Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences
21 (1997) 167-178
© TÜBİTAK

Koyunlarda Deneysel Pıtrak Otu (*Xanthium strumarium* L. subsp. *cavanillesii*-Cocklebur) Toksikasyonu Üzerine Patolojik ve Biyokimyasal Araştırmalar*

Erkan KARADAŞ, İhsan YAMAN
Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Elazığ-TÜRKİYE
Necmi ÖZDEMİR
Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi : 10 / 4 / 1996

Özet : Deneysel olarak, pıtrak otu toksikasyonu Akkaraman toklularda oluşturuldu. Çalışmada 14-15 aylık, 16 adet erkek toklu (4'erli 4 grup) kullanıldı. *Xanthium strumarium* L.subsp. *cavanillesii*'nin 1-3 yapraklı filizleri, kg'ında 300 gr arpa kırması bulunan saman içine % 0 (I. grup-kontrol grubu); % 40 (II. grup); % 60 (III. grup) ve % 80 (IV. grup) oranlarında ilave edildi. Hayvan başına 2.200 (kg/gün) olarak verilen rasyon ile yedirme denemesine 10 hafta devam edildi ve deneme gruplarında total ölüm oranı % 25 olarak hesaplandı. İkinci grup hayvanlarda klinik, morfolojik ve biyokimyasal kayda değer bir bulgu saptanmadı. Toksik etkinin görüldüğü III ve IV. grup hayvanlarda ise klinik olarak; aşırı terleme ile birlikte tüylerdeki koyu sarımtrak-kahverengi görünüm, total canlı ağırlık artışındaki yavaşlama ve diş gıcırdatma en önemli bulgulardı. Nekropside; asites, safra ve sidik kesesinde dolgunluk ve duvarlarında ödem, pankreas, dalak ve karaciğerde yaygın fibrin kitleleri ayrıca, karaciğerde loblarda yapışmalar, sentrilobüler yapılaşma ve ligamentum hepatogastrikumda şiddetli ödem ile testislerde bilateral, ödematöz bir görünüm ve yumuşak, gevşek kıvamlı bir yapı (testiküler dejenerasyon) saptanan başlıca makroskobik bulgular idi. Mikroskobik olarak da makroskobik lezyonları yansıtan bulgular gözlendi. Biyokimyasal olarak; hipoglisemi ($P<0.001$) ile birlikte serum glutamic oxalacetic transaminase, serum glutamic pyruvic transaminase, alkaline phosphatase, isositric dehydrogenase ve gamma glutamyl transpeptitase enzim düzeylerinde belirgin yükselmeler ($P<0.001$), total protein ve albumin düzeylerinde ise belirgin azalmalar ($P<0.001$) en önemli bulgulardı. Toksikolojik olarak; bitkinin filizleri ile deneme grubu hayvanların doku ve idrar örneklerinde etkin toksik maddenin (carboxyatractyloside) varlığı R_f = 0.6'da kalitatif olarak ortaya konuldu.

Anahtar Sözcükler: Pıtrak Otu, Akkaraman Toklu, Morfoloji

Pathological and Biochemical Studies on Experimental Poisoning of Sheep By Cocklebur (*Xanthium strumarium* L.subsp. *cavanillesii*)

Abstract: Cocklebur toxicosis was induced experimentally in Akkaraman lamsb. 14, 15-months-old 16 lambs were divided into 4 groups each consisting of 4 lambs. 1-3 leaves of *Xanthium strumarium* L.subsp. *cavanillesii* shoots were cut into pieces in the size of a straw and mixed with straw containing 300 g/kg crushed barley as follow; 0 % (group I-control group), 40 % (group II), 60 % (group III) and 80 % (group IV). The fresh and daily prepared ration (2200 g/day) was given to each animal for a period of 10 weeks. Total death rate for all trial groups was recorded as 25 %. Although neither considerable clinical nor morphological and biochemical findings were detected in animals in group II, these findings in question were striking in animals in group III and group IV. The most important clinicial findings were reduction in weight gain and the dark-yellowish brown appearence of wool together with excessive perspiration. In addition, steadily gnashing teeth were also noticed.Typical gross lesions were ascites, fullness of gallbladder and urinary bladder and edema of their walls. Widespread fibrin masses were on the surface pancreas, spleen and liver, resulting in adhesion in lobes. Furthermore, intense edema in the ligamentum hepatogastricum and centrilobular accentuation which was most apparent on cut surfaces of the liver were also observed. Enlargement of testicles, bilateral edematous appearence, loose consistency and soft structure were common macroscopic manifestations of testicular degeneration. Microscopic findings were in aggrement with macroscopic lesions. Results of biochemical tests showed a pronounced rise in serum glutamic oxalacetic transaminase, serum glutamic pyruvic transaminase, alkaline phosphatase, isositric dehydrogenase and gamma glutamyl transpeptitase levels ($P<0.001$) along with hypoglycemia ($P<0.001$). There was a prominent drop in total protein and albumin levels ($P<0.001$). The presence of effective toxic substance carboxyatractyloside in plant shoots, tissue and urine samples of experimental animals was demonstrated qualitatively (R_f = 0.6) by toxicologic studies.

Key Words: Cocklebur, Akkaraman Lambs, Morphology

* Bu çalışma TÜBİTAK, VHAG-1035 nolu projeden özetlenmiştir.

Giriş

Değişik türden bitkilerin yetiştiği meralarda toksik içerikli bitkiler de yaygın olarak bulunur ve bu alanlarda otlayan hayvanlar için önemli bir toksikasyon kaynağını oluştururlar. Evcil ve laboratuvar hayvanlarında, toksikasyonlara ve ölümlere neden olan bitkilerden birisi de Asteraceae (Compositae) familyasının. Xanthium cinsine ait türleridir (1-4). Bu bitkiler içinde *Xanthium strumarium*'un çeşitli ülkelerde yaygın olarak yetiştiği bildirilmektedir (1, 2, 4, 5). Bu bitkinin, su baskınlarına uğramış ve suların çekildiği tarla ve meralarda, ayrıca ırmak, çay, dere ve göl yatakları ile baraj gölü havzalarında, nemli topraklarda çok sık olarak yetiştiği kaydedilmiştir (1-4, 6). Evcil hayvanlarda bu bitkinin yeni çıkan 2 yapraklı filizleri ile olgun yapraklarının toksikasyonlara (Cocklebur toksikasyonu) ve ölümlere yol açtığı bildirilmiştir (1, 5-10). Filiz ve tohumlardaki etkin toksik madde sülfatlı bir glikozit olan, carboxyatractyloside (CAT)'dir (9, 11-14).

Yapılan araştırmalarda, bu bitkinin erişkin domuzlar (5, 6, 9), sığırlar (1, 7, 8, 10) ve çeşitli laboratuvar hayvanları (14, 15) için toksik ve öldürücü olduğu kaydedilmiştir. Koyunların ise bu bitkiye daha dayanıklı olduğu bildirildiği halde (16), bu konu üzerinde ayrıntılı bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Ülkemizde ve özellikle Keban Baraj Gölü havzasında bitkinin *Xanthium strumarium* L. subsp. *cavanillesii* alt türü yaygın olarak yetişmektedir (17). Ancak, yapılan literatür taramalarında bu bitkinin doğal olgularda hayvan türleri üzerindeki etkisinin incelenmediği saptanmıştır. Konu ile ilgili sadece farelerde (15) deneysel amaçlı bir çalışmaya rastlanılmıştır. Bu çalışma ile, ülkemizde ilk defa koyunlara *Xanthium strumarium* L. subsp. *cavanillesii* filizleri deneysel olarak verilerek, söz konusu filizlerin hangi oranlarda toksikasyonlara yol açacağının, organ ve dokularda ne gibi morfolojik değişikliklere neden olabileceğinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Ayrıca, oluşan toksikasyonda, biyokimyasal parametrelerdeki değişimler de incelenerek, toksikasyonun teşhisinde bu değişimlerin şüpheleri destekleyici bir role sahip olup olmadıklarının araştırılması da öngörülmüştür.

Materyal ve Metot

Çalışmada, 14-15 aylık, toplam 16 adet erkek Akkaraman toklu kullanıldı. Deneme başlamadan önce bu hayvanlara enterotoksemi aşıları (2 cc. subkutan-SC; 21. gününde de rapelleri, 1cc. SC) ve Blotic ilave edilen havuzda banyoları ile bir gün sonra da antiparaziter ilaç enjeksiyonları (İvomec, 1cc/50 kg, SC; 28. gününde de 2. doz uygulamaları, 1cc. SC) yapıldı. Toklular 4'erli 4 ayrı gruba ayrılıp, 1'den 16'ya kadar kulak numaraları da takıldıktan sonra, dezenfeksiyonu yapılan özel bölmeli padoglara tek tek olmak üzere yerleştirildi. Bütün hayvanlar 15 gün süre ile kg'ında 300 gr arpa kırması bulunan ve sadece kuru samandan oluşan rasyonla beslendi.

Onbeşgünlük adaptasyon döneminden sonra kulak numaraları sırasıyla 1-4 olan hayvanlar I. grup-kontrol grubu; 5-8 no'lu hayvanlar II. grup; 9-12 no'lu hayvanlar III. grup ve 13-16 no'lu hayvanlar da IV. grup olarak gruplandırıldı. Gerek ekimi yapılarak yetiştirilen, gerekse doğal olarak yetiştiği Keban Baraj Gölü havzasından toplanan *Xanthium strumarium* L. subsp. *cavanillesii* (büyük pıtrak otu)* alt türü'nün 1-3 yapraklı filizleri kg'nda 300 gr arpa kırması bulunan saman içine % 0 (I. grup), % 40 (II. grup), % 60 (III. grup) ve % 80 (IV. grup) oranlarında ilave edildi. Tokluların 1-günlük normal tüketebilecekleri total rasyon miktarı (hayvan başına 2.200 kg/gün) dikkate alınarak (18) yemlemelere özen gösterildi. Su adlibitum olarak sağlandı. Deneme 10 hafta boyunca devam etti. Haftada bir olmak üzere, bütün gruplardaki hayvanların total canlı ağırlıkları ile tüketilen total yem miktarları tartılarak kaydedildi. Yedirme denemesi süresince klinik belirtiler gösteren hayvanların sistemik genel klinik muayeneleri (rumen hareketi, solunum ve nabız frekansları ile rektal vücut ısısı) yapıldı. Ölen ve deneme sonunda kesilen hayvanlarda antemortem olarak rumenden alınan içeriğin pH'sı (pH metre ile) ölçüldü. Gerek ölen gerekse denemenin sonunda kesilen hayvanların sistemik nekropsileri yapılarak histopatolojik muayeneler için ön mideler, abomazum, ince ve kalın bağırsaklar, pankreas, karaciğer, dalak, böbrekler, adren, sidik kesesi, akciğerler, kalp kası, lenf düğümleri, timus, tiroid, serebrum ve serebellum ile deriden alınan doku örnekleri % 10'luk tamponlu nötral formalin; testis ve epididiymisden alınan doku örnekleri de Bouin solusyonunda tespit edildi. Rutin işlemlerden geçirildikten sonra parafin blokları hazırlandı. Bu bloklar 5 mikronda kesilerek hematoksilen ve eosin (H.E) ile, gerekli görülenler Prussian Blue Reaction, periodic acid Schiff (PAS), van Gieson, von Kossa, Sudan Black B ve Holzer yöntemlerine göre boyanıp ışık mikroskobunda incelendi (19).

* Bitkinin bu alt türü Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde identifiye edildi.

Biyokimyasal muayeneler için her hayvandan ilk 12, 24, 36 ve 72. saatlerde ve periyodik olarak da, haftada bir olmak üzere, kan alındı ve serumları çıkartıldı. Bu serumlarda, RA-X-1000 otoanalizörde; serum glutamic oxalacetic transaminase-SGOT ve serum glutamic pyruvic transaminase-SGPT (enzimatik ve kolorimetrik olarak), alkaline phosphatase-ALP (kolorimetrik metotla), lactate dehydrogenase-LDH (ultraviolet ve kinetik metodlar ile), isositric dehydrogenase-ISCD ve creatin phospho kinase-CPK (kinetik olarak), gamma glutamyl transpeptitase-GGT (kinetik ve kolorimetrik metodlar ile) enzim düzeyleri ile (20), total protein (biüret metodu ile), albumin (Boya-Bromcresol-Green metodu ile), glikoz (glikoz-oksidaz metodu ile), kolesterol (Leffler metodu ile), sodyum, potasyum (Fleym Fotometrik metot ile), kalsiyum (Kramer-Tisdall metodu ile), fosfor (Fiske ve Subborow'un kolorimetrik metodu ile) ve üre (diasetil monoxime metodu ile) değerleri tayin edildi (21, 22). Ayrıca, ölen veya denemenin sonunda kesilen hayvanların karaciğer, böbrek ve kalp kası doku homojenatlarında SGOT, SGPT, LDH ve SCK enzim düzeyleri saptandı (20).

Toksikolojik analizler için gerek ölen, gerekse denemenin sonunda kesilen hayvanlardan alınan idrar ve doku (karaciğer, böbrek ve kalp kası) örnekleri ile bitkinin filizleri Thin-Layer Chromatography (TLC) yöntemine göre değerlendirildi (12). Karaciğer ve karın boşluğu sıvısından standart bakteriyolojik ekimler yapıldı (23). Kontrol grubu ile deneme grupları arasındaki ikili karşılaştırmalarda, istatistiksel farklılıkların ortaya konulabilmesi için kaydedilen verilerin aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları hesaplandı, "SPSS for Windows Release" programında T-testi uygulandı ve propability (P) değerleri saptandı (24).

Xanthium strumarium L. subsp. *cavanillesii* filizlerinin kaba yem bileşim oranları Weende yöntemine göre yapıldı (25).

Bulgular

Denemenin 3. haftasından itibaren ve en belirgin IV. grupta olmak üzere, deneme gruplarında total yem tüketimlerinde azalma (Tablo 1) ve total canlı ağırlıklarda da yavaşlamalar tespit edildi (Tablo 2). Yedirme denemesi süresince % 80 oranında filiz verilen IV. grupta 28 ve 33. günlerde (1'er adet); % 60 oranında filiz verilen III. grupta da 36. günde (1 adet) olmak üzere toplam 3 hayvanda ölüm şekillendi ve deneme gruplarında total ölüm oranı % 25 olarak hesaplandı.

Xanthium strumarium L. subsp. *cavanillesii* filizlerinin yapılan yem analizinde yüzde olarak; ham protein (13.00), ham yağ (4.20), ham kül (49.00), ham selüloz (9.00), kuru madde (96.50), azotsuz öz madde (21.30) ve su (3.50) değerleri saptandı.

Tablo 1. Yedirme denemesi süresince, gruplarda, haftalara göre, 1-günlük total olarak tüketilen yem miktarlarını gösterir tablo (ortalama değerler, kg).

Gruplar	1. Hafta sonu	2. Hafta sonu	3. Hafta sonu	4. Hafta sonu	5. Hafta sonu	6. Hafta sonu	7. Hafta sonu	8. Hafta sonu	9. Hafta sonu	10. Hafta sonu
I. grup (kontrol)	8.400±2.01	8.400±3.92	8.395±1.92	8.394±2.16	8.400±3.40	8.390±2.00	8.420±3.21	8.416±1.41	8.450±2.27	8.476±1.31
II. grup (% 40)	8.395±1.92[1]	8.390±2.47[1]	8.398±3.08[1]	8.382±2.66[1]	8.396±1.78[1]	7.608±2.82[1]	7.426±1.91[1]	7.803±2.21[1]	7.436±1.56[1]	7.114±2.86[1]
III. grup (% 60)	8.392±2.52[1]	8.390±3.04[1]	8.394±1.97[1]	6.592±0.81[2]	6.354±1.44[2]	6.050±1.96[2]	5.773±1.72[3]	5.408±0.59[3]	4.618±1.07[4]	4.167±0.63[4]
IV. grup (% 80)	8.390±3.24[1]	8.396±2.48[1]	6.430±1.31[2]	6.240±2.30[2]	5.650±1.74[3]	5.405±0.81[3]	5.208±1.04[3]	4.940±0.52[4]	4.672±0.86[4]	4.316±0.78[4]

1 : P>0.05, 2 : P<0.05, 3 : P<0.01, 4 : P<0.001

Tablo 2. Yedirme denemesi süresince, gruplarda, total canlı ağırlık artışları ile deneme sonunda kazanılan (deneme başlangıcına göre) canlı ağırlık artış (%) oranlarını gösterir tablo (ortalama değerler, kg).

Gruplar	Deneme başlangıcı	1. Hafta sonu	2. Hafta sonu	3. Hafta sonu	4. Hafta sonu	5. Hafta sonu	6. Hafta sonu	7. Hafta sonu	8. Hafta sonu	9. Hafta sonu	10. Hafta sonu	% ağırlık artışları
I. grup (kontrol)	35.35±4.28	35.57±4.34	35.67±4.47	35.73±4.88	36.62±5.04	36.84±5.10	37.64±5.00	38.86±5.24	39.48±4.26	40.10±6.26	44.74±7.96	126.20
II. grup (% 40)	35.92±4.52[1]	35.96±4.93[1]	36.03±5.00[1]	36.08±5.24[1]	36.10±5.38[1]	35.78±4.21[1]	34.21±4.33[1]	32.28±3.51[1]	33.04±3.02[1]	34.42±2.71[1]	35.24±4.58[1]	98.10
III. grup (% 60)	36.45±4.08[1]	36.51±4.26[1]	36.14±4.17[1]	35.08±4.08[1]	34.36±4.02[1]	30.26±0.93[2]	29.24±3.24[2]	28.92±4.66[2]	25.62±2.43[4]	22.66±3.52[4]	22.81±3.80[4]	62.57
IV. grup (% 80)	35.62±4.72[1]	35.08±4.58[1]	34.77±4.33[1]	32.44±4.08[1]	25.51±3.48[2]	27.40±2.69[2]	25.15±2.17[3]	24.60±2.43[3]	21.85±3.89[4]	21.08±1.28[4]	19.86±2.66[4]	55.75

1 : P>0.05, 2 : P<0.05, 3 : P<0.01, 4 : P<0.001

Klinik Bulgular

İkinci grup hayvanlarda kaydedilen tek klinik bulgu total canlı ağırlık artışındaki yavaşlama idi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu yavaşlamanın istatistiksel olarak önemsiz (P>0.05) olduğu saptandı (Tablo 2). Üçüncü ve IV. grup ölen ve kesilen hayvanlarda tüm klinik bulgular birbirine benziyordu. Bu grup hayvanlarda tüyleri ıslatacak derecede aşırı terleme, tüylerde koyu, sarımtrak-kahverengi görünüm (Şekil 1) ve total canlı ağırlıklardaki yavaşlama en önemli klinik bulgular idi. Yine bu hayvanlarda önce uyarımlara karşı aşırı duyarlılık ve huzursuzluk, diş gıcırdatma, kulakları dikme, sarmısak kokusunda ve açık berrak renkte bir idrar ile karakterize ürinasyon, daha sonraları ise güçlükle ve ayaklarını açarak yürüme ve sırt bölgesini kavis tarzında kamburlaştırma, karın bölgesine basınç yapıldığında derin, ağrılı ve inlemeli bir sesle meleme dikkati çeken başlıca klinik bulgular idi. Ölümden 5-9 saat önce ise oldukça depresif bir görünümde olan ve güçlükle yürüyebilen bu hayvanların birdenbire sternumları üzerine yere düştükleri, arka ayakları kenarlara açılmış bir biçimde başlarını da yere paralel bir konumda uzattıkları görüldü. Bu hayvanlarda rumen hareketlerinin yavaşladığı, solunum ve nabız frekanslarının belirgin bir biçimde arttığı ve hipoterminin şekillendiği tespit edildi. Ekstremite, dudak ve boyun kaslarında spasmodik kontraksiyonlar ve fasikülasyonlar ile koma ve tonik nöbetler ölümden önce dikkati çeken diğer klinik bulgulardı. Ölen veya denemenin sonunda nekropsisi yapılan deneme grubu hayvanlarda rumen içeriğinin III. ve IV. gruplarda asidik (pH 4.6-4.8); II. grupta ise normal değerde (pH 6.3-6.6) olduğu görüldü.



Şekil 1. Denemenin sonunda, tüylerdeki koyu sarımtrak-kahverengi görünüm, (a: kontrol grubu, b : II. grup, c : III. grup, d : IV. grup).

Morfolojik Bulgular

Makroskobik Bulgular

İkinci gruba ait hayvanlarda dikkat çekmeyecek kadar hafif şiddette veya hiçbir lezyon seçilemedi. Bütün bulgular III ve IV. grup hayvanlarda görüldü. Bu gruplardan ölen 3 hayvan ile denemenin sonunda kesilen hayvanların hepsinde makroskobik olarak görülebilen lezyonlar birbirine benzerlik gösteriyordu. Nekropside; karın boşluğunda bulanık, mat görünümlü, saman sarısı renginde, seröfibrinöz bir içerik (asites) ile safra ve sidik kesesindeki dolgunluk ve duvarında kalınlaşma ilk bakıda dikkati çeken bulgulardı. Bu grup hayvanlarda kanın sulu, koyu siyah renkte olduğu ve pıhtılaşmanın, kontrollere göre, daha uzun sürdüğü ayrıca, kavum abdominalis ve kavum torasis kasları ile diyaframa kaslarında daha belirgin olarak dikkati çeken, tüm karkasın koyu kahverengi, tuğla kırmızısı bir renk aldığı saptandı. Ölen hayvanlar kaşektik ve dehidre bir görünümde idi.

Bu grup hayvanlarda rumen ve rekitulum mukozası dikkati çekmeyecek derecede silik veya yer yer açık sarımtrak renkte (kontrol ve II. grupta koyu kahvemsisiyah) idi. Bu hayvanlarda ayrıca, papilla ruminisler, krista retikülarisler ve lamina omaziler atrofik görünümde idi. Ölen hayvanlarda daha şiddetli olmak üzere, deneme grubundaki hayvanlarda abomasumda yaygın kanamalar, ödem ve mukozada serpiştirilmiş tarzda fokal ülseratif odaklar gözlendi. Bu hayvanlarda bağırsaklarda orta şiddette hemorajik enteritise özgü makroskobik lezyonlar da tespit edildi. Deneme sonunda kesilen hayvanların tamamına yakınında duodenum mukozasında yaygın bir biçimde rastlanan fokal ülserlere (III. grupa ait 3, IV. gruba ait 1), jejunum ve ileum mukozalarında da tek tük olarak (III. ve IV. gruplarda 1'er) rastlandı. Sekum ve kolonlar koyu sarımtrak, yeşilimtrak renkte bir içerik ile kaplı olup, sekum mukozasında fokal ülserlere (III. ve IV. gruplarda 2'şer), kolonlarda da peteşiyal ve ekimotik kanamalara (III. gruba ait 2, IV. gruba ait 3) rastlandı. Pankreas ölen hayvanlarda hafif ödematöz, şişkin ve yumuşak bir kıvamda; denemenin sonunda kesilen hayvanlarda ise yüzeyi fibrinöz bir kitle ile kaplı idi. Kesilen hayvanlarda karaciğerin özelikle parietal yüzü fibrin kitlesi ile örtülü idi. Lobların birbiri ile kaynaşmasına da neden olan bu kitlelerin, kapsulaya sıkı bir biçimde yapıştığı tespit edildi. Karaciğer, genellikle konjesyone, koyu kahverengi ve kesit yüzleri kanlı; ölen 3 hayvanda ise hafif büyümüş, şişkin, kenarları kütleşmiş, hamurumsu yumuşak bir kıvamda ve açık sarı, sarımtrak-kahverengi bir görünümde idi (karaciğer yağlanması). Ligamentum hepatogastrikum tüm olgularda ödemli ve kalınlaşmıştı.

Gerek parietal ve viseral, gerekse kesit yüzlerinde gri mat, boz renkte nekrotik odaklara rastlandı. Kesit yüzünde sentrilobüler yapı kesilen hayvanlarda oldukça belirgin idi. Dalak, genellikle koyu kahverengi-siyah renkte ve konjesyone idi. Deneme sonunda kesilen hayvanların hemen hemen tamamında kapsula lienisin yüzeyini fibrinli bir kitlenin kapladığı dikkati çekti. Böbrekler, olguların çoğunda bilateral olarak konjesyone, hafif büyümüş ve şişkin bir görünümde olup, subkapsüler olarak serpiştirilmiş tarzda, mercimek tanesi büyüklüğünde, gri mat renkte, fokal nekrotik odaklarla bezenmişti. Tiroid lobları ölen hayvanlarda hafif büyümüş ve şişkin bir görünümde, denemenin sonunda kesilen III ve IV. gruplara ait 2'şer hayvanda daha da belirgin olarak dikkati çeken koyu kırmızı renkte ve sert kıvamda idi. Ölen hayvanlarda serebrum ve serebellumda damarlar daha konjesyonlu ve dolgundu. Bu hayvanlarda, hafif şişkin olan serebrumun giyrus'ları da hafif yassılaşmış bir görünümde idi. Testisler ölen ve kesilen 6 olguda (III. gruba ait 2, IV. gruba ait 4) bilateral olarak hafif ödematöz, büyümüş bir görünümde olup, yumuşak ve gevşek bir kıvamda idi. Deneme sonunda kesilen 2 hayvanda (III. gruba ait) ise tunika albuginea'nın büzüşmüş ve kıvrılmış bir görünüm aldığı, kesit yüzünün de kaba granüllü bir yapıda ve sert bir kıvamda olduğu tespit edildi. Bu hayvanlarda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, testis ile epididiymis arasındaki yapısal orantının, testislerin aleyhine olarak azaldığı gözlendi. Derinin, ölen hayvanlarda inceldiği, elastikiyetini kaybettiği; denemenin sonunda kesilen hayvanlarda ise kontrol grubuna kıyasla hafif kalınlaştığı, sert, kıvrımlı ve kırışık bir yapıya sahip olduğu gözlendi.

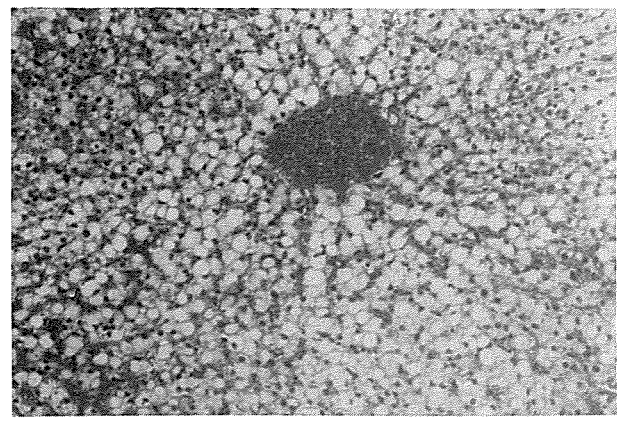
Mikroskobik Bulgular

İkinci grup hayvanlarda kayda değer mikroskobik bir bulguya rastlanmadı. Üç ve IV. gruplarda saptanan mikroskobik bulgular makroskobik lezyonların yansımasından ibaretti. Bu hayvanların tamamına yakınında, papilla ruminislerin, krista retikülarislerin ve lamina omazilerin boylarının kontrol grubu hayvanlara göre kısa olması ve lamina epitelyalisin lumene bakan yüzünde keratinizasyonun çok ince bir tabaka halinde şekillenmesi ilk bakıda dikkati çeken mikroskobik bulgular idi. Ölen hayvanlarda abomazumda, mukoza epitelinde dökülme, propria mukozada yaygın ve şiddetli kanamalar gözlendi. Propria mukoza ve submukoza kalınlaşmış ve ödemli idi. Yine bu hayvanlarda daha sıklıkla olmak üzere muskularis mukozaya kadar ulaşan ülserler vardı. İnce bağırsaklarda epitel katta dejeneratif ve nekrotik değişiklikler, propria mukozada daha şiddetli ve yaygın olan kanamalar, muskularis mukoza ve submukozada kapillar damarlarda konjesyon görüldü. Kesilen hayvanlarda, duodenum mukozasında daha sık, jejunum ve ileum ile sekumda seyrek olarak ülserlere rastlandı.

Pankreasta, kapillar damarlar konjesyone olup, intersitisyumda kanamalar dikkati çekti. Bazı asinuslarda büzüşme, piknoz ve eosinofilik görünüm ile karakterize koagulatif nekroz odakları gözlendi.

Karaciğerde, ölen 3 hayvanda Sudan Black B ile yapılan boyamalarda pozitif reaksiyon veren, H.E. ile yapılan boyamalarda ise oval şekilli ve keskin sınırlı vakuollerle karakterize diffuz yağlanma (Şekil 2), hidrobik dejenerasyon ve sentrilobüler nekroz alanları görüldü. Denemenin sonunda kesilen hayvanların tamamında, interlobüler ve intralobüler safra kanallarındaki hiperplazi kaydedilen önemli mikroskobik bulgulardandı. Hücrelerin ada biçiminde sınırlanmasına neden olabilecek derecede yaygın periportal fibrosisin yanısıra fibröz kapsülanın da kalınlaştığı ve parankime doğru helezoni tarzda uzantılar yaparak subkapsüler hepatositlerin çevresini kuşattığı gözlendi. Periportal diffuz fibrosisin, hepatositlerin terminal kordonlarına doğru ilerlediği ve periportal parankim üzerine yayılarak hepatositlerde atrofik değişimlere de neden olduğu tespit edildi. Kesilen hayvanların hepsi ve ölen 2 hayvanda konjesyone damarlar çevresinde (genellikle sentrilobüler) ve kanamalı alanlarda, esas olarak Kupffer hücrelerinin ve bazı hepatositlerin stoplazmalarında, H.E. ile yapılan boyamalarda altın sarısı-kahverengi kristaller halinde; Prussian Blue Reaction ile yapılan boyamalarda ise yeşilimtrak koyu mavi renkte hemosiderin pigmentine rastlandı.

Dalakta, denemenin sonunda kesilen hayvanların tamamı ile ölen 2 hayvanda diffuz hemosiderozis; kesilen



Şekil 2. Karaciğerde şiddetli diffuz yağ dejenerasyonu. (IV. grup. 33. gün). H.E. x 264.

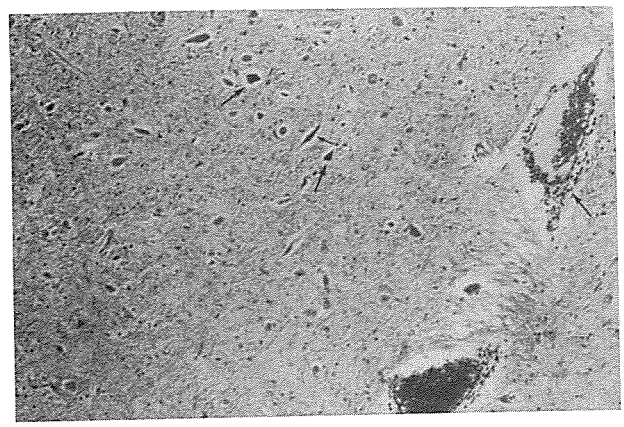
hayvanlarda ayrıca, fibröz kapsülada ve trabekülalardaki aşırı kalınlaşmalar saptanan başlıca mikroskobik bulgulardı. Hemosiderin, H.E. ile yapılan boyamalarda esas olarak retiküler makrofajların stoplazması içinde altın sarısı, kahverengi granüller halinde, Prussian Blue Reaction ile yapılan boyamalarda da menekşe veya koyu mavi renkte gözlendi.

Böbreklerde, olguların hemen tamamında, tüm parankimde yaygın konjesyon ve kanamalar ile tubuluslarda dejeneratif değişiklikler ilk bakıda kaydedilen bulgulardı. Kanamalar, korteksde intertubüler alanlarda fokal, kortikomedullar bölgeden başlıyarak tüm medullada ise geniş çaplı odaklar halinde idi. Tubuluslarda, bazı epitel hücrelerinde hidrobik dejenerasyon gözlendi. Proksimal, distal ve toplayıcı tubulusların lumenleri dejenere ve piknotik çekirdekli, çok sayıda epitel hücreleri ve homojen, pembe, eosinofilik hiyalini kitleler ile dolu idi. Bir kısım tubuluslarda kistik dilatasyon ile birlikte epitelde yassılaşma, bazı tubulusların lumenlerinde daralma dikkati çekti. Denemenin sonunda kesilen hayvanlarda, fibröz kapsülada kalınlaşmalar ile birlikte glomerulo-kistik değişiklikler, intersitisyumda yaygın mononuklear hücre infiltrasyonları ve reaktif fibrosis tablosu gözlenen diğer mikroskobik bulgulardı.

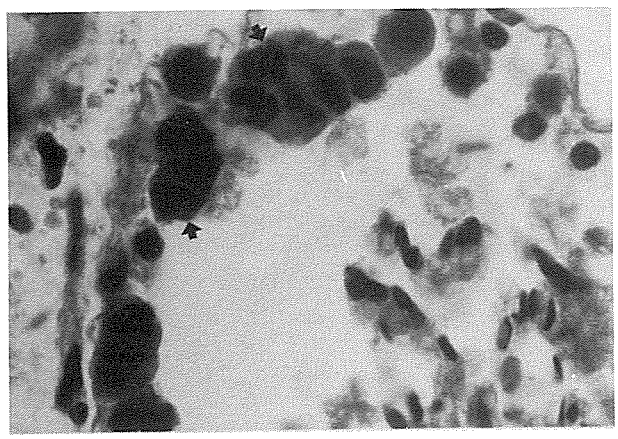
Tiroidde, olguların büyük bir kısmında, lobların tamamında intrafolliküler hiperplazi ve kapillar vaskularizasyon dikkati çeken önemli mikroskobik bulgulardandı. Folikül epitel hücrelerinin, follikül lumenine doğru papiller proliferasyonlar yaptığı veya bu hiperplastik epitel hücrelerin lumeni tamamen doldurduğu tespit edildi. Tiroid follikülleri düzensiz ve genellikle makrofolliküller halinde gözlendi.

Serebrumda, ölen veya denemenin sonunda kesilen hayvanlarda, subarahnoidal damarlarda ve beyin kapillarlarında konjesyon ile fokal perivasküler mononuklear hücre infiltrasyonları gözlendi. Ölen hayvanlarda işemik nöyronal değişiklikler (Şekil 3) ile Holzer boyama yöntemiyle serebral ödem saptandı. İşemik nöyronal değişim serebral korteksin derin ve orta laminalarındaki büyük nöyronlarda daha sıklıkla görüldü. Korteks ve medullada yaygın ve şiddetli olan serebral ödemde, perivasküler ve perinöyral boşluklar da genişlemişti.

Testislerde, ölen ve deneme sonunda kesilen tüm hayvanlarda tubulus seminiferus kontortuslarda, yaygın testiküler dejenerasyon ilk bakıda dikkati çeken bulgu idi. Dejenerasyona ilişkin başlıca mikroskobik bulgular; germinal hücrelerde desquamasyon ve germinal epitelyumun incelmesi, spermatidlerin nukleuslarında piknoz, intratubuler mononuklear ve çok çekirdekli dev hücre formasyonları (Şekil 4) ile spermiostasis ve von Kossa



Şekil 3. Beyinde, damarlarda konjesyon, perivasküler mononuklear hücre infiltrasyonları ve işemik nöyronal değişim, (oklar, IV. grup, 28. gün), H.E. x 132.



Şekil 4. Testislerde, tubulus seminiferus kontortuslarda, intratubuler çok çekirdekli dev hücre formasyonları, (oklar, III. grup, 70. gün), H.E. x 1332.

boyama yöntemiyle saptanan kalsinozis idi. Ayrıca, tubulus lumenlerinde pembe eosinofilik hiyalini artıklar, bazı tubulusların bazal membranlarında hiyalinizasyon ve fokal intersitisyel fibrosis dikkati çekti. Denemenin sonunda kesilen hayvanların tamanında fibröz kapsüla oldukça kalınlaşmış bir gönünümde idi. Epididiymisde, interduktal yaygın bağdoku artışı ile birlikte bazı duktuli eferentis ve duktus epididiymislerde, epitel katın lumene doğru papiller uzantılar yaptığı, bir kısmında ise lumenin bütünüyle epitel hücreleri tarafından doldurulduğu gözlendi. Bazı duktus epididiymislerde ise, epitel kat içinde tek sıralı epitelle döşeli ve ortasında dar bir lumeni bulunan sekunder duktuslar (intraepitelial lumina formasyonu) dikkat çekici idi.

Deride, III ve IV. gruplarda ölen hayvanlarda epidermisde hiperkeratozis ve keratohiyalin silindirlerinde kontrollere nazaran artış; denemenin sonunda kesilen hayvanlarda ise, dermisde ter bezlerinde, bazı alveol epitellerinde şiddetli hipertrofik ve hiperplastik değişimler ile mononuklear hücre infiltrasyonları gözlendi. Kıl folliküllerinde kayda değer mikroskobik bir bulgu saptanmadı. Deneme grubu hayvanlarda akciğer, kalp, lenf düğümü, adren ve timusda; kontrol grubu hayvanlarda da incelenen tüm organlarda morfolojik bir bulguya rastlanmadı.

Biyokimyasal Bulgular

Kan Serumu Bulguları

Kan serumu değerlerinde istatistiksel olarak önemli bulunan değişimlere ilişkin sonuçlar Tablo 3'te sunulmuştur.

Denemenin 4. haftasına kadar kontrol grubu ile hemen hemen benzer istatistiksel değerlerde olan IV ve III. gruba ait SGOT ve SGPT enzim düzeylerinin, denemenin 4. haftasından itibaren belirgin bir biçimde yükseldiği dikkati çekti. Bu yükselmeler deneme boyunca oldukça önemli ($P<0.001$) olarak yorumlandı. İkinci grupta ise denemenin 6. haftasından itibaren artışlar tespit edilmeye başlandı ve bu artışlar deneme boyunca önemsiz ($P>0.05$) bulundu. ALP enzim düzeyinde, IV. grupta, 4. haftaya kadar önemsiz ($P>0.05$) olan değişimlerin 4. haftadan itibaren oldukça önemli ($P<0.001$) olduğu tespit edildi. Bu önemlilik derecesindeki ($P<0.001$) değişimlerin III. grupta denemenin 5. haftasından itibaren dikkati çekmeye başladığı ve deneme boyunca devam ettiği tespit edildi. İkinci grupta da denemenin 5. haftasından itibaren yükselmeler gözlenmekle birlikte, bu yükselmeler önemsiz ($P>0.05$) olarak yorumlandı. LDH enzim düzeyinde, IV. grupta 4., III. grupta da 5. haftadan itibaren gözlenmeye başlayan yükselmeler, her iki grup için de deneme boyunca, istatistiksel yönden önemli ($P<0.01$); ikinci grupta ise önemsiz ($P>0.05$) bulundu. ISCD ve GGT enzim düzeylerinde, IV. grupta 4. haftaya kadar önemsiz ($P>0.05$) olan değişimler, 4. haftadan itibaren oldukça önemli ($P<0.001$) olarak yorumlandı. Üçüncü grupta ise aynı değişimler 5. haftaya kadar önemsiz ($P>0.05$) olup, 5. haftadan itibaren oldukça önemli ($P<0.001$) olarak kaydedildi. CPK enzim düzeylerinde deneme süresince kaydedilen değişimler, tüm deneme grupları için istatistiksel yönden önemsiz ($P>0.05$) olarak yorumlandı. Dördüncü grupta 4. ve III. grupta 5. haftaya kadar, kontrol grubu ile paralel seyreden serum glikoz konsantrasyonlarının, bu haftalardan itibaren belirgin bir biçimde azaldığı (hipoglisemi) dikkati çekti. Bu azalmalar, her iki grupta da, tüm deneme boyunca istatistiksel olarak oldukça önemli ($P<0.001$) bulundu. İkinci grupta da 5. haftadan itibaren gözlenmeye başlayan azalmaların, istatistiksel olarak, deneme boyunca önemsiz ($P>0.05$) olduğu tespit edildi. Dördüncü grupta 4., III. grupta 5. ve II. grupta da 6. haftaya kadar, kontrol grubu ile benzer seyreden total protein ve albumin düzeylerinin bu haftalardan itibaren azaldığı dikkati çekti. Bu azalmalar III ve IV. gruplarda oldukça önemli ($P<0.001$); II. grupta ise önemsiz ($P>0.05$) olarak yorumlandı. Kolesterol düzeylerindeki azalmalar III ve IV. gruplarda kısmen önemli ($P<0.05$); II. grupta önemsiz ($P>0.05$) idi. Elektrolitlerden sodyum düzeylerindeki azalmalar (hiponatremi) istatistiksel olarak, her 3 grup için de, deneme boyunca önemsiz ($P>0.05$) olarak değerlendirildi. Potasyum düzeylerinde IV ve III. gruplarda 4. haftadan itibaren gözlenmeye başlayan yükselmeler (hiperpotasemi) önemli ($P<0.01$), II. grupta 5. haftadan itibaren gözlenmeye başlayan yükselmeler ise önemsiz ($P>0.05$) olarak değerlendirildi. Kalsiyum, fosfor ve üre düzeylerindeki azalmalar tüm gruplarda önemsiz ($P>0.05$) bulundu.

Doku Homojenatları Bulguları

SGOT ve SGPT enzim düzeylerinin karaciğer, böbrek ve kalp kası doku homojenatlarında belirgin bir biçimde yükseldiği tespit edildi ve bu yükselmeler III ve IV. gruplarda oldukça önemli ($P<0.001$); II. grupta

Tablo 3. Yedirme denemesi süresince kontrol ve deneme gruplarında serum SGOT, SGPT, ALP, LDH, ISCD, GGT, glikoz ve total protein düzeylerini gösterir tablo (ortalama değerler).

Gruplar	SGOT (IU/L)	SGPT (IU/L)	ALP (IU/L)	LDH (IU/L)	ISCD (IU/L)	GGT (IU/L)	Glikoz (mg/dl)	Total Protein (g/dl)
I. grup (kontrol)	67.19±7.21	10.92±2.44	152.73±18.60	318.43±39.08	5.76±1.81	52.71±9.28	51.26±8.14	79.18±12.14
II. grup (% 40)	72.46±10.92[1]	11.41±2.54[1]	171.20±21.33[1]	336.18±40.12[1]	5.93±1.44[1]	55.24±10.12[1]	49.86±9.54[1]	75.15±10.81[1]
III. grup (% 60)	168.40±21.12[4]	21.06±5.57[4]	280.10±33.46[4]	408.26±43.84[4]	34.82±8.66[4]	126.81±24.34[4]	23.28±4.16[4]	41.83±7.62[4]
IV. grup (% 80)	204.86±27.34[4]	23.81±6.08[4]	307.86±38.54[4]	424.73±48.10[4]	36.56±6.70[4]	134.62±27.13[4]	19.17±5.47[4]	38.10±6.51[4]

1 : P>0.05, 2 : P<0.05, 3 : P<0.01, 4 : P<0.001

önemsiz (P>0.05) bulundu. Aynı şekilde, III ve IV. gruplarda LDH ve SCK enzim düzeylerinin karaciğer ve böbrekteki artışları oldukça önemli (P<0.001); II. grupta önemsiz (P>0.05); kalp kasındaki değişimler ise her 3 grup için de önemsiz (P>0.05) olarak değerlendirildi.

Bitkinin filizleri ile deneme grubu hayvanlardan alınan doku (karaciğer, böbrek ve kalp kası) ve idrar örneklerinin tamamında CAT'ın varlığı R_f = 0.6'da kalitatif olarak saptandı. Spektrofotometrik olarak, CAT noktaları, III ve IV. grup hayvanların doku ve idrar örneklerinde büyük; II. grup hayvanlarda ise küçük boyutlarda demonstre edildi.

Tüm deneme grubu hayvanlarda, karaciğer ve karın boşluğu sıvısından yapılan standart bakteriyolojik ekimlerde herhangi bir etken üretilemedi.

Tartışma

Bölgede, özellikle su baskınlarına uğramış alanlarda, suların çekilmeye başlaması ile birlikte temmuz-kasım aylarında, meraların taze yeşil ottan yoksun olduğu dönemlerde, *Xanthium spp.* filizleri oldukça yoğun olarak vejetasyon gösterir. Sığır ve koyunların bu filizlerden fazla miktarlarda yemeleri ile de toksikasyonlar şekillenir. Böylece Keban, Karakaya ve Atatürk Baraj Gölü çevreleri, *Xanthium spp.* filizlerinin yoğun olarak çıktığı ve dolayısıyla pıtrak otu toksikasyonlarının meydana gelebileceği en uygun alanlardır. Nitekim, bölgede sığır ve koyunlarda toksikasyon olayları da temmuz-kasım aylarında özellikle Keban Baraj Gölü sularının çekildiği alanlarda görülmüştür (Prof. Dr. Nursal METİN* ile kişisel görüşme). Toksikasyonların bu dönemlerde daha sıklıkla görülmesinde etkili olan diğer bir faktör de meralarda veya anızda otlayan hayvanların yeşil ot ihtiyaçlarını karşılayabilecekleri, baraj gölü havzasından başka alanların olmamasıdır.

Bütün Xanthium türü bitkiler benzer toksik etkiye sahip olmakla beraber, evcil hayvanların bu bitkilerin filizlerine karşı duyarlıklarının farklı olduğu vurgulanmıştır (1, 5, 6, 8-10). Nitekim, iki yapraklı filizlerin oral öldürücü dozu, canlı ağırlığın erişkin domuzlarda % 2'si (6), sığırlarda % 1.8'i (1), koyunlarda ise daha yüksek olduğu ileri sürülmüştür (16). Diğer bir çalışmada (9) ise domuzlara farklı deneme gruplarında, bitkinin iki yapraklı filizlerinin canlı ağırlığın % 0.75 ve % 3.00'ü oranında verilmesinde toksikasyonun tipik klinik bulgularının şekillendiği, % 0.50 oranında verilmesinde ise toksikasyonun şekillenmediği ifade edilmiştir. Sığırlarda % 25-30 oranında *Xanthium strumarium*'un olgun filizlerini içeren ot balyalarının yedirilmesi sonucu doğal pıtrak otu toksikasyonun ve ölümlerin şekillendiği rapor edilmiştir (10). Bu çalışmada koyunlara, bitkinin 1-3 yapraklı filizleri % 40, % 60 ve % 80 oranlarında ilave edilerek verilmiş, fakat ilk yemlemeyi izleyen perakut ya da akut ölümlerin şekillenmemesi nedeni ile minimal oral öldürücü doz da hesaplanamamış, zira çalışmada böyle bir amaç da planlanmamıştır. Bununla birlikte rasyona yüksek oranlarda *Xanthium strumarium* L.subsp. *cavanillesii* filizleri ilave edilmiş olmasına rağmen, ölümlerin denemenin 28., 33. ve 36. günlerinde görülmüş olması, muhtemelen koyunların, domuz ve sığırlara kıyasla pıtrak otu toksikasyonlarına daha dayanıklı, diğer bir ifade ile daha az duyarlı olduklarını göstermektedir. Bu durum, koyunlarda oral öldürücü dozun domuz ve sığırlardakinin üzerinde olduğunu ifade eden araştırıcıların (16) görüşleri ile de paralellik arzetmektedir.

Bu çalışmada yedirme denemesinin 3. haftasından itibaren deneme gruplarında total yem tüketimlerinde azalma (Tablo 1) ve aynı sürede total canlı ağırlıkda da yavaşlamalar görüldü (Tablo 2). Çalışmada ölen ve deneme sonunda kesilen III ve IV. grup hayvanlarda daha belirgin olarak dikkati çeken total canlı ağırlık artışındaki bu azalma buzağı (8), sığır (7) ve broiler piliçler (26) ile rat (14) ve farelerde (15) bildirilenler ile benzer bulgulardı.

Çalışmada klinik olarak gözlenen bulgular genelde diğer araştırıcıların (1, 5, 7-10, 14, 15), *Xanthium spp.* filizleri ile zehirlenen hayvanlarda bildirdikleri bulgular ile paralellik arzetmektedir. Sığırlarda ve buzağılarda (1, 8, 10) deride hipersensitivite bildirilmesine karşın bu çalışmada, koyunlarda deride hipersensitivite gözlenmemiş, fakat özellikle III ve IV. grubun deneme sonu kesilen hayvanlarında tüylerde, ıslaklığa neden olabilecek derecede terlemelerle birlikte sarımsı, kahverengimsi renk değişimi çalışmanın en önemli klinik bulgularından biri olarak değerlendirilmiştir. Gerek çalışmada ölen ya da kesilen hayvanlarda dikkati çeken devamlı diş gıcırdatma, gerekse diğer çalışmalarda (1, 6, 9, 10) bildirilen klinik bulgular, *Xanthium strumarium* filiz ya da tohumlarından ileri gelen toksikasyonlarda sinir sisteminin de etkilendiğine işaret eden sinirsel belirtiler olarak değerlendirildi.

Xanthium strumarium toksikasyonlarında, ölüm olaylarının domuz, sığır, buzağı ve farelerde klinik be-

* Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

lirtilerin başlangıcından 8-72 saat sonra şekillendiği ifade edilmiş (5, 7-9, 15), bu çalışmada 3 ölüm olayının da denemenin 28, 33 ve 36. günlerinde görülmesi ise, koyunlarda CAT'ın kümülatif toksik etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmada 2 ölüm olayının IV. grupta, 1 ölüm olayının da III. grupta şekillenmiş olması, verilen *Xanthium strumarium* L.subsp *cavanillesii* filizleri ile ölümlerin orantılı olduğunu göstermiş, bununla birlikte, IV. grupta 4 hayvandan 2'sinde ölümlerin şekillenip, 2'sinde görülmemesi, buna karşın III. grupta 1 ölüm olayının görülmesi, toksikasyonda, aynı tür içinde, bireysel duyarlılığın olabileceğini ifade eden bazı araştırıcıların (9, 15) görüşleri ile de benzerdir.

Nekropside ilk bakıda gözlenen makroskobik lezyonlar birçok çalışmada da (1,5-10, 14, 15) bildirilen benzer bulgulardır. Denemenin sonunda kesilen III ve IV. grup hayvanlarda, kontrol grubuna göre, kanın daha koyu siyah bir renkte akması ve pıhtılaşmanın uzun sürmesi, ayrıca kavum abdominalis ve kavum torasis kaslarının koyu kırmızı veya tuğla kırmızısı rengindeki görünümü ve iki ayrı çalışmada kavum abdominaliste bildirilen yaygın kanamalar (1) ile subkutan ve intramuskuler seröz effuzyonların varlığı (9) muhtemelen toksikasyonda vaskuler permeabilitenin etkilenmiş olabileceği şeklinde yorumlanabilir.

Birçok araştırıcı tarafından (1,5-8, 10, 15) sindirim kanalında tanımlanan lezyonların, bu çalışmada, koyunlarda da görülmüş olması, *Xanthium strumarium* filizlerinin tüm sindirim kanalında leyzonlara yol açabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada kontrol grubu hayvanlara kıyasla III ve IV. gruba ait hayvanlarda mukozada açık sarımtırak bir renk ile papilla ruminis, krista retikülaris ve lamina omazilerin kısa görünümleri önemli makroskobik lezyonlar olarak tanımlanmakla birlikte, her iki bulgunun da CAT'ın primer metabolizmasına bağlı olup olmadığı hususuna açıklık getirilememiştir.

Çalışmada, karaciğerde ligamentum hepatogastrikumda gözlenen, ödeme bağlı jelatinöz görünüm ile karaciğer yağlanması bazı araştırıcılar (1, 6, 7) tarafından da tanımlanan bulgulardır. Doğal ve deneysel pıtrak otu toksikasyonlarında bildirilen (6, 7, 9, 14, 15) karaciğerin kesit yüzündeki sentrilobüler görünüm, bu çalışmada da kaydedilen önemli makroskobik lezyonlardandı. Çalışmada, denemenin sonunda nekropsisi yapılan III ve IV. grup olguların tamamında, karaciğerin, özellikle parietal yüzündeki kapsulayı örten, fibrinöz kitle, lobların birbiri ile kaynaşmasına neden olacak derecede yaygındı. Birçok çalışmada (1, 6, 9, 15) karaciğerde fibrinli jelatinöz kitlelerin varlığından söz edilmekle birlikte, loblardaki yapışmalar bildirilmemiştir. Bu çalışmada, fibrinli kitlenin bir örtü tarzında ve lobları birbirine yapıştıracak ölçüde yaygın olması, toksikasyonda yedirme denemesi süresinin daha uzun tutulması ve kronik seyri ile ilgili bulundu.

Böbreklerdeki makroskobik lezyonlar da birçok araştırıcı tarafından (1, 7, 8, 10, 14) bildirilen benzer lezyonlardır. Sığırlarda (7) medulladan korteks içine doğru çökük, infarktüsler tanımlanmakla birlikte, ratlarda (14) da ifade edildiği gibi, bu çalışmada medullaya doğru uzanan kanamalar, kortikomedullar bölgedeki konjesyon ve stasise yorumlandı.

Testislerde, nekropside bilateral olarak gözlenen tüm lezyonlar, *Xanthium strumarium* L. subsp *cavanillesii* filizlerindeki etkin toksik madde CAT'ın fonksiyonel metabolizmasının dejenerasyonun şekillenmesinde etkili olduğunu düşündürmektedir. *Xanthium strumarium* toksikasyonu ile ilgili daha önce yapılan çalışmalarda (1,5-8, 10, 15), testisler değerlendirilmediği için bu lezyonlar da bildirilmemiştir.

Çalışmada, sindirim kanalında şekillenen mikroskobik lezyonlar, özafagusdan rektuma kadar, birçok çalışmada da (1,5-8, 10, 15) ortaya konan makroskobik lezyonların yansımasından ibaretti. Üçüncü ve IV. grup hayvanlarda ön mide mukozalarının atrofik bir görünüm almaları ve mukozada keratinizasyonun, tam olarak şekillenmemesi bu gruplara ait hayvanlarda rumen içeriğinin asidik olmasına yorumlandı.

Bir kısım araştırıcılar (9), karaciğerde sentrilobüler ve parasentral nekroza uğrayan hepatositlerin büzüşmüş ve çevresinin düzensiz olduğunu, vakuolizasyonun spesifik bir lezyon olmadığını ileri sürmüşler, bazı araştırıcılar da (6, 10, 14, 15), dejenere hepatositlerin stoplazmik vakuollü ve şişkin olduğunu ve vakuolizasyonun spesifik bir bulgu olduğunu vurgulamışlardır. Bu çalışmada da genellikle ölen hayvanlarda tespit edilen stoplazmik vakuollü hepatositlerin, Sudan Black B ile yapılan boyamalarında yağ dejenerasyonuna uğrayan hepatositler olduğu tespit edildi. Ayrıca, hepatositlerde hidrobik dejenerasyon da gözlendi ve vakuolizasyonun toksikasyonun önemli bir mikroskobik bulgusu olduğunu ifade eden araştırıcıların (6, 10, 14, 15), görüşlerini doğrular nitelikte bulundu. Bu durum, filizlerdeki etkin toksik madde CAT'ın, adenin nükleotidlerin mitokondriuma bağlanmasını ve oksidatif fosforilasyonu önlemesi ile izah edilmektedir (27-30). CAT'ın adenin nukleotidlerin ve oksidatif fosforilasyonu önlemesi, iki ayrı çalışmada da ifade edildiği gibi, hücrede ATP, selüler respirasyon ve amino asit sentezi ile kan glikoz konsantrasyonunun azalmasına neden olmaktadır (8, 31). Bu bozukluklar ise, hepatositlerde hidrobik ve yağ

dejenerasyonunun şekillenmesine yol açmaktadır. Birçok araştırıcı tarafından da (6, 14, 15) ifade edildiği gibi, bu çalışmada sentrilobüler nekrozun; yağ dejenerasyonuna ve hidrobik dejenerasyona uğrayan ve şişen hepatositlerin, sinuzoidlere basınç yaparak, dolaşımı engellemesi sonucu, hepatositlerdeki mevcut primer bozukluğun işemik anoksi ile komplike olmasına bağlı olarak şekillendiği söylenebilir. Kronik karaciğer lezyonlarının en önemli mikroskobik bulguları olan, safra kanalı proliferasyonları ve periportal fibrosis denemenin sonunda kesilen III ve IV. grup hayvanların hemen hemen tamamında saptandı ve çalışmada tespit edilen en önemli mikroskobik bulgularındandı. Böylece bu bulgular, toksikasyonda kronik karaciğer lezyonlarının ve sirozun şekillenebileceğini ifade eden araştırıcıların (6, 7, 15) görüşlerini de doğrular nitelik arzetti.

Bu çalışmada böbreklerde ortaya konan mikroskobik bulguların diğer çalışmalarda (7, 8, 10, 14, 15) bildirilen bulgular ile tam bir uyum içinde olduğu görüldü.

Merkezi sinir sisteminde, bir kısım araştırıcılar (9, 10, 11, 15) tarafından bildirilen yaygın konjesyon, fokal hemorajiler ve ödem ile işemik nöyronal değişim ve perivasküler, perinöyral dilatasyonlar çalışmamızda da gözlenen ortak leyzonlar olarak değerlendirildi. Yapılan çalışmalarda ve bu çalışmada, tanımlanan beyin ödemi, muhtemelen CAT metabolizmasında selüler osmoregülasyondaki bozukluklara ilgili bulunmaktadır (32). Potasyum tuzunun sülfatlı bir glikoziti olan CAT'ın da adenin nükleotidlerin mitokondriyal membrana bağlanmasını ve oksidatif fosforilasyonu önlediği dikkate alındığında (27-30), muhtemelen, sodyum intraselüler olarak birikerek osmotik basıncın artmasına ve böylece sitotoksik bir ödemin şekillenmesine neden olmaktadır (32). Nitekim, çalışmamızda III ve IV. grup serum potasyum konsantrasyonlarının kontrol grubuna göre yüksek olması, CAT'ın varlığı ile birlikte, metabolik toksik etkisini de doğrulamaktadır. Çalışmada kalp yetmezliği ile ilgili olarak kalpte ve akciğerlerde morfolojik bir bulguya rastlanılmaması, buna karşılık beyin ödemi ve işemik nöyronal değişimin, biyokimyasal olarak da hipogliseminin saptanması, ölüm sebebinin hipoglisemi ile ilgili işemik nöyronal değişim ve beyin ödeminden ileri geldiğini belirten araştırıcıların (9, 11) görüşlerini doğrular niteliktedir.

Bu çalışmada testislerde, PAS ile yapılan boyamalarda, tubulus bazal membranın kontrollere göre inceldiğinin tespit edilmesi testiküler dejenerasyonu, testiküler hipoplasiden ayırıcı önemli bir mikroskobik bulgu olmakla birlikte, testiküler dejenerasyonu da doğrular nitelikte bulundu. Çalışmada, intratubuler olarak şekillenen mononuklear dev hücre formasyonları, muhtemelen spermatositlerin, spermatit safhasına farklılaşamamasına; çok çekirdekli dev hücre formasyonları da, bir çalışmada da (33) ifade edildiği gibi, identik spermatitlerin kümelenmeleri ile izah edilebilir. Bu çalışmada spermatogonia ve Sertoli hücrelerinde dejeneratif değişikliklerin şekillenmemesine rağmen, epitelial rejenerasyonun da tespit edilememesi, muhtemelen bazal membrandaki hiyalinizasyona yorumlanabilir. Çalışmada, bilateral ve intratubuler olarak şekillenen kalsinosis, spermiostasis ve epitelial dejenerasyonun klasik sonuçları olarak değerlendirildi. Yine epididiymisde, duktuli eferentis ve duktus epididiymislerde lumene doğru uzanan papiller projeksiyonlar ile epitel kat içinde şekillenen intraepitelial lumina formasyonları, dejenerasyonu izleyen, epididiymisdeki rejenerasyon olayları sırasında şekillenen hiperplazilerin bir sonucu olarak değerlendirilmektedir (34).

Çalışmada, III. ve IV. grup hayvanlarda tüylerdeki renk değişimlerinin muhtemelen, dermisde hipertrofik görünümlü ter bezlerinin hiperaktiviteleri sonucu ter sekrasyonlarının artması ve artan sekrasyonun da tüylere yapışarak kirliliğine neden olması şeklinde yorumlanabilir. Nitekim, klinik olarak da bu grup hayvanlarda aşırı terlemenin görülmüş olması bu görüşü destekler niteliktedir. Bununla birlikte, etkin toksik madde CAT'ın nasıl bir mekanizma ile ter bezlerinde hipersekrasyona yol açtığı konusu tartışmaya açıktır.

Bu çalışmada, en önemli klinik patolojik bulgu SGOT, SGPT, ISCD ve GGT enzim düzeylerinin yükselmesi ile birlikte şekillenen hipoglisemi idi (Tablo 3). ALP ve LDH enzim düzeylerinde de önemli yükselmeler kaydedilmekle birlikte, CPK enzim düzeyindeki yükselmeler istatistiksel yönden önemsiz ($P>0.05$) olarak yorumlandı. SGOT, SGPT, ISCD, ALP ve GGT enzim düzeylerinin yükselmesi ve hipoglisemi tablosu, *Xanthium strumarium* filiz veya tohumlarının verildiği domuzlarda (9) ve buzağılarda da (8) ortaya konulan benzer bulgulardır. Karaciğer enzim düzeylerinin yükselmesi, hepatositlerin yıkımlanmasından sonra, mitokondrial enzimin serbest kalmasıyla ilgilidir (35, 36). CPK enzim düzeyinin, kalpteki şiddetli dejenerasyon, nekroz veya ölüme neden olabilecek yıkımlanmalarında normal düzeyinin 200 mislinin üzerine çıktığı dikkate alındığında (35) ve bu çalışmada, bütün deneme gruplarında da normal sınırlar içinde kaldığı gözönünde bulundurulduğunda, toksikasyonda ölüm nedeninin kalp yetmezliği ile ilgili olmadığını ifade eden araştırıcıların (9, 11) görüşlerini klinik patolojik olarak da doğrular niteliktedir. Bu çalışmada, gerek literatürde bildirilen, gerekse ilk defa gözlenen morfolojik lezyonların, hipogliseminin

komplikasyonuna ilgili olarak şekillenmiş olabileceği söylenebilir. Bununla birlikte çalışmada, ölümlerin, denemenin 28, 33 (IV. grupta) ve 36. günlerinde (III. grup) şekillendiği; IV. grupta 2, III. grupta 3 ve II. grupta da 4 olguda şekillenmemiş olması, muhtemelen, denemenin 36-37. günlerinden itibaren, deneme boyunca, karaciğerde hipoglisemiden ileri gelebilecek ölüm olaylarını önleyebilecek veya baskılayabilecek şiddette glikolizis, glikogenolizis veya glikoneogenezisin başlamış olması ile izah edilebilir.

Çalışmada ve buzağılarda (8) bildirilen total protein ve albumin düzeylerindeki azalmalar, amino asit sentezinin, CAT metabolizması tarafından önlenmesine; kolesterol düzeylerindeki azalmalar ise karaciğer ve ince bağırsaklardaki dejeneratif ve nekrotik olaylara bağlı olarak, kolesterol sentezinin tam olarak yapılamamış olmasına, ayrıca CAT metabolizmasına ilgili olarak anoksi nedeni ile yağ asitlerinin oksidasyonlarının engellenmesine yorumlanabilir. Denemenin 3. haftasından itibaren dikkati çekmeye başlayan potasyum düzeylerindeki artışlar buzağılarda (8) ve broiler piliçlerde (26) bildirilen benzer bulgular olup, muhtemelen, anoksiye bağlı tubuler yetmezlik nedeniyle potasyumun tutulmasına, hiponatremiye ve ayrıca filizlerdeki etkin toksik madde CAT'ın potasyumun sülfatlı bir glikoziti olmasına bağlı olarak yedirilen filizlerin, serum konsantrasyonunu artırmış olabileceği şeklinde açıklanabilir.

Bitkinin filiz ve tohumlarında olduğu gibi, deneme grubu hayvanlardan alınan doku örneklerinin tamamında, kalitatif olarak, etkin toksik madde CAT'ın varlığının tespit edilmesi ile bu çalışma toksikolojik olarak da desteklendi. Bununla birlikte, II. grup hayvanların doku ve idrar örneklerinde CAT spektrofotometrik olarak demonstre edilmesine karşın, klinik olarak ölümlerin şekillenmemesi, biyokimyasal değişimlerin istatistiksel olarak önemsiz ($P>0.05$) olması ve kayda değer morfolojik bir bulguya rastlanılamaması yönleri ile bu grup hayvanlarda, III ve IV. gruplara kıyasla CAT'ın, minimal lethal toksik doza erişemediğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışma ile, ülkemizde ilk defa *Xanthium strumarium* L. subsp. *cavanillesii*'nin 1-3 yapraklı filizleri koyunlara %40 (II. grup), %60 (III. grup) ve %80 (IV. grup) oranlarında yedirilerek, toksikasyonun klinik, biyokimyasal ve morfolojik bulguları esas olarak %60 ve %80 oranlarında filiz verilen gruplarda kaydedildi, %40 oranında verilen filizlerin ise morfolojik olarak belirgin bir lezyon oluşturmadığı saptandı. Ayrıca III ve IV. grup hayvanlarda benzer morfolojik bulguların, biyokimyasal parametrelerle de desteklenmiş olması yönü ile, koyunlarda *Xanthium strumarium* L. subsp. *cavanillesii* toksikasyonlarının tanısının klinik-patolojik olarak mümkün olabileceği sonucuna varıldı.

Teşekkür

Bu çalışmanın gerçekleşmesine katkılarından dolayı TÜBİTAK, VHAG Yürütme Komitesi Sekreteri Doç. Dr. Sevinç TÜRKER ile çalışma süresince her türlü yardımlarını esirgemeyen Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nursal METİN'e; Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognazi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Semra KURUCU'ya ve tüm emeği geçenlere en içten saygı ve şükranlarımızı sunarız.

Kaynaklar

1. Kenny, K.C., Everist, S.L., Sutherland, A.K.: Noogora Burr Poisoning of Cattle. Queensland Agric. Jour. 1950: 70: 172-177.
2. Kingsbury, J.M.: Poisonous Plants of the United States and Canada. N.J. Prentice-Hall Inc., Euglewood Cliffs, 1964.
3. Mitich, L.W.: Cockleburs. Jour. of the Weed Sci. of Am. 1987: 1: 359-360.
4. Schuster, J.L. and James, L.F.: Some other major poisonous plants of the Western United States., Research Laboratory, Logan, Utah, 1988.
5. Pribicevic, S., Sevkovic, V.: Experimental Study of Xanthium saccharatum Poisoning. Acta Vet. Belgrade. 1954: 4: 58-64.
6. Oelkers, S., Dohme, F.: Cocklebur Poisoning in Swine. Bov. Pract. 1982: 2: 11-14.
7. Martin, T., Stair, E.L., Dawson, L.: Cocklebur poisoning in cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1986: 5: 562-563.
8. Martin, T., Johnson, B.J., Sangiah, S., Burows, G.E.: Experimental Cocklebur (Xanthium strumarium) Intoxication In Calves Proceedings of the third Int. Sympos. Poisonous Plants, Oklahoma, 1992.
9. Stuart, B.P., Cole, R.J. and Gosser, H.S.: Cocklebur (Xanthium strumarium, L. var. strumarium). Intoxication in Swine: Review and Redefinition of the Toxic Principle. Vet. Pathol. 1981: 18: 368-383.
10. Witte, S.T., Osweiler, G.D., Stahr, H.M., Mobley, G.: Cocklebur toxicosis in cattle associated with the consumption of mature Xanthium strumarium. J. Vet. Diagn. Invest., 1990: 2: 263-267.
11. Cheville, N.C.: Cell Pathology. The Iowa State University Press, Iowa, 1983.
12. Cole, R.J., Stuart, B.P., Lansden, J.A., Cox, R.H.: Isolation and Redefinition of the Toxic Agent fromCocklebur(Xanthium strumarium). Jour. Agric. Food. Chemistry. 1980: 28: 1330-1332.
13. Craig, J.C., Male, M.L., Billets, S., El-Feraly, F.: Isolation and Identification of the Hypoglycemic Agent, Carboxyatractylate, from Xanthium strumarium. Phytochem., 1976: 15: 1178.

14. Hatch, R.C., Jain, A.V., Weiss, R. and Clark, J.D.: Toxicologic Study of Carboxyatractyloside (Active Principle in Cockleburr-Xanthium strumarium) in Rats Treated with Enzyme Inducers and Inhibitors and Glutathione Precursor and Depletor. Am. J. Vet. Res., 1982: 43: 111-116.

15. Çiftçi, K.M.: Pıtrak Otu (Xanthium strumarium L. subsp. cavanillesii) (Schouw) D. Löve et. P. Dansereau) Filiz ve Tohumları Yedirilen Farelerin İç Organlarında Gözlenen Morfolojik Değişiklikler., Doktora Tezi, F.Ü. Sağ. Bil. Enst. Müd., Elazığ, 1987.

16. Sedden, H.R. and King, R.O.C.: N.S.W. Department of Agriculture Veterinary Research Report No. 7, 1937, 101-108. Alınmıştır: Kenny K.C., Everist, S.L., Sutherland, A.K.: Noogora Burr Poisoning of Cattle. Queensland Agric. Jour., 1950: 70: 172-177.

17. Davis, P.H, Kupicka, F.K., Parris, B.S.: Flora of Turkey. Vol. 5, University Press: Edinburg, 1975.

18. Morrison, F.B.: Feeds and Feeding, Abridged. The Essentials of the Feeding Care and Management of Farm Animals, Including Poultry, Twenty-sec. edit., The Morrison Publishing Company, Claremant, Ontario, Canada, 1961.

19. Luna, L.G.: Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology., MC. Graw-Hill Book Company. New York, 1968.

20. Worthington, C.C.: Enzymes and Related Biochemicals. Worthington Enzym Manual, Worthington Biochemical Corporation Freehold, Sec. edit., New Jersey, USA, 1988.

21. Gornall, A.G., Bardawill, C.L., David, M.M.: Determination of serum proteins by means of the Biuret Reaction. J. Biol. Chem., 1949: 17: 751-758.

22. Frankel, J., Reitman, M.D., Alex, C.: Gradwahl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis, Sec. edit., Vol. 1, London, 1970.

23. Carter, G.R.: Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology., 4 th edit., Charles C.T., Publisher, Illinois, USA, 1984.

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

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

26. Goodwin, M.A., Mallinston, E.T., Brown, J., Player, E.C., Latimer, K.S., Dale, N., Shaff, W.V. and Dickson, T.G.: Toxicological Pathology of Cockleburs (Xanthium spp) for Broiler Chickens. Avian Dis. 1992: 36: 444-446.

27. Danieli, B., Bombardelli, E., Bonati, A., Gabette, B.: Structure of the Diterpenoid Carboxyatractyloside. Phytochem., 1972: 2: 3501-3504.

28. Luciani, S., Martini, N., Santi, R.: Effects of Carboxyatractyloside a Structural Analogue of Atractyloside on Mitochondrial Oxidative Phosphorylation. Life Sci. 1971: 10: 961-968.

29. Vignais, P.V., Vignais, P.M.: Atractyloside-35_s binding to mitochondrial membranes. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1969: 37: 72-80.

30. Vignais, P.V., Duee, E.D., Colomb, M.G.: Adenin nucleotide transport through the mitochondrial membrane during oxidative phosphorylation. Bull. Soc. Chim. Biol., 1970: 52: 471-497.

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

32. Brierly, J.B., Meldrum, B.S., Brown, A.W.: The threshold and neuropathology of cerebral "anoxic-ischemic" cell damage. Arch. Neurol. 1973: 29: 367-374.

33. Karadaş, E.: Farelerde deneysel pamuk tohumu toksikasyonu üzerine patolojik araştırmalar. Tr. J. of Vet. and Anim. Sci., 1996: 20: 267-276.

34. Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C. and Palmer, N.: Pathology of Domestic Animals. Third Edit. vol. 3 Academic Press. Inc., Orlando, Florida, 1985.

35. Baron, D.V., Moss, D.W., Walker, P.G., Wilkinson, J.H.: Revised list of abbreviations for names of enzymes of diagnostic importance. J. Clin. Path. 1975: 28: 592.

36. Hoe, C.: Liver function tests. In: Textbook of Veterinary Clinical Pathology, ed. Medway, Prierand and Wilkinson. Wilkins, Baltimore, 1969.