

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**BUZAĞILARDA *HELIOTROPİUM DOLOSUM*,
HELIOTROPİUM CIRCINATUM ve *SENECIO*
VERNALIS İNTOKSİKASYONU: PATOLOJİK ve
BİYOKİMYASAL İNCELEMELER**

DOKTORA TEZİ

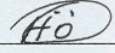
**ALİ OSMAN ÇERİBAŞI
ELAZIĞ - 2005**

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Necip İLHAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

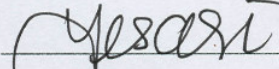
Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

**Prof. Dr. Harun ÖZER**

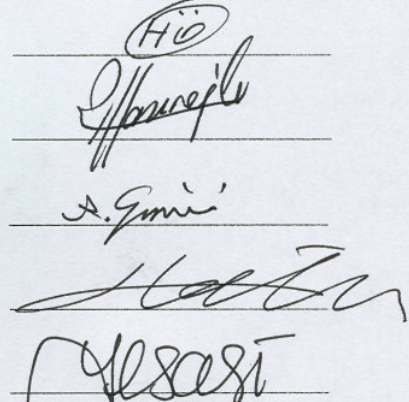
Patoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Doç. Dr. Yesari ERÖKSÜZ

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Harun ÖZER**Prof. Dr. Rıfki HAZIROĞLU****Prof. Dr. Aydın GİRGİN****Prof. Dr. Hatice ERÖKSÜZ****Doç. Dr. Yesari ERÖKSÜZ**

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmam süresince yardımlarını esirgemeyen Fırat Üniversitesi Rektör Yardımcısı ve Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Harun ÖZER başta olmak üzere, danışman hocam Sayın Doç. Dr. Yesari ERÖKSÜZ ve Sayın Doç. Dr. Hatice ERÖKSÜZ'e minnet ve şükranlarımı sunarım. Ayrıca, serumların biyokimyasal analizlerinin yapılmasında yardımlarını gördüğüm Sayın Prof. Dr. Necip İLHAN'a, elektron mikroskopik değerlendirmelerde yardımlarını gördüğüm Sayın Arş. Gör. Erdem YAŞAR'a, PCNA boya yönteminde yardımlarını gördüğüm Sayın Prof. Dr. Reşat ÖZERCAN ve Sayın Doç. Dr. İbrahim ÖZERCAN'a, serum bakır analizlerinde yardımcı olan Sayın Doç. Dr. Nurhan ŞAHİN'e, bitki materyalinin toplanmasında ve çalışma süresince yardımlarını gördüğüm Sayın Yard. Doç. Dr. Aydın ÇEVİK, Sayın Yard. Doç. Dr. İhsan YAMAN, Coşkun DEMİRELLİ, Süleyman ÖZER ve İlhan BULUT'a, fotoğrafların baskısını gerçekleştiren Ünal VAROL'a, bu çalışmayı 799 nolu proje ile destekleyen Sayın Doç. Dr. Bilal Üstündağ ve FÜBAP çalışanlarına teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	5
3.1. Pirolizidin Alkaloidleri İçeren Bitkilerin Genel Özellikleri.....	6
3.1.1. Compositea Ailesi (Toplu Çiçekler).....	6
3.1.2. Sığırlarda <i>Senecio</i> Türleri ile Oluşan Toksikasyonlar.....	7
3.1.3. Boraginaceae Ailesi.....	7
3.1.4. Sığırlarda <i>Heliotropium</i> Türleri ile Oluşan Toksikasyonlar.....	10
3.2. Pirolizidin Alkaloidlerinin Kimyasal Yapısı.....	10
3.3. Pirolizidin Alkaloidlerinin Metabolizması.....	11
3.3.1. Emilim, Dağılım ve Atılma Yolları.....	11
3.3.2. Metabolizma Şekilleri.....	11
3.4. Pirolizidin Alkaloid Toksikasyonunun Patogenezi.....	12
3.5. Pirolizidin Alkaloid Toksikasyonlarına Duyarlılık.....	13
3.6. Pirolizidin Alkaloid Toksikasyonunda Klinik ve Patolojik Bulgular.....	14
3.6.1. Akut Toksikasyona İlgili Patolojik Bulgular.....	14
3.6.2. Subakut ve Kronik Toksikasyona İlgili Klinik ve Patolojik Bulgular....	15
3.6.3. Pirolizidin Alkaloid Toksikasyonlarında Elektron Mikroskopik Bulgular.....	16
3.7. Pirolizidin Alkaloid Toksikasyonunun Bakır Metabolizması Üzerine Etkileri.....	17
4. GEREÇ ve YÖNTEM	18
4.1. Hayvan Materyali.....	18
4.2. Bitkisel Materyal.....	18

4.2.1. Bitkisel Materyalin Alkaloid İçeriği ve Kompozisyonu.....	19
4.3. Yem Materyali.....	19
4.4. Çalışma Planı.....	20
4.5. Organ Ağırlık ve İndeksinin Hesaplanması.....	21
4.6. Histopatolojik Yöntem.....	21
4.7. Hepatosit Nükleus Çapının Ölçümü.....	21
4.8. Arteriol Duvar Kalınlığının Ölçümü.....	21
4.9. Tubulus Seminiferus Kontortus Çapı ve Tubulus Kontortus Kalınlıklarının Saptanması.....	22
4.10. Karaciğerde Alan Ölçümleri.....	22
4.11. Biyokimyasal Yöntem.....	22
4.11.1. Enzim Analizleri.....	23
4.11.2. Serum Bakır Analizi.....	23
4.12. İmmunohistokimyasal Yöntem.....	23
4.13. Transmisyon Elektron Mikroskopik Yöntem.....	25
4.14. İstatistiksel Yöntem.....	26
5. BULGULAR.....	27
5.1. Yem Tüketimi.....	27
5.2. Canlı Ağırlık.....	29
5.3. Bitki Tüketimi.....	30
5.4. Alkaloid Tüketimi.....	31
5.5. Klinik Bulgular.....	34
5.6. Makroskopik Bulgular.....	37
5.7. Organ Ağırlık ve İndeksleri.....	41

5.8.	Mikroskopik Bulgular.....	43
5.8.1.	Karaciğerde Mikroskopik Bulgular.....	43
5.8.2.	Ön Mideler ve Abomazumda Mikroskopik Bulgular.....	48
5.8.3.	İnce Bağırsaklarda Mikroskopik Bulgular.....	48
5.8.4.	Safra Kesesinde Mikroskopik Bulgular.....	48
5.8.5.	Böbreklerde Mikroskopik Bulgular.....	48
5.8.6.	Akciğerlerde Mikroskopik Bulgular.....	51
5.8.7.	Kalp Kasında Mikroskopik Bulgular.....	52
5.8.8.	Testislerde Mikroskopik Bulgular.....	54
5.9.	Biyokimyasal Bulgular.....	55
5.9.1.	Enzim Düzeyleri.....	55
5.9.2.	Serum Bakır Düzeyleri.....	61
5.10.	İmmunohistokimyasal Bulgular.....	61
5.11.	Transmisyon Elektron Mikroskopik Bulgular.....	63
6.	TARTIŞMA.....	90
7.	KAYNAKLAR.....	109
8.	ÖZGEÇMİŞ.....	115

TABLO LİSTESİ

1.	Kontrol ve Deneme Gruplarına Ait Rasyon İçerikleri.....	20
2.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Haftalık Yem Tüketimi.....	27
3.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Kümülatif Yem Tüketimi.....	28
4.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Haftalık Canlı Ağırlık Ortalamaları...	29
5.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Haftalık Canlı Ağırlık Kazancı.....	30
6.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Haftalık Bitki Tüketimi.....	30
7.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Kümülatif Bitki Tüketimi.....	31
8.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Haftalık Alkaloit Tüketimi.....	32
9.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Kümülatif Alkaloit Tüketimi.....	33
10.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Günlük Ortalama Alkaloit Tüketimi...	34
11.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Klinik Bulgular ve Ortalama Yaşam Süreleri.....	36
12.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Makroskopik Bulgular.....	40
13.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Organ Ağırlıkları.....	42
14.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Organ İndeksleri.....	42
15.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Hepatosit Nükleus Çapları ve Hepatosit Yüzey Alanı.....	46
16.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Karaciğerde Mikroskopik Bulgular...	47
17.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Böbreklerde Mikroskopik Bulgular...	50
18.	Akciğer ve Böbrek Korteksinde Arteriol Duvar Kalınlığı.....	51
19.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Kalp ve Akciğerlerde Mikroskopik Bulgular.....	53

20.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Tubulus Seminiferus Kontortus (TSK) Çapları ve Germinal Hücre Kalınlığı (GHK).....	54
21.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Serum AST Düzeyleri.....	55
22.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Serum ALT Düzeyleri.....	56
23.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Serum ALP Düzeyleri.....	56
24.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Serum GGT Düzeyleri.....	57
25.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Serum CK Düzeyleri.....	58
26.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Serum Total Bilirubin Düzeyleri.....	58
27.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Serum Konjuge Bilirubin Düzeyleri...	58
28.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Serum Serbest Bilirubin Düzeyleri....	59
29.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Serum Total Protein Düzeyleri.....	60
30.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Serum Albumin Düzeyleri.....	60
31.	Kontrol ve Deneme Gruplarında Serum Bakır Düzeyleri.....	61
32.	Kontrol ve Deneme Gruplarında, Hepatositlerde ve Safra Kanal Epitellerinde Mitotik İndeks.....	62

ŞEKİL LİSTESİ

1.	<i>S. vernalis</i> bitkisinin morfolojik görünümü.....	64
2.	Türkiye’de <i>H. circinatum</i> , <i>H. dolosum</i> ve <i>S. vernalis</i> ’in il bazında dağılım gösterdiği coğrafik bölgeler.....	9
3.	<i>H. dolosum</i> bitkisinin morfolojik görünümü.....	64
4.	<i>H. circinatum</i> bitkisinin morfolojik görünümü.....	65
5.	Kimyasal yapılarına göre pirolizidin alkaloitleri.....	10
6.	Pirolizidin alkaloit toksikasyonunun şematik olarak mekanizması.....	13
7.	Kontrol ve deneme gruplarında kümülatif alkaloit tüketimi.....	33
8.	Göz’de: skleranın safra renkli maddeleri ile kirli sarıya boyanmış görünümü, <i>SV</i> grubu.....	65
9.	Karın bölgesinin ventrale doğru sarkmasıyla karakterize asitesin klinik görünümü, <i>HD</i> grubu.....	66
10.	Rektum mukozasının kısmen dışarıya çıkması ile karakterize hafif dereceli rektum prolapsusu, <i>HD</i> grubu.....	66
11.	Göğüs boşluğunda plöranın ikterik görünümü, <i>HD</i> grubu.....	67
12.	Karın boşluğunda sarı renkli ve berrak görünümlü transudat birikimi, <i>HD</i> grubu.....	67
13.	Kolonların serozasında ve mezokolonda şekillenen ödem ve konjesyon, <i>HD</i> grubu.....	68
14.	Abomazum mukozasında yaygın ödem, <i>HD</i> grubu.....	68
15.	Karaciğerin visseral yüzünde kapsüler fibrozis, <i>HD</i> grubu.....	69
16.	Safra kesesi dilatasyonu, <i>HD</i> grubu.....	69
17.	Karaciğerde subkapsüler hemoraji, <i>SV</i> grubu.....	70

18.	Karaciğerin diyaframatik yüzünde hafif şiddette kapsüler fibrozis, <i>HC</i> grubu.....	70
19.	Kontrol ve deneme gruplarında kalp indeks değerleri.....	42
20.	<i>HD</i> grubunda karaciğerde yaygın ve tam olarak şekillenmiş veno-oklüzyon ve periasiner fibrozis, steromikroskop.....	71
21.	<i>SV</i> grubunda karaciğerde veno-oklüzyon ve periasiner fibrozis, steromikroskop.....	71
22.	<i>HC</i> grubunda karaciğerde kısmi veno-oklüzyon, steromikroskop.....	72
23.	Kontrol grubunda karaciğerin histolojik görünümü, steromikroskop....	72
24.	Vena sentraliste tam olarak şekillenmiş bir oklüzyon, <i>HD</i> grubu.....	73
25.	Karaciğerde periportal ve periasiner alanlarda postnekrotik fibrozis, <i>HD</i> grubu.....	73
26.	Parankimal nodül ve safra kanal hiperplazisi, <i>HD</i> grubu.....	74
27.	Hepatositlerde karyomegali, nekroz, periselüler fibrozis ve oval hücre proliferasyonu, <i>HD</i> grubu.....	74
28.	Hepatositlerde intranükleer inklüzyon cisimciği, safra pigment birikimi ve nekroz, <i>HD</i> grubu.....	75
29.	Hepatositlerde büyük damlalı yağ dejenerasyonu, <i>HD</i> grubu.....	75
30.	Hepatositlerde intranükleer inklüzyon, safra pigment birikimi ve oval hücre proliferasyonu. <i>HD</i> grubu.....	76
31.	Kısmi olarak şekillenmiş veno-oklüzyon ve periasiner fibrozis, <i>SV</i> grubu.....	76
32.	Hepatositlerde karyomegali ve nekroz, <i>SV</i> grubu.....	77

33.	Periportal bölgeden parankime doğru uzanan fibrotik alanlar, <i>SV</i> grubu.....	77
34.	Parankimal nodül ve safra kanal hiperplazisi, <i>SV</i> grubu.....	78
35.	Hepatositlerde intranükleer inklüzyon cisimciği ve nekrotik değişimler, <i>SV</i> grubu.....	78
36.	Hepatositlerde megalositozis ve nekrotik değişimler, <i>HC</i> grubu.....	79
37.	Hafif periportal fibrozis, hepatositlerde karyomegali, <i>HC</i> grubu.....	79
38.	Kısmi veno-oklüzyon ve periasiner fibrozis, <i>HC</i> grubu.....	80
39.	Kontrol grubunda karaciğerin histolojik görünümü.....	80
40.	Retikulum mukozasında subepitelyal ödem, <i>HD</i> grubu.....	81
41.	Abomazum mukozasında serozal ödem, <i>SV</i> grubu.....	81
42.	Mezenterik lenf düğümlerinde ödem ve konjesyon, <i>HD</i> grubu.....	82
43.	Safra kesesi mukozasında ve bezlerinde epitelyal hiperplazi, <i>SV</i> grubu.	82
44.	Tubulus epitellerinde megalositozis, <i>HD</i> grubu.....	83
45.	Böbrek kortesinde arteriol duvarında kalınlaşma, perivasküler hücre infiltrasyonu, proksimal ve distal tubulus lümenlerinde protein silindirleri ve tubüler nekroz, <i>HC</i> grubu.....	83
46.	Böbrek pelvisinde arteriol duvarında kalınlaşma, <i>HC</i> grubu.....	84
47.	Akciğer arteriol duvarında kalınlaşma, <i>SV</i> grubu.....	84
48.	Akciğer arteriol duvarında kalınlaşma, <i>SV</i> grubu.....	85
49.	Akciğer arteriol duvarında kalınlaşma, <i>HC</i> grubu.....	85
50.	Akciğerde periarterioller fibrözis, <i>SV</i> grubu.....	86
51.	Kalpte, subendokardial fibrozis, <i>SV</i> grubu.....	86
52.	TSK'larda dejenerasyona bağlı atrofik görünüm, <i>HD</i> grubu.....	87

53.	TSK’larda dev hücreli dejenerasyon, <i>HD</i> grubu.....	87
54.	Kontrol ve deneme gruplarında serum AST düzeyleri.....	55
55.	Kontrol ve deneme gruplarında serum GGT düzeyleri.....	57
56.	Kontrol ve deneme gruplarında serum serbest bilirubin düzeyleri.....	59
57.	Kontrol ve deneme gruplarında serum albumin düzeyleri.....	61
58.	Kontrol ve deneme gruplarına ait hepatosit mitotik indeksi.....	62
59.	PCNA ile pozitiflik gösteren hepatositler, Kontrol grubu.....	88
60.	PCNA ile pozitiflik gösteren hepatositler, <i>HD</i> grubu.....	88
61.	Kontrol ve deneme gruplarına ait safra epiteli mitotik indeksi.....	62
62.	Megalohepatosit sitoplazmasının, nüklear membrandaki pordan invagine olması ile şekillenmiş intranükleer inklüzyon, <i>HD</i> grubu.....	89
63.	Megalohepatosit nükleusunda apoptozis, <i>SV</i> grubu.....	89

1. ÖZET

Senecio vernalis, *Heliotropium dolosum* ve *Heliotropium circinatum* bitkilerini %10 oranında içeren rasyonlar ile yapılan yedirme denemesinde buzağılarda oluşan patolojik, biyokimyasal ve elektron mikroskopik değişimler incelendi. Bu amaçla 16 adet, 3-4 aylık erkek buzağı, biri kontrol, 3 deneme olmak üzere 4 gruba ayrıldı ve 12 hafta süren çalışmada, aşağıdaki bulgular elde edildi.

1- Deneme sonunda, *Heliotropium dolosum* grubunda canlı ağırlığın % 9.21, *Heliotropium circinatum* grubunda % 19.36 ve *Senecio vernalis* grubunda ise % 17.24 oranında bitkisel materyal tüketildi. Denemenin 38, 42 ve 50. günlerinde *Heliotropium dolosum* grubunda üç, 39. günde *Senecio vernalis* grubunda bir hayvan olmak üzere, toplam 4 adet buzağıda ölüm şekillendi. Kontrol ve *Heliotropium circinatum* gruplarında ise ölüm görülmedi.

2- Klinik bulgular; tenesmus, konstipasyon, ikterus, alopesi, asites, rektal prolapsus, kaşeksi ve sallantılı yürüyüş ile karakterize idi.

3- Karaciğerde kapsüler fibrozis, asites, mide-bağırsak kanalında ödem, hidrotoraks, hidroperikard, akciğer ödemi ve testiküler atrofi saptanan belli başlı makroskopik bulgular idi. Ölen hayvanlardaki makroskopik değişimlerin şiddet ve dağılımı, deneme sonuna kadar sağ kalanlara göre çok daha belirgindi.

4- Mikroskopik olarak; karaciğerde veno-oklüzyon, megalositozis, intranükleer inklüzyon, periportal ve periasiner postnekrotik fibrozis gözlemlendi. Ekstrahepatik lezyonlar ise; interstisyel nefritis, tübüler megalositozis, akciğer

ve böbrek arteriollerinde medial hipertrofi ile karakterize idi. İnklüzyonların nüklear porlardan sitoplazmanın nükleusun içerisine invaginasyonu sonucu olduğu ortaya kondu.

5- Biyokimyasal olarak; karaciğer enzimlerinden AST ve GGT enzim aktivitelerinde sadece belli haftalarda önemli yükselmeler görüldü.

6- PCNA boyama yöntemi ile yapılan değerlendirmelerde tüm deneme gruplarında kontrollere göre mitotik indeksin baskılanmış olduğu ortaya kondu.

Sonuç olarak; klinik, makroskobik ve mikroskobik bulguların *Heliotropium dolosum* grubundaki buzağılarda en belirgin, *Senecio vernalis* grubunda orta derecede, *Heliotropium circinatum* grubunda ise en hafif şiddet derecesinde şekillendiği, biyokimyasal bulguların morfolojik değişimleri desteklemediği ve teşhis bakımından yeterli olmadığı, megalositozis, intranüklear inklüzyon ve veno-oklüzyon ile karakterize hepatik değişimlerin spesifik, ekstrahepatik lezyonların ise doğal olguların tanısını destekleyici rol üstlenebileceği ortaya kondu.

Anahtar kelimeler: Biyokimyasal bulgular, buzağı, intoksikasyon, patolojik bulgular, pirolizidin alkaloidleri.

2.ABSTRACT

The aim of this study was to investigate pathological, biochemical and electron microscopical changes in calves fed on the rations supplemented with 10 % dose level of *Heliotropium dolosum*, *Heliotropium circinatum* or *Senecio vernalis*. For this aim; 16 male calves, aged in 3-4 months old, were divided into 4 groups each contain 4 calves and the following results were obtained.

1- The plant consumption ratio to the body weight was 9.21 % in *Heliotropium dolosum*, 19.36 % in *Heliotropium circinatum* and 17.24 % in *Senecio vernalis* group. Three animals (at 38th, 42nd and 50th days) from *Heliotropium dolosum* group and one animal (at 39th day) from *Senecio vernalis* group died throughout the experimental period. Death occurrence was not noted neither in control nor in *Heliotropium circinatum* group.

2- Clinical findings were characterized by tenesmus, constipation, alopecia, rectal prolapsus and inco-ordination of walking.

3- Hepatic capsular fibrosis, ascites, gastrointestinal edema and testicular atrophy were the main prominent macroscopical finding detected in experiment groups.

4- Microscopically: hepatic lesions including veno-occlusion, megalocytosis, intranuclear inclusion, periportal and periaciner necrosis were detected. Extrahepatic changes were characterized mainly by interstitial nephritis, tubular megalocytosis, arteriolar hypertrophy in lungs and kidneys. It was demonstrated that the inclusions were produced by the invagination of cytoplasm through pores to the nucleus.

5- Biochemically AST and GGT enzyme activities were high only in certain weeks of experiment.

6- It was indicated that hepatic mitosis had been suppressed in all experiment groups in regard to evaluations made by PCNA staining scores.

In conclusion; the most prominent macroscopic and microscopic changes occurred in *Heliotropium dosum*, *Senecio vernalis* and *Heliotropium circinatum* groups, respectively. Biochemical findings did not support to the morphological changes and had no diagnostic value. Hepatic megalocytosis, nuclear inclusion and veno-occlusion were regarded as the specific lesions in calves. Extrahepatic changes, however, might have supportive role in the diagnosis of naturally occurring toxications with pyrrolizidine alkaloid containing plants.

Key words: Biochemical findings, calf, intoxication, pathologic findings, pyrrolizidine alkaloids.

3. GİRİŞ

Bitkilerin kimyasal savunma araçları olarak değerlendirilen Piroлизidin Alkaloid (PA)'leri, bitkisel toksinlerin önemli bir grubunu oluştururlar (5, 55, 81). Bu alkaloidler kimyasal olarak heterosiklik bileşikler olup, nesin bazıları olarak bilinen bazı alkollerin esterleridir. Doğadaki tüm çiçekli bitkilerin yaklaşık % 3.0'ünün hepatotoksik PA'lerini içerdiği vurgulanmıştır (4, 14, 15, 16, 81). PA'lerini içeren bitkiler, kuvvetli toksik etkileri ve doğada yaygın olarak bulunmaları nedeniyle, evcil ve yabani hayvanlar ile insanlar için en önemli bitkisel toksikasyon kaynağı olarak değerlendirilmiştir (46, 74). Bu bitkilerden *Senecio* türlerinin sığırlarda toksikasyonlara neden olduğu yaklaşık bir asırdır bilinmektedir (55). Bununla birlikte, evcil hayvanlarda *Heliotropium* türlerinin toksik etkileri ancak son 50 yılda saptanmıştır (21, 48, 56, 78, 90). Bazı PA'lerinin hepatotoksik etkilerinin yanı sıra; genotoksik, karsinogenik, teratojenik ve embriyotoksik etkilerinin de olduğu ortaya konmuştur (4, 69, 75). PA'lerini içeren bitkilerin tüketimi ile evcil hayvanlarda esas olarak karaciğer etkilenir ve genellikle kronik karakterli, zor teşhis edilebilen ve büyük ekonomik kayıplara neden olan toksikasyonlar şekillenir. Klinik semptomlar ve ölümler, bitki tüketiminden aylar sonra, kronik ve ilerleyici karakterli lezyonların karaciğer yetmezliği oluşturmasıyla şekillenmektedir (53, 55, 81). Diğer taraftan, bu alkaloidler kısa bir sürede metabolize edilerek vücuttan atıldıklarından, doğal olgularda biyolojik sıvı ya da vücut dokularında rezidüel ürünler saptanamamaktadır (4, 53). Toksikasyonun kronik seyirli olması nedeniyle, bitki-lezyon ilişkisinin de kurulması güçleşir. Deneysel çalışmalarda, kimyasal olarak PA'lerinin metabolizma ürünlerinden (metabolitlerin) bir kısmının, karaciğerde saptanması mümkün olmakla birlikte (62), bu yöntemlerle kronik olguların teşhisi

ve bunların saha şartlarında uygulanması mümkün görülmemektedir. Doğal toksikasyon olgularına ilgili bildirimler, spesifik patolojik bulguların ortaya konması ve bitkisel PA kaynağının tespiti esasına dayandığı için (81), bu olguların teşhisinde spesifik patolojik bulguların ortaya konması son derece önemlidir (4).

3.1. Pirolizidin Alkaloidlerini İçeren Bitkilerin Genel Özellikleri

Boraginacea (*Heliotropium*, *Amsinckia*, *Cynoglossum*, *Trichodesma*, *Echium* türleri), *Compositae* (*Senecio* türleri) ve *Leguminosae* (*Crotalaria* türleri) ailelerindeki yaklaşık 6.000 bitki türünde, birbirinden farklı kimyasal yapıda 600'den fazla PA'ı saptanmış ve bunların yaklaşık yarısının hepatotoksik etkili olduğu, ortaya konmuştur (7, 11, 38, 69).

3.1.1. Compositae Ailesi (Toplu Çiçekler)

Senecio Türleri

Dünya'da morfolojik olarak birbirinden farklı, yaklaşık 3000 *Senecio* türü bulunur (22). Bu türlerin çoğu toksik PA'lerini içermekle birlikte, insan ve evcil hayvanlardaki toksikasyonlar yaklaşık 30 *Senecio* türü ile sınırlıdır (4, 77). Botanik kayıtlarına göre, Türkiye'nin farklı coğrafik bölgelerinde 39 *Senecio* türü mevcut olup, bu bitki türü "kanarya otu" olarak da bilinmektedir (22, 32).

***Senecio vernalis*:** Yıllık bir bitki olan *S. vernalis* (*SV*), erişkinliğe ulaştığında yaklaşık 30 cm yüksekliğindedir. Çiçekleri açık sarı renkte olup, çiçeklerin görünümü sarkık bir şemsiyeyi andırır (Şekil-1). *SV*, vejetasyon bakımından gerek Türkiye'de, gerekse hemen tüm Avrupa ülkelerinde oldukça yaygın olarak bulunur. Botanik kaynaklarına göre, Türkiye florasında *SV* bitkisi 27 il sınırında mevcuttur (Şekil-2). Bu bitki türü, Elazığ yöresinde de Nisan-

Ağustos ayları arasında oldukça yoğun ve yaygın bir vejetasyon göstermektedir (22).

3.1.2. Sığırlarda *Senecio* Türleri ile Oluşan Toksikasyonlar

Sığırlarda *Senecio* türlerine bağlı PA toksikasyonu ilk kez 1903 yılında Yeni Zelanda'da kaydedilmiştir (5). Daha sonra ise, bu bitkiye ilgili toksikasyonlar birçok ülkede farklı isimlerle tanımlanmıştır. Doğal toksikasyona neden olduğu bilinen belli başlı türler; *S. jacobaea*, *S. riddellii*, *S. longilobus* ve *S. vulgaris*' dir (25, 40, 41, 43, 61). Türkiye'deki bazı *Senecio* türlerinin (*S. vernalis*, *S. pseudo-orientalis*, *S. othonnae*, *S. aquaticus ssp. erraticus*, *S. integrifolius ssp. aucheri*, *S. racemosus* ve *S. lorenthii*) total alkaloit içeriği ve bu alkaloitlerin karakterizasyonuna yönelik çalışmalar yapılmıştır (66, 85, 86). Türkiye'nin bitki florasında bulunan *Senecio* türlerinin sığırlarda dahil olmak üzere evcil hayvanlarda oluşturabileceği potansiyel toksikasyon riski derleme niteliğindeki bir çalışma (32) ile vurgulanmış olmakla birlikte, bu konuda sığırlarda doğal olgu bildirimi ya da deneysel olarak oluşturulmuş herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

3.1.3. *Boraginaceae* Ailesi

Heliotropium Türü Bitkiler ve Genel Özellikleri

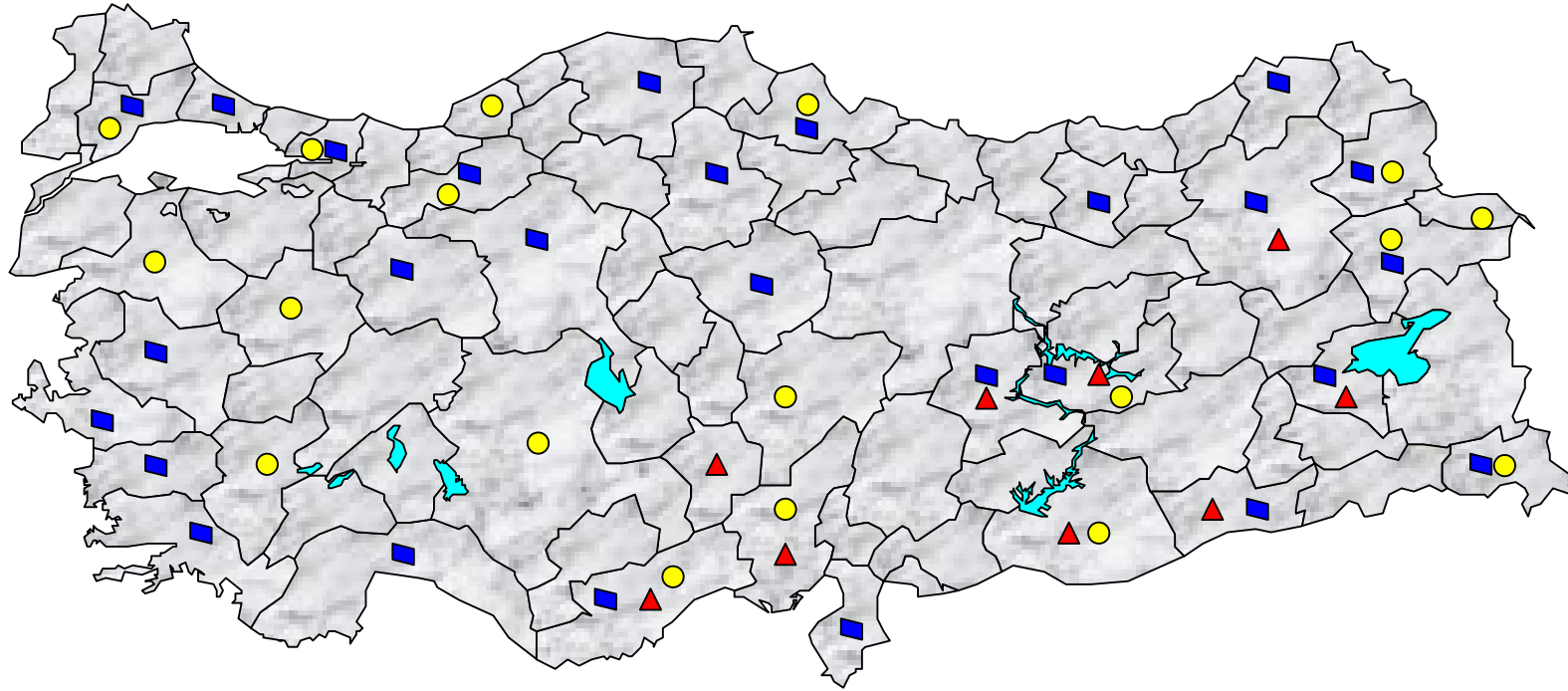
Heliotropium türleri, yaz mevsiminin en kurak döneminde vejetasyon gösteren, bir veya iki yıllık çalı benzeri bitkiler olup, "siğil otu" olarak da isimlendirilmektedir. Türkiye'de *H. circinatum* (HC) ve *H. dolosum* (HD) da dahil olmak üzere 14 farklı *Heliotropium* türü mevcuttur (22).

HD; yıllık bir bitki olup üzerinde yumuşak tüyler bulunur. Bitki kök kısmından başlayarak dallara ayrılmıştır. Yapraklar 3.5-4.0 cm çapında, oval

şekilli ve kalın, yeşil-gri renktedir. Tohumlarının dış yüzeyi pürüzlüdür. Botanik kayıtlarına göre; *HD*, Türkiye’de 18 il sınırında (Şekil-2) vejetasyon göstermektedir (22).

HC’de, yıllık bir bitki olup geliştiğinde yaklaşık 50 cm yüksekliğe ulaşır. Bitkinin dal ve yaprakları gri-beyaz renktedir. Kök kısmı dik yerleşimli olup, saçak şeklinde dallara ayrılır. Yapraklar 1.0-2.5 cm çapında oval ve kalındır. Tohumların dış yüzeyi düzdür. *HC* Türkiye’de 9 il sınırında (Şekil-2) bulunmaktadır (22).

Gerek *HD*, gerekse *HC*, nadasa bırakılmış tarlalarda ve kuru dere yataklarında yaygın olarak yetişir. Sözü edilen türler, Elazığ yöresinde de Haziran ve Ekim ayları arasında yeşil kalabilen ender bitkilerdendir (Şekil-3, 4).



Şekil-2: Türkiye’de *H. circinatum*, *H. dolosum* ve *S. vernalis*’in il bazında dağılım gösterdiği coğrafik bölgeler (22).

- ▲ *H. circinatum*
- *H. dolosum*
- *S. vernalis*

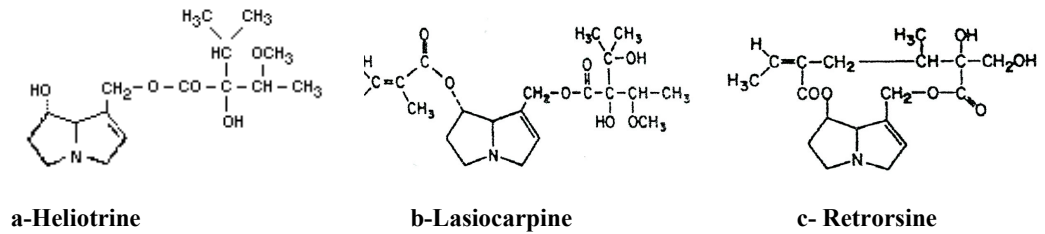
3.1.4. Sığırlarda *Heliotropium* Türleri ile Oluşan Toksikasyonlar

Heliotropium türlerine ilgili toksikasyonlar başta sığırlar olmak üzere evcil hayvanlarda önemli ekonomik kayıplar oluşturur (4). Sığırlarda toksikasyona neden olduğu bilinen türler; *H. europaeum* (33, 78) ve *H. amplexicaule*'dir (48).

Türkiye'de gerek *H. dolosum*, gerekse *H. circinatum* ve *H. europaeum* ile yapılan çalışmalar kanatlı türleri (etlik piliç ve bıldırcın) ve laboratuvar hayvanlarıyla (sıçanlarda ve farelerde) sınırlı kalmıştır (26, 28-30). Anılan bitkilerin sığırlardaki toksik etkileri ve toksikasyona ilgili patolojik değişimlerin özellikleri bilinmemektedir.

3.2. Pirolizidin Alkaloitlerinin Kimyasal Yapısı

Hepatotoksik PA'leri, kimyasal yapıları bakımından birçok alt gruba ayrılır. Bunların hepsi, ortak bir özellik olarak bir pirolizidin çekirdeği içerirler. PA'leri, bitkilerde bazik ve N-oksit olmak üzere iki farklı yapısal formda bulunurlar (4, 54). N-oksit formundaki PA'leri de, bağırsak kanalında enzimatik olarak bazik alkaloitlere dönüştürülür (54). Bunların, karaciğerde biyoaktivasyonu ile oluşan metabolitler toksik etki gösterirler (14). PA'lerinin kimyasal yapıları, toksik etki kapasiteleri ile yakından ilişkilidir. Buna göre, siklik diester yapısındaki PA'leri (a) en fazla, siklik olmayan diester yapılı (b) olanlar orta derecede ve monoester yapılı olanlar (c) ise en az toksik etki oluştururlar (Şekil-5).



Şekil 5. Toksik pirolizidin alkaloitlerinin kimyasal yapıları (81).

3.3. Pirolizidin Alkaloidlerinin Metabolizması

Karaciğer toksik bileşiklerin detoksifikasyonunu ve vücuttan safra ile vücuttan uzaklaştırılmasını sağlayan bir organdır (14). Buna karşılık, PA'lerinin sitokrom P 450 başta olmak üzere, çok amaçlı oksidaz enzimleri tarafından karaciğerde biyotransformasyonu sonucu oluşan ürünler (pirolik metabolitler), yüksek derecede reaktif ve toksik etkili bileşiklerdir (69). Bu bakımdan, PA'leri kimyasal olarak inaktif prekürsörler olarak değerlendirilmelidir (15).

3.3.1. Emilim, Dağılım ve Atılma Yolları

Ağız yoluyla alınan PA'leri bağırsaklardan (ileum ve jejunumdan) emilerek, portal vena ile karaciğere ulaşırlar. Sıçanlara 60 mg/kg intraperitoneal olarak tek doz retrorsine verildiğinde, ilk günde idrar ile atılan PA miktarının, ikinci güne göre yaklaşık 20 kat fazla olduğu, aynı zamanda total metabolitin çok az bir bölümünün (yaklaşık %1-2'sinin) safra ile atıldığı kaydedilmiştir (4, 55). Toksik olmayan metabolitler 24 saat içerisinde vücuttan idrar ve safra ile uzaklaştırılırlar. Toksik metabolitlerin de önemli bir bölümü, yaklaşık 48-72 saatte idrarla atılır (4).

3.3.2. Metabolizma Şekilleri

PA'leri karaciğerde çok amaçlı oksidaz enzimleri ile toksik ya da toksik olmayan bileşiklere metabolize edilir. PA'lerinin hayvanlardaki belli başlı metabolizma şekilleri hidroliz, N-oksidasyon ve dehidrojenasyondur.

Hidroliz ve N-oksidasyon ile detoksifiye ürünler, dehidrojenasyon sonucunda ise toksik metabolitler şekillenir. Hidroliz, N-oksidasyon ve dehidrojenasyon reaksiyonlarının tümü hepatositlerde gerçekleşir (53). PA'lerinin dehidrojenasyonundan oluşan primer metabolit, dehidropirolizidin esterleri olarak

isimlendirilir (piroller). Bunlar DNA, protein, amino asit ve glutasyon gibi hücresel nükleofillere bağlanan oldukça reaktif bileşiklerdir. Bunun dışında, pirolik alkole hidrolize olurlar ya da ikincil metabolit olarak kabul edilen dehidronesine dönüştürülürler. Dehidronesin de nükleofillerle yavaş reaksiyona girer (4, 28, 40).

3.4. Patogenez

PA toksikasyonunda karaciğer primer hedef organdır (53, 54). Piroller, dokuların yapısal unsurları ile alkilleyici reaksiyon oluştururlar ve bu maddeler hidrojen iyonları yerine alkil radikallerini yerleştirme yeteneğindedirler (58). DNA, protein, amino asit ve glutasyon gibi hücresel yapı ya da içeriğe kovalent olarak bağlanarak (4, 14, 53, 55), hepatotoksik etkinin yanı sıra; karsinogenezise (4, 19), teratogenezise (70, 72), mitozun ve bağışıklık sisteminin baskılanmasına (83) da sebep olurlar (Şekil-6).

Pirolik metabolitlerin proteinlere veya nükleik asitlere bağlanması ile antimitotik etki oluşur (4, 81). Piroller, sitoplazma proteinleri ve nükleik asitlerin tiyol gruplarına bağlanarak (4, 14), hücrelerde dejenerasyon ve nekroz oluşumuna sebep olur. Bir kısım pirolik metabolit ise, kan dolaşımına geçerek eritrositlere bağlanır, bir kısmı da serbest halde kan ile diğer dokulara taşınır (74).

Metabolitlerin DNA üzerinde özel hedef bölgelere bağlanması sonucu mitozun, G-2 ve M aşamaları gerçekleşmez. Bununla birlikte G1 ve S fazları etkilenmez. Hepatositler, G-2 veya M evresini ihmal ederek, tekrar geriye G1 evresine döner ve hücrede protein sentezi devam eder (5, 55). Bunun sonucunda ise, karakteristik büyük sitoplazmalı ve nükleuslu megalositik hepatositler şekillenir (2, 13, 39, 65, 76). Mutajenik ve teratojenik etkiler de pirolik

kaynaklanır (14, 16). Sıçan ve sığır gibi duyarlı türlerde yüksek, kobay, koyun ve bildirgin gibi dirençli türlerde ise düşük oranda pirolik metabolit şekillenir (15, 81). Bununla birlikte, tavşanların yüksek oranda pirol üretmelerine karşın, toksikasyona oldukça dirençli olmaları, yüksek düzeyde detoksifikasyon enzimlerinin varlığı ile açıklanmaktadır (4, 74, 81).

Yaş ve cinsiyet de, PA toksikasyonlarında duyarlılığı etkileyen faktörlerdir. Gençlerin erişkinlere göre daha duyarlı olduğu, sıçanlara göre, süt emen yavrularda toksikasyona ilgili lezyonların daha belirgin olarak şekillendiği tespit edilmiştir (12, 24, 31). Cinsiyet farklılığını ortaya koymak için yapılan bir çalışmada; erkek sıçanların dişilere göre daha duyarlı olduğu gözlenmiştir (4, 14).

Hayvanların yemlerle aldıkları bakır, molibden gibi metaller, metionin, sistin gibi bazı amino asitlerin miktarına bağlı olarak da toksikasyona ilgili lezyonların şiddetinde varyasyonlar şekillenebilir (4, 37). Pirolik esterler, glutasyona bağlanarak vücuttan uzaklaştırıldığından, aynı tür içinde karaciğer glutasyon seviyesi yüksek olan hayvanlar toksikasyona daha dirençlidir (14).

3.6. Pirolizidin Alkaloid Toksikasyonlarında Patolojik Bulgular

PA toksikasyonları doza ve hayvan türüne bağlı olarak akut veya genellikle kronik morfolojik değişimlerle karakterizedir (4).

3.6.1. Akut Toksikasyona İlgili Patolojik Bulgular

Akut toksikasyonda, lezyonlar genellikle karaciğerle sınırlı kalır. Bu değişimler; sıçan, fare, maymun, kanatlı türleri, domuz ve insanlarda bildirilmiştir. Sıçan, fare ve maymunlarda LD-50'ye yaklaşan yüksek PA dozları, 12-48 saat içerisinde karaciğerde yaygın hemoraji ve nekroz oluşumuna öncülük eder (55).

3.6.2. Subakut ve Kronik Toksikasyona İlgili Klinik ve Patolojik Bulgular

Çiftlik hayvanlarındaki doğal toksikasyon olgularında ve laboratuvar hayvanlarına düşük PA dozlarının verilmesiyle genellikle kronik karakterli morfolojik değişimler şekillenir (55). İlk etkilenen organ yine karaciğer olmakla birlikte (54), eriyebilen ve stabil kalabilen metabolitlerin kan ile taşınması sonucu akciğer, kalp ve böbreklerde de kimi patolojik değişimler şekillenir (18, 34).

Sığırlardaki kronik toksikasyon olgularında; iştahsızlık, zayıflık, depresyon, sarılık, fotosensitizasyon, solunum güçlüğü, saldırganlık ve paraliz gözlenen belli başlı klinik bulgulardır (6, 35, 49, 88, 90). Ayrıca, sığırlardaki kronik toksikasyonlar; ketozis ve karaciğer yağlanması gibi bazı metabolik hastalıklara da yatkınlık şekillenir (4, 20).

Sığırlarda, kronik toksikasyonların önemli bulguları, karaciğerde fibrozis, asites ve mezenterial ödemdir (4, 44, 81). Kimi kronik toksikasyonlarda hiçbir klinik semptom gözlenmez, bununla birlikte, hepatohücrel hasarın devamı ile birbirini takip eden nekroz, yangı, fibrozis ve en son olarak da siroz gelişir (9, 10, 12, 29).

Diğer hayvan türlerinde olduğu üzere, sığırlarda da, PA toksikasyonunun en sabit bulgusu, hepatositlerde sitoplazma ve nükleus hipertrofisi ile karakterize hepatik megalositozistir. Hücre hacminde, aşırı düzeylerde artış şekillenir ve hipertrofinin devamı ile dejenerasyon ve son olarak da nekroz şekillenir (12, 13, 81). Megalohepatositlerin nüklear membranı bazik boyalar ile kuvvetli boyanır ve kromatin miktarı azalarak karyomegali daha da belirginleşir (12, 39, 55). Karyomegali ile birlikte, nüklear inklüzyonlar önemli bir bulgu olarak

değerlendirilmiştir (4, 12, 15). Karaciğerde nekroz, kapsüler, periportal veya periasiner fibrozis, safra kanalı hiperplazisi, oval hücre proliferasyonu (58, 89) ve veno-oklüziv değişimler (88) de sığırlarda önceki doğal toksikasyon ve deneysel çalışmalarda bildirilmiş önemli mikroskopik bulgulardır.

Laboratuvar hayvanlarında monocrotaline ile yapılan çalışmalarda, toksik metabolitlerin kan yolu ile akciğere ulaşarak, kapillar endotel hücrelerinde nekrotik değişimlere ve mikrotrombozlara neden olduğu bildirilmiştir (3, 38, 47). Bu değişimlerin sonucunda; pulmoner hipertansiyon ile sağ ventriküler hipertrofi (kor pulmonale) şekillenebileceği vurgulanmıştır (18).

Gerek laboratuvar hayvanlarında ve gerekse sığırlardaki kronik PA toksikasyonlarında, renal tubüler megalositozis de oldukça sabit bir bulgudur (48, 67). Ayrıca laboratuvar hayvanlarında monocrotaline toksikasyonunda, glomeruler nekroz ve hiyalinizasyon, kapillar tromboz, Bowman kapsülünde kalınlaşma, tubulus epitellerinde ve mezengial hücrelerde dejenerasyon, büyük arterlerde fibrinoid nekroz ve tromboz böbrekteki değişimler olarak kaydedilmiştir (4, 34).

3.6.3. Pirolizidin Alkaloid Toksikasyonlarında Elektron Mikroskopik Bulgular

PA toksikasyonlarında nükleus ve nükleolusta büyüme, nüklear porlarda ve perikromatin granüllerinde artış, sitoplazmanın nükleus içerisine invaginasyonu (inklüzyon), hepatosit nükleuslarındaki ultrastruktürel değişimler olarak açıklanmış; hepatosit sitoplazmalarında ise granüllü endoplazmik retikulum proliferasyonu, Golgi cisimciğinde büyüme, lizozomlarda azalma,

sentriollerde yakınlaşma, yağ vakuolleri birikimi ve glikojen partiküllerinde azalma ile birlikte mitokondrialarda şişme saptanmıştır (2, 36, 37).

3.7. Pirolizidin Alkaloid Toksikasyonunun Bakır Metabolizması Üzerine Etkileri

Koyunlarda *H. europaeum* 'un tüketimi ile hepatojen bakır toksikasyonuna bağlı hemolitik kriz ve ona bağlı ölümler bildirilmiştir (37, 73). Benzer şekilde, *S. jacobae* ile yapılan çalışmada PA tüketiminin karaciğerin bakır düzeyinde artışa öncülük ettiği kaydedilmiştir (84). Bakır düzeylerindeki artış; bakırın emilim ve atılması ile karaciğerde bakır bağlayıcı proteinlerin miktarında şekillenen değişimler ile açıklanmıştır (4)

Bu çalışma ile Elazığ yöresinde ve Türkiye'nin yaklaşık 58 ilinde oldukça yaygın olarak bulunan; *S. vernalis*, *H. dolosum* ve *H. circinatum* bitkilerini % 10 oranında içeren rasyonların tüketimi ile buzağılarda oluşan makroskobik, mikroskobik, biyokimyasal ve elektron mikroskobik bulguların ortaya konması amaçlanmıştır.

4.GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Hayvan Materyali

Çalışmanın hayvan materyalini sütten kesilmiş, 3-4 aylık, ortalama 43.47 ± 1.86 kg canlı ağırlıkta, 16 baş Doğu Anadolu Kırmızısı erkek buzağı oluşturdu. Hayvanlar Elazığ İl'indeki hayvan pazarından genel klinik muayeneleri (tüylerin genel görünümü, konjunktivaların rengi, rektal vücut ısıları, nabız ve solunum frekansları ve lenf yumruları) yapıldıktan sonra satın alındı. Çalışma süresi, 4 hafta adaptasyon ile 12 hafta da deneme dönemi olmak üzere, toplam 16 hafta olarak belirlendi. Çalışma süresince hayvanlar Fırat Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Çiftliğinde barındırıldı. Adaptasyon süresinin başlangıcında buzağılara ektoparaziter (Bayticol, % 1 Flumethrin) ve endoparaziter (İvomec 1ml/50 kg deri altı) ilaç uygulamaları ile enterotoksemi aşısı (1 ve 28. günlerde, 1ml deri altı) uygulandı. Toplam 16 adet buzağı canlı ağırlıkları birbirine yakın olacak şekilde 4'erli, 4 gruba ayrıldı ve kulak numaralandırmaları yapıldıktan sonra, özel padoklara bireysel olarak yerleştirildi.

4.2. Bitkisel Materyal

Çalışmada kullanılan *SV* bitkisi, 2002 yılı Nisan-Haziran ayları arasında biçildi (Elazığ-Malatya yolu 50. km.). Bitkinin dalları ayrılarak diğer kısımları (çiçek ve yaprakları) açık havada ve gölgelik bir ortamda kurutuldu. Kurutulmuş bitkisel materyal, 0.1 mm elekli değirmende (Retsch 5657 Haan, Type Sk1) öğütülerek toz haline getirildi.

HD ve *HC* bitkileri ise Elazığ'a bağlı Miyadın köyü ile Sivrice ilçesi çevresinden 2002 yılı Ağustos-Eylül aylarında toplandı. Bitkiler açık havada gölgeli bir ortamda kurutularak, *HC* bitkisinin yaprak, çiçek ve tohumları, *HD*

bitkisinin ise sadece tohumları ayrıldıktan sonra 0.1 mm gözenekli değirmende (Retsch 5657 Haan, Type Sk1) öğütülerek toz haline getirildi.

4.2.1. Bitkisel Materyalin Alkaloit İçeriği ve Kompozisyonu

Denemede kullanılan bitkisel materyallerin alkaloit içeriğine ilişkin hesaplamalarda, daha önceki çalışmalarda bildirilen bulgular dikkate alındı. Buna göre *HD* bitkisinde % 0.13, *HC* bitkisinde % 0.15 ve *SV* bitkisinde % 0.14 oranında toplam alkaloit bulunduğu kabul edildi (26, 27, 30).

4.3. Yem Materyali

Toz haline getirilen bitkisel materyalin ham protein, ham yağ, ham selüloz ve ham kül miktarları Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı laboratuvarında saptandıktan sonra, kontrol ve deneme grupları için enerji ve protein değerleri eşitlenmiş (izokalorik ve izonitrojenik) rasyonlar hazırlandı (Tablo 1). Bitkisel materyal içermeyen rasyon grubu kontrol, % 10 bitkisel materyal içeren gruplar ise deneme gruplarını oluşturdu. Hazırlanan rasyonlar Elazığ Yem Fabrikasında 50°C sıcaklık uygulanarak pelet yem haline dönüştürüldü.

Tablo 1. Kontrol ve Deneme Gruplarına Ait Rasyon İçerikleri

Yem Bileşenleri (%)	GRUPLAR			
	<i>Kontrol</i>	<i>HD</i>	<i>HC</i>	<i>SV</i>
Arpa	34.00	34.00	34.00	34.00
Mısır	27.50	27.50	27.50	27.50
Soya Küspesi	24.00	23.00	24.00	24.00
Kepek	10.00	1.00	0.00	0.00
Bitkisel materyal	0.00	10.00	10.00	10.00
Kireçtaşı	3.50	3.50	3.50	3.50
DCP (*)	0.50	0.50	0.50	0.50
Tuz	0.25	0.25	0.25	0.25
Vit-Min (**)	0.25	0.25	0.25	0.25
% KM	88.00	88.00	88.00	88.00
% H P	18.00	18.00	18.00	18.00
ME (Mcal/kg)	2.80	2.80	2.80	2.80
% H S	12.00	12.00	12.00	12.00
% Ca	1.50	1.50	1.50	1.50
% P	0.50	0.50	0.50	0.50

* : Dikalsiyum Fosfat.

** : Kavimix VM 902 Büyük- Küçük Baş Hayvanlar için (Kartal Kimya); 1000 g için bileşimi, Vit A 15.000.000 IU, Vit D3 3.000.000 IU, Vit E 30.000 mg, Mangan 50.000 mg, Demir 50.000 mg, Çinko 50.000 mg, Bakır 10.000 mg, İyot 800 mg, Kobalt 150 mg, Selenyum 150 mg.

4.4. Çalışma Planı

Çalışma, adaptasyon dönemi hariç 12 hafta (84 gün) sürdü. Adaptasyon süresinin son günü, bütün hayvanlar genel klinik muayeneden geçirildi. Canlı ağırlıkları tartılarak, grup ortalamaları birbirine yakın olacak şekilde 4 gruba ayrıldı ve buzağılar 5x3x2 m boyutundaki bireysel padoklara yerleştirildi. Denemenin başlangıcından itibaren, her haftanın sonunda hayvanların canlı ağırlıkları tespit edildi. Buzağıların adaptasyon döneminde günlük tükettikleri pelet yem miktarı dikkate alınarak her bir buzağıya 1000 g pelet yem ile birlikte 1000 g yonca samanı verildi. Yemliklerde kalan yemler günlük olarak toplanarak tartıldı ve haftalık yem tüketimleri saptandı. Hayvanların yem tüketimleri dikkate alınarak, sonraki haftalarda pelet yem 250 ila 500 g miktarında deneme boyunca artırıldı. Otomatik suluklar ile hayvanların önlerinde sürekli olarak temiz su bulunduruldu. Altlık, yemlik ve suluklar günlük olarak temizlendi. Yedirme

denemesinin başlangıcından itibaren hayvanlar sürekli gözetim altında tutuldu ve toksikasyonun klinik belirtileri ve süresi kaydedildi.

4.5. Organ Ağırlık ve İndeksinin Saptanması

Deneme süresince ölen ve deneme sonunda kesilerek öldürülen hayvanların nekropsileri yapılarak, organ ağırlıkları saptandı. Kontrol ve deneme grubundaki hayvanların organ indeksleri (organ ağırlığı/canlı ağırlık x 100) tespit edildi.

4.6. Histopatolojik Yöntem

Histopatolojik muayeneler için özofagus, ön mideler, abomazum, ince ve kalın bağırsaklar, pankreas, karaciğer, dalak, akciğer, kalp kası, mezenterik ve portal lenf düğümleri, beyin ve beyincikten alınan doku örnekleri, % 10'luk tamponlu nötral formalin solüsyonunda tespit edildi. Bilinen klasik işlemlerden geçirildikten sonra, dokulardan parafin blokları hazırlandı. Bloklar 5 mikrona ayarlanmış mikrotomda kesilerek hematoxylin-eosin (HE) ile gerekli görülenler Prussian Blue Reaction, Hall, van Gieson, Masson Trichrome (MT), Reticulin, Verhoeff elastic (VE), Heidenhain's Miyelin ve oil Red O yöntemlerine göre boyanarak ışık mikroskopunda incelendi (8).

4.7. Hepatosit Nükleus Çapının Ölçümü

Kontrol ve deneme gruplarında HE ile boyanmış her hayvana ait karaciğer kesitinde 10 farklı mikroskop alanında, toplam 100 adet hepatosit'in nükleus çapı mikrometrik oküler yardımıyla ışık mikroskopunda ölçüldü.

4.8. Arteriol Duvar Kalınlığının Ölçümü

Tüm gruplardaki her hayvana ait akciğer kesitinde 5 farklı mikroskop alanında 25'er adet arteriol ve bronşiler arteriol duvarı ile yine her hayvana ait

böbrek kesitlerinde, kortekste 5 farklı mikroskop alanında 25'er adet arteriol duvar kalınlığı mikrometrik oküler kullanılarak ışık mikroskopunda ölçüldü.

4.9. Tubulus Seminiferus Kontortus Çapı ve Tubulus Kontortus Kalınlıklarının Saptanması

Tüm gruplarda, her bir hayvana ait testis vertikal kesitinin medullasından rastgele seçilen, 25 adet tubulus seminiferus kontortus çapı ve bunlara ait germinal hücre kalınlıkları mikrometrik oküler ile ışık mikroskopunda ölçüldü.

4.10. Karaciğerde Alan Ölçümleri

Tüm deneme gruplarında her hayvana ait trikrom tekniği ile boyanan karaciğer kesitinden 20 adet portal bölge ışık mikroskopunda, portal üçgen ortada olmak üzere, 40'lık objektif büyütmesi ile fotoğraflandı. Fotoğraf alanı, bilgisayar ortamına aktarıldıktan sonra, tüm alan bir birim kabul edilerek, birim alandaki hepatositlerin oransal olarak kapladığı alan, bilgisayar programı yardımıyla (Fırat Üniversitesi Teknik Eğitim Fakültesi Bilgisayar Eğitimi Bölümü tarafından geliştirilen Alan Hesaplama Programı) tespit edildi. Sonuçta; parankim alanı / birim alan (portal üçgen + fibrotik alan + parankim) oranı, % olarak hesaplandı.

4.11. Biyokimyasal Yöntem

Biyokimyasal analizler için denemenin başlangıcından itibaren 14 günde bir, toplam 7 defa hayvanlardan kan örnekleri (V. jugularis'ten antikoagülsüz, 10 ml) alındı. Örnekler 5000 rpm'de 8-10 dk. santrifüje edildikten sonra, üstte kalan serum kısmı polipropilen tüplere alınarak yapılacak analizler için -20 °C de derin dondurucuda muhafaza edildi.

4.11.1. Enzim Analizleri

Çalışma sonunda 16 hayvandan alınan serumlar Olympus RA-X- 6000 markalı otoanalizatörde Aspartat Amino Transferaz (AST), Alanin Amino Transferaz (ALT), Alkalen Fosfataz (ALP), Gama Glutamil Transferaz (GGT), Kreatin Kinaz (CK), total bilirubin, konjuge bilirubin, serbest bilirubin, total protein ve albumin düzeyleri tespit edildi.

4.11.2. Serum Bakır Analizi

Tüm gruptaki 16 hayvandan 14 gün ara ile alınan kanların serum bakır konsantrasyonu Atomik Absorbsiyon Spektrofotometre (Shimadzu AA-660) ile saptandı.

4.12. İmmunohistokimyasal Yöntem

İmmunohistokimyasal yöntemle PCNA'nın (Proliferating Cell Nuclear Antigen) varlığını göstermek için, deneme süresinde ölen (n:4) ve deneme sonrası nekropsileri yapılan hayvanların (n:12) karaciğerlerindeki aksesör lobun ortasından alınan 1.0x1.0x0.2 boyutundaki doku örnekleri % 10'luk tamponlu nötral formalin solüsyonunda tespit edildi. Doku örnekleri rutin klasik işlemlerden geçirildikten sonra parafin blokları hazırlandı. Bloklardan 3 mikron kalınlığında kesitler jelatinle kaplanmış lam üzerine alındı ve bir gece oda sıcaklığında havada kurutuldu. Üç ksilol solüsyonu ve azalan yoğunlukta 3 etil alkol solüsyonundan geçirildikten sonra distile su ile yıkanan kesitlere işaretlenmiş streptavidin biotin (labelled streptavidin biotin) yöntemi ile immunohistokimyasal boyama yapıldı. Uygulama sırasındaki tüm inkübasyonlar oda sıcaklığında, nemli ve kapalı bir ortamda yapıldı. İnkübasyonlar arasındaki tüm yıkamalar için fosfatlı tampon solüsyon (PBS) kullanıldı. Negatif kontrol olarak PBS kullanıldı.

Anti-PCNA ile boyama yöntemi: Dokularda endojen peroksidaz aktivitesi % 3'lük hidrojen peroksit solüsyonu ile 30 dakika inkube edilerek bloke edildi. Ardından distile su ile yıkandı. Doku kesitleri 5 dakika bloke edici serum ile inkube edildi, PBS ile yıkama yapılmadan üzerlerindeki fazla solüsyon akıtıldı ve çevreleri kurulandıktan sonra anti-PCNA solüsyonundan üzerlerini örtecek miktarda damlatıldı. PCNA antikoru olarak konsantre antikor solüsyonu PC 10 (DAKO, kod no: M 879) kullanıldı. Tüm kesitler, PC 10 için önerilen 1:50 sulandırma oranında oda ısısında 1 saat süreyle inkubasyona bırakıldı. Daha sonra sırasıyla bağlayıcı solusyon (link) ile 10 dakika, streptavidin solüsyonuyla 10 dakika ve AEC kromojen substrat solüsyonu (DAKO AEC, kod no: 696) ile 15 dakika inkübe edildi. Distile su ile 3 kez yıkandıktan sonra asitsiz ve alkolsüz Mayer hematoksilen ile zıt boyama yapıldı, distile su ile yıkandı. Amonyaklı suya 10 kez batırılıp çıkarıldı. Distile suda 2 dakika bekletildikten sonra gliserin içeren su bazlı kapatma maddesi ile kapatıldı.

PCNA pozitifliğinin değerlendirilmesi ve PCNA boyama indeksinin sayılı alan bölmeli bir oküler (x 10) yerleştirilen standart ışık mikroskopunda x 40 objektif ile yapıldı. Doku kesitlerinde PCNA pozitifliğinin maksimum ve minimum olduğu 10'ar alan seçilerek toplam 20 alanda 3000 hücre sayıldı. Bu alanlarda granüler ya da yaygın tüm nüklear boyanmalar, değerlendirmede subjektiviteye neden olmamak için, boyanma şiddetindeki farklılıklara bakılmaksızın pozitif kabul edildi. PCNA boyanma indeksi, pozitif hücrelerin sayısı olarak ifade edildi (68).

4.13. Transmisyon Elektron Mikroskopik Yöntem

Elektron mikroskobu için alınan doku örnekleri, 0.1 M kakodilat tamponunda (pH 7.4) hazırlanan % 2.5'lik glutaraldehit-paraformaldehit prefikzatifı içerisinde 24 saat süreyle +4°C' de buzdolabında tespit edildi. Takiben örnekler 0.1 M kakodilat tamponuyla (pH 7.4) 3 saat süreyle yıkandı. Postfiksasyon için dokular 0,1 M kakodilat tamponuyla (pH 7.4) hazırlanmış olan % 2'lik ozmiyum tetroksit tespit solüsyonu içerisinde 2-24 saat süreyle, oda sıcaklığında rotatorda döndürülerek tespit edildi. Aynı tamponla 20 dakikalık yıkama işleminden sonra % 30, 50 ve 70'lik alkol serilerinde toplam 90 dakika bekletildi. Örnekler % 70'lik alkol içerisinde 1 gece buzdolabında bırakıldı. Uranil asetat boyamasını takiben % 90, 100'lük alkollerde ve propilen oksitte 1'er saat bekletildi. Dokular Araldit CY 212'den 5 ml, Dodocenyl Succinic Anhydride (DDSA)'den 5 ml, Benzyldimethylamine (BDMA)'den 0.2 ml alınarak taze olarak hazırlanan ve aynı miktarda propilen oksit ile karıştırılan solüsyon içerisinde 1 gece buzdolabında bırakıldı. Ertesi gün dokular aynı oranlarda taze olarak hazırlanan araldit karışımında 2 saat süreyle 35°C'de etüvde rotatorda döndürüldü. Kalan araldit ile embedding moldsda bloklama yapıldı. Bloklar 1 gün süreyle sıcaklığı 45°C olan etüvde, 1 gün süreyle de 60°C'ye ayarlanan etüvlerde bekletildi. Bloklar, süre sonunda etüv kapatılarak soğumaya bırakıldı. Bloklardan ultramikrotomla alınan 300-700 Å kalınlığındaki ince kesitler bakır gridler üzerine yerleştirildi. Bu gridler kurşun sitrat ve uranil asetat ile boyandıktan sonra, transmission elektron mikroskobunda (Jeol 100 S X) incelendi (8).

4.14. İstatistiksel Yöntem

Ferdi ölçümlerin yapılabildiği verilerde varyans analizi ile gruplar arasında istatistiksel yönden farklılığın olup olmadığı belirlendi. Farklılık çıkması halinde Duncan testi uygulanarak hangi gruplar arasında farklılığın olduğu tespit edildi. İstatistiksel analizler SPSS 10.0 paket programıyla yapıldı. Denemenin 8. haftasından itibaren *HD* grubunda bir hayvan canlı kaldığı için, bu gruba ait yem, bitki ve alkaloit tüketimleri, canlı ağırlık değerleri, yemden yararlanma oranı, serum enzimleri ve bakır düzeyleri karşılaştırma dışı bırakılarak, denemenin sonuna kadar bir hayvana ait değerler verildi.

Kontrol ve deneme gruplarına ait serum AST, ALT, ALP, GGT, KK, total bilirubin, direkt bilirubin, indirekt bilirubin, total protein ve albumin değerleri ile bakır düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırmalarında ise parametrik test varsayımları yerine gelmediğinden Kruskal Wallis Varyans Analizi kullanıldı. Takiben önemli çıkan parametreler için ise yine Duncan testinden yararlanıldı (80).

5. BULGULAR

5.1. Yem Tüketimi

Genel olarak; deneme gruplarındaki yem tüketim değerleri kontrol grubuna göre daha az idi. Ancak, belli haftalarda istatistiksel farklılıklar şekillendi. Haftalık yem tüketimi bakımından, denemenin 1 ve 2. haftalarında kontrol ve deneme grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılığın bulunmadığı (Tablo 2), önemi haftalar içerisinde değişmekle birlikte, 3. haftadan itibaren denemenin sonuna kadar, 3 deneme grubunda da kontrol grubuna göre daha az yem tüketildiği saptandı. Deneme grupları karşılaştırıldığında ise, *SV* ile *HC* grupları arasında ve yine *SV* ile *HD* grupları arasında deneme boyunca istatistiksel açıdan önemli bir farklılık şekillenmedi. Sadece, denemenin 6. haftasında *HD* grubundaki yem tüketimi *HC* grubuna göre daha az ($P<0.01$) düzeyde idi. Yedinci hafta sonunda *HD* grubunda bir adet buzağı canlı kaldığı için istatistiksel değerlendirme yapılamadığı için bu hayvana ait haftalık tüketim değerleri sunuldu.

Tablo 2. Kontrol ve Deneme Gruplarında Haftalık Ortalama Yem Tüketimi (g/buzağı)

Hafta	GRUPLAR					P
	<i>Kontrol</i>	<i>HD</i>	<i>HC</i>	<i>SV</i>	<i>SH</i>	
1	8943.3 ± 778.4	7175.0 ± 673.2	5658.0 ± 676.7	7088.8 ± 899.4	451.5	ÖD
2	11568.3 ± 1504.2	7090.0 ± 723.9	7990.0 ± 1055.0	7161.3 ± 1289.3	678.2	ÖD
3	13473.3 ± 1496.7 ^a	4733.8 ± 1105.0 ^b	8213.8 ± 1208.9 ^b	7095.0 ± 1832.9 ^b	1028.0	0.05
4	16116.7 ± 1626.1 ^a	3976.3 ± 1359.7 ^b	8875.0 ± 1485.4 ^b	7211.3 ± 1572.7 ^b	1304.3	0.01
5	17215.0 ± 1836.9 ^a	2570.0 ± 1366.9 ^b	8878.9 ± 2094.6 ^b	7083.8 ± 2188.5 ^b	1588.2	0.01
6	18060.0 ± 1603.6 ^a	2766.7 ± 1430.1 ^c	9641.3 ± 1919.1 ^b	8525.0 ± 2858.1 ^{bc}	1629.6	0.01
7	19135.0 ± 1374.3 ^a	2332.5 ± 607.5 ^b	9278.8 ± 2306.8 ^b	8916.7 ± 2975.9 ^b	1945.6	0.05
8	19230.0 ± 597.6 ^a	2935	9171.6 ± 2946.5 ^b	9046.7 ± 2955.8 ^b	2037.2	0.05
9	21406.7 ± 1038.8 ^a	2125	8768.8 ± 2883.6 ^b	8738.3 ± 3031.1 ^b	2351.1	0.05
10	21323.3 ± 1713.3 ^a	2350	9083.8 ± 2809.2 ^b	8476.7 ± 3027.4 ^b	2129.5	0.05
11	20463.3 ± 1741.0 ^a	1955	9433.8 ± 3184.9 ^b	6890.0 ± 2744.1 ^b	2367.9	0.05
12	23021.7 ± 1404.4 ^a	2085	9505.0 ± 3603.6 ^b	8076.7 ± 3272.9 ^b	2697.0	0.05

a,b,c: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir.

ÖD: İstatistiksel bakımdan önemsiz ($P>0.05$).

SH: Standart Hata.

Deneme gruplarındaki kümülatif yem tüketiminin kontrol grubuna göre çalışma süresince daha az olduğu, ancak 2. haftadan sonra istatistiksel farklılığın olduğu ve denemenin sonuna kadar devam ettiği saptandı. Kontrol ve deneme gruplarındaki istatistiksel farklılık 4-6. haftalarda daha belirginleşti ($P < 0.01$). Deneme grupları kendi aralarında kümülatif yem tüketimi bakımından karşılaştırıldığında ise, deneme sonuna kadar istatistiksel açıdan farklılık saptanmadı (Tablo 3).

Tablo 3. Kontrol ve Deneme Gruplarında Kümülatif Yem Tüketimi (g).

Hafta	GRUPLAR					P
	<i>Kontrol</i>	<i>HD</i>	<i>HC</i>	<i>SV</i>	<i>SH</i>	
0-1	8943.3 ± 778.4	7175.0 ± 673.2	5658.0 ± 676.7	7088.8 ± 899.4	451.5	ÖD
0-2	20511.7 ± 2253.1.2	14265.0 ± 1186.4	13648.8 ± 1729.9	14250.0 ± 1552.4	1007.7	ÖD
0-3	33985.0 ± 3749.4 ^a	18998.8 ± 1844.9 ^b	21862.5 ± 2878.2 ^b	21345.0 ± 3268.2 ^b	1942.9	0.05
0-4	50101.7 ± 5373.9 ^a	22975.0 ± 3204.1 ^b	30737.5 ± 4301.8 ^b	28556.3 ± 4642.5 ^b	3192.1	0.01
0-5	67316.7 ± 7136.1 ^a	25545.0 ± 4516.6 ^b	39616.3 ± 6334.1 ^b	35640.0 ± 6255.6 ^b	4705.9	0.01
0-6	85376.7 ± 8708.5 ^a	27788.3 ± 6137.2 ^b	49257.5 ± 8252.2 ^b	49050.0 ± 7298.6 ^b	6684.3	0.01
0-7	104511.7 ± 10031.4 ^a	37370.0 ± 5515.0 ^b	58536.3 ± 10527.8 ^b	57966.7 ± 9654.3 ^b	8283.6	0.05
0-8	123741.7 ± 10560.0 ^a	34790	67707.5 ± 13472 ^b	67013.3 ± 12297.5 ^b	10759.7	0.05
0-9	145148.3 ± 11526.1 ^a	36915	76476.3 ± 16306.5 ^b	75751.7 ± 14850.9 ^b	13040.6	0.05
0-10	166471.7 ± 12592.8 ^a	39265	85560.0 ± 19071.5 ^b	84228.3 ± 17614.2 ^b	15320.1	0.05
0-11	186935.0 ± 13797.9 ^a	41220	94993.8 ± 22248.1 ^b	91118.3 ± 20265 ^b	17629.1	0.05
0-12	209966.7 ± 15175.8 ^a	43305	104498.8 ± 25813.8 ^b	99195.0 ± 23518.7 ^b	20309.3	0.05

a,b: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir.

ÖD: İstatistiksel bakımdan önemsiz ($P > 0.05$).

SH: Standart Hata.

5.2. Canlı Ağırlık

Haftalık canlı ağırlık ortalamaları (Tablo 4) bakımından kontrol ve deneme grupları arasında istatistiksel bakımdan farklılık saptanmadı ($P>0.05$).

Tablo 4. Kontrol ve Deneme Gruplarında Haftalık Canlı Ağırlık Ortalamaları (kg)

Hafta	GRUPLAR				SH	P
	Kontrol	HD	HC	SV		
0	42.8 ± 5.1	47.3 ± 2.9	38.8 ± 3.2	42.8 ± 3.4	1.8	ÖD
1	45.8 ± 4.7	47.8 ± 3.1	41.3 ± 3.4	44.5 ± 2.9	1.7	ÖD
2	49.0 ± 5.5	46.5 ± 2.6	41.5 ± 4.4	45.8 ± 4.2	2.0	ÖD
3	54.0 ± 5.8	47.0 ± 2.9	42.3 ± 5.9	45.8 ± 5.8	2.6	ÖD
4	59.8 ± 6.3	46.8 ± 3.2	47.0 ± 5.5	48.0 ± 5.1	2.7	ÖD
5	63.0 ± 5.4	50.3 ± 3.4	50.5 ± 5.8	51.5 ± 5.8	2.7	ÖD
6	70.8 ± 7.0	56.5 ± 3.5	55.3 ± 7.4	60.0 ± 5.0	3.6	ÖD
7	76.0 ± 7.2	54.5 ± 2.5	57.3 ± 6.8	64.0 ± 5.5	3.8	ÖD
8	82.5 ± 7.1	50.0	61.5 ± 8.9	65.7 ± 5.9	4.9	ÖD
9	89.0 ± 8.0	51.0	64.5 ± 10.3	69.0 ± 6.7	5.8	ÖD
10	92.5 ± 7.2	52.0	67.5 ± 10.7	71.3 ± 8.1	5.9	ÖÖ
11	98.5 ± 7.8	51.0	71.3 ± 12.4	74.3 ± 7.6	6.5	ÖD
12	103.8 ± 8.7	51.0	73.3 ± 13.2	75.7 ± 9.6	7.2	ÖD

ÖD: İstatistiksel bakımdan önemsiz ($P>0.05$).

SH: Standart Hata.

Gruplara göre bireysel haftalık ortalama canlı ağırlık artışı; kontrol grubunda 5.11 kg, HD grubunda 0.16 kg, HC grubunda 2.90 kg ve SV grubunda ise 2.43 kg idi. Kontrol ve deneme gruplarında, canlı ağırlık kazançları bakımından, ilk 3 haftada farklılık görülmedi ($P>0.05$). Dördüncü haftada HD grubu hayvanlarında, canlı ağırlık artışının kontrol ve HC gruplarına göre daha az olduğu saptandı (Tablo 5). Aynı haftalarda, kontrol ve HC grupları arasındaki farklılık önemsizdi ($P>0.05$). Beş ve 6. haftalarda, gruplar arasında istatistiksel farklılık bulunmadı. Yedinci haftada canlı ağırlık artışının, HD ve HC gruplarında, kontrol ve SV gruplarına göre daha az ($P<0.001$) olduğu dikkati çekti. Sekizinci haftadan itibaren HC, SV ve kontrol grupları arasında farklılık mevcut değildi ($P>0.05$).

Tablo 5. Kontrol ve Deneme Gruplarında Haftalık Canlı Ağırlık Kazancı (kg)

GRUPLAR						
Hafta	Kontrol	HD	HC	SV	SH	P
1	3.0 ± 1.4	0.5 ± 1.85	2.5 ± 0.5	1.8 ± 1.3	0.7	ÖD
2	3.3 ± 0.9	- 1.3 ± 1.32	0.3 ± 1.0	1.3 ± 1.8	0.7	ÖD
3	5.0 ± 0.7	0.5 ± 1.26	0.8 ± 1.9	0.0 ± 1.7	0.8	ÖD
4	5.8 ± 0.6 ^a	- 0.3 ± 0.75 ^c	4.8 ± 1.5 ^{ab}	2.3 ± 1.0 ^{bc}	0.8	0.01
5	3.3 ± 1.2	3.5 ± 0.29	3.5 ± 0.3	3.5 ± 0.9	0.4	ÖD
6	7.8 ± 1.7	2.0 ± 2.00	4.8 ± 1.7	3.7 ± 1.3	0.9	ÖD
7	5.3 ± 0.3 ^a	- 2.0 ± 1.00 ^c	2.0 ± 0.7 ^{bc}	4.0 ± 0.6 ^{ab}	0.8	0.001
8	6.5 ± 0.7	- 2.0	4.3 ± 2.3	2.7 ± 1.9	1.0	ÖD
9	6.5 ± 1.3	1.0	3.0 ± 1.5	3.3 ± 1.2	0.9	ÖD
10	3.5 ± 2.5	1.0	3.0 ± 0.9	2.3 ± 1.7	0.9	ÖD
11	6.0 ± 1.6	- 1.0	3.8 ± 1.8	3.0 ± 1.2	0.9	ÖD
12	5.3 ± 1.1	0.0	2.0 ± 0.9	1.3 ± 2.2	0.9	ÖD

a,b,c: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir.

SH: Standart Hata. ÖD: İstatistiksel bakımdan önemsiz.

5.3. Bitki Tüketimi

Deneme gruplarında; haftalık bitki tüketimi bakımından 1. ve 2. haftalarda gruplar arasında istatistiksel farklılık şekillenmedi ($P>0.05$). Üçüncü haftada *HC* grubunda *HD* grubuna göre; 4. haftada ise *HC* grubunda, hem *HD* hem de *SV* gruplarına göre bitki tüketiminin fazla olduğu saptandı. Denemenin 5-7. haftalarında, *HD* grubunda, diğer deneme gruplarına göre bitki tüketimi daha az idi ($P<0.001$). Sekizinci haftadan itibaren *HC* ve *SV* grupları arasında farklılık bulunmadı (Tablo 6).

Tablo 6. Kontrol ve Deneme Gruplarında Haftalık Bitki Tüketimi (g/kg CA)

GRUPLAR						
Hafta	Kontrol	HD	HC	SV	SH	P
1	0.0 ± 0 ^b	15.2 ± 1.3 ^a	14.5 ± 0.9 ^a	16.7 ± 2.1 ^a	1.84	0.001
2	0.0 ± 0 ^b	15.1 ± 1.7 ^a	19.2 ± 1.2 ^a	15.8 ± 2.2 ^a	2.03	0.001
3	0.0 ± 0 ^c	10.4 ± 2.5 ^b	19.8 ± 1.7 ^a	14.8 ± 2.8 ^{ab}	2.10	0.001
4	0.0 ± 0 ^d	8.2 ± 2.4 ^c	20.9 ± 1.5 ^a	15.3 ± 2.1 ^b	2.17	0.001
5	0.0 ± 0 ^b	5.1 ± 2.4 ^b	18.1 ± 2.6 ^a	14.4 ± 4.1 ^a	2.22	0.01
6	0.0 ± 0 ^b	5.0 ± 2.4 ^b	18.6 ± 1.6 ^a	15.4 ± 5.6 ^a	2.47	0.01
7	0.0 ± 0 ^b	4.2 ± 1.3 ^b	16.1 ± 1.9 ^a	14.9 ± 5.3 ^a	2.39	0.01
8	0.0 ± 0 ^b	5.6	14.9 ± 3.3 ^a	14.1 ± 4.8 ^a	2.70	0.05
9	0.0 ± 0 ^b	4.3	13.3 ± 2.6 ^a	13.2 ± 4.7 ^a	2.45	0.05
10	0.0 ± 0 ^b	4.6	13.3 ± 2.1 ^a	12.0 ± 4.2 ^a	2.29	0.01
11	0.0 ± 0 ^b	3.8	12.9 ± 2.4 ^a	9.2 ± 3.6 ^a	2.13	0.01
12	0.0 ± 0 ^b	4.1	12.1 ± 2.6 ^a	10.2 ± 3.9 ^a	2.14	0.05

a,b,c,d: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir.

SH: Standart Hata.

Kümülatif bitki tüketimi; en fazla *HC* grubunda, en az ise *HD* grubunda şekillendi. *HD* grubunda kümülatif bitki tüketimi, *HC* grubuna göre 3. haftadan başlayarak, *SV* grubuna göre ise 5. haftadan başlayarak 7. haftaya kadarki dönemde istatistiksel olarak önemli hale geldi ($P<0.001$). Deneme süresince *HC* ve *SV* gruplarına ait kümülatif bitki tüketimlerinde istatistiksel farklılık bulunmadı (Tablo 7).

Tablo 7. Kontrol ve Deneme Gruplarında Kümülatif Bitki Tüketimi (g/kg CA)

Hafta	GRUPLAR					P
	<i>Kontrol</i>	<i>HD</i>	<i>HC</i>	<i>SV</i>	<i>SH</i>	
0-1	0.0 ± 0 ^b	15.2 ± 1.3 ^a	14.5 ± 0.9 ^a	16.7 ± 2.1 ^a	1.8	0.001
0-2	0.0 ± 0 ^b	30.3 ± 2.6 ^a	33.7 ± 2.1 ^a	32.5 ± 1.6 ^a	3.7	0.001
0-3	0.0 ± 0 ^c	40.6 ± 4.3 ^b	53.4 ± 3.6 ^a	47.3 ± 3.9 ^{ab}	5.6	0.001
0-4	0.0 ± 0 ^c	48.8 ± 6.6 ^b	74.3 ± 4.1 ^a	62.6 ± 5.6 ^{ab}	7.6	0.001
0-5	0.0 ± 0 ^c	53.9 ± 8.6 ^b	92.5 ± 6.0 ^a	76.9 ± 8.9 ^a	9.6	0.001
0-6	0.0 ± 0 ^c	59.0 ± 14.6 ^b	111.0 ± 7.5 ^a	98.8 ± 13.4 ^a	13.2	0.001
0-7	0.0 ± 0 ^c	76.9 ± 7.2 ^b	127.1 ± 9.3 ^a	113.6 ± 18.3 ^a	16.2	0.001
0-8	0.0 ± 0 ^b	75.4	142.0 ± 12.4 ^a	127.8 ± 22.9 ^a	21.8	0.001
0-9	0.0 ± 0 ^b	79.7	155.3 ± 14.9 ^a	140.9 ± 27.2 ^a	24.1	0.001
0-10	0.0 ± 0 ^b	84.3	168.6 ± 16.9 ^a	152.9 ± 31.3 ^a	26.4	0.001
0-11	0.0 ± 0 ^b	88.1	181.5 ± 19.4 ^a	162.2 ± 34.9 ^a	28.4	0.001
0-12	0.0 ± 0 ^b	92.1	193.6 ± 21.9 ^a	172.4 ± 38.8 ^a	30.5	0.001

a,b,c:Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir.

SH:Standart Hata.

5.4. Alkaloit Tüketimi

Haftalık alkaloit tüketimi; en fazla *HC*, daha sonra *SV* grubunda, en az ise *HD* grubunda gerçekleşti. İlk haftada gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmazken, denemenin 2. haftasında *HC* grubunda, *HD* ve *SV* gruplarına göre, alkaloit tüketiminin daha fazla olduğu saptandı (Tablo 8). Denemenin 4. haftasında *HD* grubunda, *HC* ve *SV* gruplarına göre, *SV* grubunda ise *HC* grubuna göre alkaloit tüketimi daha az idi ($P<0.001$). Daha sonraki haftalarda, *SV* ve *HC* grupları arasında önemli farklılık bulunmadı ($P>0.05$). *HD* grubunda diğer deneme gruplarına göre farklılığın sonraki haftalarda da devam ettiği dikkati çekti ($P<0.001$).

Tablo 8. Kontrol ve Deneme Gruplarında Haftalık Alkaloit Tüketimi (mg/kg CA)

Hafta	GRUPLAR					P
	<i>Kontrol</i>	<i>HD</i>	<i>HC</i>	<i>SV</i>	<i>SH</i>	
1	0.0 ± 0 ^b	19.8 ± 1.7 ^a	21.8 ± 1.4 ^a	23.3 ± 2.9 ^a	2.6	0.001
2	0.0 ± 0 ^c	19.6 ± 2.2 ^b	28.8 ± 1.8 ^a	22.2 ± 3.1 ^b	2.9	0.001
3	0.0 ± 0 ^c	13.5 ± 3.3 ^b	29.6 ± 2.6 ^a	20.7 ± 3.9 ^b	3.1	0.001
4	0.0 ± 0 ^d	10.7 ± 3.1 ^c	31.3 ± 2.3 ^a	21.5 ± 2.9 ^b	3.2	0.001
5	0.0 ± 0 ^b	6.6 ± 3.1 ^b	27.2 ± 3.8 ^a	20.1 ± 5.8 ^a	3.3	0.01
6	0.0 ± 0 ^b	6.5 ± 3.2 ^b	27.8 ± 2.4 ^a	21.5 ± 7.9 ^a	3.6	0.01
7	0.0 ± 0 ^b	5.5 ± 1.7 ^b	24.3 ± 2.9 ^a	20.8 ± 7.4 ^a	3.5	0.01
8	0.0 ± 0 ^b	7.3	22.3 ± 4.9 ^a	19.7 ± 6.7 ^a	3.9	0.05
9	0.0 ± 0 ^b	5.5	19.9 ± 3.9 ^a	18.5 ± 6.6 ^a	3.6	0.05
10	0.0 ± 0 ^b	5.9	19.9 ± 3.2 ^a	16.8 ± 5.9 ^a	3.3	0.01
11	0.0 ± 0 ^b	4.9	19.4 ± 3.7 ^a	12.9 ± 4.9 ^a	3.1	0.01
12	0.0 ± 0 ^b	5.3	18.2 ± 3.9 ^a	15.1 ± 5.7 ^a	3.2	0.05

a,b,c,d: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir.

SH: Standart Hata.

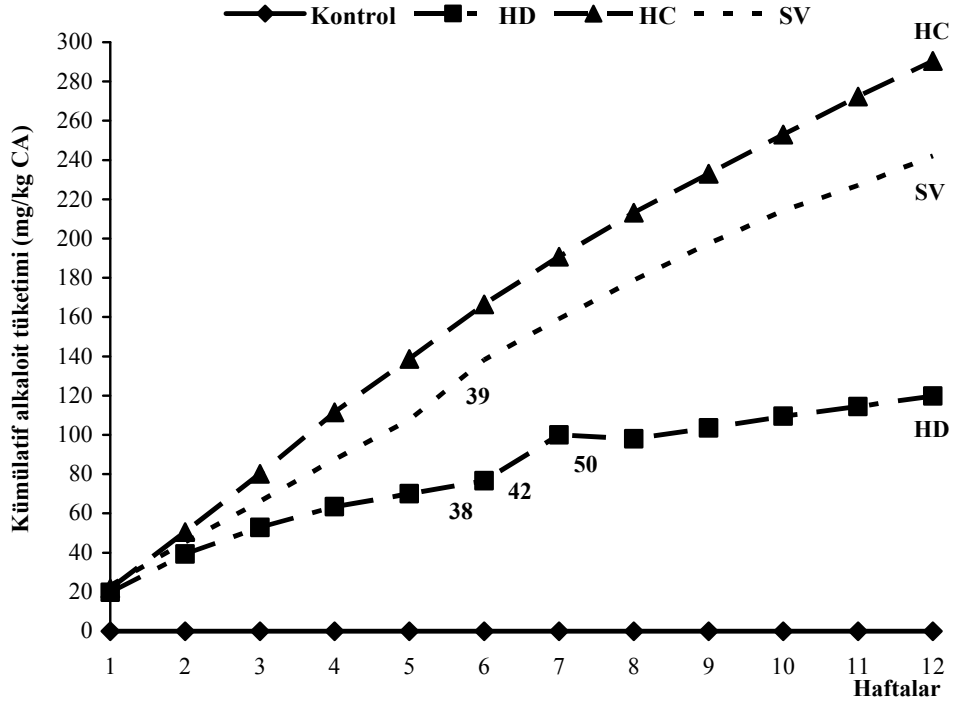
Deneme gruplarının, kümülatif alkaloit tüketimleri karşılaştırıldığında, 12. hafta sonunda, alkaloit tüketiminin *HC* grubunda en fazla, daha sonra *SV* grubunda ve en az olarak da *HD* grubunda şekillendiği saptandı (Şekil-7). Denemenin ilk haftasında deneme grupları arasında istatistiksel farklılık bulunmazken ($P>0.05$), 2-3. ve 6-7. haftalarda *HD* grubundaki alkaloit tüketiminin diğer iki deneme grubuna göre az olduğu gözlemlendi (Tablo 9). Dördüncü ve 5. haftalarda ise farklılığın tüm deneme grupları arasında olduğu, alkaloit tüketiminin en fazla *HC*, daha sonra *SV*, ve en az ise *HD* grubunda olduğu dikkati çekti ($P<0.001$). Sekiz ve 12. haftalarda *HC* ve *SV* grupları arasındaki farklılığın önemsiz olduğu saptandı ($P>0.05$).

Tablo 9. Kontrol ve Deneme Gruplarında Kümülatif Alkaloit Tüketimi (mg/kg CA)

Hafta	GRUPLAR					P
	Kontrol	HD	HC	SV	SH	
1	0.0 ± 0 ^b	19.8 ± 1.7 ^a	21.8 ± 1.4 ^a	23.3 ± 2.9 ^a	2.6	0.001
2	0.0 ± 0 ^c	39.4 ± 3.4 ^b	50.5 ± 3.1 ^a	45.5 ± 2.3 ^{ab}	5.3	0.001
3	0.0 ± 0 ^c	52.8 ± 5.6 ^b	80.2 ± 5.4 ^a	66.2 ± 5.6 ^{ab}	8.1	0.001
4	0.0 ± 0 ^d	63.5 ± 8.6 ^c	111.5 ± 6.1 ^a	87.6 ± 7.9 ^b	11.1	0.001
5	0.0 ± 0 ^d	70.0 ± 11.2 ^c	138.7 ± 9.0 ^a	107.7 ± 12.4 ^b	14.0	0.001
6	0.0 ± 0 ^c	76.7 ± 18.9 ^b	166.5 ± 11.3 ^a	138.3 ± 18.7 ^a	19.5	0.001
7	0.0 ± 0 ^c	100.0 ± 9.3 ^b	190.8 ± 13.8 ^a	159.1 ± 25.5 ^a	23.8	0.001
8	0.0 ± 0 ^b	98.1	213.1 ± 18.5 ^a	178.9 ± 31.9 ^a	31.9	0.001
9	0.0 ± 0 ^b	103.6	233.1 ± 22.3 ^a	197.3 ± 38.1 ^a	35.4	0.001
10	0.0 ± 0 ^b	109.6	252.9 ± 25.4 ^a	214.1 ± 43.8 ^a	38.6	0.001
11	0.0 ± 0 ^b	114.5	272.3 ± 29.0 ^a	227.0 ± 48.7 ^a	41.6	0.001
12	0.0 ± 0 ^b	119.8	290.5 ± 32.9 ^a	242.1 ± 54.4 ^a	44.7	0.001

a,b,c,d:Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir.

SH:Standart Hata.



Şekil 7. Kontrol ve deneme gruplarında kümülatif alkaloit tüketimi (mg/kg CA)

Ortalama yaşam sürelerine göre hesaplanan günlük alkaloit tüketimleri de haftalık ve kümülatif alkaloit tüketimlerine benzerlik gösterdi (Tablo 10). Deneme gruplarında günlük alkaloit tüketiminin, en fazla *HC*, en az ise *HD* grubunda

olduğu saptandı ($P < 0.001$). *HC* ve *SV* grupları arasında önemli bir farklılık bulunmadı.

Tablo 10. Kontrol ve Deneme Gruplarında Günlük Ortalama Alkaloid Tüketimi (mg/kg)

GRUPLAR					
<i>Kontrol</i>	<i>HD</i>	<i>HC</i>	<i>SV</i>	<i>SH</i>	<i>P</i>
00.0 ± 0.0^c	1.60 ± 0.26^b	3.35 ± 0.37^a	2.61 ± 0.47^{ab}	0.36	0.001

a,b,c: Farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir. **SH**: Standart Hata.

5.5. Klinik Bulgular

Oniki haftalık deneme süresince, klinik bulgular en belirgin olarak *HD* grubunda şekillendi. Bu gruptaki hayvanların ortalama yaşam süresi de diğer gruplara göre daha az idi. *SV* grubunda genel olarak klinik semptomların derecesi *HD* grubuna göre daha hafif, *HC* grubundan ise daha belirgin idi (Tablo 11). Denemenin 38, 42 ve 50. günlerinde *HD* grubunda 3 hayvan, 39. günde *SV* grubunda bir hayvan olmak üzere, toplam 4 adet buzağıda ölüm şekillendi. Kontrol ve *HC* gruplarında ise ölüm görülmedi.

HD grubundaki hayvanlarda denemenin 10. gününden itibaren iştahsızlık, 3. haftadan itibaren de dehidrasyon ve kaşeksi semptomları şekillendi. Dördüncü haftadan ölümler şekilleninceye kadar geçen süre içerisinde; inleme, tenesmus, konstipasyon ile özellikle sırt ve bacaklarda alopesi ile karakterize semptomlar gözlemlendi. Ölen hayvanlarda denemenin 5. haftasında skleranın, safra renkli maddeler ile kirli sarı renge boyandığı dikkati çekti (Şekil-8). Eş zamanlı olarak, aynı hayvanlarda; karın bölgesinde asites nedeniyle ventrale doğru sarkma (Şekil-9), bacakları açarak yürüme, solunum güçlüğü semptomları gözlemlendi. Ölümden 24-48 saat önce hayvanların, ayağa kalkamadığı saptandı. Lateral pozisyonda, yatalak durumdaki hayvanlarda, ölümden 4-8 saat önce, rektum mukozasının bir bölümünün anüsten prolabe olduğu dikkati çekti (Şekil-10). Denemenin sonuna

kadar sağ kalan hayvanda ise, asites ya da rektal prolapsus bulguları şekillenmedi. Bununla birlikte, alopesi daha belirgin olarak görüldü.

SV grubunda ölen hayvandaki klinik bulgular, *HD* grubunda ölen buzağılardaki bulgular ile birbirinden ayırt edilemeyecek kadar benzer nitelikteydi. *SV* grubunda, denemenin sonuna kadar hayatta kalan, diğer 3 buzağıdan sadece bir tanesinde klinik belirtiler şekillendi. Bu buzağıda (9292 nolu), 26. günden itibaren; halsizlik, kaşeksi ve konstipasyon kaydedilen en önemli bulgular idi. Ölen hayvandaki kadar şiddetli olmamakla birlikte, 6. haftadan itibaren bu hayvanda da tenesmus ve solunum güçlüğü ile, 8. haftadan başlayarak alopesi, sallantılı yürüyüş semptomları kaydedildi.

HC grubuna ait dört buzağıdan ikisinde (9297 ve 9298 nolu) denemenin 60. gününden itibaren klinik bulgular şekillendi. Bu hayvanlarda, iştahsızlık diğer iki deneme grubuna göre daha hafif olmakla birlikte, denemenin sonlarına doğru kaşeksi ve alopesi, *SV* grubundan daha belirgin olarak şekillendi. Diğer deneme gruplarındaki buzağılarda gözlenen sallantılı yürüyüş ve solunum güçlüğüne bu grup hayvanlarda rastlanmadı. Hafif ve orta derecede bir konstipasyon görülmekle birlikte, rektal prolapsus şekillenmedi. *HD* grubunda saptanmayan, *SV* grubunda ise yalnız bir buzağıda gözlenen pöliüri, *HC* grubunda 3 hayvanda oldukça belirgindi.

Tablo. 11 Kontrol ve Deneme Gruplarında Klinik Bulgular ve Ortalama Yaşam Süreleri.

GRUPLAR																		
	Kontrol				HD				HC				SV					
Buzağı No	9287	9288	9289	9290	9293	9295	9296	9300	9285	9294	9297	9298	9286	9291	9292	9299	SH	P
BULGULAR																		
Kaşeksi	0	0	0	0 ^b	+++	+++	+++	+++ ^a	0	0	+++	++ ^b	0	+	++	+++ ^{ab}	0.35	0.01
Tenesmus	0	0	0	0	+++	+++	0	+++	0	0	++	0	0	0	++	+++	0.34	ÖD
Alopesi	0	0	0	0	++	++	+	+++	0	0	+++	++	0	0	++	+++	0.31	ÖD
Sallantılı yürüyüş	0	0	0	0 ^b	+++	+++	++	+++ ^a	0	0	0	0 ^b	0	0	++	+++ ^b	0.34	0.01
Konstipasyon	0	0	0	0 ^b	+++	+++	++	+++ ^a	0	0	++	+ ^b	0	0	++	+++ ^b	0.33	0.01
Halsizlik	0	0	0	0 ^b	+++	+++	++	+++ ^a	0	0	++	+ ^b	0	0	+	+++ ^b	0.33	0.01
Rektal prolapsus	0	0	0	0	++	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	++	0.27	ÖD
Hırıltılı solunum	0	0	0	0	+++	++	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+++	0.27	ÖD
Poliüri	0	0	0	0 ^b	0	0	0	0 ^a	+++	0	++	++ ^a	0	++	0	0 ^b	0.26	0.05
Ölüm	0	0	0	0 ^b	+	+	+	0 ^a	0	0	0	0 ^b	0	0	0	+ ^{ab}	0.34	0.05
Ort. Y. S. (gün)	84.00 ± 00.00 ^a				53.50 ± 10.47 ^b				84.00 ± 00.00 ^a				72.75 ± 11.25 ^{ab}				4.71	0.05

Bulgunun Derecesi: 0 bulgu yok, + hafif, ++ orta, +++ şiddetli a,b,c: Farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılık önemlidir. SH: Standart Hata. ÖD: İstatistiksel bakımdan önemsiz (P>0.05). Ort. Y. S.: Ortalama yaşam süresi.

5.6.Makroskobik Bulgular

Tüm deneme gruplarında; karaciğerde atrofi, kapsüler fibrozis, asites, abomazum, mezenterium ve bağırsak duvarında ödem, safra kesesinde dilatasyon, hidrotoraks, hidroperikard, akciğer ödemi ve testiküler atrofi kaydedilen sabit makroskobik bulgular idi (Tablo 12). *HD* ve *SV* gruplarındaki ölen hayvanlarda şekillenen makroskobik lezyonların şiddet ve dağılımı, deneme sonuna kadar sağ kalanlara göre çok daha belirgindi.

HD grubunda özellikle karaciğer ve sindirim organları başta olmak üzere, iç organlarda değişen derecelerde makroskobik değişimler kaydedildi. Deri altı yağ ve bağ dokuları ile omentum, mezenterium, periton, plöra ve aorta intimasının ikterik görünümlü olduğu dikkati çekti (Şekil-11). Karın boşluğunda 500-3500 ml (asites), göğüs boşluğunda 200-750 ml (hidrotoraks), perikardiyal kesede 20-40 ml (hidroperikard) arasında değişen miktarlarda, koyu sarı ve berrak görünümlü efüzyonlara rastlandı (Şekil-12). Abomazumun kardiasından başlayarak tüm sindirim kanalı, mezenterium ve lenf yumruları oldukça ödemli bir görünümdeydi (Şekil-13). Abomazal plikalar, ödem nedeniyle belirginliğini kaybetmişti (Şekil-14). İnce bağırsak mukozasının, yaygın ve orta şiddette konjesyonlu olduğu gözlemlendi. Karaciğerin visseral yüzünde özellikle porta hepatis bölgesinde daha şiddetli olmak üzere, solgun-beyaz renkte fibrotik alanlara rastlandı (Şekil-15). Özellikle ölen buzağılarda karaciğerin diyaframatik yüzünde düzensiz dağılım gösteren subkapsüler kanamalar mevcuttu. Kesit yüzünde, fibrotik bölgelerin kapsula ile sınırlı olduğu dikkati çekti. Karaciğer parankiminin, koyu kırmızı kahve renkte konjesyonlu olduğu, kıvamının sertleştiği, kenarlarının ise kütleştiği gözlemlendi.

Safra kesesi, ileri derecede dolgun olup, genişlemişti (Şekil-16). Duvarı kalınlaşmış, mukozasında yaygın peteşiyel kanamalar mevcuttu. *HD* grubundaki tüm hayvanlarda, *HC* ve *SV* gruplarında ise kaşektik hayvanlarda, böbrek adipoz kapsulasının incelendiği ve adeta pelte görünümüyle karakterize, mukoid atrofiye uğradığı dikkati çekti. Ölen hayvanlarda, böbrek pelvisi ve medullasının koyu sarı renge boyandığı gözlemlendi.

Ölen hayvanlarda, traheada köpüklü bir sıvı ile akciğerde, değişen derecelerde interstisyel ödem ve plöral kalınlaşma mevcuttu. Kalpte, epikardial ve endokardial fokal peteşiyel kanamalara rastlandı. Bu gruba ait ölüm görülen hayvanlarda testislerin atrofik görünümlü olduğu, testis ile epididimis arasındaki yapısal oranın, testislerin aleyhine azaldığı dikkati çekti. Testislerin kıvamı sertleşmiş ve tunika albuginea kalınlaşmıştı.

SV grubunda ölen hayvanda (9299), *HD* grubunda ölen hayvanlara ait tüm makroskobik bulgular gözlenirken, karaciğerde subkapsüler kanamaların bu gruptaki buzağıda daha şiddetli olduğu dikkati çekti (Şekil-17). Deneme sonunda kesilen hayvanlardan sadece bir tanesinde (9292 nolu), makroskobik bulgular dikkati çekerken diğer iki hayvanda, ise önemli sayılabilecek makroskobik lezyon gözlenmedi. Deneme sonunda kesilen hayvanın karaciğerinde; orta şiddette kapsüler fibrozis ve hafif şiddette supkapsüler hemoraji gözlemlendi. Abomazum mukozası ve mezenteriumda hafif şiddette ödem, bağırsak mukozasında hafif şiddette konjesyon ile birlikte karın boşluğunda yaklaşık 250 ml asites sıvısı mevcuttu. Göğüs boşluğunda yaklaşık 50 ml miktarında berrak, sarı renkte transudat ile birlikte, akciğerlerde hafif şiddette interstisyel ödem saptandı. *HD*

grubundaki kadar belirgin olmamakla birlikte, testiküler atrofi bu hayvanda da mevcuttu.

HC grubunda ise makroskopik olarak 3 hayvanda karaciğerde kapsüler fibrozis ve interstisyel akciğer ödemi ve hafif hidroperikard saptandı (Şekil-18). Buzağılardan 2 tanesinde orta şiddette testiküler atrofi dikkati çekti. Bunun dışında sadece bir hayvanda (9297 nolu), hafif şiddetli olmak üzere karaciğerde supkapsüler hemoraji, karın boşluğunda yaklaşık 100 ml transudat, bağırsak mukozasında konjesyon, abomazum mukozasında ödem ve safra kesesinde dilatasyon mevcuttu. Bir hayvanda ise (9294), hiçbir şekilde makroskopik değişim gözlenmedi.

Tablo. 12 Kontrol ve Deneme Gruplarında Makroskopik Bulgular.

		GRUPLAR																	
		<i>Kontrol</i>				<i>HD</i>			<i>HC</i>				<i>SV</i>						
BULGULAR	Buzağı No	9287	9288	9289	9290	9293	9295	9296	9300	9285	9294	9297	9298	9286	9291	9292	9299	SH	P
Karaciğerde kapsüler fibrozis		0	0	0	0 ^b	+++	++	++	++ ^a	+	0	+++	++ ^{ab}	0	+	++	+++ ^{ab}	0.30	0.05
Karaciğerde subkapsüler hemoraji		0	0	0	0	++	+	+++	+	0	0	+	0	0	0	+	+++	0.27	ÖD
Asites		0	0	0	0	+++	++	++	0	0	0	+	0	0	0	+	+++	0.28	ÖD
Mezenteriyal ödem		0	0	0	0 ^b	+++	+++	+++	0 ^a	0	0	0	0 ^b	0	0	+	+++ ^{ab}	0.33	0,05
Abomazum ödemi		0	0	0	0	+++	+++	++	0	0	0	+	0	0	0	+	+++	0.31	ÖD
Safra kesesinde dilatasyon		0	0	0	0	+++	+++	+	0	0	0	+	0	0	0	0	++	0.27	ÖD
Hidrotoraks		0	0	0	0	++	+	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+++	0.22	ÖD
Akciğer ödemi		0	0	0	0	+	++	+++	0	+	0	+	+	0	0	+	++	0.23	ÖD
Hidroperikard		0	0	0	0	+	+	++	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0.16	ÖD
Epikardial ve endokardial peteşi		0	0	0	0	+	+	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	+++	0.26	ÖD
Testis atrofisi		0	0	0	0	++	+	0	+++	0	0	++	++	0	0	+	++	0.26	ÖD

Bulgunun Derecesi: 0 bulgu yok, + hafif, ++ orta, +++ şiddetli a,b,c: Farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılık önemlidir. SH: Standart Hata. ÖD: İstatistiksel bakımdan önemsiz (P>0.05).

5.7.Organ Ağırlık ve İndeksleri

Kontrol ve deneme gruplarına ait organ ağırlıkları Tablo 13’de, organ indeks değerleri ise Tablo 14’de sunuldu. Tüm deneme gruplarında; karaciğer ağırlığının, kontrol grubuna göre daha az olduğu dikkati çekti ($P<0.05$). Akciğer ve böbrek ağırlıkları bakımından, kontrol ve deneme grupları arasında herhangi bir farklılık saptanmadı ($P>0.05$). Tüm deneme gruplarında, kontrol grubuna göre kalp ağırlığının daha az olduğu, indeks yönünden değerlendirildiğinde ise (Şekil-19), *HD* ve *SV* gruplarında kalp indekslerinin diğer gruplara göre daha fazla olduğu gözlemlendi ($P<0.05$). Deneme grupları arasında farklılık bulunmazken, *HD* grubuna ait hayvanlardaki testis ağırlığının kontrol grubuna göre daha az olduğu dikkati çekti ($P<0.05$). Testis indeks değerleri bakımından farklılık mevcut değildi ($P>0.05$). *HD* ve *SV* gruplarına ait hayvanlarda dalak ağırlıklarının kontrol grubuna göre daha az olduğu gözlenirken ($P<0.05$), organ indeksleri bakımından incelendiğinde ise gruplar arasında farklılığın olmadığı saptandı ($P>0.05$).

Beyin ağırlıkları bakımından gruplar arasında önemli bir farklılık bulunmadı ($P>0.05$). Buna karşılık *HD* grubuna ait hayvanların beyin indeks değerlerinin, kontrol grubuna göre daha fazla olduğu dikkati çekti ($P<0.05$). *HC* ve *SV* gruplarında ise, kontrol ve *HD* gruplarına göre istatistiksel olarak önemli bir farklılık saptanmadı.

Tablo 13. Kontrol ve Deneme Gruplarında Organ Ağırlıkları (g)

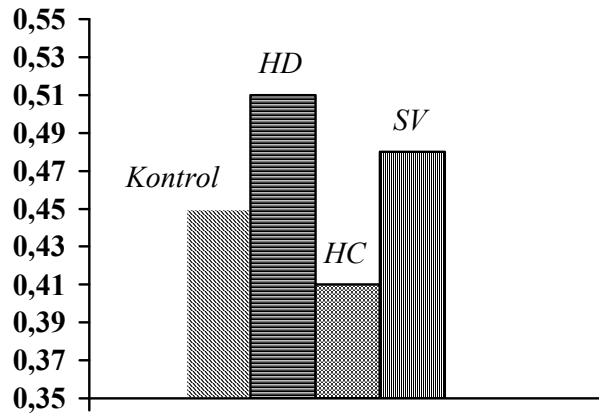
Organ	GRUPLAR					P
	Kontrol	HD	HC	SV	SH	
Karaciğer	1826.3 ± 248.6 ^a	681.3 ± 136.9 ^b	1070.0 ± 334.6 ^b	866.3 ± 866.3 ^b	155.3	0.05
Kalp	458.8 ± 25.9 ^a	255.0 ± 15.9 ^b	295.0 ± 48.4 ^b	311.3 ± 52.5 ^b	26.4	0.05
Dalak	408.8 ± 22.0 ^a	136.3 ± 7.5 ^b	282.5 ± 73.7 ^{ab}	225.0 ± 50.0 ^b	32.8	0.01
Testis	71.3 ± 16.6 ^a	20.0 ± 0.0 ^b	37.5 ± 9.2 ^{ab}	38.8 ± 10.0 ^{ab}	6.8	0.05
Akciğer	1177.5 ± 87.3	770.0 ± 194.4	792.5 ± 56.9	763.8 ± 134.8	73.3	ÖD
Böbrek	395.0 ± 34.6	298.8 ± 37.2	263.8 ± 29.5	263.8 ± 23.8	19.2	ÖD
Beyin	265.0 ± 19.5	251.3 ± 5.2	227.5 ± 16.0	231.3 ± 10.2	7.3	ÖD
Beyincik	43.8 ± 3.2	40.0 ± 6.1	41.3 ± 3.8	38.8 ± 4.7	2.1	ÖD

a,b: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir. **SH**: Standart Hata.
ÖD: İstatistiksel bakımdan önemsiz (P>0.05).

Tablo 14. Kontrol ve Deneme Gruplarında Organ İndeksleri (OA/VA x 100)*

Organ	GRUPLAR					P
	Kontrol	HD	HC	SV	SH	
Karaciğer	1.74 ± 0.11	1.34 ± 0.21	1.35 ± 0.22	1.33 ± 0.13	0.09	ÖD
Akciğer	1.50 ± 0.05	1.50 ± 0.29	1.16 ± 0.16	1.16 ± 0.05	0.08	ÖD
Böbrek	0.38 ± 0.03	0.60 ± 0.07	0.38 ± 0.04	0.47 ± 0.08	0.03	ÖD
Kalp	0.45 ± 0.02 ^{bc}	0.51 ± 0.02 ^a	0.41 ± 0.01 ^c	0.48 ± 0.02 ^{ab}	0.01	0.05
Dalak	0.40 ± 0.01	0.28 ± 0.02	0.38 ± 0.06	0.33 ± 0.03	0.02	ÖD
Beyin	0.26 ± 0.01 ^b	0.51 ± 0.04 ^a	0.33 ± 0.04 ^{ab}	0.40 ± 0.10 ^{ab}	0.03	0.05
Beyincik	0.04 ± 0.00	0.08 ± 0.02	0.06 ± 0.01	0.07 ± 0.02	0.01	ÖD
Testis	0.07 ± 0.01	0.04 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.06 ± 0.01	0.00	ÖD

a,b,c: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir. **SH**: Standart Hata.
ÖD: İstatistiksel bakımdan önemsiz (P>0.05). **OA**: Organ Ağırlığı **VA**: Vücut Ağırlığı.



Şekil 19. Kontrol ve deneme gruplarında kalp indeks değerleri (OA/VA x100).

5.8. Mikroskopik Bulgular

Ölen hayvanlardaki mikroskopik bulguların genel özellikleri, denemenin sonunda kesilenlerle benzerlik göstermekle birlikte, söz konusu lezyonların şiddeti ve dağılımı, ölen hayvanlarda çok daha belirgindi.

5.8.1. Karaciğerde Mikroskopik Bulgular

Tüm deneme gruplarında, sentral venlerdeki oklüzyon en dikkat çekici bulgu idi. Anılan lezyonun şiddet ve yaygınlığı bakımından, gruplar arasında önemli farklılıklar mevcuttu (Şekil-20-23). Diğer belli başlı bulgular; megalositozis, intranükleer inklüzyon cisimciği, periportal ve periasiner postnekrotik fibrozis, safra kanalı hiperplazisi, oval hücre proliferasyonu ve kapsüler fibrozis idi. Ayrıca; hepatositlerde apoptozis, parankimal nodül formasyonu, safra pigmenti birikimi ve subkapsüler hemoraji de kimi olgularda kaydedilen bulguları (Tablo 16).

HD grubunda; karaciğerde vena sentralis lümenlerinin kısmen kollagen iplikler ve hücreden zengin bir fibröz bağ doku ile tam (tam veno-oklüzyon) ya da kısmen tıkanıdığı (kısmi veno-oklüzyon) ve periasiner alanlarda postnekrotik fibrozisin şekillendiği dikkati çekti (Şekil-24). Gerek veno-oklüzyon, gerekse periasiner nekroz; bu gruptaki ölen üç hayvanda, diğer tüm deneme gruplarına ve bu grupta deneme süresinin sonuna kadar hayatta kalan buzağıya göre de çok daha yaygın ve belirgindi. Periasiner bölgelerin yanı sıra, periportal alanlarda da postnekrotik fibrozis şekillenmişti. Ölen hayvanlarda, karaciğer kapsulasında şiddetli fibrozis mevcuttu. Deneme sonunda kesilen hayvanda ise kapsüler fibrozis hafif şiddette şekillenmişti. Portal bölgeden başlayarak kordonlar halinde parankime doğru uzanan, perisinüzoidal ve periselüler yerleşimli fibrotik

alanların, vena sentralis çevresinde şekillenen fibrotik alanlarla yer yer birleştiği saptandı (Şekil-25). Bu alanların içerisinde az sayıda nötrofil ve lenfositlerden oluşan hücresel infiltrasyon ile birlikte, oval hücre proliferasyonu da mevcuttu. Fibrotik kordonlar arasında, parankimal nodüller şekillenmişti (Şekil-26). Bu nodülleri oluşturan hepatosit nükleusları küçük ve hiperkromatik olup, bunların merkezinde vena sentralis de mevcut değildi. Midzonal yerleşimli hepatositlerde ise; dejeneratif değişimler (bulanık dejenerasyon ve yağ dejenerasyonu) ile birlikte gelişigüzel dağılım gösteren, çevresindeki hepatositlerden ayrılmış, büzüşmüş, aşırı eozinofilik görünümlü asidofilik ve apoptotik cisimciklerin varlığı dikkati çekti. Subkapsüler ve özellikle periasiner alanlarda, yer yer, hafif şiddette sinuzoidlerde konjesyon şekillenmiş idi. Periportal bölgede; Kupffer hücreleri sayıca artmış ve hipertrofik görünümlüydü. Hepatositlerde karyomegali ve sitomegali ile karakterize olan megalositozis gözlenmiş olmakla birlikte, bu bulgu diğer gruplara göre, daha az belirgindi. Megalohepatositlerin nükleusları hipokromatik, nüklear membranları ise hiperkromatik görünümlü idi (Şekil-27). Karaciğer parankimi içerisinde, rastgele serpiştirilmiş tarzda, bazı hepatositlerin nükleuslarında asidofilik, oval-yuvarlak şekilli, intranüklear inklüzyon cisimcikleri mevcuttu (Şekil-28). Hepatositlerin sitoplazmasında, oval şekilli ve keskin sınırlı, büyük damlalı tarzda yağ vakuolleri dikkati çekti (Şekil-29). Periportal ve periasiner bölgelerde, hücre içinde ve hücre dışında safra pigment birikimleri saptandı (Şekil-30).

SV grubunda denemenin 39. gününde ölen buzağıdaki bulgular ile deneme sonuna kadar yaşayan buzağılardaki bulgular arasında, lezyonların şiddet ve dağılımı bakımından önemli varyasyonlar mevcuttu. Ölen hayvandaki veno-

oklüzyon ile postnekrotik fibrozis, deneme sonunda kesilen hayvanlara göre daha baskın bulgulardı (Şekil-31). Deneme sonunda kesilen buzağılardan, iki tanesinde de veno-oklüziv lezyonlar bazı damarlarda ve kısmi olarak mevcut iken, bir tanesinde ise hiçbir şekilde oklüzyona rastlanmadı. Deneme sonunda kesilen hayvanlarda (3 buzağı), en dikkat çekici bulgu megalositozis idi (Şekil-32). Kesilerek öldürülen 3 buzağıda, orta şiddette kapsüler ve postnekrotik periportal fibrozis mevcuttu (Şekil-33). Genel histolojik tablo içerisinde, şiddetli olmamakla birlikte, kesilen hayvanlardan iki tanesinde parankimal nodüllere rastlandı (Şekil-34). Diğer deneme gruplarında olduğu üzere; bu grupta da, tüm hayvanlarda, hepatositlerde, intranükleer inklüzyon cisimciklerinin varlığı dikkat çekici idi. (Şekil-35).

HC grubunda, megalositozis en belirgin ve sabit bulgu idi. Megalohepatositlerin önemli bir bölümünde nekrotik ve dejeneratif değişimler mevcuttu (Şekil-36). Bu gruptaki zonal postnekrotik fibrozis, diğer deneme gruplarına göre daha hafif şiddette idi (Şekil-37). Veno-oklüzyon, *SV* grubunda sağ kalan hayvanlara benzer şekilde, kısmi olarak ve 2 buzağıda şekillenmişti (Şekil-38).

Tablo 15. Kontrol ve Deneme Gruplarında Hepatosit Nükleus Çapları (µm) ve Hepatosit Yüzey Alanı (*).

	GRUPLAR					P
	<i>Kontrol</i>	<i>HD</i>	<i>HC</i>	<i>SV</i>	<i>SH</i>	
Nükleus Çapı	7.05 ± 0.92 ^c	8.61 ± 1.36 ^b	9.61 ± 1.96 ^a	9.51 ± 1.52 ^a	1.79	0.001
Hepatosit Alanı	89.60 ± 0.51 ^a	38.10 ± 2.45 ^c	62.43 ± 1.94 ^b	42.98 ± 2.78 ^c	1.92	0.001

a,b,c: Farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir. **SH:** Standart Hata.

*:hepatositlerin kapladığı yüzey alanı/birim portal alanx100

Deneme gruplarında, hepatositlerin ortalama nükleus çapı, kontrol grubuna göre daha büyük idi (P<0.001).

Birim portal bölgedeki hepatositlerin alanı tüm deneme gruplarında, şekillenmiş olan postnekrotik fibrozise bağlı olarak önemli oranda azalmıştı. Hepatosit yüzey alanının; en fazla kontrol, daha sonra *HC*, en az olarak da *SV* ve *HD* gruplarında olduğu saptandı (Tablo 15). Buna göre; periportal fibrozisin sırasıyla en belirgin olarak *HD*, *SV* ve *HC* gruplarında şekillendiği ortaya kondu..

Kontrol grubu karaciğerlerinde hepatositler bir örnek yapıda idi. Portal bölgedeki damarlarda ve vena sentralis lümeninde ve çevresinde herhangi bir değişime rastlanmadı (Şekil-39).

Tablo. 16 Kontrol ve Deneme Gruplarında Karaciğerde Mikroskopik Bulgular.

		GRUPLAR																	
		Kontrol					HD			HC				SV					
BULGULAR	Buzağı No	9287	9288	9289	9290	9293	9295	9296	9300	9285	9294	9297	9298	9286	9291	9292	9299	SH	P
Veno-oklüzyon		0	0	0	0 ^b	+++	+++	++	+ ^a	0	0	++	++ ^{ab}	0	+	++	+++ ^{ab}	0.31	0.05
Megalositozis		0	0	0	0 ^b	+	+	+	+++ ^a	++	++	+++	+++ ^a	+++	+++	+++	+ ^a	0.31	0.01
İntranükleer inklüzyon		0	0	0	0 ^b	+++	+++	+	+ ^a	+	+	++	+ ^a	+	+	+	++ ^a	0.24	0.05
Kapsüler fibrozis		0	0	0	0 ^b	+++	+++	+++	++ ^a	+	+	++	+ ^b	++	++	++	+++ ^a	0.29	0.001
Postnekrotik periportal fibrozis		0	0	0	0 ^b	+++	+++	+++	+ ^a	+	++	+++	+ ^a	+	++	+	+++ ^{ab}	0.30	0.05
Postnekrotik periasiner fibrozis		0	0	0	0 ^b	+++	+++	+++	+ ^a	0	0	++	++ ^{ab}	0	+	++	+++ ^a	0.32	0.05
Safra kanalı hiperplazisi		0	0	0	0 ^b	+++	+++	+++	+ ^a	+	++	+++	+ ^a	+	++	++	+++ ^a	0.30	0.01
Oval hücre proliferasyonu		0	0	0	0 ^b	+++	+++	+++	+ ^a	+	+	+++	+ ^a	+	++	++	+++ ^a	0.30	0.01
Postnekrotik infiltrasyon		0	0	0	0 ^b	+++	+++	++	+ ^a	0	0	+	0 ^b	0	+	+	+++ ^{ab}	0.30	0.01
Safra pigmenti		0	0	0	0 ^c	+++	+++	++	+ ^a	+	+	+	+ ^{bc}	+	++	+	+++ ^{ab}	0.27	0.01
Subkapsüler hemoraji		0	0	0	0	+++	+++	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+++	0.30	ÖD
Bulanık şişkinlik		0	0	0	0 ^b	+++	+++	++	+++ ^a	+	++	+++	+++ ^a	+	+++	+++	+++ ^a	0.33	0.01
Asidofilik cisimcik		0	0	0	0 ^b	+++	+++	+++	+ ^a	+	+	+++	+ ^a	+	++	+	+++ ^a	0.30	0.05
Parankimal nodül		0	0	0	0 ^b	+++	+++	++	0 ^a	0	0	++	+ ^{ab}	0	+	+	+++ ^{ab}	0.30	0.05

Bulgunun Derecesi: 0 bulgu yok, + hafif, ++ orta, +++ şiddetli a,b,c: Farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılık önemlidir.
SH: Standart Hata. ÖD: İstatistiksel bakımdan önemsiz (P>0.05).

5.8.2. Ön Mideler ve Abomazumda Mikroskopik Bulgular

HD ve *SV* grubundaki ölen hayvanlarda ön midelerin tüm katmanlarında, oldukça belirgin, bir ödem mevcuttu (Şekil-40). Sözü edilen olgularda; abomazal mukoza epitelinin yer yer döküldüğü, lamina propriada tek tük lenfosit infiltrasyonu ile birlikte, submukozal ve subserozal şiddetli bir ödemin varlığı dikkati çekti (Şekil-41). Deneme sonunda kesilen *HC* ve *SV* gruplarındaki, birer hayvanda da, subserozada hafif şiddette ödem şekillenmişti.

5.8.3. İnce Bağırsaklarda Mikroskopik Bulgular

Ölen hayvanlarda, ince bağırsaklarda daha şiddetli olmak üzere tüm deneme gruplarında, bağırsak kanalının lamina propriasında ve subserozal alanlarda ödem ile vasküler konjesyon saptandı.

Mezenterik lenf düğümlerinde, ölen hayvanlarda oldukça şiddetli ödem ve konjesyon gözlemlendi (Şekil-42).

5.8.4. Safra Kesesinde Mikroskopik Bulgular

Tüm deneme gruplarında safra kesesinin gerek yüzey epitelinde gerekse bez epitelinde değişen derecede hiperplazi mevcuttu. Hiperplazinin *HD* grubunda şiddetli, *SV* grubunda orta, *HC* grubunda ise hafif olduğu saptandı. Ölen hayvanlarda hiperplastik epitel ile birlikte subepitelyal bezlerin kistik dilatasyona uğradığı dikkati çekti (Şekil-43). Lamina propria ise, belirgin derecede ödemli idi.

5.8.5. Böbreklerde Mikroskopik Bulgular

Tübüler dejenerasyon ile megalositozis, protein silindirleri ve arteriöl duvarlarında kalınlaşma deneme gruplarında böbrekte saptanan sabit mikroskopik bulgular idi (Tablo 17).

Ölen hayvanlarda proksimal tubüler nekroz, deskuamasyon ve bulanık dejenerasyon, distal tubuluslarda ise hidropik dejenerasyon gözlemlendi. Anılan bu lezyonlar, *HD* ve *SV* gruplarında *HC* grubuna göre daha belirgindi. Yine ölen hayvanlarda korteks, medulla ve pelvis renalis'te intertubüler ve intratubüler hemoraji mevcuttu. Proksimal tubuluslardaki megalositozis en belirgin olarak *HD* grubunda hayatta kalan hayvanda (9300 nolu) şekillenmişti (Şekil-44). *HC* ve *SV* gruplarındaki megalositik lezyonlar ise daha hafif dereceliydi. Özellikle *HD* ve *SV* gruplarında daha yoğun olarak, proksimal tubulus lümenlerinde protein silindirleri mevcuttu. Tüm deneme gruplarında değişen derecede glomeruler konjesyon şekillenmişti. *HD* grubunda bir, *HC* grubunda üç, *SV* grubunda ise tüm hayvanlarda, fokal lenfositik hücreli infiltrasyon ile karakterize interstisyel nefritis mevcuttu. Deneme gruplarına ait birer hayvanda medullar bölgedeki tubuluslarda hafif ve orta şiddette dilatasyon ile birlikte epitel hücrelerinde yassılaşma gözlemlendi.

Tüm deneme gruplarında arteriol duvarlarının kalınlaştığı (Şekil-45, 46) ortaya kondu (Tablo 18). *HC* ve *HD* gruplarında arteriol çaplarının, *SV* ve kontrol gruplarına göre daha kalın olduğu dikkati çekti ($P<0.05$). *HC* ve *HD* grupları arasında ve *SV* grubu ile kontrol grubu arasında ise istatistiksel açıdan farklılık bulunmadı ($P>0.05$).

Tablo. 17 Kontrol ve Deneme Gruplarında Böbreklerde Mikroskopik Bulgular.

		GRUPLAR																	
		Kontrol					HD			HC			SV						
BULGULAR	Buzağı No	9287	9288	9289	9290	9293	9295	9296	9300	9285	9294	9297	9298	9286	9291	9292	9299	SH	P
Tübüler nekroz veya deskuamasyon		0	0	0	0 ^b	++	++	++	+ ^a	0	0	0	+ ^b	+	++	+	++ ^a	0.22	0.001
Tübüler parankim dejenerasyonu		0	0	0	0 ^c	++	+++	+++	+++ ^a	+	+	0	++ ^b	+	++	+ +	++ ^b	0.29	0.001
Tübüler hidropik dejenerasyon		0	0	0	0	++	+	0	0	0	0	+	+	++	+	0	++	0.20	ÖD
Tübüler megalositozis		0	0	0	0 ^b	+	+	+	+++ ^a	+	+	+	+ ^a	+	+	0	+ ^{ab}	0.19	0.05
İntratübüler protein silindirleri		0	0	0	0 ^c	+++	++	++	++ ^a	0	+	+	++ ^b	++	+++	+	++ ^a	0.27	0.01
İntratübüler hemoraji		0	0	0	0 ^c	++	++	+++	+ ^a	0	0	0	+ ^{bc}	0	+	+	++ ^{ab}	0.25	0.01
İnterstisyel nefritis		0	0	0	0 ^c	0	+	0	0 ^{bc}	+	+	0	+ ^{ab}	++	+	+	+ ^a	0.16	0.01
Arteriollerde kalınlaşma		0	0	0	0 ^c	0	++	++	+ ^{ab}	++	+	++	++ ^a	+	+	0	+ ^{bc}	0.21	0.01
Tübüler dilatasyon		0	0	0	0	0	++	0	0	0	0	0	+	0	++	0	0	0.18	ÖD

Bulgunun Derecesi: 0 bulgu yok, + hafif, ++ orta, +++ şiddetli Hata.
 a,b,c: Farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılık önemlidir. SH: Standart
 ÖD: İstatistiksel bakımdan önemsiz (P>0.05).

5.8.6. Akciğerlerde Mikroskopik Bulgular

Tüm deneme gruplarında değişen şiddette, alveolar septumlarda bağ doku artışı ile karakterize kalınlaşma, alveolar amfizem, interstisyel ödem, arteriol duvarlarında ve plöral kalınlaşma ile peribronşiyal bağ doku artışı akciğerde saptanan en belirgin mikroskopik bulguları (Tablo 19).

Arteriol duvarındaki kalınlaşmanın, media tabakasında hipertrofi ve adventisya tabakasındaki bağ doku artışı ile ilgili olduğu saptandı (Şekil-47-49). *HD* grubunda akciğerde konjesyon ve ödemin, diğer deneme gruplarına göre daha belirgin olduğu dikkati çekti. *HC* grubuna ait hayvanlarda ise ödem ve konjesyona rastlanmadı. *SV* grubuna ait tüm hayvanlarda orta şiddette alveolar amfizem gözlemlendi. *HC* ve *HD* gruplarında ise birer hayvanda orta ve hafif şiddette alveolar amfizem mevcuttu. Ayrıca interalveolar septum, arteriol duvarı ve plöradaki kalınlaşma *SV* ve *HC* gruplarında, *HD* grubuna göre daha belirgindi (Şekil-50).

HC ve *SV* gruplarındaki alveoler arteriol çapları, kontrol grubuna göre daha fazla idi (Tablo 18). *SV* ve *HC* gruplarında bronşiyoler arteriol çap ortalamaları, kontrol ve *HD* gruplarına göre daha büyük idi ($P < 0.001$).

Tablo 18. Akciğer ve Böbrek Korteksinde Arteriol Duvarının Kalınlığı (µm).

	GRUPLAR					P
	<i>Kontrol</i>	<i>HD</i>	<i>HC</i>	<i>SV</i>	<i>SH</i>	
Alveolar A.D.	38.92 ± 1.84 ^b	41.88 ± 1.54 ^{ab}	45.06 ± 2.08 ^a	45.06 ± 1.91 ^a	0.95	0.05
Bronşiyol A.D.	94.66 ± 3.81 ^b	96.50 ± 4.24 ^b	111.25 ± 4.63 ^a	117.25 ± 4.36 ^a	2.30	0.001
Böbrek A.D.	69.33 ± 3.94 ^b	73.75 ± 2.95 ^{ab}	80.88 ± 4.15 ^a	68.63 ± 2.96 ^b	1.79	0.05

a,b: Farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir. **SH:** Standart Hata.

A.D.: Arteriol Duvarı

5.8.7. Kalp Kasında Mikroskopik Bulgular

Tüm deneme gruplarında değişen şiddetteki interfibriller ödem ve fokal endokardial fibrozis, kalpteki en belirgin mikroskopik bulguları (Tablo 19). Endokardial fibrozis ölen hayvanlarda kesilen hayvanlara göre hafif olup, deneme grupları arasında ise, *SV* grubunda diğer iki deneme grubuna göre daha belirgindi (Şekil-51). Bunlara ek olarak, deneme süresi içerisinde ölen *HD* grubuna ait hayvanlarda değişen derecelerde interfibriller hemoraji dikkati çekti. *HC* grubunda görülmemekle birlikte, *HD* grubundaki tüm hayvanlar ile, *SV* grubundaki iki hayvanda ise hafif ve orta şiddette kas hücrelerinde bulanık dejenerasyon tespit edildi. Ölen hayvanlarda görülmemekle birlikte, *SV* grubunda daha belirgin olarak, kesilen hayvanların tümünde kalp kasında fokal interstisyel mononükleer hücre infiltrasyonlarına rastlandı. *HD* grubunda bir olguda myofibrillerde, oval-yuvarlak şekilli, keskin sınırlı, sitoplazmik yağ vakuelleri ile karakterize yağ dejenerasyonları gözlemlendi.

Tablo. 19 Kontrol ve Deneme Gruplarında Kalp ve Akciğerlerde Mikroskopik Bulgular.

		GRUPLAR																	
		Kontrol				HD				HC				SV					
BULGULAR	Buzağı No	9287	9288	9289	9290	9293	9295	9296	9300	9285	9294	9297	9298	9286	9291	9292	9299	SH	P
Endokardial ve subendokardial fibrozis		0	0	0	0 ^b	+	+	0	+++ ^{ab}	+	+	++	+ ^{ab}	++	+++	+++	+ ^a	0.28	0.05
İnterstisyel ödem		0	0	0	0 ^b	+	+	+++	+++ ^a	+	++	+++	+ ^a	++	++	+++	+ ^a	0.29	0.05
İnterstisyel hücre infiltrasyonu		0	0	0	0	0	0	0	++	+	+	+	+	++	+	+++	0	0.23	ÖD
İnterstisyel hemoraji		0	0	0	0 ^b	0	+	+++	++ ^a	0	+	0	0 ^b	0	0	0	0 ^b	0.22	0.05
Myofibriler dejenerasyon		0	0	0	0 ^b	++	+	+	++ ^a	0	0	0	0 ^b	0	+	0	++ ^{ab}	0.20	0.01
Alveolar septal kalınlaşma		0	0	0	0 ^c	+	+	0	++ ^b	+	+	++	++ ^{ab}	+++	++	++	++ ^a	0.25	0.01
İnterlobuler bağ doku artışı		0	0	0	0 ^b	0	0	0	+ ^b	0	0	+	+ ^{ab}	+	+	+	+ ^a	0.13	0.05
Arteriol duvarında kalınlaşma		0	0	0	0 ^c	+	+	+	++ ^b	++	+	++	++ ^{ab}	++	++	+++	++ ^a	0.24	0.001
Plörada kalınlaşma		0	0	0	0 ^b	0	0	0	0 ^b	0	0	+	0 ^b	+++	++	+	+ ^a	0.22	0.01
Alveolar amfizem		0	0	0	0 ^b	0	+	0	0 ^b	0	0	++	0 ^b	+	++	++	++ ^a	0.22	0.01
Alveolar ödem ve konjesyon		0	0	0	0 ^b	++	+	+++	0 ^a	0	0	0	0 ^b	0	0	0	+ ^b	0.22	0.05

Bulgunun Derecesi: 0 bulgu yok, + hafif, ++ orta, +++ şiddetli a,b,c: Farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılık önemlidir. SH: Standart Hata. ÖD: İstatistiksel bakımdan önemsiz (P>0.05).

5. 8. 8. Testislerde Mikroskopik Bulgular

Tüm deneme gruplarında TSK'larda, dejeneratif değişimler mevcuttu (Şekil-52). Bu bulgular da, diğer mikroskopik bulgular gibi, *HD* grubunda en şiddetli, *SV* grubunda orta derecede ve *HC* grubunda ise en hafif şiddette idi. *HD* grubunda TSK'lardaki germinal hücre kalınlığı, kontrol grubu başta olmak üzere tüm deneme gruplarına göre azalmıştı (Tablo 20). Ayrıca *HD* grubundaki atrofik TSK'ların lümenleri içerisinde tek tük primer spermatozoa ile birlikte dev hücre formasyonları dikkati çekti (Şekil-53). Bu grupta TSK'ların bazal membranları kalınlaşmış ve intertübüler fibrozis şekillenmiş idi. Tunika albuginea'nın oldukça kalınlaştığı dikkati çekti. *SV* grubunda, TSK lümenlerinde germinatif epitelde, birkaç kattan oluşan primer spermatozoa katmanı ile birlikte sekonder spermatozoa formasyonları da mevcuttu. *HC* grubunda, TSK lümenlerindeki germinatif epitel hücre katmanı, diğer iki deneme grubuna göre daha kalındı. *SV* ve *HC* gruplarında ne dev hücre oluşumlarına, ne de intertübüler bağ doku artışına rastlanmadı.

Gruplar arasında mikrometrik ölçemler ile hesaplanan TSK çap ortalamaları ve germinal hücre kalınlıkları bakımından yapılan karşılaştırmalarda, tüm gruplar arasında oldukça önemli farklılığın varlığı dikkati çekti ($P < 0.001$).

Tablo 20. Kontrol ve Deneme Gruplarında Tubulus Seminiferus Kontortus (TSK) Çapları ve Germinal Hücre Kalınlığı (GHK).

	GRUPLAR					P
	<i>Kontrol</i>	<i>HD</i>	<i>HC</i>	<i>SV</i>	<i>SH</i>	
TSK çapı (µm)	101.58 ± 2.08 ^a	77.16 ± 1.26 ^d	84.31 ± 1.72 ^c	93.06 ± 2.51 ^b	1.09	0.001
GHK (µm)	33.58 ± 0.70 ^a	18.88 ± 0.41 ^d	25.59 ± 0.63 ^b	23.16 ± 0.71 ^c	0.43	0.001

a,b,c,d: Farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir **SH:** Standart Hata.

Çalışmada kontrol grubunu oluşturan hayvanlarda kesimden sonra makroskopik ve mikroskopik olarak herhangi bir değişiklik kaydedilmedi.

5.9. Biyokimyasal Bulgular

5.9.1. Enzim Düzeyleri

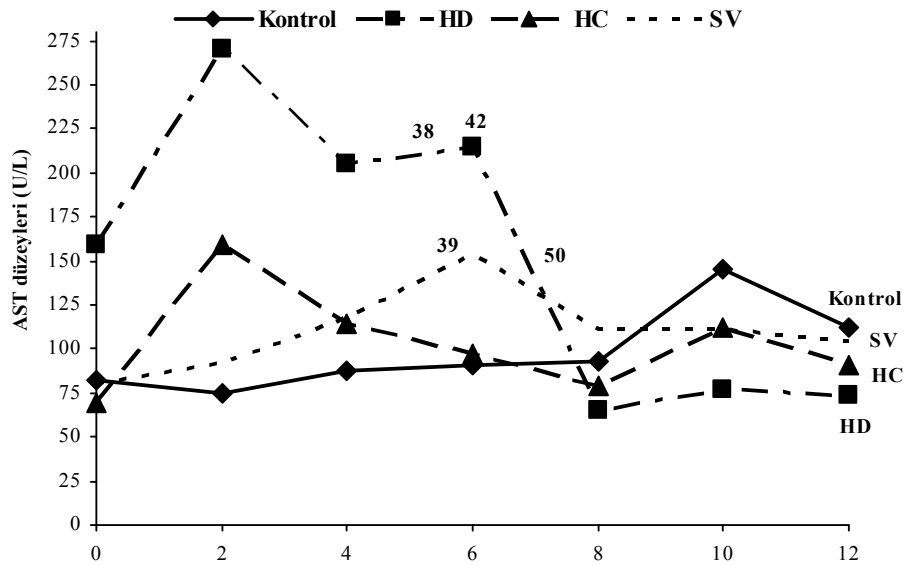
Kontrol ve deneme gruplarına ait serum AST, ALT, ALP, GGT, CK, total bilirubin, konjuge bilirubin, serbest bilirubin, total protein ve albumin düzeyleri ilgili tablolar ile sunuldu (Tablo 21-30).

AST düzeylerinin, *HD* grubunda denemenin 2. haftasında diğer gruplara göre arttığı gözlemlendi ($P<0.05$). Dört ve 6. haftalarda da istatistiksel farklılık olmamasına rağmen, yine *HD* grubunda AST düzeylerinin diğer gruplara göre yüksek olduğu dikkati çekti (Şekil-54).

Tablo 21. Kontrol ve Deneme Gruplarında Serum AST Düzeyleri (U/L)

Hafta	GRUPLAR					P
	<i>Kontrol</i>	<i>HD</i>	<i>HC</i>	<i>SV</i>	<i>SH</i>	
0	82.3 ± 13.6	159.0 ± 91.6	69.5 ± 6.2	79.8 ± 7.8	24.2	ÖD
2	74.3 ± 7.6 ^b	270.8 ± 85.2 ^a	158.8 ± 27.9 ^{ab}	92.3 ± 8.9 ^b	29.8	0.05
4	88.0 ± 13.3	205.3 ± 90.4	114.5 ± 24.2	117.5 ± 11.3	25.5	ÖD
6	90.3 ± 4.4	214.3 ± 123.4	96.8 ± 7.8	154.0 ± 25.4	26.9	ÖD
8	93.0 ± 12.2	65	79.0 ± 8.8	111.3 ± 13.3	7.2	ÖD
10	145.0 ± 22.6	77	111.8 ± 28.9	111.3 ± 6.2	13.2	ÖD
12	112.3 ± 25.8	74	90.8 ± 10.6	104.7 ± 7.1	8.5	ÖD

a,b: Farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir. **SH**: Standart Hata.
ÖD: İstatistiksel bakımdan önemsiz ($P>0.05$).



Şekil 54. Kontrol ve deneme gruplarında serum AST düzeyleri (U/L)

Haftalar

Kontrol ve deneme grupları arasında serum ALT düzeylerinde deneme boyunca önemli bir farklılık saptanmadı.

Tablo 22. Kontrol ve Deneme Gruplarında Serum ALT Düzeyleri (U/L)

Hafta	GRUPLAR					P
	<i>Kontrol</i>	<i>HD</i>	<i>HC</i>	<i>SV</i>	<i>SH</i>	
0	14.0 ± 1.0	17.5 ± 2.4	13.5 ± 1.3	14.0 ± 0.9	0.8	ÖD
2	13.0 ± 1.0	17.3 ± 1.3	14.3 ± 1.5	14.8 ± 1.5	0.7	ÖD
4	17.7 ± 0.7	15.0 ± 1.1	16.8 ± 0.6	16.0 ± 0.7	0.4	ÖD
6	20.0 ± 0.0	20.3 ± 1.2	22.0 ± 1.8	21.5 ± 1.9	0.7	ÖD
8	17.3 ± 2.2	14	20.0 ± 2.4	20.3 ± 2.4	1.3	ÖD
10	28.0 ± 2.1	18	26.3 ± 5.4	23.3 ± 3.5	2.3	ÖD
12	23.0 ± 1.5	20	26.3 ± 3.8	25.7 ± 3.9	1.8	ÖD

ÖD: İstatistiksel bakımdan önemsiz (P>0.05).

SH: Standart Hata.

ALP düzeylerinde istatistiksel olarak farklılık gözlenmedi (P>0.05). Denemenin 2. haftasında *HD* grubu başta olmak üzere tüm deneme gruplarında kontrol grubuna göre yükselme olduğu saptandı. *HD* grubunda ALP düzeyindeki yükselme 4. haftada daha belirgin bir hale geldi.

Tablo 23. Kontrol ve Deneme Gruplarında Serum ALP Düzeyleri (U/L)

Hafta	GRUPLAR					P
	<i>Kontrol</i>	<i>HD</i>	<i>HC</i>	<i>SV</i>	<i>SH</i>	
0	208.3 ± 33.3	687.3 ± 295.4	340.0 ± 53.6	319.5 ± 76.5	88.4	ÖD
2	361.0 ± 32.7	1060.8 ± 297.9	552.8 ± 260.7	608.3 ± 280.7	134.5	ÖD
4	498.3 ± 19.7	1252.5 ± 497.9	575.8 ± 177.2	665.8 ± 242.1	160.4	ÖD
6	622.3 ± 67.8	765.3 ± 387.9	700.8 ± 137.7	724.0 ± 237.6	101.3	ÖD
8	566.3 ± 231.9	231	546.0 ± 107.5	661.0 ± 200.1	89.8	ÖD
10	474.0 ± 17.6	239	566.8 ± 79.8	713.0 ± 193.5	65.9	ÖD
12	712.0 ± 146.9	152	576.5 ± 72.6	734.7 ± 185.2	70.8	ÖD

ÖD: İstatistiksel bakımdan önemsiz (P>0.05).

SH: Standart Hata.

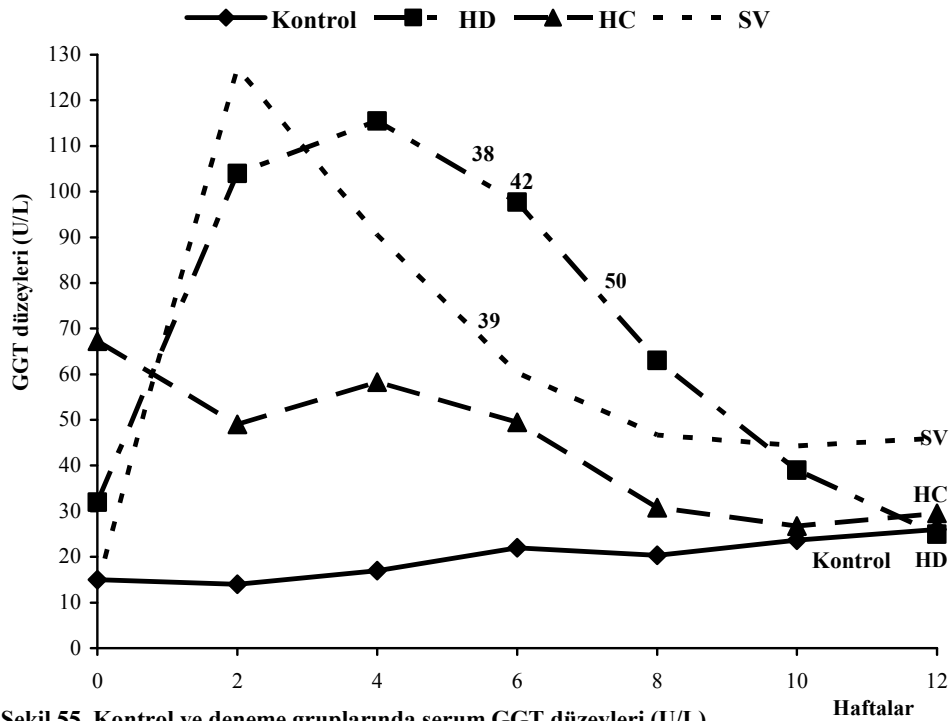
HD, *SV* ve *HC* gruplarında denemenin 2. haftasından itibaren serum GGT düzeylerinde kontrol grubuna göre yükselme saptandı. Dördüncü haftada serum GGT düzeyi *HD* grubunda yükselmeye devam ederken, *SV* grubunda ise azalmaya başladı (Şekil-55). *HD* ve kontrol grubu arasında istatistiksel farklılık ölümünün gözlemlendiği 6. haftada ortaya çıktı (P<0.05). Daha sonraki haftalarda

herhangi bir artış gözlenmedi. GGT düzeyi, 12 hafta boyunca *HC* ve kontrol gruplarında ise 8-12. haftalar arasında benzerlik gösterdi ($P>0.05$).

Tablo 24. Kontrol ve Deneme Gruplarında Serum GGT Düzeyleri (U/L)

Hafta	GRUPLAR					P
	<i>Kontrol</i>	<i>HD</i>	<i>HC</i>	<i>SV</i>	<i>SH</i>	
0	15.0 ± 1.5	32.0 ± 10.2	67.3 ± 49.3	13.5 ± 1.2	13.4	ÖD
2	14.0 ± 0.6	104.0 ± 15.8	49.0 ± 18.9	127.0 ± 105.4	28.3	ÖD
4	17.0 ± 1.7	115.5 ± 15.8	58.3 ± 32.7	90.5 ± 42.9	16.4	ÖD
6	22.0 ± 3.5 ^b	97.7 ± 20.2 ^a	49.5 ± 29.6 ^{ab}	60.3 ± 5.9 ^{ab}	11.1	0.05
8	20.3 ± 3.9	63	30.8 ± 14.4	46.7 ± 8.9	6.8	ÖD
10	23.7 ± 4.2	39	26.8 ± 9.9	44.3 ± 3.5	4.9	ÖD
12	26.0 ± 6.5	25	29.5 ± 11.9	46.0 ± 5.3	5.6	ÖD

a,b: Farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir. **SH**: Standart Hata.
ÖD: İstatistiksel bakımdan önemsiz ($P>0.05$).



Şekil 55. Kontrol ve deneme gruplarında serum GGT düzeyleri (U/L)

Serum CK düzeylerinde deneme süresince istatistiksel farklılık gözlenmezken, *SV* grubunda ölümün görüldüğü 6. haftada, *HC* grubunda ise 10. haftada bireysel yükselmelerin şekillendiği dikkati çekti.

Tablo 25. Kontrol ve Deneme Gruplarında Serum CK Düzeyleri (U/L)

Hafta	GRUPLAR					P
	<i>Kontrol</i>	<i>HD</i>	<i>HC</i>	<i>SV</i>	<i>SH</i>	
0	110.3 ± 22.5	128.8 ± 11.1	103.5 ± 9.4	150.3 ± 39.1	11.8	ÖD
2	108.7 ± 5.2	118.0 ± 11.8	112.3 ± 33.8	144.0 ± 30.5	11.9	ÖD
4	103.7 ± 4.8	109.5 ± 33.6	117.5 ± 5.8	115.0 ± 15.6	9.1	ÖD
6	116.7 ± 8.5	151.0 ± 34.6	171.3 ± 64.9	384.5 ± 254.9	74.2	ÖD
8	97.3 ± 17.2	59	107.0 ± 11.5	94.0 ± 23.7	8.9	ÖD
10	110.3 ± 6.7	93	374.3 ± 220.8	122.0 ± 29.5	91.3	ÖD
12	121.0 ± 8.4	44	207.0 ± 62.7	135.3 ± 32.6	24.5	ÖD

ÖD: İstatistiksel bakımdan önemsiz (P>0.05). SH: Standart Hata

Total bilirubin düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel farklılık gözlenmedi. *HD* grubunda 2. haftadan başlayarak, *SV* grubunda ise 6. haftalarda belirgin bir yükselme gözlemlendi.

Tablo 26. Kontrol ve Deneme Gruplarında Serum Total Bilirubin Düzeyleri (mg/dl)

Hafta	GRUPLAR					P
	<i>Kontrol</i>	<i>HD</i>	<i>HC</i>	<i>SV</i>	<i>SH</i>	
0	0.27 ± 0.03	0.25 ± 0.02	0.24 ± 0.02	0.27 ± 0.02	0.01	ÖD
2	0.22 ± 0.02	0.57 ± 0.15	0.24 ± 0.02	0.46 ± 0.22	0.08	ÖD
4	0.26 ± 0.02	3.01 ± 2.41	0.31 ± 0.03	0.60 ± 0.32	0.66	ÖD
6	0.25 ± 0.02	2.85 ± 2.31	0.31 ± 0.07	2.08 ± 1.77	0.69	ÖD
8	0.25 ± 0.01	0.52	0.35 ± 0.05	0.44 ± 0.14	0.05	ÖD
10	0.31 ± 0.03	0.43	0.33 ± 0.04	0.50 ± 0.19	0.06	ÖD
12	0.24 ± 0.01	0.47	0.34 ± 0.06	0.52 ± 0.20	0.07	ÖD

ÖD: İstatistiksel bakımdan önemsiz (P>0.05). SH: Standart Hata

Konjuge bilirubin düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel farklılık saptanmadı. *HD* ve *SV* gruplarında 2. haftadan başlayan 4. haftada ise dikkati çeken bir artış kaydedildi.

Tablo 27. Kontrol ve Deneme Gruplarında Serum Konjuge Bilirubin Düzeyleri (mg/dl)

Hafta	GRUPLAR					P
	<i>Kontrol</i>	<i>HD</i>	<i>HC</i>	<i>SV</i>	<i>SH</i>	
0	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.01	0.00	ÖD
2	0.02 ± 0.01	0.14 ± 0.06	0.03 ± 0.01	0.11 ± 0.08	0.03	ÖD
4	0.02 ± 0.00	0.46 ± 0.34	0.03 ± 0.00	0.41 ± 0.38	0.13	ÖD
6	0.02 ± 0.00	0.45 ± 0.35	0.05 ± 0.01	0.33 ± 0.29	0.11	ÖD
8	0.03 ± 0.01	0.12	0.08 ± 0.03	0.10 ± 0.06	0.02	ÖD
10	0.04 ± 0.01	0.10	0.09 ± 0.03	0.16 ± 0.09	0.03	ÖD
12	0.02 ± 0.00	0.10	0.10 ± 0.03	0.17 ± 0.10	0.03	ÖD

ÖD: İstatistiksel bakımdan önemsiz (P>0.05). SH: Standart Hata

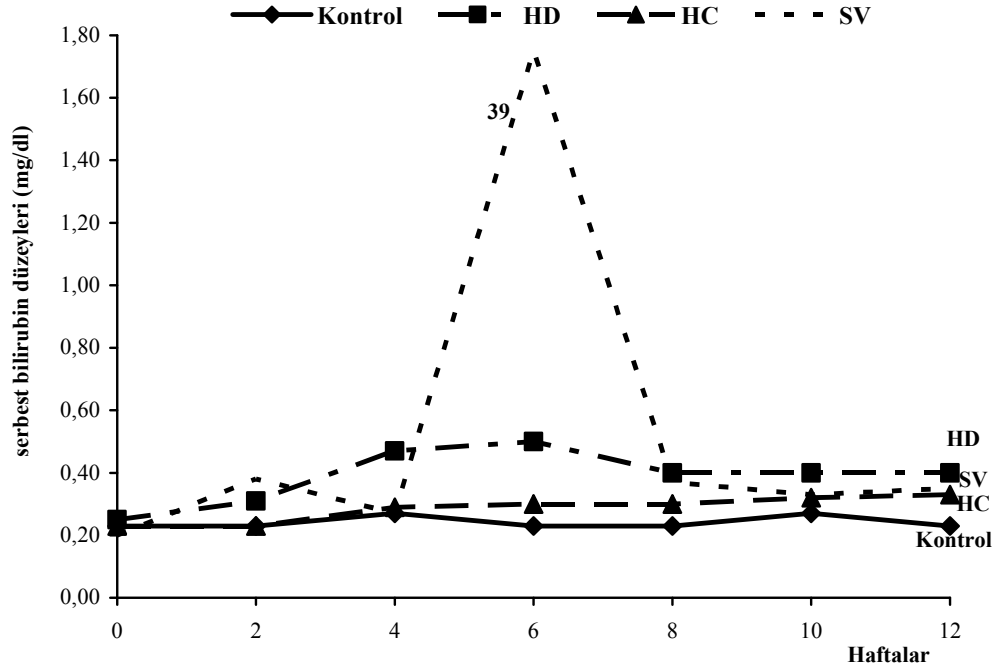
Serbest bilirubin düzeylerinde istatistiksel farklılık 4. haftanın sonunda *HD* grubunda diğer gruplara göre kısmen önemli idi ($P<0.05$). *HD* grubunda görülen benzer şekildeki yükselme, *SV* grubunda ölümün görüldüğü 6. haftada saptandı (Şekil-56). Daha sonraki, 8 ve 10. haftalarda gruplar arasında farklılık saptanmadı ($P>0.05$). Onikinci haftada yine *SV* grubunda, kontrol grubuna göre kısmen önemli bir artış kaydedildi ($P<0.05$).

Tablo 28. Kontrol ve Deneme Gruplarında Serum Serbest Bilirubin Düzeyleri (mg/dl)

Hafta	GRUPLAR					P
	<i>Kontrol</i>	<i>HD</i>	<i>HC</i>	<i>SV</i>	<i>SH</i>	
0	0.23 ± 0.03	0.25 ± 0.03	0.23 ± 0.03	0.20 ± 0.00	0.01	ÖD
2	0.23 ± 0.03	0.31 ± 0.05	0.23 ± 0.02	0.38 ± 0.14	0.04	ÖD
4	0.27 ± 0.03 ^b	0.47 ± 0.07 ^a	0.29 ± 0.04 ^b	0.27 ± 0.03 ^b	0.03	0.05
6	0.23 ± 0.03	0.50 ± 0.10	0.30 ± 0.04	1.75 ± 1.48	0.45	ÖD
8	0.23 ± 0.03	0.40	0.30 ± 0.06	0.37 ± 0.07	0.03	ÖD
10	0.27 ± 0.03	0.40	0.32 ± 0.04	0.33 ± 0.03	0.02	ÖD
12	0.23 ± 0.03 ^b	0.40	0.33 ± 0.03 ^{ab}	0.35 ± 0.03 ^a	0.02	0.05

a,b: Farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir. **SH:** Standart Hata.

ÖD: İstatistiksel bakımdan önemsiz ($P>0.05$).



Şekil 56. Kontrol ve deneme gruplarında serum serbest bilirubin düzeyleri (mg/dl)

Kontrol ve deneme grupları arasında serum total protein düzeylerinde deneme boyunca önemli bir farklılık saptanmadı.

Tablo 29. Kontrol ve Deneme Gruplarında Serum Total Protein Düzeyleri (g/dl)

Hafta	GRUPLAR					P
	<i>Kontrol</i>	<i>HD</i>	<i>HC</i>	<i>SV</i>	<i>SH</i>	
0	5.48 ± 0.21	5.39 ± 0.09	5.55 ± 0.16	5.41 ± 0.13	0.07	ÖD
2	5.59 ± 0.15	5.75 ± 0.19	5.91 ± 0.14	5.92 ± 0.22	0.09	ÖD
4	6.10 ± 0.25	5.89 ± 0.23	6.26 ± 0.18	6.02 ± 0.21	0.10	ÖD
6	6.34 ± 0.09	5.94 ± 0.35	6.31 ± 0.16	6.27 ± 0.32	0.12	ÖD
8	6.16 ± 0.18	5.96	6.13 ± 0.20	6.37 ± 0.34	0.13	ÖD
10	6.41 ± 0.21	6.00	6.42 ± 0.03	6.63 ± 0.22	0.08	ÖD
12	6.52 ± 0.19	5.89	6.40 ± 0.08	6.70 ± 0.19	0.09	ÖD

ÖD: İstatistiksel bakımdan önemsiz (P>0.05). **SH**: Standart Hata.

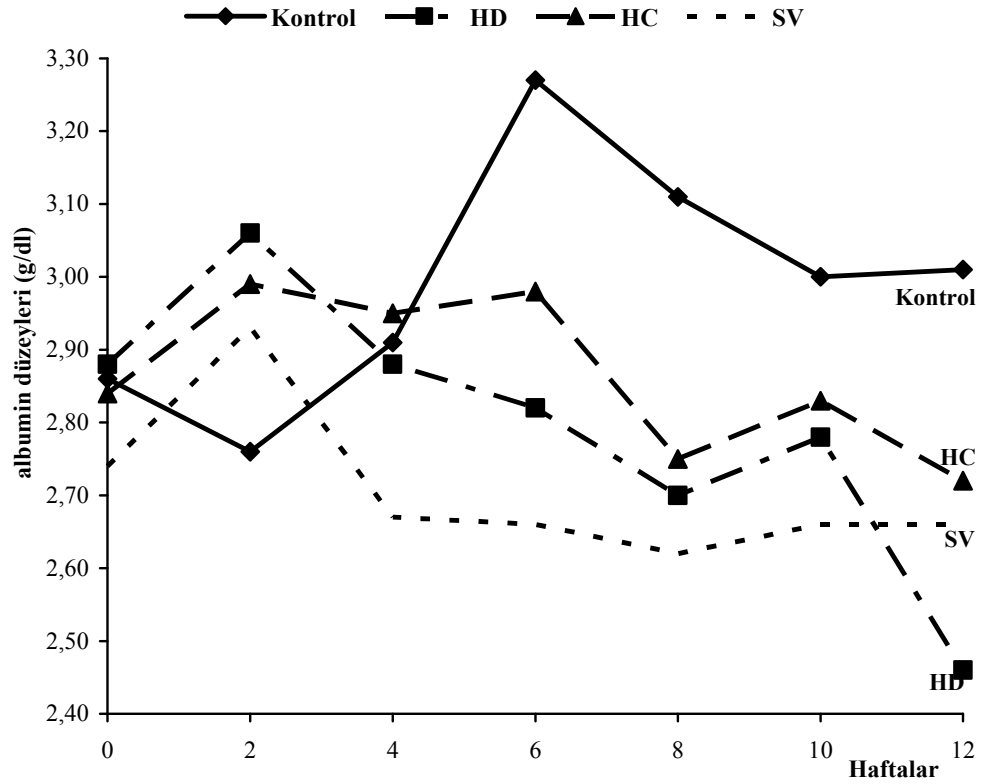
Kontrol ve deneme grupları arasında serum albumin düzeylerinde ilk 4 hafta sonunda istatistiksel bir farklılık saptanmadı (P>0.05). Altıncı haftada *SV* grubunda kontrol grubuna göre kısmen önemli derecede bir azalma mevcuttu (P<0.05). Yine 8. haftada *SV* grubunda albumin düzeylerinin *HC* ve kontrol gruplarına göre azaldığı gözlemlendi (Şekil-57).

Tablo 30. Kontrol ve Deneme Gruplarında Serum Albumin Düzeyleri (g/dl)

Hafta	GRUPLAR					P
	<i>Kontrol</i>	<i>HD</i>	<i>HC</i>	<i>SV</i>	<i>SH</i>	
0	2.86 ± 0.18	2.88 ± 0.05	2.84 ± 0.12	2.74 ± 0.11	0.05	ÖD
2	2.76 ± 0.14	3.06 ± 0.16	2.99 ± 0.06	2.93 ± 0.03	0.06	ÖD
4	2.91 ± 0.10	2.88 ± 0.15	2.95 ± 0.08	2.67 ± 0.09	0.06	ÖD
6	3.27 ± 0.08 ^a	2.82 ± 0.28 ^{ab}	2.98 ± 0.09 ^{ab}	2.66 ± 0.19 ^b	0.10	0.05
8	3.11 ± 0.10 ^a	2.70	2.75 ± 0.13 ^{ab}	2.62 ± 0.04 ^b	0.09	0.05
10	3.00 ± 0.07	2.78	2.83 ± 0.18	2.66 ± 0.12	0.09	ÖD
12	3.01 ± 0.14	2.46	2.72 ± 0.12	2.66 ± 0.17	0.09	ÖD

a,b: Farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir. **SH**: Standart Hata.

ÖD: İstatistiksel bakımdan önemsiz (P>0.05).



Şekil 57. Kontrol ve deneme gruplarında serum albumin düzeyleri (g/dl)

5.9.2. Serum Bakır Düzeyleri

Kontrol ve deneme gruplarına ait hayvanların serum bakır düzeylerinde deneme boyunca herhangi bir farklılık saptanmadı (Tablo 31).

Tablo 31. Kontrol ve Deneme Gruplarında Serum Bakır Düzeyleri (ppm)

Hafta	GRUPLAR					P
	Kontrol	HD	HC	SV	SH	
0	0.44± 0.04	0.60 ± 0.17	0.42 ± 0.03	0.55 ± 0.12	0.05	ÖD
2	0.39 ± 0.03	0.40 ± 0.04	0.39 ± 0.03	0.48 ± 0.07	0.02	ÖD
4	0.41 ± 0.05	0.46 ± 0.12	0.39 ± 0.03	0.44 ± 0.07	0.03	ÖD
6	0.44 ± 0.08	0.54 ± 0.10	0.48 ± 0.16	0.71 ± 0.14	0.06	ÖD
8	0.54 ± 0.07	0.37	0.61 ± 0.12	0.46 ± 0.09	0.06	ÖD
10	0.45 ± 0.07	0.63	0.72 ± 0.16	0.85 ± 0.07	0.08	ÖD
12	0.48 ± 0.14	0.80	0.41 ± 0.06	0.40 ± 0.03	0.04	ÖD

ÖD: İstatistiksel bakımdan önemsiz ($P>0.05$). SH: Standart Hata.

5.10. İmmunohistokimyasal Bulgular

PCNA (Proliferating Nuclear Cell Antigen) immunoboyamada hepatosit nükleusları belirgin olarak boyandı. Yapılan boyama işlemi sonucunda pozitif

nükleuslar, homojen veya granüler bir boyanma ya da her ikisini birden gösterdi. Kontrol ve deneme gruplarına ait hepatosit ve safra kanalı epitellerine ait mitotik indeksler Tablo 32’de sunuldu.

Tablo 32. Kontrol ve Deneme Gruplarında, Hepatositlerde ve Safra Kanal Epitellerinde Mitotik İndeks (hepatosit sayısı / 1000), (safra kanal epiteli / mm²)

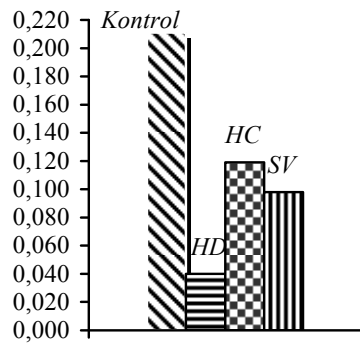
	GRUPLAR					P
	Kontrol	HD	HC	SV	SH	
HMI	0.211 ± 0.012 ^a	0.040 ± 0.008 ^c	0.119 ± 0.009 ^b	0.098 ± 0.013 ^b	0.006	0.001
SEMI	2.05 ± 0.28 ^c	7.59 ± 0.63 ^b	6.66 ± 0.68 ^b	12.58 ± 1.01 ^a	0.42	0.001

a,b,c: Farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir **SH**: Standart Hata.

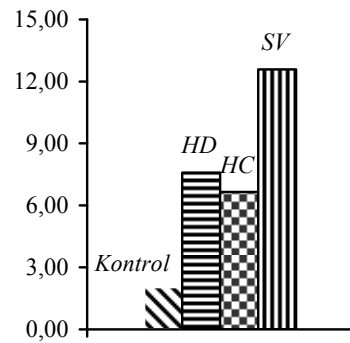
HMI: Hepatosit mitotik indeksi **SEMI**: Safra epiteli mitotik indeksi

Deneme gruplarında mitoz gösteren hepatosit sayısının (Şekil-58), kontrol grubuna göre önemli derecede daha az olduğu saptandı (P<0.001). İstatistiksel olarak aynı derecedeki (P<0.001) azalma, SV ve HC gruplarına göre HD grubunda da mevcuttu (Şekil-59-60).

PCNA ile pozitiflik gösteren safra kanalı epitellerinin 1 mm² ışık mikroskobu sahasında sayılması ile hesaplanan safra kanal epitellerine ait mitotik indeks değerlerinde (Şekil-61), kontrol grubu ile deneme grupları arasında oldukça önemli farklılık kaydedildi (P<0.001). Bu farklılığın HD ve HC grupları arasında önemsiz olduğu, SV grubunun ise diğer iki deneme grubuna karşı oldukça önemli (P<0.001) bir farklılık oluşturduğu saptandı.



Şekil 58. Kontrol ve deneme gruplarında hepatosit mitotik indeksi



Şekil 61. Kontrol ve deneme gruplarında safra ep. mitotik indeksi

5.11. Transmisyon Elektron Mikroskopik Bulgular

Kontrol ve deneme gruplarındaki transmisyon elektron mikroskopik bulguların, ışık mikroskobunda saptanan bulgulara paralel olarak en şiddetli *HD* grubunda, orta şiddette *SV* grubunda ve hafif şiddette olmak üzere *HC* grubunda olduğu saptandı.

Tüm deneme gruplarında; hepatosit organellerinin hacimce arttığı gözlemlendi. Hepatositlerde sitoplazmik membran kıvrımlı bir görünümde olup, düzeni bozulmuştu. Bu görünümle apoptozise bağlı değişimler olarak yorumlandı. Hepatositlerin nükleus ve nükleoluslarının büyüdüğü, nüklear membran üzerindeki porların ise sayıca arttığı ve oldukça genişlediği saptandı. Bu görünüm yer yer kırılmalar şeklinde iken bazen de sitoplazmanın nükleus içerisine invaginasyonu ile sonuçlanan genişlemeler tarzında idi (Şekil-62). Hepatosit nükleuslarında diffuz kromatin dağılımının bozulduğu, kromatinlerin bir araya gelerek, genellikle nuklear membran altında toplandıkları saptandı (Şekil-63).



Şekil-1. *S. vernalis* bitkisinin morfolojik görünümü.



Şekil-3. *H. dolosum* bitkisinin morfolojik görünümü.



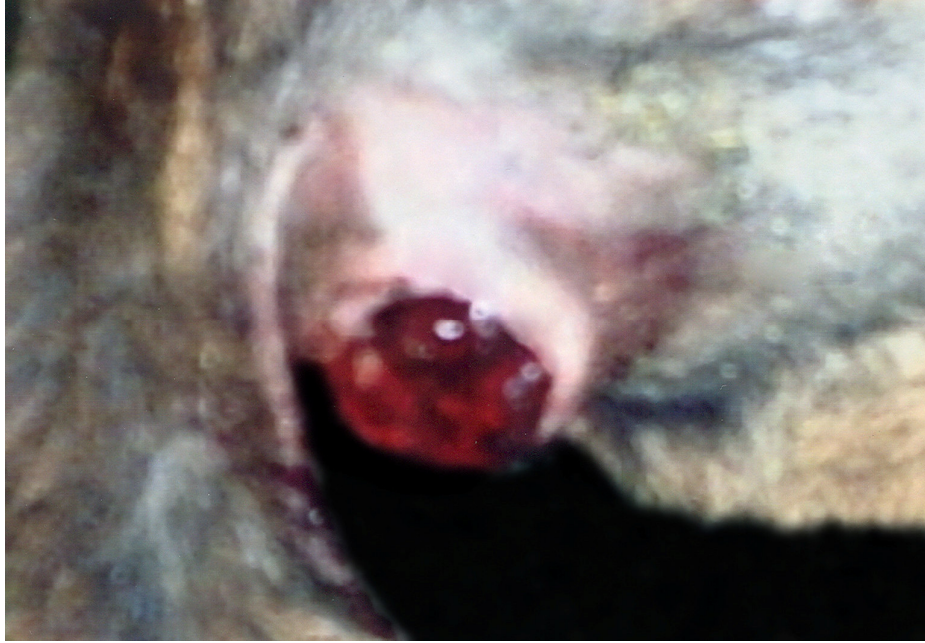
Şekil-4. *H. circinatum* bitkisinin morfolojik görünümü.



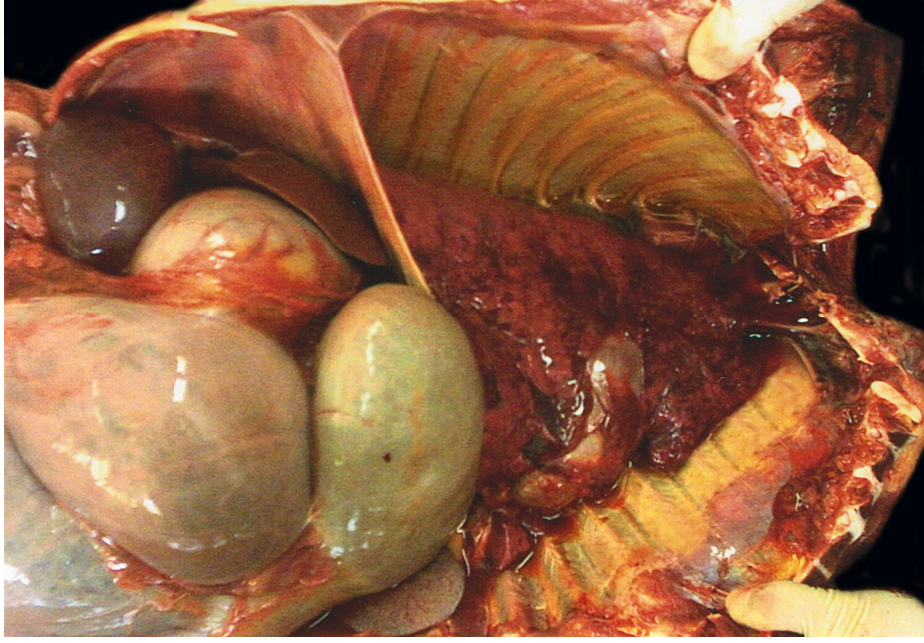
Şekil-8. Göz'de; skleranın safra renkli maddeleri ile kirli sarıya boyanmış görünümü, *SV* grubu (9299 ölen hayvan).



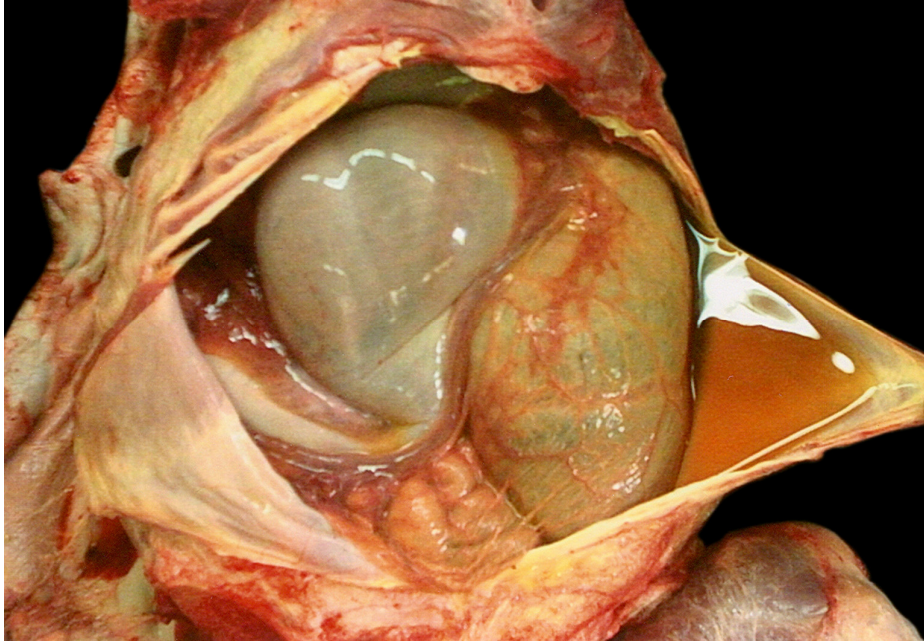
Şekil-9. Karın bölgesinin ventrale doğru sarkmasıyla karakterize asitesin klinik görünümü, *HD* grubu (9293 ölen hayvan).



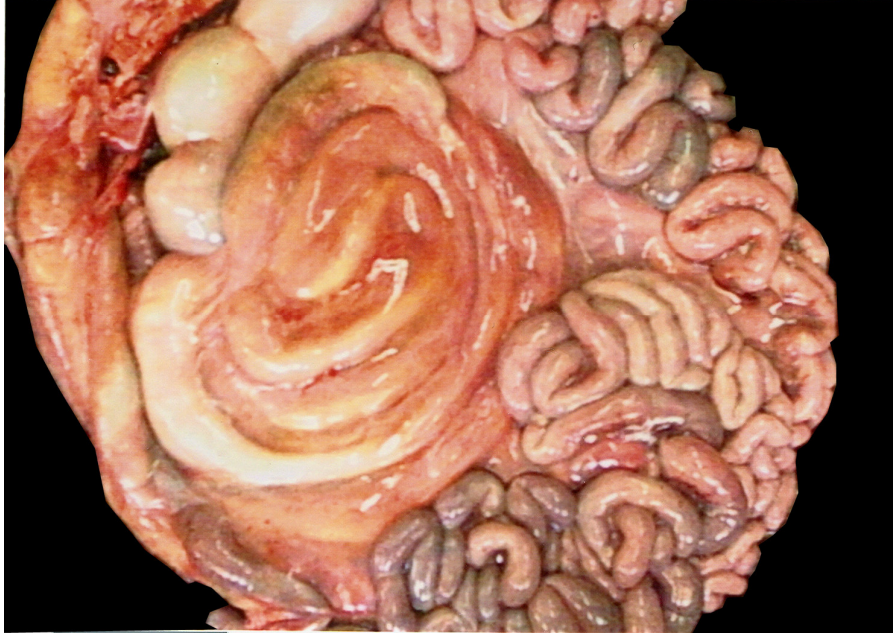
Şekil-10. Rektum mukozasının kısmen dışarıya çıkması ile karakterize hafif dereceli rektum prolapsusu, *HD* grubu (9293 ölen hayvan).



Şekil-11. Göğüs boşluğunda plöranın ikterik görünümü, *HD* grubu (9293 ölen hayvan).



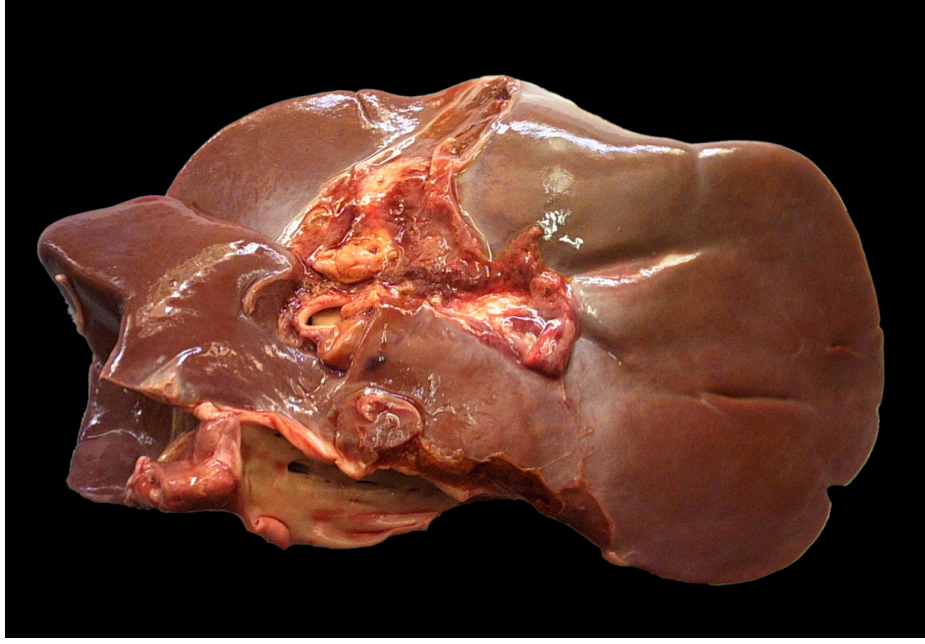
Şekil-12. Karın boşluğunda sarı renkli ve berrak görünümlü transudat birikimi, *HD* grubu (9295 ölen hayvan).



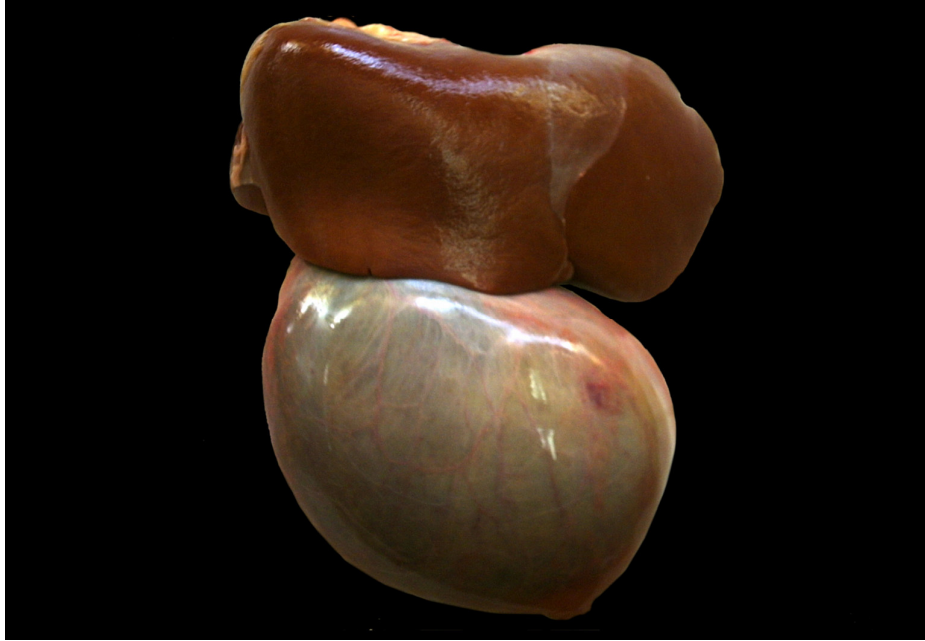
Şekil-13. Kolonların serozasında ve mezokolonda şekillenen ödem ve konjesyon, *HD* grubu (9293 ölen hayvan).



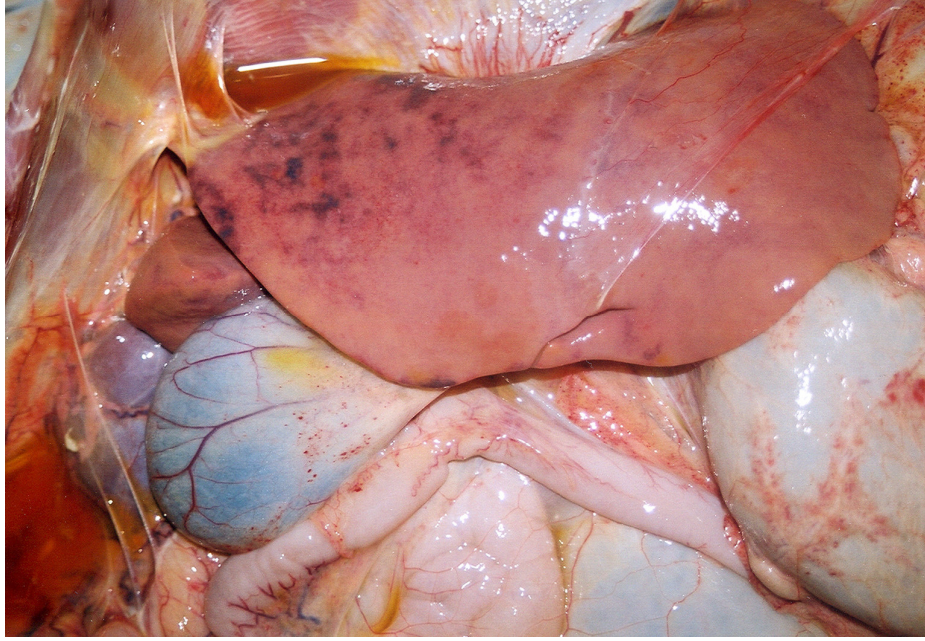
Şekil-14. Abomazum mukozasında yaygın ödem, *HD* grubu (9295 ölen hayvan).



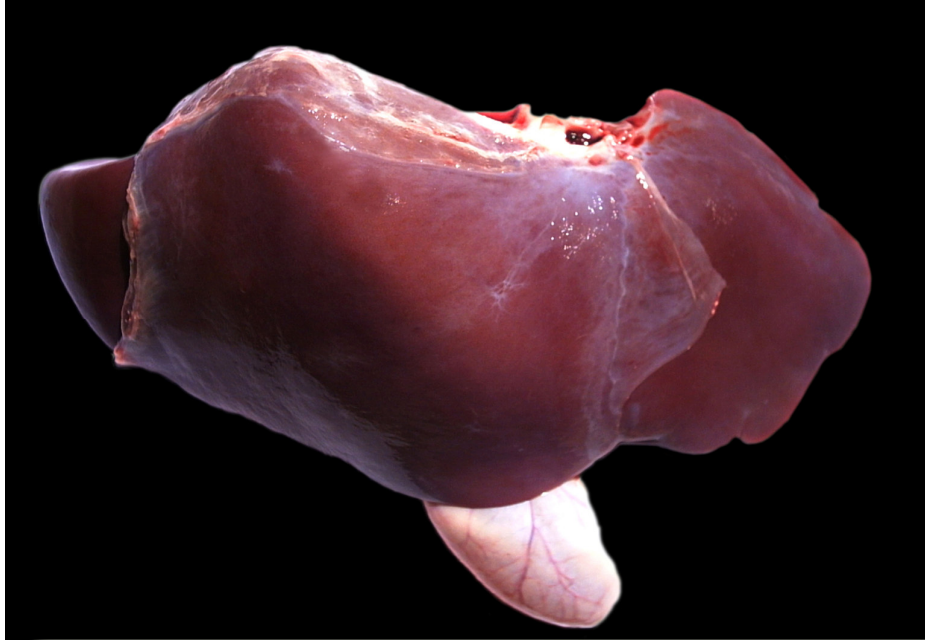
Şekil-15. Karaciğerin visseral yüzünde kapsüler fibrozis, *HD* grubu (9296 ölen hayvan).



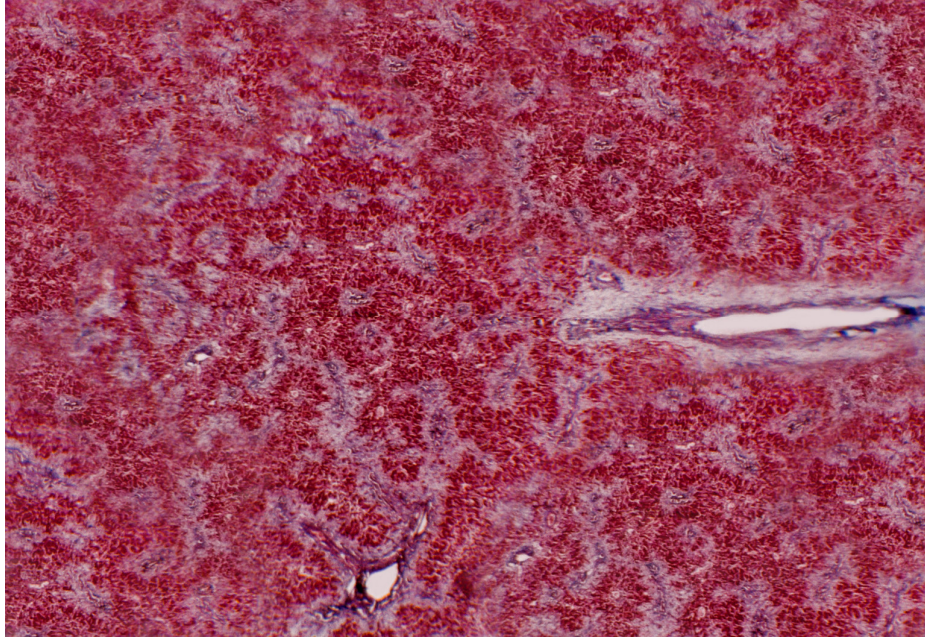
Şekil-16. Safra kesesi dilatasyonu, *HD* grubu (9295 ölen hayvan).



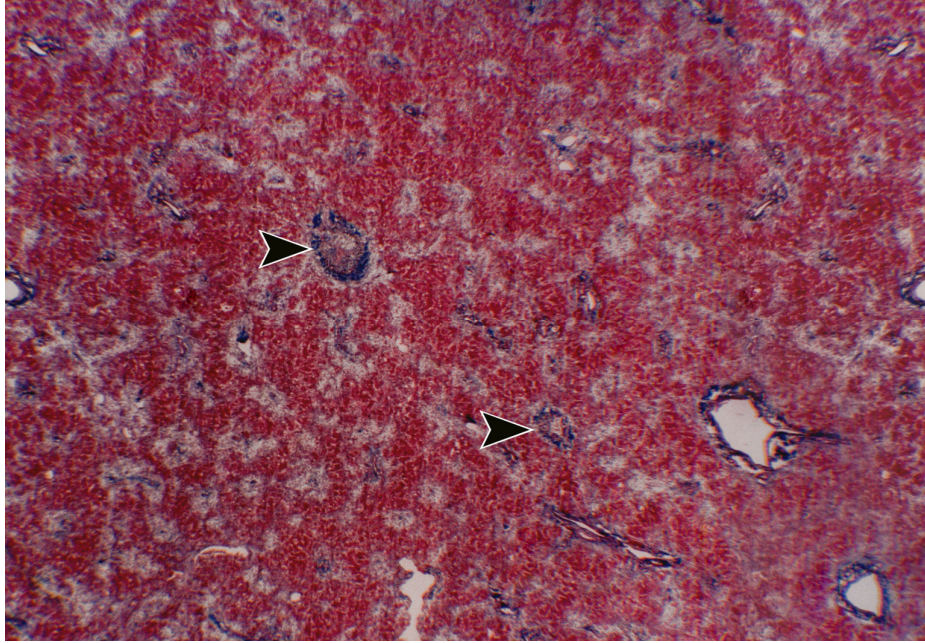
Şekil-17. Karaciğerde subkapsüler hemoraji, *SV* grubu (9299 ölen hayvan).



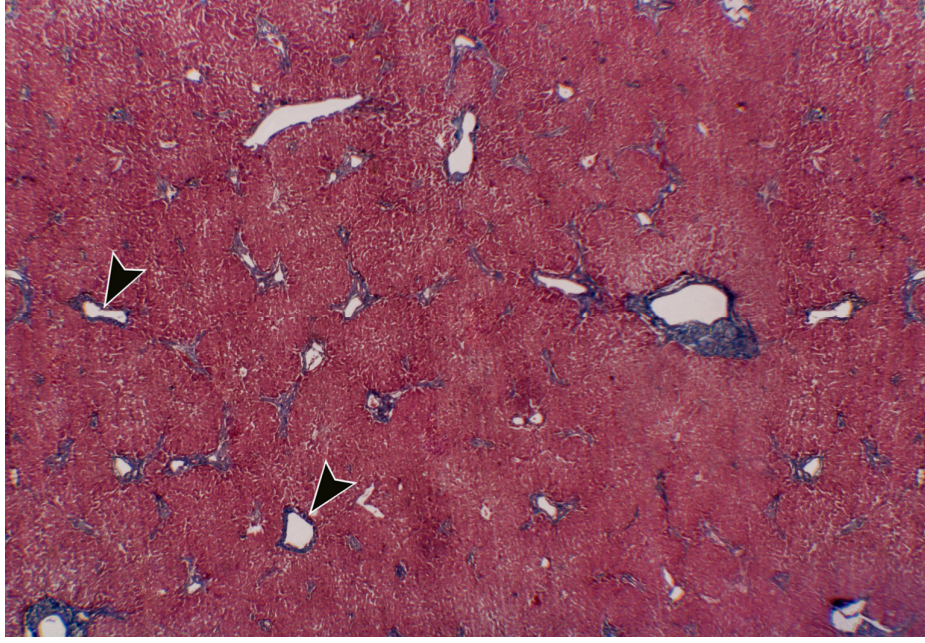
Şekil-18. Karaciğerin diyaframatik yüzünde hafif şiddette kapsüler fibrozis, *HC* grubu (9297).



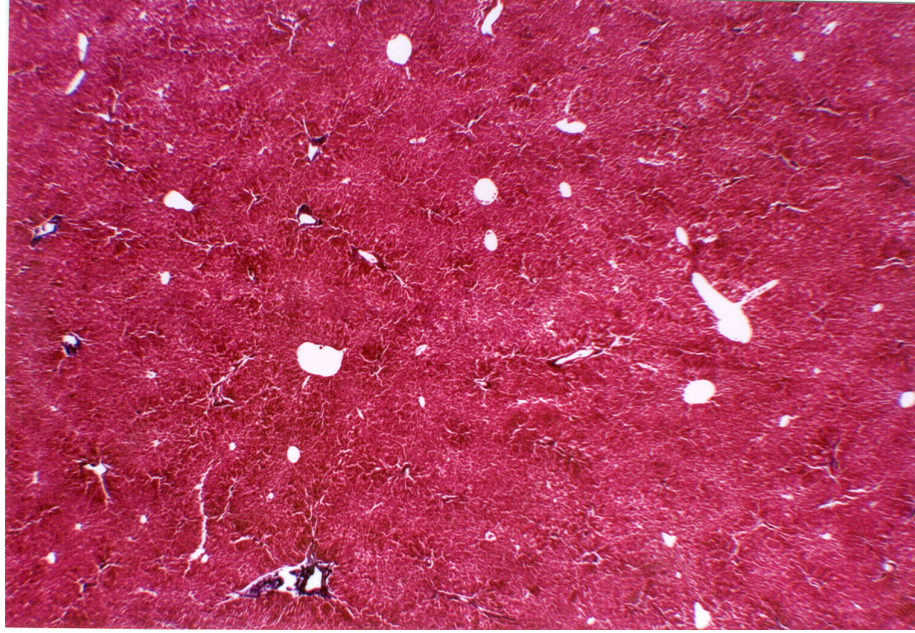
Şekil- 20. *HD* grubunda karaciğerde yaygın ve tam olarak şekillenmiş veno-oklüzyon ve periasiner fibrozis, (9293 ölen hayvan) steromikroskop, MT, x16.



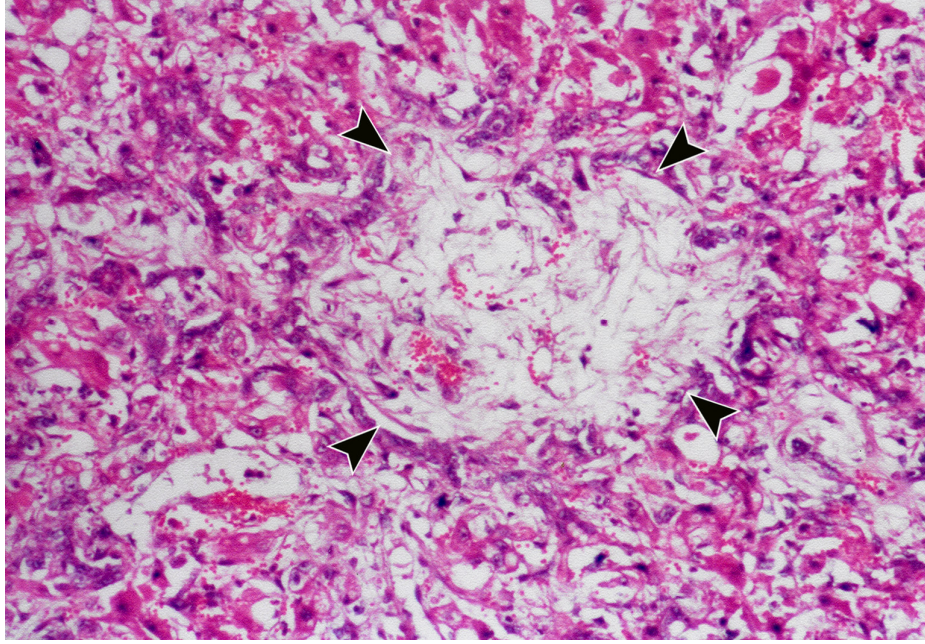
Şekil-21. *SV* grubunda karaciğerde veno-oklüzyon (ok başları) ve periasiner fibrozis, (9299 ölen hayvan) steromikroskop, MT, x16.



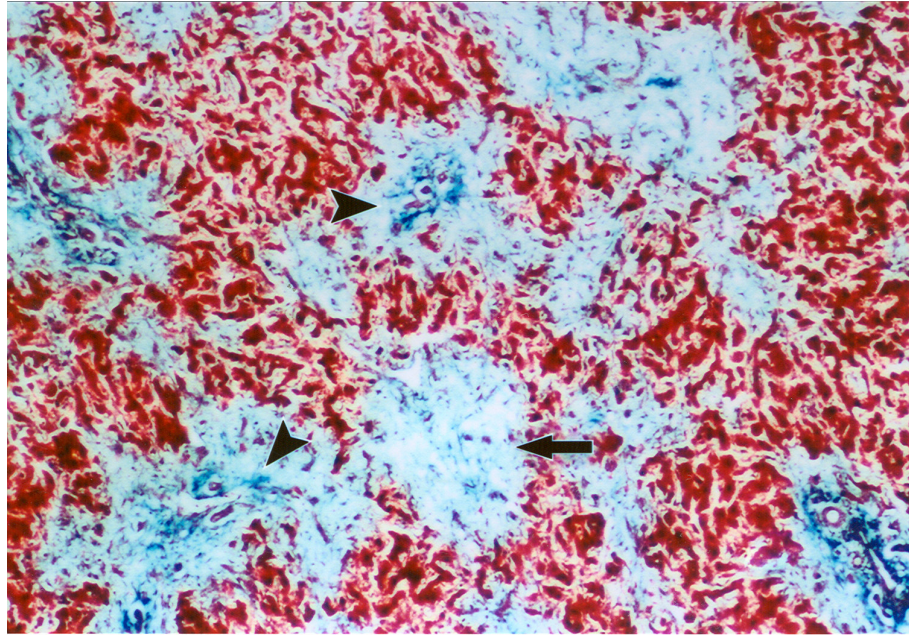
Şekil-22. *HC* grubunda karaciğerde kısmi veno-oklüzyon (ok başları), (9285) steromikroskop, MT, x16.



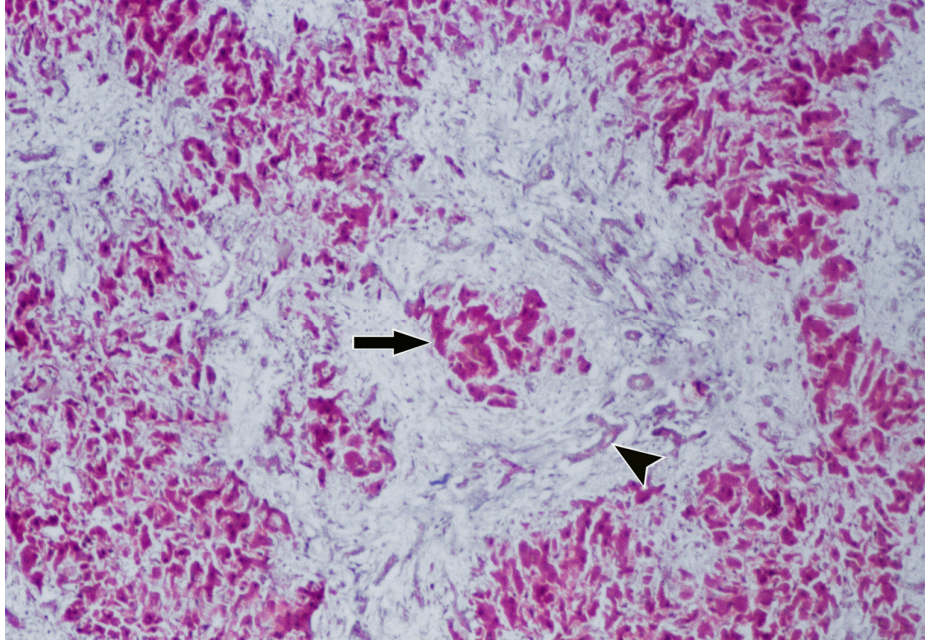
Şekil-23. Kontrol grubunda karaciğerin histolojik görünümü, (9290) steromikroskop, MT, x16.



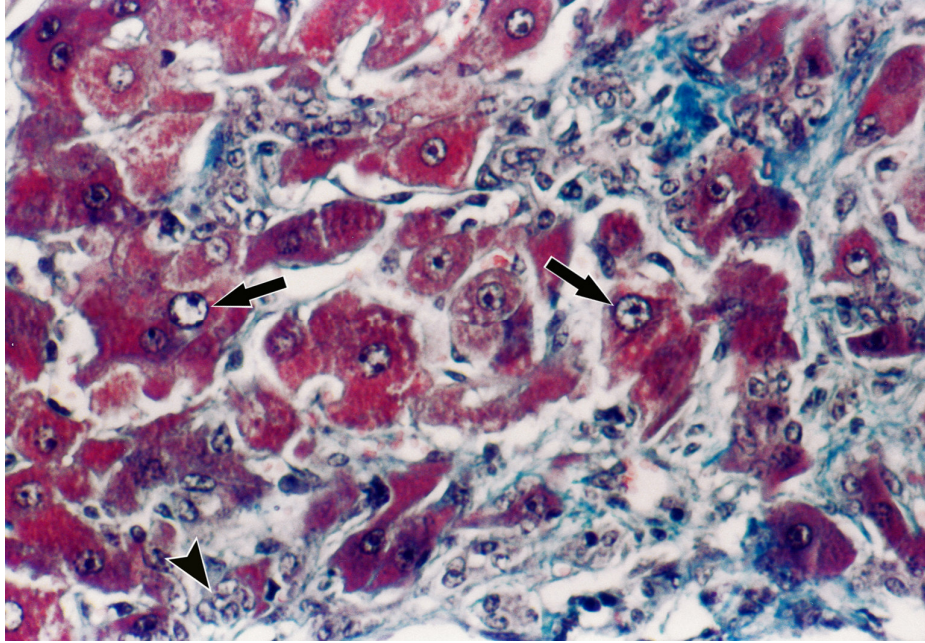
Şekil-24. Vena sentraliste kısmi olarak şekillenmiş bir oklüzyon (ok başları), *HD* grubu (9293 ölen hayvan), HE, x50.



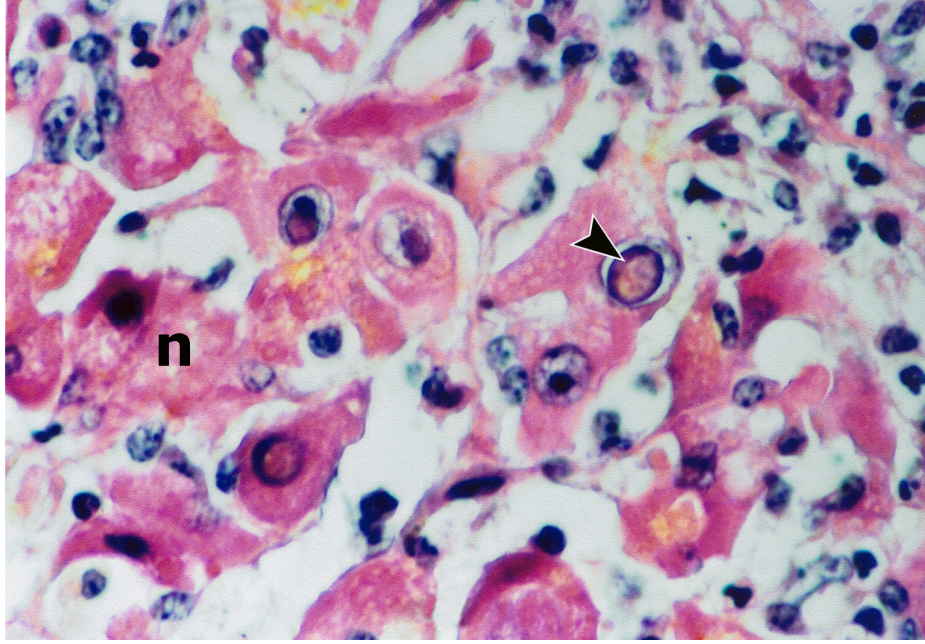
Şekil-25. Karaciğerde periportal (ok başları) ve periasiner alanlarda postnekrotik fibrozis (ok), *HD* grubu (9296 ölen hayvan), MT, x20.



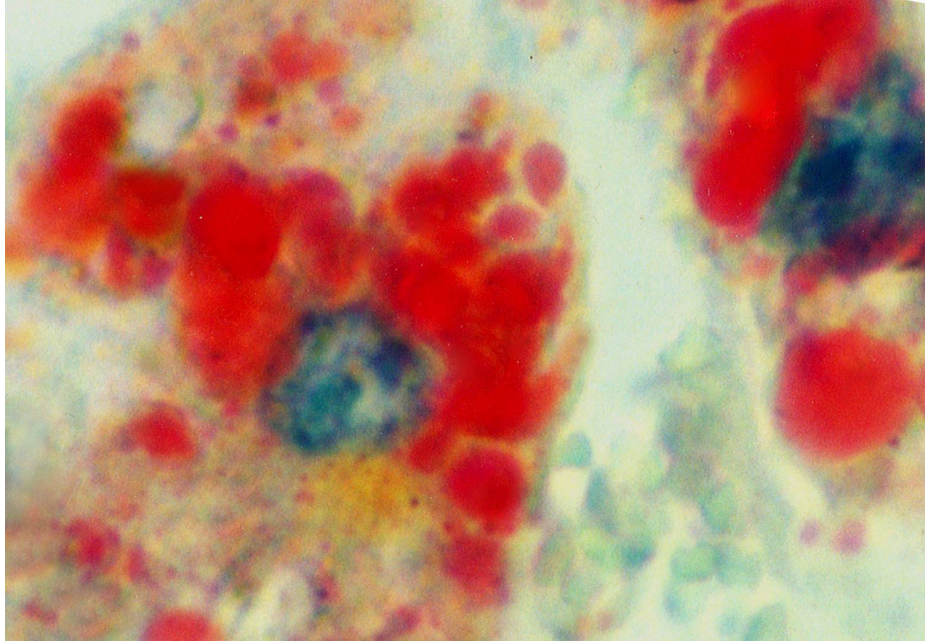
Şekil-26. Parankimal nodül (ok) ve safra kanal hiperplazisi (ok başı), *HD* grubu (9296 ölen hayvan), HE, x20.



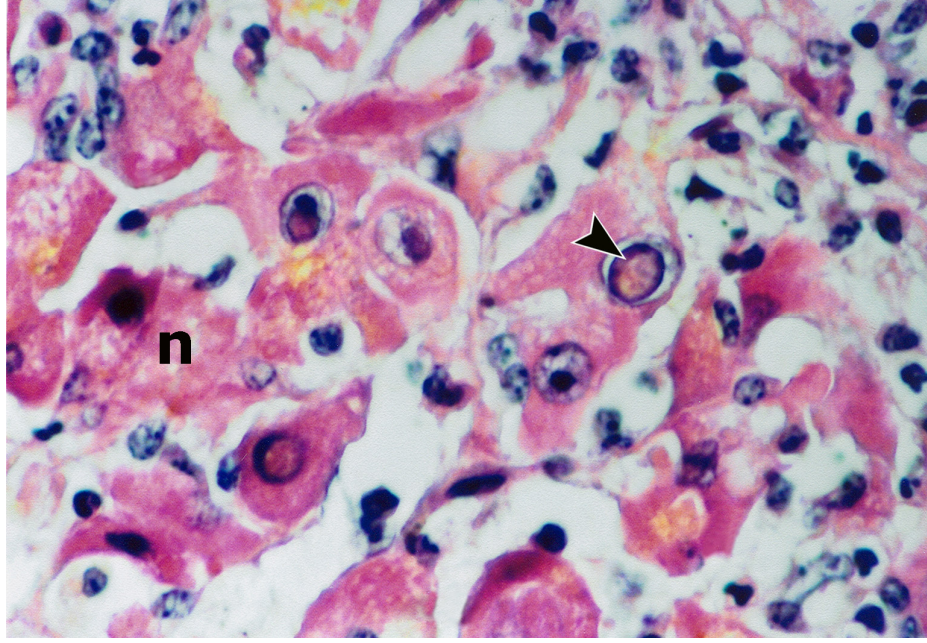
Şekil-27. Hepatositlerde karyomegali (oklar), nekroz, periselüler fibrozis ve oval hücre proliferasyonu (ok başı), *HD* grubu (9296 ölen hayvan), MT, x100.



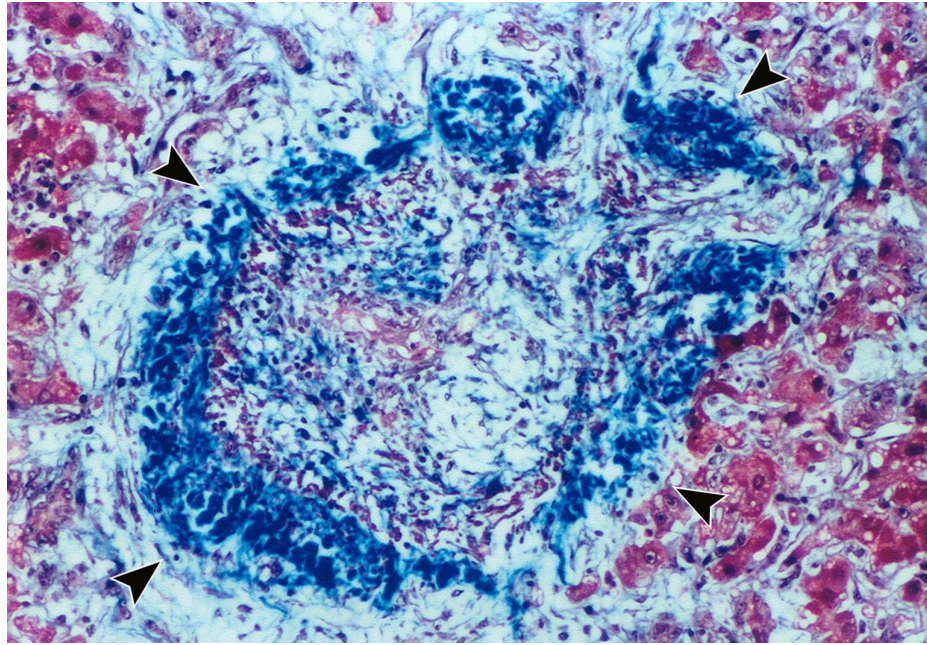
Şekil-28. Hepatositlerde intranükleer inklüzyon cisimciği (ok başı), safra pigment birikimi ve nekroz (n), *HD* grubu (9295 ölen hayvan), HE, x200.



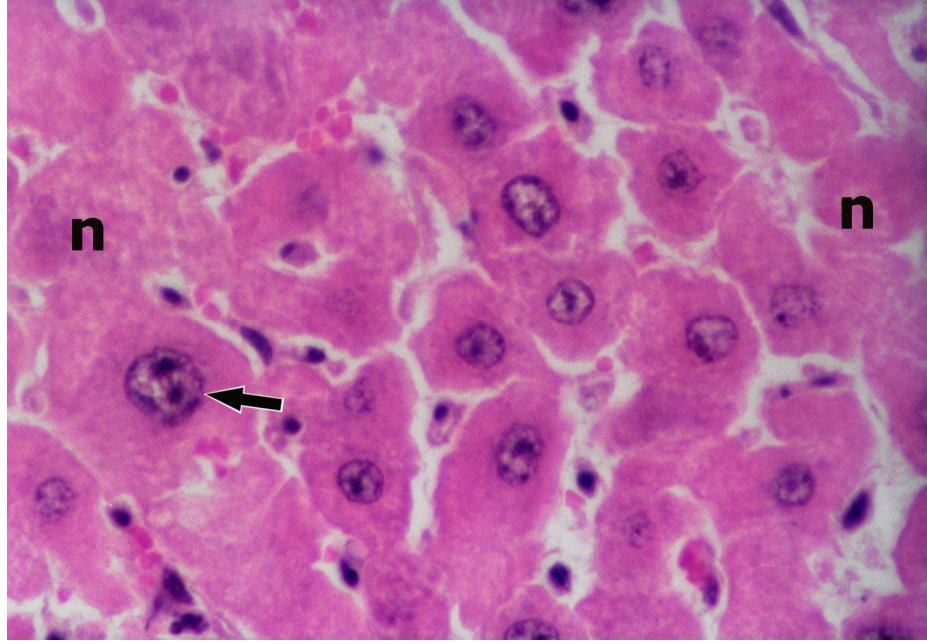
Şekil-29. Hepatositlerde büyük damlalı yağ dejenerasyonu, *HD* grubu (9293 ölen hayvan), oil Red O, x400.



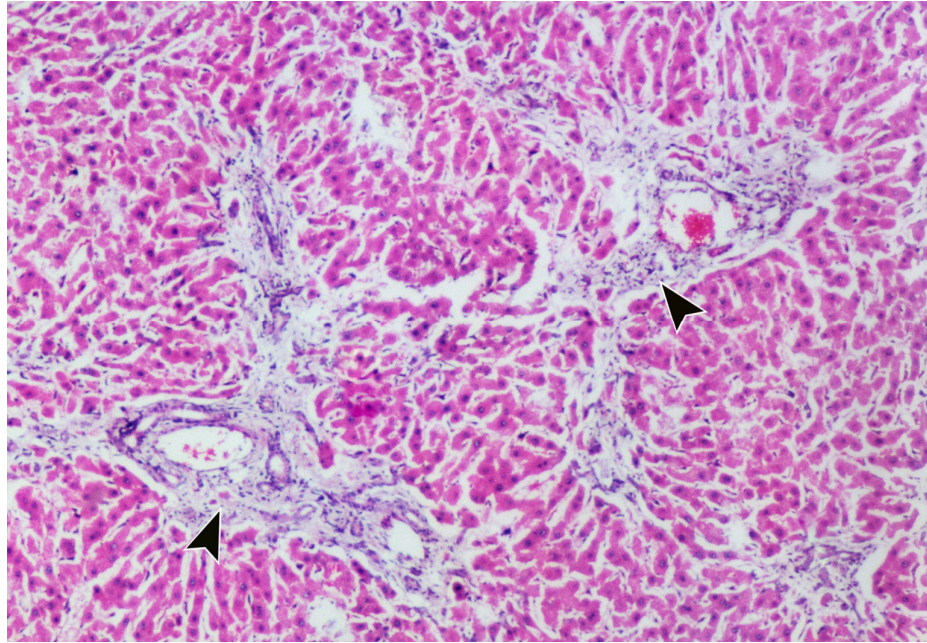
Şekil-30. Hepatositlerde intranükleer inklüzyon (ok başı), safra pigment birikimi ve oval hücre proliferasyonu (ok), *HD* (9293 ölen hayvan), HE, x200.



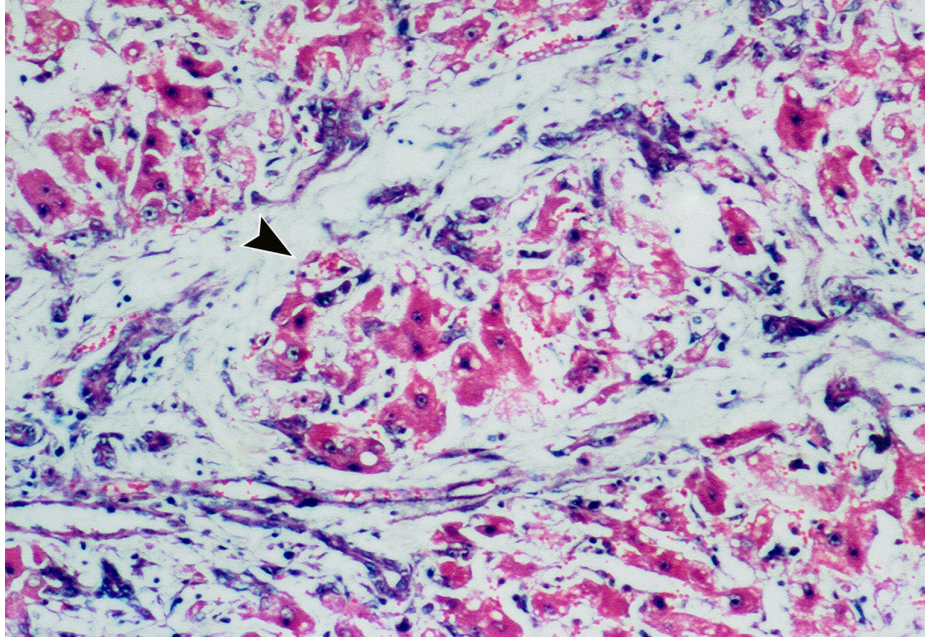
Şekil-31. Kısmi olarak şekillenmiş veno-oklüzyon (ok başları) ve periasiner fibrozis, *SV* grubu (9299 ölen hayvan), MT, x50.



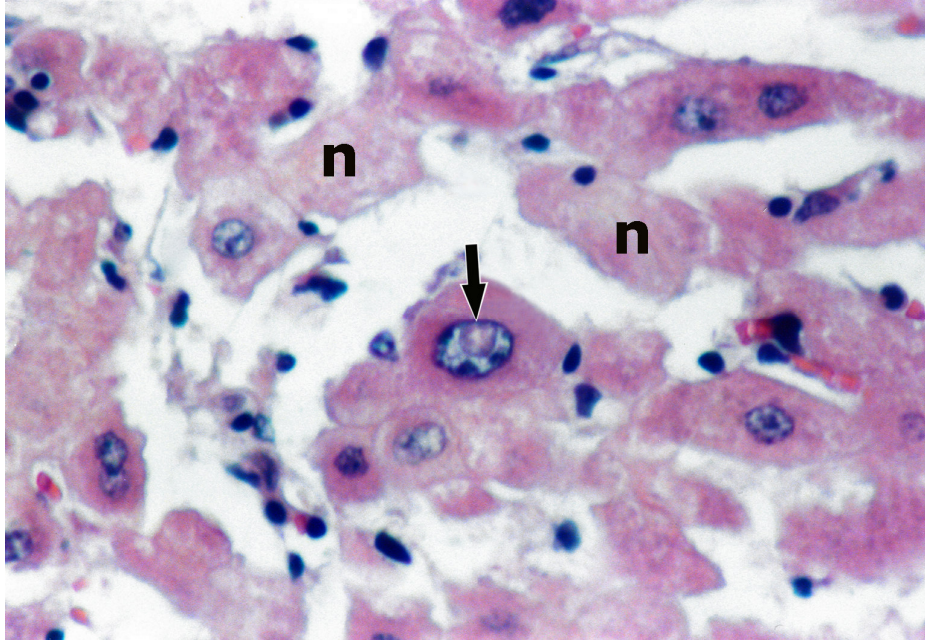
Şekil-32. Hepatositlerde karyomegali (ok) ve nekroz (n), *SV* grubu (9286 kesilen hayvan), HE, x200.



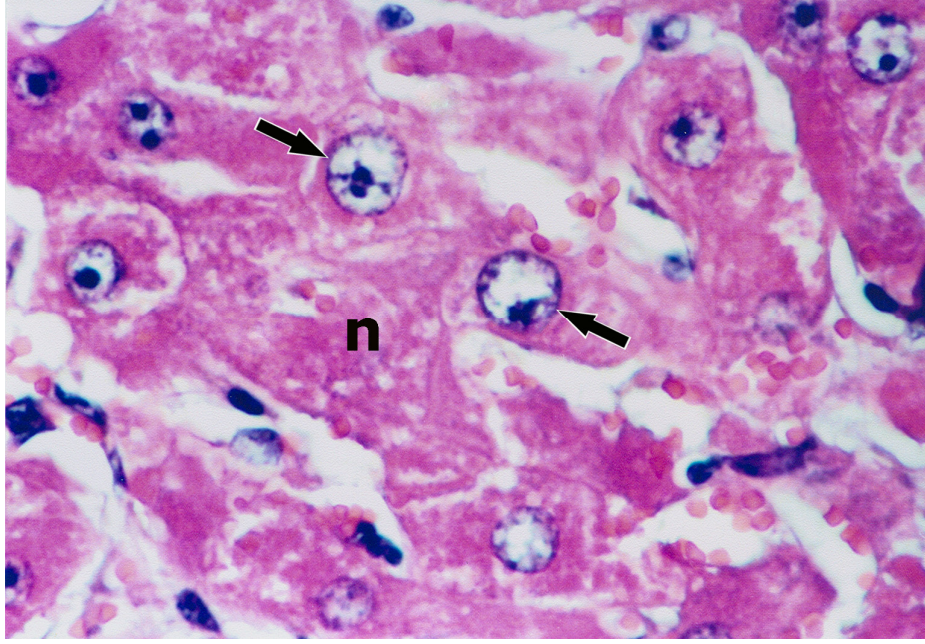
Şekil-33. Periportal bölgeden parankime doğru uzanan fibrotik alanlar (ok başları), *SV* grubu (9291 kesilen hayvan), HE, x20.



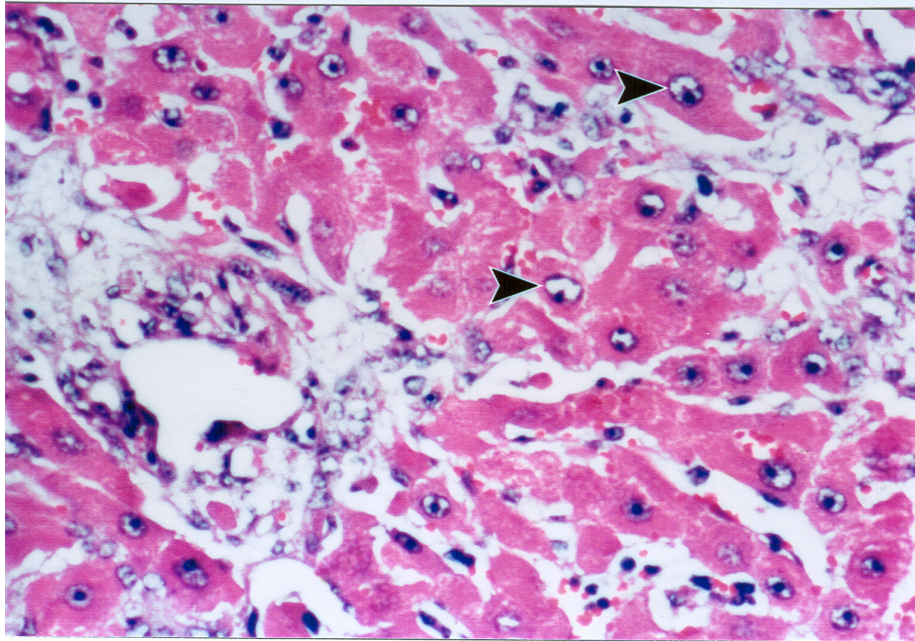
Şekil-34. Parankimal nodül (ok başı) ve safra kanal hiperplazisi, *SV* grubu (9292 kesilen hayvan), HE, x50.



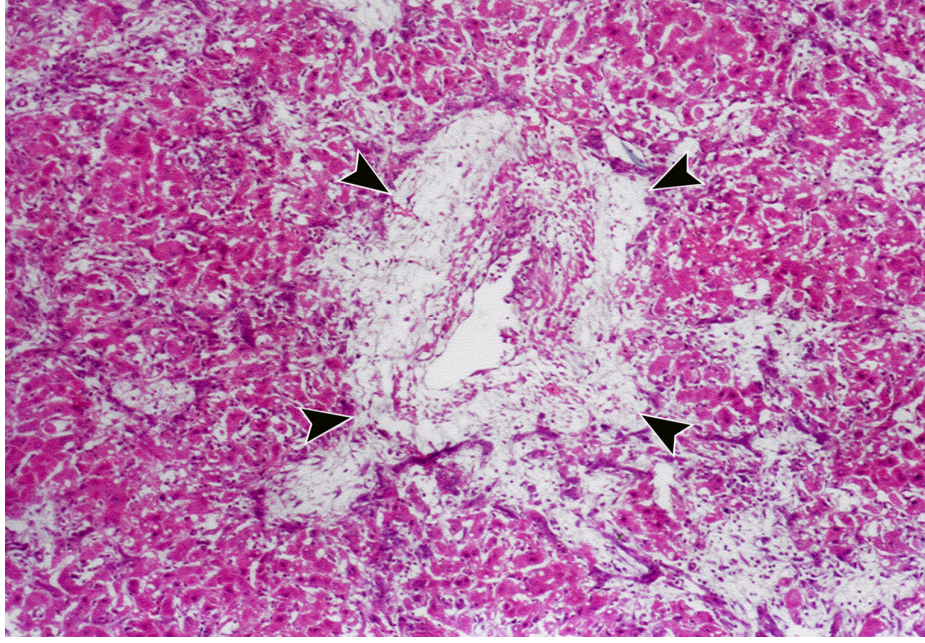
Şekil-35. Hepatositlerde intranükleer inklüzyon cisimciği (ok) ve nekrotik değişimler (n), *SV* grubu (9291 kesilen hayvan), HE, x200.



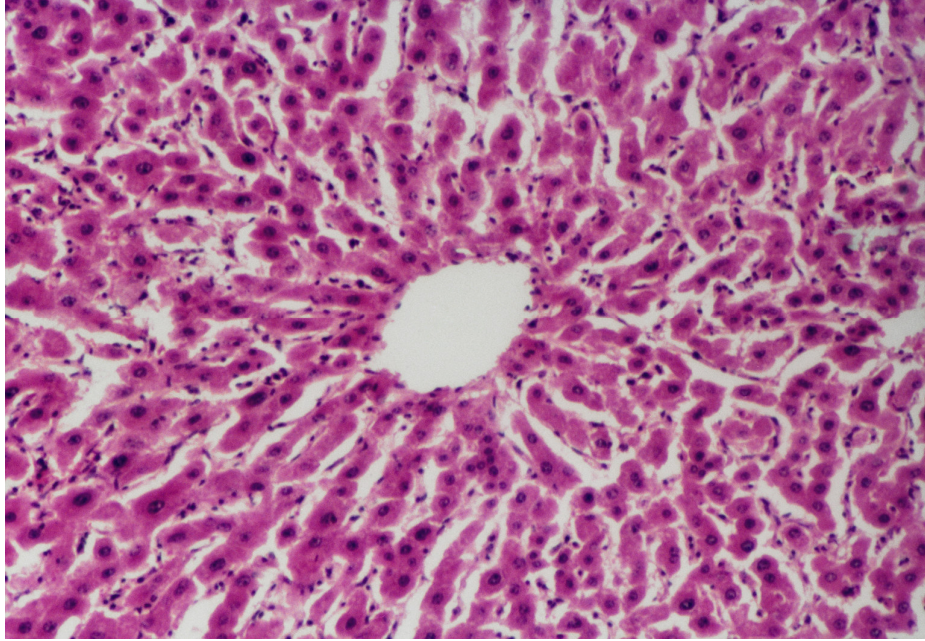
Şekil-36. Hepatositlerde megalositozis (oklar) ve nekrotik değişimler (n), *HC* grubu (9298), HE, x200.



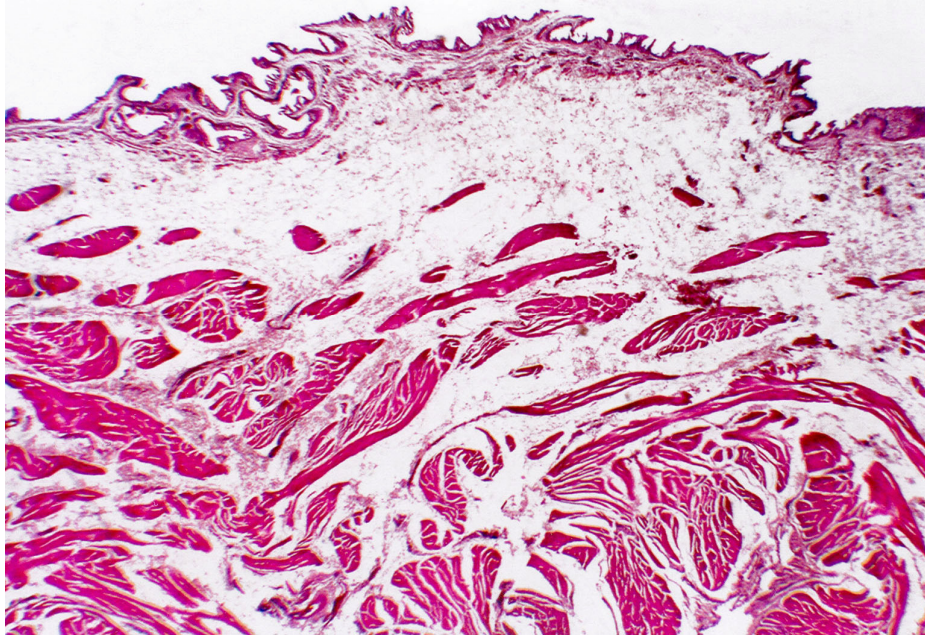
Şekil-37. Hafif periportal fibrozis, hepatositlerde karyomegali, *HC* grubu (9298), HE, x100.



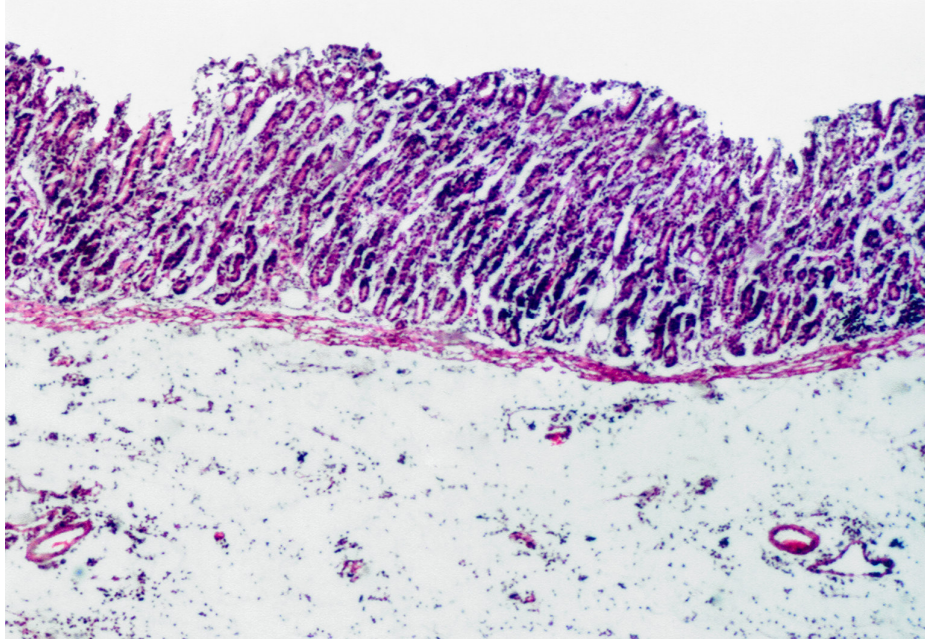
Şekil-38. Kısmi veno-oklüzyon ve periasiner fibrozis (ok başları), *HC* grubu (9298), HE, x20.



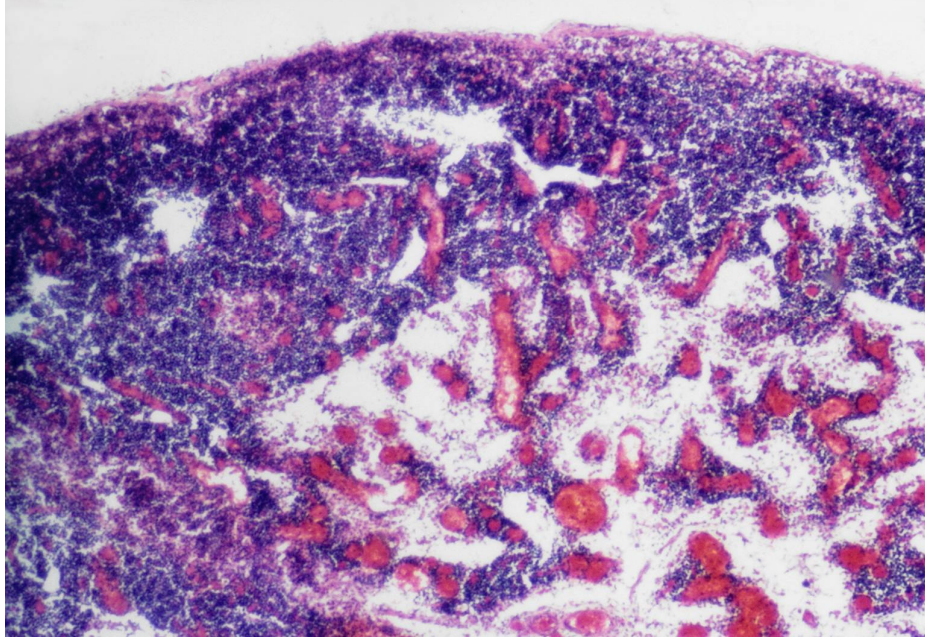
Şekil-39. Kontrol grubunda karaciğerin histolojik görünümü (9290), HE, x50.



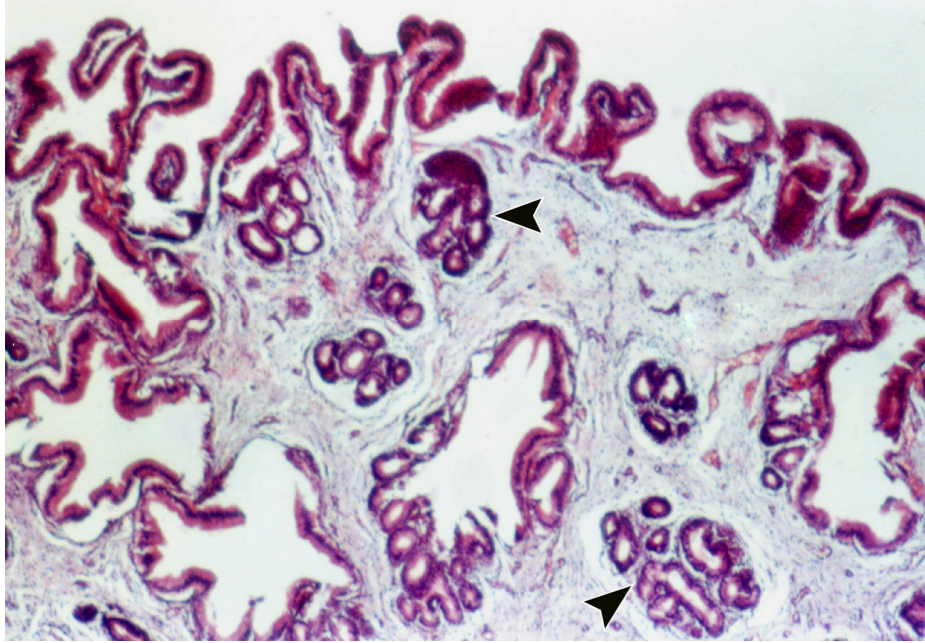
Şekil-40. Retikulum mukozasında subepitelyal ödem, *HD* grubu (9293 ölen hayvan), HE, x20.



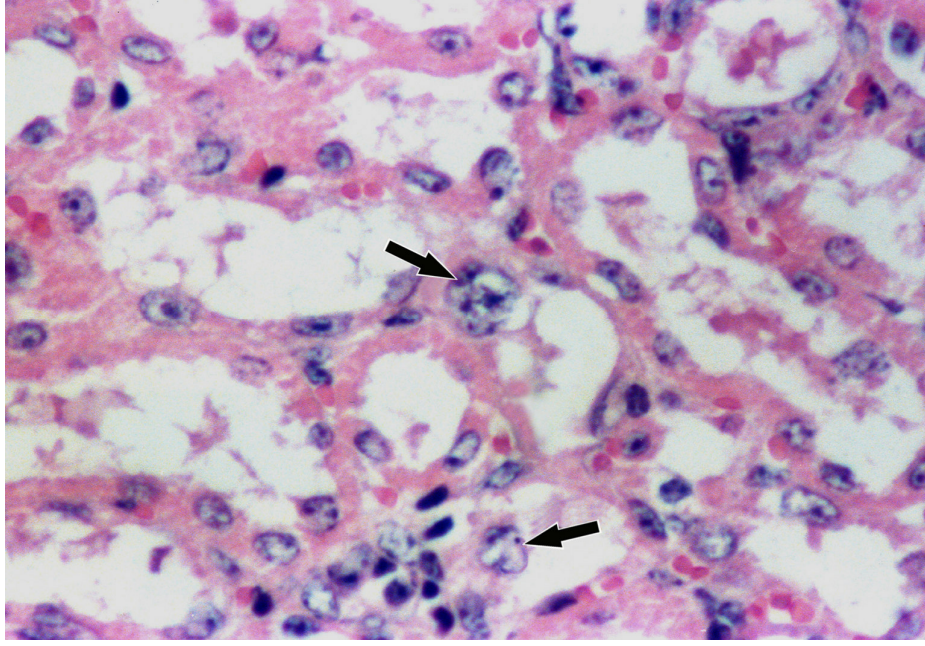
Şekil-41. Abomazum mukozasında serozal ödem, *SV* grubu (9299 ölen hayvan), HE, x100.



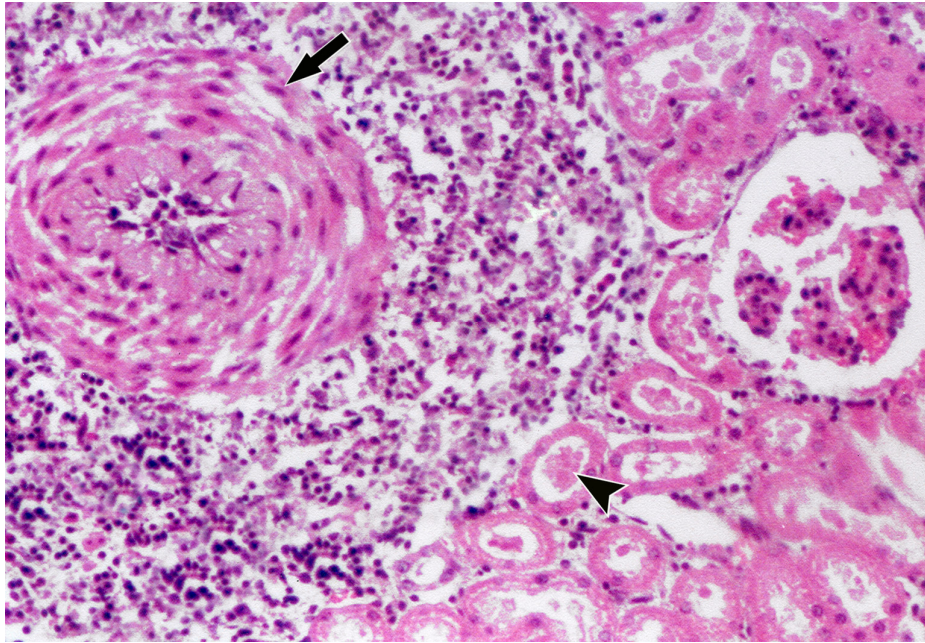
Şekil-42. Mezenterik lenf düğümlerinde ödem ve konjesyon, *HD* grubu (9293 ölen hayvan), HE, x20.



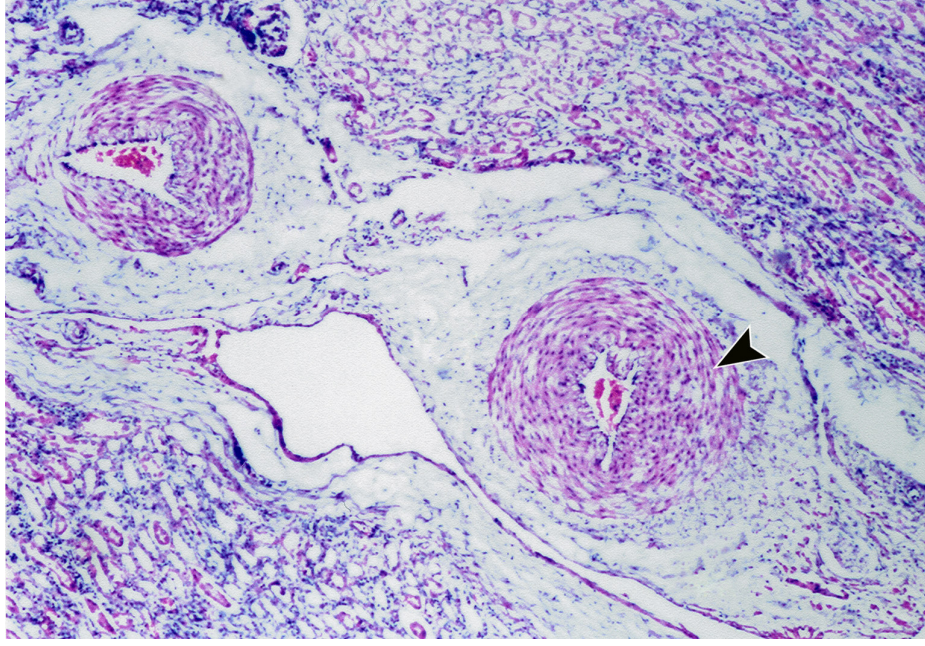
Şekil-43. Safra kesesi mukozasında ve bezlerinde epitelyal hiperplazi (ok başları), *SV* grubu (9299 ölen hayvan), HE, x20.



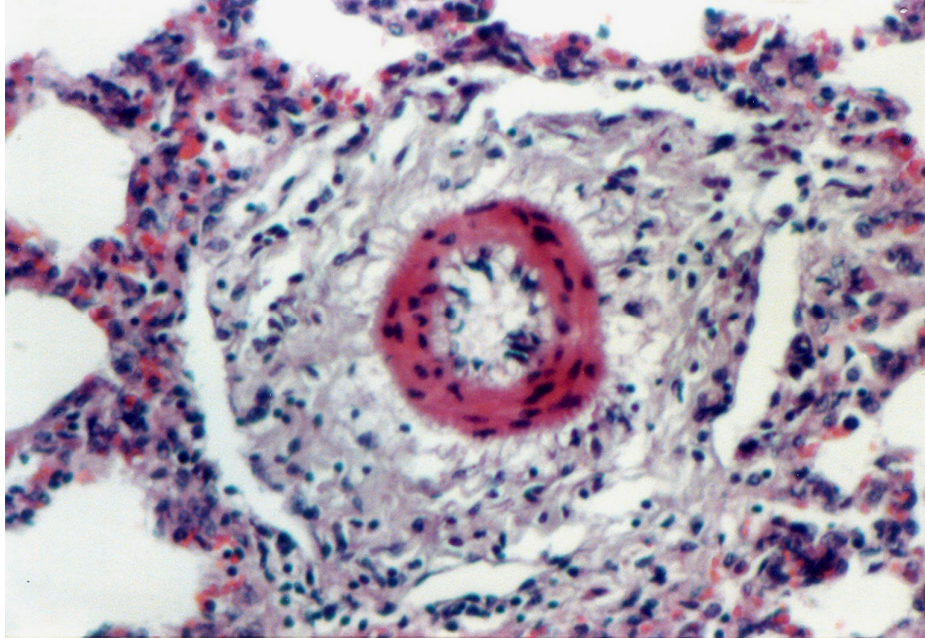
Şekil-44. Tubulus epitellerinde megalositozis (oklar), *HD* grubu (9300 kesilen hayvan), HE, x200.



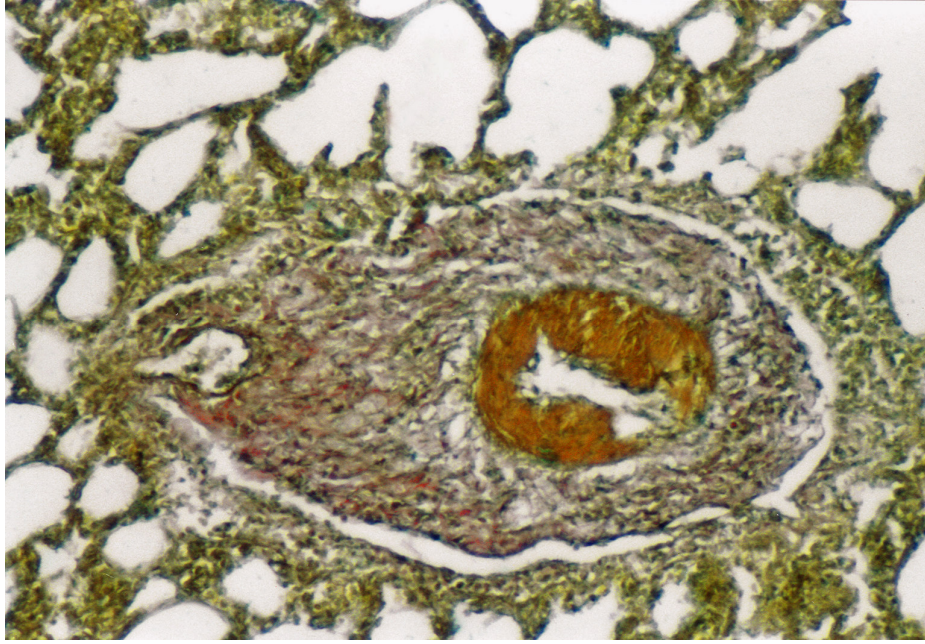
Şekil-45. Böbrek kortesindeki arteriöl duvarında kalınlaşma (ok), perivasküler hücre infiltrasyonu, proksimal ve distal tubulus lümenlerinde protein silindirleri (ok başı) ve tübüler nekroz, *HC* grubu (9298), HE, x100.



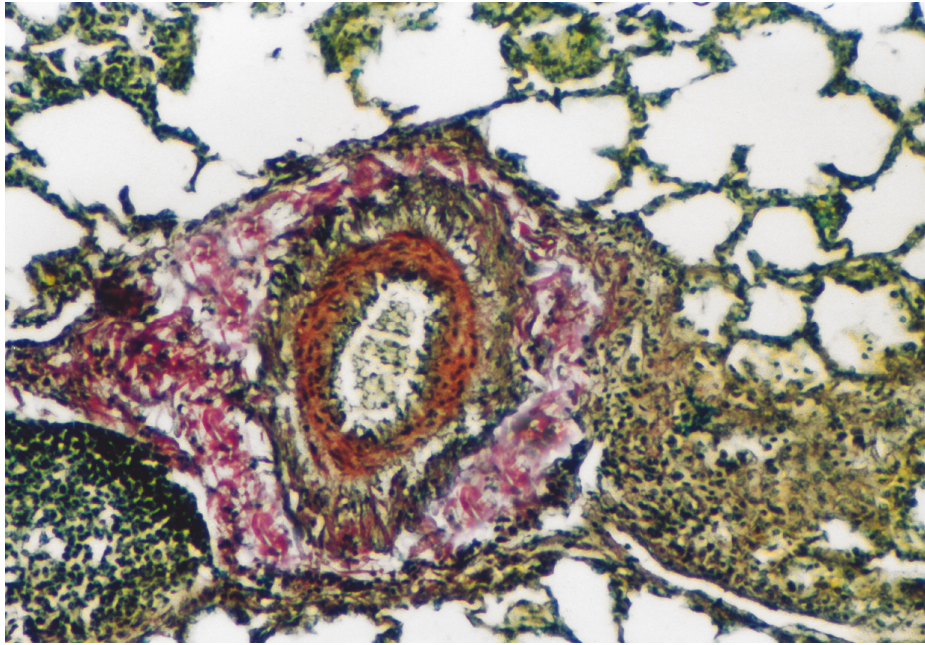
Şekil-46. Böbrek pelvisinde arteriöl duvarında kalınlaşma (ok başı) ve *HC* grubu (9285), HE, x20.



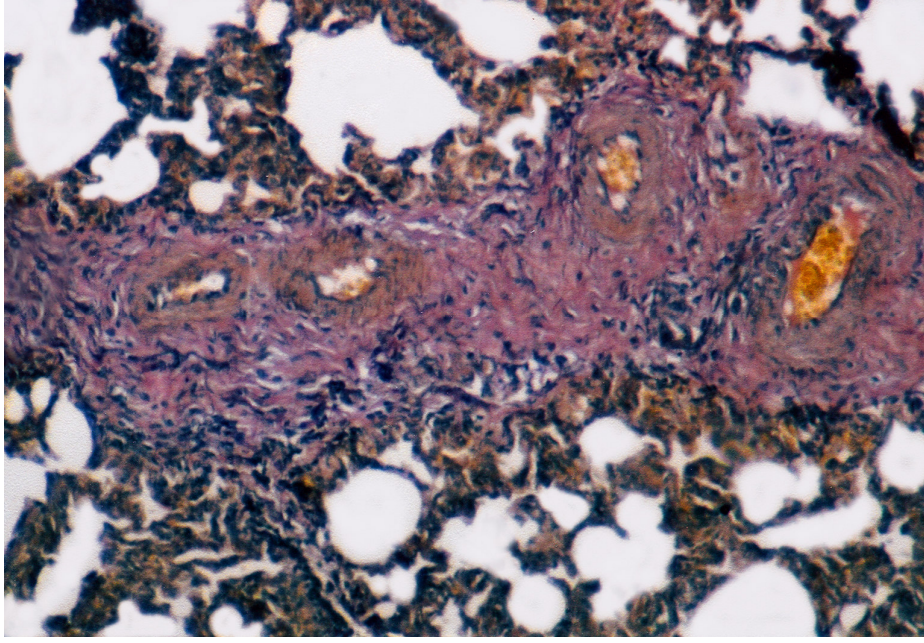
Şekil-47. Akciğer arteriöl duvarında kalınlaşma, *SV* grubu (9291 kesilen hayvan), HE, x100.



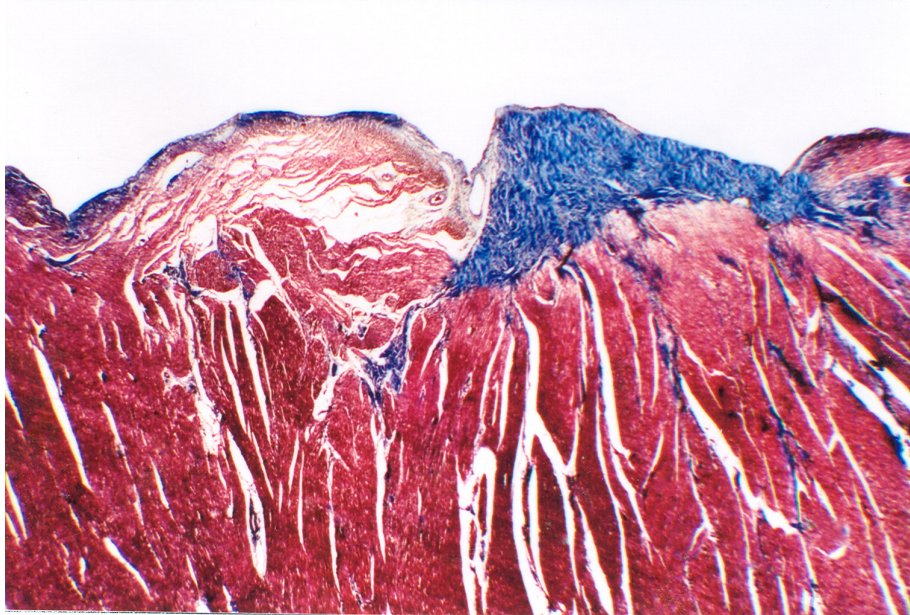
Şekil-48. Akciğer arteriol duvarında kalınlaşma, *SV* grubu (9286 kesilen hayvan), VE, x50.



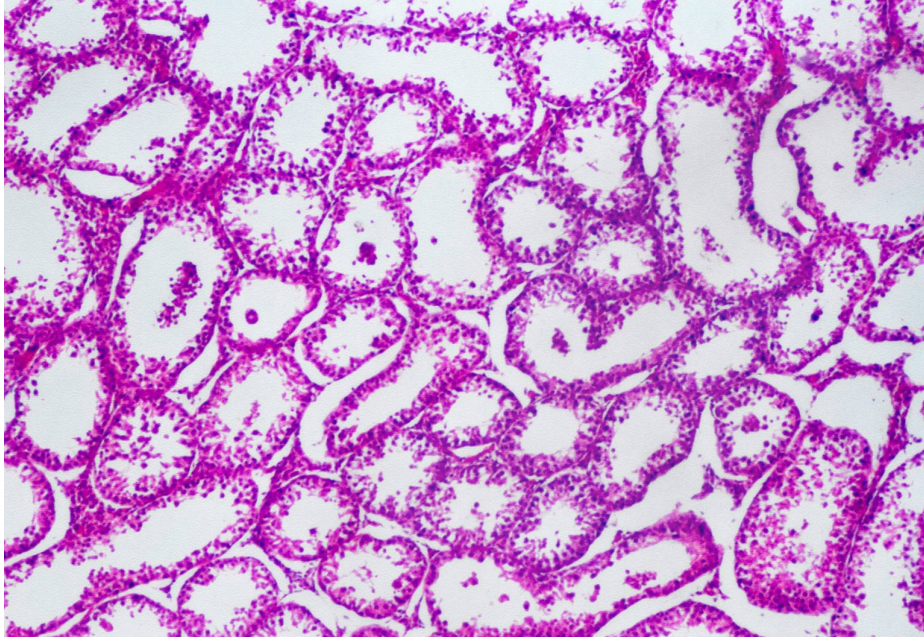
Şekil-49. Akciğer arteriol duvarında kalınlaşma, *HC* grubu (9298 kesilen hayvan), VE, x 50.



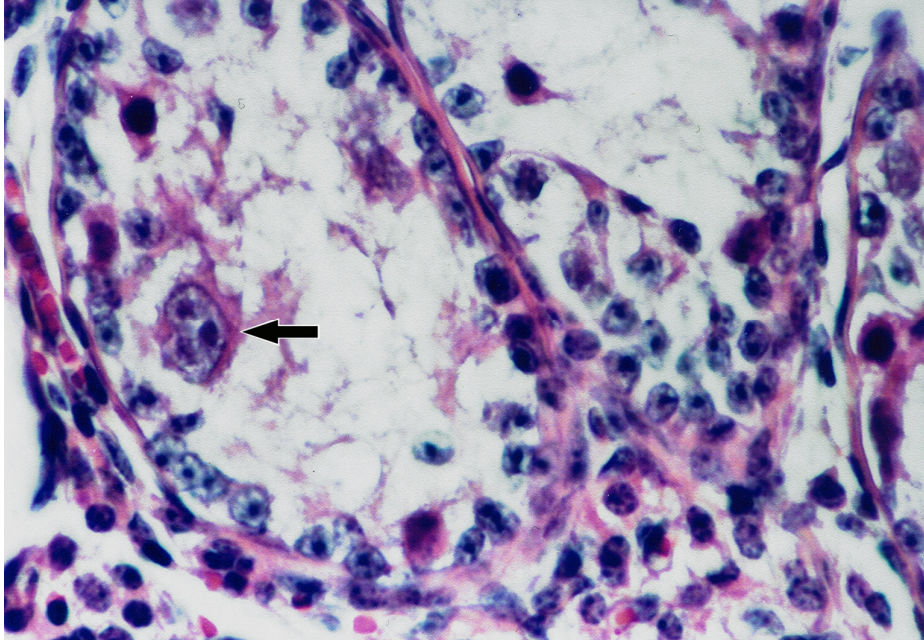
Şekil-50. Akciğerde periarterioler fibrozis, *SV* grubu (9292 kesilen hayvan), VE, x20.



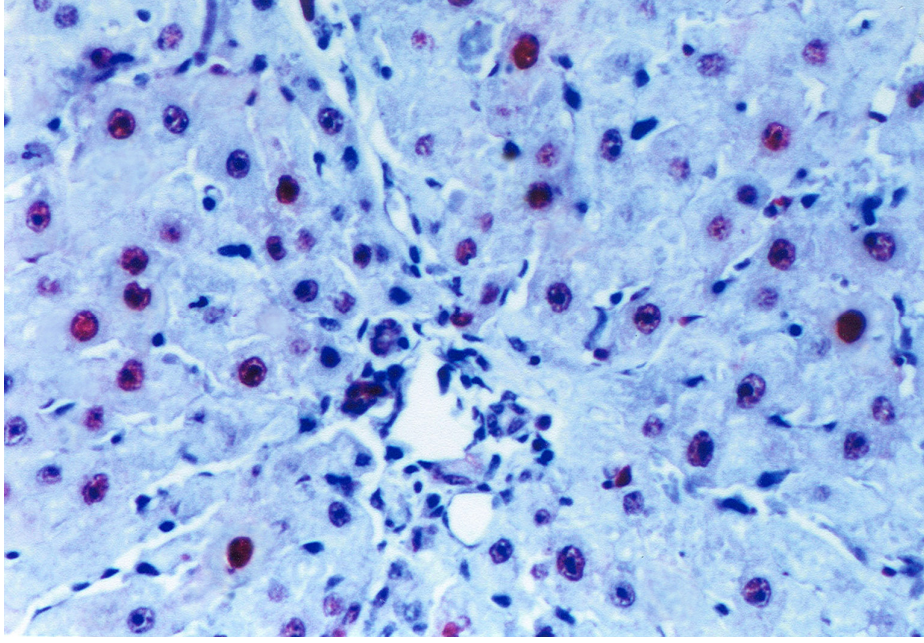
Şekil-51. Kalpte subendokardial fibrozis, *SV* grubu (9291 kesilen hayvan), stereomikroskop, MT, x10.



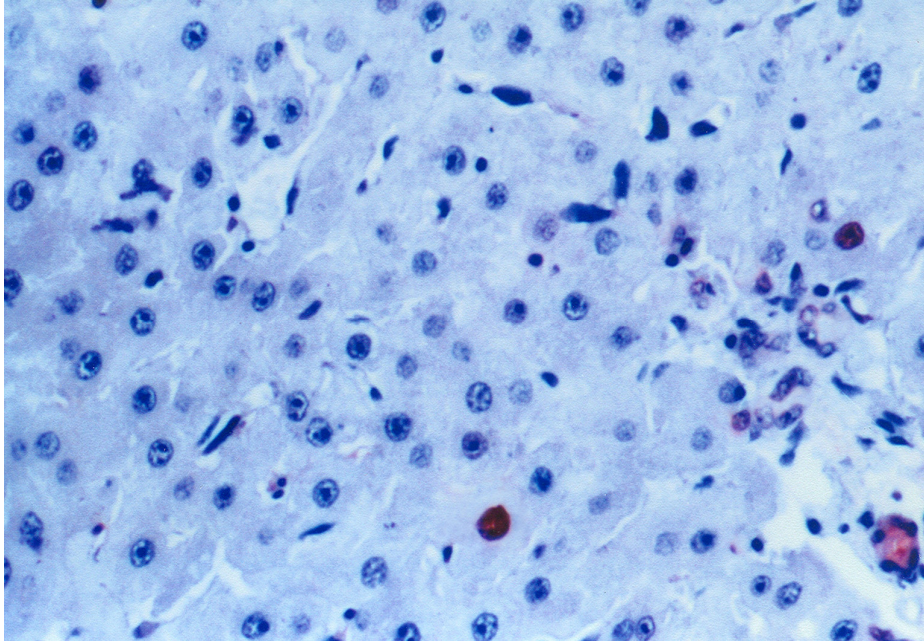
Şekil-52. TSK'larda dejenerasyon ve atrofi, *HD* grubu (9300 kesilen hayvan), HE, x20.



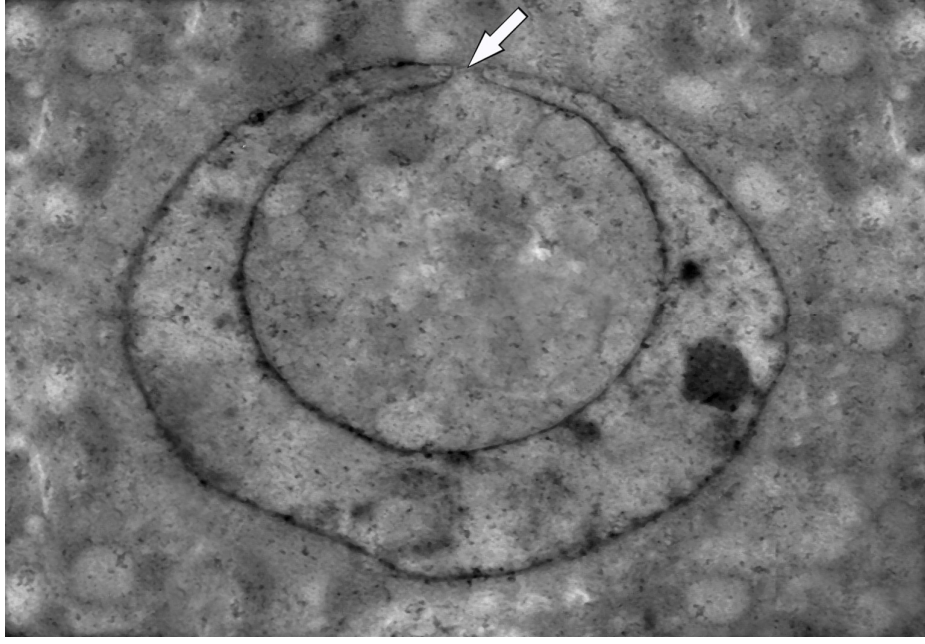
Şekil-53. TSK'larda dev hücreli dejenerasyon (ok), *HD* grubu (9300 kesilen hayvan), HE, x200.



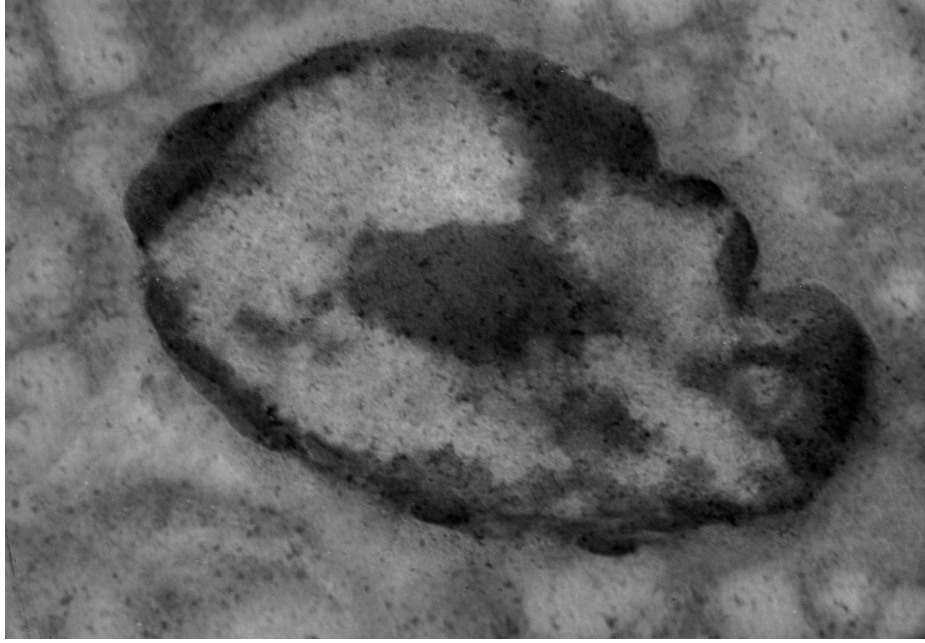
Şekil-59. PCNA ile pozitiflik gösteren hepatositler, Kontrol grubu (9287), PCNA, x100.



Şekil-60. PCNA ile pozitiflik gösteren hepatositler, *HD* grubu (9300 kesilen hayvan), PCNA, x100.



Şekil-62. Megalohepatosit sitoplazmasının, nüklear membrandaki pordan (ok) invagine olmasıyla şekillenmiş intranüklear inklüzyon, *HD* grubu (9293 ölen hayvan), x5000.



Şekil-63. Megalohepatosit nükleusunda apoptozis, *SV* grubu (9291kesilen hayvan), x5000.

6.TARTIŞMA

Bu çalışmada %10 oranında *HD*, *HC* ve *SV* bitkilerini içeren rasyonlarla yapılan yedirme denemesinde, buzağılarda gözlenen; klinik, makroskobik, mikroskobik, elektron mikroskobik ve biyokimyasal bulgular ortaya konmuştur.

Çalışmada kullanılan bitkisel materyallerin total alkaloit miktarları arasında önemli bir farklılık bulunmamasına rağmen (26, 27, 30), günlük ve total alkaloit tüketimi bakımından deneme grupları arasında, yem tüketiminin eşit olmamasından kaynaklanan farklılıklar saptanmıştır. Çalışmanın 50. gününde total alkaloit tüketimi; *HD* grubunda en az (ortalama 101.60 mg/kg), *SV* grubunda orta düzeyde (ortalama 161.70 mg/kg) ve *HC* grubunda ise en fazla miktarda (ortalama 194.20 mg/kg) gerçekleşmiştir. Ellinci günün sonunda en az miktarda alkaloitin tüketildiği *HD* grubunda en fazla sayıda buzağı (3 hayvan) ölümünün şekillenmesi, PA toksikasyonunda tüketilen alkaloit miktarı ile birlikte, alkaloit çeşidinin de (alkaloidin kimyasal yapısı) toksikasyondaki önemini göstermektedir. Sunulan çalışmanın bulgularına paralel olarak, sıçanlarda 20 hafta süreyle farklı oranlarda (% 1, %5 ve %10), *HC* bitkisini içeren rasyonlarla yapılan yedirme denemesinde, oluşan makroskobik ve mikroskobik lezyonlara rağmen ölümün şekillenmediği bildirilmiştir. Anılan çalışmada; %10'luk gruptaki sıçanların tükettiği total alkaloit miktarı 1524.80 mg/kg olarak kaydedilmiştir (26). Diğer taraftan *HD* tohumları ile beslenen farelerde %10'luk grupta ortalama yaşam süresi 33.80 gün ve bu süredeki total alkaloit tüketimi yaklaşık 626.60 mg/kg olarak bildirilmiştir (30). Bu değerlendirmelere göre buzağılarda tüketilen alkaloit miktarı ve ortalama yaşam süreleri laboratuvar hayvanlarında yapılan önceki çalışmalar ile paralellik göstermiştir. Nitekim *HD* bitkisinin tohumlarındaki total

alkaloitlerin büyük bir kısmını (% 78.0) nonsiklik diester yapılı lasiocarpine, *HC* bitkisinde ise, yaklaşık, % 90.0 oranında monoester yapılı europine oluşturmaktadır (27, 31).

Daha önce yapılan bir çalışmada, sığırlarda *SV* bitkisinin, 40 ve 80 g miktarında kurutulmuş olarak 10 gün süreyle verilmesi sonucu; önemli sayılabilecek herhangi bir patolojik ve biyokimyasal değişimin saptanmadığı bildirilmiştir (79). Sunulan çalışmada, *SV* grubunda 39. günün sonunda toplam 80.535 mg/kg tüketimi (günlük 2.065 mg/kg) sonucu, dört buzağıdan bir tanesinde ölüm görülmüştür. *S. longilobulus* bitkisinin 14 günde, 15 mg/kg günlük dozda verilmesiyle (total doz; 210 mg/kg), 38. günde 2 sığırdan ikisinde de ölümlerin şekillendiği gözlenmiştir (43). *S. riddellii* ile sığırlarda yapılan başka bir deneysel çalışmada ise 45 mg/kg/gün dozda rumen sondası ile bitkisel materyal verilen (20 gün süreyle, toplam 900 mg/kg alkaloit) grupta, 20, 32 ve 34. günlerde, hayvanların tamamının öldüğü bildirilmiştir (60). *S. jacobaea* ile sığırlardaki deneysel çalışmada, letal doz 2.5 mg/kg CA/18 gün olarak kaydedilmiştir (41). Sığırlarda *S. jacobaea* ile yapılan başka bir deneysel çalışmada, vücut ağırlığının % 3.6'sı kadar bitki tüketimi ile ortalama yaşam süresi 225 gün olarak açıklanmıştır (17). Sunulan çalışmada vücut ağırlığının % 5.67'si kadar *SV* bitkisi tüketildiğinde, bir hayvanda (39. günde) ölüm gözlenmiş, diğer hayvanlarda da toksikasyona özgü mikroskobik bulgular saptanmıştır. Buna göre; sığırlarda toksik etkisi iyi bilinen *Senecio* türleri (*S. jacobaea*, *S. riddellii*, *S. longilobulus*) gibi, *S. vernalis*'in de sığırlarda toksikasyonlara öncülük edebileceği ortaya konmuştur.

Çalışma materyalini oluşturan bitkisel alkaloidlerin büyük bir kısmı N-Oksit formunda bulunmaktadır (26, 27, 30). Serbest formdaki alkaloidlerin acı lezzetlerinden dolayı daha az oranda tüketildiği ifade edilmekle birlikte, N-Oksit formundaki alkaloidlerin ise acı lezzette olmadığı ve fazla oranda N-Oksit formunda alkaloid içeren bitkilerin, sığırlar tarafından, daha kolay bir şekilde, tüketilebileceği vurgulanmıştır (4). Bu bakımdan; gerek *SV* ile gerekse *HC* ve *HD* bitkileri, sığırlarda şekillenebilecek doğal toksikasyonlar için de, önemli bitkisel kaynaklardır.

Deneme gruplarındaki hayvanların ırk, yaş, cinsiyet gibi farklılıklarının bulunmamasına ve bitkisel materyalin diğer rasyon bileşenlerine homojen karıştırılmasına özen gösterilmiş olmakla birlikte, gruplardaki ölüm oranı ve makroskobik bulgular bakımından, aynı gruptaki hayvanlarda bile son derece önemli farklılıklar gözlenmiştir. Bu durum kronik olgularda karaciğerin yaşamsal fonksiyonları üstlenmesindeki bireysel farklılıklardan ve/veya karışık fonksiyonlu oksidaz enzimindeki bireysel farklılıklar ile açıklanabilir. Sığırlarda yapılan deneysel PA toksikasyonlarının hemen hepsinde bireysel farklılıklar söz konusu olmuştur (20, 35, 44, 45, 49).

Çalışmada buzağılarda gözlenen kaşeksi (10, 78), tenesmus (9, 43) sallantılı yürüyüş (63), konstipasyon (43, 65), halsizlik (48) rektal prolapsus (9, 57, 63) sığırlardaki doğal ve deneysel kronik PA toksikasyonlarının klasik bulguları olarak önceki birçok çalışmada da bildirilmiştir. Kaşeksinin oluşumu düşük düzeyde yem tüketimi ile birlikte, karaciğer hasarına bağlı protein sentezindeki azalma ile açıklanabilir. Sığırlarda *S. alpinus* (10), *S. jacobaea* (41), *S. lautus* (49), *S. tweediei* (57) ve *S. vulgaris* (63) toksikasyonlarında ishal

şekillendiği, bununla birlikte, sunulan çalışmadakine benzer şekilde; sığırlarda *S. lautus* (65) ve *S. longilobus* (43) toksikasyonlarında ise konstipasyonun şekillendiği bildirilmiştir. Sunulan çalışmada; *HD* grubunda 4 buzağıda 21. günden, *HC* grubundaki 2 buzağıda 50. günden, *SV* grubunda ise 2 buzağıda 26. günden itibaren değişen şiddette tenesmus ile birlikte konstipasyon ve ölen hayvanların tamamında, ölümden birkaç saat önce rektum prolapsusunun şekillendiği tespit edilmiştir. Sunulan çalışmada; tenesmus bulgusu, sindirim kanalı ödeminin bir sonucu olarak, rektal prolapsus ise; tenesmusa bağlı ikincil bir bulgu olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmada tüm deneme gruplarına ait bazı hayvanlarda alopesi gözlenmiştir. Benzer şekilde, sıçanlarda *H. circinatum* (26) ve *H. europaeum* (89) ile yapılan yedirme denemelerinde de alopesinin şekillendiği bildirilmiştir. Sıçanlarda yüksek dozlarda heliotridine'nin (heliotrine'in birincil metaboliti) intraperitoneal enjeksiyonu ile dermiste ve kıl foliküllerindeki atrofik değişimler, heliotridine'nin epidermal hücrelerdeki antimitotik etkisi ile açıklanmıştır (72). Sığırlarda *S. alpinus* (10) ve *H. amplexicaule* (48) toksikasyonlarında hepatotoksik fotosensitizasyonun şekillendiği bildirilmiş olmakla birlikte, çalışmada hayvanlar direkt olarak güneş ışığına maruz kalmadığı için, bu konuda bir değerlendirme yapılamamıştır.

Bu çalışmada makroskobik olarak; karaciğerde kapsüler fibrozis ve subkapsüler hemoraji (41, 48), asites (10, 33, 35), abomazal ve mezenterik ödem (43, 67), bağırsak mukozasında ödem ve konjesyon (62), safra kesesinde dilatasyon (44, 57, 60), hidrotoraks ve hidroperikard (9) gözlenen belli başlı bulgular olup, sığırlarda daha önceki doğal ve deneysel PA toksikasyonlarında

bildirilmiştir. Hemen tüm gruplarda saptanan asites, hidrotoraks, hidroperikard ve sindirim kanalı ödemi; akciğer hipertansiyonu, portal hipertansiyon ve hipoalbümineminin bir sonucu olarak değerlendirilmiştir. Sözü edilen sebeplerden hangisinin asites oluşumunda daha etkili olduğu konusunda, kesin bir değerlendirme yapılamamıştır. Ancak, portal hipertansiyonun, kanın onkotik basıncında azalma olmadıkça, sığırlarda tek başına asites oluşumu için yeterli olmadığı ileri sürülmüştür (10). Asites, sığırlarda daha önce, *S. alpinus* (10), *S. brasiliensis* (9), *S. chrysanthemoides* (62), *S. longilobus* (43), *S. jacobaea* (17, 24, 25, 42, 45), *S. lautus* (64, 91), *S. riddellii* (44, 60), *S. selloi* (67), *S. tweediei* (57), *H. amplexicaule* (48) ve *H. europaeum* (33, 35, 78) ile yapılan deneysel çalışmalarda da bildirilmiştir. Hidrotoraks ve hidroperikard bulguları da, doğal *S. brasiliensis* toksikasyonunda bildirilmiştir (9).

Bu çalışmada ölen ve klinik olarak toksikasyon belirtileri gösteren hayvanlarda safra keselerinin ileri derecedeki dolgunluğu daha önceki bir çalışmada da vurgulandığı üzere (10), yem tüketiminin azalmasına bağlı, ikincil bir bulgu olarak değerlendirilmiştir.

Kontrol ve deneme grupları arasında, canlı ağırlık bakımından önemli farklılık görülmemesi, asites, hidrotoraks ve hidroperikard ile sindirim kanalında şekillenen ödemin canlı ağırlık kaybını maskeleyesi ile izah edilebilir. Sunulan çalışmada; deneme gruplarındaki karaciğer ağırlık ortalamasının, kontrol grubuna göre önemli derecede daha az olduğu saptanmış, indeks değerleri bakımından ise aradaki farklılığın önemli olmadığı ortaya konmuştur. PA toksikasyonlarında hücrelerin hacimce artmasına rağmen, karaciğer atrofisi de oldukça sabit ve önemli bir bulgudur (29, 33, 48, 88). Bu çalışmada, belirgin bir karaciğer

atrofisinin şekillenmemesi, çalışmanın diğer araştırmalara göre daha kısa sürede tamamlanması ve hayvanların bir kısmının çalışma tamamlanmadan ölmesi ile açıklanabilir. PA toksikasyonlarında megalositozise rağmen, karaciğer atrofisinin şekillenmesi ise, megalositik hepatositlerde nekrotik ve fibrotik değişimlerin şekillenmiş olmasıyla açıklanmıştır (58).

Çalışmada testis ağırlıkları, *HD* grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak daha az olmasına karşın, indeks değerlerinde farklılık saptanmamıştır. Bununla birlikte, mikroskopik olarak tüm deneme gruplarında testiküler atrofi (tubulus seminiferi kontortusların çap ve germinal hücre kalınlığında azalma) bulguları saptanmıştır. Benzer şekilde, makroskopik ve mikroskopik olarak testiküler atrofi bulguları bildircinlarda *H. dolosum* (20), sıçanlarda *H. europaeum* (89) ve atlarda doğal *S. vulgaris* (52) toksikasyonlarında da bildirilmiştir. Atlarda *S. vulgaris* toksikasyonlarında testiküler atrofi ile birlikte, testiste lüteinizan hormon reseptör sayısının azaldığı da ortaya konmuştur. Bildircin, sıçan ve atlarda yapılmış çalışmalarda testiküler atrofinin, metabolitlerin etkisiyle şekillenmiş olabileceği vurgulanmıştır (20, 52, 89). Benzer şekilde, sıçanlara intraperitoneal, 0.8 mmol/kg dehydroheliotridine enjeksiyonu ile, 1. gün tubulus seminiferi kontortuslarda dejenerasyon ile 5. günde tubuluslarda spermatogenezisin baskılandığı ve atrofi şekillendiği ortaya konmuştur (72). Bununla birlikte, PA toksikasyonlarında testiküler atrofi, karaciğer hasarından ve/veya düşük miktardaki yem tüketiminden de kaynaklanabilir. Nitekim; karaciğer sirozunda insanlarda östrojenlerin yıkımlanamamasına ilgili, testiküler atrofinin geliştiği ve testosteron düzeyinin de azaldığı bildirilmiştir (58).

Çalışmada kalp indeks değerinin *HD* grubunda, kontrol ve diğer deneme gruplarına göre daha fazla olması ile tüm deneme gruplarında mikroskobik olarak ortaya konan sağ endokardial ve subendokardial fibrozis birlikte değerlendirildiğinde, deneme gruplarında, makroskobik olarak belirgin olmamakla birlikte, sağ ventriküler hipertrofinin şekillendiğini göstermiştir (3, 38).

Sitoplazma ve nükleusun hipertrofisi olarak tanımlanan megalositozis, ilk kez farelerde monocrotaline toksikasyonunda tespit edilmiş ve hemen tüm hayvan türlerindeki PA toksikasyonu için spesifik ve klasik bir bulgu olarak değerlendirilmiştir (12, 13). Bu çalışmada da megalositozis önemli bir bulgu olarak tüm deneme gruplarında saptanmış ve hepatosit nüklear çapları mikrometrik ölçümler ile de şekillenen farklılıklar ortaya konmuştur. Ancak, söz konusu megalositik lezyonların derecesi, hafif ya da orta dereceli olmuştur. Nekrotik lezyonların en şiddetli olduğu *HD* grubunda, karyomegalinin en hafif, nekrotik değişimlerin en hafif derecede şekillendiği *HC* grubunda ise karyomegalinin en belirgin olarak şekillenmiş olması, *HD* grubundaki hayvanların yaşam sürelerinin daha kısa olması, nekrotik ve dejeneratif hepatositlerin alkaloitleri metabolize edememeleri ve hepatositlerdeki piknotik değişimler ile açıklanabilir. Bu bulguyu destekler tarzda; sıçanlarda *H. europaeum* ile yapılan ve 6 ay süren bir yedirme denemesinde %10'luk gruptaki hayvanlarda hepatosit nükleus çapı, kontrol grubuna oranla %9.58 artmış iken, %1'lik grupta kontrol grubuna göre %153.36 oranında net artışın şekillendiği vurgulanmıştır (89). Bu çalışmada ise, *HC* grubunda nükleus çapı kontrol grubuna göre %13.63, *SV*

grubunda %13.48 ve *HD* grubunda ise %12.21 oranında net artışların şekillendiği ortaya konmuştur.

Megalositik lezyonların yanı sıra karaciğerde tam ya da kısmi veno-oklüziv değişimler, çalışmanın en dikkat çekici bulgusu olmuş, özellikle ölen hayvanlarda, sentral venlerin tamamen ve yaygın olarak tıkanıldığı ortaya konmuştur. Oluşan veno-oklüziv değişimler; sığırlarda (88), insanlarda (87) ve maymunlardakine (3) benzer morfolojik özellikte olup, damar lümeninin ve damar duvarının fibroz bağ doku ile tıkanmasıyla karakterizedir. Oysa ki, %10 oranında *H. dolosum* tohumlarını içeren rasyon ile etlik piliçlerdeki yedirme denemesinde yaygın sinüzoidal dilatasyon, kanama ve yaygın hepatohücrel nekroz bulguları ile karakterize akut karakterli veno-oklüziv lezyonlar (sinüzoidal obstrüksiyon sendromu) tanımlanmıştır (28). Benzer histolojik tablo; LD 50'ye yakın dozlarda alkaloit enjeksiyonu ile laboratuvar hayvanlarında da şekillendirilmiştir (4). Veno-oklüziv lezyonların patogenezi sinüzoidal endotel hücrelerinin zedelenmesi esasına dayanır. PA metabolitlerinin, periasiner bölgedeki sinüzoidlerde yüksek konsantrasyona ulaşmaları nedeniyle, veno-oklüziv değişimler bu (periasiner) bölgede meydana gelir. Sinüzoidal endotellerin PA'lerini metabolize edici enzimleri bulunmamaktadır. Ancak, bunlar pirolük metabolitlerin etkisine hepatositlerden daha duyarlı olup, bunların etkilenmeleri hepatositlerden açığa çıkan metabolitler ile olmaktadır. Sonuçta, periasiner bölgedeki sinüzoidal endotel hücrelerinde nekroz ve deskuamasyon nedeniyle, hücre embolusu ile birlikte sinüzoidal dolaşımın engellendiği bildirilmiştir (23). Akut veno-oklüziv lezyonlar da nekrotik ve deskuame endotel hücrelerinin sinüzoidal dolaşıma karışması ve sinüzoidal porları tıkanması ile oluşmaktadır. Bu olayın sonucunda da karaciğerde

yaygın kanama ve nekrozlar ile kısa sürede ölüm şekillenmektedir. Subakut ve kronik veno-oklüzyon ise, karaciğerde periasiner hepatositlerde ve vena sentralis duvarındaki dolaşım bozukluğuna bağlı nekroz ve bunu takiben oluşan fibrozis ile şekillenmektedir. Son yıllarda, tanımlanan bu değişimlerin akut veno-oklüzyon yerine, sinuzoidal obstrüksiyon sendromu olarak isimlendirilmesinin daha uygun olacağı vurgulanmaktadır. PA toksikasyonlarına ilgili hepatik veno-oklüziv lezyonlar insanlarda (4, 87), maymunlarda (3), sığırlarda (4, 88), tavuklarda (28), laboratuvar hayvanlarından sıçan ve farelerde (55) bildirilmiştir. Genellikle PA toksikasyonuna duyarlı türlerde bildirilen hepatik veno-oklüziv lezyonlar, dirençli olarak değerlendirilen koyun, keçi, tavşan ve bildircinlarda şekillenmediği bildirilmiştir (1, 4, 16, 29). Bu çalışmada; *HD*, *HC* ve *SV* bitkilerini %10 oranında içeren rasyonlar ile beslenen buzağuların önemli bir bölümünde sentral venlerde tipik oklüziv lezyonlar ile periasiner postnekrotik fibrozis bulguları ortaya konmuştur. Buzağularda, veno-oklüziv lezyonlar, *S. jacobaea* ve *Crotalaria fulva* ile yapılan yedirme denemelerinde sabit bir bulgu olarak değerlendirilmiştir (4, 88). Bununla birlikte, buzağularda *Heliotropium* türlerine ilgili hepatik veno-oklüzyon ilk kez bu çalışma ile ortaya konmuştur. İnsanlarda da, gerek *Heliotropium* türleri (*H. popovii*, *H. lasiocarpum*, *H. eichwaldii*) ve gerekse *Senecio* türlerine (*S. ilicifolius*, *S. burchelli*, *S. longilobus*) ilgili toksikasyonlarda da veno-oklüzyon sabit bir bulgu olarak bildirilmiştir (4, 87). *H. dolosum* bitkisinin sinonimi olan *H. eichwaldii* bitkisi ile (22), Hindistan'da insanlarda oluşan toksikasyonlarda da, veno-oklüziv lezyonlar en dikkat çekici bulgular olarak kaydedilmiştir (4, 87). Bu çalışmada hem veno-oklüziv lezyonların, hem de asitesin görülmesi artmış olan intrahepatik basınca ilgili değişimler olarak

değerlendirilmiştir. Ayrıca, hepatik veno-oklüziv lezyonların ölüm sebebi olduğu kanaatine varılmıştır.

Sunulan çalışmada hem periasiner hem de periportal alanlarda postnekrotik fibrozis saptanmıştır. PA toksikasyonlarında; doza, hayvan türüne, alkaloitlerin çeşidine ve veriliş yoluna göre, karaciğerdeki nekrozların farklı zonlarda şekillenebileceği bildirilmiştir. Retrorsine ile fare, sıçan ve kobaylarda yapılan bir çalışmada periasiner, hamsterde periportal, tavuk ve maymunda ise düzensiz fokal nekrozların olduğu vurgulanmıştır. Maymunlarda başka bir çalışmada ise, monocrotaline'nin periasiner, senecionine'nin ise periportal ve midzonal alanlarda nekrotik değişimlere neden olduğu bildirilmiştir (4). Sığırlarda *S. jacobaea* toksikasyonlarında nekrozların zonal bir yerleşiminin olmadığı ve gelişigüzel bir dağılım gösterdiği tespit edilmiştir (20). Buzağılarda, *S. jacobaea* ile yapılan başka bir çalışmada ise, periasiner nekrozlar bildirilmiştir (88). Hayvan türüne göre karaciğerde farklı zonların etkilenmiş olması; zonlar arasındaki mikrozomal enzim düzeylerindeki farklılıklar ile açıklanabilir. Sunulan çalışmada; periportal nekrozların, metabolitlerin primer etkisi ile olduğu, periasiner nekrozların ise alkaloitlerin toksik etkilerinden çok sinuzoidlerdeki tıkanmaya ve veno-oklüzyona bağlı olarak şekillenen dolaşım bozukluğuna ilgili olduğu kanısına varılmıştır. Karaciğerdeki portal fibrozisin derecesini ortaya koymak için, yapılan değerlendirmede, deneme gruplarında portal bölgede oldukça belirgin bir fibrozisin geliştiğini gözlenmiştir. Buna göre hepatosit yoğunluğunun (birim portal bölgedeki hepatositlerin kapladığı alan/tüm alan) *HD* grubunda kontrole göre % 58.0, *HC* grubunda % 31.0 ve *SV* grubunda ise % 53.0 oranında azaldığı saptanmıştır.

Sunulan çalışmadakine benzer şekilde; koyunlarda *H. europaeum* (37), sıçan ve kobaylarda *S. jacobaea* (16), sığırlarda *S. riddellii* (44), farelerde *H. dolosum* (30), sıçanlarda *H. circinatum* (26) ile *H. europaeum* toksikasyonlarında (89) ve intraperitoneal lasiocarpine enjeksiyonlarında, hepatositlerde intranükleer inklüzyon cisimciklerinin varlığı bildirilmiştir (70). Elektron mikroskopik incelemelerde; intranükleer inklüzyonların, sitoplazmanın nükleus içerisine genişlemiş olan porlardan invaginasyonu sonucunda oluştuğu ortaya konmuş olup, bu bulgu önceki çalışmalardaki (2, 37) bildirimler ile paralellik göstermiştir. İntranükleer inklüzyon, hemen tüm hayvan türlerinde gerek deneysel, gerekse doğal olgularda toksikasyonun spesifik bir bulgusudur. Bununla birlikte, aflatoksikozis ve nitrozamin gibi diğer bazı alkilleyici maddeler de benzer morfolojik görünümlü, oluşumlara neden olduğundan (55, 58), bu bulgu PA toksikasyonları için patognomonik olarak değerlendirilmemelidir. Gerek aflatoksin, gerekse nitrozamin ile oluşan hepatomegalositik değişimler PA'lerinden farklı olarak geri dönüşümlü olduğu vurgulanmıştır (55). Yapılan literatür taramalarında inklüzyonların nasıl oluştuğu konusunda bir değerlendirmeye rastlanmamıştır. Bununla birlikte, megalositozis ile artan hücre içi basıncına ilgili olarak nükleer porların genişlemesi ile oluştuğu söylenebilir. Safra kanalı hiperplazisi ve oval hücre proliferasyonu birçok toksik karaciğer hastalığında olduğu üzere bu çalışmada da tüm deneme gruplarında saptanmıştır. Anılan değişimler PA toksikasyonları için nonspesifik bir bulgu olup, başarısız rejenerasyon girişimleri olarak değerlendirilmiştir. Sunulan çalışmada ortaya konan ve oval hücre olarak adlandırılan parankimal olmayan epitel hücreleri, hem hepatositlerin hem de safra epitel hücrelerinin kaynağı durumundadır. Özellikle,

HD ve *SV* gruplarında saptanan parankimal nodüllerini oluşturan hepatosit kümelerinin ortalarında sentral venlerin bulunmaması ile morfolojik olarak rejeneratif nodülden ayrı olarak değerlendirilmiştir. Nitekim PA toksikasyonlarında oluşan nodüllerin rejeneratif özellikte olmadığı, bu hücrelerin toksik etkiden kurtulan hücre klonlarından oluştuğu ve toksik etki ortadan kalktığında hücrelerin rediferensiye olarak karaciğerin normal görünüm kazanmasını sağladığı ileri sürülmüştür (58). Kronik karaciğer toksikasyonlarının çoğunda bildirilen apoptozis, fibrozis, safra kanal hiperplazisi, nodüler rejenerasyon, megalositozis ve safra durgunluğu gibi spesifik lezyonlar (10, 20, 40, 58, 78), bu çalışmanın bulguları ile büyük ölçüde paralellik göstermiştir.

Safra kesesi epitelindeki hiperplastik lezyonlar, daha önce sığırlarda *S. brasiliensis*, *S. oxyphyllus* (9) ve *S. lautus* (64) toksikasyonlarında bildirilmiştir. Anılan bulgular, sunulan çalışmada da *HD* ve *SV* gruplarında saptanmıştır. Safra kesesi epitelindeki değişimlerin, metabolitlerin toksik etkileri ile oluştuğu ileri sürülmüştür (9).

Sunulan çalışmada *HC* ve *SV* gruplarında akciğer arteriollerinin kontrol grubuna göre önemli derecede kalınlaştığı ortaya konmuştur. Buna karşın *HD* ve *SV* grubundaki ölen hayvanlarda akciğer arteriollerinde muskuler hipertrofinin şekillenmemesi, bu grup hayvanların yaşam sürelerinin daha kısa olmasıyla açıklanabilir. Akciğerdeki toksik etkileri yönünden değerlendirilen 62 alkaloidten, sıçanlarda karaciğer lezyonları oluşturan alkaloidlerin büyük bir çoğunluğunun yüksek dozlarda olmak şartıyla, akciğerlerde arterioller muskuler hipertrofi oluşumuna öncülük ettiği bildirilmiştir (4, 75). Bu çalışmanın bulgularına paralel şekilde, *H. europaeum* (%10 oranında, 24 hafta) ve *H. circinatum* (% 10, 20 hafta)

bitkilerinin tüketimi ile sıçanların akciğer arteriollerinde medial hipertrofinin şekillendiği kaydedilmiştir (26, 28, 89). Bununla birlikte, akciğer için toksik özelliği en iyi bilinen alkaloit monocrotaline'dir (4, 38). Sıçanlara tek doz olarak monocrotaline enjekte edildikten iki hafta sonra, metabolitlere bağlı olarak, arteriollerde kas hipertrofisinin geliştiği bildirilmiştir (38). Buradaki medial hipertrofinin, kapillar damar endotel hücrelerinin zedelenmesi sonucu şekillenen tromboz ve fibrozis sonrasında, lümenin daralmasına bağlı olarak oluştuğu ileri sürülmüştür. Akciğerdeki medial hipertrofinin oluşumunda bitki ya da alkaloit türü kadar, hayvan türünün de etkili olduğu bildirilmiştir (4). Nitekim birçok hayvan türü (sıçan, köpek, kurbağa, hindi, domuz, koyun, at ve primat) PA'lerinin pnömotoksik etkilerine duyarlı iken, fare, bildircin ve tavşanların söz konusu etkilere dirençli olduğu vurgulanmış (55), sığırlarda doğal ve deneysel PA toksikasyonlarında arteriol değişimlerine ilişkin herhangi bir değerlendirmeye rastlanmamıştır. Sunulan bu çalışma ile toksikasyonun daha kronik seyrettiği *SV* ve *HC* gruplarında saptanan akciğerde arteriollerdeki medial hipertrofi ilk kez ortaya konmuş olup, bu bulgunun kronik seyirli doğal toksikasyonların teşhisinde diğer bulguları destekler nitelikte olduğu kanısına varılmıştır. Akciğerlerde saptanan diğer lezyonların (alveolar amfizem, plörada kalınlaşma, arteriol duvarında kalınlaşma, interlobüler bağ doku artışı) tümü birlikte değerlendirildiğinde; bunların *SV* grubunda daha belirgin olarak şekillendiği görülmüştür. Buna göre, *SV* bitkisindeki alkaloitlerin, *HC*'ye göre daha belirgin olarak akciğer lezyonları oluşturduğu saptanmıştır. *HD* grubundaki hayvanlarda akciğerde şekillenen lezyonların şiddet ve dağılımı daha az olmakla birlikte, diğer deneme gruplarından daha kısa süre yaşadıkları ve daha az alkaloit tükettikleri

için, bu konuda tam bir değerlendirme yapılamamıştır. Bununla birlikte; *HD* grubunda ölüm görülen üç buzağıda gözlenen akciğerdeki ödem ve konjesyon, bu grupta sağ kalan hayvanda ve diğer deneme gruplarında şekillenen fibrotik değişimlerin başlangıç dönemindeki bulgular olarak değerlendirilebilir.

Başta monocrotaline olmak üzere, kimi PA'lerinin akciğer lezyonlarına bağlı olarak kalpte de kimi değişimlere öncülük ettiği bilinmektedir (3, 38, 50). Sıçan ve maymunlarda monocrotaline ile yapılan çalışmalar, kalpteki sağ ventriküler hipertrofinin, pulmoner hipertansiyonun (akciğer arteriol lümenlerinin daralmasına bağlı) bir neticesi olarak şekillendiğini göstermiştir (34, 47). Ventriküler hipertrofinin yanı sıra, histolojik olarak kalp kasında dejenerasyon, fokal lenfosit infiltrasyonları ve endokardial fibrozisin şekillendiği vurgulanmıştır (18, 34, 38, 50). Sunulan çalışmada; saptanan endokardial fibrozis, interstisyel ödem, hemoraji ve mononükleer hücre infiltrasyonu kalpteki belli başlı ekstrahepatik bulgular olmuştur. Anılan bulgular, özellikle *SV* grubunda ve *HD* grubuna ait ölümün şekillenmediği (9300 nolu) hayvanda, oldukça belirgin olarak ortaya konmuştur. Buna karşılık, deneme süresi içerisinde ölen hayvanlarda ise bu bulguların hafif şiddette olduğu görülmüştür. Bu farklılık sığırlarda uzun süreli toksikasyonlarda ekstrahepatik lezyonların daha şiddetli geliştiğinin bir göstergesi olarak değerlendirilebilir.

Bu çalışmada saptanan böbrek tubulus epitellerindeki nekrotik ve dejeneratif değişimler ile tubüler megalositozis, hiyalin silindirleri, arteriol duvarında kalınlaşma ve interstisyel nefritis de pirolük metabolitlerin etkisi sonucu şekillenen ekstrahepatik böbrek lezyonları olarak değerlendirilmiştir. Anılan değişimler alkaloidlerin dozuna ve maruz kalma süresine bağlı olarak önemli

ölçüde farklılık gösterebilir. Nitekim *H. dolosum* ile fare ve etlik piliçlerde ve *H. circinatum* ile sıçanlarda yapılan çalışmalarda, böbrek megalositozisi doza bağlı olarak %10'luk gruplarda en belirgin, %5'lik gruplarda ise daha az, %1'lik gruplarda en hafif veya ihmal edilebilir düzeyde olduğu kaydedilmiştir (26, 28, 30). Sıçanların kronik monocrotaline toksikasyonlarında bildirilen; glomerular nekroz, kapillar tromboz, epitel hücrelerinde ve mezangial hücrelerinde dejenerasyon (4, 38) bulgularına bu çalışmada rastlanmamış olup, bunların sadece monocrotaline'ye özgü değişimler olduğu bu çalışma ile teyit edilmiştir. Buna karşılık; proksimal tubuluslardaki dejeneratif ve nekrotik değişimler ile megalositozis, atlarda *C. retusa*, koyunlarda *S. jacobaea* (4), sığırlarda *S. selloi* (67), *S. lautus* (64, 91), *H. amplexicaule* (48) ve *H. europaeum* (56) toksikasyonları ile laboratuvar hayvanlarında *S. jacobaea* (16, 59) ve *H. europaeum* (89) ile yapılan çalışmalarda da bildirilmiştir.

Böbrek arteriollerindeki kalınlaşma daha önce sığırlarda PA toksikasyonlarında bildirilmemiş bir bulgudur. Buna karşılık, laboratuvar hayvanlarında yüksek dozlarda ve uzun süreli monocrotaline toksikasyonlarında diğer böbrek lezyonları ile birlikte, interlobuler arterlerde ve afferent arteriol duvarında kalınlaşmanın şekillendiği bildirilmiştir (4, 38). Böbrek arteriol duvarındaki kalınlaşma, genel dolaşımdaki arterioller hipertansiyonun sonucunda ya da karaciğerden yavaş olarak kan dolaşımına karışan metabolitlerin böbrek arteriol endotellerinde oluşturduğu etkilerin bir yansıması olarak değerlendirilebilir. Deneme gruplarında saptanan irinsiz fokal interstisyel nefritis de, daha önce sıçanlarda *H. circinatum* (26), bildircin ve etlik piliçlerde *H.*

dolosum (28, 29), sığırlarda ise *S. laetus* (49) ile oluşturulan toksikasyonlarda bildirilmiştir.

Sunulan çalışmada, bağırsak ve abomazumda ödem dışında dikkate değer bir mikroskobik bulgu gözlenmemiştir. Buna karşın, intraruminal 15-20 mg/kg dozunda lasiocarpine verilen kuzuların bağırsaklarında; villöz atrofi, kript epitel hücrelerinde mitotik düzensizlikler ve sinsityal hücre oluşumlarının şekillendiği bildirilmiştir (4). Bu lezyonların buzağılarda gözlenmemiş olması; tür, doz ve alkaloitlerin içeriği gibi farklılıklar ile açıklanabilir.

PCNA (Siklin)'nın hücre siklusu sırasında ortaya çıkan, normal proliferasyon gösteren hücreler ile tümörlerde sentez edilen ve sentez hızı, hücrelerin proliferasyon hızı ile doğru orantılı olan bir proteindir (68). Sunulan çalışmada da PCNA'nın bu özelliğinden faydalanarak, tüm gruplarda karaciğerde hepatositlere ve safra kanalı epiteline ait mitotik indeksler hesaplanmıştır. PA'lerinin karaciğerde antimitotik etkilerini ortaya koymak amacıyla, atlarda *Cynoglossum officinale* toksikasyonlarında PCNA (82), sıçanlarda ise colchicine kullanılmıştır (70, 72). Atlarda 14 gün süren *Cynoglossum officinale* toksikasyonunda hepatositlerdeki mitotik indeks bakımından kontrol ve deneme grupları arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır (82). Sıçanlara, 0.8 mmol/kg dozda intraperitoneal dehydroheliotridine enjeksiyonu ile mitotik giren hücre sayısının kontrole göre 22 kat azaldığı bildirilmiştir (72). Bu çalışmada, *HD* grubunda en şiddetli olmak üzere tüm deneme gruplarında, kontrol grubuna göre hepatosit mitotik indeksinin önemli oranda azaldığı saptanmıştır. Kontrol grubuna göre mitotik indeks *HD* grubunda % 81, *HC* grubunda % 44 ve *SV* grubunda % 54

oranında azaldığı tespit edilmiş, PA toksikasyonlarında PCNA tekniği ile mitotik indeksin baskılandığı ilk kez bu çalışma ile ortaya konmuştur.

Atlarda PA toksikasyonlarında total billuribin, ALP, total protein, albumin ve serbest bilirubin düzeyleri karaciğer hasarının belirlenmesinde kullanılan önemli birer parametre olarak açıklanmış (52), AST düzeyindeki değişimlerin ise karaciğer hasarında iyi bir gösterge olmadığı belirtilmiştir (43, 44, 52). Çalışmada *HD* grubunda kontrol grubuna göre karaciğer enzimlerinden sadece AST (2. haftada) ile GGT (6. haftada) düzeylerinde, istatistiksel olarak önemli artışların şekillendiği saptanmıştır. Sığırlarda *S. riddelli* (44), *S. longilobulus* (43) ve *S. lautus* (91) toksikasyonlarında AST ve GGT enzim düzeylerinde artışın şekillendiği kaydedilmiştir. AST düzeyindeki yükselmenin karaciğer hasarını belirlediği, GGT düzeyindeki artışın ise karaciğer hasarından sonra şekillenen safra durgunluğunu ifade ettiği vurgulanmıştır (91). Sunulan çalışmada da *HD* grubunda 4. haftada serbest bilirubin düzeyindeki yükselme, 6. haftada GGT enzim düzeyindeki artışın safra durgunluğuna bağlı şekillendiğini destekler niteliktedir. Doğal *S. lautus* toksikasyonunda ise, 23 sığırdan ikisinde sadece glutamat dehidrojenaz enziminde artışların şekillendiği saptanmış, karaciğer ve bilier hasara bakılarak, serum enzim düzeylerinin tutarlılık göstermediği vurgulanmıştır (64).

Sığırlarda *S. lautus* (49), *S. jacobaea* (17) ve *H. europaeum* (35) toksikasyonlarında hipoalbuminemi kaydedilmiştir. Sunulan çalışmada, serum albumin düzeylerinde 6.ve 8. haftalarda kontrol grubuna göre *SV* grubunda azalma gözlenmiş, klinik, makroskobik ve karaciğerdeki mikroskobik değişimlerin en şiddetli olduğu *HD* grubunda ise albumin düzeyinde kontrol grubuna göre bir

farklılık saptanmamıştır. Çalışmada gerek albumin düzeyi gerekse AST, GGT enzimleri ile serbest bilirubin düzeylerinde saptanan farklılıkların PA toksikasyonlarının teşhisinde kullanılamayacak kadar değişken olduğu gözlenmiş, ancak toksikasyonların prognozunda faydalı bir gösterge olarak kullanılabileceği kanaatine varılmıştır.

On iki, hafta süresince deneme gruplarındaki buzağların serum bakır düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir artışın şekillenmediği saptanmıştır. Normal düzeyde bakır içeren rasyonlarla beslenen koyunlarda *H. europaeum* (37, 73), sıçanlarda *lasiocarpine* ve *heliotrine* toksikasyonlarında (4), karaciğer bakır düzeylerinin alkaloit dozuna ve uygulama süresine paralel olarak arttığı tespit edilmiştir. *H. europaeum* ve *H. ovalifolium* ile koyunlarda yapılan çalışmalarda ise bakır düzeylerinde değişim görülmemekle birlikte, hemolitik krizin şekillendiği bildirilmiştir (1, 51). Çalışmada serum bakır düzeylerinin değişmemesi, alkaloit dozu, denemenin süresi ve hayvan türünün farklı olması ile açıklanabilir.

Sunulan çalışmada *HD* ve *SV* gruplarında ölen hayvanlarda gerek klinik muayeneler ile gerekse de makroskobik ve mikroskobik muayenelerde, sarılık dikkati çeken bir bulgu olmuştur. Daha önceki çalışmalarda da sığırlarda *S. longilobulus* (43), *S. lautus* (64), *H. amplexicuale* (48) ve *H. europaeum* toksikasyonlarında, koyunlarda ise *Echium plantinegium* (71) ve *H. europaeum* (73) toksikasyonlarında da sarılığın şekillendiği bildirilmiştir. Koyunlarda şekillenen sarılığın hem bakır birikimine bağlı hemolitik, hem de hepatotoksik karakterde bir sarılık olduğu vurgulanmıştır (73). Bu çalışmada ise makroskobik ve mikroskobik olarak hemolize ilgili bulgular saptanmadığı gibi, serum bakır

düzeylerinde de gruplar arasında her hangi bir farklılık saptanmamış, gözlenen sarılığın hepatotoksik karakterli olduğu anlaşılmıştır.

Deneme grupları arasında klinik, makroskopik ve mikroskopik bulgular karşılaştırıldığında, buzağların en fazla *HD*, daha sonra *SV* ve daha az olarak da *HC* toksikasyonlarına duyarlı olduğu saptanmıştır. Denemede saptanan klinik, nekropsi ve histopatolojik bulgular daha önceden sığırlarda bildirilmiş kronik tabiatlı, doğal veya deneysel *Senecio* (6, 17, 24, 56, 62) ve *Heliotropium* (33, 35, 48, 78) türlerine ilgili toksikasyonlar ile büyük ölçüde benzerlik göstermiştir.

Sonuç olarak bu çalışma ile *H. dosum*, *S. vernalis* ve *H. circinatum* bitkilerinin, belirtilen dozlarda spesifik karaciğer lezyonlarının yanı sıra, başta akciğer olmak üzere beyin, böbrek ve kalpte, oldukça önemli değişimlerin şekillendiği, bu bulguların tanıda destekleyici rol oynayabileceği ve karaciğer enzimlerinin sadece prognoz bakımından önemli olabileceği, PCNA yönteminin doğal olguların tanısında yararlı olabileceği, elektron mikroskopik olarak ise intranükleer inklüzyon cisimciklerinin genişleyen sitoplazmanın nüklear porlardan invaginasyonu sonucu oluştuğu saptanmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. Abu Damir H, Adam SET, Tartaur G. (1982). The effects of *Heliotropium ovalifolium* on goats and sheep. Br Vet J 138: 463-472.
2. Afzelius BA, Scholental R. (1967). The ultrastructure of the enlarged hepatocyte induced in rats with a single oral dose of retrorsine, a pyrrolizidine (*Senecio*) alkaloid. J Ultrastructure Research 20, 328-345.
3. Allen JR, Carstens LA, Olson BE. (1967). Veno-occlusive disease in *Macaca speciosa* monkeys. Am J Pathol 50: 653-667.
4. Anonim. (1988). IPCS International Program of Chemical Society: Criteria 80, Pyrrolizidine alkaloids, Word Health Organisation, Geneva.
Eriřim (www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc080.htm) Eriřim Tarihi: 22.01.2005.
5. Anonim. (2001). ANZFA Pyrrolizidine alkaloids in food. A Toxicological Review and Risk Assessment Technical Report Series No:2.
Eriřim (<http://www.foodstandards.gov.au/srcfiles/TR2.pdf>) Eriřim Tarihi: 22.01.2005.
6. Araya O, Fuenetalba I. (1990). Chronic hepato-toxicity of *Senecio erraticus* in calves from two 50-day feeding periods in consecutive years. Vet Hum Toxicol 32; 555-557.
7. Baker DC, Pfister JA, Molyneux R J, Kechele P. (1991). *Cynoglossum officinale* toxicity in calves. J Comp Pathol 104: 403-410.
8. Bancroft JD, Stevens A. (1990). Theory and practise of histological techniques. Third Edition. Churchill, Livingstone, Edinburg, London, Melbourne and New York. Sayfa: 112-147, 245-269, 509-596.
9. Barros CSL, Driemeier D, Pilati C, Barros SS and Castilhas LML. (1992). *Senecio spp.* poisoning in cattle in Southern Brasil. Vet. Hum Toxicol 34; 241-246.
10. Braun U, Linggi T, Pospishil A. (1999). Ultrasonographic findings in three cows with chronic ragwort (*Senecio alpinus*) poisoning. Vet Rec. 144: 122-126.
11. Birecka H, Frohlich MW, Hull L, Chaskes MJ. (1980) Pyrrolizidine alkaloids of *Heliotropium* from Mexico and adjacent USA. Phytochemistry 19: 421-426.
12. Bull LB. (1955). The histologic evidence of liver damage from pyrrolizidine alkaloids. Aust Vet J 31; 33-42.
13. Bull LB, Dick AT. (1959) The chronic pathological effects on the liver of the rat of the pyrrolizidine alkaloids heliotrine, lasiocarpine, and their *N*-oxides. J Pathol. Bacteriol 78: 483-502.
14. Cheeke PR. (1994). A review of the functional and evolutionary roles of the liver in the detoxification of poisonous plants, with special reference to pyrrolizidine alkaloids. Vet Hum Toxicol 36: 240-247.
15. Cheeke PR, Garman GR. (1988). Toxicity and metabolism of pyrrolizidine alkaloids. J Anim Sci 66: 2343-2350.
16. Cheeke PR, Pierson-Goeger ML. (1983). Toxicity of *Senecio jacobaea* and pyrrolizidine alkaloids in various laboratory animals and avian species. Toxicol Lett 18: 343-349.

17. Cheeke PR, Schmitz JA, Lassen ED, Pearson EG (1985). Effects of dietary supplementation with etoxyquin, magnesium oxide, methionine hydroxy analog; and B vitamins on tansy ragwort (*Senecio jacobaea*) toxicosis in beef cattle. Am J Vet Res 46: 2179-2183.
18. Chesney CF, Allen JR. (1973b). Endocardial fibrosis associated with monocrotaline induced pulmonary hypertension in non-human primates (*Macaca arctoides*). Am J Vet Res 34: 1577-1581.
19. Coulombe R A, Jr Drew GL, Stermitz FR. (1999). Pyrrolizidine alkaloids cross-link DNA with actin. Toxicol Appl Pharmacol 154: 198-202
20. Craig AM, Pearson EG, Meyer C, Schmitz JAM. (1991). Serum liver enzyme and histopathologic changes in calves with chronic and chronic delayed *Senecio jacobaea* toxicosis. Am J Vet Res 52: 1969-1978.
21. Creeper JH, JubbTF, Colegate SM. (1999) Pyrrolizidine alkaloid poisoning of horses grazing a native heliotrope (*Heliotropium ovalifolium*). Aust Vet J 77:401-402.
22. Davis PH. (1978). Flora of Turkey. Edinburg Universty Press. 5-6; 248-255, 145-167.
23. DeLeve DL, Shulman MH, McDonald BG. (2002). Toxic injury to hepatic sinusoids: sinusoidal obstruction syndrome (Veno-Occlusive Disease). Semin Liver Dis. 22: 27-42.
24. Dickinson JO, Cooke MP, King RR, Mohamed PA. (1976). Milk transfer of pyrrolizidine alkaloids in cattle. JAVMA 169: 1192-1196.
25. Donald LG, Shanks PL. (1956). Ragwort poisoning from silage. Br Vet J. 307-311.
26. Eröksüz H, Eröksüz Y, Özer H, Ceribasi AO, Tosun F, Kızılay Akyüz Ç, Tamer U. (2003). Toxicity of dietary *Heliotropium circinatum* to rats. Vet Hum Toxicol 45: 198-201.
27. Eröksüz H, Eröksüz Y, Özer H, Yaman I, Tosun F, Kızılay Akyüz Ç, Tamer U. (2003). Toxicity of *Senecio vernalis* to laying hens and evaluation of residues in eggs. Vet Hum Toxicol 45: 76-80.
28. Eröksüz Y, Eröksüz H, Özer H, Canatan H, Yaman I, Çevik A. (2001). Toxicity of dietary *Heliotropium dolosum* seed to broiler chickens. Vet Hum Toxicol 43: 334-338.
29. Eröksüz Y, Eröksüz H, Özer H, İlhan N, Çevik A, Yaman I, Ceribasi AO. (2002). Toxicity of dietary *Heliotropium dolosum* seed to Japanese quail. Vet Hum Toxicol 44: 264-268.
30. Eröksüz Y, Eröksüz H, Özer H, Şener B, Tosun F, Akyüz Ç. (2001). Toxicity of dietary *Heliotropium dolosum* seed to mice. Vet Hum Toxicol 43: 152-155.
31. Geoger DE, Cheeke PR, Schmitz JA, Buhler DR. (1982). Effect of feeding milk from goats fed tansy ragwort (*Senecio jacobaea*) to rats in calves. Am J Vet Res 43: 1631-1633.
32. Güley M. (1961). *Senecio*'lar hakkında. Türk Vet Hek Dern Der 180: 409-420.
33. Harper PAW, Walker KH, Krahenbuhl RE, Christie BM. (1985). Pyrrolizidine alkaloids poisoning in calves due to contamination of straw by *Heliotropium europaeum*. Aust Vet J 62: 382-383.
34. Hayashi Y, Lalich JJ. (1967) Renal and pulmonary alterations induced by a single injection of monocrotaline. Proc Soc Exp Biol Med 124: 392-396.

35. Hill BD, Gaul KL, Noble JW. (1997) Poisoning of feedlot cattle by seeds of *Heliotropium europaeum*. Aust Vet J 75: 360-361.
36. Hippchen VC, Entzeroth R, Röder E, Greuel E. (1986). Experimentelle untersuchungen zur lebertoxizität von *Senecio* alkaloiden aus *Senecio vernalis* an Ziegen. Der Prakt Tierarzt 4: 322-324.
37. Howell McCJ, Deol HS, Dorling PR, Thomas JB. (1991). Experimental copper and *Heliotropium* intoxication in sheep: Morphological changes. J Comp Path 105: 49-74.
38. Huxtable RJ. (1990). Activation and pulmonary toxicity of pyrrolizidine alkaloids. Pharmacol Ther 47: 371-389.
39. Jago MV. (1969) The development of the hepatic megalocytosis of chronic pyrrolizidine alkaloid poisoning. Am J Pathol 56: 405-422.
40. Johnson AE. (1976). Changes in calves and rats consuming milk from cows fed chronic lethal doses of *Senecio jacobaea* (tansy ragwort). Am J Vet Res 37: 107-110.
41. Johnson AE. (1978). Tolerance of cattle to tansy ragwort (*Senecio jacobaea*). Am J Vet Res 39: 1542-1544.
42. Johnson AE. (1979). Toxicity of tansy ragwort to cattle. In: Symposium on pyrrolizidine (*Senecio*) alkaloids: Toxicity, metabolism and poisonous plant control measures, P. R. Cheeke (Ed) pp.129-134. Nutrition Research Institute, Oregon State University, Corvallis, OR.
43. Johnson AE, Molyneux RJ. (1984). Toxicity of threadleaf groundsel (*Senecio douglassii* var. *longilobus*) to cattle. Am J Vet Res 45: 26-32.
44. Johnson AE, Molyneux RJ, Stuart LD. (1985b). Toxicity of riddell's groundsel (*Senecio riddellii*) to cattle. Am J Vet Res 46: 577-582.
45. Johnson AE, Smart RA. (1983). Effects on cattle and their calves of tansy ragwort (*Senecio jacobaea*) fed in early gestation. Am J Vet Res 44: 1215-1219.
46. Jones RT, Drummond GR, Chatham RO. (1981). *Heliotropium europaeum* poisoning of pigs. Aust Vet J 57: 396.
47. Kay JM, Gillund TD, Heath D. (1967b) Mast cells in the lungs of rats fed on *Crotalaria spectabilis* seeds. Am J Pathol 51: 1031-1044.
48. Ketterer PJ, Glover PE, Smith LW. (1987). Blue heliotrope (*Heliotropium amplexicaule*) poisoning in cattle. Aust Vet J 64: 115-117.
49. Kirkland PD, Moore RE, Walker KH, Seaman JT, Dunn SE. (1982). Deaths in cattle associated with *Senecio luteus* consumption. Aust Vet J 59: 64.
50. Lalich JJ, Ehrhart LA. (1962). Monocrotaline induced pulmonary arteritis in rats. J Atheroscler Res 2: 482-492.
51. Lanigan LW, Whitten JH. (1970). Cobalt pellets and *Heliotropium europaeum* poisoning in penned sheep. Aust Vet J 46: 17-21.
52. Lessard P, Wilson WD, Olander HJ, Rogers QR, Mendel VE. (1986). Clinicopathologic study of horses surviving pyrrolizidine alkaloid (*Senecio vulgaris*) toxicosis. Am J Vet Res 47: 1776-1780.

53. Mattocks AR. (1968). Toxicity of pyrrolizidine alkaloids. *Nature* 217: 723-728.
54. Mattocks AR. (1986). Chemistry and toxicology of pyrrolizidine alkaloids. Academic Press, London, New-York.
55. McLean EK. (1970). The toxic actions of pyrrolizidine (*Senecio*) alkaloids. *Pharmacol Rev* 22: 429-484
56. McLennan MW, Dodson ME, Rac R. (1972). *Heliotropium* poisoning in cattle. *Aust Vet J* 48: 480.
57. Mendez MC, Riet-Correa F. (1993). Intoxication by *Senecio tweediei* in cattle in Southern Brasil. *Vet Hum Toxicol* 35: 55.
58. Milli ÜH, Hazıroğlu R. (1997). Veteriner Patoloji. 1. Cilt, Tamer Matbaacılık Ankara. Sayfa: 151-176, 195-197, 195-204.
59. Miranda CL, Cheeke PR, Schmitz JA, Buhler DR. (1980). Toxicity of *Senecio jacobaea* (Tansy Ragwort) in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 56: 423-442.
60. Molyneux RJ, Johnson E, Olsen JD, Baker DC. (1991). Toxicity of pyrrolizidine alkaloids from Riddell groundsel (*Senecio riddellii*) to cattle. *Am J Vet Res* 52: 146-151.
61. Molyneux RJ, Johnson AE, Stuart L. (1988). Delayed manifestation of *Senecio*-induced pyrrolizidine alkaloidosis in cattle. *Vet Hum Toxicol* 30: 201-205.
62. Mondal DB, Nandakar UA, Mohanty TK, Barari SK, Pal RN, Sarkar M. (1999). Pyrrolizidine alkaloid poisoning in yak. *Vet Rec* 144: 508-509.
63. Murray EF. (1968). Pyrrolizidine alkaloids in calves. *JAVMA* 152: 1131-1137.
64. Noble JW, Crossley JB, Hill BD, Pierce RJ, McKenzie RA, Debritz M, Morley AA. Pyrrolizidine alkaloidosis of cattle associated with *Senecio lautus*. *Aust Vet J* 71: 196-200.
65. Nolan JP, Scheig RL, Klatskin G. (1966). Delayed hepatitis and cirrhosis in weanling rats following a single small dose of the *Senecio* alkaloid, lasiocarpine. *Am J Pathol* 49: 129-151.
66. Noorwala M, Mohammed FV, Ahmad VU, Sener B, Ergun F, Deliorman D. (2000). Pyrrolizidine alkaloids from *Senecio lorenthii*. *Fitoterapia* 71: 618-620.
67. Odriozola E, Compero C, Casaro A, Lopez T, Olivieriz G, Melucci O. (1994). Pyrrolizidine alkaloidosis in Argentina cattle caused by *Senecio selloi*. *Vet Hum Toxicol* 36: 205-208.
68. Özercan İH. (1996) Prostatın benign hiperplazileri ile adenokarsinomlarının tanı ve ayırıcı tanısında Agnor ve PCNA'nın yeri. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Elazığ.
69. Peter PF, Qingsu X, Ge L, Ming WC. (2004). Pyrrolizidine alkaloids-genotoxicity, metabolism enzymes, metabolic activation, and mechanisms. *Drug Metab Rev* 36: 1-55.
70. Peterson JE. (1965) Effects of pyrrolizidine alkaloid lasiocarpine *N* -oxide on nuclear and cell division in the liver of rats. *J Pathol Bacteriol* 89: 153-171.
71. Peterson JE, Jago MV. (1984). Toxicity of *Echium plantigenium* (Paterson's Curse) pyrrolizidine alkaloid poisoning in rats. *Aust J Agric Res* 37: 305-315.
72. Peterson JE, Samuel A, Jago MV. (1972). Pathological effects of dehydroheliotridine, a metabolite of heliotridine- based pyrrolizidine alkaloids, in young rats. *J Pathol* 107: 171-186.

73. Peterson JE, Payne A, Culvenor CC. (1992). *Heliotropium europaeum* poisoning of sheep with low liver copper concentrations and the preventive efficacy of cobalt and antimethanogen. Aust Vet J 69: 51-56.
74. Prakash AS, Pereira TN, Reilly PEB, Seawright AA (1999). Pyrrolizidine alkaloids in human diet. Mut Res 443:53-67.
75. Röder E. (1995). Medicinal plants in Europe containing pyrrolizidine alkaloids. Pharmazie 50: 83-98.
76. Schoental R, Magee PN. (1959). Further observations on the subacute and chronic liver changes in rats after a single dose of various pyrrolizidine (*Senecio*) alkaloids. J Pathol Bacteriol 78: 471-483.
77. Seawright AA, Kelly WR, Hrdlicka J, McMahan P, Mattocks AR, Jukes R. (1991). Pyrrolizidine alkaloidosis in cattle due to *Senecio* species in Australia. Vet Rec 129: 198-199.
78. Shlosberg A, Egyed MN, Nobel TA, Klopfer U, Perl S, Yakobson B, Abrahamson M, Weinberg H. (1982). First cases in Israel of chronic poisoning in calves caused by ingestion of *Heliotropium europaeum* 1. Epidemiological investigations. Ref Vet J 39: 63-64.
79. Skaanild MT, Friss C, Brimer L. (2001). Interplant alkaloid variation and *Senecio vernalis* toxicity in cattle. Vet Hum Toxicol 43: 147-151.
80. Snedecor GW, Cochran G. (1980). Statistical Methods, 6th Ed. Iowa State University Pres, Ames, Iowa. Sayfa: 507-508.
81. Stegelmeier BL, Edgar JA, Colegate SM, Gardner DR, Schoch TK, Coulombe RA, Molyneux R J. (1999). Pyrrolizidine alkaloid plants, metabolism and toxicity. J Nat Toxins 8: 95-115.
82. Stegelmeier BL, Gardner DL, James LF. (1996). Pyrrole detection and pathologic progression of *Cynoglossum officinale* (houndstongue) poisoning in horse. J Vet Diagn Invest 8: 81-90.
83. Stewart MJ, Steenkamp V. (2001). Pyrrolizidine poisoning: A neglected area in human toxicology. Therap Drug Mon 23: 698- 708.
84. Swick RA, Miranda CL, Cheeke PR, Butler DR. (1982 c). The effect of consumption of the pyrrolizidine alkaloid-containing plant *Senecio jacobaea* on iron and copper metabolism in the rat. J Toxicol Environ Health 10: 757
85. Şener B, Ergun F, Küsmenoğlu Ş. (1995) Pyrrolizidine alkaloids of some *Senecio* species growing in Turkey. J Fac Pharm Gazi 12: 113-116.
86. Şener B, Küsmenoğlu Ş, Ergun F, Karakaya AE. (1986). Pharmacognosic and toxicological researches on *Senecio* species in inner and east Anatolia. J Fac Pharm Gazi 3: 105-109
87. Tandon HD, Tandon BN, Mattocks AR. (1978). An epidemic of veno-occlusive disease of the liver in Afghanistan: Pathologic features. Am J Gastroenterol 70: 607-613.
88. Thorpe E, Ford EJ. (1968). Development of hepatic lesions in calves fed with ragwort (*Senecio jacobaea*). J Comp Pathol 78: 195-205.
89. Ünver Ö. (2004). Ratlarda diyetel *Heliotropium europaeum* toksikasyonu üzerine patolojik incelemeler. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Elazığ.

90. vanWeren PR, Morales JA, Rodriguez LL, Cedeno H, Villalobos J, Poveda LJ. (1999). Mortality supposedly due to intoxication by pyrrolizidine alkaloids from *Heliotropium indicum* in a horse population in Costa Rica: A case report. Vet Quarter 21: 59-62.
91. Walker KH, Kirkland PH. (1981). *Senecio laetus* toxicity in cattle. Aust Vet J 57: 1-7.

8. ÖZGEÇMİŞ

Ankara 1976 doğumluyum. İlk ve orta öğrenimimi Ankara’da tamamladım. Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesine 1994 yılında girerek, 1999 yılında mezun oldum. Aynı yılın Eylül ayında Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Programı, Patoloji Anabilim Dalının açmış olduğu doktora programına kabul edildim. Aralık 2000’de ise aynı Anabilim Dalına Araştırma Görevlisi olarak atandım. Halen Patoloji Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.