

Etanersept - Endotoksemi Tedavisinde Kullanılabilir mi? ^{[1] [2]}

Ayşe ER *  Burak DIK * Gul CETİN ** Feray ALTAN ***
Kamil UNEY * Muammer ELMAS * Enver YAZAR *

[1] Bu araştırma SÜBAPK (11401096) tarafından desteklenmiştir

[2] Araştırmanın özeti "12th International Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology (EAVPT), July 8th - 12th, 2012, Netherlands" kongresinde sunulmuştur

* Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, TR-42075 Konya - TÜRKİYE

** Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, TR-15030 Burdur - TÜRKİYE

*** Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, TR-21280 Diyarbakır - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2012-7357

Summary

Araştırmanın amacı endotoksemi etanersept uygulamasının kan sitokinler, fibrinojen, antitrombin, 13,14-dihidro-15-keto prostaglandin $F_{2\alpha}$ ve biyokimyasal parametrelere etkisini araştırmaktır. Erişkin 126 adet Sprague Dawley ırkı erkek rat 3 gruba ayrılarak; 1. Gruba lipopolisakkarit (4 mg, IP), 2. Gruba etanersept (8 mg/kg, IP) ve 3. Gruba lipopolisakkarit + etanersept uygulamaları yapıldı. Uygulamalardan sonra 0., 1., 2., 4., 8., 12. ve 24. saatlerde kan örnekleri alındı. Serum tümör nekrozis faktör- α , interlöykin-1 β , interlöykin-10 ve plazma 13,14-dihidro-15-keto-prostaglandin $F_{2\alpha}$ düzeyleri ELISA okuyucusunda; sitratlı plazma antitrombin ve fibrinojen düzeyleri koagulometrede; serum biyokimyasal parametreleri otoanalizörde belirlendi. Etanerseptin fibrinojen düzeyinde düzensiz değişimlere ve 13,14-dihidro-15-keto-prostaglandin $F_{2\alpha}$ alkalen fosfataz ile alanin aminotransferaz düzeyinde yükselmelere neden olduğu belirlendi. Lipopolisakkarit uygulaması sitokinler, 13,14-dihidro-15-keto-prostaglandin $F_{2\alpha}$, fibrinojen, organ hasar belirteçleri ve trigliserit düzeylerinde yükselmelere neden olurken, antitrombin seviyesinde düzensiz değişimlere neden oldu. Lipopolisakkarit + etanersept uygulanan grupta sitokinler, 13,14-dihidro-15-keto-prostaglandin $F_{2\alpha}$ ve fibrinojen düzeyinde yükselmeler, antitrombin düzeyinde düzensiz değişimler gözlemlendi. Lipopolisakkarit uygulaması ile yükselen kreatin kinaz-MB düzeyinin etanersept tarafından tamamen, tümör nekrozis faktör- α yükselmesinin kısmen engellendiği ancak kanda kalış süresini uzattığı ve interlöykin-10 düzeyini daha fazla yükselttiği belirlendi. Sonuç olarak endotoksemi etanerseptin kalp üzerindeki koruyucu etkisi ve interlöykin-10 düzeyini yükseltmesi nedeni ile tek doz uygulamasının veteriner sahada faydalı olabileceği belirlendi.

Keywords: Endotoksemi, Etanersept, Sitokinler, Pıhtılaşma, Prostaglandin

Etanercept - Can It be Used in the Treatment of Endotoxemia?

Özet

Aim of this study was to investigate that effect of etanercept administration on the concentrations of cytokines, fibrinogen, antithrombin, 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin $F_{2\alpha}$ and biochemical values in the endotoxemia. A totally male 126 Sprague Dawley rats were divided 3 equal groups; lipopolysaccharide (4 mg, IP), etanercept (8 mg/kg, IP) and lipopolysaccharide + etanercept were administered to Group 1, 2, and 3, respectively. Blood samples were collected at 0, 1, 2, 4, 8, 12 and 24th hours after treatments. Serum tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β , interleukin-10 and plasma 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin $F_{2\alpha}$ levels were measured with ELISA reader, while antithrombin and fibrinogen levels were measured with coagulometer. Serum biochemical parameters were determined with auto-analyzer. Etanercept had irregular effect on the fibrinogen levels and it increased PGM, alkaline phosphatase and alanine aminotransferase activities. Lipopolysaccharide increased cytokines, PGM, fibrinogen, organ damage markers and triglyceride levels, and it had irregular effect on the antithrombin levels. Increased cytokines, PGM and fibrinogen levels were determined in lipopolysaccharide + etanercept group, but irregular changes were observed in antithrombin levels. Etanercept exactly depressed the increased creatine kinase-MB level and relatively depressed the increased tumor necrosis factor- α while it extended the presence of tumor necrosis factor- α , and it increased the elevated interleukin-10 levels by lipopolysaccharide. In conclusion, when protective effect of etanercept on the heart and increasing effect on the interleukin-10 levels in the endotoxemia is considered, single dose etanercept may be beneficial in the veterinary medicine.

Anahtar sözcükler: Endotoxemia, Etanercept, Cytokines, Coagulation, Prostaglandin



İletişim (Correspondence)



+90 332 2232733



aer@selcuk.edu.tr

GİRİŞ

Mikroorganizmaların steril canlı dokusunda bulunması sonrasında canlılığın gösterdiği reaksiyona enfeksiyon adı verilir. Canlılığın sistemik dolaşımında bakteri bulunmasına bakteriyemi, enfeksiyonun sistemik duruma gelmesine ise sepsis adı verilir. Gram (-) bakteri endotoksinin dolaşımında bulunmasına endotoksemi, gerekli sıvı ve semptomimetik tedavisi yapılmasına rağmen düzeltilemeyen hipotansiyonun görüldüğü sistemik yangısal cevaba ise septik şok adı verilir. Bakteri, virüs, mantar ile parazitler septik şoka neden olabilir ve ölüm oranı %20-80 civarındadır ¹⁻³.

Gram (-) bakteri hücre duvarının bir parçası olan lipopolisakarit (LPS), endotoksin olarak da adlandırılır. LPS'nin septik şokların oluşumunda önemli rolü bulunmaktadır ^{4,5}. Deneysel araştırmalarda uygulanan doz ve uygulama şekline göre lokal yangıları modellemeyen, septik şoku modellemeye kadar değişen aralıkta kullanılmaktadır ^{3,6,7}. LPS, immunolojide tanımlanan en iyi antijendir. Dolaşıma yeterince LPS geçtiğinde, savunma hücrelerince yangısal cevap tetiklenir. Özellikle monosit ve makrofajlarca ilk cevap olarak tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) ve interlökin-1beta (IL-1 β) gibi proinflamatuvar sitokinler devamında ise diğer interlökinler salınır ^{2,8}. Salgılanan TNF- α 'nın konakçıda hemodinamik değişiklikler, doku hasarı, hipotansiyon ve organ yetmezliklerine neden olduğu bildirilmiştir. TNF- α gibi bir diğer proinflamatuvar sitokin olan IL-1 β düzeyi sepsisli hastalarda yüksek tespit edilmiştir. Salgılanan IL-1 β 'da, canlıda ateş, hipotansiyon ve anoreksi gibi sepsisin bulgularına neden olmaktadır. Septik şoklarda TNF- α ile IL-1 β birlikte sinerjik hareket ederek daha ağır klinik belirtiler görülmesine neden olmaktadır. Sitokin salınımı bir enfeksiyonda normal immun cevap olarak gelişir. Ancak çok fazla sitokin üretimi ise dolaşım bozukluğu ve ölüme neden olabilmektedir. Deneysel araştırmalarda sistemik TNF- α uygulamalarının ölüme neden olabileceği bildirilmiştir ^{3,8,9}. Septik şoklarda proinflamatuvar sitokin (TNF- α , IL-1 β) salınımından daha sonra antiinflamatuvar sitokin olan IL-10 salgılanır. Deneysel araştırmalarda endotoksemik canlılara IL-10 uygulamasının TNF- α düzeyini düşürdüğü ve hayatta kalmayı artırdığı belirlenmiştir ⁹.

Sağlıklı canlıda kanda pıhtılaşma yapıcılar ile pıhtılaşmayı engelleyiciler denge halinde olduğundan pıhtılaşma şekillenmez. Ancak endotelde oluşan hasar veya kandaki değişiklikler, karaciğerden üretilen protrombini trombine dönüştürür. Trombin de karaciğerde üretilen fibrinojeni fibrine dönüştürerek pıhtının oluşmasını sağlar. Karaciğerde sentezlenerek dolaşıma salınan antitrombin III (AT) ise trombine bağlanarak antikoagulant etkinlik gösterir. Septik şoklarda koagülasyon uyarıldığı için genellikle kandaki miktarı azalır ^{9,10}. Salgılanan proinflamatuvar sitokinler, konakçıda hücre düzeyinde birçok vasküler ve immunolojik değişikliklere neden olmaktadır. Etkilenen endotel sistem bir yandan pıhtılaşmayı başlatırken diğer yandan proinflamatuvar sitokin sentezi yapar. Sitokinler ise pıhtılaşmayı uyarır. Pıhtılaşma mekanizmasının başlaması, mikrotrombuslar, yaygın damar içi pıhtılaşma (YDP),

hipoperfüzyon, hipoksi ve ölüme sonuçlanan çoklu organ yetmezliklerinin (ÇOY) gelişmesini sağlar. Septik şokun son döneminde pıhtılaşma faktörlerinin yetersizliği nedeni ile kanamalar oluşur ¹⁻³.

Yangılı durumlar ve enfeksiyonlarda araşidonik asitten siklooksijenaz (COX) aracılığı ile prostaglandinler sentezlenir. COX'ın, COX1 ve COX2 olmak üzere iki tipi bulunur. COX1 canlıda sürekli aktiftir ve biyolojik olarak varlığına ihtiyaç duyulur. COX2 ise sitokinler ve yangı etkenlerince uyarılarak prostaglandin sentezini sağlarlar. Üretilen prostaglandinler ise ağrı, ateş, vazodilatasyon ve ödem gibi klinik belirtilere neden olurlar ¹¹. Enfeksiyonlarda salgılanan TNF- α 'nın prostaglandin sentezini uyarabileceği, LPS uygulaması sonrasında kan prostaglandin F_{2 α} ana metaboliti kabul edilen 13,14-dihidro-15-keto-prostaglandin F_{2 α} (PGM) yükseldiği ve endotoksemilerde oluşan serbest radikallerin PGM sentezine aracılık ettiği bildirilmiştir ^{6,9,12-14}.

Septik şoklarda ölüm, genellikle ÇOY'den kaynaklanmaktadır. ÇOY ise oluşan generalize yangı ve YDP'dan kaynaklanmaktadır ². Serum kreatin kinaz-MB (CK-MB) düzeyi kalp hasarı belirteci, alkalen fosfat (ALP), alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), gamma glutamilttransferaz (GGT) düzeyi karaciğer hasarı belirteci olarak kabul edilirken, kreatinin ile kan üre nitrojen (BUN) düzeyi böbrek hasarı belirteci olarak kabul edilir ¹⁵. Endotoksemilerde serum organ hasar belirteçlerinin artabileceği ve trigliserit, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) ile yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) düzeylerinde değişimler olabileceği ifade edilmiştir ^{14,16}.

Septik şokun tedavisinde birçok farklı tedavi protokolleri uygulanmasına rağmen hayatta kalma oranı kabul edilemeyecek düzeyde yüksektir ⁹. Etanersept (ETA) bir rekombinant füzyon proteinidir. Önemli proinflamatuvar sitokinlerden olan TNF- α ve TNF β 'nın her ikisinin de etkisini engelleyerek anti-TNF etkinlik gösterir. ETA beşeri hekimlikte, ankilozan spondilitis, Crohn hastalığı, romatoid artrit, juvenil ve psoriatik artrit gibi otoimmun hastalıkların tedavisinde kullanılır ^{8,17}.

Deneysel endotoksemilerde tedavi amaçlı kullanılan TNF antagonistlerinin hayatta kalmayı artırabildiği bildirilmiştir ^{9,18}. Mevcut araştırmada endotoksemilerde oluşan aşırı proinflamatuvar sitokin sentezi ¹⁹ ve TNF'nin ölümcül etkilere neden ^{3,18} olduğu dikkate alındığında, glukokortikoid kullanımının tedavide önerildiği gibi bir diğer immun depresant olan ETA ⁸ uygulamasının da tedavide etkili olabileceği hipoteze edildi.

Araştırmanın amacı, endotoksemide ETA uygulamasının, sitokinler, fibrinojen, AT, PGM, organ hasar belirteçleri ve bazı biyokimyasal parametrelere etkisini araştırmaktır.

MATERYAL ve METOT

Araştırmada 126 adet erişkin Sprague Dawley ırkı erkek rat (170-220 g, Kobay Deney Hayvanları AŞ, Ankara, Türkiye) kullanıldı. Araştırma prosedürü Selçuk Üniversitesi Veteriner

Fakültesi Etik Kurulunca onaylandı (No:2010/054). Ratlar 3 eşit gruba ayrılarak; 1. Gruba LPS (4 mg, periton içi, *Escherichia coli* 0111:B4, Sigma-Aldrich Chemical, Almanya)¹⁴, 2. Gruba ETA (8 mg/kg, periton içi, Enbrel® flk., Wheth İlaçları A.Ş., İstanbul)²⁰ ve 3. Gruba LPS (4 mg, periton içi) + ETA (8 mg/kg, periton içi) uygulamaları yapıldı. Uygulamalardan önce 0. saat ve sonrasında 1., 2., 4., 8., 12. ve 24. saatlerde ratlardan tiopental sodyum (70 mg/kg, periton içi, Pental® Sodyum 1 g Enj. Sol., İ. E. Ulagay İlaç Sanayi Türk A. Ş., Topkapı, İstanbul) anestezisi altında kalplerinden kan alındı. Serum TNF- α (eBioscience Rat TNF- α kit, San Diego, CA, USA), IL-1 β (eBioscience Rat IL-1 β kit), IL-10 (eBioscience Rat IL-10kit) ve plazma PGM (13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F_{2 α} EIA kit, Cayman Chemical, Michigan) düzeyleri ticari kit prospektüslerine uygun olarak ELISA/spektrofotometre okuyucusunda (MWGt Lambda Scan 200, USA) belirlendi. Sitratl plazma antitrombin III ve fibrinojen düzeyleri koagulometre (Siemens Sysmex CA 1500 Model, Japonya) ile belirlendi. Serum Ck-MB, ALP, AST, ALT, GGT, BUN, kreatinin, albümin, trigliserit, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL) düzeyleri otoanalizörde (Tokyo Boeki Prestige 24i, Japonya) belirlendi.

Örnekleme her zamanlamasında 5 adet rattan elde edilen veriler ANOVA ve Tukey testi ile değerlendirildi (SPSS 10.0). P<0.05 değeri istatistik açıdan önem sınırı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Serum sitokin, plazma koagülasyon ve PGM parametreleri *Tablo 1*'de, organ hasar belirteçleri ile diğer biyokimyasal parametreler *Tablo 2*'de sunuldu. LPS grubunda toplam 3 rat ve LPS + ETA grubunda 2 rat öldü.

ETA uygulamasının sitokin ve AT düzeylerine etkisinin olmadığı, fibrinojen düzeyinde düzensiz değişimlere neden olduğu ve uygulama sonrası 1. saatte PGM düzeyinde yükselmeye neden olduğu belirlendi. LPS uygulamasının sitokin, PGM ve fibrinojen düzeylerinde yükselmelere neden olduğu ve AT seviyesinde düzensiz değişimlere neden olduğu tespit edildi. LPS + ETA uygulamasının serum sitokin, PGM ve fibrinojen düzeyinde yükselmelere, AT düzeyinde düzensiz değişimlere neden olduğu tespit edildi. ETA uygulamasının, LPS'nin neden olduğu TNF- α yükselmesini kısmen engellediği ancak TNF- α 'nın kanda kalış süresini uzattığı ve IL-10 düzeyini daha fazla yükselttiği belirlendi (*Tablo 1*).

ETA uygulamasının ALP ve ALT düzeyini yükselttiği belirlendi. LPS uygulamasının kalp, karaciğer ile böbrek hasar belirteçleri ve trigliserit düzeyinde yükselmelere neden olduğu, Ck-MB düzeyinde oluşan yükselmenin ETA tarafından engellenirken, yükselen diğer biyokimyasal parametreler üzerine ETA'nın olumlu etkisinin bulunmadığı gözlemlendi (*Tablo 2*). Albümin, kreatinin, HDL ve LDL düzeyinde belirlenen

Table 1. Effect of etanercept on the cytokines, coagulation values and 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F_{2 α} levels

Tablo 1. Etanerceptin sitokinler, koagülasyon parametreleri ve 13,14-dihidro-15-keto-prostaglandin F_{2 α} düzeylerine etkisi

Parametreler	Gruplar	Örnekleme Zamanları						
		0. saat	1. saat	2. saat	4. saat	8. saat	12. saat	24. saat
TNF α pg/mL	ETA	BLD	BLD	BLD	BLD	BLD	BLD	BLD
	LPS	BLD	5086 \pm 416 ^a	4217 \pm 343 ^a	351 \pm 55.3 ^b	BLD	BLD	BLD
	ETA+LPS	BLD	1230 \pm 368 ^{ab}	951 \pm 122 ^{ab}	1599 \pm 351 ^a	1059 \pm 263 ^{ab}	461 \pm 37.4 ^b	BLD
IL-1 β pg/mL	ETA	BLD	BLD	BLD	BLD	BLD	BLD	BLD
	LPS	BLD	BLD	812 \pm 177	1504 \pm 142	1347 \pm 310	644 \pm 433	BLD
	ETA+LPS	BLD	BLD	497 \pm 166 ^{ab}	1317 \pm 257 ^a	1258 \pm 334 ^a	789 \pm 198 ^{ab}	251 \pm 102 ^b
IL-10 pg/mL	ETA	BLD	BLD	BLD	BLD	BLD	BLD	BLD
	LPS	BLD	146 \pm 58.2	552 \pm 537	544 \pm 186	1007 \pm 498	865 \pm 280	376 \pm 141
	ETA+LPS	BLD	BLD	1757 \pm 376 ^{ab}	126 \pm 126 ^c	608 \pm 411 ^{bc}	3344 \pm 304 ^a	1263 \pm 550 ^{bc}
AT %	ETA	141 \pm 10.3	156 \pm 0.74	146 \pm 12.2	431 \pm 282	151 \pm 8.32	169 \pm 2.71	156 \pm 8.29
	LPS	152 \pm 10.1 ^{ab}	126 \pm 26.7 ^{ab}	160 \pm 4.34 ^a	141 \pm 7.66 ^{ab}	96.5 \pm 15.8 ^b	122 \pm 7.27 ^{ab}	169 \pm 2.71 ^a
	ETA+LPS	157 \pm 7.35 ^{bc}	160 \pm 3.06 ^b	167 \pm 1.35 ^b	110 \pm 13.0 ^d	286 \pm 13.3 ^a	115 \pm 11.6 ^{cd}	147 \pm 12.4 ^{bcd}
Fibrinogen mg/dL	ETA	108 \pm 9.45 ^b	198 \pm 53.0 ^{ab}	576 \pm 235 ^a	323 \pm 9.72 ^{ab}	123 \pm 76.3 ^b	358 \pm 40.1 ^{ab}	342 \pm 17.4 ^{ab}
	LPS	112 \pm 15.9 ^{de}	73.8 \pm 22.7 ^e	465 \pm 116 ^b	920 \pm 26.3 ^a	206 \pm 52.0 ^{cde}	322 \pm 18.6 ^{bcd}	358 \pm 40.1 ^{bc}
	ETA+LPS	97.2 \pm 13.8 ^c	98.7 \pm 25.9 ^c	908 \pm 36.5 ^a	457 \pm 127 ^b	94.4 \pm 19.9 ^c	65.1 \pm 65.1 ^c	293 \pm 10.5 ^{bc}
PGM pg/mL	ETA	62.1 \pm 23.1 ^b	773 \pm 157 ^a	282 \pm 55.9 ^b	109 \pm 24.5 ^b	37.6 \pm 15.5 ^b	86.4 \pm 22.6 ^b	102 \pm 14.1 ^b
	LPS	66.3 \pm 16.2 ^b	235 \pm 50.9 ^b	380 \pm 178 ^b	270 \pm 114 ^b	1956 \pm 685 ^a	656 \pm 269 ^{ab}	116 \pm 46.0 ^b
	ETA+LPS	60.1 \pm 18.7 ^b	184 \pm 70.7 ^b	389 \pm 161 ^{ab}	283 \pm 87.1 ^{ab}	860 \pm 383 ^{ab}	1571 \pm 559 ^a	824 \pm 396 ^{ab}

^{a-e} Aynı satırdaki farklı harfler istatistik açıdan önem arz eder (P<0.05), BLD; belirlenemedi

Table 2. Effect of etanercept on the serum organ damage markers and some biochemical values**Tablo 2.** Etanerseptin serum organ hasar belirteçleri ve bazı biyokimyasal parametrelere etkisi

Parametreler	Gruplar	Örnekleme Zamanları						
		0. saat	1. saat	2. saat	4. saat	8. saat	12. saat	24. saat
Ck-MB (U/L)	ETA	171±13.9 ^{ab}	252±62.9 ^{ab}	294±37.7 ^a	203±21.4 ^{ab}	209±30.3 ^{ab}	131±13.4 ^b	231±30.6 ^{ab}
	LPS	643±190 ^{ab}	335±80.0 ^b	491±153 ^b	580±86.9 ^{ab}	1246±230 ^a	643±97.1 ^{ab}	390±150 ^b
	ETA+LPS	182±17.8	274±50.3	580±±138	512±69.4	469±66.4	542±60.2	577±168
ALP (U/L)	ETA	143±8.62 ^b	2455±110 ^a	281±50.8 ^b	208±51.8 ^b	165±20.8 ^b	206±39.4 ^b	114±18.3 ^b
	LPS	139±27.5 ^b	379±70.3 ^{ab}	668±183 ^a	350±81.1 ^{ab}	177±34.8 ^b	186±19.1 ^b	221±27.6 ^b
	ETA+LPS	112±18.1 ^b	399±77.6 ^b	1565±346 ^a	613±429 ^{ab}	204±32.2 ^b	328±61.9 ^b	307±63.7 ^b
ALT (U/L)	ETA	92.0±5.44 ^{ab}	120±13.4 ^a	92.6±15.9 ^{ab}	78.0±10.1 ^{abc}	48.4±6.45 ^{bc}	40.8±6.25 ^c	45.8±6.66 ^c
	LPS	128±20.2 ^b	106±21.1 ^b	94.4±6.61 ^b	425±70.9 ^b	953±246 ^a	321±48.2 ^b	121±47.2 ^b
	ETA+LPS	71.8±14.7	104±6.07	104±21.5	321±90.3	251±109	314±58.2	176±51.5
AST (U/L)	ETA	113±9.69 ^{ab}	159±15.2 ^a	165±19.1 ^a	136±11.6 ^a	81.6±1.43 ^b	75.0±7.12 ^b	79.6±11.4 ^b
	LPS	186±32.8 ^c	146±12.8 ^c	175±12.9 ^c	645±124 ^{ab}	888±139 ^a	347±76.6 ^{bc}	224±112 ^c
	ETA+LPS	94.8±11.4 ^b	204±32.8 ^{ab}	171±20.4 ^{ab}	403±72.1 ^{ab}	300±102 ^{ab}	488±68.3 ^a	427±116 ^a
GGT (U/L)	ETA	0.20±0.20	0.00±0.00	0.80±0.48	0.00±0.00	0.40±0.40	0.20±0.20	0.00±0.00
	LPS	0.20±0.20 ^b	0.20±0.20 ^b	1.00±0.31 ^{ab}	1.40±0.40 ^{ab}	3.80±1.01 ^{ab}	13.4±6.42 ^a	7.40±4.23 ^{ab}
	ETA+LPS	0.20±0.20 ^b	0.40±0.24 ^b	0.60±0.24 ^b	0.80±0.48 ^b	3.60±0.74 ^{ab}	12.0±3.68 ^a	11.8±4.06 ^a
Albümin (g/dL)	ETA	4.16±0.08	4.08±0.09	4.08±0.34	3.96±0.08	3.46±0.24	3.92±0.04	3.44±0.16
	LPS	4.66±0.19 ^a	3.48±0.08 ^b	3.84±0.08 ^b	3.34±0.06 ^b	3.34±0.10 ^b	3.44±0.18 ^b	3.54±0.20 ^b
	ETA+LPS	4.32±0.12 ^a	3.60±0.12 ^{ab}	3.96±0.16 ^{ab}	3.46±0.15 ^b	3.18±0.28 ^b	3.60±0.16 ^{ab}	3.16±0.19 ^b
Kreatinin (mg/dL)	ETA	0.39±0.01 ^{ab}	0.40±0.01 ^{ab}	0.39±0.02 ^{ab}	0.43±0.04 ^a	0.44±0.03 ^a	0.32±0.03 ^{ab}	0.28±0.01 ^b
	LPS	0.59±0.08	0.52±0.03	0.40±0.02	0.45±0.04	0.72±0.11	0.45±0.04	0.50±0.16
	ETA+LPS	0.34±0.03 ^b	0.40±0.02 ^b	0.39±0.04 ^b	0.37±0.02 ^b	0.47±0.08 ^{ab}	0.46±0.05 ^b	0.88±0.20 ^a
BUN (mg/dL)	ETA	53.8±1.88 ^{bc}	69.4±2.97 ^a	65.0±3.28 ^{ab}	57.8±4.21 ^{abc}	49.8±2.22 ^c	58.8±2.13 ^{abc}	49.4±3.41 ^c
	LPS	59.2±3.58 ^d	72.6±3.29 ^d	66.2±6.52 ^d	97.2±6.41 ^{cd}	140±17.2 ^{bc}	171±12.2 ^b	264±26.6 ^a
	ETA+LPS	55.4±3.29 ^c	68.6±3.66 ^c	83.4±5.50 ^{bc}	94.0±4.06 ^{bc}	109±11.4 ^{abc}	164±8.53 ^{ab}	195±52.2 ^a
Trigliserit (mg/dL)	ETA	39.0±5.54 ^{ab}	39.8±9.10 ^{ab}	19.8±2.72 ^b	32.0±5.81 ^b	41.0±7.50 ^{ab}	68.0±2.56 ^a	52.0±13.7 ^{ab}
	LPS	86.2±16.4 ^c	42.8±7.29 ^c	101±11.7 ^c	120±15.5 ^{bc}	141±45.0 ^{bc}	403±70.6 ^a	295±66.6 ^{ab}
	ETA+LPS	30.2±7.13 ^b	38.6±7.60 ^b	64.6±6.48 ^b	121±26.5 ^{ab}	172±33.8 ^{ab}	278±84.3 ^a	142±41.8 ^{ab}
HDL (mg/dL)	ETA	49.8±4.75 ^a	47.0±2.68 ^a	45.2±2.03 ^{ab}	37.2±4.37 ^{ab}	41.4±4.09 ^{ab}	37.8±3.38 ^{ab}	29.6±4.76 ^b
	LPS	49.2±2.92 ^a	39.4±2.58 ^{abc}	40.8±2.37 ^{ab}	30.4±2.13 ^{bc}	36.6±6.85 ^{abc}	25.4±2.48 ^{bc}	23.2±3.81 ^c
	ETA+LPS	47.4±4.87 ^a	41.8±2.33 ^{ab}	42.2±3.27 ^{ab}	32.0±4.00 ^{abc}	28.8±5.08 ^{bc}	32.0±3.87 ^{abc}	16.2±3.13 ^c
LDL (mg/dL)	ETA	8.00±1.92 ^a	6.40±0.50 ^{ab}	8.00±0.63 ^a	6.60±0.40 ^{ab}	5.00±0.44 ^{ab}	4.40±0.50 ^{ab}	3.20±0.37 ^b
	LPS	8.00±0.70	6.60±0.74	11.0±3.03	6.40±0.81	11.0±2.30	11.8±1.39	15.6±3.62
	ETA+LPS	5.20±0.37 ^b	6.20±0.96 ^{ab}	8.00±1.14 ^{ab}	6.60±1.07 ^{ab}	7.60±1.02 ^{ab}	10.8±1.24 ^a	10.2±1.85 ^{ab}

^{a-d}: Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki açıdan önem arz eder ($P<0.05$)

istatistiki değişimlerin ise sağlıklı ratlar için bildirilen referans değerler arasında olduğu tespit edildi ^{16,21-23}.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Deneyel modellemelerde, sistemik LPS uygulaması sonrasında, septik şokta gözlenen klinik ve laboratuvar bulgularının tamamı gözlenebilmektedir. Buzağılara LPS uygulaması sonrasında klinik olarak ateş yükselmesi, solunum sayısında

artış, taşikardi, diyare, depresyon ve iştahsızlık gibi belirtiler gözlemlendiği bildirilmiştir ⁷. Ayrıca doza bağlı olarak %70'in üzerinde ölümler gözlenebilmektedir ²⁴. Laboratuvar bulguları olarak serum heptaglobulin, serum amiloid A ⁷, sitokin, adenozin deaminaz ^{13,19}, nitrik oksit ²⁵ kalp, karaciğer, böbrek hasar belirteçlerinde artış ^{19,26,27}, oksidatif stres ²⁸⁻³⁰ ve koagülasyon parametrelerinde değişimler ¹⁹ gözlenmektedir. Yeni birçok tedavi protokolleri uygulanmasına rağmen, ölüm oranı ise hala çok yüksek düzeylerde ^{9,31}.

ETA uygulamasının sitokinler üzerine etkisi belirlenmezken, LPS uygulamasının serum TNF- α , IL-1 β ve IL-10 düzeylerini yükselttiği belirlendi (*Tablo 1*). Gram negatif bakterilerin hücre duvarının bir bileşeni olan LPS'nin sistemik uygulaması sonrasında serum sitokin düzeylerinde artışlar gözlemlendiği bildirilmiştir³²⁻³⁴. Endotoksemilerde önce proinflamatuar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β) salgılandığı, hastalığın şiddeti ile TNF- α arasında korelasyon olduğu ve enfeksiyonun devamında ise tepki olarak antiinflamatuar sitokinlerin (IL-10) salgılandığı bilinmektedir. Septik şoklarda anti-TNF uygulamalarının faydalı olabileceği ifade edilmiştir⁹. LPS uygulaması sonrası serum düzeyi 1. saatte 5086 pg/mL çıkan TNF- α konsantrasyonunun, ETA uygulaması ile 1230 pg/mL'ye düştüğü belirlendi (*Tablo 1*). ETA'nın TNF- α üzerindeki baskılayıcı etkisi anti-TNF- α etkinliğinden kaynaklanabilir¹⁷. Mevcut çalışmada ETA uygulamasının, LPS tarafından sentezi uyarılan TNF- α 'nın daha uzun süre (4 saatten 12 saate kadar) dolaşımında kalmasına neden olduğu belirlendi (*Tablo 1*). Benzer şekilde endotoksemik ratlara ETA uygulaması sonrası serum TNF- α düzeyinin deney süresince genellikle LPS grubundan daha yüksek düzeylerde kalmasına neden olduğu bildirilmiştir. Guo ve ark.¹⁸ tarafından yapılan bu çalışmada yüksek düzeylerde ölçümü yapılan TNF- α 'nın ise biyolojik olarak aktif olmadığı bildirilmiştir. Endotoksemilerde ilk dönemde TNF- α ile birlikte yükselen IL-1 β düzeyi üzerine, ETA'nın belirgin etkisinin olmadığı gözlemlendi (*Tablo 1*). ETA uygulamasının TNF- α 'nın neden olduğu nitrik oksit sentezini engellerken, IL-1 β 'nin neden olduğu nitrik oksit sentezini engelleyemediğini bildirilmesi³⁵, ETA'nın seçici anti-TNF- α etkinliğinin bir sonucu olarak IL-1 β sentezi üzerine etkisinin olmadığını da açıklayabilir. Endotoksemilerde ilk salgılanan proinflamatuar sitokinlere tepki olarak sonradan salgılanan antiinflamatuar sitokin IL-10 düzeyini ETA uygulamasının bazı örneklem zamanlarında daha da artırdığı belirlendi (*Tablo 1*). Doku kültüründe LPS ile uyarılan monositlerden IL-10 sentezi üzerine ETA'nın etkisinin olmadığı bildirilmiştir³⁶. *In vivo* ve *in vitro* çalışmalardan her zaman birbiri ile uyumlu sonuçlar elde edilemeyeceği iyi bilinen bir gerçektir. Özellikle endotoksemi gibi birçok endojen maddenin katıldığı sistemik reaksiyon düşünüldüğünde, endotoksemiye *in vitro* testlerle değerlendirilerek sonuca varmak oldukça zordur. ETA'nın IL-10 sentezini artırıcı etkisi dolaylı olmakla birlikte antiinflamatuar etkinliğe sahip olduğunu göstermektedir. Septik şoklu insanlarda anti-TNF- α etkili ürünün hayatta kalma üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, hayatta kalmayı artırmadığı, 28 gün sonunda ölüm oranını doza bağlı olarak artırabileceği bildirilmiştir³⁷. Doza bağlı ölümün muhtemel nedeni ise immun sistemin baskılanmasıdır. Beşeri hekimlikte yoğun bakım ünitelerinin veteriner hekimliğe göre daha donanımlı olması ve medikal tedavinin daha güçlü yapılabilmesi nedeni ile hastalar 28 gün kadar yaşatılabilmektedir. Ancak veteriner hekimlikte septik şoklu hastaların 28 gün süresince yoğun bakım ünitelerinde bulundurulması pratikte mümkün değildir. Genellikle bir hafta içinde vakalarda iyileşme veya ölüm gözlenmektedir. Veteriner hekimlik alanında, beşeri hekimlikteki kadar uzun süreli ilaç kullanımı mümkün olmadığı için beşeri

hekimlikte gözlenen immun sistemin baskılanması ile olumsuz etkiler veteriner hekimlikte gözlenmeyebilir. Ratlarda yapılan çalışmada¹⁸ septik şokta tek doz ETA uygulamasının hayatta kalmayı artırdığının belirlenmesi bu düşüncüyü desteklemektedir.

LPS uygulamasının AT düzeyinde düzensiz değişimlere, LPS ile birlikte ETA uygulamasının ise AT düzeyinde 4. saatte düşmeye ($P<0.05$), 8. saatte yükselmeye ($P<0.05$) ve deney sonunda normal düzeylere düşmesine neden olduğu belirlendi (*Tablo 1*). Septik şoklu hastalarda koagülasyonun uyarılması sonucu AT düzeyinin genellikle azaldığı⁹ ve deneysel endotoksemide AT düzeyinin ilk uygulama sonrasında düştüğü devamında normal değerler düzeyine yükseldiği bildirilmiştir¹⁹. ETA uygulaması sonrasında fibrinojen düzeyinde düzensiz değişimler gözlenirken, LPS uygulaması sonrası önce düşme ($P>0.05$), sonrasında yükselmelere ($P<0.05$) neden olduğu ve LPS ile birlikte ETA uygulamasının düşme olmaksızın yükselmelere neden olduğu belirlendi (*Tablo 1*). LPS uygulaması sonrasında fibrinojen düzeyinde önce düşme sonra yükselmeler gözlemlendiği bildirilmiştir¹⁹. Fibrinojen ve AT düzeyinde gözlenen önce düşme ve sonrasında yükselmeler, LPS uygulaması sonrasında başlayan YDP ile tüketiminin artmasından veya hasara uğrayan karaciğer nedeni ile sentezlerinin azalmasından kaynaklanabilir. Mevcut çalışmada ETA uygulaması ile LPS'nin neden olduğu fibrinojen düzeyindeki düşme engellendi (*Tablo 1*). Bu durum ETA uygulamasının kısmen de olsa YDP engellemesinden kaynaklanabilir. İlerleyen örneklem zamanlarında LPS ile LPS+ETA gruplarında gözlenen fibrinojen yükselmeleri (*Tablo 1*) ise akut faz proteinleri olarak da kabul edilen pıhtılaşma faktörlerinin enfeksiyona karşı verdiği cevaptan kaynaklanabilir. Enfeksiyon durumunda karaciğerden akut faz proteinlerinin sentezinin uyarıldığı ve fibrinojen düzeyinin normal düzeyinin 2-10 katına kadar yükselbildiği bilinmektedir^{1,38}.

Bakteriyel etkenlerce sentezi uyarılabilen PGM'nin, ETA grubunda 1. saat, LPS grubunda 8. saat ve LPS+ETA grubunda 12. saatte yüksek tespit edildi (*Tablo 1*). Kan PGM düzeyi endotoksemi^{6,12-14} ve genital sistem enfeksiyonlarında^{39,40} yüksek tespit edilmiştir. Endotoksemide oluşan serbest radikallerin COX2 üzerinden katalizlediği bir reaksiyon sonucu PGM sentezinin oluşabileceği bildirilmiştir¹². Antiinflamatuar etkinliği kabul edilen ETA'nın, sağlıklı ratlarda 1. saatte PGM miktarının artırdığı tespit edildi (*Tablo 1*). ETA'nın sağlıklı ve enfekte canlıların PGM değerleri üzerine etkisi ile ilgili kaynağa ulaşılamadı. Ancak ETA'nın anti-TNF etkinliği düşünüldüğünde, PGM düzeyini artırıcı etkisini açıklamak mümkün görünmemektedir. Sağlıklı ratlarda 1. saat örneklem zamanında tespit edilen PGM yükselmesinin oluşan bireysel farklılıktan kaynaklanabileceği düşünüldü. ETA uygulamasının COX ekspresyonunu engelleyici etkisinin varlığı bulunmasına^{41,42} rağmen, LPS ile sentezi uyarılan PGM düzeyinin ETA tarafından baskılanmadığı belirlendi (*Tablo 1*). Yapılan kaynak taramalarında ETA'nın PGM konsantrasyonu üzerine doğrudan etkisi ile bir kaynağa ulaşılamadı. Ancak mevcut ve diğer çalışmaların^{41,42} sonuçları birlikte değerlendiril-

diğinde, mevcut araştırmada ETA'nın LPS'nin neden olduğu PGM artışı engelleyememesinin nedeni, ETA'nın dozuna bağlı olabileceği gibi ETA'nın antiprostaglandin etkinliğinden söz etmek için sadece ekspresyon alışmalarının yeterli olmayabileceği ifade edilebilir.

Mevcut araştırmada kalp hasarı belirteci kabul edilen serum Ck-MB düzeyinin, ETA grubunda sağlıklı ratlar için ifade edilen değerler arasında kaldığı, LPS uygulamasının düzeyini yükselttiği ($P < 0.05$) ve ETA uygulamasının LPS'nin neden olduğu artışı engellediği belirlendi (Tablo 2). Septik şoklu hastalarda miyokardial disfonksiyon olduğu^{2,3} ve serum kalp hasarı belirteçlerinin yükseldiği bildirilmiştir^{14,43}. Septik şokta oluşan kalp hasarının nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, üretilen sitokinlerin kalpte doğrudan depresör etki göstererek ve apoptozise neden olarak miyokardial depresyona neden olabileceği bildirilmiştir^{2,44}. Mevcut araştırmada kullanılan ETA'nın anti-TNF etkinliği düşünöldüğünde (Tablo 1), endotoksemilerde salgılanan sitokinlerin neden olduğu kalp hasarını engellemede TNF antagonisti ürünlerin faydalı olabileceği ifade edilebilir.

Mevcut araştırmada serum karaciğer hasar belirteçleri ALP, AST, ALT ve GGT düzeylerinin LPS uygulaması sonrasında yükseldiği belirlendi (Tablo 2). Yapılan deneysel modellerde de serum karaciğer hasar belirteçlerinin yükseldiği bildirilmiştir^{45,46}. LPS uygulaması sonrasında karaciğerin oksidatif hasara, kalp ve böbreğe göre daha duyarlı olduđu²⁹ ve karaciğer Kupffer hücreleri ile hepatositlerin dolaşımda bulunan LPS'yi kendi içinde hızlı bir şekilde biriktirip eliminasyonunu sağladığı bildirilmiştir. Detoksifikasyon esnasında oluşan nekrozlar ise karaciğer hasarına neden olabilmektedir^{3,4}. Endotoksemide ETA'nın kalpte gösterdiği koruyucu etkiyi, karaciğer hasarını engellemede gösteremediği belirlendi (Tablo 2). Karaciğer LPS'nin vücuttan uzaklaştırılmasında rol alan en önemli organdır ve safra ile atılımını sağlar. Ayrıca karaciğer Kupffer hücrelerinin de dolaşımdaki LPS'nin uzaklaştırılmasında rol aldığı ve bu esnada karaciğerde yangı mediatörleri ürettiği bildirilmiřtir¹. Karaciğer hasarının engellenmemesi sitokinlerden bağımsız olarak, LPS'nin doğrudan ve Kupffer hücrelerinin ürettiği yangı mediatörleri üretmesinden kaynaklanabilir.

Mevcut araştırmada LPS uygulamasının böbrek hasar belirteci BUN düzeyini yükselttiği belirlendi (Tablo 2). Proinflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β) böbrek epitelinde apoptozis ile nekroza neden olduđu² ve endotoksemide gelişen hipoperfüzyon, mikrotrombüsler ile lokal nekrozların böbrek hasarına neden olabileceği bildirilmiřtir³. Deneysel LPS uygulamalarında serum böbrek hasar belirteçlerinin yükseldiği ifade edilmiştir^{45,46}. LPS tarafından yükseltilen BUN düzeyinin, ETA tarafından kısmen düşüröldüğu belirlenmesine rağmen, sağlıklı ratlar için bildirilen düzeylere indiremediği belirlendi (Tablo 2). İşemi-reperfüzyon sonrası yükselen BUN düzeyinin, ETA tarafından düşüröldüğu, ancak kontrol değerlere inmediği bildirilmiřtir⁴⁷. ETA'nın böbrek koruyucu etkisi, TNF- α 'nın böbreklerde neden olduğu apoptozis ve nekrozları engellemesinden kaynaklanabilir.

LPS uygulaması sonrasında trigliserit düzeyinin yükseldiği, ETA uygulamasının ise artışı kısmen engellediği ve araştırma sonunda sağlıklı değerlere düşürödüğu belirlendi (Tablo 2). Endotoksemilerde yükselen trigliserit düzeyinin^{43,48,49}, hepatik lipogenezin artması ve trigliserit klerensinin azalmasından kaynaklanabileceği bildirilmiřtir⁵⁰. Farklı hastalıklarda ETA uygulaması sonrasında trigliserit düzeyinde etkilenmenin olmadıđı⁵¹ veya yükselmeler⁵² gözlendiği bildirilmiştir. Bu sonuç ETA'nın trigliserit üzerindeki etkisinin hastalığın tipine göre farklılık gösterebileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak veteriner hekimlik alanında septik şoklu vakalarda tek doz ETA uygulamasının faydalı olabileceği ifade edilebilir. Ancak hayvan türlerine göre dozaj rejimi üzerine araştırmalar yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

- 1. Van Amersfoort ES, Van Berkel TJ, Kuiper J:** Receptors, mediators, and mechanisms involved in bacterial sepsis and septic shock. *Clin Microbiol Rev*, 16, 379-414, 2003.
- 2. Lopez-Bojorquez LN, Dehesa AZ, Reyes-Teran G:** Molecular mechanisms involved in the pathogenesis of septic shock. *Arch Med Res*, 35, 465-479, 2004.
- 3. Opal SM:** The host response to endotoxin, antilipopolysaccharide strategies, and the management of severe sepsis. *Int J Med Microbiol*, 297, 365-377, 2007.
- 4. Buttenschoen K, Radermacher P, Bracht H:** Endotoxin elimination in sepsis: Physiology and therapeutic application. *Langenbecks Arch Surg*, 395, 597-605, 2010.
- 5. Davies B, Cohen J:** Endotoxin removal devices for the treatment of sepsis and septic shock. *Lancet Infect Dis*, 11, 65-71, 2011.
- 6. Er A, Yazar E:** Effects of macrolide antibiotics on blood inflammatory mediators and organ damage markers in lipopolysaccharide-induced pulmonary damage rats. *Eurasian J Vet Sci*, 26, 7-13, 2010.
- 7. Coskun A, Sen I:** Acute phase response and clinical changes in calves with lipopolysaccharide induced endotoxemia. *Eurasian J Vet Sci*, 28, 21-26, 2012.
- 8. Reimold AM:** New indications for treatment of chronic inflammation by TNF-alpha blockade. *Am J Med Sci*, 325, 75-92, 2003.
- 9. Karabacak A, Yazar E:** Current approaches in the treatment of septic shock. *Eurasian J Vet Sci*, 22, 95-103, 2006.
- 10. Ganidagli S, Gedik R, Koruk S, Mizrak A:** Yoğun bakımda koagölasyon. *TAD*, 6, 36-44, 2008.
- 11. Kaya S:** Narkotik olmayan ağrı kesiciler. **In**, Kaya S, Pirinci İ, Bilgili A (Eds): Veteriner Hekimliğinde Farmakoloji. 2. Baskı, s. 373-400, Medisan Yayınları, Ankara, 2002.
- 12. Basu S, Eriksson M.** Oxidative injury and survival during endotoxemia. *FEBS Lett*, 438, 159-160, 1998.
- 13. Altan F, Elmas M, Er A, Uney K, Cetin G, Tras B, Yazar E:** Effects of drugs on kinetic values of cytokines, adenosine deaminase and 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F_{2a} in endotoxemia: A different approach. *Eurasian J Vet Sci*, 26, 15-19, 2010.
- 14. Yazar E, Er A, Uney K, Bulbul A, Avci GE, Elmas M, Tras B:** Effects of drugs used in endotoxic shock on oxidative stress and organ damage markers. *Free Radic Res*, 44, 397-402, 2010.
- 15. Turgut K:** Karaciğer hastalıkları ve testleri-Endokrin, metabolik ve lipid bozuklukları ve testleri. **In**, Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis. 2. Baskı. s. 202-486, Bahivanlar Basım Sanayi, Konya, 2000.
- 16. Yurt AO:** Effect of meloxicam on serum vitamin and cytokine levels during endotoxemia. *Eurasian J Vet Sci*, 28, 47-53, 2012.
- 17. Taban M, Dupps WJ, Mandell B, Perez VL:** Etanercept (enbrel)-associated inflammatory eye disease: Case report and review of the literature. *Ocul Immunol Inflamm*, 14, 145-50, 2006.

18. Guo Z, Wang S, Jiao Q, Xu M, Xu Z: Soluble TNFR II/IgG1 Fc fusion protein treatment in the LPS-mediated septic shock of rats. *Biomed Pharmacother*, 63, 537-542, 2009.
19. Yazar E, Bulbul A, Avci GE, Er A, Uney K, Elmas M, Tras B: 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, 357-367, 2010.
20. Tukov FF, Luyendyk JP, Ganey PE, Roth RA: The role of tumor necrosis factor alpha in lipopolysaccharide/ranitidine-induced inflammatory liver injury. *Toxicol Sci*, 100, 267-280, 2007.
21. Ness RD: Rodents. In, Carpenter JW (Ed): Exotic Animal Formulary. Third edition, p. 377-410, Elsevier Saunders, Pennsylvania, USA, 2004.
22. Tasgin E, Lok S, Demir N: Combined usage of testosterone and nandrolone may cause heart damage. *African J Biotechnol*, 10, 3766-3768, 2011.
23. Buyukleblebici O, Karagul H: Streptozotisin ile deneysel olarak diyabet oluşturan ratlarda kromun biyokimyasal etkisi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 18, 21-26, 2012.
24. Er A, Uney K, Altan F, Cetin G, Yazar E, Elmas M: Effects of different doses of dexamethasone plus flunixin meglumine on survival rate in lethal endotoxemia. *Acta Vet Beograd*, 59, 47-51, 2009.
25. Irmak K, Civelek T: Septik şok şüpheli neonatal buzağılarda serum nitrik oksit (NO) konsantrasyonları. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 10, 65-67, 2004.
26. Cital M, Karapehivan M, Gunes V, Atakisi E, Uzlu E: Septisemi şüpheli buzağılarda serum sialik asit ve bazı biyokimyasal parametre düzeyleri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 10, 19-22, 2004.
27. Demirel MA, Kuplulu Ş: Investigation on the antiendotoxic effect of the combination of polymyxine and ampicillin in dogs with endotoxic pyometra. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16, 313-318, 2010.
28. Yazar E, Konyalioglu S, Col R, Birdane YO, Bas AI, Elmas M: Effects of vitamin E and prednisolone on some oxidative stress markers in endotoxemic rabbits. *Revue Med Vet*, 155, 538-542, 2004.
29. Keskin E, Oztekin E, Col R, Sivrikaya A, Uney K, Yazar E: Effect of pentoxifylline on antioxidant status of healthy and endotoxemic New Zealand white rabbits. *Acta Vet Brno*, 74, 17-21, 2005.
30. Konyalioglu S, Er A, Uney K, Elmas M, Yazar E: Effect of flunixin meglumin on the antioxidant status in endotoxemia. *Acta Vet Beograd*, 57, 241-246, 2007.
31. Er A, Altan F, Cetin G, Uney K, Tras B, Elmas M, Yazar E: Effects of enrofloxacin, flunixin and dexamethasone on indicators of oxidative and organ damage in lipopolysaccharide induced endotoxemia. *J Anim Vet Adv*, 9, 1495-1500, 2010.
32. Yazar E, Er A, Uney K, Altunok V, Elmas M: Effect of flunixin meglumine on cytokine levels in experimental endotoxemia in mice. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, 54, 352-325, 2007.
33. Uney K, Er A, Avci GE, Bulbul A, Elmas M, Yazar E: Effect of tilmicosin on serum cytokine levels in the endotoxemia. *J Anim Vet Adv*, 8, 1021-1024, 2009.
34. Er A, Yazar E, Uney K, Elmas M, Altan F, Cetin G: Effects of tylosin on serum cytokine levels in healthy and lipopolysaccharide-treated mice. *Acta Vet Hung*, 58, 75-81, 2010.
35. Vuolteenaho K, Moilanen T, Hamalainen M, Moilanen E: Effects of TNFalpha-antagonists on nitric oxide production in human cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*, 10 (4): 327-32, 2002.
36. Shen C, Assche GV, Colpaert S, Maerten P, Geboes K, Rutgeerts P, Ceuppens JL: Adalimumab induces apoptosis of human monocytes: A comparative study with infliximab and etanercept. *Aliment Pharm Ther*, 21, 251-258, 2005.
37. Fisher CJ Jr, Agosti JM, Opal SM, Lowry SF, Balk RA, Sadoff JC, Abraham E, Schein RM, Benjamin E: Treatment of septic shock with the tumor necrosis factor receptor: Fc fusion protein. The Soluble TNF Receptor Sepsis Study Group. *N Engl J Med*, 334, 1697-1702, 1996.
38. Redman CM, Xia H: A review of the expression, assembly, secretion and intracellular degradation of fibrinogen. *Fibrinolysis and Proteolysis*, 14 (2-3): 198-205, 2000.
39. Mateus L, Lopes da Costa L, Diniz P, Ziecik AJ: Relationship between endotoxin and prostaglandin (PGE2 and PGFM) concentrations and ovarian function in dairy cows with puerperal endometritis. *Anim Reprod Sci*, 76, 143-154, 2003.
40. Hagman R, Kindahl H, Fransson BA, Bergstrom A, Holst BS, Lagerstedt AS: Differentiation between pyometra and cystic endometrial hyperplasia/mucometra in bitches by prostaglandin F2alpha metabolite analysis. *Theriogenology*, 15, 198-206, 2006.
41. Bawolak MT, Touzin K, Moreau ME, Desormeaux A, Adam A, Marceau F: Cardiovascular expression of inflammatory signaling molecules, the kinin B1 receptor and COX2, in the rabbit: Effects of LPS, anti-inflammatory and anti-hypertensive drugs. *Regul Pept*, 146, 157-168, 2008.
42. Paiotti AP, Ribeiro DA, Silva RM, Marchi P, Oshima CT, Neto RA, Miszputen SJ, Franco M: Effect of COX-2 inhibitor lumiracoxib and the TNF- α antagonist etanercept on TNBS-induced colitis in Wistar rats. *J Mol Histol*, 2012. DOI 10.1007/s10735-012-9400-8
43. Yazar E, Col R, Konyalioglu S, Birdane YO, Elmas M, Bas AI: Effects of vitamin E and prednisolone on biochemical and haematological parameters in endotoxaemic New Zealand white rabbits. *Bull Vet Ins Pulawy*, 48, 105-108, 2004.
44. Makwana N, Baines PB: Myocardial dysfunction in meningococcal septic shock. *Curr Opin Crit Care*, 11, 418-423, 2005.
45. Elmas M, Yazar E, Uney K, Er Karabacak A: 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, 2006.
46. Elmas M, Yazar E, Uney K, Er Karabacak A, Tras B: Pharmacokinetics of enrofloxacin and flunixin meglumine and interactions between both drugs after intravenous co-administration in healthy and endotoxaemic rabbits. *Vet J*, 177, 418-424, 2008.
47. Choi DE, Jeong JY, Lim BJ, Na KR, Shin YT, Lee KW: Pretreatment with the tumor necrosis factor-alpha blocker etanercept attenuated ischemia-reperfusion renal injury. *Transplant Proc*, 41, 3590-3696, 2009.
48. Yazar E, Col R, Uney K, Atalay B, Elmas M, Tras B: Effects of pentoxifylline on biochemical parameters in endotoxemic New Zealand white rabbits. *Bull Vet Ins Pulawy*, 48, 105-108, 2004.
49. Elmas M, Yazar E, Uney K, Karabacak A: Pharmacokinetics of flunixin after intravenous administration in healthy and endotoxaemic rabbits. *Vet Res Commun*, 30, 73-81, 2006.
50. Khovidhunkit W, Memon RA, Feingold KR, Grunfeld C: Infection and inflammation-induced proatherogenic changes of lipoproteins. *J Infect Dis*, 181, 462-472, 2000.
51. Mathieu S, Dubost JJ, Tournadre A, Malochet-Guinamand S, Ristori JM: Soubrier M. Effects of 14 weeks of TNF alpha blockade treatment on lipid profile in ankylosing spondylitis. *Joint Bone Spine*, 77, 50-52, 2010.
52. Gisondi P, Cazzaniga S, Chimenti S, Giannetti A, Maccarone M, Picardo M, Girolomoni G, Naldi L and Psocare Study Group: Metabolic abnormalities associated with initiation of systemic treatment for psoriasis: evidence from the Italian Psocare Registry. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2012 Feb 7. doi: 10.1111/j.1468-3083.2012.04450.x.