



Keçilerde Tolfenamik Asitin Artan Dozlarda Uygulanmasının Biyokimyasal Parametrelere Etkisi

Gül ÇETİN^{1,a,✉}, Erdinç TÜRK^{2,b}

¹Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Erzincan, TÜRKİYE

²Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Hatay, TÜRKİYE

^aORCID: 0000-0002-9408-0042; ^bORCID: 0000-0003-1735-1774

Geliş Tarihi/Received
11.11.2020

Kabul Tarihi/Accepted
21.12.2020

Yayın Tarihi/Published
31.12.2020

Öz

Bu araştırmanın amacı keçilerde tolfenamik asitin tek artan dozlarda uygulanmasını takiben biyokimyasal parametrelere etkisini belirlemektir. Çalışmada 18 adet sağlıklı keçi (2 ± 0.4 yaş ve 38 ± 3 kg vücut ağırlığı) kullanıldı. Keçilere tolfenamik asit 2, 4 ve 8 mg/kg tek doz damar içi (IV) yolla uygulandı. Kan örnekleri tolfenamik asit uygulaması öncesi ve uygulamayı takiben 72. saatte alındı. Kan örneklerinden elde edilen serumlardan albümin, alkalen fosfataz (ALP), alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), gamma glutamiltransferaz (GGT), kolesterol, kreatinin, trigliserid, total protein ve üre düzeyleri otoanalizör cihazında ölçüldü. Keçilere tolfenamik asitin 2, 4 ve 8 mg/kg dozlarda IV uygulaması sonrası grup içi ve gruplar arası değerlendirmede albümin, ALP, ALT, AST, GGT, kolesterol, kreatinin, trigliserid, total protein ve üre değerlerinde herhangi farklılık belirlenmedi ($P>0.05$). Sonuç olarak keçilerde tolfenamik asitin 2, 4 ve 8 mg/kg tek doz IV uygulamasının biyokimyasal parametrelerde önemli değişikliğe neden olmadığı belirlendi. Ancak keçilerde tolfenamik asitin güvenilirliğinin moleküler ve histopatolojik düzeyde belirlenmesine ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Biyokimyasal parametreler, keçi, tolfenamik asit

The Effect of Increasing Doses of Tolfenamic Acid on Biochemical Parameters in Goats

Abstract

The aim of this study is to determine the effect of tolfenamic acid on biochemical parameters following administration of single increasing doses in goats. In the study were used 18 healthy goats (2 ± 0.4 years old and 38 ± 3 kg body weight). Tolfenamic acid 2, 4 and 8 mg/kg was administered intravenously (IV) in a single dose to goats. Blood samples were taken before and 72 hours after administration tolfenamic acid. Albumin, alkaline phosphatase (ALP), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), gamma glutamyltransferase (GGT), cholesterol, creatinine, triglyceride, total protein and urea levels were measured in an autoanalyzer from the serum obtained from blood samples. No difference was found in albumin, ALP, ALT, AST, GGT, cholesterol, creatinine, triglyceride, total protein and urea values in and between groups after IV administration of tolfenamic acid at doses of 2, 4 and 8 mg/kg to goats ($P>0.05$). As a result, it was determined that single dose IV administration of 2, 4 and 8 mg/kg of tolfenamic acid in goats did not cause a significant change in biochemical parameters. However, the safety of tolfenamic acid in goats needs to be determined at molecular and histopathological level.

Key Words: Biochemical parameters, goat, tolfenamic acid

GİRİŞ

Tolfenamik asit analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar özelliklere sahip fenamat türevi nonsteroid antiinflamatuvar bir ilaçtır (NSAİİ). Ayrıca tolfenamik asitin antibakteriyel (1), antiendotoksemik (2), antikanser (3) etkilerinin olduğu da rapor edilmiştir. Tolfenamik asitin etkisi arasıdenonik asitten prostaglandin (PG) sentezinden sorumlu siklooksijenaz (COX-1 ve COX-2) enzimini inhibe etmesinden kaynaklanır (4). Tolfenamik asitin COX etkinliği hayvan türlerinde farklılık gösterir ve COX etkinliği buzağılarda non-selektif iken keçilerde özellikle COX-2'yi inhibe ettiği rapor edilmiştir (5-7). Tolfenamik asitin sığırdaki solunum sistemi enfeksiyonu ve mastitiste, domuzda metritis-mastitisagalactia sendromunda, kedi ve köpekte ise perioperatif ve postoperatif

ağrılarda kullanımı onaylanmıştır (4, 8). Bunun yanında çeşitli hayvan türlerinde boynuzsuzlaştırma, cerrahi operasyonlar, lokomotor hastalıklar, uterus prolapsusu ve kas-iskelet hastalıklarında kullanımı önerilir (9-11). Keçilerde ise tolfenamik asitin mastitis, bakteriyel solunum sistemi hastalıkları ve patolojik ateş ve ağrı durumlarında kullanımı önerilir (12).

NSAİİ'lar yüksek doz veya uzun süre kullanımlarında renal, kardiovasküler ve gastrointestinal sistemde ciddi yan etkilere neden olabilir (13, 14). Buzağı ve köpeklerde tolfenamik asitin antiinflamatuvar etkisinin doza bağlı olduğu belirtilmiştir (2, 15). Bu nedenle bazı inflamatuvar durumlarda tolfenamik asit yüksek dozlarda kullanılabilir. Genel olarak tolfenamik asitin yan etki potansiyeli düşük (16, 17) olmasına karşın yüksek dozlarda kullanılması istenmeyen etkilere

neden olabilir. Yapılan kaynak taramasında keçilerde tolfenamik asitin biyokimyasal parametreler üzerine etkisi hakkında herhangi bilgi bulunamamıştır. Bu araştırmanın amacı keçilerde tolfenamik asitin 2, 4 ve 8 mg/kg dozlarında damar içi (IV) uygulamasını takiben biyokimyasal parametrelere etkisini belirlemektir.

MATERYAL VE METOT

Hayvan Materyali

Keçiler üzerindeki tüm prosedür, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı (2020/04-02). Araştırmada, uygulama yapılmasından önceki son bir aylık sürede herhangi bir ilaç uygulanmamış, sağlıklı 18 adet erkek kıl keçisi (2 ± 0.4 yaş, 38 ± 3 kg vücut ağırlığı) kullanıldı. Keçilerin sağlıklı olduklarına genel klinik muayene ile karar verildi. Keçiler alışma periyodu için çalışmadan 1 hafta önce rastgele 6'şarlı gruplara ayrılarak farklı padoklara alındı. Çalışma süresince keçiler günde 2 defa (sabah-akşam) yaş ve kilolarına uygun rasyon (metabolik enerji, 2.750 kcal/kg; kuru madde, %88; ham protein, %12; ham elyaf, %12; A vitamini, 7,000 U/kg; D3 vitamini, 700 U/kg; E vitamini, 25 mg/kg; kalsiyum, %0.6 ila %1.6; fosfor, %0.4; ve sodyum, %0.1 ila %0.4) ile beslendi. Kuru yonca otu ve su *ad libitum* olarak verildi.

DeneySEL Araştırma

Keçiler her grupta 6 hayvan olacak şekilde rastgele 3 gruba ayrıldı. Birinci gruba 2 mg/kg, ikinci gruba 4mg/kg ve üçüncü gruba 8 mg/kg dozda tolfenamik asit (Tolfine 40 mg/ml; Novakim) IV yolla bolus şeklinde uygulandı. Tüm gruplarda kan örnekleri tolfenamik asit uygulaması öncesi 0. (kontrol) ve uygulamayı takiben 72. saatte anti-koagülansız tüplere 2 ml alındı. Kan örnekleri 4000 g'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen serum örnekleri analiz zamanına kadar -80°C 'de saklandı. Ayrıca çalışma süresince hayvanlar klinik olarak gözlemlendi.

Biyokimyasal Parametrelerin Analizi

Serum örneklerinden albümin, alkalen fosfataz (ALP), alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), gamma glutamiltransferaz (GGT), kolesterol, kreatinin, trigliserid, total protein ve üre ölçümü otoanalizör cihazında (ILab-300 plus, Instrumentation Laboratory, Milano, Italy) gerçekleştirildi.

İstatistiksel Analiz

Tüm parametreler ortalama \pm standart sapma (SS) olarak sunuldu. İstatistiksel analiz için SPSS (22.0 software; IBM) programı kullanıldı. Biyokimyasal parametrelerin gruplar arası istatistiksel değerlendirmesinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve post-hoc Tukey testi kullanıldı. Grup içi istatistiksel değerlendirmede paired t testi kullanıldı. $P < 0.05$, istatistiksel önem derecesi kabul edildi.

BULGULAR

Tolfenamik asitin 2, 4 ve 8 mg/kg dozlarında IV tek doz uygulaması sonrası keçilerin davranışlarında, yem ve su

tüketimlerinde ve dışkılarında herhangi bir farklılık görülmedi. Keçilere tolfenamik asitin 2, 4 ve 8 mg/kg dozlarında IV tek doz uygulaması sonrası biyokimyasal parametrelere etkisi Tablo 1'de sunuldu. Grup içi ve gruplar arası değerlendirmede albümin, ALP, ALT, AST, GGT, kolesterol, kreatinin, trigliserid, total protein ve üre değerlerinde herhangi farklılık belirlenmedi ($P > 0.05$).

Tablo 1. Keçilerde tolfenamik asitin 2 mg/kg, 4 mg/kg ve 8 mg/kg damar içi tek doz uygulamasını takiben biyokimyasal parametrelere etkisi (ortalama \pm SS).

Para-metre	Grup	0. Saat	72. Saat
ALB (g/dL)	2 mg/kg	2.77 \pm 0.16	2.65 \pm 0.16
	4 mg/kg	2.82 \pm 0.15	2.75 \pm 0.16
	8 mg/kg	2.68 \pm 0.19	2.67 \pm 0.15
ALP (U/L)	2 mg/kg	162.00 \pm 42.06	202.83 \pm 50.32
	4 mg/kg	165.33 \pm 40.65	151.33 \pm 49.21
	8 mg/kg	168.33 \pm 65.27	172.33 \pm 70.62
ALT (U/L)	2 mg/kg	25.17 \pm 5.71	27.50 \pm 2.07
	4 mg/kg	25.67 \pm 5.39	26.00 \pm 5.40
	8 mg/kg	25.50 \pm 5.24	25.33 \pm 4.32
AST (U/L)	2 mg/kg	92.50 \pm 22.87	84.67 \pm 4.50
	4 mg/kg	92.83 \pm 22.24	86.50 \pm 22.22
	8 mg/kg	90.33 \pm 23.62	85.50 \pm 22.98
CHOL (mg/dL)	2 mg/kg	58.50 \pm 7.26	52.50 \pm 4.46
	4 mg/kg	62.67 \pm 3.88	59.83 \pm 4.96
	8 mg/kg	60.33 \pm 8.87	58.83 \pm 7.60
GGT (U/L)	2 mg/kg	45.50 \pm 11.69	44.17 \pm 13.91
	4 mg/kg	46.33 \pm 11.99	43.17 \pm 13.44
	8 mg/kg	43.00 \pm 11.26	43.17 \pm 9.89
Kreatinin (mg/dL)	2 mg/kg	0.64 \pm 0.05	0.57 \pm 0.04
	4 mg/kg	0.65 \pm 0.05	0.61 \pm 0.04
	8 mg/kg	0.64 \pm 0.03	0.62 \pm 0.05
TP (g/dL)	2 mg/kg	7.48 \pm 0.30	7.13 \pm 0.21
	4 mg/kg	7.53 \pm 0.25	7.42 \pm 0.39
	8 mg/kg	7.30 \pm 0.57	7.33 \pm 0.44
TRIG (mg/dL)	2 mg/kg	17.33 \pm 7.81	17.83 \pm 8.40
	4 mg/kg	23.67 \pm 5.96	18.83 \pm 3.13
	8 mg/kg	23.33 \pm 7.09	21.00 \pm 3.90
Urea (mg/dL)	2 mg/kg	28.83 \pm 4.45	24.50 \pm 5.36
	4 mg/kg	28.33 \pm 3.83	25.33 \pm 5.35
	8 mg/kg	23.50 \pm 6.32	24.17 \pm 4.79

SS; standart sapma, ALB; albumin, ALP; alkalın fosfataz, ALT; alanin aminotransferaz, AST; aspartat aminotransferaz, CHOL; kolesterol, GGT; gama glutamiltransferaz, TP; total protein, TRIG; trigliserid.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Keçi eti, sütü ve derisi gibi ürünlerinin yanında çevre şartlarına kolay adaptasyon ve düşük kaliteli doğal kaynakları tüketebilmesi gibi özelliklerinden dolayı önemli bir çiftlik hayvanıdır (18). Keçi yukarıda belirtilen özelliklerinden dolayı dünyanın birçok yerinde üretilmesine karşın Amerika ve Avrupa ülkelerinde minör türler arasında yer alır. Bu nedenle keçilerde ruhsatlı ilaç sayısı azdır ve birçok ilaç etiket dışı olarak kullanılır (19,20). Tolfenamik asitin keçilerde kullanımı Peru, Meksika ve Kosta Rika gibi bazı ülkelerde onaylanmasına karşın Avrupa'da onaylanmamıştır (12). Tolfenamik asitin keçilerde 2 ve 4 mg/kg dozlarda IV ve kas içi (IM) kullanımı önerilmektedir (12, 21). Buzağı ve köpeklerde tolfenamik asitin etkisinin doza bağlı olduğu ve doz arttıkça antiinflamatuar etkisinin artabileceği belirtilmiştir (2, 15). Bu nedenle tolfenamik asit, bazı yangısal durumlarda yüksek dozda kullanılabilir. Ancak tolfenamik asitin artan dozlarda kullanımının biyokimyasal parametrelere etkisi hakkında herhangi bilgi bulunmamıştır. Bu araştırma ile keçilerde tolfenamik asitin 2, 4 ve 8 mg/kg dozlarda IV uygulaması sonrası biyokimyasal parametrelere etkisi ilk defa değerlendirildi.

Tolfenamik asitin 2, 4 ve 8 mg/kg dozda IV uygulaması sonrası keçilerde klinik olarak herhangi farklılık görülmedi. Daha önce yapılan çalışmalarda tolfenamik asitin; keçilere IV yolla 2 ve 4 mg/kg (21), koyunlara IV yolla 2, 4 ve 8 mg/kg (22), kırmızı yanaklı su kaplumbağalarına IV yolla 2 ve 4 mg/kg (23), buzağılara IM yolla 2, 4 ve 8 mg/kg (2) ve köpeklerle IM yolla 2, 4 ve 8 mg/kg dozda (15) uygulaması sonrası herhangi bir klinik farklılık bildirilmemiştir.

Keçilerde tolfenamik asitin 2, 4 ve 8 mg/kg dozda IV yolla uygulaması sonrası grup içi ve gruplar arası değerlendirmede albümin, ALP, ALT, AST, GGT, kolesterol, kreatinin, trigliserid, total protein ve üre değerlerinde önemli bir farklılık belirlenmedi ($P>0.05$). Tolfenamik asitin yan etki potansiyeli genel olarak düşüktür. Ratlarda yapılan çalışmada tolfenamik asitin gastroülserojenik etkisinin diğer NSAİİ'lerden (ketoprofen, naproksen, indometazin, ibuprofen, asetil salisilik asit) düşük olduğu belirtilmiştir (16, 17). Ratlara tolfenamik asitin 4 mg/kg dozda günde 1 defa 14 gün boyunca IM yolla uygulaması sonrası hematolojik parametrelerde ve serum glikoz, AST, ALT, ALP, total bilirubin, total protein, albumin, globulin, kreatinin, üre ve ürik asit değerlerinde önemli değişiklikler gözlemlenmemiştir (24). Koyunlarda tolfenamik asitin 2, 4 ve 8 mg/kg dozda IV uygulaması sonrası kreatinin, üre, troponin I, CK-MB ve hidroksprolin değerlerinde değişiklik olmamasına karşın 8 mg/kg dozda böbrek hasar molekülü (KIM)-1, serum nötrofiljelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL) ve trefoil faktör (TFF)-2 seviyeleri artmıştır (25). Tolfenamik asit köpeklerde 2, 4 ve 8 mg/kg dozlarda akyuvar ve platelet düzeyini etkilememiştir (15). Sığırlarda tolfenamik asitin IV uygulaması sonrası iyi tolere edildiği ve yan etkilerin terapötik dozun 9-10 katı düzeyde görüldüğü belirtilmiştir (4).

Tolfenamik asitin COX etkinliği hayvan türlerinde farklılık gösterir. Tolfenamik asitin COX etkinliği buzağılarda non-

selektif iken keçilerde özellikle COX-2 (COX-1 ve COX-2 için IC_{50} oranının 12:1)'yi inhibe ettiği rapor edilmiştir (5-7). COX-1 enziminin sentezlediği PG'ler normal fizyolojide görev alırken COX-2 enziminin sentezlediği PG'ler yangısal süreçte rol alır (26). Genel olarak COX-1 enzim inhibisyonunun gastrointestinal ve renal yan etkiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (27). Keçilerde tolfenamik asitin artan dozlarda kullanımının biyokimyasal parametrelerde değişikliğe neden olmamasının nedeni özellikle COX-2 enzimi inhibe etmesinden olabilir. Ancak keçilerde tolfenamik asitin kardiyovasküler etkilerinde ortaya konulmasına ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak keçilerde tolfenamik asitin 2, 4 ve 8 mg/kg dozlarda IV uygulamasının biyokimyasal parametrelere önemli etkisinin olmadığı belirlendi. Ancak keçilerde tolfenamik asitin farklı dozlarda tekrarlı uygulaması sonrası güvenirliliğinin moleküler ve histopatolojik olarak ortaya konulmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Kruszewska H, Zareba T, Tyski S. (2002). Search of Antimicrobial Activity of Selected Non-Antibiotic Drugs. *Acta Pol Pharm*.59: 436-439.
2. Lees P, McKellar QA, Foot R, Gettinby G. (1998). Pharmacodynamics and Pharmacokinetics of Tolfenamic Acid in Ruminating Calves: Evaluation in Models of Acute Inflammation. *Vet J*. 155(3): 275-288.
3. Kim HJ, Cho SD, Kim J, et al. (2013). Apoptotic Effect of Tolfenamic Acid on MDA-MB-231 Breast Cancer Cells and Xenograft Tumors. *J Clin Biochem Nutr*. 53: 21-26.
4. CVMP (1997). Committee for Veterinary Medicinal Products: Tolfenamic Acid Summary Report. EMEA/MRL/183/97-FINAL. Available: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500015620.pdf. Accessed 01 October 2020.
5. Landoni MF, Cunningham FM, Lees P. (1996). Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Tolfenamic Acid in Calves. *Res Vet Sci*. 61(1): 26-32.
6. Sidhu PK, Landoni MF, Lees P. (2005). Influence of Marbofloxacin on the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Tolfenamic Acid in Calves. *J Vet Pharmacol Ther*. 28(1): 109-119.
7. Sidhu PK, Landoni MF, Lees P. (2006). Pharmacokinetic and Pharmacodynamics Interactions of Tolfenamic Acid and Marbofloxacin in Goats. *Res Vet Sci*. 80(1): 79-90.
8. Lascelles BDX, Court MH, Hardie EM, Robertson SA. (2007). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in cats: a review. *Vet Anaesth Analg*. 34(4): 228-250.
9. Jaussaud P, Guieu D, Bellon C, et al. (1992). Pharmacokinetics of Tolfenamic Acid in the Horse. *Equine Vet J*. 24(11): 69-72.
10. Reddy P, Reddy S, Jyothi K, Sivajothi, Reddy V. (2014). Total Uterine Prolapse in A 15 Years Aged Doe. *IJVHSR*. 2(4): 28-30.
11. Dinakaran V, Dumka VK. (2013). Pharmacokinetics of Tolfenamic Acid Following Two Oral Dose Levels in Buffalo Calves. *J Vet Pharmacol Ther*. 36(3): 306-308.
12. Anonymous (2020). Available: <https://www.agrovetmarket.com/Files/187c26f8-7427-402b-8ee1-20fba394e5b8.pdf>. Accessed 01 October 2020.

13. Bennett WM, Henrich WL, Stoff JS. (1996). The Renal Effects of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs: Summary and Recommendations. *Am J Kidney Dis.* 28(1): 56–62.
14. Harirforoosh S, Jamali F. (2009). Renal Adverse Effects of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Expert Opin Drug Saf.* 8(6): 669–681.
15. McKellar QA, Lees P, Gettinby G. (1994). Pharmacodynamics of Tolfenamic Acid in Dogs. Evaluation of Dose Response Relationships. *Eur J Pharmacol.* 253(3): 191–200.
16. Eskerod O. (1994). Gastrointestinal Tolerance Studies on Tolfenamic Acid in Humans and Animals. *Pharmacol Toxicol.* 75: 44–48.
17. Hendel J. (1994). The Overall Safety of Tolfenamic Acid. *Pharmacol Toxicol.* 75: 53–55.
18. Skapetas B, Bampidis V. (2016). Goat Production in The World: Present Situation and Trends. *Livest Res Rural Dev.* 28(11): 1–6.
19. Clark CR. (2013). Antimicrobial Drug Use in Sheep and Goats. In: *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine.* Giguere S, Prescott JF, Dowling PM (eds.). 5th ed. Ames, Iowa, Blackwell Publishing.
20. Matthews J. (2016). Diseases of the Goat. In: *Hoboken NJ: John Wiley and Sons Limited.* 4th ed. pp. 384–393.
21. Tekeli IO, Turk E, Durna Corum D, Corum O, Kirgiz FC, Uney K. (2020). Effect of Dose on the Intravenous Pharmacokinetics of Tolfenamic Acid in Goats. *J Vet Pharmacol Ther.* 43(5):435–439.
22. Corum O, Corum DD, Er A, Yildiz R, Uney K. (2018). Pharmacokinetics and Bioavailability of Tolfenamic Acid in Sheep. *J Vet Pharmacol Ther.* 41(6): 871–877.
23. Corum O, Atik O, Corum DD, Er A, Uney K. (2019). Pharmacokinetics of Tolfenamic Acid in Red-Eared Slider Turtles (*Trachemys scripta elegans*). *Vet Anaesth Analg.* 46(5): 699–706.
24. Patel SD, Sadariya KA, Gothi AK, et al. (2011). Safety of Tolfenamic Acid Following Repeated Intramuscular Administration in Wistar Rats. *Pharma Sci Monit Int J Pharmaceutical Sci.* 2(2): 79–85.
25. Yildiz R, Corum O, Atik O, et al. (2019). Changes in Novel Gastrointestinal and Renal Injury Markers in The Blood Plasma of Sheep Following Increasing Intravenous Doses of Tolfenamic Acid. *Acta Vet Hung.* 67(1): 87–97.
26. Alkan H, Erdem H. (2018). Reproductive Use of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs in Cows. *Atatürk University J Vet Sci.* 13(1): 112–120.
27. Suleyman H, Demircan B, Karagoz Y. (2007). Anti-inflammatory and Side Effects of Cyclooxygenase Inhibitors. *Pharmacol Rep.* 59(3): 247–258.

✉ **Sorumlu Yazar:**

Gül ÇETİN

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Erzincan, 24100, TÜRKİYE

E-mail: gulcetin@erzincan.edu.tr