



Marbofloksasin, Diklofenak Sodyum ve Metilprednizolonun Sistemik Endotoksemide Serum Sitokin Düzeylerine Etkisi

Ahmet Cihat ÖNER^{1,*} Ali ŞAHİN²

¹Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, 65040, Van, Türkiye
²Karamanoğlu Mehmet Bey Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, 70100, Karaman, Türkiye

Geliş Tarihi: 18.01.2023

Kabul Tarihi: 24.10.2023

ÖZ

LPS ile deneysel endotoksemi oluşturulan ratlarda marbofloksasin, diklofenak sodyum ve metilprednizolon kullanımının serum sitokin seviyeleri üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 186 adet rat, kontrol grubu (n: 6) ayrıldıktan sonra rastgele 5 eşit gruba ayrıldı. Kontrol grubundan 0. Saat te kan örnekleri alındı. Ratlarda endotoksemi oluşturmak amacı ile intraperitoneal (IP) yolla LPS (4mg/rat) uygulandı. Endotoksemi sonrası gelişen sepsisi tedavi etmek için marbofloksasin 100 mg/kg, diklofenak sodyum 10 mg/kg, metilprednizolon 10 mg/kg dozlarında IP yolla uygulandı. İlaç uygulaması takiben 1, 2, 4, 8, 12 ve 24. saatler de tiyopental anestezisi altında kan örnekleri alınarak serum sitokin değerleri ölçüldü. Araştırmada elde edilen veriler doğal şekillenen sepsise büyük ölçüde benzerlik gösterdi. Sitokin seviyeleri incelendiğinde diklofenak sodyum ile marbofloksasin uygulamasının tek başlarına sepsisi tedavi etmede etkisinin olmadığı, ancak metilprednizolon uygulamasının tek ve kombine yapılması durumunda etkili olabileceği belirlendi. Sepsis ile yükselen sitokin düzeyleri için kortikosteroid uygulamasının tek veya antibiyotik ve NSAİİ'lerle kombine kullanılmasının faydalı olabileceği önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Diklofenak sodyum, Endotoksemi, Metilprednizolon, Sitokin.

ABSTRACT

Effect of Marbofloxacin, Diclofenac Sodium and Methylprednisolone on Serum Cytokine Levels in Systemic Endotoxemia

It was aimed to evaluate the effects of using marbofloxacin, diclofenacsodium and methylprednisolone on serum cytokine levels in rats with experimental endotoxemia with LPS. In the study, 186 rats were randomly divided into 5 equal groups after the control group (n: 6) was separated. Blood samples were taken from the control group at 0 hour. LPS (4mg/rat) was administered intraperitoneally (IP) to induce endotoxemia in rats. To treat sepsis developing after endotoxemia, marbofloxacin 100mg/kg, diclofenacsodium 10 mg/kg, methylprednisolone 10 mg/kg were administered by IP route. Serum cytokine values were measured by taking blood samples under thiopental anesthesia at 1, 2, 4, 8, 12 and 24 hours following drug administration. The data obtained in the study showed a great deal of similarity to naturally occurring sepsis. When cytokine levels were examined, it was determined that the application of diclofenacsodium and marbofloxacin alone did not have an effect in the treatment of sepsis, but methylprednisolone application could be effective in case of single or combined application. It is suggested that corticosteroid administration alone or in combination with antibiotics and NSAIDs may be beneficial for increased cytokine levels with sepsis.

Keywords: Cytokine, Diclofenacsodium, Endotoxemia, Methylprednisolone.

GİRİŞ

Endotoksemi kan dolaşımında endotoksinin varlığını tanımlar. Sepsis ve septik şoklu hastalarda görülmekle beraber, deneysel olarak LPS infüzyonları, fekal nakil, eksojen bakterinin infüzyonu veya aşılınması gibi yöntemlerle oluşturulabilmektedir (Bone ve ark. 1989; Erkayman 2020; Eroğlu ve Kırbas 2020).

Kedi ve köpeklerde sırası ile sepsis görülme oranlarının %1-5, %6-10, tedavi sonrası sağ kalma oranlarının ise %10-25, %25-50 düzeyinde olduğu rapor edilmiştir. Kedi ve köpeklerde özellikle peritonitis ve sindirim sistemi enfeksiyonlarının septik şok nedeni olduğu saptanmıştır. Ayrıca doberman, pinscher, rottweiler ve pitbull cinsi köpeklerin diğer köpeklerden daha duyarlı olabilecekleri belirlenmiştir (Otto 2007).



Sepsis/endotoksemi buzağuların ve sığırların birçok organ ve sistemini olumsuz etkilemekle birlikte kardiyovasküler sistemini yetersizliğine de sebep olmaktadır (Akyüz ve ark. 2017; Akgül ve ark. 2019). Sepsisin yeterince şiddetli ve uzun sürmesi durumunda da septik şok ve daha sonra da çoklu organ yetmezlikleri gelişmekte ve bu aşamadan sonra da genellikle ölüm ile sonlanmaktadır (Pardon ve Depres 2018; Beydilli ve Gökçe 2019).

Birçok hayvan modelinde, bakteriyel, viral, fungal enfeksiyonlarda ve paraziter enfestasyonlarda, saldırılara karşı sitokinler, vücudun immun cevabının ilk aktörleri olarak belirlenmiştir (Özcan ve ark. 1996; Gouwy ve ark. 2005). Sitokinler; immünolojik ve inflamatuvar travmaya karşı doku cevabında ortaya çıkan, makrofajların aktive edilmesi, yangılı dokuda fibroblastların gelişmesi, kemik iliğindeki lökosit prokürsörlerinin aktivasyonu, kas yıkımlanması ve beden ısısının artışından sorumlu maddelerdir (Özcan ve ark. 1996; Tsiotou ve ark. 2005).

Başlangıçta, tipik erken proinflamatuvar sitokinlerin (TNF ve IL 1) hayvanlarda organ yetmezliğini indüklediği bilinmektedir (Lelubre ve Vincent 2018). Sepsis sırasında, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, IFN ve TNF- α 'nın proinflamatuvar sitokinlerinde bir artış sepsisteki mortalite ile ilişkilidir (Utomo ve ark. 2018).

İnflamasyon olgularında sitokin olarak ilk önce TNF α üyürlmektedir (Sakaguchi ve Furusawa 2006; Otto 2007). TNF α ve IL-1 β sinerjik etkileşim ile doğrudan veya dolaylı yollarla hemodinamik ve inflamatuvar değışikliklerin birçoğuna aracılık etmektedir (Remick 2007). TNF α 'ya ek olarak IL-6 da inflamasyonda önemli sitokinlerden biridir (Gardlund ve ark. 1995). IL-6 seviyesi çoğv vakada yüksek bulunduğundan birçok organ yetmezliğinin boyutu ile ilişkilendirilmektedir. IL-6 seviyesindeki yükseklik, hasta klinik olarak iyileşene kadar devam etmektedir (Creasey ve ark. 1993; Gardlund ve ark. 1995; Rosenbloom ve ark. 1995).

İnterlökin (IL)-10, hem T hücreleri hem de makrofajlar tarafından üretilen pleiotropik bir sitokindir ve hem anti-inflamatuvar hem de immünosupresif özelliklere sahiptir. IL-10, sepsis sendromlu hastaların kanında dolaşır ve artan IL-10 konsantrasyonları, olumsuz bir klinik sonuçla ilişkilendirilmiştir. Kemirgenlerde ve primatlarda yapılan deneysel çalışmalar, endojen olarak üretilen ve eksojen olarak uygulanan IL-10'un, en başta endotoksemik ve bakteriyemik şok modellerinde, inflamatuvar yanıtın büyüklüğünü azaltabildiğini ve sonucu iyileştirebildiğini göstermiştir (Oberholzer ve ark. 2002).

Sepsis'in uygun antibiyotik ajanlar, sıvılar, gerektiğinde vazopresörler ve muhtemelen kortikosteroidler dışında kanıtlanmış bir farmakolojik tedavisi yoktur. Fakat sepsis patofizyolojisinin son yıllarda daha iyi anlaşılması ile birlikte beşerî alanda yeni tedavi yaklaşımları da ön plana çıkmaktadır. Monoklonal antikor tedavileri, spesifik antiendotoksin tedavileri, mezenşimal stem hücre tedavileri ve apoptotik hücre tedavileri sepsis ve septik şok durumlarında tedavide kullanılması için araştırılan konular arasındadır (Karbıan ve ark. 2020; Sun ve ark. 2020).

Marbofloksasin, sadece veteriner hekimlikte kullanımı onaylanmış, gram-negatif, gram-pozitif, Mycoplasma spp. ve Chlamydia spp.'ye etkili florokinolon grubu bir antibiyotiktir. Farelerde LPS kaynaklı septik şokta florokinolonların koruyucu etkilerinin insanlarda da ortaya çıkabileceğini (Khan ve ark. 2000), endotoksemili koyunlarda destekleyici tedavi uygulanmasını takiben marbofloksasin için bir doz ayarlaması gerektiğini (Coşkun ve ark. 2020) bildiren çalışmalar mevcuttur.

NSAİİ'ler, araşidonik asitten prostaglandinlerin üretimini önleyerek siklooksijenazı (COX) inhibe eder. NSAİİ'lerin çok sayıda deneysel modelde yararlı etkileri vardır ve sepsis için potansiyel olarak hayat kurtarıcı bir tedavi olarak kabul edilirler (Rasooli ve ark. 2022).

Steroidlerin sepsis durumundaki etkileri üzerine yapılan çalışmalar, steroid dozu, sepsis şiddeti, kontrol grubu, mortalite oranı ve steroid uygulama zamanlaması gibi başlıklar açısından farklılıklar göstermiştir. Bununla birlikte, steroidlerin immünosupresan doğası göz önüne alındığında, sepsisin immünosupresan fazında (genellikle sepsisin geç fazında) uygulandığında zararlı olabileceği için erken tedavi de verilmesi daha etkili olabilir (Park ve ark. 2022).

Geniş etki spektrumlu antibiyotiklerden olan florokinolonların, antiinflamatuvar olarak NSAİİ'lerin ve glukokortikoidlerin tedavide kullanılabilirliği ile ilgili şekillendirilen bu araştırmada, lipopolisakarit (LPS) ile deneysel endotoksemi şekillendirilerek sepsiste önemli rol oynayan serum sitokin seviyeleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi, ayrıca beşerî ve veteriner sahada sepsis tedavisine katkı sağlanması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Araştırmada Sprague - Dawley ırkı 186 adet rat kullanıldı. Denev hayvanları Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Denev Hayvanları Ünitesi'nden temin edildi. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurul tarafından alınan 11.04.2012 tarih ve 2012/35 numaralı izinle çalışıldı.

Araştırma kullanılan ratlardan (186 adet) önce kontrol grubu (n: 6) ayrıldı ve kontrol grubunda yer alan hayvanlara herhangi bir 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. Geriye kalan 180 adet rat rasgele 5 eşit gruba (n: 36) ayrıldı.

Gruplar; LPS, LPS+Marbofloksasin (MAR), LPS+Diklofenak Sodyum (DS), LPS+Metilprednizolon (MPRED) ve LPS+Kombınasyon (KOMBİN) olmak üzere adlandırıldı. Bu grupta yer alan hayvanlarda sepsis oluşturmak için, LPS 4 mg/rat dozunda intraperitoneal (IP) olarak uygulandı. LPS uygulanmasının hemen ardından denev gruplarına göre Marbofloksasin 100 mg/kg (Kesteman ve ark. 2009), diklofenak sodyum 10 mg/kg (Hasani ve ark., 2011) ve metilprednizolon 10 mg/kg (Izumi ve Bakhle. 1989) dozlarında IP yolla uygulandı. İlaç uygulaması takiben her örnekleme zamanında 6 adet rat olarak şekilde 1, 2, 4, 8, 12 ve 24. saatlerinde tiopental sodyumla ratlar anesteziyeye alındı ve kalpten kan örnekleri aldıktan sonra servikal dislokasyon yöntemi ile ötenazi edildi.

Serum TNF α (İnvitrogen TMTNF α - α Elisa Kit, KRC3011), IL- 1 β (Boster Rat IL- 1 β Elisa Kit Ek 0418), IL- 6 (Raybio® Rat IL-6 Elisa Kit, ELR-IL6-001) ve IL- 10 (Boster Rat IL-10 Elisa Kit, EK0393) düzeyleri ticari kitler kullanılarak ölçüldü ve konsantrasyon tespiti ELİSA okuyucu cihazında (MWGt Lambda Scan 200, Winooski, VT, USA) yapıldı.

İstatistiksel Analiz

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

BULGULAR

Endotoksemi şekillendirilen ve ilaç uygulamaları yapılan ratlara ait bulgular (serum TNF α , IL-1 β , IL-6 ve IL-10) düzeyleri tablo halinde sunuldu. Serum sitokin seviyeleri üzerinde LPS uygulamasının genel olarak yükseltici etkisi olduğu (p<0.05) tespit edildi. LPS uygulaması ile serum TNF α seviyesinin birinci saatten itibaren yükseldiği daha sonra diğer saatlerde azalırken sekizinci saatten sonra ise önemli düzeyde (p<0.05) azalarak başlangıç seviyesine döndüğü tespit edildi (Tablo 1). Birinci saatte marbofloksasin, diklofenak sodyum ve

kombine uygulamalarının LPS'den farkı olmadığı ve şekillenen TNF α artışını engelleyemediği, metilprednizolon uygulamasının ise LPS'den farkı olduğu (p<0.05) ve diğer gruplara göre önemli oranda düşük seviyede kaldığı gözlemlendi. İkinci saatte metilprednizolon ve kombine ilaç uygulamasının, dördüncü saatte ise marbofloksasin, metilprednizolon ve kombine ilaç uygulamasının LPS'den farklı olduğu (p<0.05) belirlendi. Diğer saatlerde ise diklofenak sodyum uygulamasının gruplara göre farklı olduğu ve seviyenin yüksek kaldığı belirlendi (Tablo 1).

Tablo 1: Endotoksemik ratlarda LPS, LPS+MARBO, LPS+DS, LPS+MPRED ve LPS+KOMBİN gruplarında TNF α ortalamaları ve çoklu karşılaştırma testi sonuçları (pg/ml).

Table 1: TNF α averages and multiple comparison test results (pg/ml) 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 ^w	515±107 ^{bcy}	418±73.8 ^{bx}	292±74.1 ^{bx}	25.3±16.2 ^{aw}	12.7±7.91 ^{aw}	0 ^w	***
LPS+MARBO	0 ^w	373±73.4 ^{abcx}	583±114 ^{by}	91.1±34.6 ^{aw}	19.0±14.1 ^{aw}	16.3±10.7 ^{aw}	0 ^w	***
LPS+DS	0 ^w	574±123 ^{cy}	448±116 ^{bxy}	226±36.6 ^{bw}	427±81.3 ^{bxy}	94.4±33.2 ^{bw}	0 ^w	***
LPS+MPRED	0 ^w	214±35.2 ^{ay}	123±29.7 ^{ax}	0 ^{aw}	0 ^{aw}	0 ^{aw}	0 ^w	***
LPS+KOMBİN	0 ^w	283±62.5 ^{abx}	11.3±5.5 ^{aw}	0 ^{aw}	0 ^{aw}	0 ^{aw}	0 ^w	***
p	-	*	***	***	***	**	-	

-; p>0.05, *; p<0.05, **; p<0.01, ***; p<0.001. ^{a,b,c}; Aynı sütun da gösterilen ortalamalar arasında farklılıklar önemlidir. ^{w,y,z}; Aynı satırda gösterilen ortalamalar arasında farklılıklar önemlidir. **LPS:** Lipopolisakkarit, **MAR:** Marbofloksasin, **DS:** Diklofenak Sodyum, **MPRED:** Metil Prednizolon, **KOMBİN:** Komibnasyon.

IL-1 β düzeyi TNF- α ile paralel olarak yükseldiği için LPS uygulaması sonrasında IL-1 β düzeyinin 2. saatten itibaren yükseldiği 8. saatten itibaren ise azaldığı ve uygulama sonunda değerinin sıfır "0" olmadığı belirlendi (Tablo 2). Birincisaaatte metilprednizolonun IL-1 β düzeyini sıfıra indirdiği daha sonraki saatlerde bir yükselme söz konusu olsada 2. saat dışında istatistiksel bir farklılığın söz konusu

olmadığı belirlendi. LPS uygulamasında 4. saatte en yüksek düzeyde olan IL-1 β seviyesinin diklofenak sodyum, metilprednizolon ve kombine ilaç uygulaması sonrası önemli düzeyde düştüğü (p<0.05), 8. saatte diklofenak sodyum dışındaki ilaçların LPS'den farkı olmadığı, 24. saatte ise bütün uygulamaların LPS'den farklı (p<0.05) olduğu tespit edildi (Tablo 2).

Tablo 2: Endotoksemik ratlarda LPS, LPS+MARBO, LPS+DS, LPS+MPRED ve LPS+KOMBİN gruplarında IL-1 β ortalamaları ve çoklu karşılaştırma testi sonuçları (pg/ml).

Table 2: IL-1 β averages and multiple comparison test results (pg/ml) 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 ^w	0.70±0.64 ^{aw}	193±111 ^{abwx}	320±82.1 ^{bx}	105±61.4 ^{aw}	144±39.5 ^{awx}	51.4±18.2 ^{bw}	*
LPS+MARBO	0 ^w	15.5±11.9 ^{abw}	69.3±41.4 ^{abwx}	170±80.1 ^{abx}	91.7±43.0 ^{awx}	105±65.3 ^{awx}	0 ^{aw}	*
LPS+DS	0 ^w	26.2±13.3 ^{bw}	257±36.5 ^{bxy}	127±36.7 ^{awx}	487±96.0 ^{bz}	317±80.8 ^{byz}	2.64±2.64 ^{aw}	***
LPS+MPRED	0 ^w	0 ^{aw}	157±65.8 ^{abx}	28.2±22.1 ^{aw}	20.6±8.96 ^{aw}	0 ^{aw}	8.76±5.66 ^{aw}	**
LPS+KOMBİN	0	1.38±0.87 ^a	1.71±1.71 ^a	22.4±20.6 ^a	10.2±6.39 ^a	1.79±1.79 ^a	0.05±0.05 ^a	-
p	-	*	*	**	***	**	**	

-; p>0.05, *; p<0.05, **; p<0.01, ***; p<0.001. ^{a,b}; Aynı sütun da gösterilen ortalamalar arasında farklılıklar önemlidir. ^{w,y,z}; Aynı satırda gösterilen ortalamalar arasında farklılıklar önemlidir. **LPS:** Lipopolisakkarit, **MAR:** Marbofloksasin, **DS:** Diklofenak Sodyum, **MPRED:** Metil Prednizolon, **KOMBİN:** Komibnasyon.

IL-6 düzeyinde LPS uygulaması sonrası 2 ile 8. saatler arasında yükseldiği, 12 ve 24. saatte düzeyinin başlangıç seviyesi olan sıfıra düştüğü tespit edildi (Tablo 3). Birinci saatte diklofenak sodyum ve kombinasyon uygulamalarının ikisinin de IL-6 seviyesini yükselttiği ancak sadece kombinasyon uygulamasının istatistiksel olarak farklı olduğu (p<0.05), 2. saat ve sonraki saatlerde

kombine ilaç uygulamasının IL-6 seviyesini sıfıra düşürdüğü (p<0.05) tespit edildi. Diğer saatler ve ilaç uygulamaları dikkate alındığında LPS uygulaması sonrası IL-6 düzeyini azaltması yönünden kombinasyon dışında, 2. ve 4. saatlerde metilprednizolonun, 8. saatte diklofenak sodyumun ve 12. saatte marbofloksasinin LPS'den farklı (p<0.05) olduğu tespit edildi (Tablo 3).

Tablo 3: Endotoksemik ratlarda LPS, LPS+MARBO, LPS+DS, LPS+MPRED ve LPS+KOMBİN gruplarında IL-6 ortalamaları ve çoklu karşılaştırma testi sonuçları (pg/ml).

Table 3: IL-6 averages and multiple comparison test results (pg/ml) 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 ^w	0 ^{aw}	4829±1336 ^{cx}	3468±1003 ^{bcx}	978±823 ^{abw}	0 ^{aw}	0 ^w	***
LPS+MARBO	0 ^w	0 ^{aw}	3817±939 ^{bcx}	4610±984 ^{cx}	3221±1122 ^{bcx}	4076±1979 ^{bx}	0 ^w	**
LPS+DS	0 ^w	5.91±5.91 ^{aw}	3091±591 ^{bcx}	1859±657 ^{abwx}	5344±1121 ^{cy}	841±390 ^{aw}	0 ^w	***
LPS+MPRED	0 ^w	0 ^{aw}	1646±604 ^{abx}	63.2±29.5 ^{aw}	202±202 ^{aw}	0 ^{aw}	0 ^w	***
LPS+KOMBİN	0 ^w	3347±862 ^{bx}	0 ^{aw}	0 ^{aw}	0 ^{aw}	0 ^{aw}	0 ^w	***
p	-	***	**	***	***	*	-	

-; p>0.05, *; p<0.05, **; p<0.01, ***; p<0.001. a,b,c; Aynı sütun da gösterilen ortalamalar arasında farklılıklar önemlidir. ^{xw}; Aynı satırda gösterilen ortalamalar arasında farklılıklar önemlidir. LPS: Lipopolisakkarit, MAR: Marbofloksasin, DS: Diklofenak Sodyum, MPRED: Metil Prednizolon, KOMBİN: Komibnasyon.

IL-10 düzeyinin LPS uygulaması sonrası yükseldiği, çalışma süresince de 2. saatte en yüksek seviyeye ulaştığı ve diğer saatlerde 1. saate benzer düzeyde kaldığı belirlendi (Tablo 4). Marbofloksasin uygulamasının LPS uygulamasından 2, 4, 12 ve 24. saatlerde farklı olduğu (p<0.05) IL-10 seviyesini düşürdüğü, metilprednizolon uygulamasının 8. saat dışında LPS uygulamasından farklı

olduğu ve IL-10 düzeyini düşürdüğü (p<0.05), diklofenak sodyumun LPS'den 2, 4 ve 24. saatlerde farklı olduğu (p<0.05), kombinasyon uygulamasının ise 2 ve 24. saatlerde LPS'den farklı (p<0.05) olduğu ve IL-10 düzeyini düşürdüğü belirlendi. 24 saat sonra bütün uygulamaların LPS'den farklı olduğu (p<0.05) ve IL-10 düzeyini düşürdüğü tespit edildi (Tablo 4).

Tablo 4: Endotoksemik ratlarda LPS, LPS+MARBO, LPS+DS, LPS+MPRED ve LPS+KOMBİN gruplarında IL-10 ortalamaları ve çoklu karşılaştırma testi sonuçları (pg/ml).

Table 4: IL-10 averages and multiple comparison test results (pg/ml) 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 ^w	4363±965 ^{bcxy}	6035±765 ^{by}	4892±748 ^{dxy}	3373±309 ^{abx}	5216±691 ^{cxy}	4310±713 ^{bxy}	***
LPS+MARBO	0 ^w	4202±686 ^{bcx}	3669±1092 ^{ax}	2820±320 ^{bcx}	2546±421 ^{ax}	2669±561 ^{abx}	910±131 ^{aw}	***
LPS+DS	0 ^w	2466±233 ^{abxy}	3293±193 ^{ayz}	826±119 ^{awx}	4759±1092 ^{bz}	5319±1105 ^{cz}	1777±1646 ^{awxy}	***
LPS+MPRED	0 ^w	1678±273 ^{axy}	1788±218 ^{axy}	1713±229 ^{abxy}	2234±370 ^{ay}	1136±131 ^{ax}	1384±273 ^{ax}	***
LPS+KOMBİN	0 ^w	4818±1083 ^{cz}	2707±496 ^{axy}	3614±637 ^{cdyz}	5064±522 ^{bz}	3881±333 ^{bcyz}	1806±232 ^{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. ^{xw,y,z}; Aynı satırda gösterilen ortalamalar arasında farklılıklar önemlidir. LPS: Lipopolisakkarit, MAR: Marbofloksasin, DS: Diklofenak Sodyum, MPRED: Metil Prednizolon, KOMBİN: Komibnasyon.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan araştırmalarda LPS ile oluşturulan endotoksemi modelinde serum sitokin seviyeleri araştırılmıştır. Araştırmacılar LPS ile deneysel oluşturulan endotoksemi durumlarında meydana gelen değişikliklerin, doğal oluşan sepsis vakalarının sonuçları ile benzerlik gösterdiğini ve serum sitokin seviyelerinde yükselme olduğunu bildirmektedir (Howard ve ark. 1993; Biniak ve ark. 1998; Itoh ve ark. 2003; Yazar ve ark. 2004; Coimbra 2005; Yazar ve ark. 2007; Yazar ve ark. 2010; Utomo ve ark. 2018).

Araştırmalarda florokinolon grubu antibiyotiklerin deneysel sepsis üzerine, değişik dozlarda farklı sonuçlar verebileceği (yüksek doz sipropfloksasin IL-1β, IL-6 ve TNFα düzeyini düşürdüğü, düşük dozunun ise artırdığı) ve glukokortikoidlerin sepsis tedavisinde etkili olduğu

bildirilmiştir (Yazar ve ark. 2004; Marik ve Lipman 2007; Yarema ve Yost 2011).

NSAİİ'ler NF-KB'nin etkinliğini engelleyerek, proinflatuar sitokinler, iNOS ve COX oluşumunu engeller (Meduri 1999). Bu etkileri düşünülerek çalışmalar gerçekleştirilse de sepsiste kullanılması hekimler arasında tartışmalı bir konudur (Öner ve Şahin 2021). NSAİİ'ler hakkında yapılan bir çalışmada ibuprofen ve indometazin'in TNFα üretimini arttırdığı belirlenirken, sodyum salisilat'ın TNFα üretimini baskıladığı bildirilmiştir. Ayrıca nimesulidin ratlarda TNFα artışını engellediği ve diklofenak'ın ise kısmen TNFα düzeyini azalttığı saptanmıştır (Doğan ve ark. 2002). Yazar ve ark. (2007)'nin yaptığı çalışmada flunixinme glumin (FM) uygulanan endotoksemi indüklenmiş farelerde sitokin seviyeleri üzerinde baskılayıcı etki tespit edilirken, Yazar

ve ark. (2009) tarafından yapılan diğer bir araştırmada ise FM'in ratlarda sitokin seviyelerine etkisinin tespit edilemediği, deksametazon'un tek başına ve kombine uygulamalarında etkili sonuçlar verdiği ve sitokin sentezinde belirgin baskılama şekillendirdiği belirtilmiştir.

Mevcut çalışmada, LPS uygulaması sonrası 1 ve 2. saatlerde TNF α (Tablo 1) ve 2-8. saatler arasında IL-1 β (Tablo 2) düzeyinde artış şekillendiği belirlendi. Uygulamalar sonrasında LPS ile artışı belirlenen serum TNF α düzeyini metilprednizolon ve kombinasyon uygulaması dışında diğer ilaçların düşüremediği ($p < 0.05$) belirlendi (Tablo 1). IL-1 β düzeyi üzerinde, diklofenak sodyum haricinde diğer ilaçların LPS kaynaklı IL-1 β yükselmesini düşürdüğü ($p < 0.05$) özellikle metilprednizolon'un tek ve kombine uygulamasının daha etkili bir sonuç verdiği gözlemlendi (Tablo 2).

TNF α ve IL-1 β 'ya ek olarak IL-6 da inflamasyonda önemli sitokinlerden biridir (Gardlund ve ark. 1995). IL-6 seviyesindeki yükseklik, hasta klinik olarak iyileşene kadar devam etmektedir. IL-6 ayrıca TNF α ve IL-1 β üretimini engelleyen, sTNF α reseptörünü ve IL-1 antagonistinin sirkülasyonunu indükleyen sitokindir (Creasey ve ark. 1993; Gardlund ve ark. 1995; Rosenbloom ve ark. 1995). Yazar ve ark. (2009)'nın yaptığı bir çalışmada enrofloksasin ve FM artan IL-6 düzeyini düşüremediği, deksametazon uygulamasının hem tek başına hem de kombine uygulandığı zaman düşürdüğü rapor edilmiştir.

Mevcut çalışmada IL-6 düzeyinin LPS uygulaması sonrası 2 ile 8. saatler arasında yükseldiği, 12 ve 24. saatte düzeyinin 0 olduğu tespit edildi (Tablo 3).

Uygulamalar ve sonuçlar doğrultusunda metilprednizolon tek ve kombine uygulamasının yükselen IL-6 seviyesini etkili bir şekilde aşağıya çektiği ($p < 0.05$), kombinasyon

uygulanmasında değerlerin sağlıklı bireylere yakın veriler olduğu tespit edildi (Tablo 3).

IL-10, vücutta en iyi bilinen antiinflamatuvar sitokin dir. Deneysel endotoksemi/sepsis modellerinde IL-10 uygulamasının ölüm oranını azalttığı bildirilmiştir (Howard ve ark., 1993). Vücut savunmasında, antiinflamatuvar sitokinlerin üretimini artırarak, proinflamatuvar cevabı dengeleyip yangıyı zayıflatılacak IL-10 gibi ajanların klinik faydasının olabileceği belirtilmiştir (Coimbra ve ark. 2005).

Bu çalışmada IL-10 düzeyinin LPS uygulaması sonrası yükseldiği, çalışma süresince de 2. saatte en yüksek seviyeye ulaştığı ve diğer saatlerde 1. saate benzer düzeyde kaldığı belirlendi (Tablo 4). Son örneklem zamanında IL-10 seviyesi açısından en etkili uygulamanın metilprednizolon olduğu diğer uygulamaların ise 24. saatte IL-10 seviyesini düşürmesi açısından etkili olabileceği kanaatine varıldı (Tablo 4).

Mevcut çalışmada marbofloksasin'in ve diklofenaksodyum'un genel olarak serum sitokin düzeyleri üzerine etkisi incelendiğinde, TNF α ve IL-1 β seviyelerini düşüremediği saptandı. Marbofloksasinin IL-6 düzeyini düşüremediği IL-10 düzeyini ise kademeli olarak azattığı belirlendi. Diklofenak sodyumun artan IL-6 düzeyini saatlere göre değişen bir şekilde (2 ve 4. saatte azalttığı 8. saatte arttırdığı) etkilediği saptandı.

Sonuç olarak LPS ile deneysel endotoksemi şekillendirilen bu araştırmada doğal olarak gelişen sepsis durumuna benzer sitokin seviyelerinde yükselmeler gözlemlendi. 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 sağlamasa da, etkisinin göz ardı edilmeyecek derecede iyi olduğu ve sepsis ile sepsis çok olgularında kullanım alanı bulabileceği sonucuna ulaşıldı.

Yapılacak olan çalışmalarda diğer yangı mediyatörleri (NO, MDA vb.), aktif faz proteinleri, histopatolojik bulgular ve sağ kalım çalışmaları ile bu ilaçların sepsis üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi ve sonuçların desteklenmesi sağlanmalıdır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

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

TEŞEKKÜR VE BİLGİLENDİRME

Bu çalışma Ahmet Cihat ÖNER isimli yazarın doktora tezinden elde edilen veriler ile gerçekleştirilmiştir.

Ayrıca "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

- Akgül Y, Akgül Ö, Kozat S et al. (2019).** Evaluation of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), Tumor necrosis factor α (TNF- α), Interleukins (IL-6, IL-8) and C-reactive protein (CRP) levels in neonatal calves with presumed septicemia. *Van Vet J*, 30 (3), 167-173.
- Akyüz E, Naseri A, Erkilic ve ark. (2017).** Neonatal Buzağı İshalleri ve Sepsis. *Kafkas Üniv Fen Bil Enst Derg*, 10 (2), 181-191.
- Beydilli Y, Gökçe Hİ (2019).** Sepsisli Neonatal Buzağılarda Bazı hematolojik ve Biyokimyasal Parametrelerin Araştırılması. *MAKU J Health Sci Inst*, 7 (2), 55-67.
- Biniak K, Szuster-Ciesielka A, Kaminska T et al. (1998).** Tumor necrosis factor and interferon activity in the circulation of calves after treated injection low doses of lipopolysaccharide. *Vet Immunol Immunop*, 62 (4), 297-307.
- Bone RC, Charles JF, Clemmer TP et al. (1989).** Sepsis syndrome: A valid clinical entity. *Crit Care Med*, 17 (5), 389-393.
- Coimbra R, Melbostad H, Loomis W, Tobar M, Hoyt DB (2005).** Phosphodiesterase inhibition decreases nuclear factor-Kb activation and shiftst cytokine response to ward anti-inflammatory activity in acute endotoxemia. *J Trauma*, 59 (3), 575-582.
- Coşkun D, Corun O, Yazar E (2020).** Effect of supportive therapy on the pharmacokinetics of intravenous marbofloxacin in endotoxemic sheep. *J vet Pharmacol Therap*, 43, 288-296.
- Creasey AA, Chang AC, Feigen L et al. (1993).** Tissue factor path way inhibitor reduces mortality from Escherichiacoli septic shock. *J Clin Invest*, 91 (6), 2850-2860.
- Doğan MD, Ataoglu H, Akarsu ES (2002).** Nimesulide and diclofenac inhibit lipopolysaccharide-induced hypothermia and tumornecrosis factor- α elevation in rats. *Fund Clin Pharmacol*, 16(4), 303-309.
- Erkayman BP (2020).** Sepsis Oluşturmak İçin Kullanılan Deneysel Hayvan Modelleri. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 15(2), 181-186.
- Eroğlu MS, Kırbas A (2020).** Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu ve Sepsis. *F Ü Sağlık Bil Vet Derg*, 34 (1), 61-67.
- Gardlund B, Sjölin J, Nilsson A et al. (1995).** Plasma levels of cytokines in primary septic shock in humans: Correlation with disease severity. *J Infect Dis*, 172 (1), 296-301.

- Gouwy M, Struyf S, Proost P, van Damme J (2005).** Synergy in cytokine and chemokine network simplifies the inflammatory response. *Cytokine Growth FR*, 16 (6), 561-580.
- Hasani A, Soljakova M, Jakupi M, Ustalar-Ozgen S (2011).** Preemptive analgesic effects of midazolam and diclofenac in rat model. *Bosn J Basic Med*, 11 (2), 113-118.
- Howard M, Muchamuel T, Andrade S, Menon S (1993).** Interleukin 10 Protects Mice from Lethal Endotoxemia. *J Exp Med*; 177 (4), 1205-1208.
- Itoh A, Nishihira J, Makita H, et al. (2003).** Effects of IL-1beta, TNF-alpha, and macrophage inhibitory factor on prostacyclin synthesis in rat pulmonary artery smooth muscle cells. *Respirology*, 8 (4), 467-472.
- Izumi T, Bakhle YS (1989).** Out put of prostanoids from rat lung following endotoxin and its modification by methylprednisolone. *Circ Shock*, 28 (1), 9-21.
- Karbani N, Abutbul A, El-Amore R, et al. (2020).** Apoptotic cell therapy for cytokine storm associated with acute severe sepsis. *Cell Death and Disease*; 11, 535-549.
- Kesteman AS, Aude A, Ferran AA et al. (2009).** Influence of inoculum size and marbofloxacin plasma exposure on the amplification of resistant subpopulations of *klebsiella pneumoniae* in a rat lung infection model. *Antimicrob Agents Ch*, 53 (11), 4740-4748.
- Khan AA, Slifer TR, Araujo FG, Suzuki Y, Remington J (2000).** Protection against Lipopolysaccharide-Induced Death by Fluoroquinolones. *Antimicrob Agents Chemother*, 44 (11), 3169-3173.
- Lelubre C, Vincent JL (2018).** Mechanisms and treatment of organ failure in sepsis. *Nat Rev Nephrol*, 14(7), 417-427.
- Lukashenko PV, Lukashenko TM, Savanovich II, Sandakov DB, Gerein V (2004).** Granulocyte macrophage colony-stimulating factor regulates activity of the nervous system. *Neuroimmunomodulation*, 11 (1), 36-40.
- Marik PE, Lipman J (2007).** The definition of septic shock: implications for treatment. *Crit Care Resusc*, 9(1), 101-103.
- Meduri GU (1999).** An historical review of glucocorticoid treatment in sepsis. Disease pathophysiology and the design of treatment in vestigation. *Sepsis*, 3, 21-38.
- Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL (2002).** Interleukin-10: A complex role in the pathogenesis of sepsis syndromes and its potential as an anti-inflammatory drug. *Crit Care Med*, 30 (1), 58-63.
- Otto CM (2007).** Sepsis in veterinary patients: what do we know and where can we go?. *J Vet Emerg Crit Care*, 17 (4), 329-332.
- Öner AC, Şahin A (2021).** Endotoksemi Şekillendirilmiş Ratlarda Marbofloksasin, Diklofenak Sodyum ve Metilprednizolonun Serum Biyokimyasal Değerler Üzerine Etkisi. *Van Vet J*, 32 (3), 98-103.
- Özcan C, Hasanoğlu A, Gülcüler M (1996).** Sepsis ve inflamasyon mediatörleri. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*, 3 (4), 374-381.
- Pardon B, Deprez P (2018).** Rational antimicrobial therapy for sepsis in cattle in face of the new legislation on critical lymphant antimicrobials. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 87, 37-46.
- Park YJ, Lee MJ, Bae J et al. (2022).** Effects of Glucocorticoid Therapy on Sepsis Depend Both on the Dose of Steroids and on the Severity and Phase of the Animal Sepsis Model. *Life*, 12, 421.
- Rasooli A, Abbasi M, Shani Z, Hajhosseini R (2022).** Preventive Effects of NSAIDs on Lung Tissue Oxidative Damage in an Animal Sepsis Model. *J Cell Mol Anesth*, 7 (1), 2-8.
- Remick DG (2007).** Biological perspectives pathophysiology of sepsis. *Am J Pathol*, 170 (5), 1435-1444.
- Rosenbloom AJ, Pinsky MR, Bryant JL et al. (1995).** Leukocyte activation in the peripheral blood of patients with cirrhosis of the liver and SIRS. Correlation with serum interleukin-6 levels and organ dysfunction. *JAMA*, 274 (1), 58-65.
- Sakaguchi S, Furusawa S (2006).** Oxidative stress and septic shock: metabolic aspects of oxygen-derived free radicals generated in the liver during endotoxemia. *Immunol Med Microbiol*, 47 (2), 167-177.
- Sun XY, Ding XF, Liang HY et al. (2020).** Efficacy of mesenchymal stem cell therapy for sepsis: a meta-analysis of preclinical studies. *Stem Cell Research & Therapy*, 11, 214.
- Tsiotou AG, Sakorafas GH, Anagnostopoulos G, Bramis J (2005).** Septic shock; current pathogenetic concepts from a clinical perspective. *Med Sci Monit*, 11 (3), 76-85.
- Utomo MT, Sudarmo SM, Sudiana K (2020).** Zinc Supplementation in Cytokine Regulation During LPS-induced Sepsis in Rodent. *J Int Dent Med Res*, 13 (1), 46-50
- Yarema TC, Yost S (2011).** Low-Dose Corticosteroids to Treat Septic Shock: A Critical Literature Review. *Crit Care Nurse*; 31(6), 16-26.
- Yazar E, Çöl R, Konyaloğlu S et al. (2004).** Effects of vitamin E and prednisolone on biochemical and haematological parameters in endotoxaemic New Zealand white rabbits. *B Vet J Pulawy*, 48 (2), 105-108.
- Yazar E, Er A, Uney A, Altunok V, Elmas M (2007).** Effect of flunixin meglumine on cytokine levels in experimental endotoxemia in mice. *J Vet Med A*, 54 (7), 352-355.
- Yazar E, Er A, Uney K, et al. (2010).** Effects of drugs used in endotoxic shock on oxidative stress and organ damage markers. *Free Rad Res*, 44 (4), 397-402.