

**KUZULARIN BEYAZ KAS HASTALIĞINDA OLUŞAN HİSTOLOJİK ve ELEKT-  
RON MİKROSKOPİK BULGULARIN İNCELENMESİ<sup>1</sup>**

**Cemalettin Köküslü<sup>2</sup> W. Drommer<sup>3</sup> İ. Ayhan Özkul<sup>4</sup>  
Hayati Çamaş<sup>5</sup>**

**The histological and electron microscopical investigations on the findings of  
white muscle disease (WMD) in lambs.**

**Summary:** *The purpose of this study was to investigate the histological and electron microscopical changes of muscle samples of 13 skeletal muscles of 21 each animals with spontaneous White Muscle Disease (WMD) (18 lambs, 2 ewes and 1 goat) in Ereğli villages of Konya.*

*Histologically, the infiltrations of neutrophil leucocytes, macrophages, lymphocytes, foreign body giant cells and fibroblasts, calcification were observed in myofibrilla showing hyalin degeneration and necrosis.*

*Electron microscopically, hyalin degeneration, mitochondrial calcification in sarcoplasma and diffuse calcification in some myofibrilla, macrophages in the interstitial spaces and defects in sarcolemma in some muscle cells were seen.*

*The values of Vit. E in the blood samples of animals with spontaneous WMD (7 lambs, 2 ewes and 1 goat) were found very low levels (20 µg/100 ml - 197 µg/100 ml) if compare with the normal levels in the biochemical examinations.*

**Özet:** *Bu çalışmada Konya'nın Ereğli İlçesi'nin köylerinde rastlanan spontan beyaz kas hastalıklı 18 kuzu, 2 dişi koyun ve 1 oğlak olmak üzere 21 adet hayvanın herbirinden alınan 13 adet iskelet kası örnekleri histolojik ve elektron mikroskopik olarak incelenmiştir.*

1 Fakültemizle Hannover Veteriner Yüksek Okulu arasındaki bilimsel işbirliği çerçevesinde çalışılan 6 nolu projenin bir bölümüdür.

2 Prof. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Ankara.

3 Prof. Dr., Hannover Veteriner Yüksek Okulu, Patoloji Enstitüsü, Elektron Mikroskop Laboratuvarı, Hannover.

4 Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Ankara.

5 Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Biyokimya Bilim Dalı, Ankara.

*Histolojik olarak hyalin dejenerasyonu gösteren ve nekroze olan myofibrillerde lökosit, makrofaj, lenfosit ve yabancı cisim dev hücrelerinden ibaret infiltrasyon ile fibroblastlar ve kalsifikasyon görülmüştür.*

*Elektron mikroskopik olarak da sarcoplasmada hyalin dejenerasyonu, mitokondrialarda kireçlenme, bazı kas hücrelerinde diffuz kireçlenme ile interstitisyumda makrofajlar ve bazı kas hücrelerinde de sarkolemanın defekti seçildi.*

*Spontan beyaz kas hastalıklı 7 kuzu, 2 dişi koyun ve 1 oğlaktan alınan kan numunelerinde yapılan biyokimyasal analizler sonucunda ise Vit. E (total tokoferol) değerlerinin eksiklik sınırının çok altında olduğu saptanmıştır (20 µg/100 ml - 197 µg/100 ml).*

### Giriş

Kuzuların Beyaz Kas Hastalığı (White Muscle Disease (WMD)), özellikle Orta Anadolu Bölgesinde, koyun yetiştiriciliği alanında ağır ekonomik kayıplara sebep olan enzootik bir hastalıktır. Beyaz kas hastalığına *Musculaer Dystrophie* adı da verilir. Bu hastalık ilk defa Amerika Birleşik Devletlerinde 1920, Türkiye'de de 1953 yıllarında gözlenmiştir (5,2). Hastalığa yakalanan kuzularda, harekette isteksizlik, bacaklarda gerginlik, ön ayaklar üzerinde kalkmakta güçlük, sırtın kambur duruşu ve iştahının bulunmasına rağmen harekette güçlük nedeniyle zayıflama, görülen başlıca klinik semptomlardır (2,5,6,9). Beyaz kas hastalığının Selenyum ve E vitamini eksikliğinde meydana geldiği bilindiğinden, Selenyum ve E vitamini hastalığın tedavisinde ayrı ayrı kullanılarak denenmiş, ancak her ikisinin birden kullanılması halinde en iyi sonuç alınmıştır (3,6,7,8,10).

Bu hastalıkta makroskopik olarak, iskelet kaslarında ve kalp kasında hyalin dejenerasyonu görülür. Hyalin dejenerasyonuna kuzuların bütün çizgili kaslarında rastlanabilir. Ancak en fazla görüldüğü kaslar diaphragma kasları, *mm. intercostales*, *m. quadriceps femoris*, *m. semimembranaceus*, *m. semitendineus*, *m. rectus femoris*, *m. extensor digit. pedis lat.*, *m. fibularis tertius*, *m. gastrocnemius*, *m. subscapularis*, *m. teres major*, *m. triceps brachii*, *m. biceps brachii*, *m. extensor digit. communis*, *m. flexor digitalis* ve *m. longissimus dorsi*'dir. Bütün çizgili kaslarda hyalin dejenerasyonu bilateral ve simetrik olarak oluşmaktadır (2). Başlangıçta mikroskopik olarak *sarcoplasma*'da görülen hyalin dejenerasyonu, *sarcolemma*'ya da yayılarak bütün myofibrillerin dejenerasyonuna ve sonunda nekrozuna sebep olur.

Dejenere olan myofibrillerde önce granüller halinde sonra da yaygın bir kireçlenme şekillenir. Dejenere ve nekroze olan myofibrillerin yerini ilk önce makrofaj, lenfosit ve lökositler ile fibroblast ve kan damarlarından ibaret bir granülasyon dokusu doldurur. Daha sonra bu doku fibröz bir yapıya döner. Sarcoplasma'nın kalsifikasyonu erken başlar. Kireç ilk önce granüller halinde enine striasyon üzerinde oluşur. Daha sonra bütün sarcoplasma kireçlenebilir (2,5,9,13).

Dejenerasyon sarcoplasma'dan sarcolemma'ya yayıldığı zaman bütün myofibriller nekroze olabilir. Eğer sarcolemma dejenere olmazsa, rejenerasyonun şekillenmesine yardımcı olur.

Gerek kuzularda ve gerekse domuz ve piliçlerde musculaer dystrophie üzerinde yapılmış elektron mikroskopik çalışmalarda (1,11,12,13) da kas hücrelerinde gelişen bulgular incelenmiştir. Selenium ve E vitamini eksikliğinde domuzların iskelet kaslarında elektron mikroskopik olarak myofibrillerde erime ve bozulma, mitochondriumlarda ve sarcoplasmik reticulumda tahribat, yarıлма görülmüştür. Ayrıca, dejenere myofibril ve mitochondriumların çevresinde makrofajların göç ettikleri saptanmıştır (13). Vitamin E ve Selenium yetersiz yemlerle beslenen kuzularda meydana getirilen beyaz kas hastalığı üzerinde histolojik ve biyokimyasal bulguların incelenmesine rağmen, bu hayvanlarda hastalığın erken dönemine ait bulguları detaylı olarak inceleyen bir elektron mikroskopik çalışmanın olmadığı da bildirilmektedir (12).

Türkiye'de kuzuların beyaz kas hastalığında iskelet kaslarında oluşan bulguları ultrastruktural olarak inceleyen bir araştırmaya da rastlanılmamıştır.

Bu çalışma, musculaer dystrophie hastalığındaki bulguları hem histolojik ve biyokimyasal ve hem de elektron mikroskopik olarak incelemek amacıyla yapılmıştır.

## Materyal ve Metot

### 1. Histopatolojik Yöntemler

Konya'nın Ereğli İlçesine ait çeşitli köylerde rastlanan beyaz kas hastalıklı 18 kuzu, 2 koyun ve 1 oğlağın otopsilerinde 13 iskelet kasından (myocard, m. masseter, diaphragma, mm. intercostales, m. pec-

toralis, m. teres major, m. biceps brachii, m. triceps brachii, m. longissimus dorsi, m. quadriceps femoris, m. gastrocnemius, m. semitendineus, m. semimembranaceus) alınan örnekler histolojik inceleme yapılmak üzere patoloji laboratuvarında bilinen yöntemlerle takip edildi. Parafin bloklarından 5-10  $\mu$  m. kalınlığında yapılan kesitler, Hematoxylin-Eosin, Van Gieson, Periodic Acid-Schiff ve Von Kossa boyaları ile boyandı (Tablo 1).

## 2. Elektron Mikroskopik Yöntemler

Beyaz kas hastalıklı hayvanlardan alınan 1 mm kalınlığındaki kas örnekleri, A.Ü. Vet. Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında paraformaldehide-glutaraldehide solüsyonunda tespit edildi. 0.1 M. Sorensen'in fosfat tampon solüsyonundan geçirildikten sonra osmic acid'te (% 2) 2 saat bırakıldı. Alkol solüsyonlarında dehidrasyona tabi tutuldu ve araldit'te hazırlanan bloklardan elde edilen kalın kesitler toluidine mavisi ile ince kesitler ise kurşun asetat ile boyandı. Araldit bloklarından kesitlerin alınması, boyanması ve kesitlerin elektron mikroskopta incelenerek fotoğrafların çekilmesi işlemleri Hannover Veteriner Yüksek Okulu Patoloji Enstitüsü Elektron Mikroskopi Laboratuvarında yapıldı.

## 3. Biyokimyasal Yöntemler

Beyaz kas hastalıklı 7 kuzu, 2 koyun ve 1 oğlaktan olmak üzere toplam 10 adet hayvanın serumlarındaki total tokoferol (Vit. E) miktarları ,tripirydyltriazin (TPTZ) renk ayırıcı kullanılarak Martinek'in (4) bildirdiği metoda göre tayin edildi (Tablo 2.1).

## Bulgular

### 1. Histopatolojik Bulgular

Çeşitli koyun sürülerinde rastlanan 18 kuzu, 2 dişi koyun, 1 oğlak olmak üzere toplam 21 adet spontan beyaz kas hastalıklı hayvanın herbirinden histolojik inceleme yapmak için alınan 13 adet iskelet kasına ait örnekler ile bunların histolojik incelenmesi sonucunda elde edilen bulgular, tablo 1'de gösterilmiştir. Preparatların H.E. ile yapılan boyamalarında olgulara göre kas hücresinde saptanan yangı (I),

hyalin dejenerasyonu (H) ve sarcoplasma'nın kalsifikasyonu (Ca) sayısı rakamlarla belirtilmiştir. Burada yangının en çok sayıda m. semimembranceus'da (11), en az ise m. pectoralis'te (1) şekillendiği, hyalin dejenerasyonunun en çok myocard (15), m. semimembranceus (14) ile m. semitendineus (12) ve m. biceps brachii (12)'de, en az ise m. quadriceps femoris (1), m. pectoralis (2) ve m. teres major (3)'-da geliştiği, kalsifikasyonun ise en çok myocard'da (7), en az m. pectoralis'te (2) olduğu görüldü. Dejenere ve nekroze olan myofibrillerde önce lökosit, lenfosit ve mononükleer makrofajlardan ibaret infiltrasyon ile yabancı cisim dev hücreleri, daha sonra da fibroblastların ve kapillar damarların şekillenmesiyle granülasyon dokuları seçildi (Şekil 1,2,3,4). Gelişen bağ dokusu VG ile yapılan boyamalarla, hyalin dejenerasyonu PAS ile yapılan boyamalarla, kalsifikasyon ise VK ile yapılan boyamalarla tespit edilmiştir (Tablo 1).

## 2. *Elektron Mikroskopik Bulgular*

Normal yapıdaki çizgili kas hücrelerine karşın bazı kas hücrelerinde sarcoplasma'nın ileri derecede hyalin dejenerasyonu (Zenker dejenerasyonu) ve diffuz kireçlenme göstermesine rağmen sarcolemma'nın hâlâ varlığını koruduğu görüldü (Şekil 5,6). Bazı kas hücrelerinde ileri derecede Zenker dejenerasyonu ve ileri derecede interfibriller kireçlenme seçildi (Şekil 7). Bir başka kas hücresinde ileri derecede Zenker dejenerasyonu ile birlikte interstisyumda yıkılan ve tahrip olan kas materyalini fagosit eden makrofajlara rastlandı (Şekil 8). Sarcoplasmasında mitochondrial kireçlenme görülen bazı kas hücrelerinin yanısıra bazılarında da ilerlemiş Zenker dejenerasyonu ile sarcolemma'nın da defekti dikkati çekti (Şekil 9,10).

## 3. *Biyokimyasal Bulgular*

Konya - Ereğli köylerinden elde edilen spontan beyaz kas hastalıklı 7 kuzu, 2 koyun ve 1 oğlaka ait kan numunelerinin Vit. E (total tokoferol) sonuçları aşağıdaki tabloda belirtilmiştir. Bu tabloda belirtilen serum total tokoferol değerlerinin, eksiklik sınırının altında bulunması dikkati çekmiştir.

Tablo 1 Beyaz kas hastalıklı kuzuların kaslarında şekillenen histolojik bulgular (21 olgu)

İncelenen kaslar	Histolojik bulgular					
	HE			VG	PAS	VK
	I	H	Ca			
Myocard	9	15	7	4	10	4
M. masseter						
Diaphragma	3	8	4	2	4	1
Mm. intercostales	2	8	4	-	6	3
M. pectoralis	1	2	2	1	2	1
M. teres major	3	3	3	2	1	1
M. biceps brachii	8	12	5	3	9	3
M. triceps brachii	6	10	8	4	10	6
M. longissimus dorsi	3	7	3	3	5	3
M. quadriceps femoris	2	1	-	-	-	-
M. gastrocnemius	8	7	4	4	7	3
M. semitendineus	7	12	4	4	10	4
M. semimembranaseus	11	14	5	7	14	3

I: Yangı

H: Hyalin dejenerasyonu

Ca: Kalsifikasyon

Rakamlar: Bulgu sayısı

Tablo 2.

Sıra No.	Protokol No.	Vit. E $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$
1	223/82 Kuzu	175
2	231/82 "	88
3	234/82 "	197
4	299/82 "	137
5	224/82 Oglak	150
6	244/b82 Kuzu	135
7	244/a82 Ana Koyun	20
8	240/82 Kuzu	110
9	246/b 82 "	72
10	246/a82 Ana Koyun	55

### Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada beyaz kas hastalıklı hayvanların iskelet kaslarından yapılan kesitlerde, mikroskopik olarak seçilen ve sarcoplasma'da gelişen hyalin dejenerasyonu ile bu dejenerasyona karşı yangısal reaksiyon sonucu şekillenen lökosit, makrofaj, lenfosit ve yabancı cisim dev hücrelerini içeren hücre infiltrasyonu ile dejenere olan myofibrillerdeki kalsifikasyon (Şekil 1,2,3,4), daha önce yapılmış çalışmalarda (2,5,9,13) da görülen histolojik bulgulardır. Bu bulguların en çok myocard, m. semimembranaceus, m. semitendineus ve m. biceps brachii'de; en az olarakta m. quadriceps femoris ve m. pectoralis'te şekillenmesi dikkati çekmiş, ancak daha önceki yayımlarda bu konu üzerinde herhangi bir açıklamaya rastlanılmamıştır (Tablo 1).

Elektron mikroskopta yapılan incelemelerde saptanan sarcoplasma'daki hyalin dejenerasyonu, mitochondrial kireçlenme ve difüz kireçlenme ile interstisyumdaki parçalanmış kas materyalini fagosite etmiş makrofajların şekillenmesi ve bazı kas hücrelerinde Zenker dejenerasyonunun sarcolemma'yı da içerisine alması, beyaz kas hastalığının elektron mikroskopta seçilen önemli bulguları olup, bunlar (Şekil 5,6,7,8,9,10) daha önce yayımlanan çalışmalarda da (1,11,12,13) saptanmıştır.

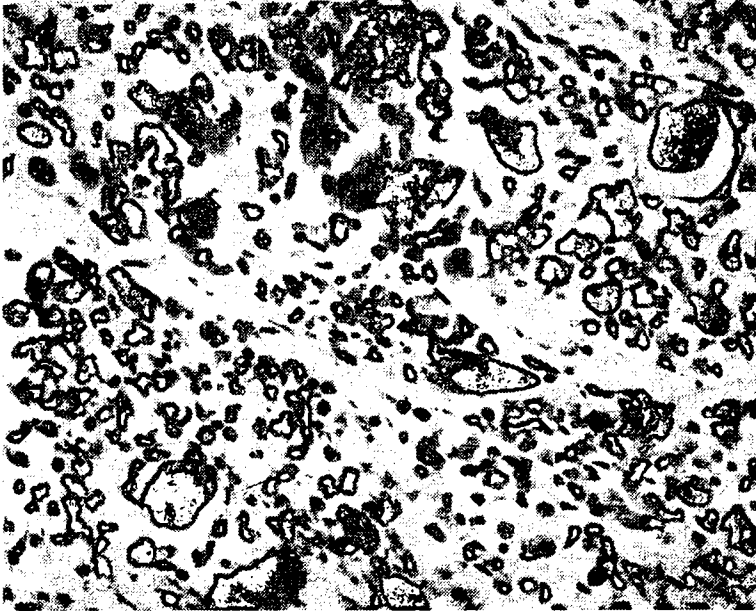
Çalışmada spontan beyaz kas hastalıklı kuzu (7), ana koyun (2), ve oğlak (1)'tan alınan kan serumlarındaki Vit. E değerlerinin hepsinin de 200  $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 'nin altında bulunması bu hastalığın etyolojisinde Vit. E eksikliğinin de rolü olduğunu göstermektedir. Kaldı ki Maas ve ark. (3) yaklaşık 200  $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 'lik  $\alpha$ -tokoferol değerini bile eksiklik sınırı olarak bildirmektedirler. Üstelik bu çalışmada tespit edilen Vit. E değerlerinin total tokoferol değerleri olduğu da dikkate alınır sa hastalıklı hayvanların kan serumlarındaki değerlerin eksiklik sınırının çok altında bulunduğu ve bu nedenle beyaz kas hastalığının oluşmasında Vit. E eksikliğinin de rolünün olabileceği kolayca anlaşılır (Tablo 2).

### Teşekkür

Bu araştırmanın yapılmasında ve hastalıklı hayvanların bulunmasında yardımlarını gördüğümüz Ereğli Veteriner Araştırma Enstitüsü Müdürü Suat Yavuz'a ve Veteriner Hekim Sabri Cıvcık'e teşekkürü bir borç biliriz.



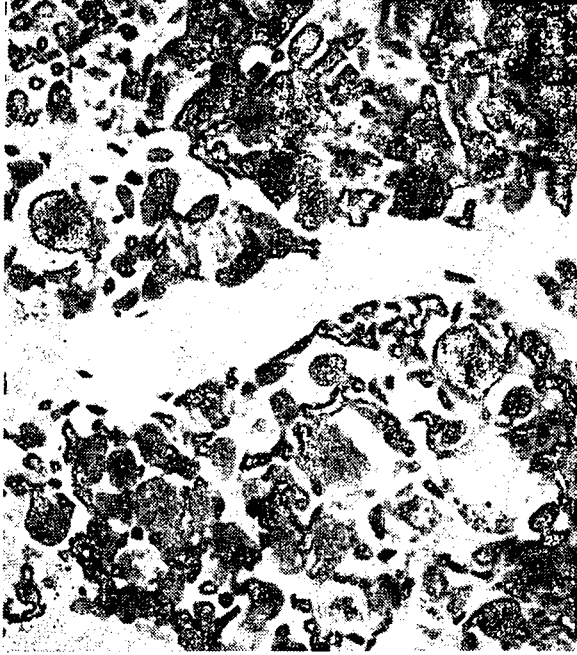
Şekil 1. Beyaz kas hastalığında M. biceps brachii'de kireçlenme, VK. x210 M. biceps brachii showing calcification in white muscle disease.



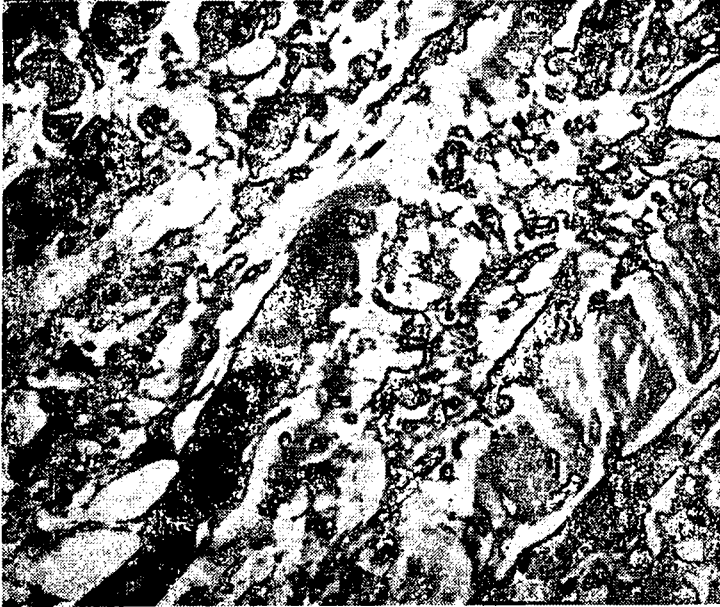
Şekil 2. M. gastrocnemius'ta hyalin dejenerasyonu gösteren myofibrillerin çevresinde lökosit, lenfosit, makrofaj ve yabancı cisim dev hücreleri, kas hücrelerinde kireçlenme, H.E. x 420.

The infiltrations of leucocytes, lymphocytes and foreign body giant cells and calcification in the section of M. gastrocnemius showing hyalin degeneration.





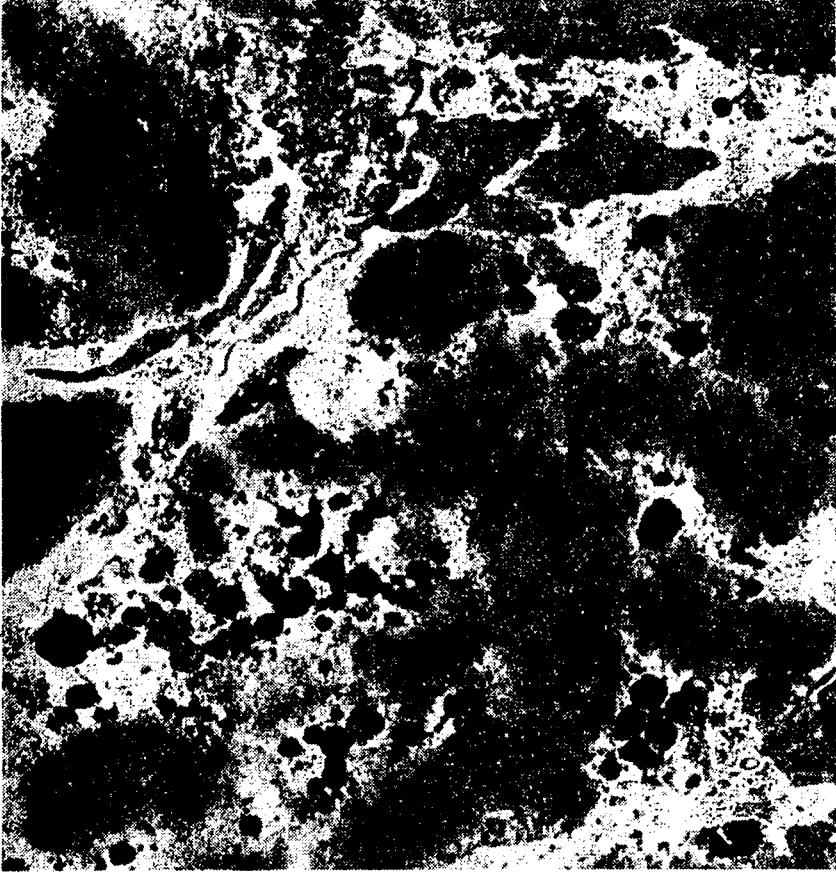
Şekil 3. *M. biceps brachii*'de kas hücrelerinde kireçlenme, H.E. x 420.  
*M. biceps brachii* showing calcification.



Şekil 4. *M. longissimus dorsi*'de kas hücrelerinde hyalin dejenerasyonu, PAS x 420.  
Muscle cells of *M. longissimus dorsi* showing hyalin degeneration.

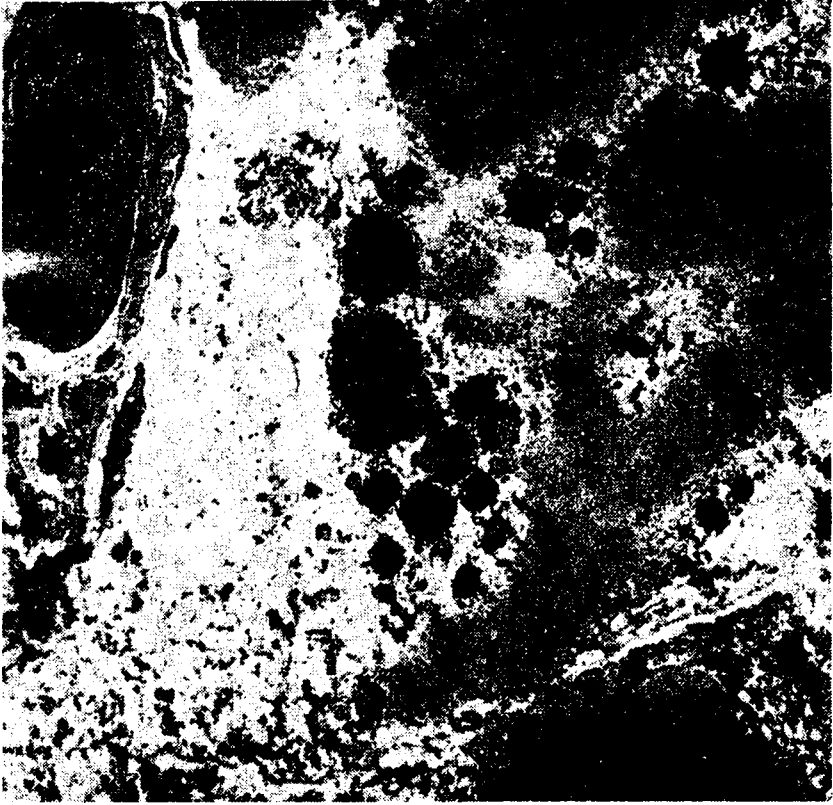


Şekil 5. Normal yapıdaki bir çizgili kasın elektron mikroskopik görünümü, x 4000.  
An electron microscopical section of a normal skeletal muscle.



Şekil 6. Kas hücresinde Zenker dejenerasyonu ve diffüz kireçlenme. Sarcolemma varlığını koruyor, x 4000.

Diffuse calcification and severe Zenker's degeneration in a muscle cell. Sarcolemma can be seen.



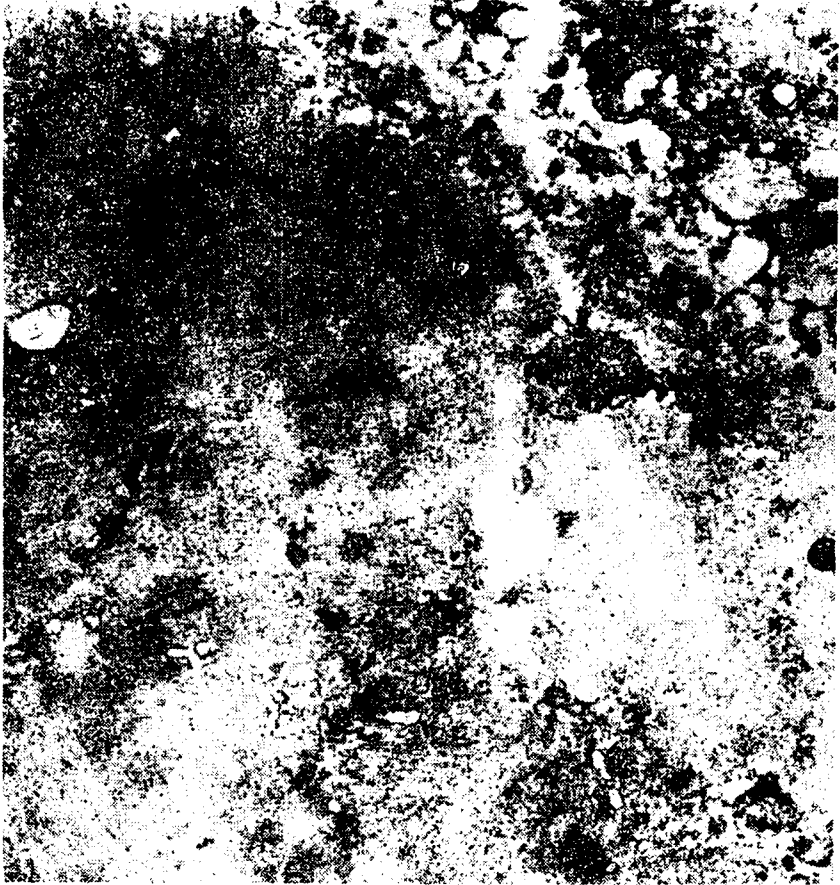
Şekil 7. Bir kapillar damar ve ileri derecede Zenker dejenerasyonu gösteren kas hücresi.  
İnterfibriller kireçlenme, x 8000.

A capillary vessel and muscle cell showing severe Zenker's degeneration. Interfibrillar calcification.



Şekil 8. Bir kas hücresi kesitinde hyalin dejenerasyonu. İnterstisyumda vakuolleri içeren makrofajlar tahrip olan kas materyalini fagosite ediyorlar, x 8000.

Hyalin degeneration in the section of a muscle cell. Macrophages in the interstitial space show activity for phagocytosis of the fragments of a destroyed muscle cell.



Şekil 9. Sarcolemma'nın defekti ile birlikte ilerlemiş Zenker dejenerasyonu, x 8000.  
Zenker's degeneration in sarcoplasm and the defect of sarcolemma.



Şekil 10. Kas hücresinde mitochondriumlarda kireçlenme, x 4000.  
Mitochondrial calcification in a muscle cell.

### Kaynaklar

1. **Bader, R.** (1982). *Histologische Befunde aus licht-und elektronenmikroskopischen Untersuchungen an der Skelettmuskulatur von gesunden, ausgemästeten Sohweinen der Deutschen Landrasse*, Zbl. Vet. Med. A., 29: 458-476.
2. **Baran, S.** (1966). *Türkiye'de kuzularda musculaer dystrophie (white muscle disease)*. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 13 (1): 25-40.
3. **Maas, J., Bulgin, M.S., Anderson, B.C., Frye, T.M.** (1984). *Nutritional myodegeneration associated with vit. E deficiency and normal selenium status in lambs*. JAVMA, 184 (2): 201-204.
4. **Martinek, R.G.** (1964). *Methods for determination of vitamin E (total tocopherols in serum)*. Clin. Chem., 10: 1078-1086.
5. **Muth, O.H.** (1955). *White muscle disease (myopathy) in lambs and calves I. Occurrence and nature of the disease under oregon conditions*. JAVMA, 126 (938): 355-361.
6. **Özcan, C.** (1967). *Kuzularda beyaz kas hastalığı üzerinde klinik araştırmalar ve küratif tedavi denemeleri*. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 14 (1): 1-17.
7. **Özcan, C. ve Aytuğ, C.N.** (1967). *Beyaz kas hastalığı profilaksisinde kullanılan sodyum selenite ve vitamin E'nin kuzularda doğum ve canlı ağırlık üzerine etkisi hakkında araştırmalar*. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 14 (2): 187-203.
8. **Özcan, C. ve Aytuğ, C.N.** (1972). *Gebe koyunlarda ve kuzularda sodyum selenite ve vitamin E tatbikatlarının beyaz kas hastalığı üzerine profilaktik etkisi ile ilgili saha denemeleri*. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 19 (1-2): 63-75.
9. **Sheriff, D. and Rankin, G.J.** (1973). *Concurrent enzootic ataxia and white muscle disease in flock of lambs*. Vet. Rec., 92: 89-93.
10. **Stamp, J.T.** (1960). *Musculaer dystrophy in sheep and neonatal mortality*. J. Comp. Pathol., 70: 296-304.
11. **Sweeny, P.R. and Brown, R.G.** (1972). *Ultrastructural changes in muscular dystrophy I. Cardiac tissue of piglets deprived of vitamin E and selenium*. Am. J. Pathol., 68: 479-492.
12. **Sweeny, P.R., Buchanan-Smith, J.G., de Mille, F., Pettit, J.R., Moran, E.T.** (1972). *Ultrastructure of muscular dystrophy II. A comparative study in lambs and chickens*. Am. J. Pathol., 68: 493-510.
13. **Van Vleet, J.F., Ruth, G., Ferrans, V.J.** (1976). *Ultrastructural alterations in skeletal muscle of pigs with selenium-vitamin E deficiency*. Am. J. Vet. Res., 37: 911-922.