



Endotoksemi Şekillendirilmiş Ratlarda Marbofloksasin, Diklofenak Sodyum ve Metilprednizolonun Serum Biyokimyasal Değerler Üzerine Etkisi

Ahmet Cihat ÖNER^{1,*} Ali ŞAHİN²

¹ Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pharmacology and Toxicology, 65080, Van, Turkey

² Karamanoğlu Mehmet Bey University, Faculty of Health Sciences, Department of Nursing, 70100, Karaman, Turkey

Received: 04.06.2021

Accepted: 15.10.2021

ÖZ

Escherichia coli'den türetilen lipopolisakkarit (LPS), sepsis ve septik şok için bir model olarak yaygın olarak kullanılmıştır. Çalışmamızda LPS ile deneysel endotoksemi oluşturulan ratlarda, marbofloksasin, diklofenak sodyum, metilprednizolon kullanılarak, bu ilaçların organ yetmezliğinin indirekt belirteçleri olan alkalin fosfat (ALP), alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), gama glutamil transferaz (GGT), kan üre azot (BUN), kreatinin değerleri üzerine olan etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışma için gerekli 186 adet rat, 5 gruba ayrıldı. Kontrol grubundan 0. saatte kan örnekleri alındı. Ratlarda endotoksemi oluşturmak amacı ile intraperitoneal (IP) yolla LPS (4mg/rat) uygulandı. Gelişen endotoksemiye tedavi etmek için marbofloksasin IP yolla 100 mg/kg, diklofenak sodyum IP yolla 10 mg/kg, metilprednizolon IP yolla 10 mg/kg dozunda uygulandı. Daha sonra 1, 2, 4, 8, 12 ve 24. saatlerde tiyopental anestezisi altında kan örnekleri alınarak biyokimyasal değerler ölçüldü. Çalışmada serum ALP, ALT, AST, GGT, BUN ve kreatinin düzeylerinin LPS uygulaması ile arttığı ($P<0.05$) ve sepsiste beklenen etkinin şekillendiği tespit edildi. Sepsis tedavisinde, metilprednizolon dışında diğer ilaçların tek başlarına kullanılmayacağı ancak kombine uygulamanın tercih edilebileceği sonucuna ulaşıldı.

Anahtar Kelimeler: Diklofenak sodyum, Endotoksemi, Metilprednizolon.

ABSTRACT

Effects of Marbofloxacin, Diclofenac Sodium and Methylprednisolone on Serum Biochemical Values in Endotoxemia-Shaped Rats

Escherichia coli-derived lipopolysaccharide (LPS) has been used extensively as a model for septic shock and sepsis. In our study, it was aimed to induce experimental endotoxemia in rats by using LPS and the effects of marbofloxacin, diclofenac sodium and methylprednisolone on alkaline phosphatase (ALP), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), gamma glutamyl transferase (GGT), blood urea nitrogen (BUN), creatinine, which are indirect indicators of organ insufficiency, were assessed. 186 rats were divided into 5 groups. Blood samples were obtained from control group at 0 h. To shape endotoxemia, LPS was administered at a dose of 4 mg/rat via intraperitoneally (IP). Marbofloxacin (100 mg/kg, IP), diclofenac sodium (10 mg/kg, IP) and methylprednisolone (10 mg/kg, IP) were administered at dosage for the treatment of developing endotoxemia. Blood samples were collected under thiopental anesthesia at 1, 2, 4, 8, 12 and 24 h. They were analyzed biochemical levels. In the study, it was determined that serum ALP, ALT, AST, GGT, BUN and creatinine levels increased with LPS application ($P<0.05$) and the expected effect in sepsis was formed. As a result, LPS administration caused sepsis and it had several effects observed in the kidney and liver. It was concluded that in the treatment of sepsis, drugs other than methylprednisolone cannot be used alone, but combined application can be preferred.

Keywords: Diclofenac sodium, Endotoxemia, Methylprednisolone.

GİRİŞ

Dolaşımda endotoksin bulunmasına endotoksemi ismi verilir. Bu endotoksinler gram negatif bakterilerin veya gram negatif enterik bakterilerin hücre duvarı bileşeni olan lipopolisakkaritlerin (LPS) intestinal mukozal bariyeri aşması sonucu açığa çıkmaktadır (Hart ve MacKay 2015).

Meydana gelen olgu öncelikle sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS), sepsis ve septik şok olarak gelişir. Yeni doğan çiftlik hayvanlarında septisemi genellikle önemli morbitite ve mortalite nedenleri olan *Escherichia coli* ve *Salmonella spp.* ile ilişkilidir. *E. coli*, septisemik buzağlarda en sık kan dolaşımından izole edilen bir bakteridir, ancak septisemik buzağların%10'unda gram pozitif bakteri



ve%28'inde polimikrobiyal enfeksiyon saptanmıştır (Constable ve ark. 2017, Bonelli ve ark. 2018; Pardon ve Perez 2018).

Bakterilerin toksinlerine karşı gelişen hücresele immun cevap, normal koşullarda konağı enfeksiyondan koruyabilirken hücresele cevabın aşırı tepkisi konak için olumsuz sonuçlar doğurabilmektedir. Bu nedenle sepsisin patogenezi, proinflatuvar ve antiinflatuvar eşitsizlik sendromu olarak ta tanımlanabilmektedir. Proinflatuvar ve antiinflatuvar dengenin bozulmasının konağa zarar verdiği düşünülmektedir (Camcıoğlu ve Aytac 2007; Boscolo ve ark. 2008).

Başarılı sepsis tedavisi, intravenöz olarak uygulanan geniş spektrumlu, bakterisidal bir ilaçla tedavinin hızlı bir şekilde başlatılmasını gerektirir (Pardon ve Perez 2018). Sepsis/endotoksemi ve bunlara bağlı şok olgularının tedavisinde, çeşitli ilaçlar/ajanlar denenmiştir. Son 20 yıl içerisinde de sepsisin fizyopatolojisi üzerinde araştırmalar yoğunlaşmış, buna bağlı olarak çeşitli ilaç kombinasyonları denenmiştir. Son yıllarda yapılan deneysel araştırmalarda antibiyotik, glukokortikoid, nonsteroid antiinflatuvar ilaç (NSAID) veya kombinasyon (antibiyotik + glukokortikoid + NSAID) uygulamalarının olumlu sonuçları belirlenmiştir (Elmas ve ark. 2008, Yazar ve ark. 2009; Yazar ve ark. 2010).

Sepsis çalışmalarında en sık denenilen ve sahada bu olgularda en çok kullanılan antibiyotiklerden olan florokinolonlar bakterilerde DNA-jirazın etkinliğini engelleyerek etkinlik gösteren geniş etki spektrumlu antibiyotiklerdir. Florokinolonlar, özellikle gram (-) bakteriler ve *Staphylococcus* türlerine karşı etki etmektedir (Traş ve ark. 2007; Yazar ve ark. 2009).

Non-steroid antiinflatuvar ilaçlar (NSAID) NF-KB'nin etkinliğini engelleyerek, proinflatuvar sitokinler, iNOS ve COX oluşumunu engeller (Meduri 1999; Yazar ve ark. 2009). Bu bilinen etkileri düşünülerek çalışmalar gerçekleştirilse de sepsiste kullanılması hekimler arasında tartışmalı bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır.

Deneysel septik şok modellerinde glukokortikoid uygulamalarının her zaman olumlu etkileri bildirilmiştir (Traş ve ark. 2007; Yazar ve ark. 2009). Sepsis tedavisi için glukokortikoidlerin kullanımında doz ve sağkalım oranının lineer doğrultuda olduğu saptanmıştır. Bu da glukokortikoidlerin kullanımının sepsis süresince doza bağımlı olduğunu göstermektedir (Minneci ve ark. 2004; Yarema ve Yost 2011).

Bu çalışmada LPS ile deneysel endotoksemi oluşturulan ratlarda, florokinolon grubu antibiyotiklerden marbofloksasin (MAR), NASID grubundan diklofenak sodyum (DS) ve glukokortikoid grubu ilaçlardan metilprednizolonun (MPRED) tek veya kombine kullanımlarının biyokimyasal parametreler üzerine olası etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Araştırmada Sprague - Dawley ırkı ratlardan 93 erkek, 93 dişi, her bir grupta 6 denek olmak üzere, toplam 186 adet rat kullanıldı. Deney hayvanları Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi'nden temin edildi. Çalışma Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulu tarafından alınan karar ile 11.04.2012 tarih ve 2012/35 numaralı izinle yürütüldü.

Biyokimyasal ölçümler için, AST kiti (IL Test AST, Milano, İtalya), ALT kiti (IL Test ALT, Milano, İtalya), ALP kiti (IL Test ALP, Milano, İtalya), BUN kiti (IL Test BUN, Milano,

İtalya), kreatinin kiti (IL Test Creatinine, Milano, İtalya) kullanıldı.

Çalışmada 0.saat olarak ayrılan hayvanlar hiçbir ilaç uygulaması yapılmadan kontrol grubu olarak kullanıldı. Çalışma planı doğrultusunda hiçbir ilaç uygulaması yapılmadan tiyopental anestezisi (70 mg/kg IP) altında uyutularak (Lukashenko ve ark. 2004) kalpten kanları alındı, sonra servikal dislokasyon yöntemi ile ötenazi edildi. Bu örneklemeden elde edilen veriler bütün gruplar için 0. (kontrol) grubu verisi olarak değerlendirildi.

Diğer gruplar ise LPS, LPS+Marbofloksasin (MAR), LPS+ Diklofenak Sodyum (DS), LPS + MetilPrednizolon (MPRED) ve LPS + Komibnasyon (KOMBİN) olmak üzere adlandırıldı. İlaç uygulamaları sonrası 1, 2, 4, 8, 12 ve 24. saatlerde kalpten anestezisi altında kanları alındı ve servikal dislokasyon yöntemi ile ötenazi uygulandı.

Deney hayvanlarına sepsis oluşturmak amaçlandığı için, deney LPS verilmesi ardından ilaç uygulaması şeklinde yapıldı. LPS 4 mg/rat dozunda serum fizyolojik (SF) ile sulandırılarak uygulandı. Marbofloksasin 100 mg/kg, diklofenak sodyum 10 mg/kg ve metilprednizolon 10 mg/kg dozda kullanıldı (Yazar ve ark. 2009).

İstatistik Analiz

Tüm grupların her bir örnekleme zamanına ait veriler One-Way Anova testi ile değerlendirildi. Önemli çıkan zamanlar/gruplar içi farkın önemliliği ise Duncan testi ile değerlendirildi (SPSS® v.19 Evaluation Version for Windows, IBM).

BULGULAR

ALP düzeyinin 4 ve 12. saatleri dışında sadece LPS uygulanan grup ile LPS + ilaç uygulanan gruplar arasında farkın istatistiki açıdan önemli olmadığı ($P>0.05$) belirlendi. Ayrıca 4. saatte metilprednizolon, 12. saatte ise metilprednizolon ve kombinasyon uygulamasının LPS uygulamasından farklı olduğu ve yükselen ALP seviyesini önemli ölçüde ($P<0.05$) düşürdüğü belirlendi. Her bir grubun saatler arasındaki farkına bakıldığı zaman sadece kombinasyon uygulanan grupta saatler arasında istatistiki bir fark olmadığı ($P>0.05$), diğer gruplarda ise farklılık olduğu ($P<0.05$) gözlemlendi (Tablo 1).

Serum AST seviyesi üzerinde, gruplar arasında 4, 12 ve 24. saatler dışında istatistiksel olarak fark ($P<0.05$) olmasına rağmen marbofloksasin, metilprednizolon ve kombinasyon uygulamasının LPS ile yükselen AST seviyesini düşürmediği ve istatistiksel olarak benzer olduğu ($P>0.05$) fakat diklofenak sodyum uygulamasının 8. saatte LPS'den farklı ($P<0.05$) olduğu ve AST düzeyini düşürdüğü belirlendi. Her bir grubun saatler arasındaki farkına bakıldığı zaman sadece diklofenak uygulanan grupta saatler arasında istatistiki bir fark olmadığı ($P>0.05$), diğer gruplarda ise farklılık olduğu ($P<0.05$) gözlemlendi (Tablo 2).

Serum ALT düzeyi üzerinde LPS uygulaması sonrası 8. saatte pik gözlemlendi, yükselmenin 4. saatten itibaren 24 saat boyunca devam ettiği, 4. saatte diklofenak sodyum, 8. saatte ise marbofloksasin ve diklofenak sodyum uygulamasının LPS'den farklı ($P<0.05$) olduğu ve serum ALT düzeyini düşürdüğü, diğerlerinin LPS'den farklı olmadığı ($P>0.05$) belirlendi. Saatler arasında grupların karşılaştırılmasında ise sadece 4 ve 8. saatler arasında gruplar arasında fark olduğu ($P<0.05$) diğer saatlerde ise gruplar arasında istatistiksel bir fark olmadığı belirlendi. Her bir grubun saatler arasındaki farkına bakıldığı zaman ise tüm gruplarda istatistiki olarak farklılık olduğu ($P<0.05$) gözlemlendi (Tablo 3).

Serum GGT düzeyinin 1. ve 2. saatte tüm gruplar arasında istatistiksel açıdan bir fark ($P>0.05$) bulunamamıştır. Metilprednizolon ile LPS uygulamaları arasında 4. saatte fark olduğu ($P<0.05$) yükselen GGT düzeyinin düştüğü, 8. saatte marbofloksasin, metilprednizolon ve kombinasyon uygulamalarının LPS'den farklı olduğu ($P<0.05$) GGT düzeyinin düşürdüğü, 12 ve 24. saatte ise bütün uygulamaların LPS'den farklı olduğu ($P<0.05$) ve serum GGT düzeyini düşürdükleri tespit edildi. Her bir grubun saatleri arasındaki farkına bakıldığı zaman sadece diklofenak ve kombinasyon uygulanan gruplarda saatler arasında istatistiksel bir fark olmadığı ($P>0.05$), diğer gruplarda ise farklılık olduğu ($P<0.05$) gözlemlendi (Tablo 4).

Böbrek hasarı belirteçlerinden BUN düzeyinin LPS uygulaması sonrasında kademeli şekilde yükseldiği ($P<0.05$), 12 ve 24. saatlerde en yüksek değerine ulaştığı belirlendi. Diklofenak sodyumun LPS düzeyini diğer ilaç uygulamalarına göre 1 ve 2. saatte düşürdüğü fakat istatistiksel olarak farklı olmadığı ($P>0.05$) gözlemlendi.

Dördüncü saatte metilprednizolon uygulamasının, 8. saatte kombinasyon uygulaması hariç diğer uygulamaların, 12. saatte metilprednizolon ve kombinasyon uygulamasının ve 24. saatte marbofloksasin ile metilprednizolon uygulamalarının LPS'den farklı olduğu ($P<0.05$) ve BUN düzeyini düşürdüğü tespit edildi. Her bir grubun saatler arasındaki farkına bakıldığı zaman sadece kombinasyon uygulanan grupta saatler arasında istatistiksel bir fark olmadığı ($P>0.05$), diğer gruplarda ise farklılık olduğu ($P<0.05$) gözlemlendi (Tablo 5).

Kreatinin düzeyi incelendiğinde, diklofenak sodyum ile kombinasyon uygulamasının 1 ve 2. saatte, 4. saatte yalnız kombinasyon uygulamasının, 12. saatte metilprednizolon ve kombinasyon uygulamasının, 24. saatte ise bütün uygulamaların LPS'den farklı olduğu ($P<0.05$) ve yükselen kreatinin değerini düşürdüğü belirlendi. 8. saatte ise uygulamalar arası fark olmadığı ($P>0.05$) ve LPS uygulaması ile benzer değerlere sahip olduğu belirlendi (Tablo 6).

Tablo 1. Endotoksemik ratlarda LPS, LPS+MARBO, LPS+DS, LPS+MPRED ve LPS+KOMBİN gruplarında ALP ortalamaları ve çoklu karşılaştırma testi sonuçları (IU/L).

Table 1. Means of ALP and multiple comparison test results (IU/L) in LPS, LPS+MARBO, LPS+DS, LPS+MPRED and LPS+COMBIN groups in endotoxemic rats.

GRUPLAR	$\bar{X} \pm S \bar{x}$							P
	0. saat	1. saat	2. saat	4. saat	8. saat	12. saat	24. saat	
LPS	132±12.5 ^w	169±26.5 ^{wx}	277±24.1 ^{xy}	315±25.3 ^{by}	259±42.5 ^{wxy}	502±67.4 ^{bz}	308±97.4 ^y	**
LPS+MARBO	132±12.5 ^w	121±19.9 ^w	230±13.0 ^{wx}	231±43.8 ^{abwx}	173±40.7 ^w	405±150 ^{bx}	179±19.8 ^w	*
LPS+DS	132±12.5 ^w	173±11.6 ^w	216±25.7 ^w	273±84.5 ^{abwx}	202±60.0 ^w	413±81.5 ^{bx}	325±211 ^{wx}	*
LPS+MPRED	132±12.5 ^{wx}	163±12.3 ^{wx}	312±149 ^x	169±17.2 ^{awx}	196±21.1 ^{wx}	113±11.9 ^{aw}	134±32.2 ^{wx}	*
LPS+KOMBİN	132±12.5	148±18.8	157±15.2	184±18.6 ^{ab}	142±17.7	146±25.8 ^a	163±24.1	-
P	-	-	-	*	-	*	-	

-, $P>0.05$, *, $P<0.05$, **, $P<0.01$.

a,b; Aynı sütun da gösterilen ortalamalar arasında farklılıklar önemlidir.

x,w,y,z; Aynı satırda gösterilen ortalamalar arasında farklılıklar önemlidir.

Tablo 2. Endotoksemik ratlarda LPS, LPS+MARBO, LPS+DS, LPS+MPRED ve LPS+KOMBİN gruplarında AST ortalamaları ve çoklu karşılaştırma testi sonuçları (IU/L).

Table 2. Means of AST and multiple comparison test results (IU/L) in LPS, LPS+MARBO, LPS+DS, LPS+MPRED and LPS+COMBIN groups in endotoxemic rats.

GRUPLAR	$\bar{X} \pm S \bar{x}$							P
	0. saat	1. saat	2. saat	4. saat	8. saat	12. saat	24. saat	
LPS	148±34.1 ^{wx}	126±6.00 ^{abw}	167±23.7 ^{abwx}	366±70.7 ^x	358±107 ^{bx}	92.8±92.8 ^w	173±106 ^{wx}	*
LPS+MARBO	148±34.1 ^{wx}	132±18.7 ^{abwx}	108±11.4 ^{awx}	223±66.9 ^x	143±29.6 ^{abwx}	72.0±35.5 ^w	363±67.3 ^y	**
LPS+DS	148±34.1	93.8±7.60 ^a	159±32.1 ^{ab}	205±32.3	55.8±45.8 ^a	252±157	217±174	-
LPS+MPRED	148±34.1 ^w	138±12.6 ^{bw}	191±23.4 ^{bw}	242±37.5 ^{wx}	365±84.8 ^{bx}	215±25.9 ^w	173±50.4 ^w	*
LPS+KOMBİN	148±34.1 ^{wx}	130±16.3 ^{abw}	147±12.1 ^{abwx}	206±35.6 ^{wx}	272±82.4 ^{abwx}	307±83.3 ^x	246±24.9 ^{wx}	*
P	-	*	*	-	*	-	-	

-, $P>0.05$, *, $P<0.05$, **, $P<0.01$.

a,b; Aynı sütun da gösterilen ortalamalar arasında farklılıklar önemlidir.

x,w,y; Aynı satırda gösterilen ortalamalar arasında farklılıklar önemlidir.

Tablo 3. Endotoksemik ratlarda LPS, LPS+MARBO, LPS+DS, LPS+MPRED ve LPS+KOMBİN gruplarında ALT ortalamaları ve çoklu karşılaştırma testi sonuçları (IU/L).

Table 3. Means of ALT and multiple comparison test results (IU/L) in LPS, LPS+MARBO, LPS+DS, LPS+MPRED and LPS+COMBIN groups in endotoxemic rats.

GRUPLAR	$\bar{X} \pm S \bar{x}$							P
	0. saat	1. saat	2. saat	4. saat	8. saat	12. saat	24. saat	
LPS	43.3±9.30 ^w	40.6±5.26 ^w	81.8±13.9 ^w	227±48.7 ^{bw^x}	380±135 ^{bx}	108±101 ^w	168±109 ^{w^x}	*
LPS+MARBO	43.3±9.30 ^w	38.1±4.08 ^w	59.8±5.07 ^w	135±41.8 ^{abw^x}	70.5±17.2 ^{aw}	57.8±20.6 ^w	218±73.0 ^x	**
LPS+DS	43.3±9.30 ^w	42.3±2.72 ^w	48.6±10.2 ^w	92.0±16.5 ^{aw^x}	28.0±16.2 ^{aw}	300±184 ^x	102±70.5 ^{w^x}	**
LPS+MPRED	43.3±9.30 ^w	46.1±4.46 ^w	78.0±17.1 ^w	135±18.6 ^{abw}	259±81.1 ^{abx}	112±19.7 ^w	61.3±24.8 ^w	*
LPS+KOMBİN	43.3±9.30 ^w	43.1±4.82 ^w	56.3±3.58 ^{w^x}	75.17±9.6 ^{aw^x}	164±82.5 ^{abx}	132±43.5 ^{w^x}	137±14.6 ^{w^x}	*
P	-	-	-	*	*	-	-	

-; P>0.05, *, P<0.05, **, P<0.01.

a,b; Aynı sütun da gösterilen ortalamalar arasında farklılıklar önemlidir.

x,w; Aynı satırda gösterilen ortalamalar arasında farklılıklar önemlidir.

Tablo 4. Endotoksemik ratlarda LPS, LPS+MARBO, LPS+DS, LPS+MPRED ve LPS+KOMBİN gruplarında GGT ortalamaları ve çoklu karşılaştırma testi sonuçları (IU/L).

Table 4. Means of GGT and multiple comparison test results (IU/L) in LPS, LPS+MARBO, LPS+DS, LPS+MPRED and LPS+COMBIN groups in endotoxemic rats.

GRUPLAR	$\bar{X} \pm S \bar{x}$							P
	0. saat	1. saat	2. saat	4. saat	8. saat	12. saat	24. saat	
LPS	2.00±0.52 ^w	3.00±0.52 ^{w^x}	7.00±1.07 ^{w^x}	6.83±0.87 ^{bw^x}	9.83±1.30 ^{bx}	30.2±4.29 ^{cz}	19.0±6.68 ^{by}	***
LPS+MARBO	2.00±0.52 ^w	3.83±0.17 ^w	3.60±1.03 ^w	6.00±1.63 ^{bw}	4.33±1.05 ^{aw}	15.3±4.90 ^{bx}	3.83±0.40 ^{aw}	**
LPS+DS	2.00±0.52	23.6±21.2	6.00±1.00	6.20±1.02 ^b	9.17±2.50 ^b	13.6±2.56 ^b	9.00±9.00 ^a	-
LPS+MPRED	2.00±0.52 ^w	2.50±0.22 ^w	6.83±1.92 ^x	2.83±0.60 ^{aw}	3.50±0.99 ^{aw}	3.00±0.45 ^{aw}	3.50±1.23 ^{aw}	*
LPS+KOMBİN	2.00±0.52	3.00±0.26	4.17±0.83	3.67±0.42 ^{ab}	2.00±0.37 ^a	3.00±1.29 ^a	2.83±0.54 ^a	-
P	-	-	-	*	**	***	**	

-; P>0.05, *, P<0.05, **, P<0.01, ***, P<0.001.

a,b,c; Aynı sütun da gösterilen ortalamalar arasında farklılıklar önemlidir.

x,w,y,z; Aynı satırda gösterilen ortalamalar arasında farklılıklar önemlidir.

Tablo 5. Endotoksemik ratlarda LPS, LPS+MARBO, LPS+DS, LPS+MPRED ve LPS+KOMBİN gruplarında BUN ortalamaları ve çoklu karşılaştırma testi sonuçları (IU/L).

Table 5. BUN averages and multiple comparison test results (IU/L) in LPS, LPS+MARBO, LPS+DS, LPS+MPRED and LPS+COMBIN groups in endotoxemic rats.

GRUPLAR	$\bar{X} \pm S \bar{x}$							P
	0. saat	1. saat	2. saat	4. saat	8. saat	12. saat	24. saat	
LPS	56.6±5.21 ^w	57.6±3.97 ^{abw}	64.1±7.25 ^{abw}	86.3±6.97 ^{bw}	102±12.6 ^{bw}	190±12.7 ^{bx}	190±60.2 ^{bx}	***
LPS+MARBO	56.6±5.21 ^w	71.1±3.57 ^{bw}	61.6±10.8 ^{abw}	81.0±12.7 ^{abw}	62.6±14.6 ^{aw}	140±42.5 ^{abx}	75.8±12.9 ^{aw}	*
LPS+DS	56.6±5.21 ^w	54.3±5.30 ^{aw}	50.3±4.63 ^{aw}	73.4±12.1 ^{abw}	57.0±9.93 ^{aw}	137±23.1 ^{abx}	151±125 ^{abx}	**
LPS+MPRED	56.6±5.21 ^w	67.5±1.84 ^{abw^x}	80.0±6.60 ^{bx}	55.1±2.73 ^{aw}	54.5±3.68 ^{aw}	67.1±5.13 ^{aw^x}	50.6±8.94 ^{aw}	**
LPS+KOMBİN	56.6±5.21	72.5±7.43 ^b	67.8±4.69 ^{ab}	63.5±3.68 ^{ab}	73.5±5.66 ^{ab}	86.3±27.2 ^a	99.8±21.5 ^{ab}	-
P	-	*	*	*	*	*	*	

-; P>0.05, *, P<0.05, **, P<0.01, ***, P<0.001.

a,b; Aynı sütun da gösterilen ortalamalar arasında farklılıklar önemlidir.

x,w; Aynı satırda gösterilen ortalamalar arasında farklılıklar önemlidir.

Tablo 6. Endotoksemik ratlarda LPS, LPS+MARBO, LPS+DS, LPS+MPRED ve LPS+KOMBİN gruplarında kreatinin ortalamaları ve çoklu karşılaştırma testi sonuçları (IU/L).

Table 6. Creatinine mean and multiple comparison test results (IU/L) in LPS, LPS+MARBO, LPS+DS, LPS+MPRED and LPS+COMBIN groups in endotoxemic rats.

GRUPLAR	$\bar{X} \pm S \bar{x}$							P
	0. saat	1. saat	2. saat	4. saat	8. saat	12. saat	24. saat	
LPS	0.36±0.04 ^w	0.71±0.05 ^{bw}	0.63±0.07 ^{cw}	0.63±0.08 ^{bw}	0.72±0.13 ^w	1.24±0.19 ^{bx}	1.36±0.49 ^{bx}	**
LPS+MARBO	0.36±0.04 ^w	0.71±0.05 ^{bw}	0.47±0.05 ^{abcw}	0.48±0.09 ^{abwx}	0.49±0.09 ^{wx}	0.84±0.29 ^{abx}	0.59±0.05 ^{awx}	*
LPS+DS	0.36±0.04 ^w	0.45±0.03 ^{aw}	0.41±0.07 ^{abw}	0.45±0.03 ^{abw}	0.55±0.14 ^w	0.98±0.19 ^{abx}	0.43±0.37 ^{aw}	**
LPS+MPRED	0.36±0.04 ^w	0.67±0.01 ^{by}	0.56±0.06 ^{bcxy}	0.45±0.02 ^{abwx}	0.61±0.03 ^{xy}	0.51±0.06 ^{awxy}	0.45±0.10 ^{awx}	**
LPS+KOMBİN	0.36±0.04 ^w	0.52±0.02 ^{ax}	0.35±0.01 ^{aw}	0.36±0.01 ^{aw}	0.54±0.06 ^x	0.55±0.09 ^{ax}	0.66±0.05 ^{ax}	***
P	-	***	**	*	-	*	*	

-; P>0.05, *, P<0.05, **, P<0.01, ***, P<0.001.

a,b,c; Aynı sütun da gösterilen ortalamalar arasında farklılıklar önemlidir.

x,w,y; Aynı satırda gösterilen ortalamalar arasında farklılıklar önemlidir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Sepsis ve septik şok olguları hem veteriner sahada hem de beşerî hekimlik alanında önde gelen mortalite nedeni olmaya devam etmektedir. Sepsis; patogenezi gram-negatif ve gram-pozitif bakteriler ve mantarlar ya da her ikisinin de şiddetlenen inflamatuvar yanıtı ile enfeksiyonun bir arada olduğu durumdur. Sepsis ile yapılan büyük mücadelelere rağmen, dünya çapında yılda 8 milyon ölüm gözlenmektedir (Dawulieti ve ark. 2020; Prauchner 2020).

Organizmanın immünolojik savunma mekanizmalarında çok önemli rol oynadığı için sepsis durumunda en çok etkilenen organın karaciğer olduğu düşünülmektedir (Pastor ve ark. 1995; James ve ark. 2002). AST tüm hayvanlarda yumuşak doku nekrozunun nonspesifik indikatörüdür. Serum ALT'nin en spesifik aktivitesi karaciğerdedir. Bu nedenle karaciğer hasarı belirteci olarak kullanılır. Köpek ve kedilerde karaciğer hasarının teşhisinde ALT spesifik bir değerdir. ALT karaciğer hasarında AST'den daha fazla yükselir. Özellikle akut hepatit ve steroid hepatopatisinde miktarı artar. Karaciğer hasarı meydana geldiğinde artan diğer bir enzim ise GGT'dir. İnsanlarda hepatik siroz, hepatik karsinomda GGT miktarı yükselir. ALP testi genelde safra salgısı bozukluklarında, safra yolları tıkanıklıklarında, karaciğer hastalıklarında kullanılan bir parametredir. ALP, vücutta en fazla bulunan enzimlerden biridir. Serum ALP aktivitesi septisemi ve endotoksemide, karaciğer hasarı nedeni ile normal üst sınırın birkaç katı yükselebilir (Turgut 2000; Kerr 2002; Swarnalatha ve ark. 2020).

Deneyisel sepsis/septik şok modellerinde ve gerçek hastalarda yapılan araştırmalarda, genellikle bir ilaç için, bir veya birkaç doz örnekleme yapılmaktadır. Gerçek hastalarda yapılan incelemelerde ise kontrol gruplarının farklılığı bir diğer problemi oluşturmaktadır. Ayrıca septik şokun ilk ve son dönemi ile ölen veya yaşayan hastalarda kan parametrelerinde çok farklı sonuçlar elde edildiği bildirilmektedir (Yazar ve ark. 2009). Bu araştırmada 24 saat süresince aralıklı kan alınarak (1 - 2 - 4 - 8 - 12 ve 24. saatlerde) organ hasarı belirteçleri incelenmiştir.

Karaciğer yetmezliğinin sepsiste erken dönemde oluştuğu ve LPS uygulaması sonucu serum aminotrasferazlarda artışlar ile karaciğer hasarına neden olduğu bildirilmektedir (Berger ve Chiolo 2007). Yazar ve ark.

(2009; 2010)'nın yaptıkları çalışmalarda LPS uygulaması sonrası karaciğer enzimlerinde belirgin düzeyde artış bildirilmiştir. LPS uygulamasının tavşan (Elmas ve ark. 2006; Elmas ve ark. 2008) ve ratlarda (Yazar ve ark. 2004) serum AST, ALT ve GGT düzeyini artırdığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmada da karaciğer hasarı belirteçleri olan serum AST, ALT, GGT ve safra kanalı hasarı belirteci olan serum ALP düzeyleri değerlendirildiğinde, adı geçen parametrelerin LPS uygulaması ile arttığı (P<0.05) ve sepsiste beklenen etkinin şekillendiği tespit edildi. Bu sonuçlar yapılan diğer çalışmalar (Yazar ve ark. 2004; Elmas ve ark. 2006) ile paralellik göstermektedir. Sonuçlar aynı zamanda LPS uygulaması ile karaciğer ve safra kanalı hasarının oluştuğunu da göstermektedir.

Tavşanlarda LPS uygulaması sonrasında yükselen ALT düzeyinin, prednizolon uygulanması ile engellendiği belirlenmiştir (Yazar ve ark. 2004). Mevcut çalışmada gelişen karaciğer ve safra kanalı hasarını önlemede, incelenen tüm karaciğer enzimleri ve serum ALP düzeyi dikkate alındığında, metilprednizolon ve kombinasyon uygulamasının başarılı olduğu ve sağlıklı bireyler kadar olmasa da olumlu sonuçlar verdiği tespit edildi. ALT düzeyi ölçümünde metilprednizolon uygulaması ile 4, 8 ve 12. saatlerde yükselme tespit edildi. Bu yükselmenin metilprednizolon uygulamasına bağlı olarak şekillenebilecek steroid hepatopatisinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Metilprednizolon ve kombinasyon uygulamasının yükselen karaciğer enzimlerini düşürmede etkili olmasındaki nedenin karaciğerde Serbest Oksijen Radikalleri (SOR) ve sitokin üretimine engel olabilmemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sepsis vb durumlarda serum üre (veya kan üre azotu) ve kreatinin artışları yaygındır ve kreatinin konsantrasyonunda küçük bir artış bile kritik hastalığı olan hastalarda daha kötü sonuçlarla ilişkilidir (Lelubre ve Vincent 2018). Böbrek hasarı belirteçleri serum BUN ve kreatinin düzeyinin LPS uygulanan laboratuvar hayvanlarında yükseldiği bildirilmiştir (Wang ve ark. 2004; Yazar ve ark. 2004; Wedn ve ark. 2020). Üre, nitrojen amonyak metabolizmasının son ürünü olarak, kreatinin ise kreatin fosfatın nonenzimatik parçalanması sonrası son ürün olarak kana geçer. BUN düzeyinin kedilerde ve bazı atlarda 15 mmol/L'ye kadar yükseldiği, BUN için üst sınırın 30 mg/dL, kreatinin için ise üst sınırın 2 mg/dL olabileceği bildirilmiştir (Turgut 2000; Kerr

2002). Yazar ve ark. (2009)'nın yaptığı çalışmada flunixin meglumin uygulamasının LPS uygulanan ratlarda yükselen BUN seviyesini değiştiremediği, dekzametazonun ise tek başına ve kombine uygulamada etkili olarak BUN düzeyini yükseltmeye engel olduğu bildirilmektedir.

Mevcut çalışmada LPS uygulanmasının ardından dereceli bir BUN yükselmesi gözlemlendi. Serum BUN düzeyi 12 ve 24. saatlerde maksimum seviyesine ulaştı. 12. saatte yükselen BUN seviyesini metilprednizolon uygulamasının düşürdüğü ($P<0.05$), 24. saatte ise metilprednizolon ve marbofloksasin uygulamasının etkili olduğu ve BUN seviyesini düşürdüğü ($P<0.05$) belirlendi. Çalışmada kreatinin düzeyi LPS uygulamasının 24. saatinde sağlıklı bireylere oranla 4 kat ve üzerinde yükseldi. LPS uygulaması ile yükselen kreatinin düzeyini 24. saatte bütün uygulamaların düşürdüğü ($P<0.05$) belirlendi. Ancak kreatinin ilk saatleri göz önüne alındığında LPS'den kombinasyon uygulaması dışında diğer uygulamaların farkının olmadığı ($P>0.05$) gözlemlendi. Metilprednizolon'un böbrek hasarı üzerindeki etkisinin yine karaciğer üzerindeki etkisinde olduğu gibi SOR ve sitokin üretimine engel olmasına bağlı olduğu düşünüldü.

Sonuç olarak, LPS ile deneysel endotoksemi şekillendirilen bu çalışmada doğal olarak şekillenen sepsise benzer biyokimyasal bulgular elde edildi. Bu sonuçlara bağlı olarak IP yolla enjekte edilen marbofloksasin ile diklofenak sodyum uygulamaların tek başlarına sepsis tedavisinde etkisinin olmadığı belirlendi. Metilprednizolon uygulamasının sepsiste etkili olabileceği ancak tek başına kullanılamayacağı kanaatine varıldı. Kombinasyon uygulamasının %100 tedavi sağlamasına da etkisinin göz ardı edilmeyecek derecede iyi olduğu ve sepsis ile septik şok olgularında kullanım alanı bulabileceği sonucuna ulaşıldı.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu çalışma için herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

TEŞEKKÜR VE BİLGİLENDİRME

Bu araştırma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından 2010-SBE-D174 no'lu proje ile desteklenmiştir. Bu çalışma Ahmet Cihat ÖNER isimli yazarın doktora tezinden elde edilen veriler ile gerçekleştirilmiş olup "IV. Ulusal Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi" isimli kongrede poster sunu olarak sunulmuş, kongre kitabına özet metin olarak basılmıştır.

YAZAR KATKILARI

Fikir/Kavram: ACÖ
Denetleme/Danışmanlık: AŞ
Veri Toplama ve/veya İşleme: ACÖ
Analiz ve/veya Yorum: ACÖ
Makalenin Yazımı: ACÖ, AŞ
Eleştirel İnceleme: AŞ

KAYNAKLAR

Berger MM, Chiolero RL (2007). Antioxidant supplementation in sepsis and systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med*, 35, 584-590.

- Bonelli F, Meucci V, Divers TJ, Boccardo A, Pravettoni D ve ark. (2018). Plasma procalcitonin concentration in healthy calves and those with septic systemic inflammatory response syndrome. *Vet J*, 234, 61-65.
- Boscolo P, Youinou P, Theoharides TC, Cerulli G, Conti P (2008). Environmental and occupational stress and autoimmunity. *Autoimmun Rev*, 7, 340-343.
- Camcıoğlu Y, Aytaç E (2007). Sepsisin İmmunopatogenezi. *Türk Yoğun Bakım Dergisi*, 5, 81-85.
- Constable PD, Kenneth W, Hinchcliff KW, Done SH, Grünberg W (2017). *Veterinary Medicine. A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses*. 11th ed., Saunders, Missouri.
- Dawulieti J, Sun M, Zhao Y, Shao D, Yan H, et all (2020). Treatment of severe sepsis with nanoparticulate cell-free DNA scavengers. *Sci Adv*, 6, 7148.
- Elmas M, Yazar E, Uney K, Er Karabacak A (2006). Influence of Escherichia coli endotoxin induced endotoxaemia on the pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous administration in rabbits. *J Vet Med A*, 53, 410-414.
- Elmas M, Yazar E, Uney K, Er Karabacak A, Traş B (2008). Pharmacokinetics of enrofloxacin and flunixin meglumine and interactions between both drugs after intravenous co-administration in healthy and endotoxaemic rabbits. *Vet J*, 177, 418-424.
- Hart KA, MacKay RJ (2015). Endotoxaemia and sepsis. In: Smith BP (Editor). *Large Animal Internal Medicine* (pp.682-695). 5th Edition, St.Louis, Missouri: Elsevier.
- James PE, Madhani M, Roebuck W, Jackson SK, Swartz HM (2002). Endotoxin-induced liver hypoxia: Defective oxygen delivery versus oxygen consumption. *Nitric Oxide*, 6, 18-28.
- Kerr MG (2002). Individual enzyme interpretation (pp.101-147). *Veterinary Laboratory Medicine*, Blackwell Science, 2th edit.
- Lelubre C, Vincent JL (2018). Mechanisms and treatment of organ failure in sepsis. *Nat Rev Nephrol*, 14 (7), 417-27.
- Lukashenko PV, Lukashenko TM, Savanovich II, Sandakov DB, Gerein V (2004). Granulocyte macrophage colony-stimulating factor regulates activity of the nervous system. *Neuroimmunomodulation*, 11, 36-40.
- Meduri GU (1999). An historical review of glucocorticoid treatment in sepsis. Disease pathophysiology and the design of treatment investigation. *Sepsis*, 3, 21-38.
- Minnici PC, Deans KJ, Banks SM, Eichacker PQ, Natanson C (2004). Meta-Analysis: The effect of steroids on survival and shock during sepsis depends on the dose. *Ann Intern Med*, 141 (1), 47-58.
- Pardon B, Deprez P (2018). Rational antimicrobial therapy for sepsis in cattle in face of the new legislation on critically important antimicrobials. *Vlaams Diergen Tijds*, 87, 37-46.
- Pastor CM, Billiar TR, Losser MR, Payen DM (1995). Liver injury during sepsis. *J Crit Care Med*, 10, 183-197.
- Prauchner CA (2017). Oxidative stress in sepsis: Pathophysiological implications justifying antioxidant co-therapy. *Burns*, 43, 471-485.
- Swarnalatha Y, Sivakkumar SU, Siddharthan S (2020). Protective role of heptamethoxyflavone on LPS-induced hepatotoxicity. *Toxin Reviews*.
- Taş B, Yazar E, Elmas M (2007). Veteriner Hekimliğinde İlaç Kullanımına Pratik ve Akılcı Yaklaşım. Olgun Çelik Ofset Matbaası, Konya.
- Turgut K (2000). Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis. Bahçıvanlar A.Ş, Konya.
- Wedn AM, El-Gowilly SM, El-Mas MM (2020). Time and sex dependency of hemodynamic, renal, and survivability effects of endotoxaemia in rats. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 28, 127-135.
- Wang CC, Lee YM, Wei HP, Chu CC, Yen MH (2004). Dextromethorphan prevents circulatory failure in rats with endotoxaemia. *J Biomed Sci*, 11, 739-747.
- Yarema TC, Yost S (2011). Low-Dose Corticosteroids to Treat Septic Shock: A Critical Literature Review. *Crit Care Nurse*, 31, 16-26.
- Yazar E, Çöl R, Konyalıoğlu S ve ark. (2004). Effects of vitamin E and prednisolone on biochemical and haematological parameters in endotoxaemic New Zealand white rabbits. *B Vet J Pulawy*, 48, 105-108.
- Yazar E, Elmas M, Traş B, Uney K, Er A (2009). Septik şok tedavisinde kullanılan ilaçların şokun patofizyolojisine etkileri. Tübitak Projesi, Proje No: 1070042.
- Yazar E, Er A, Uney K, Bulbul A, Avcı GB ve ark. (2010). Effects of drugs used in endotoxaemic shock on oxidative stress and organ damage markers. *Free Rad Res*, 44, 397-402.