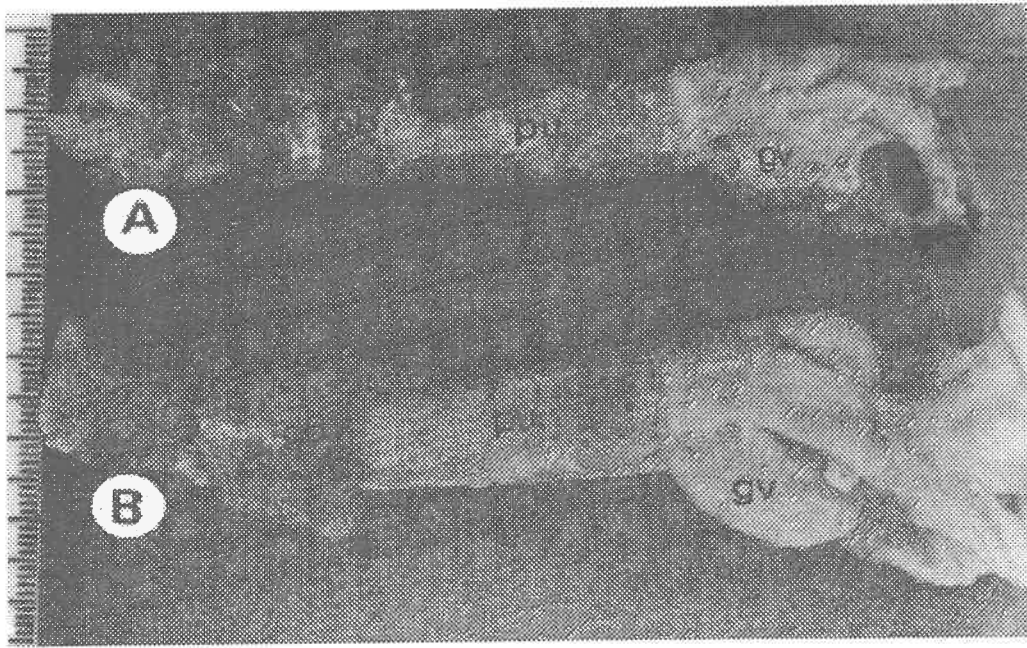
* Bez epitellerinde deskuamasyon ve sekresyon materyalinde artış



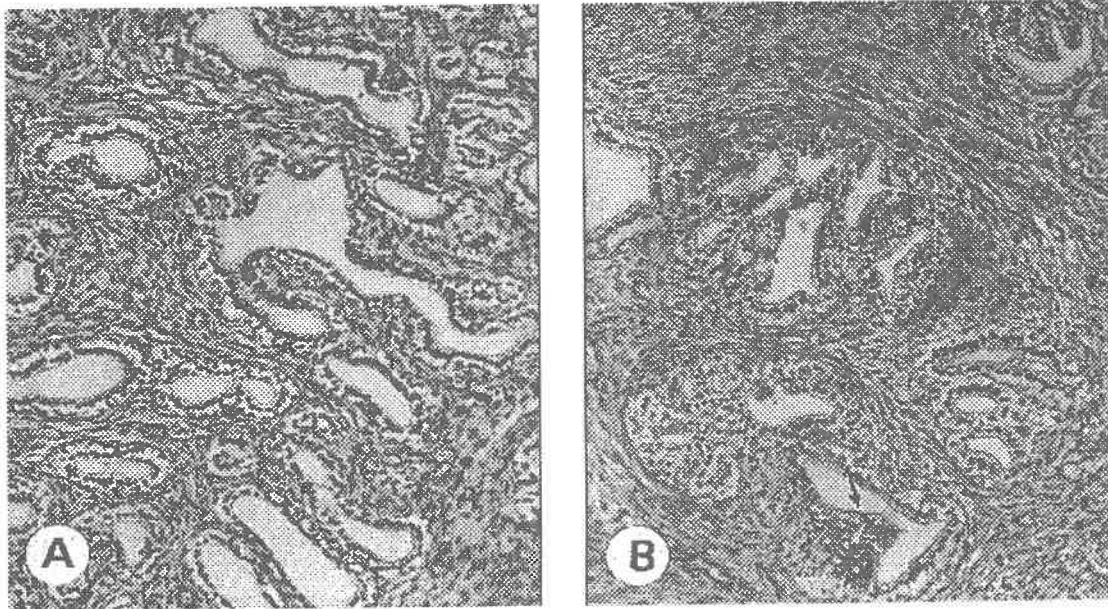
Resim 1 Adenohipofiz, pars distalis. Deneme gruplarında asidofil hücrelerde sayısal ve hacim olarak artış. **A)** Kontrol grubu, **B)** I Grup. Asidofil hücreler (a), bazofil hücreler (b), kromofob hücreler (k), Mallory boyası, X 510.



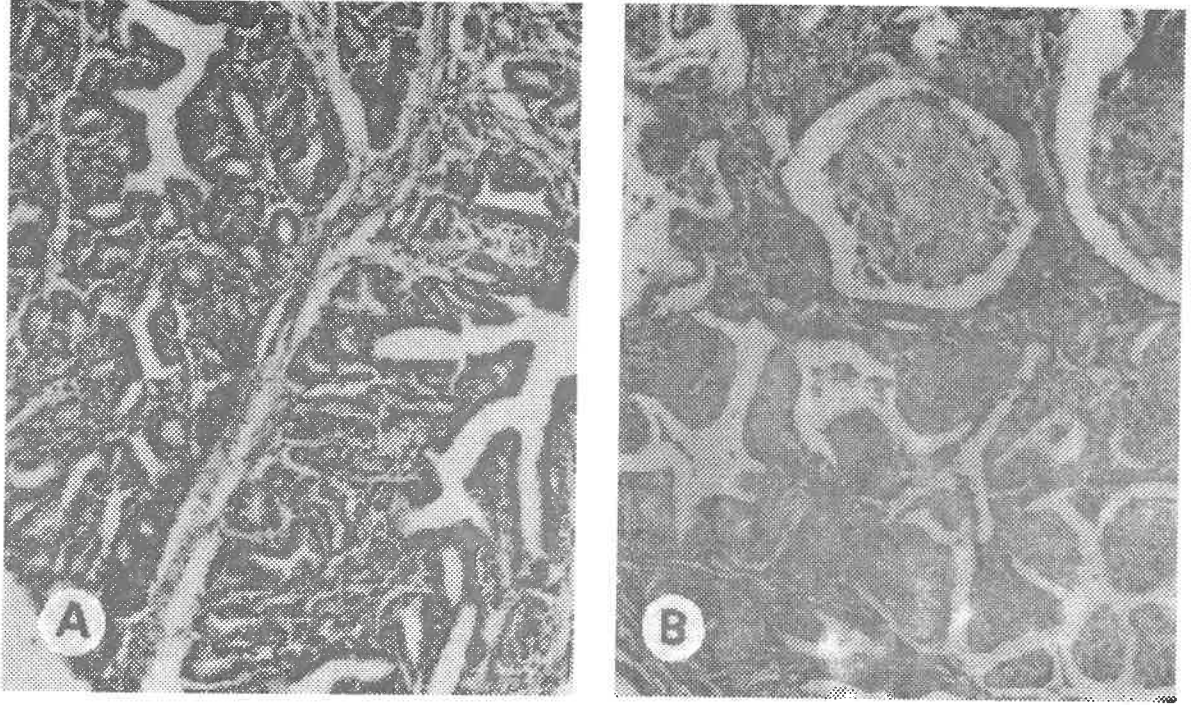
Resim 2. **A)** Tiroid bezinde aktivasyon azalması: Follikül çaplarında büyüme yanında epitel hücrelerin yassı görünümünde (ok) ve kolloid yoğunluğu artmış durumda. Kenar vakuollerine rastlanılmamakta. **B)** Aktivasyon artışı: Follikül epitelleri kübik-prizmatik yapıda, kolloid yoğunluğunda azalma ve kenar vakuollerinde artış (ok). HE, X 400.



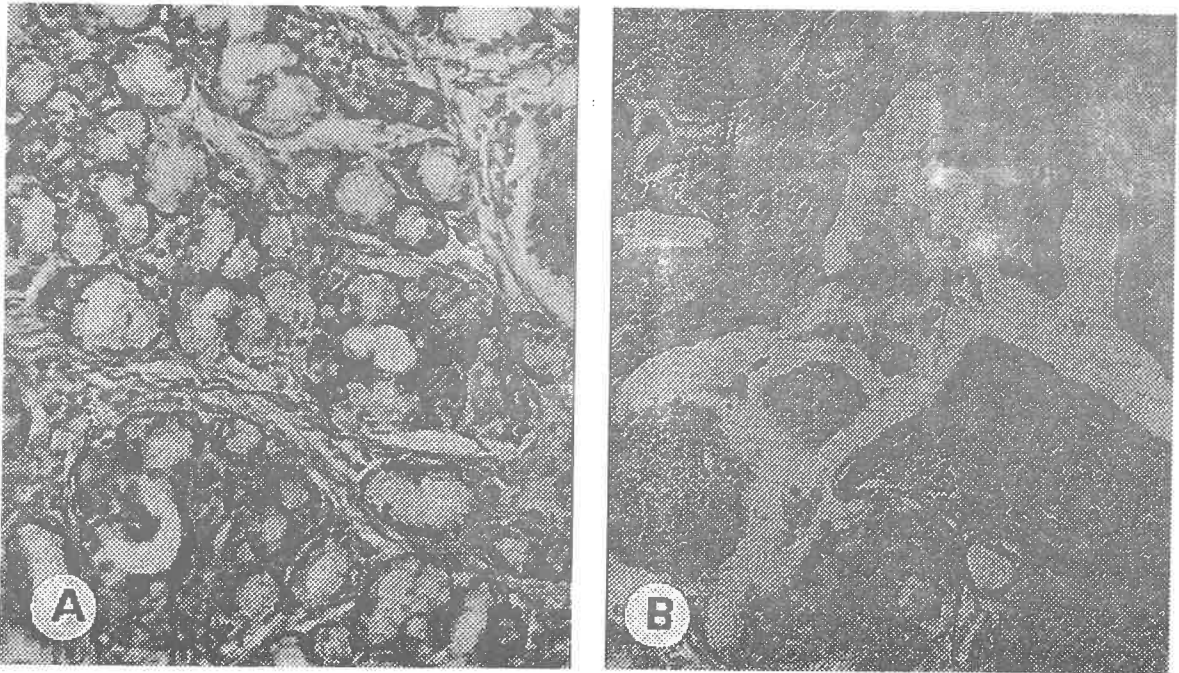
Resim 3. Eklenti bezleri. 96 mg zeronol implante edilen kuzuya ait eklenti bezlerinde total olarak büyüme yanında, glandula bulboüretaliste nodül oluşumu(Ok). Prostatta şekillenen lezyonlara bağlı olarak pelvik üretra (pu) bölgesinde belirgin bir kalınlaşma dikkati çekmekte. A) Kontrol grubu, B) III.grup. Glandula veziküloza (gv), glandula bulboüretalis (gb).



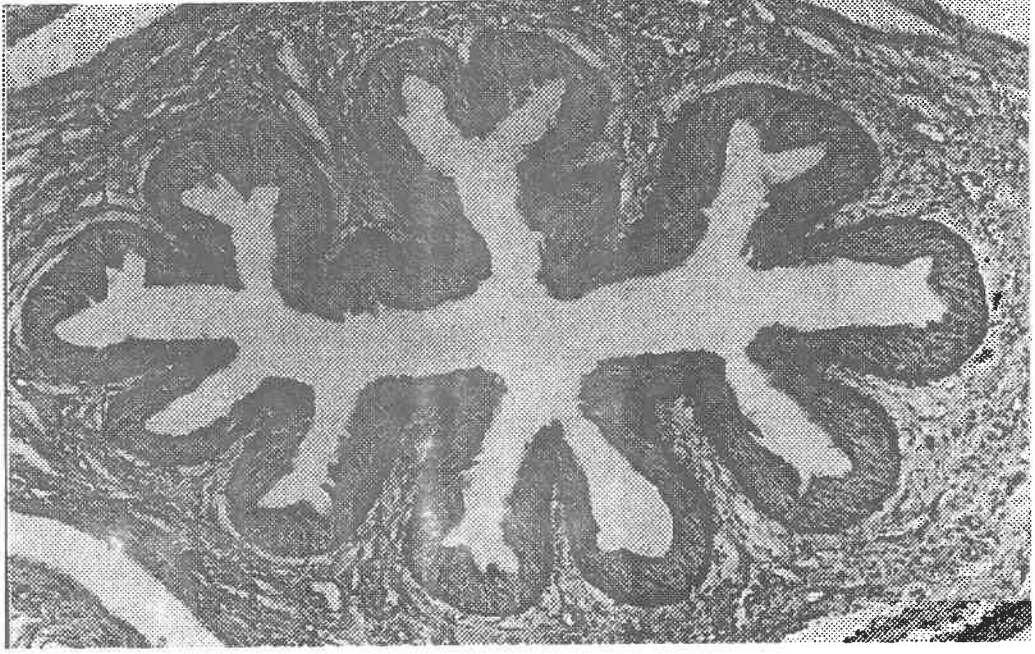
Resim 4. Glandula veziküloza. A) Kontrol grubu. B) I.grup: İntersitisyel dokuda artış yanında, alveoler yapının azalması ve bez lumenlerine yer yer papiller tarzda hiperplaziler (ok), HE, X 100.



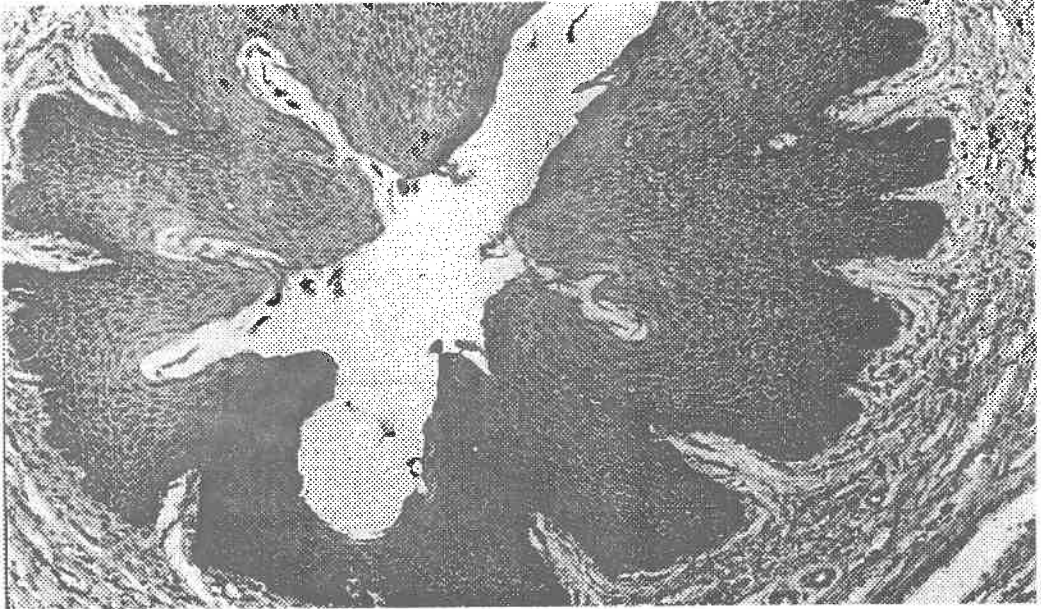
Resim 5. Prostat, A) Kontrol grubu, B) I.grup: Bezlerde ileri derecede yassı epitel metaplazisi, lumende dökülmüş epiteller ve sekresyon artışı. HE, X 100.



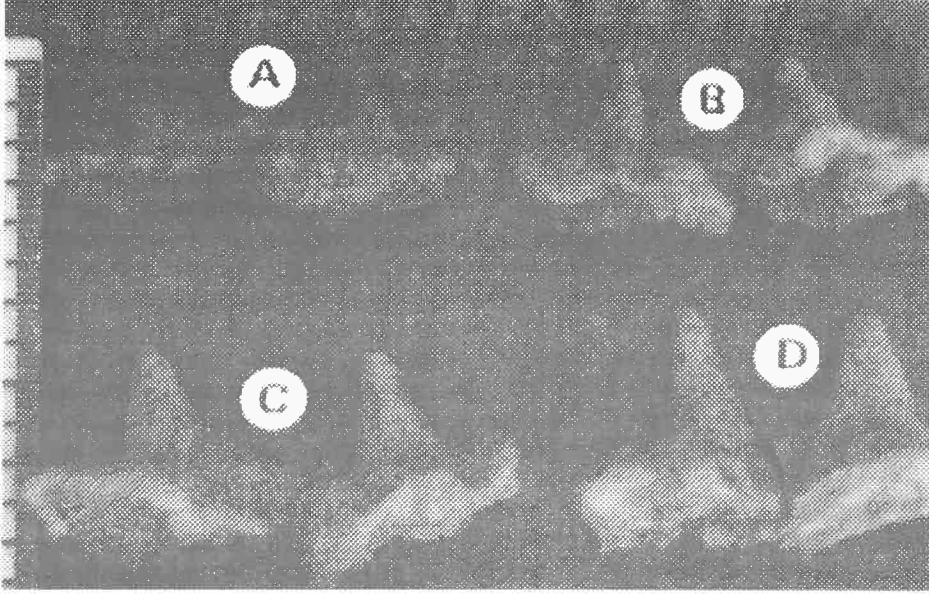
Resim 6. Glandula bulboüretalis. A) Kontrol grubu, B) I.grup: Bezlerde hiperplazi yanında belirgin yassı epitel metaplazisi. Lumende dökülmüş epitel hücreleri ve sekresyon artışı. HE, X 130.



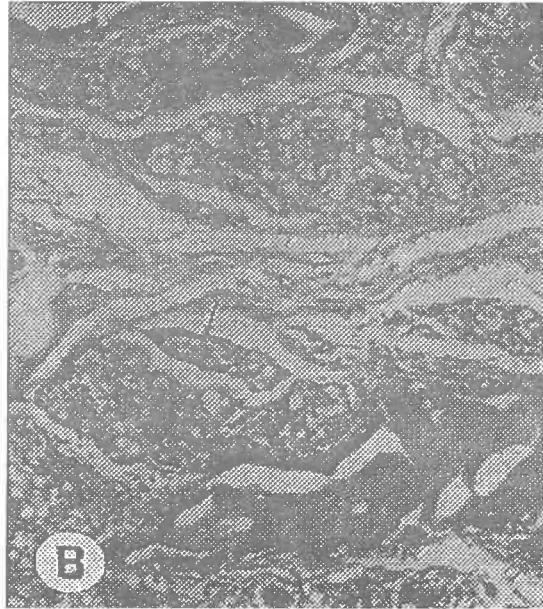
Resim 7. Penil üretra, kontrol grubu. HE, X 100.



Resim 8. Penil üretra mukozasında belirgin derecede hiperplazi ve epitel hücrelerinde hafif dökülme. HE, X 100.



Resim 9. Meme başında büyüme. A) Kontrol grubu, B) I. grup, C) II. grup, D) III. grup.



Resim 10. A) Kontrol grubu kuzuya ait meme dokusu. Gelişmemiş duktuslar yanında alveoler yapı gözlenmemekte. B) 12 mg zeronol implante edilen kuzuya ait meme dokusu. Alveoler gelişim(ok) ile birlikte bez lumenlerinde ve duktuslarda pembe homojen bir materyal. HE, X 100.

Tartışma ve Sonuç

Zeranol, kuzularda anabolik amaçlı olarak, Food and Drug Administration örgütünün 1970 yılında belirlediği gibi, kulak derisi altına implantasyon şeklinde 12 mg dozda ve 40 gün aralıklarla kullanılmaktadır (22). Zeranol ve metabolitlerinin akut ya da kronik toksisitesinin incelendiği çalışmalarda daha çok oral veya intraperitoneal yol kullanılmıştır. Fare ve ratlarla yapılan akut toksisite çalışmalarında zeranolun oral olarak LD₅₀'si >40000 mg/kg olarak belirlenmiştir. Kronik toksisite çalışmaları ise zeranolun fizyolojik etkileri yanında mutajenik ve karsinojenik etkileri yönünden, özellikle köpeklerde 37 mg/kg/gün dozda ve 7 yıl süreyle, maymunlarda ise 75 mg/kg/gün dozda ve 10 yıl süreyle oral yollarla yürütülmüştür. Bu çalışmalar sonucunda zeranolun ya da metabolitlerinin östrojenik etkileri dışında, mutajenik ya da karsinojenik etkisinin olmadığı bildirilmiştir (11). Bu çalışmada zeranol, 12 mg'lık anabolik etkili doz yanında, 24 ve 96 mg gibi yüksek ve tek dozda implantasyon şeklinde kullanılmış ve zeranol uygulamaları 33 gün sonra tamamlanmıştır.

Zeranol implantasyonu adenohipofizde bulunan asidofilik ve bazofilik özellikteki hücrelerin sayı ve sekresyon aktivitelerini değiştirmektedir. Bu çalışmada, önceki çalışmalara (17, 23) paralel olarak artan dozla birlikte, zeranolun adenohipofizde asidofil hücrelerin sayı ve aktivitelerini artırdığı, buna karşılık bazofilik hücrelerin aktivitelerini ise baskıladığı gözlenmiştir. Fonksiyonu ve gelişmesi hipofiz hormonlarının etkisi altında olan bazı endokrin ve genital sistem organlarında hafif derecede, bazılarında ise hiçbir bulguya rastlanmamıştır. Çalışma sırasında kuzuların plazma hormon düzeylerinin belirlenmemesi nedeniyle, bu organlarla hipofizde rastlanan bulgular arasında belirgin bir korrelasyon kurulamamıştır.

Zeranol ve diğer östrojenik maddeler adrenel korteks kalınlığı ve bezin total ağırlığını artırmaktadır. Wiggins ve arkadaşları(18), yaptıkları bir çalışmada zeranol uygulanan ve özellikle kastre edilmiş kuzularda adrenal korteks hiperplazisinin zona retikulariste belirgin olduğunu gözlemlenmişlerdir. Bu çalışmada ise erkek kuzuların adrenal korteks kalınlığının arttığı, ancak adrenel kortekste oluşan bu bulgunun zeranolun dozundaki artışa paralel olarak gelişmediği gözlenmiştir. Bu ise, Wiggins ve arkadaşları (18)'nin belirttiği gibi, erkek kuzularda normalde diğer cinsiyet gruplarına göre androjen düzeylerinin yüksek olması nedeniyle zeranolun dozu artırılrsa bile oluşan bu etkinin belirli düzeye kadar kompanze edilebileceği ile açıklanmaktadır.

Bu çalışma sonunda tiroid bezi aktivasyonunun ilk uygulamada kullanılan kuzularda arttığı, buna karşılık ikinci uygulamada değişmediği veya azaldığı dikkati çekti. Her iki uygulama döneminde de, kuzuların aynı ırk ve yaşta olmalarına, benzer dozlarda implantasyonun aynı mevsimde uygulanmasına ve kuzuların benzer rasyonla beslenmelerine rağmen zeranolun tiroid bezi üzerine etkisinin farklı zamanlarda farklı şekilde ortaya çıktığı dikkati çekmiştir. Daha önce yapılan ve zeranol

implante edilen kuzularda tiroid bezi aktivasyonunun histolojik olarak incelendiği çalışmalarda deprese olduğu (17) veya geçici depresyondan sonra normale döndüğü (24) ya da değişmediği (18) bildirilmektedir.

Ergenlik öncesinde, sığır ve koyunların hipotalamik-hipofizyal-testiküler eksenleri normal dozlarda zeranol implantasyonuna daha duyarlıdır (25-28). Zeranol implante edilen hayvanlarda yaşın kullanılan dozdan daha kritik öneme sahip olduğu, yüksek dozların genç hayvanlarda etkiyi artırmadığı, daha yaşlılarda ise etkili olmadığı bildirilmiştir (29). Bu görüşlerin aksine yapılan bir çalışmada, kastre kuzularda zeranolun artan dozlarına karşı özellikle hipofiz, adren, tiroid, eklenti bezleri, üretra ve meme gibi dokularda bu etkinin arttığı dikkati çekmiştir (17). Floyd ve arkadaşları (30) ise 23 haftalık danalarda zeranol implantasyonunun plazma testosteron düzeylerinde düşme dışında genital sistemlerini etkilemediğini, bu yaşta danaların nöroendokrin sistemlerinin zeranol implantasyonuna duyarlı olmakla birlikte, genital sistemlerinin diğer çalışmalarda bildirilen morfogenetik ve hücresel fakılaşma gibi değişikliklere duyarlı olmadıklarını bildirmiştir. Sunulan çalışmada histolojik olarak zeranolun artan dozuyla birlikte özellikle eklenti bezleri, hipofiz, üretra ve meme üzerine oluşan etkinin arttığı ve bulguların daha belirginleştiği, buna karşılık, adren, tiroid ve epididimis üzerine oluşan etkisinin artan dozla birlikte artmadığı veya çok az arttığı; buna karşın testis, duktus deferens ve pankreas üzerinde ise zeranolun etkili olmadığı dikkati çekmiştir.

Zeranol implantasyonunun erken yaşlarda oluşturduğu etkilerin, sonraki yaşlarda patolojik bulgularla ortaya çıktığı ve özellikle testis üzerine oluşan etkisinin kalıcı olduğu bildirilmiştir (25). Bazı çalışmalarda da (19, 20, 28) yine ergenliğe yakın yaşlardaki hayvanlarda zeranol implantasyonunun cinsel fonksiyonlarda yetersizliğe yol açtığı ancak daha küçük yaştakilere göre etkisinin oldukça azaldığı ve testis üzerine olan bu etkinin geçici olmasına karşın epididimis ve eklenti bezleri üzerine oluşan etkisinin irreverzibl olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada değişik dozlarda zeranol uygulanmasına rağmen testis üzerinde etkisi görülmemiş, epididimis üzerinde hafif, eklenti bezlerine ise belirgin bir etki oluşturduğu dikkati çekmiştir. Kuzuların spermatolojik muayenelerinin yapılmamasına rağmen, histolojik olarak hiç bir kuzunun testisinde spermatogenezin başlamadığı ve kontrollere göre tubulus çapları ve hücreleri ile interstisyel hücre morfolojileri bakımından gruplar arasında fakıllık olmadığı dikkati çekmiştir. Normal yetiştirme şartlarında ırklar arasında az ya da çok fakıllıklar bulunmakla birlikte, spermatogeneze ilişkin tüm safhaların seçilebildiği yaş, 110 ile 225 gün arasında değişmektedir (31, 32). Sunulan çalışmanın sonunda kuzuların yaklaşık 120 günlük olmalarına rağmen, hiç birinde spermatogenezin aktif olarak başlamamasının nedeni, kuzuların Akkaraman gibi geç gelişen ırktan olmalarına bağlanabilir.

Bu çalışmada zeranolun epididimis üzerine etkisinin hafif olduğu, bazı kuzuların kauda epididimislerinde

duktus epitellerinde bazal hücre proliferasyonları, silia kaybı ve fibromusküler dokuda hafif artış dışında pek etkili olmadığı görülmektedir. Östrojenik stimülasyonun belli başlı bulgularından olduğu bildirilen (33) intracavitary lumina oluşumu, adenomyozis ve sperm granülomlarına ise rastlanılmamıştır. Bu çalışma sonunda zeranolun bu yaştaki Akkaraman erkek kuzuların eklenti bezleri dışında, testis ve epididimisi üzerinde etkili olmadığı ya da artan dozun etkiyi artırmadığı görülmektedir. Ancak uygulamanın 33 günlük sürede tamamlanarak, kuzuların ergenliğe kadar bekletilmemesi ve zeranolun tekrarlayan dozlarda uygulanmaması nedeniyle, zeranolun testis ve epididimis üzerinde oluşturabileceği histolojik etkilerin kalıcı mı yoksa geçici mi olduğunu saptama olanağı olmamıştır. Buna göre, Floyd ve arkadaşları(30)'nın da belirttiği gibi, zeranol ve benzeri maddelerin genital organlar üzerindeki etkilerinin görülebileceği kritik periyod, tür, organ ve dokular arasında farklılık göstermektedir ve bu dokuların çeşitli gelişim periyotlarında zeranol duyarlılıkları değişebilmektedir.

Zeranol implantasyonu ile hem kastre hem de erkek dana ve kuzuların eklenti bezlerinde epitelyal ve stromal değişiklikler oluşmaktadır (17, 19, 20, 32, 33). Bu çalışmadaki kuzuların eklenti bezlerinde de önceki çalışmalardakine benzer bulgularla karşılaşmıştır. Ampulla ve gl. vezikülozada stromal; gl.prostatika ve gl. bulboüretaliste ise epitelyal değişikliklerin daha belirgin olduğu dikkati çekmiştir. Gl. prostatika ve gl. bulboüretaliste yassı epitel metaplazisi ve hiperplazik değişikliklerin hafif olarak şekillendiği olgularda bile, akıtıcı kanallarda belirgin derecede hiperplazinin görülmesi, akıtıcı kanalların östrojenik stimülasyona daha duyarlı olduklarını göstermektedir. Ayrıca bu bezlerde kistik genişleme ve sekresyon artışının da yine akıtıcı kanal epitellerinde şekillenen hiperplaziye bağlı olarak, sekresyonun retensiyonu sonucu olduğu düşünülmektedir. Bazı kuzulara ait eklenti bezlerinde ise fokal ya da diffuz yangısel hücre infiltrasyonuna rastlanmıştır. Ancak bu bulgunun her kuzuda ve her bezde görülmemesi nedeniyle, spontan olarak şekillenmiş olabileceği sonucuna varılmıştır.

Normal dozların üzerinde zeranol uygulanan kuzuların ürogenital sistemlerinde ve eklenti bezlerinde şekillenen değişikliklerin sentetik östrojen uygulanan ya da Sertoli hücre tümörü bulunan hayvanlarda, ayrıca östrojenik madde içeren yonca türleri ile beslenen ve Fusarium sp. ile enfekte küflü yemleri yiyen hayvanlarda oluşan bulgulara benzediği bildirilmektedir (34-37). Bu çalışmada elde edilen bulgular ve zeranol ile yapılan önceki çalışmalardan elde edilen bulgular zeranolun östrojenik etkili bir madde olduğunu göstermektedir. Ruitenber ve arkadaşları (37)'nin "prostat testi" olarak adlandırdıkları bir metotla mezbahada kesilen erkek ya da kastre edilmiş danaların prostatlarını histolojik olarak incelemişler ve araştırmacılar bu yöntemle, hayvanlara östrojenik etkili herhangi bir maddenin uygulanıp uygulanmadığının da anlaşıldığını bildirmişlerdir. Böylece erken yaşlarda zeranol implantasyonunun erkek

veya kastre edilmiş kuzuların epididimis ve eklenti bezlerinde diğer östrojenlere benzer etkiler oluşturduğu ve bu değişikliklerin irreverzibl olduğu bilindiğinden (19, 20, 28), kesimden sonra bu bezlerin incelenmesi ile kuzuların herhangi bir östrojenik maddeye maruz kalıp kalmadığı kolaylıkla belirlenebilecektir.

Bu tip östrojenik etkili maddeleri içeren bitkilerin bulunduğu meralarda otlayan veya östrojenik madde uygulanan koyunlarda % 10'a varan oranlarda fatal üriner obstruksiyon olduğu bildirilmektedir. Bunun en yaygın tipinin östrojenlerin etkisiyle hiperplazi ya da yassı epitel metaplazisi gösteren üretrada dökülmüş hücreler ve eklenti bezlerinin sekresyonundan köken alan, yumuşak ya da lapa tarzında, hafif mineralize materyalin (kalküli) obstruksiyona neden olduğu bildirilmektedir (38, 39). Kuzularda zeranol ve DES ile yapılan bir çalışmada (18), 12 mg zeranolun tek başına erkek kuzuların penil üretralını etkilemediği, kastre edilmiş kuzularda ise hafif oranda yassı epitel metaplazisi oluşturduğu, buna rağmen her iki cinsiyette de 3 mg DES'in orta şiddette, iki maddenin birlikte uygulanmalarında ise şiddetli derecede yassı epitel metaplazisine neden oldukları bildirilmiştir. Sonuçta da penil üretra üzerine zeranolun DES'ten daha zayıf bir östrojenik etki gösterdiği ve her iki maddenin de üretral obstruksiyona neden olabileceği ifade edilmiştir. Sunulan çalışmada kalküli oluşumuna rastlanılmamakla birlikte, 12 mg zeranol implante edilen erkek kuzuların hem penil hem de pelvik üretra epitellerinde belirgin bir hiperplazi ve daha az olarak da yassı epitel metaplazisi olduğu ve bu nedenle bu gruptaki bazı kuzuların penil üretralında lumenin oldukça daraldığı dikkati çekmiştir. Diğer gruplarda ise bu bulguların daha da şiddetlendiği ve epitel hücrelerinde dökülmelerin olduğu gözlenmiştir. Önceki çalışmalardan (18, 38, 39) elde edilen bulguların destekler nitelikte, zeranol implantasyonunun üretrada oluşturduğu değişikliklere bağlı olarak, kalküli oluşumu için predispozisyon yaratabileceği ve kuzularda fatal üretral obstruksiyonlara yol açabileceği sonucuna varılmıştır.

Zeranolun meme gelişimi üzerinde etkisinin yine östrojenlerin etkisine benzemesine rağmen histolojik olarak sadece kastre edilmiş ve dişi kuzularda incelenmiş, erkek kuzularda ise meme başı büyümesi dışında meme bezleri üzerine olan etkisi incelenmemiştir (17, 18, 40, 41). Bu çalışmada ergenlik öncesindeki erkek kuzuların meme bezlerinde rastlanan bulguların kastre edilmiş ve dişilerde bildirilen bulgulara benzerlik gösterdiği ve zeranolun artan dozuyla birlikte bu etkinin arttığı dikkati çekmiştir.

Çalışmada gelişmeyi hızlandırıcı olarak kullanılan zeranolun Akkaraman erkek kuzuların endokrin ve genital sistemlerini patolojik yönden etkilediği, zeranolun dozunun artmasına paralel olarak bazı organlarda oluşan bu etkinin de arttığı dikkati çekmiş ve bu kuzuların ileride damızlık olarak kullanılmasının da bazı sakıncalara yol açabileceği kanısına varılmıştır. Sonuç olarak, besi performansını artırmak amacıyla zeranolun kullanılması Avrupa Birliği tarafından kesin olarak yasaklanmıştır

(42, 43). Ülkemizde de zeranol kullanımının kontrol altına alınması için gerekli yasal düzenlemelerin yapılmasının uygun olacağı kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

- 1- Rico, A.G. Metabolism of endogenous and exogenous anabolic agents in cattle. *J. Anim. Sci.*, 57: 226-232, 1983.
- 2- Fara, G.M., Del Corvo, G., Bernuzzi, S., Bigatello, A., Di Pietro, C., Scaglioni, S. and Chiumello, G. Epidemic of breast enlargement in an Italian school. *Lancet*, 2: 295-297, 1979.
- 3-Scaglioni, S., Di Pietro, C., Bigatello, A. and Chiumello, G. Breast enlargement at an Italian school. *Lancet*, i: 551-552, 1978.
- 4-Bongiovanni, A.M. An epidemic of premature thelarche in Puerto Rico. *J. Pediat.*, 103: 245-246, 1983.
- 5- Rodriguez, C.A.S. Environmental hormone contamination in Puerto Rico. *N. Eng. J. Med.*, 310: 1741-1742, 1984.
- 6-Rodriguez, C.A.S. and Toro-sola, M.A. Anabolic steroids in meat and premature telarche. *Lancet*, 1: 1300, 1982.
- 7- Lamming, G.E. Scientific report on anabolic agents in animal production. *Vet. Rec.*, 122: 389-391, 1987.
- 8- Sawyer, G.J. and Barker, D.J. Growth promotants in cattle in Australia. *Aust. Vet. J.*, 65: 101-108, 1988.
- 9- Sundlof, S.F. and Strickland, C. Zearalenone and zeranol: Potential residue problems in livestock. *Vet. Hum. Toxicol.*, 28: 242-250, 1986.
- 10- Beverly, J.R. Ralgro-Its mode of action. In: Proceedings of the meeting implanting for growth, 5-19, 1984.
- 11- Hidy, P.H., Baldwin, R.S., Greasham, R.L., Keith, C.L. and McMullen, J.R. Zearalenone and some derivatives: Production and biological activities. *Adv. Appl. Microbiol.*, 22: 59-82, 1977.
- 12- Katzenellenbogen, B.S., Katzenellenbogen, J.A. and Mordecai, D. Zearalenones: Characterization of the estrogenic potencies and receptor interactions of a series of fungal β -resorcylic acid lactones. *Endocrinology*, 105: 33-40, 1979.
- 13- Trenkle, A. Mechanism of action for the use of anabolics. In: E Meissonier, (e): *Anabolics in Animal Productions*, OIE, Paris, p 65-73, 1983.
- 14- Buttery, B.J., Vernon, B.G. and Pearson, J.T. Anabolic agents-some thoughts on their mode of action. *Proc. Nutr. Soc.*, 37: 311-315, 1978.
- 15- Azzali, G.R. Histochemical and ultrastructural modifications of mice endometrium, vagina and pituitary following zeranol treatment. *Experientia*, 33: 1638-1639, 1977.
- 16- Rao Veeramachani, D.N., Sherman, G.B., Floyd, J.G., Ott, R.S. and Hixon, J.E. Zeranol and estradiol induce similar lesions in the testis and epididymides of the prepubertal beef bull. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 10: 73-81, 1988.
- 17- Rothenbacher, H., Wiggins, J.P. and Wilson, L.L. Pathological changes in endocrine glands and certain other tissues of lambs implanted with the synthetic growth promotant zeranol. *Am. J. Vet. Res.*, 36: 1313-1317, 1975.
- 18- Wiggins, J.P., Rothenbacher, H. and Wilson, L.L. Histologic evaluation of the effects of diethylstilbestrol and zeranol on certain lamb tissues. *Am. J. Vet. Res.*, 41: 487-492, 1980.
- 19- Çiftçi, M.K. and Kıran, M.M. Erkek Merinos kuzulara implante edilen zeranolan genital organlara etkisi üzerine histopatolojik incelemeler. *S.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 7: 16-22, 1990.
- 20- Çiftçi, M.K., Deligözoğlu, F., Kaya, Z. ve Traş, B. Zeranol implante edilen pubertal dönemdeki esmer erkek ırk danaların testis, epididimis ve eklemi bezlerinde görülen histopatolojik değişiklikler. *S.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 6: 23-28, 1990.
- 21- Luna, L.G. *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*, 3th Ed., McGraw-Hill Book Company, New York, USA, 1968.
- 22- Food and Drug Administration. Part 135b-New animal drugs for implantation or injection. Part 135g-Tolerances for residues of new animal drugs in food. *Federal Register* 35,(168), 13727-13728, 1970.
- 23- Hassan, A.H.S., Kamel, G. and El-Hammosi, F.F. The effect of zeranol implantation on some endocrine glands and gonads in fat-tailed lambs. 1. The pituitary gland (Pars distalis) *Z. Mikrosk. Anat. Forsch. (Leipz.)*, 95: 634-646, 1981.
- 24- Wiggins, J.P., Rothenbacher, H., Wilson, L.L., Martin, R.J., Wangness, R.J. and Ziegler, J.H. Growth and endocrine responses of lambs to zeranol implants: Effects of preimplant growth rate and breed of sire. *J. Anim. Sci.*, 49: 291-297, 1979.
- 25- Ballachey, B.E., Miller, H.L., Jost, L.K. and Evenson, D.P. Flow cytometry evaluation of testicular and sperm cells obtained from bulls implanted with zeranol. *J. Anim. Sci.*, 63: 995-1004, 1986.
- 26- Godfrey, R.W., Randel, R.D. and Rouquette, F.M. Effect of zeranol on sexual development of cross bulls. *J. Anim. Sci.*, 67: 1751-1756, 1989.
- 27-Gray, D.G., Unruh, J.A., Dikeman, M.E. and Stevenson, J.S. Implanting young bulls with zeranol from birth to four slaughter ages: III. Growth performance and endocrine aspects. *J. Anim. Sci.*, 63: 747-756, 1986.
- 28- Juniewicz, P.E., Welsh, T.H. and Johnson, B.H. Effects of zeranol upon bovine testicular function. *Theriogenology*, 23: 565-582, 1985
- 29- Staigmiller, R.B., Brownson, R.M., Kartcher, R.J. and Williams, J.H. Sexual development in beef bulls following zeranol implants. *J. Anim. Sci.*, 60: 342-351, 1985.
- 30- Floyd, J.G., Ott, R.S., Hixon, J.E., Rao Veeramachani, D.N., Willms, C.F. and Paret, D.G. Effects of zeranol implanted during a postweaning weight gain test on testicular, semen, and endocrine characteristics of bulls. *Am. J. Vet. Res.*, 55: 556-560, 1994.
- 31- Carr, W.R. and Land, R.B. Plasma luteinizing hormone levels and testis diameters of ram lambs of different breeds. *J. Reprod. Fert.*, 42: 325-333, 1975.
- 32- Skinner, J.D., Booth, W.D., Rowson, L.E.A. and Karg, H. The post-natal development of the reproductive tract of the Suffolk ram, and changes in the gonadotrophin content of the pituitary. *J. Reprod. Fert.*, 16: 463-477, 1968.
- 33- Deschamps, J.C., Ott, R.S., McEntee, K., Heath, E.H., Heinrichs, R.R., Shaks, R.D. and Hixon, J.E. Effects of zeranol on reproductions in beef bulls: Scrotal circumference, serving ability, semen characteristics, and pathologic changes of the reproductive organs. *Am. J. Vet. Res.*, 48: 137-147, 1987.
- 34- Kroes, R., Berkvens, J.M., Loendersloot, H.T. and Ruitenber, E.J. Oestrogen-induced changes in the genital tract of the male calf. *Zbl. Vet. Med. A*, 18: 717-730, 1971.
- 35- Kurtz, H.J., Nairn, M.E., Nelson, G.H., Christensen, C.M. and Mirocha, C.J. Histologic changes in the genital tracts of swine fed estrogenic mycotoxin. *Am. J. Vet. Res.*, 30: 551-556, 1969.
- 36- Mirocha, C.J., Christensen, C.M. and Nelson, G.H. Estrogenic metabolite produced by *Fusarium graminearum* in stored corn. *Appl. Microbiol.*, 15: 497-503, 1967.
- 37- Ruitenber, E.J., Kroes, R. and Berkvens, J. Evaluation of the "prostate test" in checking the administration of oestrogens in the calf. *Zbl. Vet. Med. A*, 17: 351-357, 1970.
- 38- Maxie, M.G. *The Urinary System*. In: K.V.F. Jubb, P.C. Kennedy, and N., Palmer (e): *Pathology of Domestic Animals*, Third edition, Academic Press, Orlando, Florida, USA, p 395, 1985.
- 39- Udall, R.H. and Jensen, R. Studies on urolithiasis. II. The occurrence in feedlot lambs following implantations of diethylstilbestrol. *J. A V M A*, 15: 514-516, 1958.
- 40- Gardner, J.J. and Adams, N.R. The effects of zeranol and testosterone on Merino wethers exposed to highly oestrogenic subterranean clover pasture. *Aust. Vet. J.*, 63: 188-190, 1986.
- 41- Pryor, W.J. Implantation of resorcylic acid lactone in cattle and sheep. *Aust. Vet. J.*, 49: 593-594, 1973.
- 42- Anonim . A growing controversy. *Vet. Rec.*, 138: 121, 1996.
- 43- Lamming, G.E. Scientific report on anabolic agents in animal production. *Vet. Rec.*, 122:389-391, 1987.