

T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ENDOTOKSEMİK KOYUNLARDA MARBOFLOKSASİNİN  
FARMAKOKİNETİĞİNİN BELİRLENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Devran COŞKUN

FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİMDALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Enver YAZAR

KONYA- 2020

T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ENDOTOKSEMİK KOYUNLARDA MARBOFLOKSASİNİN  
FARMAKOKİNETİĞİNİN BELİRLENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Devran COŞKUN

FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİMDALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Enver YAZAR

İKİNCİ TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Orhan ÇORUM

2017 ÖYP-008

KONYA - 2020

## ÖNSÖZ

Hayvanlarda ilaç uygulamaları genellikle tedavi etmek amacıyla yapılmakta ve uygulanan ilaçların büyük bir kısmını da antibiyotikler oluşturmaktadır. İlaçların etkinliklerin belirlenmesi hasta hayvanlar üzerinde gerçekleştirilirken, ilaç hareketinin belirlenmesi genellikle sağlıklı hayvanlarda gerçekleştirilmektedir ve doz-etki ilişkisinde hiçbir değişim olmadığı varsayılmaktadır. Ancak, akut ve kronik inflamasyona sebep olan hastalıklarda ve akut faz cevabın indüklendiği durumlarda ilaçların farmakokinetiği değişebilir. Özellikle ateş ile seyreden hastalıklarda farmakokinetikte meydana gelen değişimler, ilaçların farmakodinamiğinde değişimlere ve istenmeyen etki görülme sıklığında artışa neden olabileceği konusu kesinlikle dikkate alınmalıdır.

Ruminantlarda endotoksemi ve/veya sepsis önemli oranda mortalite ve morbiditeye sebep olan oldukça önemli bir hastalıktır ve dünyada olduğu gibi Türkiye’de de büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Deneysel sepsis ve/veya endotoksemi modellerinde en sık kullanılan *E.coli* lipopolisakaritidir. Araştırmada *E.coli* LPS enjeksiyonu sonrasında akut faz cevabın, vücut ısısının ve inflamasyonun indüklendiği ve endotoksemisinin rutin tedavisinde kullanılan deksametazon ve sıvı-elektrolit tedavisinin marbofloksasin farmakokinetiği üzerine olumlu etkileri olabileceği düşünüldü. Ancak yapılan araştırma indüklenmiş patofizyolojik cevabın rutin tedaviyle önüne geçilemedi ve marbofloksasin farmakokinetiğinde önemli değişimlere sebep oldu. Bunun yanısıra sahadan izole edilen Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler için minimum inhibitör konsantrasyon tespit edildi ve marbofloksasin farmakokinetik/farmakodinamik integrasyonu sağlanarak etkinliği hakkında fikir edinildi. Ayrıca çalışma sonuçlarına dayanarak endotoksemide marbofloksasin, deksametazon ve sıvı-elektrolit tedavisinin kombine kullanımları hakkında literatürdeki boşluğunun dolduracağı, mevcut araştırmalara ve yapılacak çalışmalara temel oluşturabileceği kanısındayız.

# İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
ÖZET .....	viii
SUMMARY .....	x
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Endotokseminin Fonksiyonel ve Metabolik Etkileri.....	5
1.1.1. Kardiyopulmoner Fonksiyonlar .....	5
1.1.2. Hemostatik Sistem .....	7
1.1.3. Termo-Regülasyon .....	8
1.1.4. Gastrointestinal Fonksiyon .....	8
1.1.5. Karbonhidrat Metabolizması .....	9
1.1.6. Protein Metabolizması .....	10
1.1.7. Vücut Üzerindeki Kompleks Etkileri .....	11
1.2. Endotoksin Toleransı .....	11
1.3. Klinik Belirtiler .....	12
1.4. Endotokseminin Klinik Patolojisi .....	13
1.4.1. Hematoloji.....	13
1.4.2. Biyokimyasal Değişimler .....	13
1.5. Endotoksemi Tedavisi.....	13
1.5.1. Antibiyotikler.....	14
1.5.2. Sıvı Tedavisi .....	15
1.5.3. Glukokortikoidler .....	16
1.6. Hipotez ve Amaç.....	16
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	<b>18</b>
2.1. Hayvanlar .....	18
2.2. Kimyasal ve İlaçlar .....	18
2.3. Deneysel Prosedür .....	18
2.3.1. Endotokseminin İndüklenmesi ve Destek Tedavi .....	18
2.3.2. Örnekleme.....	19
2.4. Hematolojik ve Biyokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi .....	19
2.5. Standartlar ve Stok Solüsyonlar .....	20
2.6. HPLC ve Kromatografik Şartlar .....	20
2.7. Metot Validasyonu.....	21
2.8. Plazma İlaç Düzeylerinin Belirlenmesi .....	21

2. 9. Farmakokinetik Hesaplamalar.....	22
2. 10. Farmakodinamik Analizler.....	22
2.11. Farmakokinetik/Farmakodinamik İntegrasyon.....	22
2.12. İstatiksel Analizler .....	23
<b>3. BULGULAR.....</b>	<b>24</b>
3.1. Metod Validasyonu .....	24
3.2. Klinik Belirtiler ve Hematolojik Parametreler .....	24
3.3. Biyokimyasal ve Kan Gazı Parametreleri.....	29
3.4. Farmakokinetik Parametreler .....	32
3.5. Farmakokinetik/Farmakodinamik integrasyon.....	33
<b>4. TARTIŞMA.....</b>	<b>37</b>
4.1. Klinik Belirtiler ve Hematolojik Parametreler .....	37
4.2. Biyokimyasal ve Kan Gazı Parametreleri.....	39
4.3. Farmakokinetik Parametreler .....	41
4.4. Farmakodinamik Parametreler .....	44
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>45</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>47</b>
<b>7. EKLER .....</b>	<b>56</b>
EK-A: Etik Kurul Onayı .....	56
EK-B: Tezden Üretilmiş Yayınlar .....	57
<b>8. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>58</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

ALT: Alanin aminotransferaz  
ALP: Alkalen fosfataz  
AST: Aspartat aminotransferaz  
Base(ecf): Baz açığı  
BUN: Kan üre nitrojen  
CD14: Başkalaşım kümesi 14  
CK-MB: Kreatin kinaz  
Cl: Klor  
Cl<sub>T</sub>: Total klerens  
CREAT: Kreatinin  
DIC: Damar içi pıhtılaşma  
DT: Destek tedavi  
EAA: Konsantrasyon-zaman eğrisi altındaki alan  
GGT: Gamma glutamil transferaz  
HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>: Bikarbonat  
HG: Hemoglobin  
HO: Harmonik ortalama  
HPLC: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi  
HTC: Hematokrit  
iCa: İyonize kalsiyum  
IV: Damar içi  
IL: İnterlökin  
K; Potasyum  
LBP: Lipopolisakkarit bağlayıcı protein  
LOD: Tespit limiti  
LOQ: Hesaplanabilir limit  
LPS: Lipopolisakkarit  
MB: Marbofloksasin  
MİK: Minimum inhibitör konsantrasyon  
MMD-2: Miyeloid farklılaşma proteini 2  
MPC: Mutant önleyici konsantrasyon  
MRT: Ortalama kalış süresi  
NF-kB: Nükleer faktör kappa B  
NO: Nitrik oksit  
pCO<sub>2</sub>: Kısmi karbondioksit basıncı  
PD: Farmakodinamik  
PGE<sub>2</sub>: Prostaglandin E2  
PK: Farmakokinetik

PLT: Trombosit  
pO<sub>2</sub>: Kısmi oksijen basıncı  
RBC: Alyuvar  
SC: Deri altı  
sO<sub>2</sub>: Oksijen satürasyonu  
t<sub>1/2z</sub>: Terminal eliminasyonunun yarı ömrü  
TLR4: Toll like reseptör 4  
TNF- $\alpha$ : Tümör nekrozis faktör alfa  
Tn-I: Troponin I  
Tx: Tromboksan  
TxA<sub>2</sub>: Tromboksan A<sub>2</sub>  
V<sub>ds</sub>: Kararlı durum dağılım hacmi  
VK: Varyasyon katsayısı  
WBC: Akyuvar  
 $\lambda_z$ : Eliminasyon hız sabitesi  
 $\mu$ = Mikro  
 $\alpha$ : Alfa  
 $\infty$ : Sonsuz

# ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

## Endotoksemik Koyunlarda Marbofloksasinin Farmakokinetiğinin Belirlenmesi

Devran COŞKUN

Danışmanlar

Prof. Dr. Enver YAZAR

Doç. Dr. Orhan ÇORUM

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi/ KONYA-2020

Endotoksemi kanda Gram negatif bakteri hücre duvarı birleşeni olan lipopolisakkarit (LPS)'in varlığıdır. Bu çalışmanın temel amacı, koyunlarda *Escherichia coli* LPS'i ile indüklenmiş endotoksemi modelinde destek tedavi (DT)'nin marbofloksasinin farmakokinetiği üzerindeki etkilerini belirlemektir. Buna ek olarak marbofloksasinin *Escherichia coli*, *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* spp. ve *Staphylococcus aureus*'a karşı minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK)'ni tespit etmek ve bu çalışmadan elde edilen farmakokinetik ile MİK verilerini kullanarak endotoksemi tedavisinde marbofloksasinin farmakokinetik-farmakodinamik (PK-PD) ilişkisi hakkında bilgi edinmektir. Araştırma üç aşamalı çapraz farmakokinetik dizayna göre gerçekleştirildi. Her aşama arasında 15 günlük arınma periyodu uygulandı. Birinci aşamada marbofloksasin (10 mg/kg) intravenöz (IV) yolla uygulandı (MB grup). İkinci aşamada marbofloksasin (IV) uygulanmasıyla eş zamanlı DT (laktali ringer + dekstroz %5 + sodyum klorür %0.45, IV, 20 ml/kg/saat, deksametazon 0.5 mg/kg, SC) uygulanırken (MB+DT grup), üçüncü aşamada ilk olarak *Escherichia coli* LPS'i (*E. coli* O55:B5, 10 µg/kg, 30 dk) damar içi infüze edildi ve uygulamasını takiben marbofloksasin (IV) ve DT eş zamanlı uygulandı (LPS+MB+DT grup). Bütün gruplarda marbofloksasin uygulama öncesi 0.(kontrol) ve takiben 0.5., 1., 2., 4., 8., 12., 24. ve 48. saatlerinde vücut ısısı ölçüldü. Ayrıca 0. (kontrol), 0.5, 1., 2., 4., 6., 8., 12., 24., 36., 48., 72. ve 96. saatlerinde hemogram, kan gazı ve biyokimyasal analizler ile 0. (kontrol), 0.083, 0.167, 0.25, 0.333, 0.417, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 36, 48, 72 ve 96. saatlerde ise farmakokinetik analizler için kan örnekleri alındı. Hemogram analizler kan hücreleri sayım cihazında, biyokimyasal analizler otoanalizatörde ve kan gazı analizleri ise kan gazı analiz cihazında ölçüldü. Kan marbofloksasin miktarı HPLC-UV ile ölçüldü. MB ve MB+DT gruplarında vücut ısısında değişim belirlenmezken ( $P>0.05$ ), LPS+MB+DT grubunda 2. ve 4. saatlerde önemli düzeyde yükseldiği belirlendi ( $P<0.05$ ). Hemogram parametrelerinde MB grubunda herhangi bir değişim belirlenmezken ( $P>0.05$ ), MB+DT grubunda trombosit sayısında ve LPS+MB+DT grubunda akyuvar düzeyinde anlamlı değişimler belirlendi ( $P<0.05$ ). Biyokimyasal parametrelerde MB grubunda glikoz ve kan üre nitrojen, MB+DT grubunda laktat, glikoz ile troponin I ve LPS+MB+DT grubunda glikoz, kreatinin ile kan üre nitrojen düzeylerinde istatistiksel fark belirlendi ( $P<0.05$ ). Kan gazı parametrelerinde ise MB grubunda pH, sodyum ile iyonize kalsiyum, MB+DT grubunda pH, bikarbonat, sodyum ile potasyum ve LPS+MB+DT grubunda pH, Base(ecf), bikarbonat, potasyum, iyonize kalsiyum ile klor düzeylerinde istatistiksel değişimler belirlendi ( $P<0.05$ ). Marbofloksasinin farmakokinetiğinde nonkompartimental model uygulandı. MB grubunda marbofloksasinin ortalama eliminasyon yarı ömrü ( $t_{1/2\beta}$ ), konsantrasyon-zaman eğrisi altındaki alan ( $EAA_{0-\infty}$ ), toplam vücut klerensi ( $Cl_T$ ), kararlı durum dağılım hacmi ( $V_{dss}$ ) ve ortalama kalış süresi ( $MRT_{0-\infty}$ ) sırasıyla 2.87 saat, 34.73 saat\*µg/mL, 0.29 L/saat/kg, 0.87 L/kg ve 2,98 saat olarak belirlendi. Farmakokinetik parametrelerde MB ile MB+DT grupları arasında istatistiksel değişiklikler belirlenmezken,

LPS+MB+DT grupta  $Cl_T$ 'nin azaldığı,  $EAA_{0-\infty}$ 'un arttığı,  $t_{1/2\lambda z}$  ve MRT'nin uzadığı tespit edildi. Marbofloksasin için MİK değerleri *E. coli* için 0.031->16 µg/mL, *M. haemolytica* için 0.016->16 µg/mL, *P. multocida* için 0.016-1 µg/mL, *K.pneumoniae* için 0.016-0.25 µg/mL, *Salmonella* spp. için 0.031-0.063 µg/mL ve *S. aureus* için 0.031-1 µg/mL olarak belirlendi.  $EAA_{0-24}$ /MİK oranları Gram negatif bakteriler için MİK konsantrasyonu sırasıyla  $\leq 0.28$ ,  $\leq 0.28$  ve  $\leq 0.55$  µg/mL olarak belirlenirken, Gram pozitif bakteriler (*Staphylococcus aureus* vb.) için MİK konsantrasyonu sırasıyla  $\leq 0.58$ ,  $\leq 0.58$  ve  $\leq 1.15$  µg/mL olarak belirlendi. Sonuç olarak sağlıklı koyunlara DT uygulanmasının marbofloksasinin farmakokinetiği üzerine etkisinin olmadığı, ancak endotoksemik koyunlarda marbofloksasinin farmakokineği ve dolayısı ile terapötik etkinliğinde değişim gözlenebileceği ifade edilebilir. Bununla birlikte, marbofloksasinin PK ve PD etkisinin, tek ve DT ile birlikte uygulanmasını takiben doğal enfekte septisemik koyunlarda belirlenmesi gerekir.

**Anahtar sözcükler:** Koyun; Endotoksemi; Marbofloksasin; Destek tedavi; Farmakokinetik; Farmakodinamik



## SUMMARY

T.C.

SELCUK UNIVERSITY

HEALTH SCIENCES INSTITUTE

### **Determination of Pharmacokinetics of Marbofloxacin in Endotoxemic Sheep**

**Devran COSKUN**

**Consultants**

**Prof. Dr. Enver YAZAR**

**Assoc. Prof. Dr. Orhan CORUM**

**Department of Pharmacology and Toxicology**

**Doctoral Thesis/ KONYA-2020**

Endotoxemia is the presence of lipopolysaccharide (LPS), a Gram-negative bacterial cell wall component in the blood. The main purpose of this study is to determine the effects of supportive therapy (ST) on the pharmacokinetics of marbofloxacin in the model of endotoxemia induced by *Escherichia coli* LPS in sheep. In addition to detect minimum inhibitory concentrations (MIC) of marbofloxacin against *Escherichia coli*, *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella spp* and *Staphylococcus aureus*, and to learn about the pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK/PD) relationship of marbofloxacin in the treatment of endotoxemia using the pharmacokinetics and MIC data obtained from this study. The research was carried out according to the three-stage cross pharmacokinetic design. A 15-day washout period was applied between each stage. In the first stage, marbofloxacin (10 mg / kg) was administered intravenously (IV) (MB group). In the second period, marbofloxacin is applied co-administered with ST (lactated ringer + dextrose 5% + sodium chloride 0.45%, 20 mL/kg, IV, 20 ml/kg/h, dexamethasone 0.5 mg/kg, SC) (MB + ST group) while in the third periods, *Escherichia coli* LPS (E. coli O55: B5, 10 µg / kg, 30 min) was infused intravenously, and following administration, marbofloxacin (IV) and ST were applied simultaneously (LPS + MB + ST group). Body temperature was measured in all groups at 0. (control) before and after 0.5, 1., 2., 4., 8., 12., 24., and 48 hours after marbofloxacin administration. Also for hemogram, blood gas and biochemical analysis at 0. (control), 0.5, 1., 2., 4., 6., 8., 12., 24., 36., 48., 72. and 96. hours, and 0. (control), for pharmacokinetics analysis 0.083, 0.167, 0.25, 0.333, 0.417, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 36, 48, 72 and 96 hours blood samples were collected. Hemogram analyzes were measured in the blood cell counting device, biochemical analyzes were measured in the auto analyzer and blood gas analyzes were measured in the blood gas analyzer. Plasma marbofloxacin concentration was measured by HPLC-UV. While no change in body temperature was determined in the MB and MB + ST groups (P>0.05), it was determined that the LPS + MB + ST group increased significantly at the 2nd and 4th hours (P<0.05). While no change in the MB group was determined in the hemogram parameters (P>0.05), significant changes were determined in the platelet count in the MB + ST group and the white blood cell level in the LPS + MB + ST group (P<0.05). In biochemical parameters, there was a statistical difference in glucose and blood urea nitrogen in the MB group, lactate, glucose and troponin I in the MB + ST group and glucose, creatinine and blood urea nitrogen levels in the LPS + MB + ST group (P<0.05). In blood gas parameters, statistical changes were determined pH, sodium ionized calcium in MB group, pH, bicarbonate, sodium and potassium in the MB + ST group, and pH, Base (ecf), bicarbonate, potassium, ionized calcium and chlorine levels in LPS + MB + ST group. In the pharmacokinetics of marbofloxacin, the noncompartmental model was applied. Following IV administration of MB alone, the mean elimination half-life ( $t_{1/2\lambda_z}$ ), area under the concentration-versus time curve ( $AUC_{0-\infty}$ ), total body clearance ( $Cl_T$ ), volume of distribution at steady state ( $V_{dss}$ ) and mean residence time ( $MRT_{0-\infty}$ ) were 2.87 h, 34.73 h\*µg/mL, 0.29 L/h/kg, 0.87 L/kg and 2.98 h., respectively. While no statistical

changes were determined in the pharmacokinetic parameters between MB and MB + ST groups, it was determined that  $Cl_T$  decreased,  $EAA_{0-\infty}$  increased,  $t_{1/2\alpha}$  and MRT increased in the LPS + MB + ST group. MIC values for marbofloxacin was determined as 0.031-> 16  $\mu\text{g}/\text{mL}$  for *E. coli*, 0.016->16  $\mu\text{g}/\text{mL}$  for *M. haemolytica*, 0.016-1.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  for *P. multocida*, 0.016-0.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  for *K.pneumoniae*, 0.031-0.063  $\mu\text{g}/\text{mL}$  for *Salmonella* spp. and 0.031-1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  for *S.aureus*. While  $EAA_{0-24}/\text{MIC}$  rates were determined as 0.28,  $\leq 0.28$  and  $\leq 0.55$   $\mu\text{g} / \text{mL}$  for Gram-negative bacteria, respectively, the MIC concentration for Gram-positive bacteria was determined as  $\leq 0.58$ ,  $\leq 0.58$  and  $\leq 1.15$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectively. As a result, it can be stated that the application of ST to healthy sheep has no effect on the pharmacokinetics of marbofloxacin, but a change in the pharmacokinetics of marbofloxacin and thus its therapeutic efficacy can be observed in endotoxemic sheep. However, the PK and PD effect of marbofloxacin should be determined in naturally infected septicemic sheep following single and combined with ST.

**Keywords:** Sheep; Endotoxemia; Marbofloxacin; Supportive therapy; Pharmacokinetics; Pharmacodynamics



## 1. GİRİŞ

Endotoksemi, gram negatif bakterilerin hücre duvarı bileşeni olan lipopolisakkarit (LPS)'in kandaki varlığı olarak tanımlanır. Endotoksemi sırasında birçok organ ve dokuda klinik ve fizyolojik anormallikler gelişir (Wagner ve Roth 1999). Gelişen bu anormallikler prostaglandinler, kininler ve diğer inflamatuvar mediyatörlerin indüksiyonuna sebep olarak kardiyovasküler depresyon, pulmoner hipertansiyon, azalmış doku perfüzyonu ve periferik hipoksi gibi patofizyolojik değişikliklere neden olur (Kelmer 2009). Sonuçta vücut sıcaklığında artma, lökosit sayısında azalma (Salvesen ve ark 2016), kalp ve böbrek gibi hayati organlara giden kan akımında bozulma ile gastrointestinal disfonksiyona (Trzeciak ve ark 2008, Sakata ve ark 2017) neden olmaktadır.

Etiyoloji: Endotoksemi çiftlik hayvanlarında önemli oranda mortalite, morbidite ve ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (Kelmer 2009, Chalmeh ve ark 2013a). Gram negatif bakteriler parçalandığında endotoksin niteliğindeki hücre duvarı bileşenleri kan dolaşımına geçer (Wagner ve Roth 1999). Kan dolaşımına geçen endotoksin miktarı düşükse karaciğer Kupffer hücreleri tarafından detoksifiye edilir, ancak detoksifikasyon kapasitesinin üstünde ise şiddetli yerel ve/veya generalize yangılar görülebilir. Portal kan dolaşımındaki LPS'nin temizlenmesinde plazma endotoksin konsantrasyonu ile hepatik fonksiyonun derecesi arasında korelasyon bulunduğu bildirilmiştir (Morris 1991, McCuskey ve ark 1996).

*Escherichia coli* (*E. coli*), *Mannheimia haemolytica* (*M. haemolytica*), *Pasteurella multocida* (*P. multocida*), *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) gibi bakteriler endotoksemi ve/veya septik şoka neden olur (Kreimeier ve ark 1993, Highlander ve ark 2000, Bochud ve Calandra 2003, Maxie 2015). Deneysel endotoksemi modellerinde en fazla *E.coli* LPS'i kullanılmaktadır (Elmas ve ark 2006, Er ve ark 2010, Yazar ve ark 2010, Li ve ark 2019).

Patogenezis: Endotoksinler, gram negatif bakterilerin hızlı çoğaldıkları dönemde ve/veya ölüme maruz kaldıklarında yakın çevrelerine salınırlar. Mikroorganizmalar özellikle gastrointestinal bölgede üredikleri ve yıkımlandıkları için bağırsak nispeten büyük miktarda endotoksin içermektedir. Epitel hücrelerinin

oluşturduğu bağırsaktaki mukozal bariyer ve bunlar arasındaki sıkı bağlantı, hücrel sekresyon ve lamina propria, endotoksinler ve bakterilerin transmural hareketini etkin bir şekilde kısıtlar. Bununla birlikte, mukozal engelin bütünlüğü kaybolduğunda, bağırsak duvarının yangısı veya iskemi gibi durumlarda endotoksinler portal kan dolaşımına ve periton boşluğuna geçer. Aynı şekilde endotoksinler, gram negatif bakteriler tarafından oluşturulan şiddetli lokal ve/veya generalize enfeksiyon sonucunda kan dolaşımına geçebilir ve endotoksinlerin doğrudan etkilerine aracılık ederek ölüme sebep olabilir (Morris 1991). Ancak endotoksinler ve gram negatif bakterilerin doğrudan canlıya verdikleri zarar oldukça azdır. Endotokseminin patogenezinde asıl rol oynayan endotoksinler tarafından indüklenen yangı mediyatörleridir (Glaros ve ark 2013). Etkiye aracılık eden mediyatörler endotel hücreleri, monositler/makrofajlar, nötrofiller, trombositler gibi hücrelerden sentezlenir ve endotokseminin klinik görünümü ve patogenezinin sorumludur. Bu hücrelerde sitokinler, nitrik oksit (NO), platelet aktive edici faktör, tromboksan A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>), prostaglandinler, lökotrienler, proteinazlar, toksik oksijen metabolitleri ve vazoaaktif aminler gibi mediyatörler üretilir. Bu mediyatörler arasında makrofajlardan üretilen sitokinler endotokseminin patofizyolojik etkilerinin çoğundan sorumludur. Özellikle çiftlik hayvanlarında pulmoner intravasküler makrofajlar önemli sitokin üreticileridir ve endotokseminin klinik etkileri ve patogenezinde önemli rol aldığı düşünülmektedir (Brigham 1985, Brigham ve Meyrick 1986, Kuhl ve Rosen 1998).

LPS'in canlıda oluşturduğu patofizyolojik etkilerin düzeyi, LPS'in dozu ile ilişkilidir. Genellikle dozu arttıkça etkileri belirginleşir ve uzar. Ayrıca bireysel duyarlılık, yaş, gebelik, endotoksin yükü, uygulama yolu ve sıklığı da patofizyolojik etkilerini önemli ölçüde değiştirebilir (Lohuis ve ark 1988). Bununla birlikte türler arasındaki farklı oranlarda LPS bağlayıcı proteinlerin (LBP) bulunması ve LPS'nin yarı ömrünün farklı olmasından kaynaklı olarak klinik görünüm ve patofizyolojik etkilerinin değişebileceği bildirilmiştir (Morris 1991). LBP ile LPS'in birleşmesi ile oluşan LPS-LBP kompleksi, doğrudan karaciğer, akciğer ve kan dolaşımındaki makrofajlar ve lipoproteinlere bağlanarak hızla temizlenir (Kitchen ve Thompson 2005). Bunun dışında LPS-LBP kompleksi, membran bağlayıcı reseptör (mCD14) ve çözünebilir CD14 (sCD14)'e bağlanarak, bu yapıları birbirine dönüştürme yeteneğini kazandırabilmektedir. Eğer detoksifikasyon seviyesinin üstüne

çıkılmadıysa ya da LBP seviyesi yüksek ise LPS-LBP, mCD14 veya sCD14 yapıları lipoproteinler ile birleşerek detoksifiye edilir (Kitchen ve Thompson 2005). Detoksifiye kapasitesinin üstünde toksin varlığı söz konusuysa veya LBP seviyesi düşükse LPS-LBP kompleksi, miyeloid farklılaşma proteini 2 (MMD)-2 adı verilen bağlayıcı bir protein vasıtasıyla mononükleer hücreler üzerinde bulunan mCD14'ye bağlanır. Bundan sonra mononükleer hücre zarındaki Toll Like Reseptör 4 (TLR4) eklenir ve LPS asıl yıkımlayıcı etkisinden sorumlu olan mediyatörlerin salınımına neden olur (Kitchen ve Thompson 2005, Kelmer 2009). Bu kompleksin hücre içine geçmesi sonucunda nükleer faktör kappa B (NF-kB) sinyal yolağı etkinleşerek birçok proinflamatuvar sitokinlerin (TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8) salınmasına aracılık eder (Kim ve ark 2004). Aktive edilen genlerin bazıları siklooksijenaz 2, uyarılabilir NO, nötrofillerin endotel yüzeylerine yapışmasını destekleyen endotel yapışma molekülleri ve kemokinlerin salınmasını da indükler (Wagner ve Roth 1999).

LBP ve sCD14'ün dolaşımdaki yüksek konsantrasyonları potansiyel olarak LPS'in zararlı sistemik etkilerini kontrol altına almaya yardımcı olabilir. Bu nedenle, sCD14 ve LBP'in her birinin enfeksiyon sırasında konakçıya fayda sağlayabilecek ikili aktiviteye sahiptir. Sepsis tedavisinde ilaç uygulama sonrasında tedavide yüksek oranda başarı sağlanamaması, LBP ve sCD14 sistemlerinin yeterince aktive olmaması olarak gösterilmektedir. sCD14 ve/veya LBP'in ikili aktivitesi üzerine çalışmalar yapılmasının, terapötik potansiyeli olabileceği bildirilmiştir (Kitchen ve Thompson 2005).

Endotoksemi sırasında sentezi artan araşidonik asit metabolitlerinin hemodinamik değişimlerden sorumlu olabileceği bildirilmiştir. Siklooksijenazlar araşidonik asidi, spesifik sentetazlarla prostaglandin, tromboksan (Tx) ve prostasiklin oluşumu için substrat olan ara endoperoksitlere dönüştürür (Moore 2005). Trombositler, güçlü vazokonstriktör olarak görev yapan ve trombosit agregasyonunu indükleyen başlıca Tx kaynağıdır. Prostrasiklinlerin geneli vasküler endotel hücrelerinde sentezlenir ve vazodilatasyon ile trombosit agregasyonu inhibisyonuna sebep olur (Cook 2005). Endotoksin kaynaklı siklooksijenaz ürünlerinin üretimi, ölümle sonuçlanan çoklu organ yetmezliğine ve mortalitede artışa katkıda bulunabilir (Basu ve Eriksson 1998).

Virülan membran bileşenleri ve toksinler, tümör nekrozis faktör alfa (TNF $\alpha$ ), interlökin (IL)-1 ve IL-6 dâhil olmak üzere inflamatuvar mediyatörlerin salınmasına neden olan bağışıklık tepkisini aktive eder. Bu sitokinler arasından özellikle TNF $\alpha$ 'nın endotoksemideki rolü önemlidir (Beutler ve ark 1985, Waage ve ark 1987, Debets ve ark 1989, Casey ve ark 1993). TNF $\alpha$ , endotoksemi sırasında makrofajlar tarafından salınır ve hastalığın prognozu açısından önemlidir (Wagner ve Roth 1999). Prostaglandinler ve TxA, TNF'nin neden olduğu sistemik etkilere aracılık edebilir ve bu etkileri siklooksijenaz inhibitörleri tarafından önlenabilir. TNF endojen bir pirojen gibi davranarak ikincil bir mekanizmayla nötrofilleri aktive eder ve endotoksemi sırasında birçok dokuda meydana gelen inflamatuvar değişimler damar endoteline yapışmayı uyarır. Bu tepkiler endotoksemi ile ilişkili olan koagülopatiyi güçlendirir. TNF'in endotoksik şok patogenezinin merkezinde rol aldığı düşünülmektedir. LPS veya Gram negatif bakterilerin enjeksiyonunu takiben TNF kanda hızlı bir şekilde artar ve en yüksek serum konsantrasyonuna 90 ila 120 dakikalar arasında ulaşır (Morris 1991). Safılaştırılmış rekombinant TNF uygulanması septik ve endotoksemik şoka benzer etkilere neden olur ve TNF'ye karşı yönlendirilmiş monoklonal antikolar, endotoksemi ve sepsisin zararlı etkilerinin çoğunu önler ve Gram negatif sepsis sırasında LPS kaynaklı mortaliteyi önemli ölçüde azaltır (Johnson ve ark 1989, Morris 1991, Johansen 2015). Proinflamatuvar bir sitokin olan IL-1, ateş ve hepatik akut faz yanıtın ortaya çıkmasında rol oynar. IL-6, hepatik akut faz cevaba katkıda bulunur ve B lenfositlerin proliferasyonunu destekler. Prognostik bir gösterge değeri taşıyan IL-6'nın plazma konsantrasyonu, endotoksemide TNF $\alpha$  ve IL-1'e kıyasla daha iyi bir belirleyicidir (Wagner ve Roth 1999, Morris 2001).

İnflamatuvar mediyatörlerin salınımı sepsisli hastalarda sistemik apoptozu indükler. Sepsis kaynaklı apoptoz intrinsik (mitokondriyal kaspaz-9 yolu) ve ekstrinsik (ölüm reseptörü kaspaz-8 yolu) olmak üzere iki sinyal yolu ile başlar. İntrensik yolak toksinler, NO ve serbest radikaller tarafından uyarılır. Uyarımlar Ca<sup>2+</sup>'un iç mitokondriyal zardan akışını ve sitokrom C'nin yer değiştirmesini etkileyerek mitokondriyal disfonksiyona sebep olur. Mitokondriyal disfonksiyon sepsisin prognozu açısından önemlidir. Ekstrinsik sinyal yolağı ise TNF $\alpha$  ve Fas gibi ligandları bağlayan transmembran ölüm reseptörleriyle aktive olurlar. İntrensik ve ekstrinsik sinyal transdüksiyonu hücrenin ölümüyle sonuçlanan proteaz kademeli

başlayan kaspaz-3'ü aktive eder. Deneysel yapılan bir çalışmada, apoptozisin inhibe edilmesiyle organ fonksiyon bozukluğunun engellendiğini ve mortaliteyi azalttığı bildirilmiştir (Johansen 2015).

## **1.1. Endotokseminin Fonksiyonel ve Metabolik Etkileri**

### **1.1.1. Kardiyopulmoner Fonksiyonlar**

Endotokseminin hemodinamik etkileri iki fazda ortaya çıkar. Birinci fazında, kalp atışı ve kalp debisi artar ve periferik vasküler direnç azalır, ancak sistemik kan basıncı normale yakın veya normalin biraz altında kalır. Bu dönem endotokseminin hiperdinamik fazı olarak bilinir (McCuskey ve ark 1996, Wang ve Chaudry 1996, Yang ve ark 1999, Flynn ve ark 2010). Periferik dokuların oksijen ihtiyacı hiperdinamik fazda artar ve bu artışı karşılamak için kan akışının artması telafi edici mekanizma olarak görülmektedir. Hiperdinamik fazda kalp debisindeki artması ve oksijen uygulamaları yapılmasına karşın dokuların ihtiyaçlarını karşılamakta yetersiz kalabilir. Etkilenen hayvanlarda hiperventilasyon, kılcak dolum zamanı ile mukoza zarlarında konjesyon azalmıştır. Mikrosirkülasyonda bozulma özellikle gastrointestinal sistem ve böbrek gibi organları etkiler. Kan akımındaki bozukluk klinik olarak ileus, ishal ve idrar çıkışında azalma ile kendini gösterir. Hiperdinamik fazın ardından hipodinamik faz gelir ve bu fazda kardiyak debide azalma, sistemik hipotansiyon, periferik damar direncinde artma ve santral venöz dönüşte azalma gözlenir. Hipotermi, hızlı düzensiz nabız, uzamış kılcak dolum zamanı, siyanotik ve anemik mukozalar, asidemi, hipoksemi (Radostis ve ark 2006, Constable ve ark 2016), deri ve ekstremitelerde soğukluk ve organ yetmezliği görülür (Flynn ve ark 2010). Ayrıca şiddetli pulmoner ödem ve pulmoner hipertansiyon gelişir. LPS'in yüksek dozlarda uygulanması kalp atış hızında artma, kalp debisi ile atım hacminde azalma ve periferik vasküler dirençte artışla birlikte dolaşım şokuna neden olabilir. Düşük dozda LPS'in intravenöz infüzyonu hipotansif ve hipovolemik şoka neden olmadan pulmoner hipertansiyona neden olabilir. Düşük endotoksin dozlarının yavaş infüzyonunu takiben bağırsakların vazokonstriksiyonu endotoksemiye telafi edici yanıtın bir parçasını oluşturur (Constable ve ark 2016).

Endotoksemideki vasküler değişiklikler arasında vasküler geçirgenlikte artış, vasküler tonusda değişiklikler ve mikrovasküler obstrüksiyon görülür. Artan kapiller geçirgenlik interstisyel boşluğa su taşıyan albumin ve diğer kolloidlerin transmural

hareketini teşvik eder. Sonuçta hipoalbuminemi, hipoproteinemi, interstisyel ödem, pulmoner ödem, hipovolemi, kalbe kan dönüşünde ve kalp debisinde azalma gelişir. Sistemik ve pulmoner arter ve arteriollerde vazokonstriksiyon gelişir (Olson ve ark 1990, Radostis ve ark 2006). Buna ek olarak endotoksinin koyunlara uzun süre infüzyonu sistemik hipotansiyon, pulmoner hipertansiyon ve akut akciğer hasarına neden olabilir (Perkowski ve ark 1996).

Endotoksinler kardiyomiyopati gelişimini teşvik eder. Kardiyomiyopatinin altında yatan hücresel mekanizmalar tam olarak açıklanamamıştır. İndüklenebilir NO üretimi, hücre içi kalsiyum akımı, oksidasyon - redüksiyon dengesinin bozulması ve bozulmuş solunum zinciri aktiviteleri miyopatinin açıklanmasında kullanılmıştır. Ancak hangisinin ne kadar etkili olduğu ile ilgili net bir sonuca ulaşılmamıştır (Flynn ve ark 2010).

Endotoksemi akut ve şiddetli nötropeniye neden olur. Nötropeni esas olarak lökositlerin damar duvarına yapışması ve sekestrasyonuna bağlıdır. Şiddetli nötropenin kalıcılığı kötü prognostik bir göstergedir. Nötrofillerin pulmoner sekestrasyonu ve pulmoner intravasküler makrofajların aracılığıyla endotoksinlerin alımına öncülük eder ve pulmoner makrofajların cevabı sonrasında ortaya çıkan çok önemli basamak olarak görülmektedir. Hemokonsantrasyon, sıvının damarlardan ekstravasküler boşluklara hareketinden kaynaklanır. LPS infüzyonunu takiben çok kısa bir zamanda lökopeni görülebilir. Endotoksinler özellikle alveoler kılcal damarlardaki lökositlerde birikerek, yangı durumunda lökositlerin damar duvarına yapışması ve aktivasyonuna neden olur. Bu olayı interstisyel ve endotel hücrelerine lökositlerin göçü ve degranülasyonu takip eder. Rebound lökositoz kemik iliği üzerindeki humoral etkilerden kaynaklanır. Kemik iliğinden nötrofillerin salınımını destekleyen nötrofil salgılayan faktör ve granülopoezi uyaran makrofaj-kolonistimüle edici faktörler etkilidir. Ayrıca endotoksemide periferik kan dolaşımı ve dalaktaki lenfositler lenfatik organlara yeniden dağılır ve endojen kortikosteroidlerin salınmasıyla lenfopeniyi potansiyalize eder. Trombositopeni, endotoksin uygulamasından sonra gözlenir. Ancak nötropeniden daha sonra ortaya çıkar (Radostis ve ark 2006, Constable ve ark 2016).

### 1.1.2. Hemostatik Sistem

Endotokseminin hemostatik sistem üzerine etkilerini periferik dolaşım boyunca trombositleri, pıhtılaşma faktörleri ve endoteli etkileyerek pıhtılaşma ve fibrinolizi indüklenmesi vasıtasıyla gösterir. Sepsisin ciddi evrelerinde hipoperfüzyon ve oksijen tükenmesi ile doğrudan organ yetmezliği ve ölüme bağlantılı mikrodolaşımda belirgin değişiklikler meydana gelir (Sakr ve ark 2004, Trzeciak ve ark 2008, De backer ve ark 2013). Endotoksinler doğrudan veya dolaylı endotel hasarına neden olabilir. Böylece hasar, iç ve dış pıhtılaşma basamaklarında başlayan subendotelyal kollajen ve doku tromboplastini açığa çıkarır. Aktive edilmiş nötrofiller, kompleman bileşenleri ve makrofaj ürünleri, IL-1 ve TNF endotoksin kaynaklı endotel düzenin bozulmasında rol oynarlar (Morris 1991). Pıhtılaşma ve fibrinoliz üzerindeki etkilere farklı sitokinler aracılık ettiği ifade edilmektedir. IL-6 pıhtılaşmanın aktivasyonunda rol oynarken, TNF'nin ise fibrinolitik cevapların uyarılmasında önemli rol oynadığı görülmektedir. Sepsiste pıhtılaşma ve fibrinolizin düzenlenmesinde diğer sitokinlerin rolü net olarak tanımlanamamıştır (Levi ve ark 2003). Endotoksinler pıhtılaşma faktörü XII'yi doğrudan aktive edebilme yeteneğine sahiptir ve ayrıca tromboksan ve diğer prokoagülan mediyatörler ile birlikte trombosit salınımını indükleyerek koagülasyon basamaklarının başlatılmasında önemli role sahiptir. İkincil olarak endotoksinler faktör XII aktivasyonu ile endotel hasarı veya kompleman aktivasyonu ile koagülopatiye neden olabilir. Makrofaj ve lökositlerin, faktör VII'ye benzer şekilde endotoksine cevap olarak prokoagülan madde saldığı gösterilmiştir (Morris 1991, Radostis ve ark 2006). Klinik çalışmaların sonuçlarına dayanarak bazı koagülasyon veya fibrinolitik proteinlerin blokajı veya sitokin üretimine ve etkisine müdahale edilmesi ile pıhtılaşmanın düzenlenmesinde rasyonel terapötik bir yaklaşım olabileceği düşünülmektedir (Levi ve ark 2003).

Endotoksemi sonrasında ortaya çıkan organ yetmezliği ve diffüz mikrovasküler trombozdan kaynaklı yaygın koagulopati ve mikrotrombozlar görülebilir. Yaygın damar içi pıhtılaşma (DIC) sırasındaki abartılı trombin oluşumunun sonucu mikrosirkülasyonda yaygın fibrin birikmesi, dolaşımda tıkanma ve iskemik nekrozlar belirlenebilir. Damarlardaki tıkanma ve nekroz sonucunda organ hipoperfüzyonu gelişebilir ve devamında çoklu organ yetmezliği ile ölüm görülür (Levi ve ark 2003).

### 1.1.3. Thermo-Regülasyon

Sistemik inflamasyon modellerinde hem hipertermi hem de hipotermi görülebilir. İnflamasyon sırasında termoregülasyonda prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) ve diğer lipid mediyatörler kilit rol oynamaktadır. Bu mediyatörler hepatik ve pulmoner makrofajlardan salgılanmaya başlar. Kan PGE<sub>2</sub> konsantrasyonunun artmasıyla beyindeki ısı merkezi uyarılır ve vücut ısısındaki artış tetiklenir. Kan-beyin bariyeri içinde sentezlenen PGE hiperterminin devamlılığını sağlar. Her iki durumda da PGE<sub>2</sub>, siklooksijenaz-2 ve mikrozomal PGE<sub>2</sub> sentetaz-1 tarafından sentezlenir. Hipotermiye aracılık eden mekanizmalar tam olarak anlaşılammıştır. Laboratuvar hayvanları ve insanlarda yapılan çalışmalardan elde edilen bulgulara dayanarak vücut ısısının artması hafif enfeksiyonlarla mücadelede faydalıyken, hipotermimin ciddi sistemik inflamasyon ve enfeksiyonda yararlı olduğu ifade edilmiştir (Garami ve ark 2018). Bakteriye endotoksinler, inflamatuvar ve immünolojik olaylarda anahtar mediyatör olarak işlev gören makrofaj interlökinlerinin güçlü uyarıcılarıdır (Heled ve ark 2013). IL-1 ateş, akut faz proteinlerin üretimi, prokoagülasyon ve nötrofil adhezyon proteinini aktivasyonu ile akut faz cevaba müdahil olur. IL-6, konakçı savunma sistemi, antijen spesifik immün yanıt, hematopoez, hücresel farklılaşma, vücut ısısının ve inflamatuvar hareketin sonrasında akut faz reaksiyonun düzenlenmesinde rol alır (Morris 1991). Endotoksemide hipertermiyi takiben hipotermi gelişebilir (Lohuis ve ark 1988).

### 1.1.4. Gastrointestinal Fonksiyon

Bağırsak endotoksinlere karşı enterosit membranlar, sıkı bağlantılar, salgılanan mukus ve doku makrofajları gibi immünolojik faktörler ile bariyer oluşturmaktadır. Bu bariyerin disfonksiyonu farklı stres tiplerinden kaynaklanabilir ve bağırsak geçirgenliğinin artmasına neden olabilir. LPS için artan geçirgenlik yerel ve/veya sistemik inflamatuvar reaksiyonlara sebep olabilir. İmmün yanıtın artması daha ciddi durumlara sebebiyet verebilmektedir. Sonuçta ortaya çıkan inflamatuvar yanıt termoregülasyonun bozulmasına ve çoklu organ disfonksiyonunun gelişmesinde önemlidir (Lambert 2009).

Endotoksinlerin damar içi infüzyonu ile indüklenen vücut ısısının, ruminoretiküler hareketi inhibe ettiği, abomasal sekresyonu ve boşalmayı azalttığı

ifade edilmiştir. Klinik olarak bu belirtilerin 30 ile 60 dakika içinde başladığı ve rumen motilitesindeki etkisinin 7 saat kadar sürebileceği ifade edilmiştir. Rumen motilitesindeki değişim sadece vücut ısısındaki değişimden kaynaklanmamaktadır. Stazisin ilk kısmı, muhtemelen artmış düz kas tonusu (periferik etki) ile mide duvarındaki düz kas gevşemesinden kaynaklanmaktadır. Stazisin sonraki kısmı mide merkezlerinin depresyonuna (merkezi etki) atfedilir. Retikülo-rumen stazisinde katekolaminler, histamin, serotonin ve kininlerin belirgin rolünün olmadığı ifade edilmiştir. Keçilerin üçüncü ventrikülüne düşük dozlarda endotoksin uygulanması titremeye, vücut ısısında artışa ve dış ruminal kasılmaların inhibisyonuna neden olmuştur. Koyunlara sol ve sağ dorsal vagal çekirdeğe yakın endotoksin enjeksiyonu arteriyel kan basıncı ve rumen hareketliliğinde değişikliklere neden olmuştur. Endotoksinlerin damar içi enjeksiyonundan sonra ön mide motilitesindeki değişikliklerin PGE<sub>2</sub>'nin merkezi etkisinden kaynaklanabileceği bildirilmesine (Lohuis ve ark 1988) rağmen, yapılan araştırmalarda endotoksemi sonucunda açığa çıkan çok sayıda mediyatörün bu etkiyi tetiklemek için sempatik sinir sistemi ile etkileşime girebileceği ifade edilmiştir. Yetişkin süt ineklerine endotoksin uygulanması sonrasında rumenoretikuler kontraksiyon sıklığının azaldığı, bu duruma endotoksemide açığa çıkan mediyatörlerin neden olduğu belirtilmiştir (Constable ve ark 2016). Atlarda deneysel endotoksemi modelinde,  $\alpha$ -2 adrenerjik reseptörlerin uyarılması ile sempatik tonusun arttığı ifade edilmektedir. Endotokseminin sekal ve sağ ventral kolon kasılma aktivitesinde düşme, lateral sekal arter kan akışında önemli ölçüde azalma ve proksimal kolonda hipomotiliteye (ileus) neden olduğu ifade edilmiştir (Eades ve Moore 1993).

#### **1.1.5. Karbonhidrat Metabolizması**

Karbonhidrat metabolizması üzerindeki etkileri endotokseminin şiddetine ve aşamasına göre değişiklik göstermektedir. Endotokseminin erken safhasında glikogenezin indüklenmesinden dolayı hiperglisemi görülürken, ilerleyen aşamalarda hipoglisemi gözlenir (Moore 1988). Hipogliseminin şiddeti endotokseminin hız ve derecesine bağlıdır. Hipogliseminin önüne geçmek için kullanılacak glikoz çözeltileri, karaciğerdeki glikojen yıkımlanması ve dokuların glikoza toleransın azalmasından dolayı hızlı bir şekilde verilmemelidir. Endotoksik

şokta, hipo ve hiperglisemi ile birlikte laktik asidemide görülür (Constable ve ark 2016).

Hiperglisemi endotokseminin başlangıç safhasında görülür ve geçicidir. Hiperglisemi, artan hepatik fosforilaz aktivitesi ile mevcut glikojen depolarının tükenmesine bağlıdır. Ayrıca iskelet kasından laktat salınımı kas fosforilazın daha uzun süreli aktivasyonu ile plazma glukoz alımının artması hipergliseminin devamlılığını sağlar. Mononükleer fagositler ve TNF'ın katılımıyla immün dokuların uyarılması, bu dokularda da yüksek glikolizle sonuçlanır ve böylece hiperlaktikasidemi daha da belirginleştirir. Hem kan laktat düzeyindeki artış hem de sempatik tonusun artmasının glukoneogenezde önemli olduğu görülmektedir (Spitzer ve ark 1989). Hipergliseminin aksine hipoglisemi oldukça şiddetli ve uzun sürelidir. Koyunlarda hepatik glukoz üretiminin artmasıyla ilişkili geçici hiperglisemi görülür ve bu dönemi takiben hepatik glikoz üretiminin azalmasıyla 3-8 saat sonra hipoglisemi geliştiği ifade edilmiştir. Bunun yanısıra kan piruvat ve laktat konsantrasyonlarındaki artış, zayıf doku perfüzyonu ile anaerobik doku metabolizmasındaki artıştan kaynaklıdır. Kan laktat düzeyinde artış mental depresyon ve mortalite de artışa katkı sağlayabilmektedir (Constable ve ark 2016).

#### **1.1.6. Protein Metabolizması**

Endotoksemide katabolik aktivitede artış dikkati çekmektedir. Bu artışa serum üre nitrojen artışı eşlik eder. Katabolik aktivitenin artması sonucunda plazma aminoasit konsantrasyonunda değişimler, idrar azot atılımı ile protein dönüşümünün arttığı görülmektedir. Koyunlarda akut endotoksin ile indüklenen ateş sırasında ve sonrasında, plazma aminoasitleri ile metabolitlerin konsantrasyonlarında değişimler belirlenmiştir. Endotoksin uygulamasına cevap olarak ruminantlarda doku protein metabolizmasındaki değişiklikler hızlı ve geniş bir aralıkta meydana geldiği ve bu değişiklikler bulaşıcı hastalık salgınları sırasında meydana gelen ekonomik kayıplara katkıda bulunabileceği ifade edilmiştir. Ayrıca kandaki aminoasitlerin nispi oranları ve plazma proteinlerinin elektroforetik düzeninde değişiklik görülmüştür. Akut faz reaksiyonunun bir parçası olarak globülinlerin arttığı ve albüminin düştüğü görülmektedir (Radostis ve ark 2006).

### **1.1.7. Vücut Üzerindeki Kompleks Etkileri**

Hipoglisemi, hiper L-laktatemi ve asidemi, hücre aktivitesini etkiler ve çoğu dokunun fonksiyonel aktivitesini azaltır. Bu faktörlerden asidemini yetişkin hayvanlarda en önemli etken olabileceği bildirilmiştir. Yeni doğanlarda şiddetli hipoglisemi daha sık gözleendiği için asidemi kadar glikoz seviyeside önemlidir. 24-36 saatlik buzağlarda deneysel endotoksemide şiddetli hipoglisemi, laktik asidemi ve orta veya şiddetli sepsis ile ilişkili hipotansiyon görüldüğü ifade edilmiştir. Kardiyak uyarıcılara karşı kalbin cevabı azalır. Buna ek olarak damarlarda dilatasyon ve bazı olgularda kılcal damar duvarlarında hasar görülür, böylece dolaşımdaki kan hacmi azalır. Bu azalma, kardiyak debinin azalmasıyla birlikte kan basıncında düşüş ve dolaşım yetmezliğinin gelişmesine yol açar. Doku perfüzyonu ve oksijen üretimindeki azalma mukozalarda siyanoza neden olur. Karaciğer fonksiyonunda azalmalar ve böbrek tübülleri ile glomerüllerde gelişen hasar sonucunda albuminüri gelişir. Sindirim sisteminin motilitesi ve fonksiyonel tonusu azalır, iştahsızlık, indigasyon ve bunu takiben konstipasyon gözlenir. Benzer bir tonus kaybı iskelet kasında da gözlenir ve kaslarda zayıflık ve kuvvetsizlik gelişir. Bu değişiklikler toksemının şiddetine, tipine ve dönemine göre değişkenlik gösterebilmektedir (Radostis ve ark 2006).

### **1.2. Endotoksin Toleransı**

Tekrarlanan LPS uygulaması, endotoksin toleransı olarak bilinen konakçı yanıtın zayıflamasına neden olur (McCuskey ve ark 1996). Endotoksinin aracılık ettiği tolerans iki fazdan meydana gelir. Değiştirilmiş hücrel aktivasyon ile ilişkili erken faz ve Gram negatif mikroorganizmaların polisakkarit yan zincirine karşı spesifik antikorların geliştirilmesi ile bağlantılı geç faz olarak tarif edilmektedir (West ve Heagy 2002). Erken faz toleransı geçicidir, saatler veya günler içinde oluşur ve antiendotoksin antikor üretimi ile ilişkili değildir. Duyarlılık doz-cevap aralığı başlangıçtaki pirojenik cevabın yoğunluğu ile doğru orantılıdır. Buna karşılık geç faz toleransı uzun ömürlüdür, antijene özgü ve antikor üretiminin sonucu olarak birkaç gün gerekir ve başlangıçtaki pirojenik cevap ile doğrudan bir ilişkisi yoktur. İlk endotoksemi infüzyonu sonucunda hayatta kalan canlılarda tolerans gelişebilmektedir (Greisman ve ark 1973). Endotoksin toleransı başlangıçta yararlı

bir adaptif cevap olarak düşünülmesine rağmen, şiddetli sepsis ve organ disfonksiyonu olan hastaların yönetimini zorlaştıran immün bozukluğun bir bileşeni veya işareti de olabileceği düşünülmelidir (West ve Heagy 2002). Endotoksin toleransı olgusu geniş çapta araştırılmıştır. Ancak moleküler mekanizmaları net olarak ortaya konulamamıştır (Fan ve Cook 2003).

### **1.3. Klinik Belirtiler**

Toksin oluşumu veya dolaşıma serbest bırakılması hızlı ve toksinin toksisitesi yüksek olduğunda, kardiyovasküler kollapsın başlamasıyla “toksik” veya “septik” şoka neden olabilir (Radostis ve ark 2006). Buzağılara LPS uygulanmasını takiben taşipne ve taşikardi, vücut ısısında azalma/artma, yerde yatma, depresyon, mukozalarda hiperemi/siyanoz ve emme refleksinde azalma görülür (Coşkun ve Şen 2012). Bu belirtilerin yanı sıra kan basıncında düşme sonucu ciddi periferik vazodilatasyon, mukozalarda solgunluk ve kas güçsüzlüğü gibi klinik belirtiler kendini gösterir. Periferik kan dolaşımının bozulması sonucunda böbrek yetmezliği yaygın görülür ve bu yetmezlik anüri ile karakterizedir. Yaygın damar içi pıhtılaşma (DIC) gelişirse kanama eğilimi gösteren mukoza ve sklerada peteşiyal ve ekimotik kanamalar gözlenir (Constable ve ark 2016). Klinik olarak gelişen bu değişimler özellikle 1 ila 3. saatler arasında daha şiddetli ve belirgindir (Coşkun ve Şen 2012).

Endotokseminin reproduktif verim üzerine olumsuz etkileri vardır. Özellikle evcil hayvanlarda abort, östrus siklusunda kısalma, fetal malformasyonlara sebep olabilir (Foley ve Schlafer 1994, Daniel ve ark 2002). Ancak laktasyon dönemindeki keçilere meme içi LPS uygulanmasının süt verimi üzerine olumsuz etkilerinin olmadığı ifade edilmesine (Castro-Costa ve ark 2014) rağmen, endotoksinlerin meme bezini etkilemesi sonucunda agalaksia hastalığının patogenezisinde önemli rol alabileceği ifade edilmektedir (Radostis ve ark 2006).

Endotoksemi insülin benzeri büyüme faktörü ve büyüme hormonu gibi anabolizan hormonların plazma seviyesini azalttığından gelişimi olumsuz etkileyebileceği ifade edilmiştir (Sartin ve ark 1998).

## **1.4.Endotokseminin Klinik Patolojisi**

### **1.4.1. Hematoloji**

Toplam ve diferansiyel lökosit sayısında değişiklik meydana gelir (Gerros ve ark 1995). Hafif endotoksemide lökositoz ve nötrofili görülürken, şiddetli formunda lökopeni, nötropeni ve lenfopeni görülür. Bu değişimlerin şiddeti ve süresi arttıkça endotokseminin şiddeti de artar. Endotoksemi rebound nötrofiliye neden olabilir ve bu durum nötrofillerin serbest bırakma faktörünün üretilmesi yoluyla kemik iliği rezervinde bulunan nötrofillerin dolaşıma akışına atfedilir (Moore 1988, Constable ve ark 2016).

### **1.4.2. Biyokimyasal Değişimler**

Akut endotoksemide genellikle plazma glikoz, serum albümin ve toplam protein konsantrasyonunda düşüş ile serum üre düzeyinde artış görülür. Azalan albumin ve toplam protein konsantrasyonu artan kılcal geçirgenliğe yanıt verirken, azoteminin azalmış olması glomerüler filtrasyon hızını yansıtır. Yetişkin herbivorlarda hafif hipokalsemi, hipomagnezemi ve hipokalemi görülür ve gastrointestinal hareketlerin azalmasının muhtemel sonucu olan hipofosfatemi gözlenir. Kronikleşmiş toksemik durumlarda, elektroforetik muayenede gözle görülür şekilde globülinlerde artış ile serum total protein konsantrasyonu yükselmesi daha yaygındır (Radostis ve ark 2006).

## **1.5. Endotoksemi Tedavisi**

Endotokseminin tedavisi ve önlenmesinde birçok yöntem denenmiştir. Ancak sadece birkaçının etkili olduğu kanıtlanmış ve günümüzde net bir tedavi protokolü oluşturulamamıştır. Tedavide başarısızlığın ana sebebi olarak LPS'in sinyal iletim yolunun karmaşıklığı tanımlanmış ve etkili bir tedavi için LPS sinyal iletimi yolu boyunca birkaç hedef noktaya odaklanması gerektiği vurgulanmıştır (Kelmer 2009). Genel olarak endotoksemi ve/veya septik şokun temel tedavi prensibi içerisinde sırası ile enfeksiyon odaklarının ortadan kaldırılması, etkene uygun antibiyotik seçimi, hipovolemi, hipoglisemi, sıvı-elektrolit ve asit-baz açığına kapatmak için agresif sıvı-elektrolit tedavisi ve siklooksijenaz yolağı ürünlerinin inhibisyonu için

nonsteroid antiinflatuar ilaçlar veya glukokortikoidlerin kullanılması bulunur. Rutin tedavide bu aşamaların uygulanması önerilmektedir (Constable ve ark 2016). Ayrıca bazı vakalarda rutin tedavi uygulamalarına ek olarak inotropik ajanlar ve/veya vazopressörlerin uygulanması (dopamin, dobutamin, noradrenalin ve izoproterenol vb.), damar içi polimiksin B ve LPS antijenlerine karşı yönlendirilmiş antikoları içeren hiperimmün plazma uygulanmasına da yer verilmektedir (Moore 1988, Moore ve Barton 2003, Kayaalp 1996). Yukarıdaki tedavi seçeneklerine ek olarak incelenmekte olan potansiyel terapötik ajanlar da (pentoksifilin, dimetil sülfoksit, tyloxapol ve insülin vb.) bulunmaktadır (Brackett ve ark 1991, Chalmeh ve ark 2013a, Chalmeh ve ark 2016). Ancak günümüzde potansiyel terapötik etki göstermesi beklenen maddelerle ilgili hedef türlerde yeteri kadar çalışma bulunmadığından veteriner hekimlikte endotoksemik hayvanlarda rutin kullanımı önerilememektedir.

### **1.5.1. Antibiyotikler**

Endotokseminin primer nedeni Gram negatif mikroorganizmalar olduğundan kullanılacak antibakteriyel ajanın bu tür mikroorganizmalara etkili olması, enfeksiyon bölgesine etkili konsantrasyonda ulaşması ve bu konsantrasyonda belli bir süre varlığını devam ettirmesi istenir. Ayrıca Gram negatif bakterilerin öldürülme hızının önemli olduğu, hızlı öldüren antibiyotik kullanımının bakterilerden hızlı endotoksin salınımına neden olarak klinik belirtileri ve prognozu olumsuz etkileyebileceği ifade edilmekle (Radostis ve ark 2006) birlikte, klinik denemeler sonucunda betalaktam antibiyotiklerin uygulanmasından sonra zararlı etkilerinin gözlenmediği ifade edilmiştir. Ayrıca betalaktam ile kombine aminoglikozid grubu antibakteriyel ajanlarının kullanımı betalaktamların endotoksin salınımı üzerine olan olumsuz etkileri bloke edebileceği ifade edilmiştir (Bentley ve ark 2002, Moore ve Barton 2003, Kelmer 2009).

### **Marbofloksasin**

Marbofloksasin Gram negatif, *Staphylococcus* spp., *Mycoplasma* spp. ve *Clamidia* spp. karşı etkili, sadece veteriner hekimlik alanında kullanımı onaylanmış üçüncü nesil florokinolon grubu antibiyotiktir (Sharma ve ark 2009, Sarkozy 2001). Marbofloksasin, antibakteriyel etkisini bakterilerin DNA jiraz ve topoizomerez IV enzimlerini inhibe ederek gösterir (Sharma ve ark 2009). Marbofloksasin geniş

dağılım hacmi, uzun eliminasyon yarılanma ömrü ve uzun post antibiyotik etkiye sahiptir (Waxman ve ark 2003, Nedbalcova ve ark 2019). Florokinolon grubu antibiyotiklerin antibakteriyel etkisi konsantrasyona bağlıdır ve etkinliklerini değerlendirmek için doruk plazma konsantrasyonu ( $C_{max}$ )/minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ve eğri altındaki alan-zaman eğrisi (EAA)/MİK oranları kullanılır. Marbofloksasin tedavisinde maksimum etkinlik ve minimum direnç gelişimi için  $C_{max}$ /MİK oranı Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler için  $\geq 10$  iken EAA/MİK oranının Gram negatif bakteriler için  $\geq 125$  ve Gram pozitifler için  $\geq 60$  olması istenir (McKellar ve ark 2004, Toutain ve Lees. 2004, Lees ve ark 2006).  $C_{max}$ /MİK ve EAA/MİK'in belirlenebilmesi için hedef tür ve hastalıkta marbofloksasinin farmakokinetik (PK) ve farmakodinamik (PD) özelliklerinin ortaya konulması gerekir. Marbofloksasine karşı direnç gelişme ihtimalini azaltmak için mutant önleyici konsantrasyonlar (MPC) konsepti ile uygulamaya göre optimize edilmiş dozlamaya gereklidir (Lee ve ark 2017). Monte Carlo simülasyonunun sonuçlarına dayanarak, yeterli bir antimikrobiyal etkinliği elde etmek için en uygun marbofloksasin dozu 10 mg/kg olması gerektiği ifade edilmiştir (Lorenzutti ve ark 2017). Koyun ve kuzularda yapılan araştırmalarda da 2-10 mg/kg dozları kullanılmıştır (Altan ve ark 2018, Çorum ve ark 2020). Yüksek dozlarda lineer farmakokinetik bir profil göstereceğini düşünmenin yanlış olabileceği ifade edilmiştir (Lorenzutti ve ark 2017).

### 1.5.2. Sıvı Tedavisi

LPS'in hemodinamik etkileriyle mücadelede kullanılan yüksek öncelikli terapötik strateji sıvı tedavisidir (Kelmer 2009). Periferik perfüzyonun sürdürülmesi için endotoksik şok tedavisinde sıvı tedavisi şarttır ve büyük hacimlerde izotonik sıvılar standart olarak uygulanır (Brown ve ark 2019). Laktatlı ringer çözeltisi veya diğer dengeli elektrolit çözeltiler birkaç saat boyunca intravenöz infüzyonla verilmelidir. Sıvı tedavisiyle periferik vazokonstriksiyonun düzeltilmesi, kabul edilebilir nabız kalitesinin restorasyonu, idrar çıkışının sağlanması, santral venöz basınçta artış, arteriyel kan basıncı ve kardiyak debinin düzeltilmesi ile dokulara oksijen iletiminin kabul edilebilir seviyelere getirilmesi gibi olumlu cevaplar alınması amaçlanır (Kelmer 2009, Constable ve ark 2016). Sıvıların, birkaç saat gibi kısa bir sürede hayvanın tahmini kan hacminin 0.5-1.0 katı kadar verilmesi

gerekebilir. Hipoglisemi, artan glikoz kullanımı ve glikoz yetersizliği nedeniyle glikoz her zaman sıvı tedavisinin içine dâhil edilmelidir (Constable ve ark 2016). Endotoksinlerin zararlı etkilerinin bir kısmından sorumlu olan hipotansiyon ve periferik organ hasarının önüne geçmesi için kristalloid ve kolloid solüsyonlar kullanılması gerekmektedir. Kristalloid solüsyonlar ucuz, ulaşılması kolay ve uygulanması sonucunda daha kötü sonuçlarla karşılaşmadığından ilk tercih olarak yer almaktadır (Semler ve ark 2016).

### **1.5.3. Glukokortikoidler**

Glukokortikoidler (kortikosteroidler) endotoksemi ve şok tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Margolis ve ark 1987, Er ve ark 2010, Yazar ve ark 2010). Glukokortikoidlerin kullanımıyla organel ve hücre zarı stabilizasyonu, hücresel metabolizma, glukoneogenezis ve mikrosirkülasyonun düzenlenmesi, miyokard depresan faktör gibi endojen madde üretiminin azalması, azalan lökosit aktivasyonu ve degranülasyonu, minimal retikuloendotelial depresyon ve histolojik organ hasarının önüne geçilmesi amaçlanmaktadır (Constable ve ark 2016). Endotoksik şokta en sık kullanılan kortikosteroidler hidrokortizon, prednizolon, metilprednizolon ve deksametazondur. Kortikosteroidler deneysel prosedürden önce kullanıldığında terapötik etkinliğinin daha iyi olduğu ifade edilmiştir. Glukokortikoidlerin kullanımı ile kılcal damar endotelinin bütünlüğü ve doku perfüzyonunun iyileştiği, kompleman cevabın, pıhtılaşma aktivitesinin ve nötrofil birikmesinin azalttığı, lizozomal membranları stabilize ettiği, karaciğer hasarına karşı korduğu ve hayatta kalma oranını artırdığı ifade edilmiştir (Radostis ve ark 2006, Frauenfelder ve ark 1982, Er ve ark 2010). İmmüno-supresyon etkilerinden dolayı septisemik hayvanlarda kullanımıyla ilgili endişeler vardır. Çiftlik hayvanlarında akut vakalarda 24 saat arayla deksametazon kullanılması gerektiği ifade edilmiştir. Glukokortikoidlerden endotoksemik hayvanlarda olumlu etki alınması için mümkün olduğunca erken zamanda kullanılmasının önemli olduğu belirtilmiştir (Radostis ve ark 2006).

### **1.6. Hipotez ve Amaç**

LPS uygulamasının immun sistemi etkileyerek enfeksiyonu taklit ettiği (Foley ve Schlafer 1994, Daniel ve ark 2002, Coşkun ve Şen 2012), canlıda sistem ve organların normal fizyolojisini değiştirebileceği (Morgan 2009, Constable ve ark

2016), değişen fizyolojinin uygulanan antibakteriyellerin farmakokinetiğini etkileyebileceği (Lefebvre ve ark 1998, Post ve ark 2003, Waxman ve ark 2003, Elmas ve ark 2006, Altan ve ark 2017) ve tedavi amacı ile antibiyotik ile birlikte bozulan fizyolojiyi kontrol etmek için destek tedaviler (Laktatlı ringer + dekstroz %5 + sodyum klorür %0.45, deksametazon) uygulanabileceği (Semler ve ark 2016, Brown ve Semler 2019) dikkate alındığında, destek tedavi uygulanan endotoksemik koyunlarda marbofloksasinin farmakokinetiğini etkileyebileceği hipotez edildi.

Yapılan kaynak taramalarında destek tedavi uygulanan endotoksemik koyunlarda marbofloksasinin farmakokinetiği (PK) ile ilgili bilgiye erişilememiştir. Bu araştırmanın temel amacı koyunlarda *E. coli* O55:B5 LPS ile indüklenmiş deneysel endotoksemi modelinde destek tedavi (Laktatlı ringer + dekstroz 5% + sodyum klorür 0.45%, deksametazon) uygulamasının 10 mg/kg damar içi (IV) uygulanan marbofloksasinin farmakokinetiği üzerine etkisinin belirlenmesidir. Ayrıca koyunlardan izole edilen ve endotoksemi/sepsise neden olan farklı bakteri türlerine (*E. coli*, *M. haemolytica*, *P. multocida*, *K. pneumoniae*, *Salmonella* spp., *S. aureus*) karşı marbofloksasinin MİK değerinin belirlenmesi ve bu araştırmadan elde edilen PK ve MİK değerleri kullanılarak endotoksemi tedavisinde marbofloksasinin PK/PD ilişkisinin belirlenmesidir.

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Hayvanlar

Araştırma prosedürü Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulu Başkanlığı tarafından onaylandı (No: 2018/178). Araştırmada genel klinik muayene sonucu sağlıklı oldukları belirlenen ve çalışma başlamadan önceki bir aylık periyotta ilaç uygulaması yapılmamış, 7 adet Merinos ırkı koyun (53.24±4.01 kg, 1.5±0.3 yaş) kullanıldı. Koyunlar araştırmaya başlamadan 10 gün önce çalışma padoklarına alındı ve optimum çevre şartları sağlandı. Araştırma boyunca koyunlara yaş ve kiloları dikkate alınarak günde iki defa konsantre yem verildi. Su ve kuru ota *ad-libitum* olarak erişimleri sağlandı.

### 2.2. Kimyasal ve İlaçlar

Marbofloksasin standardı CEVA (Ceva Hayvan Sağlığı A.Ş., İstanbul, Türkiye) firmasından temin edildi. Analitik saflıktaki asetonitril (ACN), ortofosforik asit ve trietilamin Merck firmasından (Darmstadt, Germany) temin edildi. Koyunlarda endotoksemi oluşturmak için *E. coli O55:B5* LPS'i (L2880-25MG, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, U.S.A.) kullanıldı. Hayvanlara ilaç uygulaması için marbofloksasin (Marbocyl® %10 enj, Vetoquinol, Madrid, Spain) ve deksametazonun (Devamed® enj., Topkim - Topkapı İlaç Premiks San. Tic. A.Ş., İstanbul, Türkiye) parenteral formülasyonları kullanıldı. Laktatlı ringer, %5 dekstroz ve serum fizyolojik Polifarma firmasından (İstanbul, Türkiye) temin edildi. HPLC için kullanılan ultra saf su, saf su sistemi (Aqua Max-Ultra System, Younglin Instrument Co. Ltd, Korea) ile elde edildi.

### 2.3. Deneysel Prosedür

#### 2.3.1. Endotokseminin İndüklenmesi ve Destek Tedavi

Sol ve sağ *Vena jugularis*'e kateter (16 G 5.1 cm) yerleştirildi. Sol vena *jugularis*'e yerleştirilen kateter *E. coli O55:B5* LPS'i, ilaç ve destek tedavi uygulamasında, sağ vena *jugularis*teki kateter kan örneklerinin toplanmasında kullanıldı. Araştırma 3 aşamalı longitudinal farmakokinetik dizayna göre gerçekleştirildi ve aşamalar arasında 15 günlük temizleme periyodu uygulandı.

Marbofloksasin çalışmanın tüm aşamalarında damar içi (İV) yolla 10 mg/kg dozda uygulandı (Lorenzutti ve ark 2017, Altan ve ark 2019). Araştırmanın birinci aşamasında (MB grup) marbofloksasin, ikinci aşamasında (MB+DT grup) marbofloksasin + destek tedavi [Laktatlı ringer + dekstroz %5 + sodyum klorür %0.45, İV, 20 mL/kg/h (Brown ve Selmer 2019), deksametazon 0.5 mg/kg, SC (Hillman ve ark. 2009)] ve üçüncü aşamasında (LPS+MB+DT grup) serum fizyolojik ile çözülmüş *E. coli O55:B5* LPS'i 10 µg/kg dozda (Fernandez-Bustamante ve ark 2012) 30 dakika İV infüzyon (Staub ve ark 2001) şeklinde uygulamasını takiben eş zamanlı MB + DT uygulandı.

### 2.3.2. Örneklemeye

Farmakokinetik analizler için kan örnekleri (2 mL) çalışmanın tüm aşamalarında marbofloksasin uygulaması öncesi (0. saat, kontrol) ve uygulamayı takiben 0.083, 0.167, 0.25, 0.333, 0.417, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 36, 48, 72 ve 96 saatlerde intraket yardımıyla heparinli tüplere toplandı. Hemogram, biyokimya ve kan gazı analizleri için kan örnekleri 0. (kontrol), 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48, 72 ve 96 saatlerde alındı. Kan örnekleri hemogram ve farmakokinetik analizler için heparinli tüplere, biyokimyasal analizler için jelli tüplere (2 mL) ve kan gazı için heparinize edilmiş enjektörlere (0.2 mL) alındı. Hemogram ve kan gazı ölçümleri kan alındıktan hemen sonra gerçekleştirildi. Biyokimyasal ve farmakokinetik analizler için alınan kan örnekleri 5000 x g'de 10 dk santrifüj edilerek plazma ve serum örnekleri elde edildi ve analiz yapıncaya kadar -80°C'de saklandı. Vücut ısısında değişimlerin belirlenmesi amacıyla 0., 0.5, 1., 2., 4., 8., 12., 24. ve 48. saatlerde ölçümler yapıldı.

### 2.4. Hematolojik ve Biyokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi

Marbofloksasin uygulamasına bağlı değişikliklerin tespiti için kan örnekleri heparinli ve jelli tüplere alındı. Hemogram parametrelerin (alyuvar, akyuvar, hemoglobin, hematokrit ve trombosit) analizleri kan sayım cihazında (Auto Hematology Analyzer, BC-2800, Mindray) gerçekleştirildi. Biyokimyasal parametrelerden aspartat aminotransferaz (AST), alkalen fosfataz (ALP), alanin aminotransferaz (ALT), gamma glutamil transferaz (GGT), kreatinin (CREAT) ve kan üre nitrojen (BUN) düzeyleri otoanalizörde (Abbott architect c8000, Abbott Core

Laboratory, USA) belirlenirken, kreatin kinaz (CK)-MB kütle ve troponin I (Tn-I) düzeyleri kemilüminesans immünoessey yöntemi ile belirlendi (Abbott architect i2000SR, Abbott Core Laboratory, USA). Kan gazı parametreleri kan gazları ölçüm cihazında (ABL 90 Felx, Radiometer Medical ApS Aakandevej 21, DK-2700 Bronshoj, Denmark) yapıldı.

## **2.5. Standartlar ve Stok Solüsyonlar**

Marbofloksasin stok solüsyonu 1 mg/mL olacak şekilde saf suda hazırlandı ve çalışma süresince -80°C'de tutuldu. Çalışma boyunca kullanılacak kalibrasyon standartları ve kalite kontrol örneklerini hazırlamak için stok solüsyon dilüe edildi. Marbofloksasin içermeyen plazma örneklerine marbofloksasin içeren standart solüsyonlar farklı miktarları eklenerek 0, 0.04, 0.1, 0.2, 0.4, 1, 2, 4, 10, 20 ve 40 µg/mL kalibrasyon standartları hazırlandı. Marbofloksasin içeren kalite kontrol örneklerinin düşük (0.1 µg/mL), orta (1 µg/mL) ve yüksek (10 µg/mL) konsantrasyonları HPLC metodunun geri kazanım, gerçeklik ve kesinlik değerlerini belirlemek için kullanıldı.

## **2.6. HPLC ve Kromatografik Şartlar**

Marbofloksasin analizi daha önce belirtilen metod modifiye edilerek yüksek performanslı sıvı kromatografisinde (HPLC, Shimadzu, Tokyo, Japonya) gerçekleştirildi (Altan ve ark 2018, Corum ve ark 2020). HPLC-UV sistemi CBM-20A sistemi ile kontrol edilen pompa (LC-20AT), degasser (DGU-20A), autosampler (SIL-20A) ve kolon fırınından (CTO-10A) oluşuyordu. Tespit SPD-20A UV-VIS dedektör ile 295 nm'de gerçekleştirildi. Kolon sıcaklığı 40°C, autosampler ise oda sıcaklığında tutuldu. Marbofloksasin ayrımı Gemini C18 kolon (250x4.6 mm; internal diameter, 5 µm; Phenomenex, Torrance, CA) kullanılarak gerçekleştirildi. Mobil faz A'dan %21 (ACN) ve B'den %79 (%0.04'lük ortofosforik asit + 0.04'lük trietilamin) düşük basınçlı gradient sistem içeren pompa yardımıyla HPLC'ye gönderildi. Akış hızı 1 mL/dk ve enjeksiyon hacmi ise 10 µL olarak ayarlandı. Asus PC kontrollü LC solution software program (Shimadzu, Japonya) veri analizinde kullanıldı.

## 2.7. Metot Validasyonu

Özgünlük, doğrusallık, geri kazanım, duyarlılık (tespit limiti ve hesaplanabilir limit) ve kesinlik metot validasyonunun belirlenmesinde performans ölçütleri olarak alındı. Metodun koyun plazması için özgünlüğü, marbofloksasin içermeyen plazma (boş plazma) örnekleri kullanılarak kromatogramda marbofloksasinin alıkonma zamanında plazma ve diğer kaynaklı piklerin girişim yapıp yapmadığı değerlendirilerek belirlendi. Doğrusallığın tayini için çalışma ve kalibrasyon standartlarının pik alanları tespit edildi. Konsantrasyonlar ve bu konsantrasyonlara karşılık gelen pik alan değerleri kullanılarak kalibrasyon eğrileri çizildi ve korelasyon katsayıları hesaplandı. Geri kazanımın belirlenmesi için standart solüsyonların ölçüm aralığında yer alan 3 farklı düzeyi marbofloksasin içermeyen plazma örneklerine eklenerek kalite kontrol standartları (0.1 µg/mL, 1 µg/mL, 10 µg/mL) hazırlandı. Geri kazanım, herhangi bir numune gibi değerlendirilen plazma örneklerinde tayin edilecek maddenin pik alanlarının standartların pik alanları ile karşılaştırılmasıyla hesaplandı. Tespit limiti (LOD) ve hesaplanabilir limiti (LOQ) belirlemek için marbofloksasinin en düşük standart solüsyonları (0.01-0.04 µg/mL) marbofloksasin içermeyen plazma örneklerine yüklendi. Kromatogram üzerinde S/G oranı 3 olan konsantrasyon LOD, S/G oranı 6 olan konsantrasyon LOQ olarak tespit edildi. Kesinlik için gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik ölçütü olarak kullanıldı. Gün içi ve günler arası farklılığın tespiti için standart solüsyonların ölçüm aralığında yer alan 3 farklı düzeyi (0.1 µg/mL, 1 µg/mL, 10 µg/mL) marbofloksasin içermeyen plazma örneklerine eklendi. Her düzeyde 6 tekrarlı analiz yapıldı. Bu kademeler 6 farklı günde tekrarlandı. Tüm örneklerde konsantrasyon tayin edildi. Zenginleştirilmiş plazma örneklerindeki konsantrasyonlar üzerinden % varyasyon katsayısı hesaplandı. Tekrar edilebilirlik, pik alanlara karşılık gelen konsantrasyonların % varyasyon katsayılarının 15'den küçük olmasına göre değerlendirildi.

## 2.8. Plazma İlaç Düzeylerinin Belirlenmesi

Derin dondurucudan (-80 °C) çıkartılan plazma örnekleri oda ısısına getirildi. 200 µL plazma örneği 2 mL'lik mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı ve üzerine 400 µL ACN eklendi. Karışım 30 saniye vorteks yapıldı ve 10000 x g'de 15 dakika santrifüj

edildi. Elde edilen süpernatantdan 100 µL alındı ve üstüne 100 µL ultra distile su eklenerek otosampler viyallerine aktarıldı ve 10 µL'si HPLC-UV sisteme enjekte edildi.

## 2. 9. Farmakokinetik Hesaplamalar

Her hayvanda marbofloksasinin plazma konsantrasyon-zaman eğrileri WinNonlin 6.1.0.173 (Pharsight Corporation, Scientific Consulting Inc., North Carolina, USA) programı kullanılarak çizildi. Her hayvanın marbofloksasinin farmakokinetik değişkenleri kompartmantal olmayan analizle tayin edildi. Hayvanlara marbofloksasin uygulama sonrası terminal eliminasyon yarılanma ömrü ( $t_{1/2\lambda z}$ ), eğri altında kalan alan (EAA), total vücut klerensi ( $Cl_T$ ), kararlı durum dağılım hacmi ( $V_{dss}$ ) ve ortalama kalış süresi ( $MRT_{0-\infty}$ ) parametreleri WinNonlin 6.1.0.173 programı kullanılarak hesaplandı. İlk örnekleme zamanındaki (5 dk) marbofloksasin konsantrasyonu  $C_{max}$  olarak kabul edildi.

## 2. 10. Farmakodinamik Analizler

Koyunlardan izole edilen bakteriler (*E. coli*, *M. haemolytica*, *P. multocida*, *K. pneumoniae*, *Salmonella* spp., *S. aureus*) için marbofloksasin MİK değerlerini belirlemede Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü'nün Broth mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı. Bu amaçla Mueller Hinton Broth'ta 12 farklı marbofloksasin konsantrasyonu (0.0084-16 µg/mL) hazırlandı ve 96 kuyucuklu bir plate her bir konsantrasyonda toplam 100 µL toplandı ve MİK testi için kullanıldı. Bakteriye büyümeyi gözle görülür şekilde engelleyen en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK olarak kabul edildi.

## 2.11. Farmakokinetik/Farmakodinamik İntegrasyon

Bu araştırmada elde edilen farmakokinetik parametreler ile *E. coli*, *M. haemolytica*, *P. multocida*, *K. pneumoniae*, *Salmonella* spp. ve *S. aureus* bakterileri için belirlenen marbofloksasinin MİK değerleri kullanılarak  $EEA_{0-24}/MİK$  ve  $C_{max}/MİK$  değerleri belirlendi.

## 2.12. İstatiksel Analizler

MB, MB+DT ve LPS+MB+DT gruplarında farmakokinetik parametreler, hematolojik, biyokimyasal ve kan gazı parametreleri arasındaki istatistiksel farklılıklar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve posthoc Tukey testi kullanılarak analiz edildi. Farmakokinetik değerler, vücut ısısı ve akyuvar sayısı ortalama±SD olarak verilirken, diğer değerler ortalama±SE olarak gösterildi.  $t_{1/2kz}$  ve MRT değerleri için harmonik ortalama hesaplandı ve gruplar arasındaki farklılıklar Wilcoxon's Rank Sum testi ile analiz edildi. İstatistik programı olarak SPSS 22.0 (SPSS for Windows, SPSS Inc., Chicago, Il., USA) kullanıldı.  $P<0.05$  değeri istatistiksel açıdan önemlilik sınırı kabul edildi.



### 3. BULGULAR

#### 3.1. Metod Validasyonu

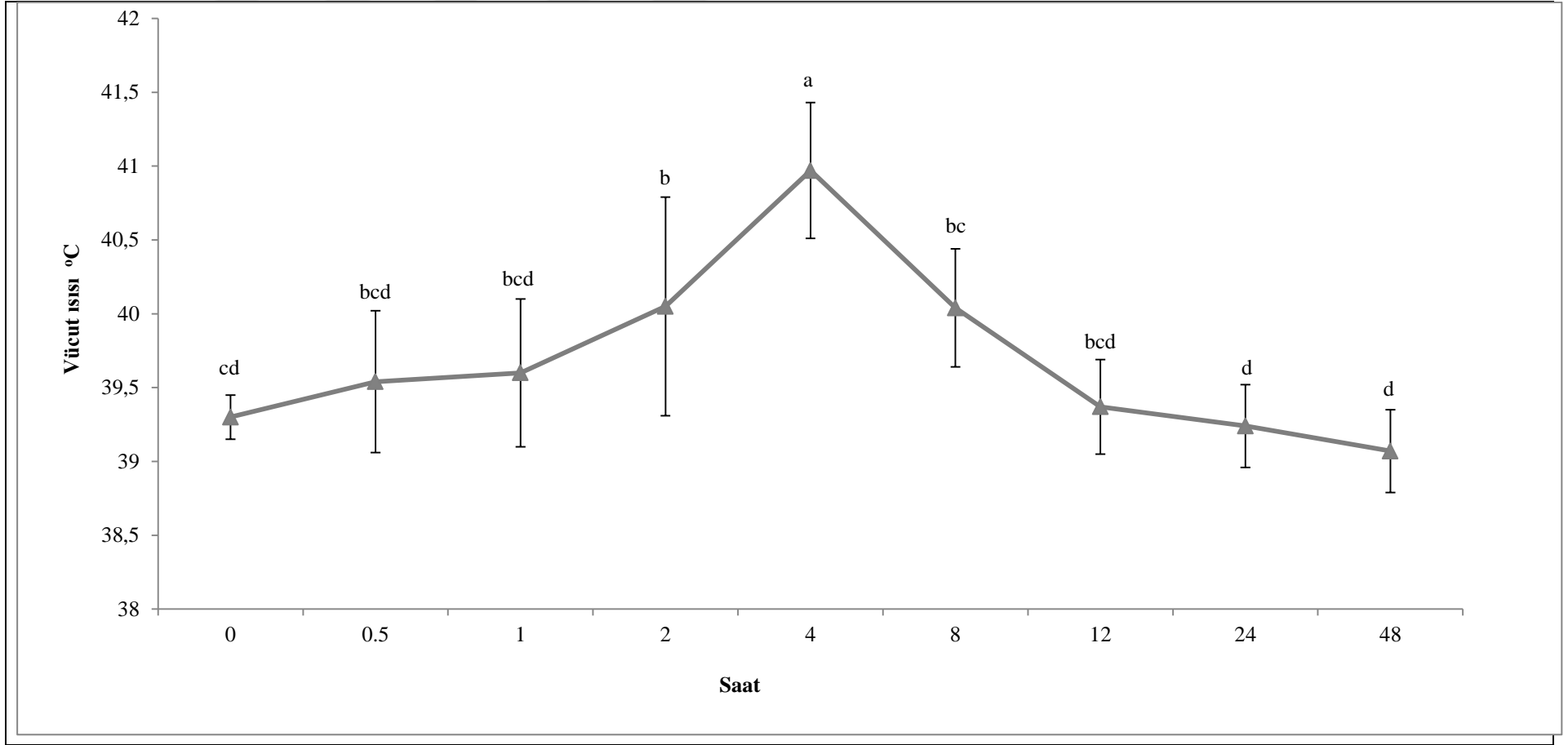
Marbofloksasin içermeyen plazma örneklerinin HPLC sistemine uygulanması sonrasında kromatogram üzerinde marbofloksasinin alıkonma zamanında plazma kaynaklı pikler gözlenmedi. Marbofloksasinin stok solüsyonunun 0.04-40 µg/mL'lik dilüsyonları şeklinde hazırlanan standartların 10 µL'si HPLC sistemine enjekte edildi. Marbofloksasin içermeyen plazma örneklerine marbofloksasin içeren standart solüsyonların farklı miktarları ile hazırlanan kalite kontrol standartlarının (0.04-40 µg/mL) ekstraksiyonunu takiben 10 µL'si HPLC'ye verildi. Konsantrasyonlar ve bu konsantrasyonlara karşılık gelen pik alan değerleri kullanılarak hesaplanan korelasyon katsayıları, marbofloksasinin saf standart dilüsyonları ve kalibrasyon standartları için sırasıyla >0.9997 ve >0.9989 olarak belirlendi. Marbofloksasin için hesaplanan geri kazanım değerleri düşük (0.1 µg/mL), orta (1 µg/mL) ve yüksek (10 µg/mL) düzeyde hazırlanan kalite kontrol örnekleri için sırasıyla %104,72±5.31, %112.54±1.11 ve %98.86±3.42 olarak tespit edildi. Marbofloksasin için LOD değeri 0.02 µg/mL, LOQ değeri ise 0.04 µg/mL olarak tespit edildi. Düşük (0.1 µg/mL), orta (1 µg/mL) ve yüksek (10 µg/mL) düzeyde hazırlanan kalite kontrol örneklerinde gün içi tekrar edilebilirlik için hesaplanan %varyasyon katsayısı sırasıyla %2.30, %5.54 ve %2.59, günler arası için ise sırasıyla %7.06, %6.61 ve %3.14 olarak hesaplandı.

#### 3.2. Klinik Belirtiler ve Hematolojik Parametreler

Vücut ısısı MB ve MB+DT gruplarında değişmezken ( $P>0.05$ ), LPS+MB+DT grubunda 2. ve 4. saatlerde istatistiksel artış görüldü ( $P<0.05$ , Grafik 1, Tablo 1). Hematolojik parametreler Tablo 2'de sunuldu. Hemogram parametreleri değerlendirildiğinde MB grubunda akyuvar (WBC), alyuvar (RBC), trombosit (PLT) hemoglobin (HG) ve hematokrit (HTC) değerlerinde istatistiksel bir değişim olmadığı gözlemlendi ( $P>0.05$ ). MB+DT grubunda WBC ile RBC değerlerinde istatistiksel değişimler belirlenmezken ( $P>0.05$ ), HG ile HTC düzeylerinde istatistiksel dalgalanmalar ve PLT düzeyinde 48. saatte önemli oranda yükselme belirlendi ( $P<0.05$ ). LPS+MB+DT grubunda PLT değerlerinde istatistiksel fark alınmazken ( $P>0.05$ ), RBC düzeyinde istatistiksel dalgalanmalar ve HG ile HTC değerlerinde

istatistiki fark belirlendi ( $P<0.05$ ). Aynı grupta WBC düzeyinin 2. saatte en düşük düzeye, 48. saatte ise en yüksek düzeye yükseldiği belirlendi ( $P<0.05$ , Tablo 2, Grafik 2).





Grafik 1. LPS+MB+DT grubu vücut sıcaklığı (°C) grafiği (ortalama±SD, n=7). <sup>a, b, c, d</sup>; Zamanlamalar arasındaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlıdır (P < 0.05).

Tablo 1. MB, MB+DT ve LPS+MB+DT grupları vücut ısısı değerleri (n=7).

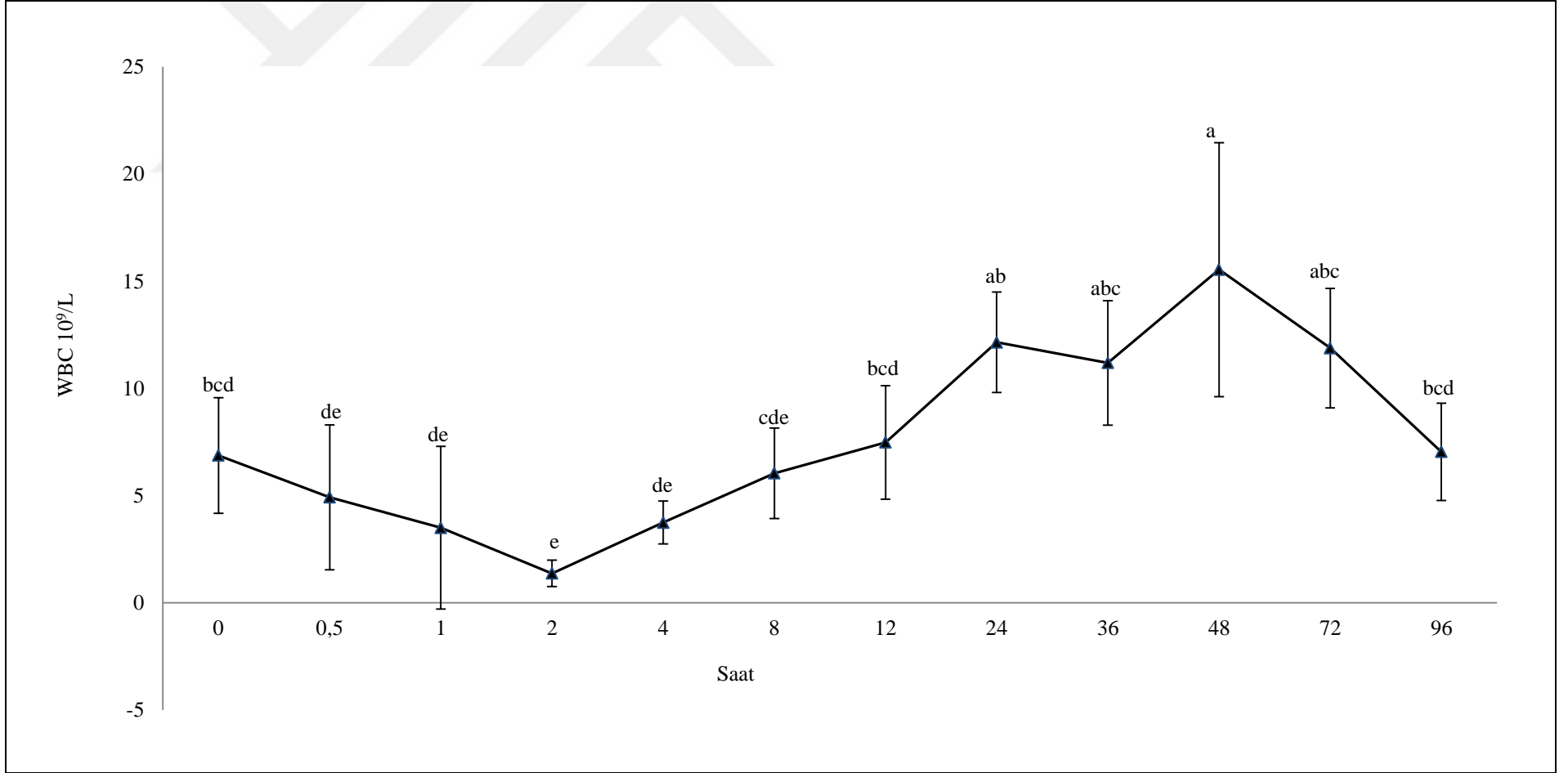
Vücut ısısı (°C)	0. saat	0.5 saat	1. saat	2. saat	4. saat	8. saat	12. saat	24. saat	48. saat
MB	39,24±0,06	39,39±0,10	39,41±0,09	39,26±0,06	39,11±0,12	39,34±0,07	39,20±0,09	39,14±0,08	39,13±0,10
MB+DT	39,40±0,11	39,40±0,06	39,26±0,10	39,16±0,11	39,33±0,04	39,36±0,04	39,37±0,04	39,24±0,06	39,13±0,03
LPS+MB+DT	39,30±0,06 <sup>cd</sup>	39,54±0,18 <sup>bcd</sup>	39,60±0,19 <sup>bcd</sup>	40,06±0,28 <sup>b</sup>	40,97±0,18 <sup>a</sup>	40,04±0,15 <sup>cb</sup>	39,37±0,12 <sup>bcd</sup>	39,24±0,11 <sup>d</sup>	39,07±0,11 <sup>d</sup>

<sup>a, b, c, d</sup>; Aynı grupta farklı örnekleme zamanlarında farklı harfler istatistiki açıdan önemlidir (P<0.05). MB; marbofloksasin grubu, MB+DT; marbofloksasin + destek tedavi grubu, LPS+MB+DT; lipopolisakkarit + marbofloksasin + destek tedavi grubu

Tablo 2. MB, MB+DT ve LPS+MB+DT grupları hematolojik parametreleri (n=7).

		0. saat	0.5 saat	1. saat	2. saat	4. saat	8. saat	12. saat	24. saat	36. saat	48. saat	72. saat	96. saat
WBC 10 <sup>9</sup> /L	MB	8,93±0,16	8,94±0,54	8,70±0,36	8,83±0,75	9,19±0,60	9,79±0,62	9,87±0,69	9,16±0,60	8,19±0,59	8,37±0,62	7,87±0,77	8,24±0,78
	MD	6,96±0,74	7,90±0,97	7,74±0,63	8,76±0,47	8,54±0,52	9,53±0,84	9,37±1,22	9,40±0,66	10,79±1,24	9,09±0,94	8,11±0,73	9,34±0,82
	LMD	6,87±1,02 <sup>bcd</sup>	4,93±1,28 <sup>de</sup>	3,50±1,43 <sup>de</sup>	1,37±0,26 <sup>e</sup>	3,74±0,38 <sup>de</sup>	6,04±0,80 <sup>cde</sup>	7,49±1,00 <sup>bcd</sup>	12,16±0,89 <sup>ab</sup>	11,19±1,10 <sup>abc</sup>	15,55±2,24 <sup>a</sup>	11,89±1,06 <sup>ab</sup>	7,04±0,86 <sup>bcd</sup>
RBC 10 <sup>12</sup> /L	MB	9,72±0,35	9,62±0,44	9,96±0,37	9,76±0,35	9,93±0,40	10,45±0,48	10,19±0,54	9,88±0,43	9,31±0,50	10,34±0,49	10,72±0,52	10,30±0,40
	MD	9,53±0,45	8,77±0,40	8,65±0,25	8,91±0,42	9,43±0,28	10,69±0,61	9,30±0,38	9,85±0,31	10,57±0,80	9,77±0,63	9,23±0,34	9,71±0,42
	LMD	9,85±0,59 <sup>ab</sup>	10,39±0,49 <sup>a</sup>	8,87±0,47 <sup>ab</sup>	8,96±0,58 <sup>ab</sup>	10,01±0,50 <sup>ab</sup>	10,09±0,62 <sup>ab</sup>	9,09±0,47 <sup>ab</sup>	8,03±0,46 <sup>b</sup>	8,41±0,37 <sup>ab</sup>	8,46±0,31 <sup>ab</sup>	7,94±0,23 <sup>b</sup>	7,94±0,27 <sup>b</sup>
PLT 10 <sup>9</sup> /L	MB	114,5±30,58	100,7±30,72	119,1±26,09	130,4±28,67	153,8±35,17	281,0±127,13	106,4±38,44	126,6±24,49	126,8±24,21	123,5±26,09	201,7±19,21	107,0±36,91
	MD	100,7±21,64 <sup>b</sup>	161,8±48,03 <sup>b</sup>	132,5±36,74 <sup>b</sup>	112,7±20,81 <sup>b</sup>	129,5±36,33 <sup>b</sup>	140,29±25,74 <sup>b</sup>	118,5±18,87 <sup>b</sup>	247,2±54,46 <sup>ab</sup>	158,0±27,66 <sup>b</sup>	407,1±77,24 <sup>a</sup>	135,1±25,28 <sup>b</sup>	109,0±34,38 <sup>b</sup>
	LMD	159,5±43,37	151,46±55,74	288,1±134,7	94,29±25,14	101,7±18,67	321,1±152,7	177,2±22,56	170,2±56,83	123,1±19,83	125,2±18,20	114,1±20,53	103,5±18,39
HG g/dL	MB	9,50±0,18	9,27±0,23	9,33±0,23	9,33±0,14	9,46±0,23	10,13±0,38	9,79±0,34	9,24±0,23	8,97±0,36	9,23±0,25	10,03±0,38	10,03±0,28
	MD	9,33±0,35 <sup>abcde</sup>	8,51±0,30 <sup>de</sup>	8,37±0,27 <sup>e</sup>	8,81±0,22 <sup>cde</sup>	9,51±0,34 <sup>abcde</sup>	10,24±0,27 <sup>ab</sup>	9,06±0,26 <sup>bode</sup>	9,51±0,21 <sup>abcde</sup>	10,64±0,35 <sup>a</sup>	10,11±0,27 <sup>abc</sup>	9,79±0,15 <sup>abcd</sup>	9,59±0,25 <sup>abcde</sup>
	LMD	9,77±0,28 <sup>bcd</sup>	11,17±0,43 <sup>a</sup>	9,54±0,25 <sup>bode</sup>	10,17±0,29 <sup>abc</sup>	10,56±0,29 <sup>ab</sup>	10,09±0,28 <sup>abc</sup>	9,73±0,19 <sup>bode</sup>	9,16±0,20 <sup>cde</sup>	8,97±0,14 <sup>cde</sup>	9,00±0,24 <sup>cde</sup>	8,47±0,28 <sup>e</sup>	8,73±0,26 <sup>de</sup>
HCT %	MB	29,19±0,54	28,40±0,72	28,66±0,70	28,47±0,44	28,95±0,70	31,09±1,16	29,99±1,03	28,33±0,69	27,43±1,09	28,23±0,74	30,73±1,14	30,77±0,85
	MD	28,63±1,07 <sup>abcde</sup>	26,09±0,92 <sup>de</sup>	25,65±0,84 <sup>e</sup>	27,01±0,67 <sup>cde</sup>	29,14±1,04 <sup>abcde</sup>	31,36±0,84 <sup>ab</sup>	27,77±0,77 <sup>bode</sup>	29,16±0,63 <sup>abcde</sup>	32,61±1,07 <sup>a</sup>	30,96±0,83 <sup>abc</sup>	30,04±0,47 <sup>abcd</sup>	29,41±0,75 <sup>abcde</sup>
	LMD	29,93±0,88 <sup>bcd</sup>	34,19±1,32 <sup>a</sup>	29,21±0,78 <sup>bode</sup>	31,13±0,89 <sup>abc</sup>	32,33±0,91 <sup>ab</sup>	30,87±0,85 <sup>abc</sup>	29,81±0,56 <sup>bode</sup>	28,03±0,63 <sup>cde</sup>	27,46±0,40 <sup>cde</sup>	27,53±0,75 <sup>cde</sup>	25,94±0,84 <sup>e</sup>	26,83±0,79 <sup>de</sup>

a, b, c, d, e: Aynı grupta farklı örnekleme zamanlarında farklı harfler istatistikî açıdan önemlidir (P<0.05). MB; marbofloksasin grubu, MD; marbofloksasin + destek tedavi grubu, LMD; lipopolisakkarit + marbofloksasin + destek tedavi grubu, WBC; akyuvar, RBC; alyuvar, PLT; trombosit, HG; hemoglobin, HCT; hematokrit.



Grafik 2. LPS+MB+DT grubu WBC grafiği (n=7). <sup>a, b, c, d, e</sup>; Zamanlamalar arasındaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlıdır (P < 0.05).

### 3.3. Biyokimyasal ve Kan Gazı Parametreleri

Gruplara ait biyokimyasal parametreler Tablo 3’de sunuldu. MB grubunda CK-MB, troponin I, GGT, AST, ALT ve kreatinin düzeylerinde istatistiki değişimler gözlenmezken ( $P>0.05$ ), laktat düzeyinde istatistiki dalgalanmalar, glikoz düzeyinde 72. saatte düşüş ve BUN düzeyinde 72. ile 96. saatlerde yükselmeler gözlendi ( $P<0.05$ ). MB+DT grubunda CK-MB, GGT, AST, ALT ve kreatinin düzeylerinde istatistiki değişimler belirlenmezken ( $P>0.05$ ), BUN düzeyinde istatistiki dalgalanmalar, laktat seviyesi 2. saatte, troponin I düzeyleri 12 ile 72 saatler arasında azalırken, glikoz düzeyi 1. saatte en yüksek düzeyde ve 48 ile 96 saatler arasında en düşük düzeylerde olduğu belirlendi ( $P<0.05$ ). LPS+MB+DT grubunda CK-MB, troponin I, AST ve ALT düzeyinde istatistiki değişim belirlenmezken ( $P>0.05$ ), laktat ile GGT düzeyinde istatistiki dalgalanmalar, glikoz düzeyinde 0.5. saat, BUN düzeyinde 12. saat ve kreatinin düzeyinde 8. saat yükselmeler belirlendi ( $P<0.05$ ).

Gruplara ait kan gazı parametreleri Tablo 4’te sunuldu. MB grubunda  $pO_2$ ,  $sO_2$ ,  $K^+$  ve  $Cl^-$  düzeylerinde istatistiki fark belirlenmezken ( $P>0.05$ ),  $pCO_2$ , Base(ecf) ve  $HCO_3^-$  düzeylerinde istatistiki dalgalanmalar, pH düzeyinde 1. saat ve iCa düzeyinin 8. saat en yüksek düzeye çıktığı ve  $Na^+$  düzeyinin 48. saatte en düşük düzeye indiği belirlendi ( $P<0.05$ ). MB+DT grubunda  $pO_2$ ,  $sO_2$  ve  $Cl^-$  düzeylerinde istatistiki değişimler gözlenmezken ( $P>0.05$ ),  $pCO_2$ , Base(ecf) ve iCa düzeylerinde istatistiki dalgalanmalar, pH ve  $HCO_3^-$  düzeylerinde 24. saatte ve  $Na^+$  düzeyinde 36. saatlerde en yüksek düzeylere çıktığı ve K seviyesinin 12. saatte en düşük düzeye düştüğü belirlendi ( $P<0.05$ ). LPS+MB+DT grubunda  $pCO_2$  ve  $pO_2$  değerlerinde istatistiki değişimler belirlenmezken ( $P>0.05$ ),  $sO_2$  ve  $Na^+$  değerlerinde istatistiki dalgalanmalar, pH, Base(ecf) ile  $HCO_3^-$  düzeylerinin 24., 36. ve 48. saatlerde en yüksek düzeylere ve  $K^+$  düzeyinin 1. saatte, iCa düzeyinin 24. saatte ve  $Cl^-$  düzeyinin 36. saatte en düşük düzeylere düştüğü belirlendi ( $P<0.05$ ).

Tablo 3. MB, MB+DT ve LPS+MB+DT grupları biyokimyasal parametreleri (n=7).

Parametreler		0.saat	0.5 saat	1. saat	2. saat	4. saat	8. saat	12. saat	24. saat	36. saat	48. saat	72. saat	96. saat
Laktat mmol/L	M	2,04±0,15 <sup>ab</sup>	1,24±0,17 <sup>b</sup>	1,21±0,07 <sup>b</sup>	0,90±0,08 <sup>b</sup>	0,83±0,05 <sup>b</sup>	1,46±0,31 <sup>b</sup>	1,31±0,23 <sup>b</sup>	0,84±0,12 <sup>b</sup>	0,91±31 <sup>b</sup>	0,94±0,11 <sup>b</sup>	1,69±0,95 <sup>ab</sup>	2,84±0,68 <sup>a</sup>
	MD	2,23±0,30 <sup>abc</sup>	1,16±0,18 <sup>cd</sup>	1,10±0,20 <sup>cd</sup>	0,64±0,06 <sup>d</sup>	0,86±0,20 <sup>cd</sup>	2,79±0,54 <sup>ab</sup>	2,21±0,32 <sup>abc</sup>	1,61±0,23 <sup>abcd</sup>	2,97±0,47 <sup>a</sup>	1,46±0,31 <sup>bcd</sup>	1,30±0,269 <sup>cd</sup>	0,90±0,28 <sup>cd</sup>
	LMD	1,74±0,40 <sup>abc</sup>	2,26±0,30 <sup>abc</sup>	2,10±0,31 <sup>abc</sup>	1,36±0,17 <sup>bc</sup>	1,40±0,11 <sup>bc</sup>	3,30±0,11 <sup>a</sup>	3,46±0,31 <sup>a</sup>	3,04±0,74 <sup>bc</sup>	2,21±0,67 <sup>abc</sup>	1,54±0,19 <sup>bc</sup>	1,09±0,13 <sup>c</sup>	0,87±0,17 <sup>c</sup>
Glikoz mmol/L	M	81,86±2,76 <sup>abcd</sup>	84,42±4,25 <sup>abc</sup>	91,00±5,10 <sup>a</sup>	87,57±4,80 <sup>ab</sup>	77,71±2,33 <sup>cd</sup>	71,86±1,39 <sup>de</sup>	74,43±1,63 <sup>bcde</sup>	69,71±1,17 <sup>cd</sup>	70,29±0,92 <sup>cd</sup>	69,25±0,97 <sup>cd</sup>	65,71±1,46 <sup>e</sup>	68,71±2,00 <sup>cd</sup>
	MD	94,00±18,79 <sup>bc</sup>	163,29±29,60 <sup>ab</sup>	183,00±30,88 <sup>a</sup>	120,86±11,86 <sup>abc</sup>	111,7±11,78 <sup>abc</sup>	104,71±13,56 <sup>bc</sup>	113,86±7,65 <sup>abc</sup>	113,43±8,06 <sup>abc</sup>	91,00±7,50 <sup>cd</sup>	61,43±2,33 <sup>d</sup>	63,43±2,46 <sup>d</sup>	53,13±7,96 <sup>d</sup>
	LMD	67,14±1,53 <sup>c</sup>	223,43±48,55 <sup>a</sup>	153,71±8,92 <sup>ab</sup>	85,71±6,30 <sup>bc</sup>	42,00±1,89 <sup>c</sup>	41,43±0,75 <sup>c</sup>	38,86±1,61 <sup>c</sup>	57,42±5,85 <sup>c</sup>	68,43±5,85 <sup>c</sup>	52,86±1,84 <sup>c</sup>	55,86±1,42 <sup>c</sup>	61,86±2,32 <sup>c</sup>
CK-MB ng/L	M	0,10±0,01	0,09±0,00	0,09±0,02	0,10±0,02	0,11±0,01	0,12±0,01	0,11±0,01	0,08±0,02	0,09±0,02	0,07±0,02	0,12±0,01	0,06±0,02
	MD	0,12±0,01	0,11±0,02	0,09±0,02	0,09±0,02	0,11±0,02	0,10±0,02	0,09±0,02	0,11±0,02	0,07±0,02	0,08±0,03	0,10±0,02	0,09±0,02
	LMD	0,10±0,02	0,11±0,02	0,13±0,03	0,07±0,05	0,10±0,05	0,09±0,04	0,08±0,04	0,09±0,04	0,12±0,02	0,10±0,02	0,10±0,05	0,10±0,05
Tn I ng/L	M	0,005±0,001	0,005±0,001	0,006±0,001	0,005±0,001	0,004±0,001	0,004±0,001	0,004±0,001	0,004±0,001	0,004±0,001	0,003±0,001	0,004±0,001	0,004±0,001
	MD	0,006±0,001 <sup>ab</sup>	0,007±0,001 <sup>a</sup>	0,006±0,001 <sup>ab</sup>	0,006±0,001 <sup>abc</sup>	0,006±0,001 <sup>abcd</sup>	0,004±0,001 <sup>bcde</sup>	0,003±0,001 <sup>cde</sup>	0,002±0,001 <sup>de</sup>	0,002±0,001 <sup>e</sup>	0,003±0,001 <sup>cde</sup>	0,002±0,001 <sup>de</sup>	0,003±0,001 <sup>bcde</sup>
	LMD	0,004±0,001	0,003±0,002	0,005±0,002	0,007±0,003	0,007±0,004	0,013±0,010	0,017±0,022	0,022±0,049	0,013±0,028	0,007±0,012	0,002±0,001	0,001±0,001
GGT U/L	M	49,86±5,58	47,86±5,97	52,86±3,73	49,71±5,31	49,71±4,78	55,71±3,42	49,14±6,18	51,29±5,35	50,86±6,06	54,14±3,85	57,29±5,18	56,71±5,14
	MD	47,29±6,17	42,14±4,96	48,57±5,11	41,00±6,10	38,43±7,16	56,00±5,25	54,00±7,14	47,43±5,90	51,42±7,13	46,14±6,38	54,29±7,03	56,71±6,87
	LMD	46,57±17,37 <sup>abc</sup>	44,57±16,64 <sup>abc</sup>	32,43±17,8 <sup>3c</sup>	62,00±13,92 <sup>abc</sup>	67,43±9,64 <sup>ab</sup>	68,86±21,11 <sup>a</sup>	43,43±1350 <sup>abc</sup>	38,86±16,48 <sup>bc</sup>	33,29±15,06 <sup>c</sup>	44,57±16,43 <sup>abc</sup>	38,00±15,52 <sup>bc</sup>	53,14±21,66 <sup>abc</sup>
AST U/L	M	88,71±10,96	84,57±9,71	93,00±5,95	88,71±9,65	87,43±9,06	98,57±6,89	82,86±9,56	81,43±7,78	78,57±8,35	82,57±7,42	86,86±8,38	84,86±7,77
	MD	60,86±4,91	58,29±9,25	68,00±9,37	67,29±16,42	52,29±8,66	80,43±11,16	77,00±11,39	66,57±11,21	65,43±10,07	61,71±13,30	73,57±14,79	68,57±13,47
	LMD	61,29±27,17	61,57±30,52	44,29±29,94	79,71±23,73	81,43±24,05	89,29±32,65	67,57±32,74	67,86±35,12	54,71±25,33	69,86±30,12	67,86±18,66	83,29±39,22
ALT U/L	M	23,29±2,66	22,71±2,71	24,57±1,49	23,43±2,29	22,57±1,99	26,29±2,60	21,86±2,30	21,00±1,81	20,14±1,97	21,43±1,61	21,29±1,76	20,71±1,38
	MD	15,14±1,70	15,00±2,44	17,00±2,24	15,71±2,92	12,57±2,26	19,29±2,58	18,29±2,69	17,14±3,42	17,14±2,54	15,57±3,15	15,57±2,60	14,86±2,43
	LMD	13,29±6,05	14,14±6,81	10,29±5,91	16,14±4,56	16,00±5,86	15,57±5,94	12,14±6,67	14,43±6,05	11,43±5,29	13,86±4,26	9,71±2,50	11,14±3,58
BUN mg/dL	M	25,00±2,50 <sup>c</sup>	24,43±2,67 <sup>c</sup>	26,71±2,17 <sup>bc</sup>	26,71±2,26 <sup>bc</sup>	27,57±2,38 <sup>abc</sup>	29,86±1,68 <sup>abc</sup>	27,86±2,58 <sup>abc</sup>	29,43±1,86 <sup>abc</sup>	31,14±1,68 <sup>abc</sup>	30,71±1,35 <sup>abc</sup>	37,14±2,08 <sup>a</sup>	35,14±1,39 <sup>ab</sup>
	MD	20,14±2,59 <sup>abcd</sup>	18,57±2,19 <sup>bcd</sup>	20,14±1,40 <sup>abcd</sup>	17,14±1,14 <sup>cd</sup>	16,14±1,72 <sup>d</sup>	29,43±2,37 <sup>ab</sup>	30,43±2,85 <sup>a</sup>	28,00±3,60 <sup>abc</sup>	25,86±3,31 <sup>abcd</sup>	17,86±2,36 <sup>bcd</sup>	19,14±2,02 <sup>abcd</sup>	22,86±2,82 <sup>abcd</sup>
	LMD	24,86±5,87 <sup>cd</sup>	25,71±6,34 <sup>bcd</sup>	20,29±7,32 <sup>d</sup>	30,43±4,04 <sup>abcd</sup>	31,29±6,85 <sup>abcd</sup>	41,86±10,37 <sup>ab</sup>	42,86±16,09 <sup>a</sup>	40,57±12,57 <sup>abc</sup>	32,71±9,34 <sup>abcd</sup>	37,00±6,40 <sup>abc</sup>	28,29±8,90 <sup>abcd</sup>	31,43±9,69 <sup>abcd</sup>
CREAT mg/dL	M	0,72±0,05	0,69±0,73	0,77±0,04	0,73±0,06	0,69±0,06	0,74±0,04	0,66±0,06	0,70±0,05	0,66±0,06	0,71±0,05	0,73±0,05	0,72±0,05
	MD	0,71±0,08	0,68±0,07	0,77±0,06	0,63±0,06	0,56±0,08	0,78±0,07	0,75±0,09	0,69±0,08	0,69±0,08	0,62±0,06	0,72±0,06	0,75±0,08
	LMD	0,62±0,18 <sup>bc</sup>	0,65±0,17 <sup>bc</sup>	0,48±0,19 <sup>c</sup>	0,84±0,16 <sup>abc</sup>	0,88±0,14 <sup>ab</sup>	1,07±0,31 <sup>a</sup>	0,77±0,24 <sup>abc</sup>	0,63±0,25 <sup>bc</sup>	0,50±0,18 <sup>c</sup>	0,67±0,19 <sup>bc</sup>	0,54±0,20 <sup>bc</sup>	0,67±0,26 <sup>bc</sup>

a, b, c, d, e: Aynı grupta farklı örnekleme zamanlarında farklı harfler istatistiki açıdan önemlidir (P<0.05). M; marbofloksasin grubu, MD; marbofloksasin + destek tedavi grubu, LMD; lipopolisakkarit + marbofloksasin + destek tedavi grubu, CK-MB; Kreatin Kinaz-MB, TnI; Troponin I, GGT; gamma glutamil transferaz, AST; aspartat aminotransferaz, ALT; alanin aminotransferaz, BUN; kan üre nitrojen; CREAT, kreatinin.

Tablo 4. MB, MB+DT ve LPS+MB+DT grupları kan gazı parametreleri (n=7).

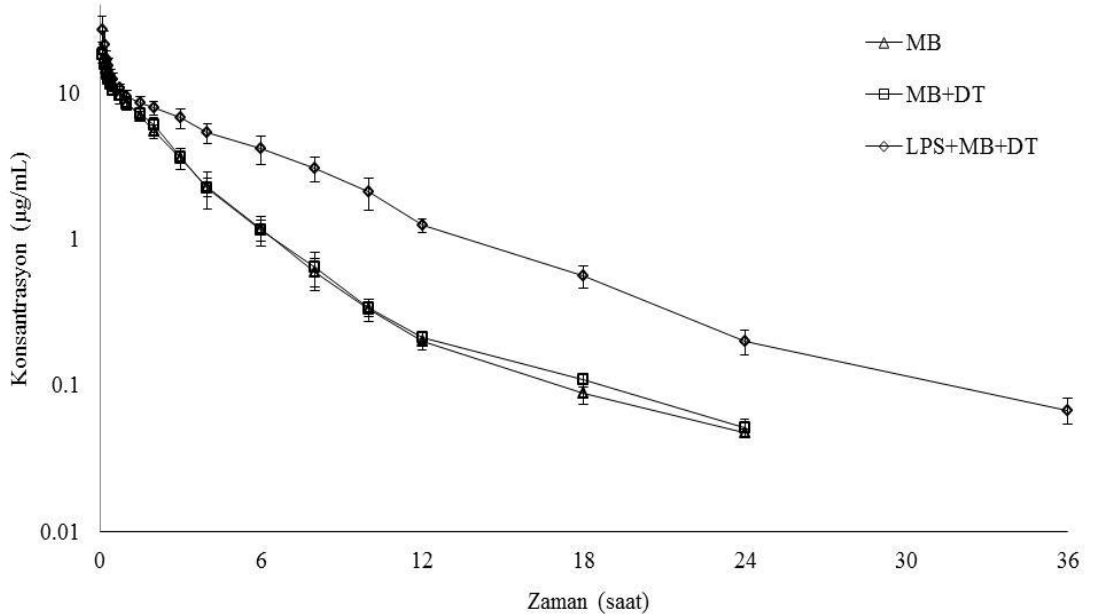
Parametreler	Gruplar	0. saat	0.5 saat	1. saat	2. saat	4. saat	8. saat	12. saat	24. saat	36. saat	48. saat	72. saat	96. saat
pH	MB	7,42±0,01 <sup>bcd</sup>	7,47±0,01 <sup>ab</sup>	7,48±0,01 <sup>a</sup>	7,46±0,01 <sup>abc</sup>	7,45±0,01 <sup>abcd</sup>	7,42±0,01 <sup>bcd</sup>	7,45±0,01 <sup>abcd</sup>	7,44±0,01 <sup>abcd</sup>	7,46±0,01 <sup>abcd</sup>	7,44±0,01 <sup>abcd</sup>	7,42±0,01 <sup>cd</sup>	7,41±0,02 <sup>d</sup>
	MB+DT	7,45±0,01 <sup>bcd</sup>	7,45±0,01 <sup>bcd</sup>	7,42±0,02 <sup>d</sup>	7,46±0,01 <sup>abcd</sup>	7,43±0,01 <sup>cd</sup>	7,43±0,01 <sup>cd</sup>	7,48±0,01 <sup>abcd</sup>	7,52±0,01 <sup>a</sup>	7,48±0,01 <sup>abc</sup>	7,51±0,01 <sup>ab</sup>	7,48±0,01 <sup>abc</sup>	7,46±0,01 <sup>abcd</sup>
	LPS+MB+DT	7,44±0,01 <sup>b</sup>	7,42±0,01 <sup>b</sup>	7,44±0,01 <sup>b</sup>	7,46±0,01 <sup>b</sup>	7,43±0,01 <sup>b</sup>	7,45±0,01 <sup>8b</sup>	7,44±0,01 <sup>b</sup>	7,56±0,01 <sup>a</sup>	7,58±0,01 <sup>a</sup>	7,55±0,01 <sup>a</sup>	7,48±0,01 <sup>b</sup>	7,44±0,01 <sup>b</sup>
pCO <sub>2</sub> mmHg	MB	37,20±0,80 <sup>ab</sup>	35,34±0,07 <sup>ab</sup>	33,51±1,12 <sup>b</sup>	37,39±0,70 <sup>ab</sup>	36,50±0,56 <sup>ab</sup>	36,34±1,21 <sup>ab</sup>	35,94±0,68 <sup>ab</sup>	37,47±0,68 <sup>ab</sup>	34,76±0,94 <sup>ab</sup>	38,11±0,60 <sup>ab</sup>	37,57±1,40 <sup>ab</sup>	38,75±1,90 <sup>a</sup>
	MB+DT	34,57±0,52 <sup>ab</sup>	34,37±1,11 <sup>ab</sup>	38,27±2,08 <sup>a</sup>	36,57±0,79 <sup>ab</sup>	36,74±0,60 <sup>ab</sup>	34,16±1,53 <sup>ab</sup>	32,27±0,44 <sup>b</sup>	34,46±1,52 <sup>ab</sup>	34,41±0,76 <sup>ab</sup>	33,96±1,06 <sup>ab</sup>	34,79±0,82 <sup>ab</sup>	34,57±1,03 <sup>ab</sup>
	LPS+MB+DT	35,93±0,71	36,10±0,78	35,46±1,12	37,29±1,04	34,19±1,42	33,43±1,09	35,94±0,46	35,54±0,83	34,81±0,96	36,37±0,92	35,81±0,47	36,75±0,73
pO <sub>2</sub> mmHg	MB	37,06±2,27	40,39±3,74	45,61±3,11	38,99±1,27	41,73±1,43	42,21±2,02	43,30±2,72	44,02±1,59	44,83±1,63	39,44±1,49	40,57±1,71	37,67±3,52
	MB+DT	42,84±2,77	42,34±3,08	40,44±2,46	39,36±1,57	39,32±1,70	40,27±2,36	43,11±2,81	39,97±2,37	36,59±2,16	39,61±2,50	41,89±2,08	40,04±2,60
	LPS+MB+DT	43,46±2,09	41,87±1,90	43,73±1,81	39,90±1,64	37,66±1,46	49,46±5,50	46,24±1,07	39,81±2,12	45,63±2,25	39,20±2,10	42,64±4,07	38,86±1,04
sO <sub>2</sub> %	MB	55,63±4,04	62,99±6,56	71,91±3,51	60,77±3,01	65,36±1,40	64,34±4,38	67,04±3,41	68,10±2,45	70,77±2,19	60,09±1,82	61,13±4,45	53,87±6,40
	MB+DT	65,99±4,97	68,34±3,42	60,96±4,62	61,11±3,26	59,27±2,50	60,94±4,20	68,04±3,89	64,31±3,71	55,76±3,72	62,90±3,99	66,06±3,31	61,29±5,38
	LPS+MB+DT	65,96±2,99 <sup>ab</sup>	63,49±2,22 <sup>ab</sup>	66,21±3,50 <sup>ab</sup>	60,50±2,71 <sup>b</sup>	56,14±3,18 <sup>b</sup>	71,96±5,09 <sup>ab</sup>	70,07±1,85 <sup>ab</sup>	64,73±3,50 <sup>ab</sup>	76,96±2,66 <sup>a</sup>	63,31±3,76 <sup>ab</sup>	65,37±5,28 <sup>ab</sup>	58,42±1,77 <sup>b</sup>
Base(ecf) mmol/L	MB	0,94±0,38 <sup>ab</sup>	2,34±0,45 <sup>ab</sup>	1,56±0,74 <sup>ab</sup>	2,74±0,50 <sup>a</sup>	1,59±0,69 <sup>ab</sup>	-0,60±0,57 <sup>b</sup>	1,31±0,48 <sup>ab</sup>	1,31±0,26 <sup>ab</sup>	0,74±0,83 <sup>ab</sup>	1,64±0,64 <sup>ab</sup>	0,59±1,09 <sup>ab</sup>	-0,16±0,77 <sup>ab</sup>
	MB+DT	0,24±0,81 <sup>abc</sup>	-1,80±2,31 <sup>c</sup>	0,15±1,46 <sup>abc</sup>	2,54±0,74 <sup>abc</sup>	-0,57±1,38 <sup>bc</sup>	-1,59±0,90 <sup>c</sup>	0,37±0,84 <sup>abc</sup>	5,66±1,11 <sup>a</sup>	2,26±1,09 <sup>abc</sup>	4,20±0,67 <sup>ab</sup>	2,71±1,08 <sup>abc</sup>	0,86±0,70 <sup>bc</sup>
	LPS+MB+DT	0,59±0,55 <sup>bc</sup>	-0,77±0,44 <sup>bc</sup>	-0,39±0,57 <sup>bc</sup>	2,70±0,90 <sup>b</sup>	-1,50±1,04 <sup>c</sup>	-0,96±0,94 <sup>bc</sup>	-0,01±0,94 <sup>bc</sup>	9,14±0,83 <sup>a</sup>	10,59±0,53 <sup>a</sup>	9,54±1,29 <sup>a</sup>	2,87±1,01 <sup>b</sup>	0,96±0,82 <sup>bc</sup>
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mEq/L	MB	24,66±0,28 <sup>ab</sup>	25,96±0,29 <sup>ab</sup>	25,54±0,56 <sup>ab</sup>	26,19±0,38 <sup>a</sup>	25,35±0,57 <sup>ab</sup>	23,57±0,45 <sup>b</sup>	25,16±0,37 <sup>ab</sup>	25,16±0,23 <sup>ab</sup>	24,81±0,61 <sup>ab</sup>	25,27±0,50 <sup>ab</sup>	23,80±0,84 <sup>ab</sup>	23,64±0,58 <sup>b</sup>
	MB+DT	24,31±0,65 <sup>bc</sup>	24,30±0,60 <sup>bc</sup>	24,14±1,12 <sup>bc</sup>	26,09±0,63 <sup>abc</sup>	23,97±1,07 <sup>bc</sup>	22,81±0,62 <sup>c</sup>	24,60±0,68 <sup>bc</sup>	28,83±1,01 <sup>a</sup>	25,81±0,86 <sup>abc</sup>	27,57±0,50 <sup>ab</sup>	26,39±0,93 <sup>abc</sup>	24,77±0,51
	LPS+MB+DT	24,53±0,44 <sup>bc</sup>	23,37±0,33 <sup>bc</sup>	23,79±0,45 <sup>bc</sup>	26,13±0,70 <sup>b</sup>	22,80±0,75 <sup>c</sup>	23,54±0,75 <sup>bc</sup>	24,17±0,74 <sup>bc</sup>	31,83±0,73 <sup>a</sup>	33,37±0,49 <sup>a</sup>	32,14±1,13 <sup>a</sup>	26,46±0,80 <sup>b</sup>	24,73±0,66 <sup>bc</sup>
K mmol/L	MB	3,77±0,13	3,86±0,13	3,73±0,09	3,59±0,09	3,75±0,09	4,20±0,69	4,16±0,10	3,89±0,06	8,84±5,03	4,01±0,11	4,06±0,23	4,13±0,10
	MB+DT	3,71±0,09 <sup>abc</sup>	3,56±0,08 <sup>abc</sup>	3,59±0,19 <sup>abc</sup>	3,37±0,18 <sup>abcd</sup>	3,13±0,10 <sup>de</sup>	3,23±0,20 <sup>bcd</sup>	2,80±0,12 <sup>e</sup>	3,73±0,18 <sup>abc</sup>	3,86±0,06 <sup>a</sup>	3,76±0,10 <sup>ab</sup>	3,64±0,06 <sup>abc</sup>	3,74±0,10 <sup>bc</sup>
	LPS+MB+DT	4,00±0,10 <sup>a</sup>	3,34±0,08 <sup>bcd</sup>	3,01±0,34 <sup>d</sup>	3,17±0,05 <sup>cd</sup>	3,63±0,13 <sup>abc</sup>	3,46±0,08 <sup>abcd</sup>	3,36±0,11 <sup>bcd</sup>	3,03±0,14 <sup>d</sup>	3,37±0,17 <sup>bcd</sup>	3,53±0,24 <sup>abcd</sup>	3,87±0,10 <sup>ab</sup>	3,87±0,08 <sup>ab</sup>
Na mmol/L	MB	156,2±0,29 <sup>a</sup>	155,1±0,86 <sup>ab</sup>	154,7±0,87 <sup>ab</sup>	155,2±0,97 <sup>ab</sup>	153,8±0,14 <sup>abc</sup>	152,1±0,52 <sup>bc</sup>	152,7±0,57 <sup>bc</sup>	152,5±0,53 <sup>bc</sup>	153,5±0,43 <sup>abc</sup>	151,4±0,69 <sup>c</sup>	153,4±0,57 <sup>abc</sup>	152,5±0,53 <sup>bc</sup>
	MB+DT	150,7±2,49 <sup>de</sup>	150,7±2,33 <sup>de</sup>	149,4±0,37 <sup>e</sup>	151,8±1,14 <sup>cde</sup>	152,2±0,71 <sup>bcd</sup>	157,1±0,91 <sup>abc</sup>	158,0±0,31 <sup>ab</sup>	155,4±0,95 <sup>abcde</sup>	158,4±1,43 <sup>a</sup>	155,5±0,78 <sup>abcd</sup>	153,2±1,02 <sup>abcde</sup>	152,2±0,83 <sup>bcd</sup>
	LPS+MB+DT	152,5±0,65 <sup>abcd</sup>	148,8±2,10 <sup>d</sup>	150,7±0,75 <sup>cd</sup>	151,4±0,78 <sup>bcd</sup>	154,1±1,10 <sup>abc</sup>	157,4±0,61 <sup>a</sup>	156,0±0,93 <sup>ab</sup>	155,4±0,65 <sup>abc</sup>	152,7±0,99 <sup>abcd</sup>	152,2±0,89 <sup>abcd</sup>	154,2±1,49 <sup>abc</sup>	152,8±1,34 <sup>abcd</sup>
iCa mmol/L	MB	0,93±0,02 <sup>b</sup>	0,94±0,02 <sup>b</sup>	0,97±0,03 <sup>ab</sup>	0,99±0,06 <sup>ab</sup>	1,04±0,03 <sup>ab</sup>	1,09±0,18 <sup>a</sup>	1,06±0,18 <sup>ab</sup>	1,03±0,30 <sup>ab</sup>	0,95±0,02 <sup>ab</sup>	1,06±0,02 <sup>ab</sup>	1,02±0,37 <sup>ab</sup>	0,96±0,04 <sup>ab</sup>
	MB+DT	0,89±0,04 <sup>ab</sup>	0,92±0,06 <sup>ab</sup>	0,99±0,05 <sup>ab</sup>	1,05±0,05 <sup>ab</sup>	1,07±0,03 <sup>a</sup>	0,95±0,04 <sup>ab</sup>	0,85±0,04 <sup>b</sup>	0,96±0,51 <sup>ab</sup>	0,86±0,05 <sup>ab</sup>	0,88±0,04 <sup>ab</sup>	0,90±0,03 <sup>ab</sup>	0,93±0,03 <sup>ab</sup>
	LPS+MB+DT	1,01±0,03 <sup>a</sup>	0,85±0,03 <sup>ab</sup>	0,85±0,01 <sup>ab</sup>	0,87±0,02 <sup>ab</sup>	0,88±0,06 <sup>ab</sup>	0,85±0,02 <sup>ab</sup>	0,88±0,03 <sup>ab</sup>	0,79±0,04 <sup>b</sup>	0,84±0,04 <sup>ab</sup>	0,89±0,05 <sup>ab</sup>	0,91±0,05 <sup>ab</sup>	1,01±0,08 <sup>a</sup>
Cl mmol/L	MB	111,5±0,37	111,1±0,46	111,7±0,89	111,1±0,67	111,7±0,78	112,2±0,42	111,0±0,44	111,2±0,29	111,4±0,57	111,4±0,69	111,5±0,69	109,8±0,67
	MB+DT	95,58±15,86	111,8±1,12	111,2±0,60	112,1±0,70	114,0±0,72	116,2±0,94	114,1±0,86	112,0±1,00	113,7±0,61	112,0±0,53	111,4±0,78	112,7±0,57
	LPS+MB+DT	110,8±0,63 <sup>abc</sup>	107,0±1,36 <sup>cde</sup>	110,1±0,74 <sup>bcd</sup>	109,8±0,86 <sup>bcd</sup>	114,1±0,80 <sup>a</sup>	112,8±0,70 <sup>ab</sup>	111,4±0,69 <sup>ab</sup>	106,0±0,53 <sup>de</sup>	105,1±0,86 <sup>c</sup>	106,0±1,09 <sup>de</sup>	110,0±0,99 <sup>abc</sup>	111,1±0,67 <sup>ab</sup>

a, b, c, d, e. Aynı grupta farklı örnekleme zamanlarında farklı harfler istatistikî açıdan önemlidir (P<0.05). MB; marbofloksasin grubu, MB+DT; marbofloksasin + destek tedavi grubu, LPS+MB+DT; marbofloksasin + destek tedavi + lipopolisakarit grubu, pH; hidrojenin gücü, pCO<sub>2</sub>; kısmî karbondioksit basıncı, pO<sub>2</sub>; kısmî oksijen basıncı, sO<sub>2</sub>; Oksijen saturasyonu, base(ecf); ekstrasellüler sıvıdaki baz fazlası, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>; bikarbonat, K; potasyum, Na<sup>+</sup>; Sodyum, iCa<sup>2+</sup>; iyonize kalsiyum, Cl; klor.

### 3.4. Farmakokinetik Parametreler

Koyunlarda MB'in DT ve LPS+DT ile kombine uygulamalarını takiben yarı-logaritmik plazma konsantrasyon-zaman eğrileri ve farmakokinetik parametreleri sırasıyla Grafik 3 ve Tablo 5'de sunuldu. MB ve MB+DT grubunda marbofloksasin 24. saate kadar tespit edilirken, LPS+MB+DT grubunda 36. saate kadar tespit edildi. MB grubunda  $t_{1/2\lambda_z}$ , MRT,  $EAA_{0-24}$ ,  $Cl_T$  ve  $V_{dss}$  değerleri sırasıyla  $2.87\pm 0.13$  saat,  $2.98\pm 0.15$  saat,  $34.53\pm 3.34$  saat\* $\mu\text{g/mL}$ ,  $0.29\pm 0.03$  L/saat/kg ve  $0.87\pm 0.10$  L/kg olarak tespit edildi. MB grubu ile MB+DT grubu kıyaslandığında farmakokinetik parametrelerde ( $t_{1/2\lambda_z}$ , MRT, EAA,  $Cl_S$  ve  $V_{dss}$ ) herhangi bir farklılık belirlenmedi ( $P>0.05$ ). LPS+MB+DT uygulamasını takiben marbofloksasinin  $Cl_T$ 'i azalırken  $EAA_{0-24}$ 'sının arttığı ve  $t_{1/2\lambda_z}$  ve MRT'sinin uzadığı belirlendi ( $P<0.05$ ).

**Grafik 3.** MB, MB+DT ve LPS+MB+DT gruplarında marbofloksasinin (10 mg/kg, IV) yarı-logaritmik plazma konsantrasyon-zaman eğrisi (n=7).



**Tablo 5.** MB, MB+DT ve LPS+MB+DT gruplarında marbofloksasinin (10 mg/kg, IV) farmakokinetik parametreleri (n=7).

Parametreler	MB	MB+DT	LPS+MB+DT
$\lambda_z$ (1/saat)	0.24±0.01 <sup>a</sup>	0.24±0.00 <sup>a</sup>	0.15±0.01 <sup>b</sup>
$t_{1/2\lambda_z}$ (saat) HO	2.87±0.13 <sup>b</sup>	2.91±0.06 <sup>b</sup>	4.64±0.20 <sup>a</sup>
EAA <sub>0-24</sub> (saat*µg/mL)	34.53±3.34 <sup>b</sup>	34.61±2.99 <sup>b</sup>	69.21±8.04 <sup>a</sup>
EAA <sub>0-∞</sub> (saat*µg/mL)	34.73±3.33 <sup>b</sup>	34.82±2.99 <sup>b</sup>	71.12±8.13 <sup>a</sup>
MRT <sub>0-∞</sub> (saat) HO	2.98±0.15 <sup>b</sup>	3.11±0.09 <sup>b</sup>	5.82±0.26 <sup>a</sup>
Cl <sub>T</sub> (L/saat/kg)	0.29±0.03 <sup>a</sup>	0.29±0.03 <sup>a</sup>	0.14±0.02 <sup>b</sup>
V <sub>dss</sub> (L/kg)	0.87±0.10	0.90±0.08	0.83±0.09
C <sub>max</sub> (µg/mL)	19.66±2.43 <sup>b</sup>	18.25±2.32 <sup>b</sup>	26.93±6.23 <sup>a</sup>

a, b:Aynı grupta farklı örnekleme zamanlarında farklı harfler istatistikî açıdan önemlidir (P<0.05).  $\lambda_z$ ; eliminasyon hız sabitesi,  $t_{1/2\lambda_z}$ ; terminal eliminasyonunun yarı ömrü, EAA; konsantrasyon-zaman eğrisi altındaki alan, MRT; ortalama kalış süresi, Cl<sub>T</sub>; total klerens, V<sub>dss</sub>; Kararlı durum dağılım hacmi, C<sub>max</sub>; ilk örnekleme zamanındaki plazma koonsantrasyonu, HO; harmonik ortalama. MB; marbofloksasin grubu, MB+DT; marbofloksasin + destek tedavi grubu, LPS+MB+DT; lipopolisakkarit + marbofloksasin + destek tedavi grubu.

### 3.5. Farmakokinetik/Farmakodinamik integrasyon

Koyunlardan izole edilen *E. coli*, *M. haemolytica*, *P. multocida*, *K. pneumoniae*, *Salmonella* spp. ve *S. aureus* bakterileri için marbofloksasinin MİK değerleri Tablo 6'de sunuldu. *E. coli* izolatlarından 4 tanesi ve *M. haemolytica* izolatlarından 7 tanesi marbofloksasine duyarlılık kırılma (susceptible breakpoint) ( $\leq 1$  µg/mL) düzeyinin üzerinde belirlendi. Marbofloksasinin EAA<sub>0-24</sub>/MİK oranı duyarlılık kırılma noktasının altındaki izolatlar için hesaplandı (Tablo 7). Marbofloksasin tedavisinde başarı ve direnç gelişimini minimuma indirmek için Gram negatif ve Gram pozitif (*S.aureus*) mikroorganizmalar için EAA<sub>0-24</sub>/MİK oranının sırasıyla  $\geq 125$  ve  $\geq 60$  olması istenir (McKellar ve ark 2004, Toutain and Lees 2004, Lees ve ark 2006). MİK değeri MB, MB+DT ve LPS+MB+DT grupları için sırasıyla Gram negatifler bakteriler için 0.28 µg/mL, 0.28 µg/mL ve 0.55 µg/mL iken, Gram pozitifler için 0.58 µg/mL, 0.58 µg/mL ve 1.15 µg/mL olarak bulundu.

Bütün grupta, MİK değerleri  $\leq 1$   $\mu\text{g/mL}$  olan bakteriler için  $C_{\text{max}}/\text{MİK}$  oranı  $\geq 10$  olduğu belirlendi (Tablo 8).



**Tablo 6.** Koyunlardan izole edilen bakteriler için marbofloksasinin MİK değerleri (µg/mL).

İzolasyon No	<i>E. coli</i>	<i>M. hemolytica</i>	<i>P. multocida</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Staph. aureus</i>
1	>16	0.063	0.031	0.016	0.031	0.031
2	0.031	0.031	0.016	0.031	0.063	0.5
3	16	0.016	1	0.250		0.125
4	0.031	>16	0.031			0.063
5	0.063	0.031	0.031			1
6	>16	0.063				0.125
7	4	>16				
8		>16				
9		2				
10		2				
11		>16				
12		0.5				
13		0.063				
14		8				
15		0.5				

**Tablo 7.** MB, MB+DT ve LPS+MB+DT gruplarında marboflaksasinin (10 mg/kg, IV) EAA<sub>0-24</sub>/MİK değerleri.

<b>EAA<sub>0-24</sub>/MİK</b>			
<b>MİK (µg/mL)</b>	<b>MB</b>	<b>MB+DT</b>	<b>LPS+MB+DT</b>
0.016	2210	2215	4429
0.031	1105	1108	2215
0.063	552	554	1107
0.125	276	277	553
0.25	138	138	277
0.5	69	69	138
1	35	35	69
2	17	17	35

**Tablo 8.** MB, MB+DT ve LPS+MB+DT gruplarında marboflaksasinin (10 mg/kg, IV)  $C_{max}$ /MİK değerleri.

$C_{max}$ /MİK			
MİK ( $\mu\text{g/mL}$ )	MB	MB+DT	LPS+MB+DT
0.016	1258.20	1168.05	1723.21
0.031	629.10	584.02	861.61
0.063	314.55	292.01	430.80
0.125	157.28	146.01	215.40
0.25	78.64	73	107.70
0.5	39.32	36.50	53.85
1	19.66	18.25	26.93
2	9.83	9.13	13.46

#### 4. TARTIŞMA

Endotoksemi beşeri ve veteriner hekimlikte ciddi mortalite sebepleri arasında yer almaktadır. Endotoksemi sonucunda canlıda fizyolojik, hematolojik ve serolojik belirteçlerin değişeceği ve hastalığın seyri açısından bu değişimlerin önemli olduğu ifade edilmektedir. Endotoksemi tedavisinde rutin olarak antibiyotik, glukokortikoid ve sıvı-elektrolit tedavisi uygulanmaktadır. Uygulanan bu tedavi prosedürüne canlıların cevabının farklı olabileceği ifade edilmektedir. Bu temel farklılığın sebebi endotoksemi sonucunda değişen hemodinamik dengenin ilaçla ve/veya ilaçların kendi aralarında etkileşiminden kaynaklanabileceği ifade edilmektedir. Bu etkileşimler sonucunda ortaya çıkan farmakokinetik ve farmakodinamik değişimler, hastalarda cevabı da değiştirebilmektedir. Endotoksemik canlılarda ilaç farmakokinetiğinde değişimler gözlenebildiği bilindiğinden, hastalar üzerinde antibiyotiklerle yapılan çalışmalarda yeni dozaj rejimi önerileri bulunulabilmektedir (Er ve ark 2009, Perez ve ark 2015, Altan ve ark 2017).

Marbofloksasin sığır ve domuzlarda 2 mg/kg dozunda kullanılması onaylanmıştır (EMEA 1999). Bununla birlikte, simülasyonlar ve terapötik çalışmaların sonuçları, yeterli bir antimikrobiyal etkinlik elde etmek için 10 mg/kg dozda kullanılmasını önermektedir (Valle ve ark 2012, Lorenzutti ve ark 2017, Kacar ve ark 2018, Paulin ve ark 2018). Mevcut araştırmada koyunlara 10 mg/kg dozunda marbofloksasin uygulandı. Florokinolonlar efflux pompalarının substratları (Schrickx ve Fink-Gremmels 2007) olduğundan, önerilen dozun beş katında (10 mg/kg) marbofloksasin uygulamasında taşıyıcı doygunluğu beklenebilir. Ancak marbofloksasinin koyunlarda 2-10 mg/kg dozda (Altan ve ark 2018) ve buzağılarda 5-20 mg/kg dozda, doz ile orantılı uygun farmakokinetik profil gösterdiği belirtilmiştir (Paulin ve ark 2018).

##### 4.1. Klinik Belirtiler ve Hematolojik Parametreler

MB ve MB+DT gruplarında vücut ısısı değişmezken, LPS+MB+DT grubunda 2. ve 4. saatlerde önemli artış kayıt edildi ( $P<0.05$ , Tablo 1, Grafik 1). LPS, endojen pirojen mediyatörler (IL-1, TNF ve IL-6) ve akut faz cevabı indüklemesi sonucunda, vücut ısısında artışa sebep olduğu ve gelişen ısı artışının

ilaçların vücuttaki hareketini değiştirebileceği ifade edilmiştir (Marier ve ark 2001, Kumar ve Malik 2003, Perez ve ark 2015). Yapılan araştırmalarda endotoksinlerle indüklenen vücut ısısının, köpeklerde amoksisilin (Marier ve ark 2001), develerde danofloksasin (Al-Taher ve ark 2013), koyunlarda florfenikol (Perez ve ark 2015) ve buzağılarda oksitetrasiklin (Kumar ve Malik 2003) ile levofloksasinin (Kumar ve ark 2009) farmakokinetiklerini değiştirdiği ifade edilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda vücut ısısının ilaçların farmakokinetiği üzerine etkilerinin aynı olmadığı ifade edilmiş ve farmakokinetike değişimlerin ilacın fizikokimyasal özelliklerine, LPS'nin dozuna ve hayvan türüne göre değişebileceğini düşündürmektedir.

Mevcut araştırmada MB ve MB+DT gruplarında WBC düzeyinde istatistiki değişimler gözlenmezken, LPS+MB+DT grubunda 2. saatte en düşük düzeye ( $1.37 \cdot 10^9/L$ ), 48. saatte en yüksek düzeye ( $15.55 \cdot 10^9/L$ ) çıktığı gözlemlendi ( $P<0.05$ , Tablo 2, Grafik 2). Endotoksemi sırasında WBC düzeyinde geçici düşmelerin gözlemlendiği (Sakurai et al 2017, Zaytseva ve ark 2018) ve ilk saatlerde gözlenen düşmelerin nötrofillerde oluşan yırtılma/patlama (Sakurai ve ark 2017) veya WBC'nin dokulara geçişinden (Kvidera et al 2017), 48. saatteki yükselmenin ise LPS'nin etkisinin bitmesi ve deksametazonun kan hücreleri üzerindeki yükseltici (Çorum ve ark 2016, Er ve ark 2016) etkisinden kaynaklanabilir. MB+DT grubunda PLT sayısında geçici artış ( $P<0.05$ ) ve LPS+MB+DT grubundan HG ve HCT değerlerinde istatistiki dalgalanmalar belirlendi ( $P<0.05$ , Tablo 2). Bu gruptaki HG değerinde gözlenen değişimin koyunların hematolojik parametreleri dikkate alındığında (Bulbul 2013) minimal düzeyde olduğu gözlemlendi. Ayrıca LPS uygulaması sonrasında koyunlarda HG ve HCT düzeylerinde yükselmeler gözlemlendiği, ancak bu yükselmelerin mekanizmasının açıklanamadığı ifade edilmiştir (Yates ve ark 2011). Yapılan çalışmalarda LPS'in HG düzeyini artırırken (Oh ve ark 2017), deksametazonun ise azalttığı ifade edilmiştir (Li ve ark 2019). HG'de gözlenen artış, LPS'in akut etkisinden kaynaklanabileceği, düşüşün ise deksametazonun yarı ömrünün uzun olması ile ilişkili olarak biyolojik etkinliğin uzun süre devam etmesinden kaynaklanabileceği ifade edilebilir.

## 4.2. Biyokimyasal ve Kan Gazı Parametreleri

Biyokimyasal parametreler değerlendirildiğinde plazma laktat düzeyinde MB ve LPS+MB+DT gruplarında istatistiki dalgalanmalar belirlenirken, MB+DT grubunda 2. saatte önemli oranda düşme gözlemlendi ( $P<0.05$ , Tablo 3). MB+DT grubunda gözlenen düşme glukokortikoidlerin laktat üzerine olan düşürücü etkisinden kaynaklanabilir (Braugher ve Hall 1983). LPS uygulaması ile gelişen zayıf doku perfüzyonu, aerobik metabolizmada azalma, anaerobik glikolize hücresel dönüşüm, laktatın glukoza hepatik dönüşümünde yetersizlik gibi nedenlerden kan laktat konsantrasyonunun artabileceği bildirilmiştir (Gerros ve ark 1995, Radostis ve ark 2006). Mevcut araştırmada LPS uygulama sonrasında laktat düzeyinin istatistiki olarak yükselmemesi, LPS'nin dozundan ve/veya deksametazonun koruyucu etkisinden kaynaklanabilir.

Bu araştırmada MB grubunda glikoz düzeyinde geçici düşme belirlendi ( $P<0.05$ , Tablo 3). Bu düşüş florokinolon grubu antibiyotiklerin sülfonilüre benzeri etki yaparak hipoglisemik etkiye (El Ghandour ve Azar 2015) neden olmasından kaynaklanabilir. MB+DT grupta 1., LPS+MB+DT grubunda ise 0.5 ve 1. saatlerde glikoz düzeyinde yükselmeler ( $P<0.05$ ) gözlenirken, MB+DT grubunda son örnekleme zamanlarında (48. ve 96. saat) düşmeler olduğu belirlendi ( $P<0.05$ , Tablo 3). MB+DT grubundaki yükselme deksametazonun glikoneogenezisi uyarmasından (Kayaalp 1996) kaynaklanabilir. LPS+MB+DT grubunda glikoz seviyesindeki yükselme deksametazonun glukogenogenezisi uyarması (Kayaalp 1996) ve LPS'nin sempatik aktivasyonu ile IL-1 tarafından uyarılan hepatik glikojenin mobilizasyonunun katkı sağlamış olabileceği düşünülmektedir (Morris ve ark 1986). MB+DT grubunda son örnekleme zamanlarında gözlenen düşüş LPS+MB+DT grubunda belirlenemedi (Tablo 3), ancak bu sonuç doğrudan glikoz düzeyinin rakamsal değerleri üzerinden değerlendirildiğinde belirgin farkın olmadığı gözlemlendi.

Biyokimyasal ölçümlerde MB grubunda 72. ve 96. saatlerde BUN konsantrasyonunda artış gözlemlendi ( $P<0.05$ , Tablo 3). Florokinolon kaynaklı böbrek yetmezliklerinde BUN ve kreatinin düzeylerinde artış olabileceği ifade edilmiştir (Lomaestro 2000). MB+DT grubunda BUN düzeyinde, LPS+MB+DT grubunda GGT düzeyinde istatistiki dalgalanmalar tespit edilirken, MB+DT

grubunda 12., 24., 36., 48. ve 72. saatlerde troponin I düzeyinde düşmeler, LPS+MB+DT grubunda 8. saatte kreatinin ile 8. ve 12. saatlerde BUN düzeyinde yükselmeler gözlemlendi ( $P<0.05$ , Tablo 3). Marbofloksasin uygulaması troponin I üzerinde önemli bir etkiye neden olmazken (Coşkun ve ark 2019), glukokortikoid uygulamasının troponin I düzeyini azaltabileceği ifade edilmiştir (Norwood ve ark 2017). Yapılan benzer çalışmalarda BUN ve kreatinin düzeyinin arttığı (Chen ve ark 2015, Li ve ark 2019) ve bu artışın LPS uygulanmasını takiben 12 saat sonra belirgin olduğu ifade edilmiştir (Chen ve ark 2015). BUN ve kreatinin düzeylerindeki artışın NF-kB yoluyla üretilen IL-6 ve TNF $\alpha$  ile ilişkili olduğu ve deksametazon ile bu artışın önemli ölçüde azaltılabileceği ifade edilmiştir (Chen ve ark 2015). Ancak yapılan başka bir araştırmada deksametazonun, LPS kaynaklı BUN ve kreatinin düzeyindeki artış üzerine bir etkisi olmadığı ve etkisini göstermemesi nedeniyle deneysel faktörler ve/veya tür farklılıkları ile ilgili olabileceği belirtilmiştir (Li ve ark 2019).

Kan gazı parametreleri değerlendirildiğinde MB grubunda  $pCO_2$ , Base(ecf) ve  $HCO_3^-$  düzeylerinde istatistiksel dalgalanmalar, pH düzeyinin 1. saatte,  $iCa$  düzeyinde 8. saatte en yüksek düzeylere,  $Na^+$  seviyesinin ise 48. saatte en düşük düzeylere düştüğü belirlendi ( $P<0.05$ , Tablo 4). MB+DT grubunda  $pCO_2$ , Base(ecf) ve  $iCa$  düzeylerinde istatistiksel dalgalanmalar belirlenirken, pH ve  $HCO_3^-$  düzeylerinde 24. saatte,  $Na^+$  düzeyinde 36. saatte en yüksek seviyeler belirlenirken,  $K^+$  düzeyi 12. saatte en düşük düzeyde belirlendi ( $P<0.05$ , Tablo 4). LPS+MB+DT grubunda  $sO_2$  ve  $Na^+$  değerlerinde istatistiksel dalgalanmalar belirlenirken, pH, base(ecf) ile  $HCO_3^-$  düzeylerinin 24., 36. ve 48. saatlerde en yüksek düzeylere çıktığı,  $K^+$  düzeyinin 1. saatte,  $iCa$  düzeyi 24. saatte ve  $Cl^-$  düzeyi 36. saatte en düşük düzeye düştüğü belirlendi ( $P<0.05$ , Tablo 4). Florokinolon grubu antibiyotiklerin kan gazı parametrelerini değiştirebileceği bildirilmiştir (Traş ve ark 2001). LPS ile gerçekleştirilen modellerde genellikle kan pH düzeyinde düşmeler gözlenirken (Effenberger-Neidnicht ve ark 2019), bu araştırmada pH düzeyinde düşme yerine DT uygulanan her iki grupta 24. saatlerde pH düzeyinde yükselmeler gözlemlendi ( $P<0.05$ , Tablo 4). Bu sonucun nedeni olarak araştırmada kullanılan LPS dozunun septik şoka neden olmadan endotoksemi oluşturacak dozda uygulanmasından (Fernandez-Bustamante ve ark 2012, Chalmeh ve ark 2013a, 2013b) ve deksametazon ile birlikte ringer laktat

kullanımından kaynaklanmış olabileceği düşünöldü. Çünkü glukokortikoidlerin böbreklerden  $\text{HCO}_3^-$  atılımını azaltarak geri emilimini artırdığı,  $\text{K}^+$  ile  $\text{H}^+$  atılımını hızlandırdığı ve ringer laktatın ise uygulama sonrasında canlıda bikarbonata dönüştüğü bilinmektedir (Chernow ve ark 1984, Ali ve ark 2000, Sharkey ve ark 2007). Bunun yanısıra LPS+MB+DT grubunda pH'daki yükselmenin nedeni olarak LPS'in gastrointestinal disfonksiyon, dismotilite ve stazise neden olması (Buchholz ve ark 2009, Sakata ve ark 2017), hipokloremik, hipokalemik metabolik alkalozu sebep olarak sindirim kanalından  $\text{Cl}^-$  ve  $\text{K}^+$  tutulması (Radostis ve ark 2006) sonucunda böbrek üstü bezinden endojen glikokortikoid salgılanmasını uyararak (Hadfield ve ark 2018, Li ve ark 2018) deksametazonun etkisini potansiyalize etmesinden kaynaklanabileceği düşünölmektedir.

### 4.3. Farmakokinetik Parametreler

Bu araştırmanın sonuçları Tablo 5 'te sunuldu. MB, MB+DT ve LPS+MB+DT gruplarında marbofloksasinin  $V_{\text{dss}}$  düzeyinde istatistiki değişim gözlenmedi (Tablo 5). Marbofloksasin plazma proteinlerine düşük oranda (%7-30) bağlanır (Anonim 2019, Singh ve ark 2019) ve koyunlarda ortalama plazma proteinlerine bağlanma oranı %19'dur (Munawar ve ark 2017). Marbofloksasinin plazma proteinlerine bağlanma oranı konsantrasyon artışına bağlı olarak koyunda artarken, sığırlarda değişmediği ifade edilmiştir (Munawar ve ark 2017, Singh ve ark 2019). Endotoksemi ve neden olduğu ateş canlıda membran permabilitesi ve hemodinamik parametrelerde (sistemik vasküler basınç, santral venöz basınç ve kalp debisinde azalma) değişikliklere, hipoalbuminemi ve albümindeki bağlanma noktalarında azalmaya neden olur (Salam Abdullah ve Baggot 1986, Nadai ve ark 1993, Varghese ve ark 2011). *E.coli* endotoksini uygulanan keçilerde marbofloksasinin (Waxman ve ark 2003), tavşanlarda ise enrofloksasinin (Elmas ve ark 2006)  $V_{\text{dss}}$ 'nin azaldığı bildirilmiştir. Sıvı tedavisi ve deksametazon uygulaması endotoksemi sırasında gelişen hemodinamik değişiklikler ve membran permabilitesi üzerine olumlu etkileri düşünöldüğünde (Ferguson ve ark 2009, Akyüz ve ark 2016), bu araştırmada LPS+MB+DT grubunda marbofloksasinin  $V_{\text{dss}}$ 'nin değişmemesinin nedeni marbofloksasinin plazma proteinlerine düşük oranda bağlanması ve/veya deksametazon ve sıvı tedavisinin permabilite ve hemodinamik parametreler üzerine olumlu etkisinden

kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca bu çalışmada MB+DT ve LPS+MB+DT gruplarına yaklaşık bir saat içinde 20 mL/kg dozunda kristalloid sıvı infüzyon yoluyla uygulandı. Sıvı tedavisinin infüzyon süresi kısa uygulanmış olması hacim genişlemesi üzerinde kısa süreli bir etkiye (Malbrain ve ark 2018) neden olabilir ve bu yüzden MB+DT grubunda marbofloksasinin farmakokinetiğinin değiştirmeyebilir.

Koyunlarda marbofloksasinin plazma proteinine bağlanma oranının konsantrasyona bağımlı olduğu ve 0.1-10 µg/mL'lik plazma konsantrasyonu aralığında %14-24 arasında plazma proteinlerine bağlandığı ifade edilmiştir (Munawar ve ark 2017). Bu çalışmada, tüm gruplarda ilk örnekleme süresinde (5 dakika) ortalama marbofloksasin konsantrasyonu 18.25-26.93 µg/mL arasında değişmektedir ve bu konsantrasyon aralığında plazma proteinine marbofloksasinin bağlanma derecesini artırabileceğini düşündürmektedir. Bu araştırmada marbofloksasinin doku dağılımını gösteren  $V_{dss}$  tüm gruplarda benzer bulundu (Tablo 5). Bununla birlikte, endotoksemik koyunlarda DT uygulamasının eşzamanlı yapılması takiben eliminasyonun azalmasına bağlı olarak marbofloksasinin plazma konsantrasyonunda artış gözlenmekte ve plazma proteinlerine yüksek bağlanma derecesi nedeniyle azalan doku dağılımını telafi edebileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, endotoksemik koyunlarda DT'nin eşzamanlı uygulanmasını takiben doku düzeyinde marbofloksasinin antimikrobiyal aktivitesinde azalma görülmeyebilir.

Bu araştırmada marbofloksasinin  $Cl_T$ 'i, DT uygulamasından etkilemezken, LPS+DT uygulamasını takiben önemli oranda (%52) azaldığı belirlendi ( $P < 0.05$ , Tablo 5). Marbofloksasin karaciğerde çok sınırlı oranda (%10-15) metabolize olur ve %70'den fazlası değişmeden glomerüler filtrasyon ve tubuler salgılanma ile böbrekten atılır (Munawar ve ark 2017, Anonim 2019). Düşük hepatik ekstrasyon oranına sahip ilaçların karaciğer kan akımındaki değişikliklerden çok etkilenmediği belirtilmiştir (Yang ve Lee 2008). Bu nedenle düşük oranda metabolize olan ve çoğunlukla böbrekten atılan marbofloksasinin  $Cl_T$ 'in değişmesi, doğrudan böbrek fonksiyonları ile ilişkilendirilebilir. Endotoksemi böbrekte kan akımında ve glomerular filtrasyon oranında azalmaya ve glomerular kapiller ve tubuler hücrelerde hasara yol açar (Yang ve Lee 2008, Varghese ve ark 2011). LPS+DT uygulaması sonrası marbofloksasinin  $Cl_T$ 'nin azalmasının nedeni

endotoksemiye bağılı gelişen böbrek hasarından kaynaklı olabilir. Mevcut araştırma ile paralel olarak deneysel böbrek hasarı oluşturulan köpeklerde marbofloksasinin  $Cl_T$ 'inin azaldığı bildirilmiştir (Lefebvre ve ark 1998). Keçilerde *E. coli* endotoksini (1  $\mu\text{g/mL}$ ) ile indüklenen ateş marbofloksasinin  $Cl_T$ 'i %46 azalmıştır (Waxman ve ark 2003). Endotoksemi tedavisinde deksametazon ve sıvı tedavisi önerilmektedir (Er ve ark 2009, Semler ve ark 2016). Domuzlarda LPS uygulamasının enrofloksanin  $Cl_T$ 'ni azalttığı, LPS uygulaması öncesi ve sonrası 3 defa deksametazon uygulamasının ise  $Cl_T$ 'i normale döndürdüğü bildirilmiştir (Post ve ark 2003). *E. coli* endotoksini uygulamasını takiben hızla vücuda dağılır ve 30 dakika içinde böbrek kan akımı ve glomerüler filtrasyon oranında azalma görülür (Hasegawa ve ark 1999). Bu çalışmada deksametazon ve sıvı tedavisi, LPS uygulamasından 30 dakika sonra yapıldı. Deksametazonun LPS kaynaklı böbrek hasarlarını azaltmasına karşın normal sağlıklıya göre belirgin farklılıklar olduğu belirtilmiştir (Tsao ve ark 2004, Du ve ark 2014). Bazı çalışmalarda da endotoksemide sıvı tedavisinin böbrekler üzerine belirgin etkisinin olmayacağı ifade edilmiştir (Cambier ve ark 1997). Bu çalışmada LPS+MB+DT grubunda DT uygulamasına rağmen marbofloksasinin  $Cl_T$ 'nin MB grubuna göre düşük olmasının nedeni, LPS'nin böbrek hasarına neden olması, DT'nin LPS'den sonra verilmesinden ve/veya deksametazonun tek doz verilmesine bağılı olarak böbrek hasarının önleyememesinden kaynaklanabilir. Bu çalışmada LPS+DT grubunda marbofloksasinin  $t_{1/2\text{Kz}}\text{'si}$  2.87 saatten 4.64 saate uzamasının nedeni marbofloksasinin atılımının azalmasından kaynaklı olabilir.

LPS+MB+DT grubunda marbofloksasinin  $EAA_{0-\infty}$  düzeyi, MB ve MB+DT grubuna göre önemli oranda yüksek belirlendi ( $P<0.05$ , Tablo 5). MB, MB+DT ve LPS+MB+DT gruplarında marbofloksasin sırasıyla 24., 24. ve 36. saatlere kadar tespit edildi (Grafik 3). MB, MB+DT ve LPS+MB+DT gruplarında marbofloksasinin ilk örnekleme zamanındaki (5. dk) konsantrasyonları sırasıyla  $19.66\pm 2.43$ ,  $18.25\pm 2.32$  ve  $26.93\pm 6.23$  saat\* $\mu\text{g/mL}$  iken son örnekleme zamanındaki konsantrasyonlar sırasıyla  $0.05\pm 0.00$  (24. saat),  $0.05\pm 0.01$  (24. saat) ve  $0.07\pm 0.01$  (36. saat) saat\* $\mu\text{g/mL}$  olarak belirlendi. Bu çalışmada LPS+MB+DT grubunda marbofloksasinin  $EAA_{0-\infty}$ 'sinin artması, plazma konsantrasyonlarından ve plazma konsantrasyon zaman eğrisinin değişmesinden kaynaklanabilir. Daha önce yapılan çalışmalarda LPS ile indüklenen

endotokseminin ilaçların EAA'sinde artışa neden olduğu bildirilmiştir (Waxman ve ark 2003, Elmas ve ark 2006, Altan ve ark 2017).

#### 4.4. Farmakodinamik Parametreler

*E. coli*, *Klebsiella* spp., *M. haemolytica*, *P. multocida*, *Salmonella* spp. ve *S. aureus* koyunlarda septisemi ve/veya endotoksemiye neden olan bakteriyel etkenlerdir. Ayrıca diyare, enteritis, mastitis, pnömoni, menenjit, artrit, sinovitis, abortus, osteomyelitis, otitis media gibi enfeksiyonlara neden olurlar (Constable ve ark 2016). Marbofloksasinin MİK değeri koyunlardan izole edilen *M. haemolytica* için bildirilmesine rağmen *E. coli*, *Klebsiella* spp., *P. multocida*, *Salmonella* spp. ve *S. aureus* için belirtilmemiştir. Koyunlardan izole edilen *Klebsiella* spp., *P. multocida*, *Salmonella* spp. ve *S. aureus* suşları için belirlenen MİK değerleri marbofloksasinin duyarlılık kırılma noktası (susceptible breakpoint)  $\leq 1$   $\mu\text{g/mL}$  (Nedbalcova ve ark 2019) düzeyinin altında belirlendi (Tablo 6). *E. coli* suşlarından 4 (n:7)'ü ve *M. haemolytica* suşlarından 7 (n:15)'si marbofloksasinin duyarlılık kırılma noktasının üstünde tespit edildi (Tablo 6). Sığırlardan izole edilen *E. coli* suşlarından 11 (n:617)'i ve *M. haemolytica* suşlarından 9 (n:514)'unda marbofloksasinin duyarlılık kırılma noktasının üstünde olduğu bildirilmiştir (Kroemer ve ark 2012). Bu araştırmada marbofloksasinin MİK değerleri *E. coli* için 0.031–16 <  $\mu\text{g/mL}$ , *M. haemolytica* için 0.016–16 <  $\mu\text{g/mL}$ , *P. multocida* için 0.016–1  $\mu\text{g/mL}$ , *K. pneumoniae* için 0.016–0.25  $\mu\text{g/mL}$ , *Salmonella* spp. için 0.031–0.063  $\mu\text{g/mL}$  ve *S. aureus* için 0.031–1  $\mu\text{g/mL}$  arasında belirlendi (Tablo 6). Yapılan çalışmada koyunlardan izole edilen *M. haemolytica* için marbofloksasinin MİK değeri 0.035  $\mu\text{g/mL}$  olarak rapor edilmiştir (Sidhu ve ark 2010). Marbofloksasinin MİK değeri sığırlardan izole edilen *E. coli* için 0.008–32  $\mu\text{g/mL}$ , *M. haemolytica* için 0.008–8  $\mu\text{g/mL}$ , *P. multocida* için 0.004–2  $\mu\text{g/mL}$  ve *S. aureus* için 0.006–32  $\mu\text{g/mL}$  arasında olduğu bildirilmiştir (Kroemer ve ark 2012). Koyun ve sığırdaki yapılan araştırmalarda tespit edilen MİK değerleri bu araştırmada bulunan MİK değerleri ile büyük oranda benzerlik göstermektedir.

Marbofloksasin gibi konsantrasyona bağlı etki gösteren antibiyotiklerin antibakteriyel etkinliklerini değerlendirmek için  $\text{EAA}_{0-24}/\text{MİK}$  ve  $\text{C}_{\text{max}}/\text{MİK}$  oranları kullanılır. Tedavide maksimum etkinlik ve minimum direnç gelişimi için

gram negatif ve gram pozitif bakteriler için  $EAA_{0-24}/MİK$  değeri sırasıyla  $\geq 125$  ve  $\geq 60$  ve  $C_{max}/MİK$  değerinin  $\geq 10$  olması istenir. Bu değerlerin sağlanması ile klinik başarının  $>80\%$  olduğu ifade edilmiştir (McKellar ve ark 2004, Toutain and Lees 2004, Lees ve ark 2006). Bu çalışmada MB, MB+DT ve LPS+MB+DT grupları için sırasıyla  $EAA_{0-24}/MİK$  oranları  $\geq 125$  olması istendiği ( $EAA_{0-24}/125=MİK$ ) düşünüldüğünde  $34.53/125=0.28$ ,  $34.61/125=0.28$  ve  $69.21/125 \leq 0.55$  MİK değerine sahip gram negatif bakteriler (*E. coli*, *M. haemolytica*, *P. multocida*, *K. pneumoniae*, *Salmonella* spp. vb.) ile  $EAA_{0-24}/MİK$  oranları 60 olması istendiği ( $EAA_{0-24}/60=MİK$ ) düşünüldüğünde  $34.53/60=0.58$ ,  $34.61/60=0.58$  ve  $69.21/60=1.15$  MİK değerine sahip gram pozitif (*S. aureus*) bakterilere etkili olduğu belirlendi. Ayrıca bütün gruplarda  $C_{max}/MİK$  değeri  $\geq 10$  olarak belirlendi.  $EAA_{0-24}/MİK$  ve  $C_{max}/MİK$  değerleri birlikte değerlendirildiğinde sağlıklı ve destek tedavi gruplarında yeterli olmayan marbofloksasin dozu, enfeksiyöz durumda yeterli olduğu anlaşılmaktadır.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak endotoksemi tedavisinde uygulanan destek tedavi protokolünün sağlıklı koyunlarda marbofloksasin için elde edilen farmakokinetik parametrelere etkisinin olmadığı, ancak endotoksemi durumunda marbofloksasinin farmakokinetik parametrelerinin (yarı ömründe uzama, eğrinin altında kalan alan ile maksimum plazma konsantrasyonunda yükselme, klerenste düşme) değişebileceği ifade edilebilir. Koyunlarda marbofloksasinin 10 mg/kg (IV) dozunun antibakteriyel etkinliği  $EAA_{0-24}/MİK$  ile  $C_{max}/MİK$  değerleri üzerinden düşünüldüğünde, Gram pozitif bakterilerle enfeksiyonların tedavisinde yeterli olabileceği düşünülürken, Gram negatif bakterilerle enfeksiyonların tedavisinde yeterli olmayabileceği ifade edilebilir. Mevcut araştırmanın sonuçları marbofloksasine ait farmakokinetik parametrelerin sağlıklı ve hasta hayvanlarda değişebileceğini, dolayısı ile klinik etkinliğinde de farklılıklar olabileceğini göstermektedir.

## **TEŐEKKÜR**

Bu araştırma (2017 ÖYP-008) tarafından desteklenmiştir. Çalışma özeti sözlü sunum olarak 20-22 Eylül 2019, İstanbul, Türkiye, Uluslararası VETEXPO2019 Uluslararası Veteriner Bilimleri Kongresi'nde sunuldu ve bildiri kitabında basıldı.



## 6. KAYNAKLAR

- Akyüz E, Coşkun A, Şen I, 2016. The effects of fluid resuscitation on the hemodynamic parameters of experimental induced endotoxemia in the neonatal calves. *Eurasian J Vet Sci*, 32, 246-254.
- Ali R, Amlal H, Burnham CE, Soleimani M, 2000. Glucocorticoids enhance the expression of the basolateral Na<sup>+</sup>: HCO<sub>3</sub>-cotransporter in renal proximal tubules. *Kidney Int*, 57(3), 1063-1071.
- Altan F, Corum O, Corum DD, Atik O, Uney K. 2018. Pharmacokinetics and bioavailability of marbofloxacin in lambs following administration of intravenous, intramuscular and subcutaneous. *Small Ruminant Res*, 159, 5-10.
- Altan F, Corum O, Corum DD, Altan S, Uney K, 2019. Pharmacokinetics of marbofloxacin following intramuscular administration at different doses in sheep. *Small Ruminant Res*, 174, 88-91.
- Altan F, Uney K, Er A, Cetin G, Dik B, Yazar E, Elmas M, 2017. Pharmacokinetics of ceftiofur in healthy and lipopolysaccharide-induced endotoxemic newborn calves treated with single and combined therapy. *J Vet Med Sci*, 79, 1245-1252.
- Al-Taher AY. (2013). Pharmacokinetics profile of danofloxacin in febrile camels with E. coli endotoxemia. *J Camel Pract Res*, 20(1), 1-6.
- Anonim, 2019. [https://www.zoetisus.com/\\_locale-assets/cat/products/zeniquin/asset/zeniquin-marketing-package-insert.pdf](https://www.zoetisus.com/_locale-assets/cat/products/zeniquin/asset/zeniquin-marketing-package-insert.pdf). Erişim tarihi: 08 Nov 2019.
- Basu S, Eriksson M, 1998. Oxidative injury and survival during endotoxemia. *Febs Lett*, 438(3), 159-160.
- Bentley AP, Barton MH, Lee MD, Norton NA, Moore JN, 2002. Antimicrobial-induced endotoxin and cytokine activity in an in vitro model of septicemia in foals. *Am J Vet Res*. 63(5), 660-668.
- Beutler B, Milsark IW, Cerami AC, 1985. Passive immunization against cachectin/tumor necrosis factor protects mice from lethal effect of endotoxin. *Science*. 229(4716), 869-871.
- Bochud PY and Calandra T. (2003). Pathogenesis of sepsis: new concepts and implications for future treatment. *Bmj*. 326(7383), 262-266.
- Braughler JM, Hall ED, 1983. Lactate and pyruvate metabolism in injured cat spinal cord before and after a single large intravenous dose of methylprednisolone. *Journal of neurosurgery*, 59(2), 256-261.
- Brigham KL, 1985. Pulmonary dysfunction caused by diffuse lung inflammation. Roles of metabolites of arachidonic acid. *Prog Biochem Pharmacol*, 20, 26-37.
- Brigham KL, Meyrick B, 1986. Endotoxin and lung injury. *Am Rev Respir Dis*, 133(5), 913-927.
- Brown RM, Semler MW, 2019. Fluid management in sepsis. *Intens Care Med*. 34, 364-373.
- Buchholz BM, Chanthaphavong RS, Bauer AJ, 2009. Nonhemopoietic cell TLR4 signaling is critical in causing early lipopolysaccharide-induced ileus. *J Immunol*, 183(10), 6744-6753.
- Bulbul A, 2013. Normal hematological values, in: *Sheep & Goat Hand Book*, Ed: Elmas M, Billur Press, Konya, Turkey, pp: 509-515.
- Brackett DJ, Lerner MR, Wilson MF, 1991. Dimethyl sulfoxide antagonizes hypotensive, metabolic, and pathologic responses induced by endotoxin. *Circ Shock*, 33(3), 156-163.
- Cambier C, Ratz V, Rollin F, Frans A, Clerboux T, Gustin P, 1997. The effects of hypertonic saline in healthy and diseased animals. *Veterinary Research Communications*, 21, 303-316.
- Casey LC, Balk RA, Bone RC, 1993. Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with the sepsis syndrome. *Ann Intern Med*. 119(8), 771-778.
- Castro-Costa A, Caja G, Salama AAK, Rovai M, Flores C, Aguiló J, 2014. Thermographic variation of the udder of dairy ewes in early lactation and following an *Escherichia coli* endotoxin intramammary challenge in late lactation. *J Dairy Sci*. 97(3), 1377-1387.

- Chalmeh A, Badiei K, Pourjafar M and Nazifi S, 2013a. Modulation of inflammatory responses following insulin therapy in experimentally bolus intravenous *Escherichia coli* lipopolysaccharide serotype O55: B5 induced endotoxemia in Iranian fat-tailed sheep. *Small Ruminant Res*, 113(1), 283-289.
- Chalmeh A, Badiei K, Pourjafar M, Nazifi S, 2013b. Anti-inflammatory effects of insulin regular and flunixin meglumine on endotoxemia experimentally induced by *Escherichia coli* serotype O55: B5 in an ovine model. *Inflamm Res*, 62(1), 61-67.
- Chalmeh A, Shahraki AR, Heidari SMM, Badiei K, Pourjafar M, Nazifi S, Zamiri MJ, 2016. The comparative efficacy of tyloxapol versus pentoxifylline against induced acute phase response in an ovine experimental endotoxemia model. *Inflammopharmacol*, 24(1), 59-64.
- Chen Y, Du Y, Li Y, Wang X, Gao P, Yang G, Fang Y, Meng Y, Zhao X, 2015. Panaxadiol saponin and dexamethasone improve renal function in lipopolysaccharide-induced mouse model of acute kidney injury. *PLOS one*, 10(7), e0134653.
- Chernow BART, Vernoski BK, Zaloga GP, Cook DAVID, DD'Angona J, Van MN, Casey LC, Fletcher JR, 1984. Dexamethasone causes less steroid-induced alkalemia than methylprednisolone or hydrocortisone. *Crit Care Med*, 12(4), 384-386.
- Cook JA. (2005). Eicosanoids. *Crit Care Med*, 33(12), S488-S491.
- Corum O, Dik B, Er A, 2016. Effect of single dose dexamethasone (0.1 mg/kg) on white blood cell counts and serum glucose levels in healthy ewes. *Eurasian J Vet Sci*, 32(3), 174-177.
- Corum O, Terzi E, Corum DD, Kenanoglu ON, Bilen S, Uney K, 2020. Pharmacokinetic/pharmacodynamic integration of marbofloxacin after oral and intravenous administration in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 514, 734510.
- Constable PD, Hinchcliff KW, Done SH, Grünberg W, 2016. *Veterinary medicine-e-book: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. Elsevier Health Sciences.
- Coskun A, Sen I, 2012. Acute phase response and clinical changes in calves with lipopolysaccharide induced endotoxemia. *Eurasian J Vet Sci*. 28(1), 21-26.
- Coskun D, Dik B, Korkmaz Y, Canbar R, Er A, 2019. Investigation of cardiotoxic effects of marbofloxacin. *Eurasian J Vet Sci*, 35(2), 56-61.
- Daniel JA, Whitlock BK, Wagner CG, Sartin JL, 2002. Regulation of the growth hormone and luteinizing hormone response to endotoxin in sheep. *Domest Anim Endocrin*. 23(1-2), 361-370.
- Debets JM, Kampmeijer RENÉ, Buurman WA, 1989. Plasma tumor necrosis factor and mortality in critically ill septic patients. *Crit Care Med*. 17(6), 489-494.
- De Backer D, Donadello K, Sakr Y, Ospina-Tascon G, Salgado D, Scolletta S and Vincent JL, 2013. Microcirculatory alterations in patients with severe sepsis: impact of time of assessment and relationship with outcome. *Crit Care Med*. 41(3), 791-799.
- Du Y, Meng Y, Lv X, Guo L, Wang X, Su Z, Li L, Li N, Zhao S, Zhao L, Zhao X, 2014. Dexamethasone attenuates LPS-induced changes in expression of urea transporter and aquaporin proteins, ameliorating brain endotoxemia in mice. *Int J Clin Exp Pathol*, 7, 8443-8452.
- Eades SC, Moore JN, 1993. Blockade of endotoxin-induced cecal hypoperfusion and ileus with an alpha 2 antagonist in horses. *Am J Vet Res*. 54(4), 586-590.
- Effenberger-Neidnicht K, Brauckmann S, Jägers J, Patyk V, Waack IN and Kirsch M. (2019). Protective effects of sodium pyruvate during systemic inflammation limited to the correction of metabolic acidosis. *Inflammation*, 42(2), 598-605.
- Elmas M, Yazar E, Uney K, Er A, 2006. Influence of *Escherichia coli* endotoxin-induced endotoxaemia on the pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous administration in rabbits. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, 53, 410-414.
- EMA 1999, EMA/MRL/693/99-FINAL, [https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/marbofloxacin-summary-report-2-committee-veterinary-medicinal-products\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/marbofloxacin-summary-report-2-committee-veterinary-medicinal-products_en.pdf)

- El Ghandour S, Azar ST, 2015. Dysglycemia associated with quinolones. PRIM CARE DIABETES, 9(3), 168-171.
- Er A, Altan F, Cetin G, Uney K, Tras B, Elmas M, 2010. Effects of enrofloxacin, flunixin and dexamethasone on indicators of oxidative and organ damage in lipopolysaccharide-induced endotoxemia. J Anm Vet Adv. 9(10), 1495-1500.
- Er A, Corum O, Eser H, Bahçivan E, Dik B, Yazar E. 2016. Koçlara deksametazon uygulamasının kan oksidatif durum ve prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  metaboliti düzeyine etkisi. Eurasian J Vet Sci,32(2), 89-93.
- Er A, Uney K, Altan F, Cetin G, Elmas M, 2009. Effects of different doses of dexamethasone plus flunixin meglumine on survival rate in lethal endotoxemia. Acta Vet-Beograd, 59(1).
- Fan H and Cook JA. (2004). Molecular mechanisms of endotoxin tolerance. J Endotoxin Res. 10(2), 71-84.
- Ferguson DC, Dirikolu L, Hoenig M, 2009. Glucocorticoids. Mineralocorticoids. And Adrenolytic Drugs. In Riviere, J.E. Papich, M.G. Veterinary Pharmacology and Therapeutics. Ninth edition. Wiley Blackwell. Iowa. USA. pp: 771-803.
- Fernandez-Bustamante A, Easley RB, Fuld M, Mulreany D, Chon D, Lewis JF, Simon BA. 2012. Regional pulmonary inflammation in an endotoxemic ovine acute lung injury model. RESP PHYSIOL NEUROBI, 183, 149-158.
- Flynn A, Mani BC, Mather PJ, 2010. Sepsis-induced cardiomyopathy: a review of pathophysiologic mechanisms. Heart Fail Rev. 15(6), 605-611.
- Foley GL, Schlafer DH, 1994. Bacterial endotoxemia and reproductive effects in ruminants. Vet Clin N Am-Food A. 10(3), 491-501.
- Frauenfelder HC, Fessler JF, Moore AB, Bottoms GD, Boon GD. 1982. Effects of dexamethasone on endotoxin shock in the anesthetized pony: hematologic, blood gas, and coagulation changes. Am J Vet Res. 43(3), 405-411.
- Garami A, Steiner AA, Romanovsky AA. Fever and hypothermia in systemic inflammation. In Handbook of clinical neurology (Vol. 157, pp. 565-597). Elsevier. 2018.
- Gerros TC, Semrad SD, Proctor RA, 1995. Alterations in clinical, hematological and metabolic variables in bovine neonatal endotoxemia. Can J Vet Res. 59(1), 34.
- Glaros TG, Chang S, Gilliam EA, Maitra U, Deng H, Li L, 2013. Causes and consequences of low grade endotoxemia and inflammatory diseases. Front Biosci (Schol Ed). 5, 754-765.
- Greisman SE, Hornick RB, 1973. Mechanisms of endotoxin tolerance with special reference to man. J Infect Dis, 128, S265-S276.
- Hadfield JM, Bowdridge EC, Holásková I, Elsasser TH, Dailey RA, 2018. Breed-specific differences in the immune response to lipopolysaccharide in ewes. J Anim Sci. 96(10), 4220-4228.
- Hasegawa T, Takagi K, Kitaichi K, 1999. Effects of bacterial endotoxin on drug pharmacokinetics. Nagoya J Med Sci. 62(1-2), 11-28.
- Heled Y, Fleischmann C, Epstein Y, 2013. Cytokines and their role in hyperthermia and heat stroke. J Basic Clin Physiol Pharmacol, 24(2), 85-96.
- Highlander SK, Fedorova ND, Dusek DM, Panciera R, Alvarez LE, Rinehart C, 2000. Inactivation of Pasteurella (Mannheimia) haemolytica leukotoxin causes partial attenuation of virulence in a calf challenge model. Infect Immun. 68: 3916-22.
- Hillman NH, Pillow JJ, Ball MK, Polglase GR, Kallapur SG, Jobe AH, 2009. Antenatal and postnatal corticosteroid and resuscitation induced lung injury in preterm sheep. Resp Res. 10, 124.
- Johansen ME, 2015. Hemostasis and endothelial damage during sepsis. Dan Med J. 62(8), B5135-B5135.

- Johnson JOYCE, Meyrick BARBARA, Jesmok GARY, Brigham KL, 1989. Human recombinant tumor necrosis factor alpha infusion mimics endotoxemia in awake sheep. *J Appl Physiol*, 66(3), 1448-1454.
- Kacar Y, Batmaz H, Yilmaz OE, Mecitoglu Z, 2018. Comparing clinical effects of marbofloxacin and gamithromycin in goat kids with pneumonia. *J S Afr Vet Assoc*, 89, 1-5.
- Kayaalp O (1996). *Tibbi Farmakoloji*. Hacettepe Taş Kitapçılık. ISBN:975-7731-23-4. Ankara.
- Kelmer G, 2009. Update on treatments for endotoxemia. *Vet clin N Am-Equine*. 25(2), 259-270.
- Kim JM, OH YK, KIM YJ, Youn J, AHN M J, 2004. Escherichia coli up-regulates proinflammatory cytokine expression in granulocyte/macrophage lineages of CD34+ stem cells via p50 homodimeric NF- $\kappa$ B. *Clin Exp Immunol*, 137(2), 341-350.
- Kitchens RL, Thompson PA, 2005. Modulatory effects of sCD14 and LBP on LPS-host cell interactions. *J Endotoxin Res*. 11(4), 225-229.
- Kuhl SJ, Rosen H, 1998. Nitric oxide and septic shock. From bench to bedside. *Wes J Med*, 168(3), 176.
- Kumar R, Malik JK, 2003. Influence of endotoxin on the disposition kinetics and dosage regimens of oxytetracycline in calves. *J Vet Pharmacol Ther*. 26(3), 159-164.
- Kumar S, Kumar S, Kumar V, Singh KK, Roy BK, 2009. Pharmacokinetic studies of levofloxacin after oral administration in healthy and febrile cow calves. *Vet Res Commun*, 33(8), 887.
- Kreimeier U, Brueckner UB, Gerspach S, Veitinger K, Messmer K, 1993. A porcine model of hyperdynamic endotoxemia: pattern of respiratory, macrocirculatory, and regional blood flow changes. *J Invest Surg*, 6(2), 143-156.
- Kroemer S, Galland D, Guérin-Faubleé V, Giboin H, Woehrlé-Fontaine F, 2011. Survey of marbofloxacin susceptibility of bacteria isolated from cattle with respiratory disease and mastitis in Europe. *Vet Rec*, 170, 53.
- Kvidera SK, Horst EA, Abuajamieh M, Mayorga EJ, Fernandez MS, Baumgard LH, 2017. Glucose requirements of an activated immune system in lactating Holstein cows. *J Dairy Sci*. 100(3), 2360-2374.
- Lambert GP, 2009. Stress-induced gastrointestinal barrier dysfunction and its inflammatory effects. *J Anim Sci*, 87, E101-E108.
- Lee SJ, Park NH, Mechesso AF, Lee KJ, Park SC, 2017. The phenotypic and molecular resistance induced by a single-exposure to sub-mutant prevention concentration of marbofloxacin in Salmonella Typhimurium isolates from swine. *Vet Microbiol*. 207, 29-35.
- Lees P, Concordet D, Aliabadi FS, Toutain PL, 2006. Drug selection and optimization of dosage schedules to minimize antimicrobial resistance, Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin. American Society of Microbiology. 49-72.
- Lefebvre HP, Dupouy V, Schneider M, Laroute V, Toutain PL, 1998. Pharmacokinetics of marbofloxacin in renal impairment in the dog. *Vet Quart*, 20, 104.
- Levi M, Van der Poll T, Ten Cate H, Van Deventer SJH, 1997. The cytokine-mediated imbalance between coagulant and anticoagulant mechanisms in sepsis and endotoxaemia. *Eur J Clin Invest*. 27(1), 3-9.
- Li R, Song Z, Zhao J, Huo D, Fan Z, Hou DX, He X, 2018. Dietary L-theanine alleviated lipopolysaccharide-induced immunological stress in yellow-feathered broilers. *Animal nutrition*. 4(3), 265-272.
- Li Z, Kanitz E, Tuchscherer M, Tuchscherer A, Metges CC, Trakooljul N, Wimmers K, Murani E, 2019. Kinetics of Physiological and Behavioural Responses in Endotoxemic Pigs with or without Dexamethasone Treatment. *Int J Mol Sci*. 20(6), 1393.
- Lohuis JAC, Verheijden JHM, Burvenich C, Van Miert ASJPAM, 1988. Pathophysiological effects of endotoxins in ruminants: 2. Metabolic aspects. *Vet Quart*, 10(2), 117-125.
- Lomaestro BM, 2000. Fluoroquinolone-induced renal failure. *Drug Safety*, 22(6), 479-485.

- Lorenzutti AM, Litterio NJ, Himelfarb MA, Zarazaga MDP, San Andres MI, De Lucas JJ. 2017. Pharmacokinetics, milk penetration and PK/PD analysis by Monte Carlo simulation of marbofloxacin, after intravenous and intramuscular administration to lactating goats. *J Vet Pharmacol Ther.* 40(6), 629-640.
- Malbrain MLNG, Van Regenmortel N, Saugel B, De Tavernier B, Van Gaal P J, Joannes-Boyau O, ... and Monnet X, 2018. Principles of fluid management and stewardship in septic shock: it is time to consider the four D's and the four phases of fluid therapy. *Ann Intensive Care*, 8(1), 66.
- Margolis JH, Bottoms GD, Fessler JF, 1987. The efficacy of dexamethasone and flunixin meglumine in treating endotoxin-induced changes in calves. *Vet Res Commun.* 11(5), 479-491.
- Marier JF, Beaudry F, Ducharme MP, Fortin D, Moreau JP, Masse R, Vachon P, 2001. A pharmacokinetic study of amoxicillin in febrile beagle dogs following repeated administrations of endotoxin. *J Vet Pharmacol Ther.* 24(6), 379-383.
- Maxie G. Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals-E-Book (Vol. 2). Elsevier Health Sciences. 2015.
- McCuskey RS, Urbaschek R, Urbaschek B, 1996. The microcirculation during endotoxemia. *Cardiovasc Res.* 32(4), 752-763.
- McKellar QA, Sanchez Bruni SF, Jones DG, 2004. Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships of antimicrobial drugs used in Veterinary medicine. *J Vet Pharmacol Ther.* 27, 503-514.
- Moore JN, Barton MH, 2003. Treatment of endotoxemia. *Vet Clin N Am-Equine.* 19(3), 681-695.
- Moore JN, 2005. An update on endotoxemia in the horse. In *Proc Am Assoc Equine Pract, Colic Focus Meeting*, Quebec City.
- Moore JN, 1988. Recognition and treatment of endotoxemia. *Vet Clin N Am-Equine.* 4(1), 105-113.
- Morgan ET, 2009. Impact of infectious and inflammatory disease on cytochrome P450-mediated drug metabolism and pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther.* 85(4), 434-438.
- Morris DD, Cullor JS, Whitlock RH, Wickstrom M, Corbeil LB, 1986. Endotoxemia in neonatal calves given antiserum to a mutant *Escherichia coli* (J-5). *Am J Vet Res.* 47(12), 2554-2565.
- Morris DD, 1991. Endotoxemia in horses: a review of cellular and humoral mediators involved in its pathogenesis. *J Vet Intern Med.* 5(3), 167-181.
- Munawar SH, Iqbal Z, Manzoor Z, 2017. Determination of renal handling of marbofloxacin in Lohi sheep (*Ovis aries*) following a single intravenous administration. *Iran J Vet Res.* 18, 49-55.
- Nadai M, Hasegawa T, Kato K, Wang L, Nabeshima T, Kato N, 1993. Alterations in pharmacokinetics and protein binding behavior of cefazolin in endotoxemic rats. *Antimicrob Agents and Ch.* 37, 1781-1785.
- Nedbalcova K, Zouharova M, Sperling D, 2019. Post-antibiotic effect of marbofloxacin, enrofloxacin and amoxicillin against selected respiratory pathogens of pigs. *Vet Med-Czech.* 64, 67-77.
- Norwood TG, Westbrook BC, Johnson DB, Litovsky SH, Terry NL, McKee SB, Gertler AS, Moslehi JJ, Conry RM, 2017. Smoldering myocarditis following immune checkpoint blockade. *J Immunother Cancer.* 5(1), 91.
- Oh J, Harper M, Giallongo F, Bravo DM, Wall EH, Hristov AN, 2017. Effects of rumen-protected Capsicum oleoresin on immune responses in dairy cows intravenously challenged with lipopolysaccharide. *J Dairy Sci.* 100(3), 1902-1913.
- Olson NC, Joyce PB, Fleisher LN, 1990. Role of platelet-activating factor and eicosanoids during endotoxin-induced lung injury in pigs. *Am J Physiol-Heart C.* 258(6), H1674-H1686.

- Paulin A, Schneider M, Dron F, Woehrle F, 2018. Pharmacokinetic/pharmacodynamic evaluation of marbofloxacin as a single injection for pasteurellaceae respiratory infections in cattle using population pharmacokinetics and monte carlo simulations. *J Vet Pharmacol Ther*, 41, 39-50.
- Pérez-Fernández R, Cazanga V, Jeldres JA, Silva PP, Riquelme J, Quiroz F, Palma C, Carretta MD, Burgos RA, 2017. Plasma and tissue disposition of florfenicol in *Escherichia coli* lipopolysaccharide-induced endotoxaemic sheep. *Xenobiotica*, 47(5), 408-415.
- Pérez R, Palma C, Drápela C, Sepulveda M, Espinoza A, Peñailillo AK, 2015. Pharmacokinetics of florfenicol after intravenous administration in *Escherichia coli* lipopolysaccharide-induced endotoxaemic sheep. *J Vet Pharmacol Ther*. 38(2), 144-149.
- Perkowski SZ, Sloane PJ, Spath JrJA, Elsasser TH, Fisher JK, Gee MH, 1996. TNF-alpha and the pathophysiology of endotoxin-induced acute respiratory failure in sheep. *J Appl Physiol*. 80(2), 564-573.
- Post LO, Farrell DE, Cope CV, Baker JD, Myers MJ, 2003. The effect of endotoxin and dexamethasone on enrofloxacin pharmacokinetic parameters in swine. *J Pharmacol Exp Ther*, 304, 889-895.
- Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD, 2006. *Veterinary Medicine E-Book: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. Elsevier Health Sciences. 53-60.
- Sakata H, Okamoto A, Aoyama-Ishikawa M, Yamashita H, Kohama K, Fujisaki N, Yamada T, Kotani J, Tsuchihara K, Lida A, Nakao A, 2017. Inhaled hydrogen ameliorates endotoxin-induced bowel dysfunction. *Acute Med Surg*, 4(1), 38-45.
- Schricks JA, Fink-Gremmels J, 2007. Danofloxacin-mesylate is a substrate for ATP-dependent efflux transporters. *Brit J Pharmacol*, 150, 463-469.
- Sakr Y, Dubois MJ, De Backer D, Creteur J, Vincent JL, 2004. Persistent microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock. *Crit Care Med*. 32(9), 1825-1831.
- Sakurai K, Miyashita T, Okazaki M, Yamaguchi T, Ohbatake Y, Nakanuma S, Okamoto K, Sakai S, Kinoshita J, Makino I, Nakamura K, Hayashi H, Oyama K, Tajima H, Takamaru H, Ninomiya I, Fushida S, Harada K, Harmon JW, Nakamura K, 2017. Role for neutrophil extracellular traps (NETs) and platelet aggregation in early sepsis-induced hepatic dysfunction. *in vivo*, 31(6), 1051-1058.
- Sarkozy G, 2001. Quinolones: a class of antimicrobial agents. *Vet Med-Czech*. 457 46, 257-274.
- Salam Abdullah A, Baggot JD, 1986. Influence of induced disease states on the disposition kinetics of imidocarb in goats. *J Vet Pharmacol Ther*, 9, 192-197.
- Salvesen Ø, Reiten MR, Heegaard PM, Tranulis MA, Espenes A, Skovgaard K, Ersdal C, 2016. Activation of innate immune genes in caprine blood leukocytes after systemic endotoxin challenge. *BMC Vet Res*. 2016. 12(1), 241.
- Sartin JL, Elsasser TH, Gunter DR, McMahon CD, 1998. Endocrine modulation of physiological responses to catabolic disease. *Domest Anim endocrin*. 15(5), 423-429.
- Sharkey LC, Ployngam T, Tobias AH, Torres SM, 2007. Effects of a single injection of methylprednisolone acetate on serum biochemical parameters in 11 cats. *Vet clin path*, 36(2), 184-187.
- Sharma PC, Jain A, Jain S, 1989. Fluoroquinolone antibacterials: a review on chemistry, microbiology and therapeutic prospects. *Acta Pol Pharm*. 2009. 66, 587-604.
- Spitzer JJ, Bagby GJ, Meszaros K, Lang CH, 1989. Altered control of carbohydrate metabolism in endotoxemia. *Prog Clin Biol Res*. 286, 145-165.
- Semler MW, Rice TW, 2016. Sepsis resuscitation: fluid choice and dose. *Clin Chest Med*. 37(2), 241-250.
- Sidhu PK, Landoni MF, Aliabadi FS, Lees P, 2010. PK-PD integration and modeling of marbofloxacin in sheep. *Res Vet Sci*, 88, 134-141.

- Singh SK, Sharma SK, Sidhu RK, Dumka VK, Lamba JS, 2019. In-vitro plasma protein binding of marbofloxacin in healthy and disease condition of buffalo calves. *J Anim Res.* 9, 75-78.
- Staub Sr NC, Longworth KE, Serikov V, Jerome EH and Elsasser T, 2001. Detergent inhibits 70–90% of responses to intravenous endotoxin in awake sheep. *J Appl Physiol.* 90, 1788-1797.
- Toutain PL, Lees P, 2004. Integration and modelling of pharmacokinetic and pharmacodynamic data to optimize dosage regimens in veterinary medicine. *J Vet Pharmacol Ther.* 27, 467-477.
- Traş B, Maden M, Baş AL, Elmas M, Yazar E, Civelek T, 2001. Investigation of Biochemical and Haematological Side-effects of Enrofloxacin in Dogs. *J Vet Med-A*, 48(1), 59-63.
- Trzeciak S, McCoy JV, Dellinger RP, Arnold RC, Rizzuto M, Abate NL, Shapiro NI, Parrillo JE, Hollenberg SM, 2008. Early increases in microcirculatory perfusion during protocol-directed resuscitation are associated with reduced multi-organ failure at 24 h in patients with sepsis. *Intensive Care Med.* 34(12), 2210-2217.
- Tsao CM, Ho ST, Chen A, Wang JJ, Li CY, Tsai SK, Wu CC, 2004. Low-dose dexamethasone ameliorates circulatory failure and renal dysfunction in conscious rats with endotoxemia. *Shock.* 21, 484-491.
- Valle M, Schneider M, Galland D, Giboin H, Woehrlé F, 2012. Pharmacokinetic and pharmacodynamic testing of marbofloxacin administered as a single injection for the treatment of bovine respiratory disease. *J Vet Pharmacol Ther.* 35, 519-528.
- Varghese JM, Roberts JA, Lipman J, 2011. Antimicrobial pharmacokinetic and pharmacodynamic issues in the critically ill with severe sepsis and septic shock. *Crit Care Clin*, 27, 19-34.
- Yang KH, Lee MG, 2008. Effects of endotoxin derived from *Escherichia coli* lipopolysaccharide on the pharmacokinetics of drugs. *Arch Pharm Res*, 31, 1073-1086.
- Yang S, Zhou M, Koo DJ, Chaudry IH, Wang P, 1999. Pentoxifylline prevents the transition from the hyperdynamic to hypodynamic response during sepsis. *Am J Physiol-Heart C*, 277(3), H1036-H1044.
- Yates DT, Löest CA, Ross TT, Hallford DM, Carter BH, Limesand SW, 2011. Effects of bacterial lipopolysaccharide injection on white blood cell counts, hematological variables, and serum glucose, insulin, and cortisol concentrations in ewes fed low-or high-protein diets. *J Anim Sci.* 89(12), 4286-4293.
- Yazar E, Bulbul A, Avci G, Er A, Uney K, Elmas M, Tras B, 2010. Effects of enrofloxacin, flunixin meglumine and dexamethasone on disseminated intravascular coagulation, cytokine levels and adenosine deaminase activity in endotoxaemia in rats+. *Acta Vet Hung.* 58(3), 357-367.
- Waage A, Halstensen A, Espevik T, 1987. Association between tumour necrosis factor in serum and fatal outcome in patients with meningococcal disease. *Lancet.* 329(8529), 355-357.
- Wagner JG, Roth RA, 1999. Neutrophil migration during endotoxemia. *J Leukocyte Biol*, 66(1), 10-24.
- Wang PING, Chaudry IH, 1996. Mechanism of hepatocellular dysfunction during hyperdynamic sepsis. *Am J Physiol-Reg I*, 270(5), R927-R938.
- Waxman S, San Andres MD, Gonzalez F, De Lucas JJ, San Andres MI, Rodriguez C, 2003. Influence of *Escherichia coli* endotoxin-induced fever on the pharmacokinetic behavior of marbofloxacin after intravenous administration in goats. *J Vet Pharmacol Ther.* 26, 65-69.
- West MA, Heagy W, 2002. Endotoxin tolerance: a review. *Crit Care Med.* 30(1), S64-S73.
- Zaytseva D, Allawala A, Franco JA, Putnam S, Abtahie AM, Bubalo N, Criddle CR, Nguyen TA, Nyugen P, Padmanabhan S, Sanghera P, Bremen M, Abramson T, Wilkinson KA, 2018. Lipopolysaccharide-induced inflammation does not alter muscle spindle afferent mechanosensation or sensory integration in the spinal cord of adult mice. *Physiol Rep.* 6(17), e13812.

## 7. EKLER

### EK-A: Etik Kurul Onayı



T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
VETERİNER FAKÜLTESİ DENEY HAYVANLARI  
ÜRETİM VE ARAŞTIRMA MERKEZİ  
ETİK KURULU (SÜVDAMEK) KARARLARI



Toplantı Tarihi	28.12.2018	Toplantı Sayısı	2018/14	Karar Sayısı	2018/178
<p>S.Ü. Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Enver YAZAR tarafından sunulan "Endotoksemik Koyunlarda Marbofloksasinin Farmakokinetiğinin Belirlenmesi" başlıklı Tez Projesi başvurusu değerlendirilmiştir.</p> <p>Başvuruda, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi Etik Kurulu (SÜVDAMEK) Yönergesi ilkelerine uyulduğuna, projenin araştırma etiği açısından "Uygun olduğuna" oy birliği ile karar verilmiştir.</p>					
 Prof. Dr. Oya BULUT Başkan			 Doç. Dr. Özgür ÖZDEMİR Başkan Yardımcısı		
 Prof. Dr. İbrahim AYDIN Üye		 Prof. Dr. Özlem DERİNBAY EKİCİ Üye		 Doç. Dr. Ayşe ER Raportör Üye	
 Doç. Dr. Mustafa Selçuk ALATAŞ Hayvan Refahı Birimi Üyesi		Muhan ÜLGEN Konya Doğayı ve Hayvanları Koruma Derneği Üyesi (Katılmadı)		Sabri YALICI Sivil Üye (Katılmadı)	

## Effect of supportive therapy on the pharmacokinetics of intravenous marbofloxacin in endotoxemic sheep

Devran Coskun<sup>1</sup>  | Orhan Corum<sup>2</sup>  | Enver Yazar<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Siirt, Siirt, Turkey

<sup>2</sup>Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Kastamonu, Kastamonu, Turkey

<sup>3</sup>Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Selcuk, Konya, Turkey

### Correspondence

Devran Coskun, Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Siirt, 56100 Siirt, Turkey.  
Email: devrancoskun@selcuk.edu.tr

### Funding information

OYP, Grant/Award Number: 2017-OYP-008

### Abstract

The purpose of this study was to determine the influences of supportive therapy (ST) on the pharmacokinetics (PK) of marbofloxacin in lipopolysaccharide (LPS)-induced endotoxemic sheep. Furthermore, minimum inhibitory concentration (MIC) of marbofloxacin against *Escherichia coli*, *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* spp., and *Staphylococcus aureus* was determined. The study was performed using a three-period cross PK design following a 15-day washout period. In the first period, marbofloxacin (10 mg/kg) was administered by an intravenous (IV) injection. In the second and third periods, marbofloxacin was co-administered with ST (lactated ringer + 5% dextrose + 0.45% sodium chloride, IV, 20 ml/kg, dexamethasone 0.5 mg/kg, SC) and ST + LPS (*E. coli* O55:B5, 10 µg/kg), respectively. Plasma marbofloxacin concentration was measured using HPLC-UV. Following IV administration of marbofloxacin alone, the  $t_{1/2\alpha}$ ,  $AUC_{0-\infty}$ ,  $Cl_T$  and  $V_{dss}$  were 2.87 hr, 34.73 hr × µg/ml, 0.29 L hr<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>, and 0.87 L/kg, respectively. While no change was found in the MBX + ST group in terms of the PK parameters of marbofloxacin, it was determined that the  $Cl_T$  of marbofloxacin decreased,  $AUC_{0-\infty}$  increased, and  $t_{1/2\alpha}$  and MRT prolonged in the MBX + ST + LPS group. MIC values of marbofloxacin were 0.031 to >16 µg/ml for *E. coli*, 0.016 to >16 µg/ml for *M. haemolytica*, 0.016–1 µg/ml for *P. multocida*, 0.016–0.25 µg/ml for *K. pneumoniae*, 0.031–0.063 µg/ml for *Salmonella* spp., and 0.031–1 µg/ml for *S. aureus*. The study results show the necessity to make a dose adjustment of marbofloxacin following concomitant administration of ST in endotoxemic sheep. Also, the PK and pharmacodynamic effect of marbofloxacin needs to be determined in naturally infected septicemic sheep following concomitant administration of single and ST.

### KEYWORDS

endotoxemia, marbofloxacin, pharmacokinetics, sheep, supportive therapy

## 8. ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Tunceli’de doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini İzmir’de tamamladıktan sonra 2009 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesini kazandı. 2014 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesinden dönem ikincisi olarak mezun oldu ve bir süre klinisyenlik yaptıktan sonra 2016 yılında Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalına ÖYP kapsamında araştırma görevlisi olarak atandı. Daha sonra İstanbul Teknik Üniversitesinde 6 ay dil eğitimi aldı ve aynı yıl Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalında doktora eğitimine başladı. 2017 yılında 35. Madde ile görevlendirildiği Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim dalındaki doktora eğitimine halen devam etmektedir.