

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ENROFLOKSASİNİN ETLİK CİVCİV VE PİLİÇLERDE
EKLEMLERE YÖNELİK ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK
VE BİYOKİMYASAL PARAMETRELER İLE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ishraga Gaafar IBRAHİM

**FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ender YARSAN

2006 – ANKARA

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Çizelgeler Dizini	viii
Şekiller Dizini	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Enrofloksasin	1
1. 1. 1. Özellikleri ve Yapı Etki İlişkisi	2
1. 1. 2. Etki Şekli	3
1. 1. 3. Etki Spektrumu	4
1. 1. 4. Farmakokinetik	4
1.1. 5. Kullanılma	5
1. 1. 6. Bakteriyel Direnç	6
1. 1. 7. Toksisitesi	6
1.1.7.1 Akut Toksisite	6
1. 1.7. 2 . Subkronik Toksisite	7
1.1.7.3. Kronik Toksisite	7
1. 1. 7. 4. Embriyotoksik ve Teratojenik Etki	8
1. 1. 7. 5. Mutajenik Etki	8
1. 1. 8. Yan Etkiler	8
1.2. Kıkırdak Yapı	10
1. 3. Etkin Oksijen Grupları	12
1. 4. Antioksidan Maddeler	15
1.4.1. Süperoksit dismutaz	16
1.4.2. Katalaz	17
1.4.3. Glutasyon peroksidaz	17
1.4.4. Malondialdehid	18

1. 5. Etkin oksijen gruplarının kıkırdak dokusundaki etkisi	18
1. 6. Kinolonların Kıkırdak Yapı Üzerindeki Etkisi	21
1. 7. Amaç	30
2. GEREÇ VE YÖNTEM	31
2.1. Hayvan Deneyi	31
2.1.1. Hayvanların Bakım ve Beslenmeleri	31
2.1.2. Hayvanların Gruplandırılması ve İlaç Uygulanması	32
2. 2. Mikrobiyolojik Test	32
2. 2.1.1. Cihaz ve Gereçler	32
2. 2.1. 2. Kimyasal Maddeler	32
2. 2.1. 3. Standart Şuş	33
2. 2. 2. Plazmanın hazırlanması	33
2. 2. 3. Enrofloksasin Standart Eğrisinin Hazırlanışı	33
2. 2. 3.1. Enrofloksasin Stok Çözeltilisi	33
2. 2. 4. Testlerin Yapılışı	34
2. 3. Farmakokinetik Hesaplamalar	35
2. 4. Oksidatif Metabolizmanın Değerlendirilmesi	35
2. 4.1. Araç ve Cihazlar	35
2. 4.2. Kimyasal Maddeler	36
2. 4. 3. Eritrositlerin Analize Hazırlanması	36
2. 4. 4. Hemogloblin Tayini	37
2. 4. 5. Süperoksid Dismutaz Aktivitesi Tayini	38
2. 4. 6. Katalaz Aktivite Tayini	40
2. 4. 7. Malondialdehid Tayin Yöntemi	41
2. 5. Plazmada Magnezyum Düzeyinin Belirlenmesi	43
2.6. Histopatolojik Çalışma	44
2.6.1. Araç ve Cihazlar	44
2.6.2. Kimyasal Maddeler	44
2.6.3. Eklem Kıkırdık Dokusunun Mikroskopik İnceleme İçin Hazırlanması	45
2. 7. İstatistik Hesaplamalar	45
3. BULGULAR	46

3. 1. Farmakokinetik Bulgular	46
3. 2. Oksidatif Metabolizma	48
3. 3. Makroskopik Bulgular	53
3 . 4. Histopatolojik Bulgular	53
4. TARTIŞMA	57
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	63
ÖZET	64
SUMMARY	65
KAYNAKLAR	66
EKLER	78
Ek-1 (Etik Kurul Kararı)	79
ÖZGEÇMİŞ	80

ÖNSÖZ

Antibiyotikler çiftlik hayvanlarında gerek yemden yararlanmayı ve gelişmeyi artırıcı; gerekse mikrobiyal hastalıkların tedavisinde olarak yaygın şekilde kullanılırlar. Bununla birlikte kanatlı endüstrisinde kullanılan bazı antibiyotik gruplarının organizmada farklı yapılar üzerinde olumsuz etkileri de söz konusudur.

Bu çalışmada, florokinolon grubu maddelerden, enrofloksasinin kanatlılarda eklem dokuya yönelik etkilerinin değerlendirilmesi hedeflendi. Eklemlere yönelik hasarın tam olarak tespit edilebilmesi amacıyla çalışma kapsamında histopatolojik inceleme yapıldı ve oksidatif metabolizmaya ilişkin parametreler de ayrı ayrı değerlendirildi. Bu şekilde eklemlere yönelik hasar ile oksidatif metabolizma arasındaki ilişki de değerlendirdi.

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde öncelikle, burs vererek çalışmalarına ve eğitimime olanak sağlayan Sudan ve Türk Hükümetlerine teşekkür etmeyi bir borç bilirim. Doktora dönemi ve tez çalışmasında emeği geçen, yol göstericiliği, sabrı ve anlayışı için danışmanım Sayın Prof. Dr. Ender YARSAN'a içtenlikle teşekkür ederim. Doktora eğitiminde Anabilim Dalı imkanlarından yararlanmamı sağlayan ve tez izleme komitemde de bulunan Prof. Dr. Sezai Kaya'ya, histopatolojik değerlendirmelerdeki yardımlarından dolayı Patoloji Anabilim Dalından Prof. Dr. Yılmaz AYDIN, Araş. Gör. Dr. Zafer ÖZYILDIZ ve Araş. Gör. Banu YARDIMCI'ya, laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Süreyya KARAASLAN'a, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Araş. Gör. Zafer CANTEKİN ve Khairsid ABDULLAH'a, çalışmalarım sırasında yardımcı olan ve dostane bir ortam oluşturdukları için Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm meslekdaşlarıma teşekkür ederim. Bu çalışmayı tamamlayabilmem için cesaretlendirmeleri ve her zaman gösterdikleri destek için aileme de ayrıca çok teşekkür ediyorum.

SİMGELER VE KISALTMALAR

∞	Plazma ilaç yoğunluğu dağılma dönemi hız sabitesi
β	Plazma ilaç yoğunluğu atılma dönemi hız sabitesi,
$t_{1/2a}$	Ağızdan verilme durumunda sindirim kanalından emilme yarı ömrü
$t_{1/2\infty}$	∞ dönemi yarı ömrü
$t_{1/2\beta}$	β dönemi yarı ömrü
k_a	Emilmeli verilmelerde merkezi bölmeye birinci derece sabitesi
OKS	İlacın vücuttan % 63.2'sinin atılması için geçen süre
C_{max}	En yüksek plazma ilaç yoğunluğu
EAA	Plazma ilaç yoğunluğu zaman eğrisi altında kalan alan
T_{max}	En yüksek plazma ilaç yoğunluğu zamanı
CAT	Katalaz
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
H_2O_2	Hidrojen peroksit
MDA	Malondialdehit
NBT	Nitroblue tetrazolium
OA	Osteoartritis
PBS	Fosfat tampon solusyonu
Pİ	Periton içi
QAP	Kinolon artropati
ROS	Etkin oksijen grubu
RA	Romatoid artritis
SOD	Süperoksid dismutaz
TBA	Tiyobarbitürik asit

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. 1.	Ağız yoluyla 2.5 mg/kg dozda enrofloksasin uygulanmasından sonra değişik zamanlarda tavukların bazı dokuları ve serumlarındaki ilaç yoğunluğu	5
Çizelge 2. 1.	Çalışma kapsamında kullanılan yemin özellikleri	31
Çizelge 2. 2.	Enrofloksasin standart eğrisinin hazırlanışı	34
Çizelge 3. 1.	Farklı dozlar ile verilen enrofloksasinin Farmakokinetik değişkenleri	48
Çizelge 3. 2.	Çalışma gruplarındaki MDA miktarları (nmol/ml) (ortalama± standart sapma; en alt ve en üst değerler).	49
Çizelge 3. 3.	Çalışma gruplarındaki SOD aktiviteleri (U/gHb) (ortalama±standart sapma, en alt ve en üst değerler).	50
Çizelge 3. 4.	Çalışma gruplarındaki CAT aktiviteleri (K/mgHb) (ortalama ± standart sapma; en alt ve en üst değerler).	51
Çizelge 3. 5.	Çalışma gruplarındaki Mg düzeyleri (mg//100ml) (ortalama ± standart sapma; en alt ve en üst değerler).	52

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 1.	Enrofloksasinin kimyasal yapısı	2
Şekil 3. 1.	Enrofloksasin standart eğrisi	47
Şekil 3. 2.	Enrofloksasinin plazma yoğunluğu-zaman eğrisi	47
Şekil 3. 3.	Çalışma gruplarındaki 14. ve 30. günlerdeki MDA miktarları	49
Şekil 3. 4.	Çalışma gruplarında 14. ve 30. günlerdeki SOD aktiviteleri	50
Şekil 3. 5.	Çalışma gruplarında 14. ve 30. günlerdeki CAT aktiviteleri	51
Şekil 3. 6.	Çalışma gruplarında 14. ve 30. günlerde Mg miktarları	52
Resim 1.	Eklem kıkırdağının normal histolojik görünümü	55
Resim 2.	Eklem kıkırdağının 14. günde histolojik görünümü	55
Resim 3.	Eklem kıkırdağının 30. günde histolojik görünümü	56

1. GİRİŞ

Kinolonlar yaygın şekilde kullanılan antibakteriyel ilaçlardır. Bu ilaçların geliştirilmesi 1960'lı yılların başlarında, yapısında flor ihtiva etmeyen ilk üyesi olan nalidiksik asit ile başlamıştır. 1980'lerde yapılarında 6-flor grubu bulunduran ve antibakteriyel etki spektrumları Gram negatif bakterileri de kapsayacak şekilde genişletilmiş türevleri (norfloksasin, oflaksasin, siprofloksasin gibi) ortaya çıkmıştır. Daha sonraki dönemde Gram pozitif bakterilere karşı etkisi artırılan florokinolonlar (moksifloksasin, gatifloksasin) tedavisel amaçla kullanılmaya başlanmıştır. Son zamanlarda ise yüksek etkinliğe sahip, 6 numaralı C atomlarında flor grubu taşımayan ancak yan zincirde flor ihtiva eden türevleri geliştirilmiştir. Bu şekliyle hazırlanan ilaçlar nalidiksik asit gibi klasik ilaçlardan belirgin farklılıklar gösterirler ve genel bir terim olarak da florokinolon yerine yalnızca kinolon olarak da adlandırılırlar (Stahlmann, 2002).

Çok sayıda florokinolon sentezlenip geliştirilmesine rağmen, veteriner hekimliğinde en çok kullanılanlar siprofloksasin, danofloksasin, difloksasin, enrofloksasin, marbofloksasin, norfloksasin nikotinat ve oflaksasin olmuştur. Bunlar içerisinde de enrofloksasin veteriner hekimliğinde ilk kullanılan florokinolon türevidir (Brander ve ark, 1994).

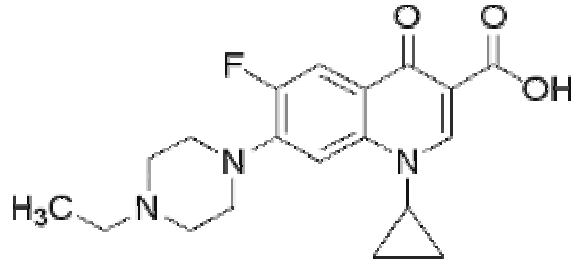
1.1. Enrofloksasin

Enrofloksasin ilk olarak Grohe ve Peterson tarafından 1980 yılında sentezlenmiş ve bu tarihten itibaren veteriner hekimlikte geniş şekilde kullanılmıştır (Wentland ve ark., 1993). Amerika'da Gıda ve İlaç Dairesi 1996'da enrofloksasin'in tavuk hastalıklarının tedavisinde kullanılmasını onaylamıştır (Health poultry, 2004). Köpek, sığır, kedi ve tavukların enfeksiyonlarında enrofloksasin, kinolonlar arasında en yaygın kullanılan antibakteriyel ilaçlardandır (Walker, 2000).

1. 1. 1. Özellikleri ve Yapı Etki İlişkisi

Enrofloksasin, sentetik bir 6-florokinolondur. Çekirdek yapısı nalidiksik asit ile aynıdır. Temel yapısındaki değişiklikle, istenmeyen etkileri azalırken, antimikrobiyal etki gücü ve farmakokinetik özellikleri oldukça gelişmiştir. Geniş etki spektrumu ve antimikrobiyal etkinlik için, C6 grubuna bağlanan flor ve C7'de bulunan piperazin halkası esastır (Altreuther, 1987; Chu ve Fernandes, 1989; Intorre ve ark., 1997; Anadon ve ark., 1999; Bayer, 1999).

Enrofloksasin (1- siklopropil - 7 - (4 - etil - 1 - piperazinil) - 6 - floro - 1,4 - dihidro - 4 - okso - 3 - kinolon karboksilik asit), nalidiksik asit çekirdeğinden türetilen sentetik 6 - florokinolonlar veya 4- kinolonlar grubuna aittir (Şekil 1).



Şekil 1. Enrofloksasinin kimyasal yapısı (Bayer, 1999).

Çekirdek yapıdaki 3- ve 4- pozisyonlarında yer alan karbonil grupları (C=O), genel olarak florokinolonların antimikrobiyal etkinlikleri için gereklidir. Bu gruplar *DNA jiraza* bağlanma bölgesini oluştururlar. Altı- pozisyonunda yer alan bir flor atomu, Gram negatif mikroorganizmalara karşı etkinliği artırırler, Gram pozitif bakterilere karşı etki spektrumunun genişlemesini sağlar. Yedi- pozisyonundaki piperazin halkası pseudomonasları da içine alacak şekilde, antimikrobiyal etkinliğini artırır.

Piperazin halkasına bitişik durumda bir C₂H₅ grubunun varlığı, dokulara geçişi artırır ve beyinde GABA reseptörlerine bağlanan etkin madde miktarını azaltarak, merkezi sinir sistemi üzerindeki zehirli etkiyi düşürür. Karboksilik asit veya daha fazla sayıda amin fonksiyonel grubunun (bazik) varlığına bağlı molekül, amfoterik veya zwitteriyonik özellikler kazanır. Bundan dolayı, asidik ve bazik fonksiyonel grupları pKa değerlerine bağlı olarak, yağda çözünebilir, doku, irin ve organik artıklara nüfuz edebilir (Altreuther, 1987; Bayer, 1999).

Enrofloksasin soluk sarı renkli, yüksek saflıkta kristal bir maddedir. pH 7'de, suda az çözünür. Ancak, asidik ve bazik gruplar (betain yapısı) ihtiva etmesi nedeniyle, pH değerleri alkali veya asidik olsa dahi çözelti haline getirilebilir (Altreuther, 1987; Kaya, 2000).

Küçük hayvanlarda yapılan araştırmalar, diğer kinolonlardaki gibi enrofloksasinde de bakterisidal etkinin yoğunluğa bağlı ortaya çıktığını göstermiştir (Meinen ve ark., 1995; Wetzstein ve DeJong, 1996). Enrofloksasinin bakterileri öldürücü etkisi ortamdaki ilaç yoğunluğuna bağlıdır; etkinlikleri 90 µg/ml'ye kadar artarken, bundan sonra zayıflar. Bunun muhtemel sebebi yüksek düzeydeki ilaç yoğunluklarında RNA sentezinin engellenmesidir; olay DNA sentezinin durmasıyla sonuçlanır (Kaya, 2000; Brander ve ark., 1994). Plazmada en yüksek yoğunluğa ulaşmak için, enrofloksasin günlük dozu tek sefer uygulanmalıdır. Tekrarlayan enfeksiyonlarda veya pseudomonas enfeksiyonlarında ilacın günlük dozu ve süresinin artırılması tavsiye edilmiştir (Wetzstein and DeJong, 1996; Boothe, 1997).

1. 1. 2. Etki Şekli

Enrofloksasin, doğrudan DNA sentezini baskılar. *Topoizomeraz II (DNA jiraz)* ve *topoizomeraz IV* olarak adlandırılan iki enzimi baskılayarak bakteriyel DNA metabolizmasına etki eder (Hooper ve Wolfson, 1993; Hooper, 2000).

1. 1. 3. Etki Spektrumu

Enrofloksasinin etki spektumu geniştir. Gram-negatif, Gram-pozitif bakterilere, mikoplazma ve riketsia ailesindekilere (*Riketsia*, *Ehrichia* ve *Chlamidia*) son derece etkilidir (Breitschwerdt ve ark., 1991; Lindenstruth ve Frost, 1993; Kontos ve Athanasiou, 1998). Enrofloksasin kedilerin mikoplazma infeksiyonlarının sağaltımında da uygulama alanı bulur (Studdert ve Hughes,1992; Evans ve Caylor, 1995).

1. 1. 4. Farmakokinetik

İlaç ağızdan ve parenteral yollarla uygulanır. Ağızdan verildikten sonra duodenum ve jejunum'dan emilir (Brown, 1996). Uygulanmalarını takiben çok kısa zamanda plazmada doruk yoğunluğa ulaşır; 1-6 saat sonra etkin kan yoğunluğu sağlanır. Çizelge 1'de bazı dokularda enrofloksasin yoğunluğu gösterilmektedir. Yemlerle birlikte verilmesi sindirim kanalından emilme oranlarını bir ölçüde azaltır (Küng ve Wanner, 1993).

Parenteral yolla verildiğinde uygulama yerlerinden hızlı ve tam emilir (Brown, 1996). Uygulamadan 1 saat sonra serumda en yüksek yoğunluğa ulaşır. Etlik piliçlere 10 mg/kg enrofloksasin ağız yoluyla verildikten sonra plazmada, dağılma yarı ömrü 2.091 ± 0.705 saat, atılma yarı ömrü 14.82 ± 4.67 saat; EAA 18.395 ± 2.22 g.saat/ml olarak tespit edilmiştir (Kaya ve ark., 1996).

Çizelge 1. Ağız yoluyla 2.5 mg/kg dozda enrofloksasin uygulanmasından sonra değişik zamanlarda tavukların bazı dokuları ve serumlarındaki ilaç yoğunluğu (Scheer,1987).

Tür	Hayvanın yaşı (hafta)	Doku	Ortalama konsantrasyonu ($\mu\text{g/ml}$ veya $\mu\text{g/g}$)					
			0,5	1	2	4	6	24 saat
Etlik piliç	3	Serum	0,3	0,5	0,3	0,2	0,1	0,01
		Akciğer	0,4	0,7	0,4	0,2	0,2	<0,02
		Kas	0,5	0,8	0,5	0,3	0,2	<0,02
		Böbrek	0,7	1,3	0,8	0,6	0,4	<0,02
		Karaciğer	1,6	2,3	1,3	0,9	0,6	<0,02

Tüm hücrelere dağılır, dokulara iyi nüfuz eder. Dokulardaki yoğunluğu plazma yoğunluğuna eşit ya da ondan daha fazladır. Enrofloksasin vücutta, kendisi gibi etkili siprofloksasin yanında, birçoğu etkisiz metabolitlere çevrilir; ilacın % 10-50 kadarı değişmemiş halde ve başlıca idrar ve safrayla vücudu terk eder; safrayla sindirim kanalına gelen ilaçların bir kısmı buradan geri emilir. İlaç böbreklerden başlıca etkin tubüler salgılanma ile atılır (Baydan ve ark.,1998; Scully, 1990). Karaciğer rahatsızlığı olan hastalarda ilacın biyolojik yarı ömrü uzar (Galtier ve ark., 1993). Atılma yarı ömrü tavuklarda 10 saat, hindilerde 4-6 saat ve köpeklerde 4 saat dolayındadır (Kaya, 2000).

1. 1.5. Kullanılma

Kinolonlar üriner sistem, prostat yangısı, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, mide-bağırsak yangısı, solunum sistemi, kemik ve eklem enfeksiyonları ile cinsel yolla bulaşan hastalıkların tedavisinde çok kullanılırlar (Wolfson ve Hooper, 1989a; Bertino ve Fish, 2000).

Enrofloksasin ayrıca sindirim sistemi, yumuşak doku ve kemik hastalıklarında da kullanılır. Enrofloksasin alabalıkların *Aeromonas salmonicida* enfeksiyonunda 10 mg/kg dozda uygulanmaktadır. Enrofloksasin dirençli bakteriler tarafından oluşturulan solunum yolu, üro-genital sistem enfeksiyonlarında da başarı ile kullanılır. Yine pyoderma, osteomyelitis ve Gram negatif bakteriler tarafından oluşturulan septisemilerin sağaltımında, tavuk ve hindilerin CRD enfeksiyonlarında ve sığırların mastitislerinin sağaltımında da kullanılmaktadır (Parlar, 2000).

1. 1. 6. Bakteriyel Direnç

Enrofloksasine karşı, bazı bakterilerde kromozom aracılı ve gayet yavaş şekilde dirençli suşlar ortaya çıkmıştır (Neuman, 1988). Bakteriler arasında enrofloksasine direncin artması, tıp ve veteriner hekimlikte bu ilacın kullanımının yaygınlaşmasıyla paralellik gösterir. Yapılan bir araştırmada (Endtz ve ark., 1991), enrofloksasinin kanatlı endüstrisinde geniş bir şekilde kullanılması nedeniyle, bu tür dirençlilik olguları değerlendirilmiş ve özellikle dirençli *Campylobacter* türlerinin tavuklardan insanlara geçtiği gözlenmiştir. *Salmonella typhimurium*'da enrofloksasine karşı ribozomal dirençlilik şekillendiği ortaya konmuştur (Zengin, 1996).

Dirençlilik, enrofloksasinle sinerjistik etki gösteren ilaçların birlikte kullanılmasıyla azaltılabilir; aminoglikozidler, fosfomisin (Stafilokoklara karşı), β -laktamlar ve diğer DNA *jiraz* etkinliğini engelleyen maddeler (koumermisin, novobiosin) bu türden etkileşmelerin başlıca örnekleridir (Neuman, 1988).

1. 1. 7. Toksisitesi

1. 1. 7.1. Akut Toksisite

Enrofloksasinin tek doz uygulamasından sonraki toksisitesi oldukça düşüktür. Rat,

fare ve tavşanda, yaklaşık ÖD₅₀ değerleri ≥ 5000 , ≥ 5000 ve 500-800 mg/kg c.a'dır (Parlar, 2000). Bütün akut etkiler de tedavi için önerilen doz limitlerinin üstünde verilen durumlarda ortaya çıkar (Altreuther, 1987). Köpeklere normal tedavi dozunun 200 kat üstünde enrofloksasin (1000 mg/kg) verildiğinde kusma görülür (Altreuther, 1992).

1.1. 7. 2. Subkronik Toksikite

Enrofloksasinin 13 haftadan fazla bir süreyle yeme ilave edilerek verilmesi durumunda herhangi bir yan etki şekillenmemiştir. Rat, fare ve köpeklerde NOEL sırasıyla 165, 550 ve 52 mg/kg c.a. olarak bildirilmiştir (Altreuther 1992).

1. 1. 7. 3. Kronik Toksikite

Ratlara 630 mg/kg c.a./gün ve köpeklere 52 mg/kg c.a./gün dozunda ağız yoluyla 13 hafta süreyle enrofloksasin verildiğinde, hayvanlarda herhangi bir toksik etki oluşmadığı bildirilmiştir (Parlar, 2000).

Papağanlara 10 gün süreyle ağızdan 30 mg/kg enrofloksasin verilmesi sonucunda önemli biyokimyasal değişiklik gözlenmezken; aşırı susama ve dışkılamada artış olduğu, ilaç verilmesi kesildikten sonra bu durumun normale döndüğü bildirilmiştir (Baumgartner ve Pangerl, 1990).

Tavuk ve hindilerde yapılan bir çalışmada (Zengin, 1996), 3 gün süre ile 100 ppm dozunda suya katılarak verilmesi sonucu, su tüketimi, yumurtlama, dölleme veya yumurtadan civciv çıkma oranında herhangi bir değişikliğin olmadığı bildirilmiştir.

1. 1. 7. 4. Embriyotoksik ve Teratojenik Etki

Ratlara gebeliğin 6 ve 15. günlerinde 50, 210 ve 875 mg/kg c.a. dozunda enrofloksasin verildiğinde herhangi bir anomali durumuna rastlanmadığı, 210 ve 375 mg/kg c.a. dozunda verildiği gruplar ise fötüs ağırlığında hafif düşme ve kemikleşmede gecikme olduğu belirlenmiştir (Parlar, 2000). Köpek ve kedilerde tavsiye edilen dozun 175 kat daha fazlası verilen enrofloksasin, yavrularda canlı ağırlıkta bir gerileme ve azalmaya yol açtığı bildirilmiştir (Altreuther 1987; Parlar, 2000).

1. 1. 6. 5. Mutajenik Etkisi

Ames testi ve Çin hamsterlerinin ovaryum hücrelerinde yapılan çalışmalar sonucunda enrofloksasinin mutajenik etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Altreuther 1987; Parlar, 2000).

1. 1. 7. Yan Etkiler

Bakteriyel DNA *jiraz* üzerinde kinolonların etkisi ökaryotik jirazdaki etkisinden 100-1000 kat daha güçlüdür. Bu nedenle memeli dokularında kinolonların zehirliliği genellikle azdır (Boothe, 1994).

Merkezi sinir sistemi (MSS), mide bağırsak kanalı ve lökomotor sistem ile ilgili rahatsızlıklar kinolonların en önemli yan etkilerini oluşturur. Enrofloksasinin fare ve ratların sinir sisteminde şiddetli etki göstermediği bildirilmiştir (Filazi, 1995). Bununla birlikte, köpek ve kedi sinir sisteminde etkisi yoktur (Altreuther, 1992).

Enrofloksasinin sinir sistemine yönelik etkilerinin diğer kinolonlar gibi patogenezi tam olarak bilinmemektedir. GABA için antagonistik etkileri *in vitro* olarak 7

numaralı karbon atomundaki heterosiklik yapının sürdürülmesiyle mümkündür (Brown, 1996).

Bulantı, kusma, ishal ve mide-bağırsak kanalı ile ilgili rahatsızlıklar daha az sıklıkta görülür. Köpekler ile yapılan araştırmalar (Altreuther, 1992), tedavi dozunun çok üzerinde verilmesi durumunda (>1000 mg/kg c.a.) ishal oluştuğunu göstermiştir. Enrofloksasinin anaerobik koklara yönelik etkisi zayıf olduğundan, mide-bağırsak kanalına yönelik yan etkilerinin görülme sıklığı diğer kinolonlara göre daha azdır (Hooper ve Wolfson, 1993).

Farelerde yapılan uzun süreli bir fototoksisite çalışmasında (Stahlmann, 2002) siprofloksasin, nalidiksik asit gibi bazı kinolonların iyi huylu doku tümörlerine neden olduğu tespit edilmiştir.

Florokinolonların tendo yırtılmalarına neden olduğuna ilişkin ilk bilgiler 1991'de bildirilmiştir (Pierfitte ve Royer, 1996). Son zamanlarda yapılan araştırmalar (Shakibaei ve ark., 2000), yetişkin ve yetişkin olmayan ratlarda florokinolonlarla tedavi sonrasında tenositlerde ultrastruktürel değişikliklerin olduğunu göstermiştir. Etkiler aynı zamanda hayvanlara magnezyum içermeyen diyetler verildiğinde de belirgin şekilde ortaya çıkmıştır; bu durum tendopatilerin patofizyolojisinin kıkırdak dokudaki etkilere benzerlik gösterdiğine işaret etmektedir.

Yoon ve ark. (2004a) tarafından yapılan bir çalışmada, civciv tendosu kültürü üzerinde enrofloksasinin etkisi değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, elektron mikroskopta, tendo hücrelerinde çoğalmanın baskılandığı, yapılarında değişim ve kollajen fibrillerinin şekillendiği gözlenmiştir. Bu değişiklikler ilaç yoğunluğunun artmasıyla birlikte meydana gelmiştir. Enrofloksasinin at tendosu üzerinde de benzer etkilere yol açtığı gösterilmiştir (Yoon ve ark., 2004b).

1. 2. Kıkırdak Yapı

Kıkırdak doku, kondrosit adı verilen hücrelerden ve yüksek oranda hücre dışı matriksten meydana gelen bir destek dokusudur. Kıkırdak dokusu damarsızdır. Dokuya hakim olan unsurlar, kondrositler ve onların ürettikleri matriksten ibarettir. Kondrositler, matriks makromoleküllerinin sentezinden sorumludur. Bu nedenle kondrositler, iyi gelişmiş granüler endoplazmik retikulum ve golgi kompleksi içerirler. Kondrositler hücre dışı matriksi sentezler ve salgılar, kıkırdak matriks tip II kollajen, glikozaminoglikanlar, proteoglikanlar, glikoproteinler ve doku sıvısı içerirler (Özner ve ark., 1997; AOF, 2006).

Eklem kıkırdağının tek biyolojik ve mekanik özelliği, doku şekli ve kondrosit ile dokuyu koruyan matriks arasındaki kontraksiyona bağlıdır. Kondrosit doku matriksinin makromolekülleridir. Matriks dokusu ise 3 değişik molekülden oluşmaktadır. Bunlar kollajenler, proteoglikanlar ve kollajen olmayan proteinlerdir. Tip II, IX, ve XI kollajenler fibröz ağı oluştururlar. Bu fibröz ağ, dokunun esnek ve kuvvetli olmasını sağlar. Tip IV ise doğrudan kondrositin çevresinde bulunarak matriksle yapışmasını sağlar. Yapıdaki proteoglikanlar kıkırdağın sertliğini oluşturur. Büyük proteoglikanlar (agreganlar) dokuya baskılara karşı direnç kazandırarak uzun süre sağlam kalmasını sağlar. Dekorin, biglikan, fibromodulin gibi küçük proteoglikanlar, diğer makromoleküler matrikslerle bağlanarak matrikslerin stabilize olmasını sağlar. Kollajen olmayan proteinlerden olan anchorin C2 kondrositin matrikse bağlanmasına yardımcı olur. Diğer kollajen olmayan proteinlerden olan tenaskin ve fibronektin, kondrosit ve matriks arasındaki etkileşmeler üzerinde etkili olur. Matriks, eklem hareketi esnasında hücrelerin zedelenmelerini önler ve ayrıca hücreye ulaşan moleküllerin tipi ve yoğunluğunu belirler. Aynı zamanda kondrositin şeklinin belirlenmesinde de etkilidir (Buckwalter ve Mankin, 1998).

Normal matriksteki değişiklikler, kondrositin makromolekülerdeki diziliş şeklini ve meydana gelen değişiklikleri belirleme yeteneğine ve yeni moleküllerin uygun miktar ve tipinin yapımındaki istidadına bağlıdır. Eklemlerin kullanılması ile dokular üzerinde oluşan yüklenme sonucu mekanik, elektriksel ve fizikokimyasal sinyaller

oluşur. Bu sinyallerin, kondrositler üzerindeki etkisi, hücre yapımı ve yenilenmesine yöneliktir. Eklemlerin uzun süre aktif kullanılmaması durumu, matriksin içeriğinde değişikliklere ve bunun sonucunda da doku yapısındaki kayıpların yanı sıra hareket yeteneğinin de azalmasına neden olur. Diğer taraftan eklemlerin düzenli olarak kullanılması kondrositin üretme etkinliğini kamçılar ve iç dokuların yeniden düzenlenmesini sağlar (Buckwalter ve ark., 2005).

Matriks içinde yüksek orandaki hiyaluronik asit ve bununla birlikte bulunan proteoglikanlar, kıkırdağı kuşatan bağ dokusu içindeki kan damarları ile kondrositler arasında maddelerin diffüzyonuna izin verir. Böylece dokunun canlılığı sağlanır. Kıkırdak matriksinde hiyaluronik asidin yüksek oranda mevcut olması, özellikle eklemler gibi hareketli noktalarda kıkırdağın ağırlık kaldırma kapasitesini de artırır (Özner ve ark., 1997). Ara maddeye gömülü kollajenler çok miktarda su içerir, proteoglikanlar ise jel benzeri bir yapı oluştururlar. Bu iki yapının birlikte oluşturduğu ortam hem dokunun sağlamlığına hem de beslenmesi için gerekli diffüzyon ortamına olanak sağlar. Proteoglikanlar katyon bağlayıcı özelliindedir. Bu nedenle matriks içinde su ve elektrolitlerin taşınmasında önemli rol oynar (AOF, 2006).

Kıkırdakta kondrositlerin yapısı ve hücre dışı matriksin biyokimyasal kompozisyonu, yüzeyden derinlere doğru karakteristik değişiklikler gösterir. Yüzeysel hücreler, derinlerde bulunan hücrelerden daha küçüktür. Derin tabakalardaki hücreler daha fazla granüler endoplazmik retikulum, glikojen damlacıkları içerirken, yüzeysel hücrelerde vakuoller ve veziküller daha çok sayıdadır. Eklem kıkırdağında, tüm kondrositler fenotipik olarak benzerdir (Zanetti ve ark.,1985; Aydelotte ve Kuettner, 1988; Çavuşoğlu, 1995).

Eklem kıkırdağında hücre dönüşümü çok yavaştır. Erişkin eklem kıkırdağında normalde mitotik kondrositlere pek rastlanmaz. Ancak, seyrek de olsa, erişkin olmayan kıkırdağın radyer bölgesinde mitoz görülebilir. Normal artiküler kıkırdakta kondrosit ölümü ile oluşan işlevlere *in situ* nekrozis denir. Eklem kıkırdağında hücre

lizisi de görülür ve lipidik artıklar matrikste kalır. Mononükleer fagositik sistem hücrelerinin bu dokuda bulunmayışı nedeniyle, yaşlı hücrelerin ölümünden sonra hücreyel artıklar etkin olarak temizlenemez (Gough ve ark., 1992). Hasar durumunda eklem kıkırdağının onarımı gerçekleştirilebilir. Hücre yenilenmesi, hasar yerine komşu alanlarda hücre çoğalması (proliferasyon) şeklinde görülür. Bu onarım işlemi, diğer dokuların onarımı ile karşılaştırıldığında, oldukça yetersizdir; erişkin ve/veya yaşlı kıkırdaktaki etkinliği daha da azalır (Mankin, 1982).

Memelilerde eklem kıkırdağı yaşla birlikte eroziv ve dejeneratif lezyonlara açık hale gelir. Ancak, bu yapı aynı zamanda biyolojik olarak ayrıcalıklı bir dokudur. Sistemik olarak verilen ksenobiyotiklerin zehirli etkilerine dirençlidir; çünkü kıkırdakta sinirsel uyarı ve damarlaşma yoktur (Çavuşoğlu, 1995).

1. 3. Etkin Oksijen Grupları

Etkin oksijen kavramı ilk olarak 1900'de Gomberg tarafından açıklanmıştır. Dış yörüngesinde bir veya daha fazla çift olmayan elektron ihtiva eden serbest haldeki atom veya molekül olarak tarif edilebilir (Priscilla ve Heather, 2000). Etkin gruplar hidrojen atomu ile Fe, Cu, Mn gibi metaller ihtiva eder. Etkin oksijen grupları (ROS), hidrojen peroksit (H_2O_2), hipoklorid (OCl^-), hidroksil (OH), süperoksit (O_2^-) gibi maddelerdir (Henrotin ve ark., 2003). Etkin oksijen gruplarının reaksiyonunda enerjiye ihtiyaç azdır. Etkin oksijen grubu reaksiyonu yan reaksiyonları başlatan çok az enerjiyi gerektirir. Hayati işlevler için gerekli olan oksijen, etkin oksijen grubu oluşumuna da yol açtığı için sonuçta zehirleyici etki oluşturabilmekte ve çoğu hastalığın patojenitesinde etkili olmaktadır (Yarsan, 1998; Bergendi ve ark., 1999). Etkin oksijen gruplarının üretiminin artması ve/veya antioksidanların tüketilmesi, özellikle yangılı eklem hastalıkları, romatoid artrit, aterosklerozis, immunolojik yetersizlikler, katarakt, diabetes mellitus, kanser, hepatitis gibi değişik patolojik durumlarda gözlenmiştir (Bergendi ve ark., 1999). Oksidatif ve antioksidatif mekanizmalar arasındaki dengesizlik doku veya hücrelerin yapı veya fonksiyonlarında değişiklik oluşturacak kadar fazla ise, bu duruma oksidatif stres

denir. Oksidatif stres anormal katabolik bir durum olarak da değerlendirilir (Henrotin ve ark., 2005).

Etkin oksijen gruplarının dokularda meydana getirecekleri hasar ve bunların en önemli sonuçlarından biri olan lipid peroksidasyonu, son yıllarda üzerinde önemle durulan bir konudur. Yaşlanma ve yangı olaylarının açıklanmasında etkin oksijen gruplarından yararlanılmaktadır (Yarsan, 1998; Priscilla ve Heather, 2000).

Oksijen molekölü tek elektron olarak süperoksit grubunu ve iki elektron indirgenmesi ile hidrojen peroksidi meydana getirir. Süperoksit grubu fizyolojik pH'da, kendiliğinden oluşan bir dismutasyonla hidrojen peroksidi oluşturabileceği gibi, süperoksit dismutaz (SOD) ile de katalize edilip hidrojen peroksidi oluşturur. Hidrojen peroksit kendisi etkin oksijen grubu değildir; ancak, kolayca oksijen gruplarını oluşturduğundan bu sınıfta değerlendirilir (Kaneko, 1980; Dikshith, 1990; Donaldson, 1993).

Etkin oksijen grupları yapılarında tek elektron içeren kimyasal olarak etkin bileşiklerdir. Yaşam süreleri çok kısa olmasına karşın, çeşitli yapıları etkileşime girerek hücrenin yapı ve işlevlerinde önemli değişikliklere neden olurlar. Bunların etkileri şu şekilde ifade edilebilir (Kaneko, 1980; Comporti, 1993; Yarsan, 1998 ; Bergendi ve ark.,1999):

- a. Nükleik asit, nükleotid, protein ve protein yapısında olmayan tiyoller (tiyol oksidasyonu) gibi maddelerle tepkime,
- b. Hücre zarı bileşenleri (proteinler, lipidler, enzimler, reseptörler ve taşıma sistemleri),
- c. Lipid peroksidasyonu başlatıcı etkileri.

Mikrosirkülasyonda gerek enzimatik yollarla gerekse metabolik olaylar sonucunda oksijen grupları şekillenir. Bu sistemlerin dışında, başta mitokondriyonlarda elektron taşınması sırasında olmak üzere, endoplazmik retikulum ve hücre zarı elektron

taşıma sistemleri, *prostaglandin sentetaz* ve *lipooksijenaz* sistemleri, enzimler, proteinler, endojen otookside olabilen bileşikler, radyasyon, sigara dumanı, pestisidler, zehirli gazlar, ilaçlar ve karsinojen maddeler etkin oksijen gruplarının kaynağını oluşturur (Kaneko, 1980; Pikul ve ark., 1985; Fraga ve ark., 1989; Karppanen ve ark., 1989; Dikshith, 1990; Comporti, 1993; Yarsan, 1998).

Normal şartlarda oksijen redaksiyonu sonucu etkin oksijen üretilebilir. Etkin oksijen grupların ataklarına ve hasar yapıcı özelliklerine karşın hücreler doğal olarak oksidatif hasarı azaltmaya veya sınırlandırmaya yeteneklidirler. Aerobik organizmalar da kendilerine özgü çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bu sistemlerin fonksiyonel komponentlerine “antioksidan” denmekte ve bunlar fonksiyonlarına göre 3 katagoriye ayrılmaktadır (Ursini ve ark., 1981):

a. Koruyucu antioksidanlar: Değişik yollarla etkin oksijen gruplarının etkisini azaltmaktadırlar. Hidrojen peroksitlerin yapısını değiştirerek glutasyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT), reaktif oksijen dismutasyonu sonucu SOD, karotenoidler ve metal iyonunu ayırarak (apoferritin, transferin, laktoferrin, seruplasmin) bu etkiye yol açarlar.

b. Çöpçü (temizleyici) antioksidanlar: Etkin oksijen türlerinin oluşumu, baskılama yoluyla da engellenir. Bunlar zincir oluşumunun başlamasını baskılar veya zincir oluşumunu kırarak yayılmasını engellerler (Vitamin E, C, karotenoidler, ubiguinol, ürik asid, bilirubin).

c. Onarım mekanizması olan antioksidanlar (*proteaz* ve *fosfolipaz A*).

Etkin oksijen gruplar ile ilgili değerlendirmeler üç kritere bağlı olarak yapılabilir (Bergendi ve ark., 1999):

a. Etkin grupların *in vivo* olarak kimyasallarla dolaylı olarak yakalanması ve daha sonra da *ex vivo* da elektron spin rezonans (ESR) kullanarak ölçülmesi,

- b. Doğal savunma sistemini (SOD, CAT gibi) oluşturan etkin maddelerin miktarlarının belirlenmesi,
- c. Birçok araştırmada olduğu gibi malondialdehid (MDA) gibi lipid peroksidasyonun son ürünlerinin ölçülmesi.

1. 4. Antioksidan Maddeler

Etkin oksijen gruplarının hasar yapıcı özelliklerine karşın hücreler doğal olarak oksidatif hasarı azaltmaya veya sınırlandırmaya çalışırlar. Hücre koruyucu mekanizmalar oksijen gruplarını gidermek ve detoksifiye etmek üzere düzenlenmiş birçok enzim sistemini içerirler (Benlier,1998; Yalçın, 1998). Başlıca doğal antioksidan etki çeşitleri ve antioksidan sistemin başlıca elemanları aşağıdaki gibidir (Benlier, 1998):

Enzimler: Antioksidan olarak etkinlik gösteren başlıca enzimler; SOD, CAT, GSH-Px, GSH-R ve GST'dir.

Suda Çözünen Grup Tutucuları: Bu şekilde etkinlik gösteren maddeler indirgenmiş GSH, vitamin C, ürik asit, glukoz ve sisteindir.

Yağda Çözünen Grup Tutucuları: Bunlar; vitamin E, B Karoten, bilirubin, ubikinol ve flavonoidlerdir.

Metal İyonlarını Bağlayan Proteinler: Metal iyonlarını bağlayarak etkinlik gösteren antioksidanlar ferritin, transferrin, haptoglobulin, hemopeksin, seruloplazmin ve albumindir.

Diğer Antioksidanlar: Yukarıda sözü edilen antioksidanların dışında, çok sayıda endojen ve ekzojen molekülün antioksidan etkisi olduğu bildirilmiştir (Benlier, 1998).

1.4.1. Süperoksit dismutaz

Süperoksit dismutaz'ın keşfedilmesi bilimsel çevrelerde büyük yankı uyandırmıştır. Çünkü, SOD sadece süperoksidi (oksijen metabolizması temel ürünü) üretmekle ve açığa çıkartmakla kalmaz, aynı zamanda detoksifikasyon özelliği de gösterir. Etkin oksijen gruplara karşı organizmadaki ilk savunma SOD ile gerçekleşir. Bu maddeye başlangıçta sitokoprotein daha sonra ise Cu,Zn-SOD ismi verilmiştir (Bergendi ve ark., 1999).

Süperoksit dismutaz aerobik hücrelerin tümünde bulunurken anaerob hücrelerin çoğunda bulunmamaktadır. SOD'un aerobik hücrelerin yaşamı için gerekli olduğu gösterilmiştir (Fridovich, 1986; Benlier,1998). Hücrelerdeki SOD miktarı normal koşullarda oluşan O₂ üretimini karşılayacak kadardır. Yüksek oksijen yoğunluklarında SOD sentezi artmakla birlikte zehirliliğinin azaltılmasında yetersiz kalmaktadır. Süperoksit dismutaz, süperoksidi dismutasyon sonucunda H₂O₂ ve O₂'ye dönüştürür. Dismutasyon ile oluşan H₂O₂ ise CAT veya GSH-Px tarafından O₂ ve H₂O'ya indirgenmektedir (Ufuk, 1992; Bergendi ve ark., 1999).

İnsanlarda 3 tip SOD vardır. Bunlar sitozolik Cu Zn-SOD, mitokondriyal Mn-SOD ve hücre dışı SOD (EC-SOD) (Bergendi ve ark., 1999).

Süperoksit dismutaz, ROS'un zehirliliğinin azaltılmasında önemli fakat sınırlı rol oynamaktadır. Çünkü, H₂O₂ zehirliliğini önleyen enzimler etkisiz veya yetersiz ise zehirli oksidatif strese sebep olabilir (Bergendi ve ark., 1999).

Molekülünde bulunan Cu katalitik etkiden sorumludur; kimyasal yapı Zn tarafından daha da sağlamlştırılmaktadır (Bergendi ve ark 1999).

Süperoksit dismutaz, CAT ve GSH-Px'dan farklı olarak etkin oksijen grubu substrat olarak kullanır. Organizmada oksidatif stresin arttığı klinik durumlarda SOD,

aktivitesini arttırarak koruyucu etkinliğini devam ettirir. Özellikle antioksidan etkili diğer enzimlerin aktivitelerinde azalmanın söz konusu olduğu klinik durumlarda SOD'un aktivitesinin arttığı çeşitli araştırmalarda gösterilmiştir (Ufuk, 1992; Seven ve Candan, 1996; Bergendi ve ark., 1999).

Süperoksit dismutaz'ın Cobb ırkı beyaz tavuklardaki (Ross PM 3) aktivitesi 18 IU/mg iken, bu düzey vitamin C verilmesi durumunda % 20 kadar yükselebilir (Aydemir ve ark., 2000). Ross ve Cobb ırkı tavuklardaki SOD aktivitesi ise 47.25 ve 42.98 U/g Hb'dir (Altan ve ark., 2003).

1.4.2. Katalaz

Katalaz, tüm hücre tiplerinde değişik yoğunluklarda bulunur; % 20'si sitoplazma, % 80'i de peroksizomlarda yerleşir ve hidrojen peroksitle tepkimeye girer (Seven ve Candan, 1996; Benlier, 1998).

Katalaz ve GSH-Px'in H_2O_2 'in yıkımlanmasında etkili olduğuna dair araştırmalar vardır. Süperoksit dismutazın süperoksit anyon gruplarına etkin açığa çıkan hidrojen peroksit CAT'la H_2O ve O_2 'ye dönüşür (Bergendi ve ark, 1999).

Katalaz'ın beyaz (Ross PM 3), Ross ve Cobb ırkı tavuklardaki aktivitesi sırasıyla 310 IU/mg, 349.93 ve 381.12 (k/gHb) olarak ölçülmüştür (Aydemir ve ark., 2000; Altan ve ark., 2003).

1.4.3. Glutasyon peroksidaz

Normal koşullarda hücrelerde bulunan H_2O_2 'in zehirsizleştirilmesinden esas olarak GSH-Px sorumludur. Glutasyon peroksidaz lipid peroksidasyonun başlamasını ve gelişmesini önleyici özellikte bir enzimdir (Seven ve Candan, 1996).

Süperoksit gruplarının zehirliliğinin önlenmesi için enzim sistemleri bulunmasına karşın OH• için benzer sistemler yoktur. Hidroksil grubu düzeyi, ancak H₂O₂ ve O₂ düzeylerinin kontrolü yardımıyla denetlenebilir. Süperoksit dismutaz etkili bir biçimde etkin O₂ zehirliliğinin önlenmesine karşın, sonuçta H₂O₂ olduğundan etkin oksijen grupları tam olarak giderilmiş sayılmaz. Çünkü etkin O₂ ve H₂O₂, demir katalizörlüğünde tepkimeye girerek OH• oluştururlar; bu, bilinen en zehirli etkin oksijen gruplarıdır. Hidroksil grubu, suyun yüksek enerjili iyonizan radyasyona maruz bırakılmasıyla da oluşur ve canlı dokularda iyonizan radyasyonun yaptığı hasarın büyük kısmından sorumludur (Ufuk, 1992).

1.4.4. Malondialdehid

Malondialdehid, çoğunlukla oksidatif stres belirteci olarak kullanılmaktadır. Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle sona ermektedir. Bu bileşiklerden sonuncusu olan MDA, tiyobarbitürik asit testi ile ölçülmekte ve bu yöntem lipid peroksidasyonunun saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır (Benlier, 1998).

1. 5. Etkin oksijen gruplarının kıkırdak dokusundaki etkisi

Etkin oksijen, hem hücre fizyolojisini etkilemekte hem de hücre içi yapılara yayılmaktadır. Aynı zamanda hücre tahribatına da iştirak etmektedir (Henrotin ve ark., 2005). Etkin oksijen grubu, hücre etkinlikleri, hücre çoğalması ve matriks remodülizasyonu gibi temel kondrosit etkinliklerinde önemli rol oynamaktadır. Etkin oksijen grubu üretimi antioksidan kapasitesinden fazla olursa “oksidatif stres” ortaya çıkmaktadır. Bu stres de hücre ölümüne ve kıkırdak yapısı ile fonksiyonlarında tahribata neden olmaktadır. Yüksek düzeyde ROS’un kondrositler için sitotoksik etki yaptığına dair birçok yayın mevcuttur (Murphy ve Sambanis, 2001; Scherer ve ark., 2004; Henrotin ve ark., 2005).

Etkin oksijen grubu, kıkırdak degradasyonu ve eklem yangısına neden olan bazı biyokimyasal faktörlerin düzenlenmesi ve üretilmesi olayına karışmaktadır. Ayrıca ROS, doğrudan ya da dolaylı olarak matriks bileşenleri yapımının azalmasına neden olur ve latent metalloproteinazı etkin hale getirerek tüm matriks bileşenlerinin tahribatına da sebep olabilmektedir. Kondrositler tarafından üretilen ROS, nitrik oksid (NO) ve süperoksid anyon grubunu üretir. Ayrıca, OH⁺, H₂O₂ ve süperoksid türleri de üretilmektedir (Hiran ve ark., 1997; Yarsan, 1998).

Eklem olgunlaşmamış kıkırdak kondrositleri % 5'lik ve % 21'lik oksijende inkübe edildiğinde, % 5'lik oksijendeki kondrosit çoğalmasının 60 kat arttığı, % 21'lik oksijende ise DNA'da hasar oluşarak kondrositlerdeki çoğalmanın 4 kattan daha az gerçekleştiği bildirilmiştir. Bu da olgunlaşmamış kondrositlerin oksidatif strese sebep olduğunu ortaya çıkarmıştır (Martin ve ark., 2004).

Vitamin E, C, A, B₆, B₂ ve selenyumun ilave edildiği yemler mekanik olarak STR/IN erkek farelerde osteoartritisin (OA) gelişmesini azaltır. Bu da ROS'un mekanik olarak OA 'ya neden olabileceğini göstermektedir (Kurz ve ark., 2002).

Etkin oksijen grup zehirlenmesine karşı korunmak için kondrositler iyi düzenlenmiş, SOD, CAT ve GSH-Px'den oluşan antioksidan enzimler ile donanmıştır. Domuz kondrositleri etkin hale getirilmiş nötrofil veya H₂O₂'ye maruz kaldığında, SOD aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (Brosiczky ve ark., 2003).

Ksantin oksidaz (XO) tarafından üretilen süperoksid, kıkırdak kondrositlerinin gelişmesinde baskılanmaya neden olurken, eklem içi H₂O₂, fare diz eklemünde kondrositlerin ölümüne sebep olmaktadır. Bazı araştırmacılar (Henrotin ve ark., 2005) NO'nun insan kondrosit kültürü üzerinde doğrudan sitotoksik etkisinin olduğunu belirlerken, diğer bazı araştırmacılar (Jallali ve ark., 2005) NO'nun kondrositlerin hücre ölümüne aracılık ettiğini ve bunu yapabilmesi için ilave etkin grupların oluşması gerektiğini belirtmektedirler.

Çeşitli araştırma sonuçları oksidatif strese bağlı antioksidanlardaki bozulma ile romatoid artrit (RA) arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir (Çimen ve ark., 2000; Ashour ve ark., 2000; Taysi ve ark., 2002; Karataş ve ark., 2003).

Romatoid artritli hastalarda, MDA seviyesinin kontrol grubuna göre yüksek; vitamin A, E, C, GSH-Px, CAT, SOD, hemoglobin ve hematokrit değerlerinin ise düşük olduğu gösterilmiştir (Karatas ve ark., 2003).

Başka bir çalışmada (Çimen ve ark., 2000) da romatoid artritli hastalarda kontrol grubuna göre eritrosit SOD ve XO aktivitesi ile MDA seviyesinin yüksek olduğu, CAT, GSH-Px aktivitelerinde ise değişiklik görülmediği bildirilmiştir.

Romatoid artrit ve OA hastaları üzerinde yapılan araştırmalarda (Sezgin ve ark., 2005) RA hastalarında plazma MDA yoğunluğunun OA ve kontrol grubuna göre önemli düzeyde arttığı; katalaz aktivitesinin ise RA hastalarda OA ve kontrol grubuna göre önemli düzeyde azaldığı; SOD aktivitesi bakımından gruplar arasında önemli bir değişikliğin meydana gelmediği bildirilmiştir.

Bazı araştırmacılar (Ashour ve ark., 2000; Taysi ve ark., 2002) RA hastalarında serum ve eritrositlerdeki SOD aktivitesinin azaldığını, diğerleri ise (Çimen ve ark., 2000) herhangi bir değişikliğin olmadığını bildirmişlerdir. Romatoid artritli hastalarının serum ve eritrositlerindeki CAT aktivitesi ile ilgili de değişik görüşler ortaya atılmıştır. Bazı araştırmacılar (Taysi ve ark. 2002) azaldığını savunurken diğerleri (Çimen ve ark., 2000) herhangi bir değişiklik olmadığını görmüşlerdir.

Bazı araştırmacılar (Özgüneş ve ark., 1995; Gambhir ve ark., 1997) lipid peroksidasyon ürünü olan MDA'nın, RA hastalarında serum ve sinovial sıvıdaki seviyesinin yüksek olduğunu bildirirken, diğerleri (Oliveri ve ark., 1991) herhangi bir değişiklik olmadığını bildirmişlerdir.

Bu sonuçlara göre RA'nın oluşmasında etkin oksijen grubu üretimindeki artışın temel faktör olduğu iddia edilmiştir (Çimen ve ark., 2000).

1. 6. Kinolonların Kıkırdak Yapı Üzerindeki Etkisi

Kinolonların eklem kıkırdak yapıları üzerinde artropati (QAP) oluşturuvcu etkilerine yönelik ilk deneysel çalışma 1977 yılında Ingham ve ark. tarafından yayımlanmıştır. Bunu izleyen çalışmalar (Ron ve ark., 2000) kinolonların yetişkin olmayanların iskelet kaslarında hasara ve eklemlerinde dejenerasyona (artropati) sebep olduğunu göstermiştir. Yetişkin olmayan hayvanlarda eklem kıkırdağında akut dejenerasyon ve eklem yüzeyinde erozyonla karakterize durum tespit edilir. Bu morfolojik bulgulara, eklem boşluğundaki hücre dökülmesi ve yangısal olmayan bozukluklar da eşlik eder. Lezyonlardan etkilenen kıkırdak genellikle kendini tekrar yenileyemez. Kıkırdak içindeki çözünebilir ayrışma ürünleri eklem sıvısı içinde irrite edici tepkimelere sebep olabilir. Bu başlangıç formu hem insanlarda hem de hayvanlarda olur ve kronik deformans (romatoid arthritis) ile sonuçlanabilir.

Pipedimik asit ile köpekler üzerinde yapılan bir çalışmada (Ingham ve ark.,1977), appendiküler iskeletin major eklemlerinde lezyonlar görülmüş, eklem boşluğunda sinovial sıvı artışı belirlenmiştir. Erken dönemde eklem yüzünde 5-20 mm çaplı yuvarlak blister şeklinde olan lezyonların, hızlı bir ilerleme göstererek ülseratif erozyon şekline dönüştüğü belirtilmektedir. Mikroskopik incelemede, eklem kıkırdağının ara bölgesinde yarık ve çevresindeki bölgelerde hipertrofi, büzülmüş ve bazı vakuollü kondrositler ≥ 10 sayıda kondrosit içeren kümeler, multinükleer hücreler bulunduğu, matriksin ise bazofilik özelliğini kaybettiği bildirilmiştir Bunu izleyen yıllarda diğer kinolon türleri ile farklı deney hayvanlarında QAP patogenezi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır (Gough ve ark., 1979; Gough ve ark., 1985; Stahlman ve ark., 1988a; Stahlman ve ark., 1988b; Kato ve Onodera, 1988; Amacher ve ark., 1989; Burkhardt ve ark., 1990; Stahlmann ve ark., 1990; Bendele ve ark., 1990; Machida ve ark., 1990; Burkhardt ve ark., 1992; Burkhardt ve ark., 1993).

Rat, sıçan, tavşan, köpek, fare, primatlar gibi çeşitli hayvan türlerinde yapılan birçok çalışmada (Kato ve Onodera 1988; Bendele ve ark., 1990; Machida ve ark., 1990; Stahlmann ve ark., 1990; Burkhardt ve ark., 1990; Bertino ve Fish, 2000; Kappel ve ark., 2002) kinolonların artropatiye neden olduğu belirlenmiştir.

Florokinolonlar (norfloksasin, siprofloksasin, ofloksasin ve temafloksasin) ile hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda (Corrado ve ark.,1987; Schlüer, 1987; Patterson, 1991), yetişkin olmayanların eklemlerinde tipik lezyonlar görülmüştür.

Kinolonlar yetişkin olmayan köpeklerin iskelet kaslarında hasara ve eklemlerinde dejenerasyona sebep olur. Histopatolojik bulgularda, eklem içinde veziküller oluşur daha ileri dönemlerde veziküller kopar ve eklem erezyonu oluşur. Köpekler yaklaşık 3-6 aylık iken QAP'ye karşı duyarlılık gösterir. Yetişkin köpeklerde kısa süreli (7-14 gün) tedavi ile artropati oluşmamasına karşın, uzun süreli (12 ay) tedavi ile artropati oluştuğu bildirilmiştir (Christ ve ark., 1988).

Kinolonlarla artropatiye hassasiyet yaşı sıçanlar için doğumdan sonra 4-6 haftadır (Kato ve Onodera, 1988). Deneysel çalışmalar ile gözlemlenen bu yaşa bağımlı toksisitenin nedeni, henüz tam olarak bilinmemektedir. Genç ve yetişkin hayvanlarda kinolonların metabolizmasının farklı olması bir faktör gibi görünmektedir. Bu durum eklem kıkırdağı olgunlaştıkça ortaya çıkan yapısal değişikliklere bağlı da olabilir ya da ilacın sinovial sıvı ve/veya subkondral kemikteki damarlar aracılığı ile eklem kıkırdağına dağılımında yaşla birlikte oluşan değişiklikler de bir faktör olarak değerlendirilebilir (Çavuşoğlu, 1995). Kinolonların kıkırdak matrikse ya da eklem kıkırdağı komponentlerine bağlanmasına ilişkin çalışmalar (Stahlmann, 2003), kinolonların *in vitro* şartlarda gelişmekte olan hayvanların kıkırdağına, yetişkin hayvanların kıkırdağından daha yüksek derecede bağlandığını göstermiştir. Bu da gelişmekte olan genç hayvanların QAP'ye daha yüksek duyarlılık göstermesini açıklayabilir.

Kinolonların kıkırdak dokuya yönelik etkileri özellikle yetişkin olmayan hayvanlarda ortaya çıkar; gelişme dönemine bağlı olarak kıkırdak ve epifiziyel büyüme tabakası etkilenir (Schaad, 2000). Florokinolonların kıkırdak dokuya yönelik etkileri bu sınıfın ortak özelliği olarak düşünülse de, bireysel olarak önemli farklılıklar söz konusudur (Pertuiset ve ark., 1989). Bu nedenle, sadece bir tek kinolondan elde edilen sonuçların diğer bütün kinolonlar için genellenemeyeceği bildirilmektedir (Stahlmann ve Lode, 1999). Yapılan bir çalışma (Altreuther, 1992), 1-4 haftalık çok genç köpeklerde (10 gün süreyle 5-25 mg/kg c.a. dozunda verilmesini) enrofloksasin kıkırdak lezyonları oluşmadan tolere edildiğini göstermiştir. Altı haftalığın üzerindeki köpeklerde ise lezyonların oluşmasının doz ve kullanım süresine bağlı olduğu ileri sürülmüştür. Enrofloksasin gebe köpeklere uygulandığında, yeni doğan yavruların kıkırdaklarında herhangi bir olumsuz durum tespit edilmemiştir. Aynı şekilde enrofloksasin ile 30 güne kadar tedavi edilen 2-10 aylık ve gelişmekte olan kedilerde de herhangi bir lezyona rastlanmamıştır. Bununla birlikte kedi kıkırdağının enrofloksasine karşı köpeğe göre daha toleranslı olduğu bildirilmiştir (Altreuther, 1992; Bayer, 1999).

İn vivo çalışmalarda ağızdan günde 1-2 defa 20 mg/kg/gün dozunda genç köpeklere ofloksasin verilmesi ile günde 1 defa ilaç uygulanan hayvanların sadece birinde 24 saat geçtikten sonra femur başının patolojik muayenesinde kıkırdak yüzeyinde içi sıvı dolu veziküller gözlenmiş ve bu lezyonlar diğer grubun tüm fertlerinde tespit edilmiştir (Yabe ve ark., 2001).

İn vitro çalışmalarda genç köpeklerden elde edilen eklem kıkırdağı 6.3 – 100 µL ofloksasine 24 saat süreyle maruz bırakılmış, bu sürenin sonunda proteoglikan yapımının 12.5 µL dozdan başlayarak azaldığı; DNA ve protein yapımında ise 100 µL doza kadar herhangi bir değişikliğin meydana gelmediği bildirilmiştir (Yabe ve ark., 2004).

Deneysel çalışmalar ile ortaya çıkan bir diğer özellik, QAP oluşturma potansiyelinin doz ile ilişkili olmasıdır. Ayrıca QAP oluşturuvcu doz, türler arasında ve kinolon

çeşitleri arasında da farklılık göstermektedir (Stahlmann ve ark.,1988a; Stahlmann ve ark., 1988b; Amacher ve ark., 1989; Machida ve ark., 1990; Stahlmann ve ark., 1993). Karşılaştırmalı hayvan deneylerinde eklemlere yönelik istenmeyen etkiler oluşturacak en alt doz seviyeleri ile birlikte, serum ve kıkırdak doku yoğunlukları; norfloksasin ve nalidiksik asit için köpek, tavşan ve sıçanlarda çalışılmıştır. Bu etkiyi oluşturacak en alt dozun 25-100 mg/kg arasında değiştiği bildirilmiştir (Machida ve ark., 1990).

Kinolonların kıkırdak matriks komponentlerinde oluşturdukları değişiklikler hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak gösterilmiştir (Burkhardt ve ark., 1992; Mackide ve ark.,1990). Radyoaktif madde ile işaretli kinolonlar kullanılarak ratlarda yapılan bir çalışmada (Christ ve ark., 1988), damar içi uygulamadan sonra eklem kıkırdağında yüksek yoğunlukta ilaç tespit edilmiştir. Ofloksasin ve siprofloksasinle ratlar ve köpekler gibi farklı türlerde yapılan çalışmalarda doza bağlı olarak lezyonlar gelişmiştir (Burkhardt ve ark., 1990; Gough ve ark., 1996).

Farelere 400 mg/kg dozda 10 gün süreyle pefloksasin verilmesi ile metabolizmada değişiklik, kollajen, proteoglikan gibi hücre dışı proteinleri bağlama özelliklerinde farklılık meydana geldiği ve ayrıca kollajen yapıda oksidatif yıkımlanmaların ortaya çıktığı görülmüştür (Marie ve ark., 1999). Ancak, yetişkin olmayan ratlara 5 gün süre ile 1600 mg/kg dozda ağız yoluyla sadece garenoksasin veya siprofloksasin verilmesi durumunda herhangi bir kondrotoksite belirtisi görülmemiştir (Kastner ve ark., 2004).

Yapılan bir çalışmada (Li ve ark., 2004), 4 haftalık ratlara 7 gün süreyle ve her gün olacak şekilde 400, 800 ve 1200 mg/kg siprofloksasin uygulanmıştır. Diz eklemünde yapılan histopatolojik muayene sonucunda 800 ve 1200 mg/kg verilen gruplarda kıkırdakta matriks şişkinliği, kondrositlerde eksilme gibi akut lezyonlar görülmüştür. Kıkırdak kalınlığının kontrol grubuna göre önemli derecede azaldığı ve aynı zamanda kondrositlerde hücre çoğalması ve proteoglikan salgılanmasında azalma şekillendiği belirlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada (Stahlman ve ark., 2000), 10-11 haftalık köpeklere 5 gün süre ile 30 ve 200 mg/kg c.a. dozunda siprofloksasin verilmesi ile birinci grupta eklem kıkırdağında herhangi bir patolojik değişiklik görülmezken, ikinci grupta erozyonlar olduğu görülmüştür. İmmunolojik ve histokimyasal analizler fibronektinde çoğalma, diğer matrikslerde ise hiçbir değişikliğin olmadığını göstermiştir. Yetişkin olmayan Beagle köpeklerine ağız yoluyla 200 mg/kg c.a. siprofloksasin verildiğinde her 5 köpekten ikisinde eklem kıkırdağında çatlak yapılar ve erozyonlar oluşmuştur. Elektron mikroskopla bakıldığında, mitokondriyada şişkinlik, endoplazmik retikulumda büyüme, kalınlaşma gibi değişiklikler ortaya konmuştur (Stahlman ve ark., 2000).

At patella kıkırdağında 5 değişik yoğunlukta (2, 10, 1000, 10000, 50000 µg/ml) enrofloksasin 72 saat süreyle inkube edildiğinde, proteoglikan yapımı en iyi kontrol ve düşük inkubasyonlarda (2,10 µg/ml) gerçekleşmiştir. Yüksek yoğunluklardaki inkubasyonlarda enrofloksasin yaşla ilgili olmaksızın proteoglikan yapımını durdurmuştur. Proteoglikan gerilemesi düşük yoğunluklardaki gruplar ile kontrol grubu arasında farklılık olmamasına karşın, yüksek yoğunluklardaki gruplar ile kontrol grubu arasında önemli fark bulunmuştur. Diğer taraftan, değişik yoğunluklardaki enrofloksasinin endojen proteoglikanlar üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Beluche ve ark., 1999).

Araştırmalar (Venkatesan ve ark., 1999), dejeneratif eklem hastalıklarında kanatlılardaki proteoglikanın eklem kıkırdağlarındaki metabolizmasının memelilerdekine benzediğini ortaya koymaktadır.

Peter ve ark. (2002), tavuklarda kullanılan bazı antibiyotiklerin kanatlı kıkırdağındaki *in vitro* etkisini araştırmışlar ve enrofloksasinin (200 ve 400 µg/ml dozda) kıkırdağın 30 gün süreyle çoğalmasını engellediğini belirtmişlerdir.

Kinolonların eklemlere yönelik etkisinde (artropati), vücut ağırlığının oluşturduğu mekanik basıncın rolünün olduğunu destekleyen çalışmalar da bulunmaktadır

(Ingham ve ark., 1977; Gough ve ark., 1979; Kato ve Onodera, 1988; Burkhardt ve ark., 1990; Gough ve ark., 1992). Kinolonlar yetişkin olmayan memeli hayvanlarda gelişmekte olan eklem kıkırdağında kondrotoksik nitelikte etkilere de yol açar (Burkhardt ve ark., 1993; Kashida ve Kato, 1997; Takaizawa ve ark., 1999). Daha önceleri yapılan araştırmalar eklem hasarının özellikle, sağaltım sırasında sürekli strese maruz kalan eklemlerde olduğunu göstermiştir. Daha sonra yapılan çalışmalar (Christ ve ark., 1988) strese maruz kalmayan eklemlerde de bu lezyonların oluşabileceğini, ancak şiddetinin daha az olduğunu ortaya koymuştur.

Bu bulgular, damardan yoksun artiküler kıkırdağın sinovial sıvıdan diffüzyonla beslendiğini ve besinler yanında zehirli maddeleri de bu yolla aldığını düşündürmektedir. Eklem hareketleri diffüzyonu artırır. Vücut hareketleri ile eklemlerde proteoglikan molekülleri arasında ortaya çıkan baskılanma ve gevşeme, kıkırdak matriksinde sıvı geçişini sağlar. Hareketsiz eklemde besin kaynağında yetersizlik oluşur ve potansiyel zehirli bileşiklerin de aynı şekilde kıkırdak dokusuna diffüzyonu azalabilir. Ancak, bu açıklamalar yetişkin eklem kıkırdağı için doğru olabilir. Gelişmekte olan kıkırdakta yalnızca ince yüzey tabaka damardan yoksundur. Epifiziyel bölümü ise kıkırdak kanallarının içinde oluşan vasküler ağ ile iyice damarlaştırmıştır. Her iki hipotezde de sonuç artropatidir (Wilsman ve Van Sickle, 1970).

Kinolonların eklemlere yönelik meydana getireceği hasarın patogenezi ve biyokimyasal mekanizmaları tam olarak açıklanamamıştır. Bunun en önemli nedeni lezyonların etiolojisinde muhtemelen çok fazla faktörün rol oynamasıdır. Bu konuda bir çok görüş var ise de, kinolonların eklemlere yönelik olumsuz etkilere sebep olduğu özel mekanizmalar hala tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu durumun patogenezi ile ilgili varsayımlardan biri, ilk etkilenen yapının kıkırdak matriksi olarak kabul edilmesidir. Bazı araştırmacılar kinolon zehirlenmelerinin ana bölgesinin kondrositler olduğunu savunmuşlardır (Takada ve ark., 1994; Kato ve ark., 1995). Diğer görüş ise, birincil olarak etkilenen kondrositlerin ikincil olarak hücre dışı matriks yıkımına neden olduğu şeklindedir. Araştırmacılara göre

(Bendele ve ark., 1990), kinolonlar doğrudan eklem kıkırdağındaki hücre dışı matrikse karışmaktadır.

Sonraki araştırmalar (Stahlmann ve ark., 1995; Foster ve ark., 1996) Mg iyonunun kinolon ile şelasyonunun kondrosit yüzeyindeki integrin reseptörlerin fonksiyonlarını değiştirdiğini göstermiştir. Kinolonların primer olarak eklem kıkırdağında Mg-bağımlı integrinleri etkileyerek kondrositlere yönelik zehirli etkilere neden olduğu görüşü de vardır. İntegrinler hücre-matriks etkileşiminde önemli rol oynarlar. Bazı integrinler normal fonksiyonlarını yapabilmek için Mg iyonlarına gereksinim duyar. Bu iki değerlikli katyonla sabit şelat oluşturan kinolonlar, elektrolitik dengeyi ciddi olarak etkileyebilir, kıkırdak dokusu içinde integrinlerin fonksiyonunu bozabilir ve matriks dejenerasyonuna neden olabilirler (Stahlmann ve ark., 1993). Diğer taraftan, kinolonlar, şelasyon yapan maddeler yoluyla proteoglikan sentezi ve dönüşümünden sorumlu çinko içeren enzimler ile de etkileşebilir (Gough ve ark., 1992). Bu özellikleriyle, *DNA jiraz* kompleksleri oluşumu ile yakın ilişkisi olan Mg iyonları ile şelat yaparlar (Stahlmann ve ark., 1993). Magnezyum gibi hücre zarı bütünlüğünün korunması için gereken iki değerlikli katyonlarla şelasyon yaparlar ve bunun sonunda, hücre zarlarında değişiklikler ortaya çıkabilir (Wolfson ve Hooper, 1989b).

Dört ve 6 aylık köpekler ile 2-4 yaştaki atların eklem kıkırdağından alınan kondrositlere 10, 40, 80 ve 160 µg/ml siprofloksasin, 10, 50, 100 ve 150 µg/ml enrofloksasin (magnezyum olmaksızın) ekilmiş ve sonuçta ekim kutusuna olan yapışkanlık yeteneğinin büyük ölçüde düştüğü belirlenmiştir (Egerbacher ve ark., 2001).

Yetişkin ve neonatal dönemdeki atların eklem kıkırdağından alınan kondrositlere Mg'dan yoksun ve değişik yoğunluklarda enrofloksasin (1,5, 25, 100, 500 µg/ml) uygulaması ile sonuçta, özellikle neonatal dönemde atların eklem kıkırdağı üzerinde tahrip edici etkisi tespit edilmiştir (Davenport ve ark., 2001).

Kıkırdak dejenerasyonu ve eklem yangısındaki biyokimyasal olayların gelişiminde etkin oksijen gruplarının da rol oynadığı ileri sürülmektedir. *In vitro* ortamda kinolonlar, genç kondrositlerde oksidatif metabolizmayı uyarılmaktadır (Gürbay ve ark., 2001). Değişik türlerden alınan kıkırdak örnekleri üzerinde yapılan çalışmalar da (Kato ve Onodera, 1988; Burkhardt ve ark., 1993; Hildebrand ve ark., 1993; Kato ve ark., 1995), kinolonların kollajen veya glikozaminoglikan yapımında inhibisyona ve mitokondrial integrasyonda bozukluğa neden olduğu bildirilmiştir.

In vitro çalışmalar da bu bilgileri desteklemiştir. Yapılan çalışmalar (Pelletier ve ark., 2000) etkin oksijen grubunun, kondrosit özelliklerine ve matriks bileşenlerine etkilerinin olduğunu göstermiştir. Çalışmalarda etkin oksijen gruplarının oluşmasına bağlı kıkırdak dokuda da bozulma olabileceği bildirilmiştir. *In vitro* yapılan bir çalışmada (Henrotin ve ark., 2003), kinolonların genç kondrositlerde (kondroblast) oksidasyon metabolizmasının uyarılmasına sebep olduğu bildirilmiştir. Ayrıca *in vitro* ortamda norfloksasin, ofloksasin, siprofloksasin, nalidiksik asit gibi kinolonların da, genç kondrositlerde oksidatif metabolizmayı uyardığı saptanmıştır (Machida ve ark., 1990; Thuong-Guyot ve ark., 1994; Stahlmann ve ark., 2000; Kappel ve ark., 2002).

Deneysel osteoartritisin sağaltımında, recombinant insan SOD kullanılmış ve tavukların diz eklemleri kıkırdak dejenerasyonunda önemli oranda azalma tespit edilmiş ve bu durum osteoartritisin oluşumu esnasında eklem kıkırdak dokusunda SOD'un baskılayıcı etkisiyle açıklanmıştır (Hoedt-Schmidt ve ark., 1993). Kıkırdak dokuya yönelik lezyonların oluşmasında bu ilaçların Mg iyonlarıyla şelat oluşturmaları ve bunun da etkin oksijen gruplarının oluşumuna yol açabileceği ileri sürülmektedir (Vormann ve ark., 1997; Stahlmann, 2003). Bu ilaçla tedavi olmayan genç ratlarda Mg eksikliğinden dolayı benzer lezyonlar gözlenmiştir (Foster ve ark., 1997).

Gurbay ve ark. (2001), enrofloksasinin oksidatif stres yapma ihtimali üzerine yaptıkları araştırmada, insan fibroblast dokularında lipid peroksidasyon, GSH, CAT,

SOD ve GSH-Px aktivitelerini ölçmüşlerdir. Sonuçlar lipid peroksidasyonunda hızlanma, GSH ve CAT'da azalma, SOD da ise herhangi bir değişiklik meydana gelmediği şeklinde bulunmuştur. Glutasyon peroksidaz aktivitesinde ise istikrarlı bir iniş veya çıkış görülmemiştir. E vitamini ilave edildiğinde, lipid peroksidasyonda önemli ölçüde azalma ve GSH toplamında artış görülmüş, CAT ve SOD aktivitelerinde ise değişiklik gözlenmemiştir.

Kinolonların metabolizması sırasında etkin oksijen gruplar da ortaya çıkmıştır (Stratton, 1998; Carreras ve ark., 2004).

Kinolonların yetişkin olmayan köpeklerin eklem kıkırdaklarında erozyonlara neden olduğu bildirilmiştir (Brown, 1996). Histolojik olarak önce veziküller, ileri dönemlerde bu veziküllerin patlamasıyla erozyonların ortaya çıktığı belirlenmiş ve bu gözlemler olgun olmayan kondrositlerde, oksidatif metabolizmanın erken dönemde patladığını ve Mg iyon dengesindeki bozukluklar sonucu geliştiğini düşündürmüştür. Klinik bulgular ve deneyler eklem üzerine fazla yüklenmenin, lezyonun patojenitesinde önemli olabileceği üzerinde durulmaktadır.

Siprofloksasin ratlara Pİ yolla 100 ve 150 mg/kg bir defa verilmesi halinde veya 5 gün süre ile 500 mg/kg dozda verilmesiyle beyin ve karaciğer dokusunda glutasyon redüktaz (GSH-R) aktivitesinde doza bağlı olarak değişiklik meydana gelmektedir. Tek doz halindeki etki en çok beyin dokusunda görülür. Tekrarlayan dozlarda ise her iki dokuda da etkinin önemli olduğu görülür. Tedavi öncesi ratlara vitamin E veya allopurinol verildiğinde, her iki dokuda GSH-R'a karşı belirgin olarak koruma sağlandığı bildirilmiştir (Gurbay ve Hıncal, 2004).

Siprofloksasin tarafından üretilen oksijen gruplar doğrudan siprofloksasin yoğunluğuna ve inkübasyon süresine bağlıdır (Gurbay ve ark, 2001).

Farelere günde 2 defa 10 mg/kg c.a. dozunda enrofloksasin uyguladığında karaciğer GSH-Px aktivitesinde azalma görülürken SOD aktivitesinde ise değişiklik olmadığı bildirilmiştir (Yazar ve Traş, 2001).

1. 7. Amaç

Başta enrofloksasin olmak üzere florokinolonların önemli kullanım alanlarından biri de kanatlı sektördür. Kanatlılarda yaygın şekilde kullanılmakla birlikte, enrofloksasinin bu türlerde eklem dokuya yönelik etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Dolayısıyla, etlik civciv ve piliçlerde enrofloksasinin eklem dokuya yönelik etkilerinin değerlendirildiği bu çalışma ile önemli bilimsel verilerin sağlanacağı düşünülmektedir. Eklemelere yönelik hasarın tam olarak tespit edilebilmesi amacıyla çalışma kapsamında histopatolojik inceleme ve oksidatif metabolizmaya ilişkin parametreler ayrı ayrı değerlendirilecektir. Çalışma kapsamında eklemelere yönelik hasar ile oksidatif metabolizma arasında bir ilişki olup olmadığı da tespit edilecektir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Hayvan Deneyi

2.1.1. Hayvanlar, Bakım ve Beslenmeleri

Bu çalışmada toplam 100 adet Ross-308 ırkı etlik civciv kullanıldı. Hayvanlar bir günlük ken alındı, bakım ve beslenmeleri Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Deneme Ünitesi'nde, kan alma ve nekropsi işlemleri, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Laboratuvar'ında gerçekleştirildi. Çalışma ile ilgili Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alındı.

Civcivler ilk hafta 30°C, diğer haftalarda 24-29°C sıcaklığa sahip ortamda barındırıldı. Sürekli ışık alacakları ortam sağlandı. Ham protein %22 ve 3000 Kcal değeri olan yemle beslendiler; yemin bileşimi Çizelge 2.1.'de verildi.

Çizelge 2.1. Çalışma kapsamında kullanılan yemin özellikleri

Ham madde	%
Mısır	45
Soya	15
Et kemik	6
Tam yağlı soya	27,75
Kireç taşı	0,2
DCP	1,5
Tuz	0,25
Vitaminler	0,30
Metionin	0,2

Ham protein	22
Metabolik enerji	3000 Kcal

2.1.2. Hayvanların Gruplandırılması ve İlaç Uygulaması

Hayvanlar her grupta 20 hayvan olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Grup 1 kontrol olarak tutuldu ve antibiyotik uygulaması yapılmadı. Grup 2'ye 10 mg/kg, Grup 3'e 100 mg/kg, Grup 4'e 200 mg/kg ve Grup 5'e 400 mg/kg dozda enrofloksasin ağız yoluyla ve günlük olarak verildi. İlaç uygulamasına hayvanlar 10 günlük ken başlandı ve 30 gün süreyle devam edildi. Farmakokinetik hesaplamalar için ilacın verilmesini takiben kan örnekleri alındı. İlacın uygulanmasından sonra 14. ve 30. günlerde her gruptan 10'ar hayvan rastgele ayrıldı, kan örnekleri alındı ve ötenazi edildi.

2. 2. Mikrobiyolojik Testler

2. 2.1. Cihaz ve Gereçler

- EDTA'lı tüpler
- Petriler (11 cm çaplı)
- Hassas terazi (Sartorius)
- Cam pipetler
- Otoklav (Nüve, OT 4060)
- Mikropipetler (10-100µl ve 100-1000µl'lik) (Transferpette)
- Porselen boncuklar (9 mm çaplı)
- Su banyosu (Bilser)

- 100, 50 ve 25ml' lik balon jojeler (İldam)
- Dereceli silindirler (50 ml'lik, İldam)
- Kompas (150x0,02 mm, Vernier Caliper)

2. 2. 2. Kimyasal Maddeler

- Enrofloksasin %10'luk oral solusyonu
- Enrofloksasin standardı (%99.6'lik toz)
- Nutrient Agar (Standard II) (Merck, Art.Nr. 7883).
- Sitrat Tampon (pH 6.69)

2. 2. 3. Standart Şuş

- *Escherichiae coli* (ATCC 25922)

2. 2. Plazmanın hazırlanması

İlacın kandaki yoğunluğunu değerlendirebilmek için, ilaç uygulandığı gün (10'uncu gün), 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 ve 24. saatlerde kanat altı venasından kan örnekleri heparinli tüplere 0.5 ml alındı; 3000 rpm'de 10 dakika satrifüj edilerek plazmaları çıkarıldı. Plazmalar analiz edilene kadar derin dondurucuda (-18 °C) muhafaza edildi.

2. 2. 5. Enrofloksasin Standart Eğrisinin Hazırlanışı

2. 2. 5.1. Enrofloksasin Stok Çözeltisi

Stok 1 çözeltisi (1 mg/ml): Yüzde 99.6'lık enrofloksasin standardından 100.50 mg tartıldı ve 100 ml'lik balon jøjeye alındı. Sitrat tampon pH (6.69) ile ıslatılarak

üzerine çözünene kadar damla damla % 10'luk KOH ilave edildi ve deiyonize suyla 100 ml'ye tamamlandı.

Stok 2 çözeltisi (500 µg/ml): Hazırlanan stok 1 çözeltisinden 50 ml alınıp deiyonize suyla 100 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.

Stok 2 çözeltisi kullanılarak çeşitli yoğunluklarda enrofloksasin çözeltileri hazırlandı ve bunlara antibiyotik içermeyen plazma eklenerek standart eğrileri Çizelge 2.2'de gösterildiği gibi yapıldı.

Çizelge 2.2. Enrofloksasin standart eğrisinin hazırlanışı

Enrofloksasin (Stok 2) (ml)	Deiyonize su (ml)	Standart yoğunluğu (µg/ml)	Standarttan alınan (µl)	Plazma (µl)	Son yoğunluk (µg/ml)
0,5	4,5	50	10	990	0,50
0,8	4,2	80	10	990	0,8
1,4	3,6	140	10	990	1,4
1,6	3,4	160	10	990	1,6
1,8	3,2	180	10	990	1,8
2,0	3,0	200	10	990	2,0
2,3	2,7	230	10	990	2,3
2,6	2,4	260	10	990	2,6
2,8	2,2	280	10	990	2,8
3,0	2,0	300	10	990	3,0
3,2	1,8	320	10	990	3,2
3,4	1,6	340	10	990	3,4

2. 2. 6. Testlerin Yapılışı

Plazmada etkin madde analizleri Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

Plazmadaki ilaç yoğunluğu Ellerborek (1991) tarafından bildirilen agar jel disk diffüzyon yöntemiyle belirlendi.

Test ortamı Nutrient Agar (Standard II) (Merck, Art. Nr. 7883) prospektüsüne uygun olarak hazırlandı, otoklavda sterilize edildi ve su banyosuna kondu. Eritilmiş ve sterilize edilmiş bu agar yeterli sayıda petri kutularının herbirine 10 ml döküldü ve katılaşmaya bırakıldı. Daha sonra agar yüzeyine 9 mm çapında 6 adet porselen

boncuk, beşgen tarzda yerleştirildi. Agar 37 °C'ye kadar soğutularak içerisine 10^4 mikroorganizma/ml olacak şekilde test mikroorganizması ilave edildi. Agarın içine katılarak, her bir petriye 15 ml döküldü. Ortam katılaştıktan sonra boncuklar çıkartıldı. Petri kutuları ters çevrilerek, boşlukların üzerine standart ve plazmaların numaraları yazıldı. Plazmalar ve standarttan 10 µl alınarak porselen boncuklarla oluşturulan boşluklara her birinden farklı petrilere üçer kez ekim yapıldı. Son aşamada petriler, 37 °C'lik etüvde 18 saat inkübe edildikten sonra oluşan zon çapları kompas yardımıyla okundu.

Daha önceden hazırlanan standart eğri ile karşılaştırılarak ilaç yoğunluğu µg/ml olarak değerlendirildi.

2. 3. Farmakokinetik Hesaplamalar

Plazma ilaç yoğunluğu-zaman eğrisinin incelenmesi ile ilacın vücuttaki hareketinin 2-bölmeli dışarıya açık modele uyduğu anlaşıldı ve farmakokinetik hesaplamalar buna göre yapıldı.

Emilmeli verilmelerde birinci derece emilme hız sabitesi (k_a), plazma ilaç yoğunluğu dağılma dönemi hız sabitesi (α), plazma ilaç yoğunluğu atılma dönemi hız sabitesi (β), α -dönemi yarı ömrü ($t_{1/2\alpha}$), β -dönemi yarı ömrü ($t_{1/2\beta}$), ortalama kalış süresi (OKS), plazmada en yüksek ilaç yoğunluğu (C_{max}) ve en yüksek yoğunluğa ulaşma süresi (T_{max}), ağızdan verildikten sonra plazma ilaç yoğunluğu-zaman eğrisi altında kalan alan (EAA) Wagner (1979) tarafından bildirilen eşitlikleri esas alan (PCKALC) bilgisayar programı ile gerçekleştirildi.

2. 4. Oksidatif Metabolizmanın Değerlendirilmesi

Çalışmada civcivlere 10. günden itibaren ilaç uygulandı. Daha sonrasında 14. ve 30. günlerde kan örnekleri alındı. Kan örneklerinde MDA düzeyi, SOD ve CAT aktivitesi yönünden analizler yapıldı. Malondialdehid analizi örneklerin alındığı

gün, CAT ve SOD analizleri ise eritrositler ayrılıp yıkandıktan sonra gerçekleştirildi.

2. 4.1. Araç ve Cihazlar

- pH metre (Mod pH 390 No: 96CY44)
- Vorteks (Velp Scientifica, 2X³)
- 1000, 100, 50, 25 ve 10 ml' lik balon jojeler (ildam)
- Heparinli tüp
- Spektrofotometre (UV/VIS): Shimadzu UV-1601
- Derin dondurucu (GSD 2921 Bosh)
- Hasas terazi: Sartorius, (Basic BA 110s)
- Mikropipet (10-100 µl ve 100-1000 µl'lik)

2. 4.2. Kimyasal Maddeler

- Metanol (Merck)
- Nitroblue tetrazolium (Sigma)
- Sığır albumini (Sigma)
- Ksantin oksidaz (Sigma)
- Trikloroasetik asit (Merck)
- N- butanol (Merck)
- Tiyobarbitürik asit (Merck)
- Ksantin (Sigma)
- MDA standartı (Sigma)
- EDTA çözelti (Merck)
- Bakır klorür (Merck)
- Hidrojen Peroksit (Merck)
- Sodyum klorür (Merck)
- Potasyum klorür (Merck)
- Disodyum hidrojen fosfat (Merck)

- Potasyum dihidrojen fosfat (Merck)
- Kloroform (Merck)
- Etanol (Merck)

2. 4. 3. Eritrositlerin Analize Hazırlanması

Kontrol ve deneme gruplarından kan örnekleri, heparinli vakumlu tüplere alındı. Kanlar 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek üstte toplanan plazma ve lökosit tabakası otomatik pipetle alındı. Tüpün dibine çökmüş olan eritrositler fosfat tampon (PBS) çözeltisiyle üç kez yıkandı. Her yıkamada 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Üçüncü yıkama ve santrifüjden sonra dipte bulunan eritrositlerden 0.4 ml alınıp 1.5 ml hacimli eppendorf tüplere aktarıldı. Üzerlerine aynı miktarda PBS çözeltisi eklenerek analiz zamanına kadar -18 °C' de saklandı.

Plazma, MDA analizlerinde kullanılmak üzere ayrıldı. Eritrositler CAT analizleri öncesi 3.2 ml buz soğukluğunda deiyonize su konularak hemolize edildi. Eritrositlere SOD analizleri öncesi 5.0 ml buz soğukluğunda PBS kondu. Tüpler 3000 rpm'de 4°C 10 dakika santifuj edildi ve süpernatantlar ayrıldı.

Daha sonra 0.8 ml hemolizat üzerine 0.5 ml soğuk etanol, 0.3 ml soğuk kloroform ilave edilerek 3000 rpm'de 10 dakika santirfuj edildi ve analizlerde üstteki berrak kısım (etanol fazı) kullanıldı.

2. 4. 4. Hemogloblin Tayini

Hemolizatta ferrosiyanohemogloblin metodu ile hemogloblin tayini yapıldı (Karagül ve ark, 2000).

Çözelti

Drabkin Çözeltisi: 0.198 g $K_3FE(CN)_6$, 0.052 g KCN, 1.0 g $NaHCO_3$ bir litre tridistile suda çözülerek hazırlandı.

Analizin Yapılışı

- Test tüpüne 5 ml Drabkin çözeltisi kondu.
- Tüplere üzerine 20 µl hemolizat eklerək 10 dakika beklendi.
- Drabkin çözeltisi kör olarak 540 nm'de spektrofotometrede okundu.

Sonucun Hesaplanması

Elde edilen absorbansların karşılık geldiği hemoglobin konsantrasyonları, standart hemoglobin kullanılarak hazırlanmış olan grafikten faydalanarak hesaplandı.

2. 4. 5. Süperoksid Dismutaz Aktivitesinin Tayini

Reaksiyon ortamında enzimatik bir tepkime ile ortaya çıkan süperoksid gruplarının, ortamda bulunan nitroblue tetrazolium (NBT) indirgemesinin, örnekte bulunan SOD ile engellenmesi prensibine dayanır. Yöntemde süperoksid grupları üretimi ksantinoksidaz reaksiyona girerek maddeyi indirgemesi sonucunda, en yüksek absorbansının 560 nm'de veren formazon oluşur. Ortama ilave edilen enzimin, üretilen grupları dismutasyona uğratması nispetinde NBT indirgeme tepkimesi yavaşlar ve sonuçta spektrofotometrede okunan absorbans değerleri düşer. Dolayısı ile formazon oluşumunun baskılanmasının tayin edilmesiyle SOD aktivitesi dolaylı olarak belirlenir (Fitzgerald ve ark., 1992).

Çözeltiler

1. Fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS): 8.06 g NaCl, 0.201 g KCl, 12.636 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.2 g KH_2PO_4 bir litre deiyonize suda çözüldü ve pH 7,4'e ayarlandı ve hemolizat eldesinde kullanıldı.
2. Ksantin stok çözeltisi (3mmol/l): 23 mg Ksantin, 50 ml balon joje içinde 2 damla 1 M NaOH ile hafifçe ısıtılarak çözüldü. Distile su ile 50 ml'ye tamamlandı. Kullanılacağı zaman 10 kez seyreltildi.
3. EDTA çözeltisi (0.6 mmol/l): 0.249 g EDTA (dihidrat) 1 litrelik balon joje içinde distile su ile çözümlenerek hacim litreye tamamlandı.
4. Nitroblue tetrazolium (NBT) çözeltisi (150 mmol/l) 12.3 mg NBT 100 ml'lik bir balon jodede distile su ile çözümlenerek hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
5. Na_2CO_3 çözeltisi (400 $\mu\text{mol/L}$): 4.2 mg Na_2CO_3 100 ml'lik balon jodede distile su ile çözüldü ve hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
6. Sığır albümini çözeltisi (1g/L): 100 mg sığır albümini 100 ml'lik balon jodede çözüldü ve hacmi distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
7. CuCl_2 (0.8 mmol/L): 10.7 mg CuCl_2 100 ml'lik balon jodede çözüldü ve hacmi distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
8. Ksantin oksidaz çözeltisi (167U/l): 20 U/1 0.2 ml aktiviteye sahip ksantin oksidaz çözeltisinden 20 μl alınarak 2 ml 2 M amonyum sülfat çözeltisi ile karıştırıldı.
9. Tepkime karışımı: 20 tüplük bir seri analiz için 100 ml'lik bir erlen içerisine 20 ml 10 kez sulandırılmış ksantin stok çözeltisi, 10 ml EDTA çözeltisi, 10 ml NBT çözeltisi, 6 ml Na_2CO_3 çözeltisi ve 3 ml sığır albümini çözeltisi konuldu ve iyice karıştırıldı.

Analizin Yapılışı

Test (eritrosit) ve kör tüplerine aşağıda gösterildiği gibi sırası ile çözeltiler ilave edildi. Reaksiyon karışımının son hacmi 3 ml olarak belirlendi.

- Kör ve test işaretli tüplere 2.85 ml tepkime karışımı kondu.
- Kör tüpüne 0.1ml bidistile su, test tüpüne 0.1 ml örnek kondu.
- Bütün tüplere 50 μl ksantin oksidaz kondu ve karıştırıldı.
- 20 dakika 25 °C' de su banyosunda inkübe edildi.

- İnkübasyon süresi sonunda tüplere 1 ml CuCl₂ eklenerek reaksiyon durduruldu ve oluşan rengin absorbanansı 560 nm’de okundu.

Sonucun Hesaplanması

Aşağıda verilen bağlantıdan yararlanılarak örnekte bulunan enzimin meydana getirdiği yüzde inhibisyonu hesaplandı.

$$\text{Yüzde İnhibisyonu} = \frac{\text{Körün absorbanansı} - \text{Testin absorbanansı}}{\text{Körün absorbanansı}} \times 100$$

$$\text{Spesifik Aktivite (SA)} = \frac{\text{Körün absorbanansı} - \text{Testin absorbanansı}}{\text{Körün absorbanansı}} \times 20$$

$$\text{SOD Aktivitesi} = \frac{\text{SA} \times \text{Sulandırma faktörü}}{\text{Hb(g/ml)}}$$

Bir SOD ünitesi, NBT redüksiyonunu % 50 oranında baskılayan aktivite olarak kabul edildi. Reaksiyon ortamında bulunan enzim aktivitesi, bu ünite cinsinden hesaplandı ve U/g Hb olarak değerlendirildi.

2. 4. 6. Katalaz Aktivite Tayini

Hidrojen peroksit ışık spektrumunun UV alanında dalga boyunun azalmasıyla artan bir absorbsiyon gösterir. Uygun bir tampon içinde bulunan H₂O₂’nin örnekte bulunan CAT etkisi ile yıkımlanması sonucu bu maddenin 240 nm’de neden olduğu absorbansta azalma meydana gelir. Absorbansta meydana gelen azalma hızı CAT aktivitesi ile orantılıdır (Luck, 1965).

Çözeltiler

1. Fosfat tamponu (1/15 mmol/L; pH'sı 7.0): 3,522 g KH_2PO_4 ve 7.268 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ distile suda çözüldü ve pH 7,0'a ayarlanarak hacmi 1 litreye tamamlandı.

2. Fosfat Tamponunda H_2O_2 çözeltisi (10 mmol/L): % 30'luk H_2O_2 çözeltisinden 0.16 ml alınarak daha önce hazırlanmış olan fosfat tamponunun 100 ml'sinde seyreltili.

Bu karışım 240 nm'deki absorbanı 0.5 olmalıdır. Absorbans bu değerdn daha düşük ise küçük miktarlarda H_2O_2 ilave edilerek absorbanın 0.5 olması sağlanmalıdır. Bakteriyel kirlenme olmadığı sürece bu tampon 2 °C'de uzun süre dayanıklıdır.

Analizin Yapılışı

- Her örnek çalışılmadan önce örnekte bulunabilecek ve 240 nm'de absorban verebilen maddelerin sebep olabileceği absorban yükselmesini saptamak için kör hazırlandı. Kör deney için kuartz küvete 2.95 ml fosfat tamponu ve üzerine 50 µl örnek konuldu. Spektrofotometre kör deney olarak kabul edilen bu küvete göre sıfırlandı. Test sonucunda erişilen toplam hacim 3 ml olacak şekilde belirlendi. Ölçümler 20 °C'de gerçekleştirildi.

- Test işaretli kuartz küvete ise 2.95 ml fosfat tampon içinde hazırlanmış H_2O_2 çözeltisi konuldu ve 50 µl örnek(eritrosit) eklendi. Küvetler alt üst edilerek iyice karışması sağlandı.

- Spektrofotometre absorban skalasından ya da bağılı kaydediciden 240 nm'de absorbanstaki azalma takip edildi. Absorbansın 0.45'ten 0.40'a inmesi esnasında geçen süre tespit edildi. Bu süre 60 saniyeyi aşmayacak şekilde ölçüldü.

- Tespit edilen süre kullanılarak formülden k hız sabiti hesaplandı.

2. 4. 7. Malondialdehid Tayin Yöntemi

Tiyobarbütirik asit tepkimesi kullanılarak lipid içerik, düşük pH'da TBA varlığında ısıtılarak 532-535 nm'de en yüksek pik oluşturan stabil kırmızı–pembe renk elde edildi. Bu rengi bir MDA molekülü ile iki TBA molekülünün birleşmesi sonucu oluşan kromojen verir. MDA'nin bir kısmı peroksidasyon sırasında oluşurken, büyük çoğunlukta, ortam asitleştirildikten sonra uygulanan ısıtma aşamasında lipid peroksidlerin yakılması sonucu oluşur (Yoshioka ve ark., 1979).

Çözeltiler

1. Stok standart (20 mmol/L): 0.493 ml 1.1.3.3. tetraetoksipropan 100 ml mutlak etanolde eritilerek 20 mmol/L'lik stok standart çözeltisi hazırlandı.
2. %20 Trikloroasetik asit (TCAA) çözeltisi: 20 g trikloroasetik asit tridistile su çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlandı.
3. TBA çözeltisi (%0,67): 1.675 g TBA tridistile suda çözülerek hacim 250 ml'ye tamamlandı.
4. n-bütanol.

Standart Eğrinin Çizilmesi

Stok standart (20 mmol/L) çözeltisinin 1/1000 çözeltisi ile 20 µmol/L'lik standart çözelti elde edildi. 1, 2, 4, 5, 8, 10 µmol/L'lik sulandırmalar hazırlanarak kalibrasyon eğrisi çizildi.

Analizin Yapılışı

- Test işaretli tüpe 0.5 ml plazma konulduktan sonra üzerine 2,5 ml TCAA çözeltisi, kör işaretli diğer bir tüpe ise 3 ml TCAA eklendi.
- Her iki tüpe de birer ml TBA çözeltisi ilave edildi.

- Yarım saat 95 °C’de su banyosunda bekletildi. Daha sonra buzlu su içerisinde hızla soğutuldu.
- Tüplere 4’er ml n-bütanol ilave edildi ve karıştırıldı.
- 3000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi.
- n-bütanol tabakası ayrı bir tüpe alınarak, absorbands 535 nm’de spektrofotometrede okundu.

Sonucun Hesaplanması: Standart eğri kullanarak plazmadaki MDA düzeyleri hesaplandı.

2. 5. Plazmada Magnezyum Düzeyinin Belirlenmesi

Plazmada Mg düzeyi AOAC (1970) tarafından belirlenen metot ile yapıldı.

Kimyasal maddeler

- Magnezyum asetat (Merck)
- Polyvenol alkol (Sigma)
- Titan yellow (Merck)
- Sodyum hidroksit (Merck)

Çözeltiler

1. Standart Mg çözeltisi: 8.8 g analitik magnezyum asetat suda çözünerek 1 litre distile su ile tamamlandı. Bu çözeltiden 1 ml alıp 200 ml distile su ile seyreltilerek çalışan standart olarak kullanıldı.
2. Polivenol alkol: 1.0 g polivenol alkol yaklaşık 400 ml distile su ile karıştırılıp hafif ısıtılarak çözülmesi sağlandı. Daha sonra çözelti soğutularak 1 lt distile suya tamamlandı.
3. Titan yellow: 0.5 g titan yellow 100 ml distile suyla eritilerek bu çözeltiden 2 ml alınıp distile suyla 100 ml tamamlandı.

4. NaOH % 7.5 (WV): 15 g NaOH 150 ml distile suda eritilip soğutulduktan sonra distile suyla 200 ml'ye tamamlandı.

Analizin Yapılışı

- 0.2 ml plazma örneğinden 2.8 ml distile su ile dilüe edildi.
- Kör olarak 3 ml distile su kullanıldı.
- Standart hazırlanması için yukarıda belirtilen çalışan standarttan 1 ml alınarak 2 ml distile su ilave edildi.
- Daha sonra her tüp için sırasıyla 0.5 ml polivenol alkol, 0.5 ml titan yellow ve 1 ml % 7.5 lik NaOH (W/V) ilave edilerek karıştırıldı.
- Beş dakika bekledikten sonra 540 nm spektrofotometrede okundu.
- Kör kullanılarak sıfır absorbans ayarlandı.

Plazma magnezyumu aşağıdaki formül ile hesaplandı

$$\frac{\text{Testin absorbansı}}{\text{Standartın absorbansı}} \times 2.5 = \text{mg/100 ml}$$

2.6. Histopatolojik Çalışma

2. 6.1. Araç ve Cihazlar

- Mikrotom (Leica RM2125RT)
- Doku takip cihazı (Leica TP1020)
- Işık mikroskobu (Leica DM4000B)
- Dijital fotoğraf makinası (Leica DFC280)

2. 6. 2. Kimyasal Maddeler

- Metanol (Merck)
- Kloroform (Merck)
- Kloralhidrat (Merck)
- Formaldehid (Merck)
- Etanol (Merck)
- Nitrik asit (Merck)
- Parafin

2. 6. 3. Eklem Kıkırdak Dokusunun Mikroskopik İnceleme İçin Hazırlanması

Eklemlere yönelik etkilerin değerlendirilmesi histopatolojik incelemeyle yapıldı. Bu amaçla, nekropsi sonrasında femur ve humerusun distal ve proksimal kısımlarından örnekler alındı.

Alınan doku örnekleri, ilk önce %10 luk formaldehid solusyonuna alındıktan sonra kübiti ve kruris eklemlerine yakın bölgelerden eklem bütünlüğü bozulmaksızın ince bir testere yardımıyla kesilerek dekalsifikasyon solusyonu (Decastro) (Presnel ve Schreibman, 1997) içerisine alındı. Birer hafta aralıklarla bir toplu iğne batırılması yardımıyla kemiklerin yumuşaklığı kontrol edildi. Bu şekilde 3-5 hafta dekalsifikasyon solusyonu içerisinde bekletilen örnekler, uzunlamasına hat boyunca her iki kemik, eklem kapsulası ve eklem yüzeylerini içerecek şekilde trimlenerek özel plastik kamaralara yerleştirildi ve çeşme suyunda 6 saat yıkandı. Daha sonra dokular rutin alkol ksilol serilerinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü ve 5 mikron kalınlığında kesitler alındı; Rutin hematoxilen x eozin ile boyanarak ışık mikroskopunda değerlendirildi ve dijital fotoğraf makinası ile mikroskopik resimleri çekildi.

2. 7. İstatistik Hesaplamalar

Çalışma sonunda elde edilen veriler, aynı dönemlerde gruplar arası farklılıkları karşılaştıracak şekilde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile, gruplar arasındaki farklılıklar ise DUNCAN testi ile değerlendirildi.

3. BULGULAR

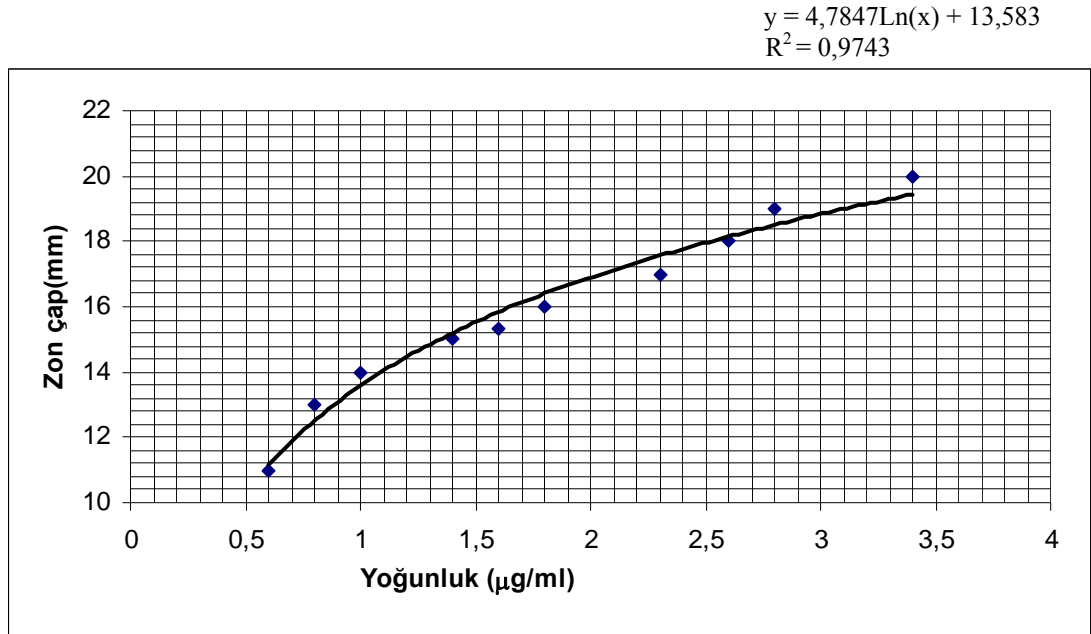
Bu çalışma kapsamında kanatlılarda yaygın şekilde kullanılan enrofloksasinin, oksidatif metabolizma ve kıkırdak doku üzerine olan etkileri ve farmakokinetik profili değerlendirildi. Deneysel çalışmalar için 5 grup oluşturuldu. Enrofloksasin 10, 100, 200, ve 400 mg/kg dozlarda kullanıldı ve ilaç uygulamasına hayvanlar 10 günlük iken başlanarak 30 gün süreyle devam edildi. İlaç uygulamasının 14. ve 30. günlerinde her gruptan 10'ar hayvan rastgele seçilerek oksidatif metabolizma ve patolojik değerlendirmeler için örnekler alındı. Çalışma sonunda elde edilen sonuçlar her grubu yansıtabilecek şekilde çizelge ve şekillerle ifade edildi.

3. 1. Farmakokinetik Bulgular

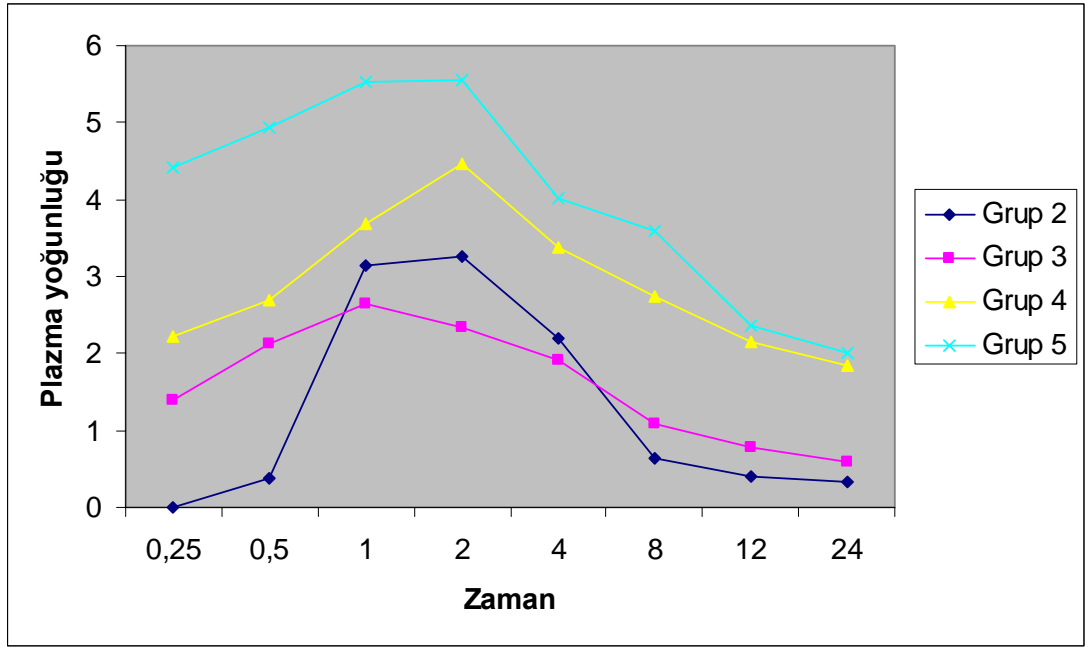
Enrofloksasinin ağız yoluyla kullanılmasından sonra belirli dönemlerde alınan plazma örneklerinde etkin madde analizi yapıldı. Elde edilen plazma ilaç yoğunluğu-zaman eğrisinde ilacın 2-bölmeli dışarıya açık modele uygun dağıldığı anlaşıldı ve farmakokinetik hesaplamalar buna göre yapıldı. Etkin madde analizi disk difüzyon metodu ile gerçekleştirildi, elde edilen zon çapları, standart eğri ile hazırlanan formülde yerine konarak (Şekil 3.1) enrofloksasin miktarı µg/ml cinsinden tespit edildi (Şekil 3.2).

Farmakokinetik parametre olarak EAA, k_a , α , β , $t_{1/2a}$, $t_{1/2\beta}$, OKS, C_{max} ve T_{max} hesaplandı ve elde edilen sonuçlar Çizelge 3.1’de verildi.

EAA yönüyle Grup 2 (21.74 ± 1.52) ve Grup 3 (26.40 ± 2.42) benzerlik gösterirken, Grup 4 (60.32 ± 6.02) ve Grup 5’te (72.10 ± 4.30) istatistiki yönden önemli artışlar belirlendi ($p < 0.05$). α değeri yönüyle de Grup 3 (2.22 ± 0.01) ve Grup 5’te (1.83 ± 0.35) benzerlik, Grup 2 (2.82 ± 0.96) ve Grup 4’te (1.36 ± 0.02) ise istatistiki olarak önemli farklılıklar görüldü ($p < 0.05$). $t_{1/2a}$ değeri yönünden Grup 2 (28.14 ± 6.39), Grup 3 (25.94 ± 11.03) ve Grup 5’te (35.97 ± 5.34) benzerlik, Grup 4’te (44.55 ± 6.43) ise önemli farklılık belirlendi ($p < 0.05$). Ortalama kalış süresi yönünden de Grup 2 (33.91 ± 6.32) ve Grup 3 (27.17 ± 9.01) benzerlik gösterirken, Grup 4 (61.99 ± 8.56) ve Grup 5 (51.49 ± 1.15) önemli farklılıklar gösterdi ($p < 0.05$). Aynı şekilde C_{max} yönünden de Grup 2 ($1,26 \pm 0.85$), Grup 3 (2.86 ± 0.33), Grup 4 (4.70 ± 0.17) ve Grup 5’te (5.75 ± 0.13) istatistiki olarak önemli farklılıklar tespit edildi ($p < 0.05$).



Şekil 3.1. Enrofloksasin standart eğrisi.



Şekil 3. 2. Enrofloksasin uygulanan gruplardaki plazma yoğunluğu-zaman eğrisi.

Çizelge 3. 1. Farklı dozlarda verilen enrofloksasinin farmakokinetik değişkenleri (ortalama±standart sapma; en alt ve en üst değerler).

Değişkenler	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
EAA(g.saatt/ml)	21,74±1,52 ^a (19,97-23,68)	26,40±2,42 ^a (23,34-29,24)	60,32±6,02 ^b (52,52-67,15)	72,10±4,30 ^c (66,03-75,32)
k_a (saat ⁻¹)	0,03±0,006 (0,02-0,03)	0,03±0,01 (0,02-0,04)	0,02±0,005 (0,01-0,02)	0,02±0,005 (0,02-0,03)
α (saat ⁻¹)	2,82±0,96 ^a (1,90-3,82)	2,22±0,01 ^{ab} (2,21-2,23)	1,36±0,02 ^b (1,33-1,37)	1,83±0,35 ^{ab} (1,43-2,12)
β (saat ⁻¹)	0,36±0,09 (0,25-0,46)	0,31±0,09 (0,19-0,40)	0,30±0,24 (0,13-0,66)	0,33±0,26 (0,13-0,69)
$t_{1/2\alpha}$ (saat)	28,14±6,39 ^a (20,32-35,06)	25,94±11,03 ^a (15,99-39,77)	44,55±6,43 ^b (39,76-51,86)	35,97±5,34 ^{ab} (29,86-39,76)
$t_{1/2\alpha}$ (saat)	0,21±0,15 (0,07-0,37)	0,43±0,37 (0,14-,97)	0,56±0,11 (0,51-0,73)	0,36±0,09 (0,26-0,49)
$t_{1/2\beta}$ (saat)	2,06±0,61 (1,50-2,82)	2,38±0,85 (1,72-3,61)	3,39±1,86 (1,05-5,45)	4,05±1,92 (1,84-5,18)
OKS (saat)	33,91±6,32 ^a (26,79-38,87)	27,17±9,01 ^a (20,34-37,38)	61,99±8,56 ^b (55,37-71,66)	51,49±1,15 ^b (50,16-52,17)
C_{max} (µg/ml)	1,26±0,85 ^a (0,38-2,20)	2,86±0,33 ^b (2,52-3,19)	4,70±0,17 ^c (4,47-4,89)	5,75±0,13 ^d (5,55-5,82)
T_{max} (saat)	1,50±0,85 (1,00-2,00)	1,25±0,50 (1,00-2,00)	1,75±0,50 (1,00-2,00)	1,75±0,50 (1,00-2,00)

^{a,b,c}. Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p < 0,05$).

EAA, Plazma ilaç yoğunluğu zaman eğrisi altında kalan alan,

k_a , emilmeli verilmelerde merkezi bölmeye birinci derece sabitesi

α , plazma ilaç yoğunluğu dağılıma dönemi hız sabitesi,

β , plazma ilaç yoğunluğu atılma dönemi hız sabitesi,

$t_{1/2\alpha}$, ağızdan verilme durumunda sindirim kanalından emilme yarı ömrü

$t_{1/2\alpha}$, α dönemi yarı ömrü,

$t_{1/2\beta}$, β dönemi yarı ömrü,

OKS, ilacın vücuttan% 63.2'sinin atılması için geçen süre,

C_{max} , en yüksek plazma ilaç yoğunluğu,

T_{max}, en yüksek plazma ilaç yoğunluğu zamanı.

3. 2. Oksidatif Metabolizma

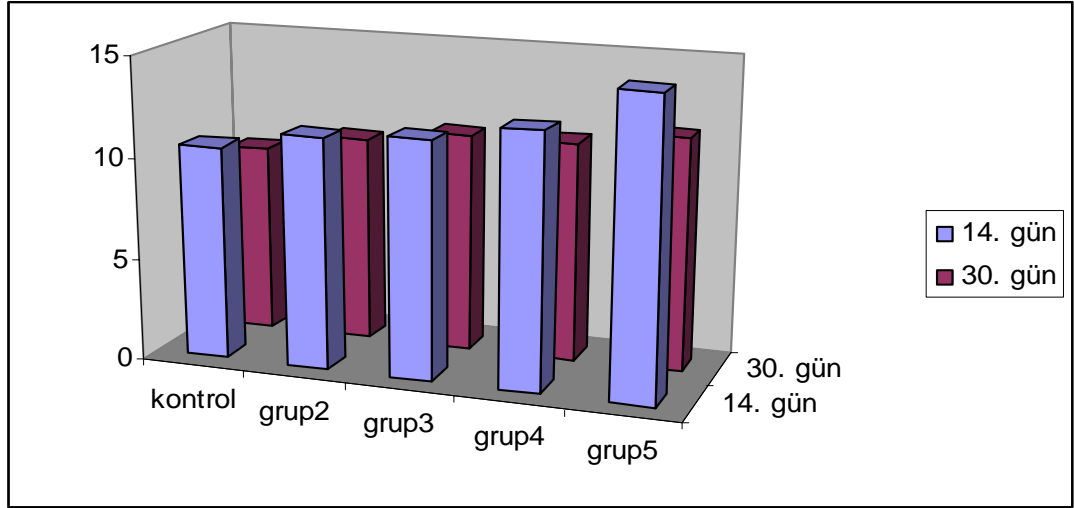
Çalışma kapsamında farklı dozlarda enrofloksasinin ağız yoluyla kullanılmasından sonra 14. ve 30. günlerde kan örnekleri alındı ve oksidatif metabolizmanın göstergesi niteliğindeki antioksidan enzimler yönünden analizler yapıldı. Aynı şekilde plazmada malondialdehid analizi gerçekleştirildi. Malondialdehid yönüyle elde edilen değerler Çizelge 3.2 ve Şekil 3.3’de verildi.

Bu madde lipid peroksidasyonun en önemli ölçütlerinden biridir ve son ürün olarak şekillenir. Çalışmada artan doza bağlı olarak MDA miktarlarında da yükselme meydana geldi. Çalışmanın 14. gününde kontrol, Grup 2, Grup 3, Grup 4 ve Grup 5’te MDA seviyeleri (nmol/ml) sırasıyla 10.53 ± 0.39 , 11.40 ± 1.47 , 11.69 ± 1.62 , 12.50 ± 2.61 ve 14.59 ± 2.30 olarak bulundu. Doza bağlı yükselme 30. günde de devam etti; ancak miktarlar 14. güne göre daha düşük (9.39 ± 2.29 , 10.26 ± 2.50 , 10.85 ± 3.15 , 10.84 ± 2.54 ve 11.50 ± 3.25) bulundu. Bu dönemdeki gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak da önemli bulundu ($p < 0.05$).

Çizelge 3. 2. Çalışma gruplarındaki MDA miktarları (nmol/ml) (ortalama standart sapma; en alt ve en üst değerler).

Gruplar	14. Gün	30. Gün
Kontrol	$10,53 \pm 0,39$ (10,11-11,04)	$9,39 \pm 2,29^a$ (7,31-12,75)
Grup 2	$11,40 \pm 1,47$ (8,40-12,60)	$10,26 \pm 2,50^a$ (7,62-13,22)
Grup 3	$11,69 \pm 1,62$ (10,42-14,00)	$10,85 \pm 3,15^a$ (8,09-15,86)
Grup 4	$12,50 \pm 2,61$ (10,11-16,17)	$10,84 \pm 2,54^{ab}$ (7,62-15,39)
Grup 5	$14,59 \pm 2,30$ (11,51-17,73)	$11,50 \pm 3,25^b$ (8,55-15,86)

^{a,b}, Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).



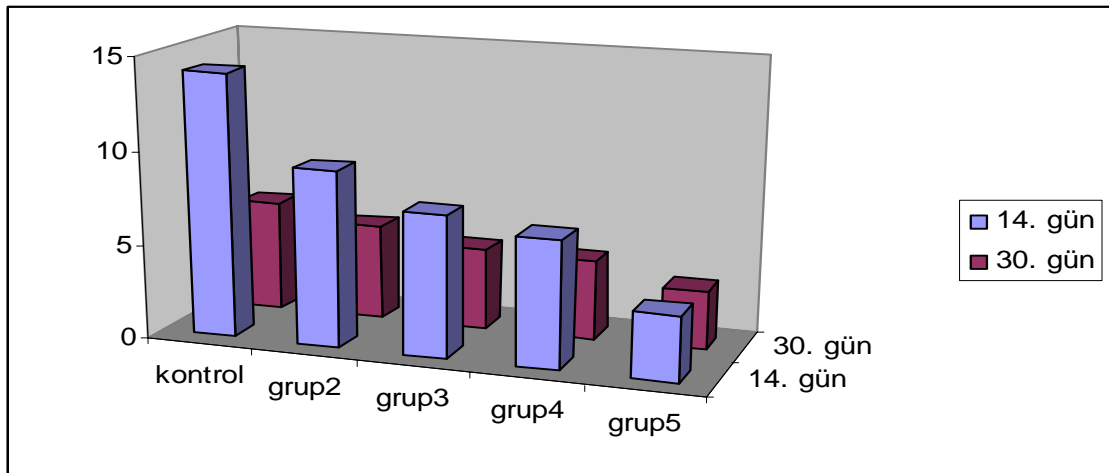
Şekil 3.3. Çalışma gruplarındaki 14. ve 30 günlerdeki MDA miktarları

Oksidatif metabolizma için önemli diğer enzimlerden SOD ve CAT aktivitelerine ilişkin veriler Çizelge 3.3, Şekil 3.4, Çizelge 3.4 ve Şekil 3.5’de gösterildi. İlacın dozunun artmasıyla birlikte SOD aktivitesinde azalma şekillendi. On dördüncü günde kontrol grubunda 14.11 ± 4.07 (U/gHb) olarak ölçülen SOD aktivitesi 400 mg/kg enrofloksasin verilen grupta (Grup5) 3.47 ± 1.61 (U/gHb) olarak tespit edildi. Aynı şekilde bu azalma 14. gün ile karşılaştırıldığında 30. günde de belirlendi. Bu dönemde hem 14. güne göre SOD aktivitesinde düşüş, hem de artan doza bağlı azalma tespit edildi. Otuzuncu günde kontrol gruplarında SOD aktivitesi 5.97 ± 0.53 (U/gHb), Grup 5’te ise 3.19 ± 0.23 (U/gHb) olarak ölçüldü. Bu azalma her iki dönemde de istatistiki olarak önemli bulundu ($p < 0.05$).

Çizelge 3.3. Çalışma gruplarındaki SOD aktiviteleri (U/gHb) (ortalama±standart sapma, en alt ve en üst değerler).

^{a,b,c}. Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir (p<0,05).

Gruplar	14. Gün	30. Gün
Kontrol	14,11±4,07 ^a (10,84-19,36)	5,97±0,53 ^a (5,24-6,41)
Grup 2	9,42±2,80 ^{ab} (5,55-14,95)	5,13±1,48 ^a (2,89-7,67)
Grup 3	7,55±4,15 ^{bc} (2,68-12,43)	4,36±1,40 ^{ab} (2,39-5,92)
Grup 4	6,81±5,48 ^{bc} (0,8-15,00)	4,23±1,84 ^{ab} (2,39-3,46)
Grup 5	3,47±1,61 ^c (1,14-5,42)	3,19±0,23 ^b (2,92-3,46)



Şekil 3. 4. Çalışma gruplarında 14. ve 30. günlerdeki SOD aktiviteleri

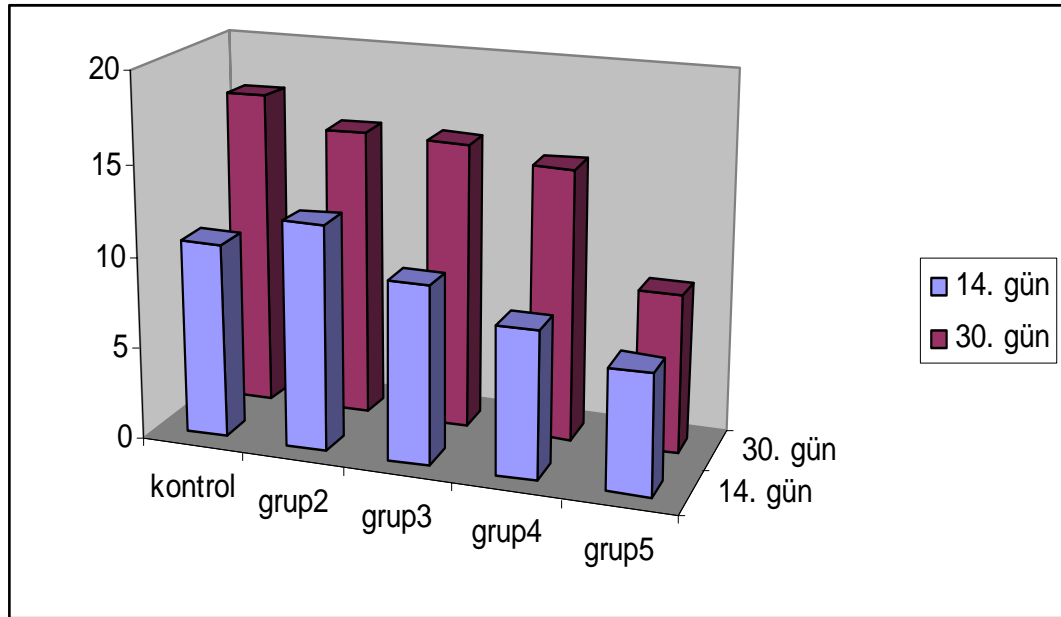
Katalaz aktivitesinde de doza bağlı azalma meydana geldi. Bu azalma özellikle 14. günde daha fazla bulundu. Otuzuncu günde 14. güne göre bir yükselme şekillendi; ancak, bu dönemde de yine doza bağlı enzim aktivitesinde azalma belirlendi. Söz

konusu değişiklikler de istatistiki önemde bulunmadı. Kontrol grubunda 14. günde CAT

aktivitesi 10.64 ± 7.64 iken, Grup 5'te 6.56 ± 4.12 (K/mgHb), 30. günde kontrol günlerinde 17.43 ± 12.18 iken, Grup 5'te 8.72 ± 7.14 (K/mgHb) olarak tespit edildi.

Çizelge 3.4. Çalışma gruplarındaki CAT aktiviteleri (K/mgHb) (ortalama \pm standart sapma; en alt ve en üst değerler)

Gruplar	14. Gün	30. Gün
Kontrol	$10,64 \pm 7,64$ (5,33-27,35)	$17,43 \pm 12,18$ (4,79-39,32)
Grup2	$12,29 \pm 5,01$ (7,46-20,71)	$15,84 \pm 8,97$ (3,26-28,35)
Grup 3	$9,74 \pm 7,33$ (3,74-22,04)	$15,68 \pm 6,91$ (8,29-27,24)
Grup 4	$8,05 \pm 5,78$ (3,59-17,87)	$14,85 \pm 4,03$ (10,35-19,10)
Grup 5	$6,56 \pm 4,12$ (2,16-11,26)	$8,72 \pm 7,14$ (1,57-21,59)



Şekil 3.5. Çalışma gruplarında 14. ve 30. günlerdeki CAT aktiviteleri

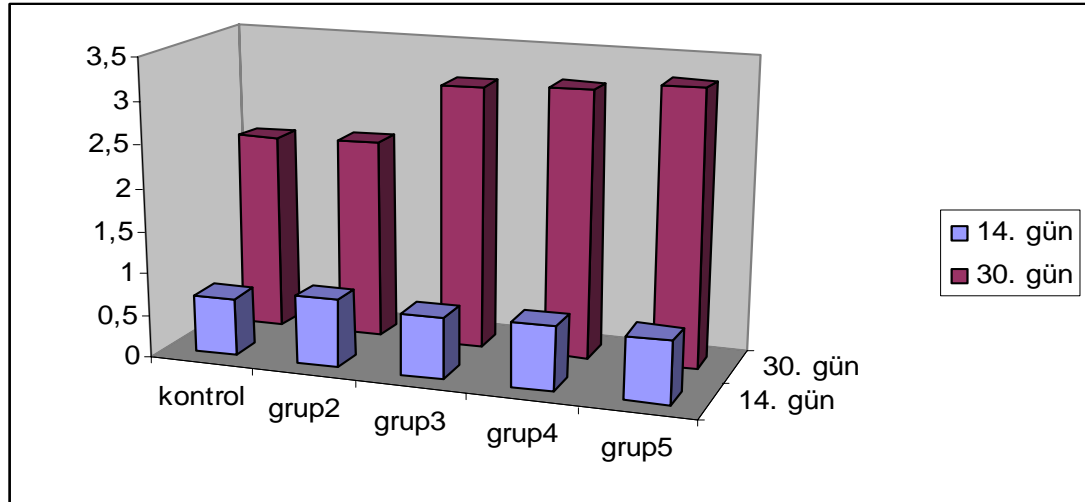
Çalışmada enzimatik aktiviteyle ilişkisi nedeniyle Mg düzeyleri de ölçüldü. Buna ilişkin veriler Çizelge 3.5 ve Şekil 3.6'da gösterildi. Dönemler arasında karşılaştırma yapıldığında, 14. güne göre 30. günde Mg düzeylerinin yükseldiği anlaşıldı. Bu artış

hem döneme hem de doza bağlı olarak şekillendi. Özellikle 30. günde gruplar arasında istatistiki olarak da önemli fark oluştu ($p < 0.05$). Bu dönemde Mg düzeyleri kontrol, Grup 2, Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'te sırasıyla, 2.32 ± 0.11 , 2.36 ± 0.18 , 3.09 ± 0.5 , 3.14 ± 0.22 ve 3.24 ± 0.73 olarak tespit edildi.

Çizelge 3.5. Çalışma gruplarındaki Mg düzeyleri (mg//100ml) (ortalama \pm standart sapma; en alt ve en üst değerler).

^{a,b}. Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir ($p < 0,05$).

Gruplar	14. Gün	30. Gün
Kontrol	0,67 \pm 0,14 (0,53-0,81)	2,32 \pm 0,11 ^a (2,22-2,52)
Grup 2	0,79 \pm 0,10 (0,64-0,92)	2,36 \pm 0,18 ^a (2,17-2,68)
Grup 3	0,72 \pm 0,20 (0,54-1,12)	3,09 \pm 0,50 ^b (2,25-3,89)
Grup 4	0,75 \pm 0,15 (0,54-0,92)	3,14 \pm 0,22 ^b (2,68-3,38)
Grup 5	0,73 \pm 0,20 (0,56-1,01)	3,24 \pm 0,73 ^b (2,52-4,34)



Şekil 3.6. Çalışma gruplarında 14. ve 30. günlerde Mg miktarları

3. 3. Makroskobik bulgular

Gerek deney, gerekse kontrol grubu hayvanlarda makroskopik olarak herhangi bir olumsuz bulguya rastlanmadı.

3 . 4. Histopatolojik bulgular

Kontrol grubu hayvanlarda herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı (Resim 1).

Lezyonların humerus ve femurun bazısında proksimal, bazısında ise distal kısımlarında daha belirgin olduğu dikkati çekti. Olguların tamamına yakın kısmında kondral matriksin ödemli ve çoğu alanda kondrositlerden yoksun olduğu gözlemlendi. Özellikle orta katmanda, birçok alanda içlerinde hafif bazofilik, yer yer eozinofilik bir materyal ve kollagen fibrilleri ile nekrotik kondrositleri barındıran, eklem yüzeyine yoğunlukla paralel, arasıra dik seyreden geniş yarıklanmalar ve kistik boşluklar gözlemlendi. Bu yarıklanmalar çevresinde piknotik çekirdekli, 3-5'li gruplar halinde kümelenmiş kondrositlere rastlandı.

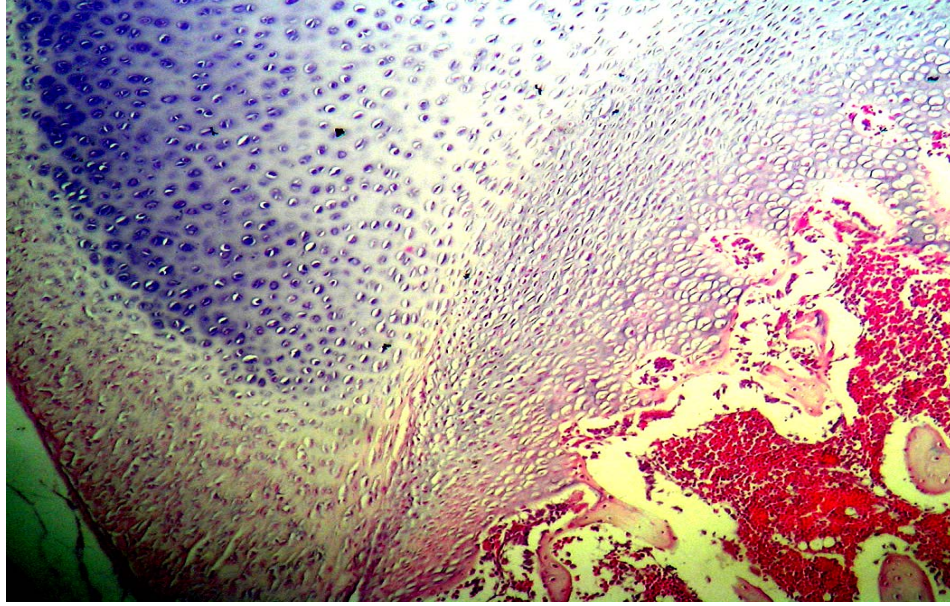
Lezyonların yoğunluğu ve şiddetinin kullanılan doz ve maruz kalma süresine göre değişiklik gösterdiği belirlendi. Ondört gün süre ilaç uygulanan 4 grubun da, kondral matriksin ödemi yanında piknotik çekirdekli kondrositler ve vakuolleşmeler içerdiği gözlemlendi; ancak, yarıklanmalara rastlanmadı (Resim 2a).

Hayatta kalmalarına izin verilen aynı gruptaki diğer hayvanların eklem kırıklarında ise 4. hafta sonunda (30. gün) kondral matriks ve çevresinde yer yer nekrotik kondrositlerin bulunduğu küçük vakuolleşmeler gözlemlendi (Resim 3a).

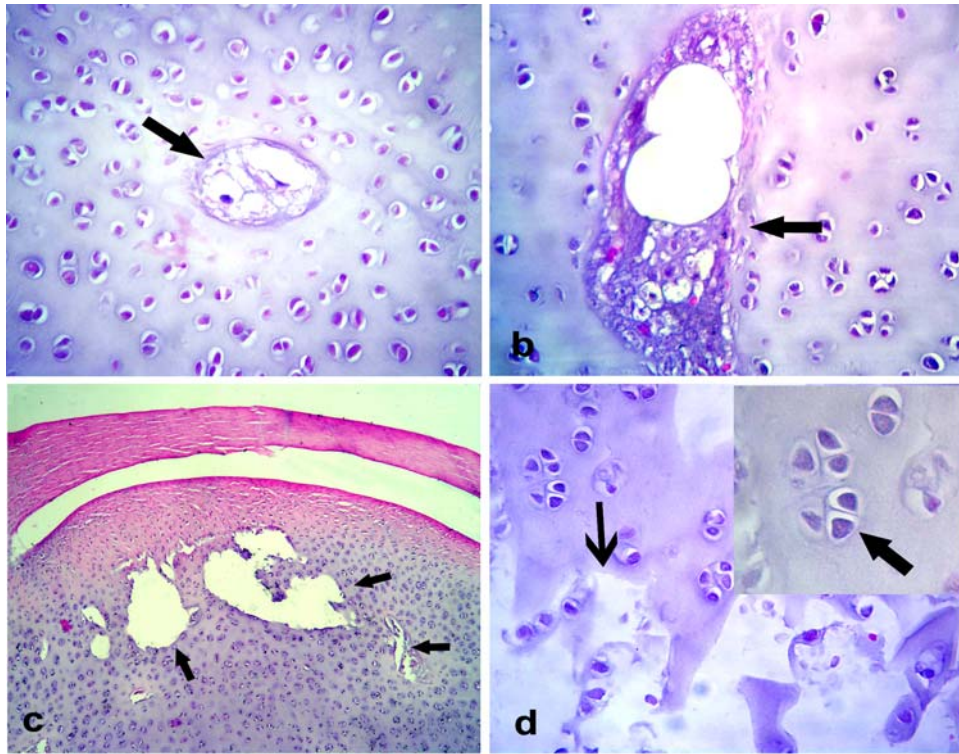
Dozun arttırıldığı diğer gruplarda ise lezyonların tedavi dozuna göre daha şiddetli seyrettiği gözlemlendi. Dört grubun da kondral matriksteki hücresel yoksunluğun yanında, özellikle maruz kalma süresinin uzatıldığı hayvanlarda perikondriuma yakın bölgelerde ayrılmaların şekillendiği dikkati çekti. Bununla birlikte 4 grubun da ilk iki haftalık dönemde çevresinde normal kondrositlerin yanında sitoplazmaları büzüşmüş

ve piknotik çekirdekli kondrositlerin bulunduğu, boşlukların genişlediği (Resim 2b) ve yer yer eklem yüzeyine paralel yarıklara dönüştüğü dikkati çekti. Sonraki iki haftalık dönemde lezyonlar devam etmekle beraber, bu yarıklanmaların çaplarının genişlediği fark edildi (Resim 3b). Tedavi dozunun arttırıldığı 4 ve 5. gruplarda ise benzer lezyonlar şiddetini artırarak devam etmekle birlikte, transversal yarıklanmaların yanında uzunlamasına yarıklanmaların da bulunduğu dikkati çekti. Yarıklanmaların bazı alanlarda çok genişlediği, içlerinde dejenere kollagen demetlerinin proteinden zengin pembe homojen bir sıvı içeren geniş kistik alanlara dönüştüğü gözlemlendi (Resim 2c ve d). Bunların çevrelerinde ise normal veya piknotik çekirdekli kondrositlerden oluşan kümeleşmelere (Cluster) rastlandı (Resim 2d). Bununla birlikte 3, 4 ve 5. gruplarda, yarıklanmalara yakın bölgelerdeki damar çevrelerinde hiperplastik, mitotik etkinlik gösteren, yuvarlak şekilli, veziküler çekirdekli ilkel (primitive) kondroblastların bulunduğu dikkati çekti.

Diğer gruplardan farklı olarak 4 ve 5. gruplar eklem yüzeyinin bazı alanlarında düzgün yapısını kaybettiği ve eklem boşluğundan kıkırdağa doğru çökmeler şeklinde dalgalanmalar gösterdiği saptandı (Resim 3c ve d). Beş grubun da 4 hafta doz uygulanan hayvanlardan birkaçında, özellikle humerus ve ulnanın eklem yüzeyleri arasındaki boşluk ve perikondriumun, kollagen ve bağ doku bileşenlerinden zengin karyorektik hücreler içeren bir dokuyla kaplandığı ve adhezyonların şekillendiği belirlendi. Yine 5. grupta kıkırdak matriksinin arasındaki damarlar çevresindeki dokunun gevşek bir hal aldığı ve iğ şekilli, poligonal, kondroblastik hücrelerin çoğalmaya başladığı gözlemlendi.



Resim 1. Eklem kıkırdağının normal histolojik görünümü, HE, X 100.



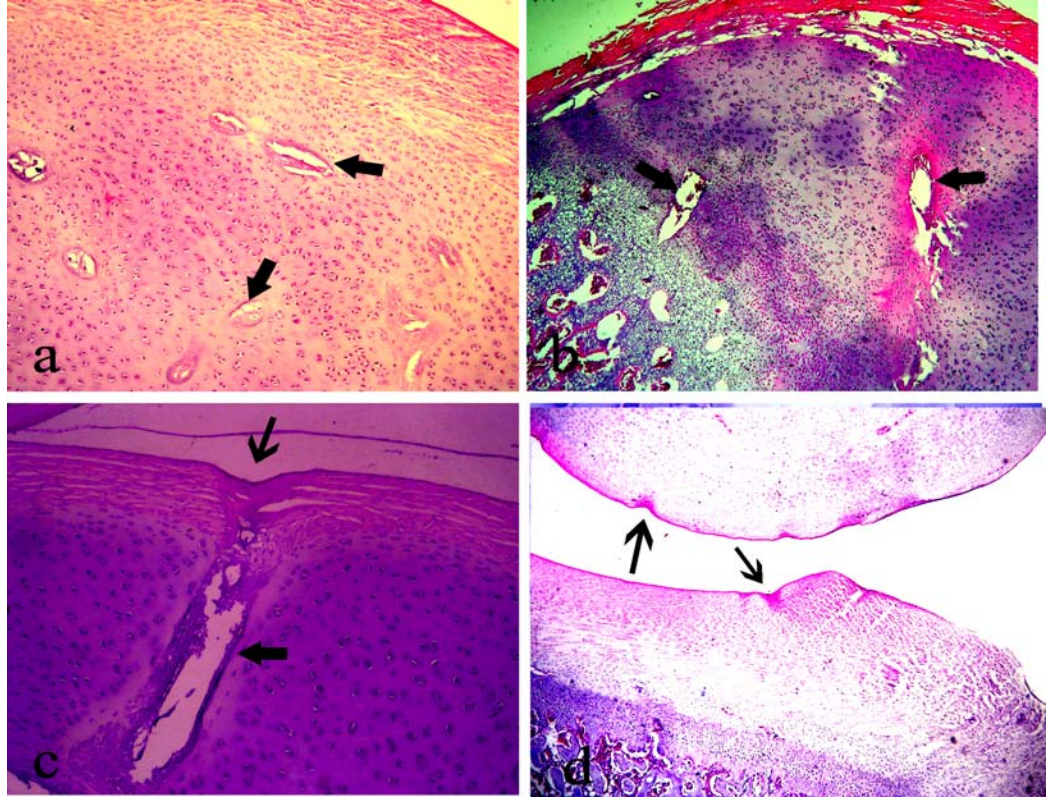
Resim 2. Eklem kıkırdağının 14. günde histolojik görünümü

a. Kondral matrikste piknotik çekirdekli ve dejenere kondrositler, vakuolleşmeler, HE, X 400.

b. Genişleyen vakuoller ve çevresindeki, nekrotik ve piknotik çekirdekli kondrositler, HE, X 400.

c. Orta katmanda geniş yarıklanmalar ve kistik oluşumlar, HE, X 40.

d. Yarıklanmalar (ince ok) ve çevresinde kondrositlerden oluşan hücre kümeleşmeleri (cluster) ve bunların yakından görünümü (sağ üst köşedeki küçük resim), (kalmın ok), HE, X 400.



Resim 3. Eklem kıkırdağının 30. günde histolojik görünümü

- a. Orta katmanda eklem yüzeyine paralel ve dik seyreden yarıklanmalar, HE, X 40.
- b. Eklem yüzeyine dik olarak seyreden geniş yarıklanmalar, HE, X 40.
- c. Perikondriuma yakın konumdaki yarıklanma (kalın ok) ve eklem yüzeyindeki düzensizlik (ince ok), HE, X 100.
- d. Eklem yüzeyindeki düzensiz görünüm, HE, X 40.

4. TARTIŞMA

Enrofloksasin, veteriner hekimliğinde son dönemde geliştiren ve en yaygın şekilde kullanılan antibakteriyellerden biridir (Bayer, 1999; Lietman, 1995). Enrofloksasin iyi bir farmakokinetik özelliğe ve yüksek bir antibakteriyel etkinliğe sahiptir (Sumano ve ark., 2001; Sumano ve ark., 2003).

Bu çalışmada enrofloksasin, ağız yoluyla civcivlere 10, 100, 200 ve 400 mg/kg c.a dozunda verildi ve uygulamadan sonra mide bağırsak sisteminden hızla emildiği görüldü. İlaç uygulanmasını takiben, çok kısa zamanda (Grup 2, 3, 4 ve 5'te sırasıyla, 1.5, 1.25, 1.75 ve 1.75 saatlerde) en yüksek yoğunluğa ulaştığı ve bu noktalardaki yoğunluklarının, 1.6, 2.86, 4.70 ve 5.75 µg/ml olduğu tespit edildi. Doz artışına bağlı olarak plazma ilaç yoğunluklarında da artış şekillendi. Diğer çalışmalarda da benzer (Stahlmann ve ark., 1998; Li ve ark., 2004) doz artışına bağlı olarak C_{max} seviyelerinde yükselme tespit edilmiştir. Piliçlere ağızdan 10 mg/kg dozda verilen enrofloksasinin plazmadaki pik yoğunluğunun 1.5, 5.5 ve 3 saatlerde sırasıyla, 1.88, 3.05 ve 2.05 mg/l olduğu bildirilmiştir (Knoll ve ark., 1999; Sumano ve ark., 2003, Parlar ve Kaya, 2005).

Çalışma gruplarındaki EAA değerleri sırasıyla 21.74, 26.4, 60.32 ve 72.1 mg.saat/l olarak bulundu. Li ve ark. (2004)'nın ratlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, ağızdan 800 ve 1200 mg/kg siprofloksasin verilen ratlarda en yüksek serum yoğunluğu ve EAA değerleri, 16.3 mg/l, 97.2 mg.saat/l ve 2.8 mg/l; 143.1 mg.saat/l olarak tespit edilmiştir. Artan doza bağlı olarak EAA değerinde yükselme meydana gelmiştir ki bu çalışmada da benzer durum söz konusudur.

Tavuklara 10 mg/kg enrofloksasin verildikten sonra atılma yarı ömrü, ortalama kalış süresi, dağılma yarı ömrü, en yüksek plazma yoğunluğu sırasıyla, 14.23 saat, 15.30 saat, 1.43 saat ve 2.44 mg/l olarak belirlenmiştir (Anadon ve ark.,1995). Bu çalışmada ortalama kalış süresi Grup 4 ve 5'de Grup 2 ve 3'e göre daha uzun

bulundu ve istatistiksel olarak önemliydi ($p<0.05$). Emilme yarı ömrü Grup 3 ve 5'te benzerdi. Grup 2 ve 4'te ise önemli farklılıklar gösterdi ($p<0.05$). Yüksek serum yoğunluğu ile emilme oranı arasında doğrudan bir ilişki vardır; bu oranın yüksek olması emilme yerinde daha yüksek yoğunlukta ilaç olmasına bağlıdır (Sumano ve Gutierrez, 2000).

Etkin oksijen gruplarının biyolojik sistemlere yönelik olarak meydana getirecekleri hasarın değerlendirilmesi için lipid peroksidasyonu en önemli parametrelerden biridir. Malondialdehid, grup hasarı belirlemede biyomarker olarak kullanılmaktadır (Kühn ve Borchert, 2002; Georgieva ve ark., 2005). Siprofloksasinin, sitokrom p450 tarafından okside edilerek etkin oksijen grupları ortaya çıkar ve sonuçta lipid peroksidasyona sebep olur (Gurbay ve ark., 2001).

Bu çalışmada da farklı dozlarda enrofloksasin uygulanan etlik piliçlerde plazma MDA düzeyinde kontrole göre artış görüldü. Bu artışın verilen ilaç dozunun artmasına paralel olarak arttığı tespit edildi. Ondört gün süre ile ilaç verilen Grup 5'teki artış, kontrol, 2 ve 3. gruplara kıyasla önemli düzeyde yüksek bulundu. Yalnızca etkin oksijen gruplarının üretiminin artması değil, aynı zamanda antioksidan koruma sistemlerinin (SOD, CAT enzimler gibi) azalması lipid peroksidasyonun göstergesi olarak kabul edilmektedir (Özateş, 2001; Sarban ve ark., 2005). Benzer bilgiler, siprofloksasin uygulamasıyla oksidatif stresin oluştuğunu bildiren diğer araştırmacılar tarafından (Pelletier ve ark., 2000; Gurbay ve ark., 2001) da rapor edilmiştir.

Siprofloksasinin oksidatif stres yapma ihtimali üzerine yapılan bir araştırmada (Gurbay ve ark., 2002) insan fibroblast dokularında lipid peroksidasyonu ile GSH-Px, CAT ve SOD aktivitesini ölçmüşlerdir. Sonuçta lipid peroksidasyonda artış, GSH-Px ve CAT'da azalma, SOD da ise herhangi bir değişikliğin meydana gelmediği bildirilmiştir. Alicia ve ark. (2002) tarafından yapılan çalışmada, plazmadaki MDA düzeylerinin enrofloksasin tedavisi ile yükseldiği ortaya konmuştur. Söz konusu çalışmada lipid hidroperoksidasyon düzeyinde artış da tespit

edilmiştir. Piliçlere 10 mg/kg enrofloksasin 1, 3, 5 ve 7 gün süreyle verildiğinde MDA düzeyinde herhangi bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir (Fatma, 2005).

Canlılar sahip oldukları hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidatif savunma mekanizmalarıyla etkin oksijen gruplarının oluşmasını engellemeye, onların zehirli etkilerini sınırlandırmaya çalışırlar (Fridovich, 1978). Süperoksit dismutaz, sistemik bir antioksidan olarak zehirli etkin oksijen gruplarına karşı korunma, etkisizleştirme ve bunların uzaklaştırılmasına yönelik etkinlik gösteren bir enzimdir (McCord, 1983). Enrofloksasinin metabolizması sırasında etkin oksijen grupları meydana gelir ve bunlar da oksidatif strese artışa yol açar (Martinez ve ark., 1998). Hücresel enzimlerin baskılanması, CAT ve GSH-Px aktivitesinde azalma görülmesiyle anlaşılır (Yazar ve Traş, 2001; Carreras ve ark., 2005). Kinolonlar tarafından etkin oksijen gruplarının üretilmesi doğrudan ilaç yoğunluğu ve inkübasyon süresine bağlıdır (Gurbay ve ark., 2001). Ayrıca, danofloksasin ve enrofloksasin doğrudan SOD ve GSH-Px aktivitesini etkileyebilir ya da ROS üretimini ve dolaylı olarak SOD ve GSH-Px aktivitesini değiştirebilir (Yazar ve Traş, 2001; Martinez ve ark. 1998).

Bu çalışmada enrofloksasinle tedavi edilen piliçlerde SOD aktivitesinde azalma meydana geldiği görüldü. Bu azalma 14 ve 30 gün süreyle yüksek dozda ilaç uygulanan 5. grupta kontrole ve Grup 2'ye göre daha fazla şekillendi. Enrofloksasin uygulanan gruplardaki SOD aktivitesindeki değişiklikler, meydana gelen oksidatif strese karşı organizmanın savunma tepkimesi olarak değerlendirildi. Enrofloksasinin yüksek dozu sonucunda ROS üretiminde artış meydana geldiği de düşünülebilir. Benzer şekilde yapılan bir çalışmada (Gurbay ve ark., 2001) siprofloksasinin ROS üretimini doz ve zamana bağlı olarak teşvik ettiği gösterilmiştir. Katalaz aktivitesinde de artan doza bağlı azalma meydana geldiği belirlenmiştir; ancak, bu durum istatistiksel olarak önemli görülmemiştir. Fibroblast hücrelerin siprofloksasinle inkübe edildiği bir çalışmada da (Gurbay ve ark., 2002), CAT aktivitesinde bir azalma tespit edilmiş, ancak istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Bununla birlikte 1, 3, 5 ve 7 gün süreyle 10 mg/kg enrofloksasin ile

tedavi edilen piliçlerde, CAT aktivitesinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir (Fatma, 2005).

Yapılan *in vitro* çalışmalarda yüksek yoğunluklardaki kinolonların hücre kültürlerinde hücre fonksiyonlarını ve hücre büyümesini engellediği saptanmıştır (Gurbay ve ark., 2002).

Kinolonlarla yapılan çalışmalarda yetişkin olmayan hayvanların eklemlerinde kırık dokuda hasara yol açtığı tespit edilmiştir (Patterson, 1991; Giguere ve ark.,1999; Kappel ve ark., 2002; Stahlmann, 2003). Kinolon çeşitlerine duyarlılık doza bağlı iken, kondrositlere yönelik olumsuz etkinin doz, hayvan türü ve kinolon çeşidine bağlı olduğu görülmüştür (Christ ve ark.,1988; Stahlmann ve ark.,1988a; Stahlmann ve ark., 1988b; Amacher ve ark., 1989; Machida ve ark.,1990; Stahlmann ve ark., 1993; Beluche ve ark.,1999; Cavuşoğlu ve ark., 2000; Bertino ve ark., 2000).

Kinolonların eklemlere yönelik meydana getireceği hasarın sebep olduğu spesifik mekanizmalar hala tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu konu ile en çok kabul görenlerden birisi, kinolonların iki değerlikli katyonlarla sabit şelasyon kompleksleri oluşturmalarıdır (Stahlmann ve ark., 1993; Stahlmann ve ark., 1995; Stahlmann, 2003). Yapılan *in vivo* çalışmalarda, yetişkin olmayan hayvanların diyetlerinde Mg eksikliğinde görülen eklem kırıkdağındaki lezyonların da kinolon sağaltımında görülen lezyonlara benzer olduğu tespit edilmiştir (Stahlmann ve ark. 1995; Foster ve ark., 1997; Vormann ve ark.,1997; Egerbacher ve ark., 2001). *In vitro* çalışmalarda da bu bilgiler desteklenmiştir (Stahlmann, 1997; Vormann ve ark. 1997; Egerbacher ve ark., 2000; Egerbacher ve ark., 2001; Peter ve ark., 2002). Kinolonların artan dozuyla birlikte fonksiyonel Mg miktarının da azaldığı belirlenmiştir (Stahlmann ve ark., 1995) ve ortaya çıkan Mg eksikliğinin etkin oksijen gruplarının oluşmasına sebep olduğu bildirilmiştir (Egerbacher ve ark., 2001; Stahlmann, 2003). Bu çalışmada 14 gün süreyle enrofloksasin uygulanan piliçlerde Mg miktarında herhangi bir değişiklik saptanmamıştır. Bununla birlikte, 30 günlük uygulamanın sonunda özellikle doz artışına da bağlı olarak 3, 4 ve 5.

gruplarda Mg miktarında önemli artışlar tespit edilmiştir. Çalışmalarda, genellikle eklem kıkırdağında Mg miktarındaki azalma artropati oluşmasına bağlı bulunurken, plazmadaki miktarı üzerine herhangi bir etki yapmadığı belirtilmiştir (Vormann ve ark., 1997).

Kinolonların kullanımına bağlı kıkırdak dokuda ödem (Foster ve ark. 1997; Vormann ve ark., 1997; Stahlmann ve ark., 1998; Çavuşoğlu ve ark., 2000; Lazo ve ark., 2002), boşluk oluşumu (Nagal ve ark., 2002), erozyon (Giguere ve ark.,1999), proteoglikan kaybı (Foster ve ark., 1997; Vormann ve ark., 1997; Giguere ve ark.,1999) kondrositlerde dejenerasyon ve kondrositlerin kümeleşme (Nagal ve ark., 2002), boyanabilirliğinde azalma ve nekrozlarla birlikte enine ya da uzunlamasına yarıklanmalar ve eklem yüzeyindeki düzensizliklerle karakterize lezyonların (Foster ve ark., 1997; Vormann ve ark., 1997; Kappel ve ark., 2002) literatür bilgileriyle uyumlu olduğu görüldü.

Dozun arttırıldığı gruplarda lezyonların tedavi dozuna göre (2. Grup) daha şiddetli seyrettiği gözlemlendi. Lezyonların yoğunluğu ve şiddetinin ilaca maruz kalma süresine göre değişiklikler gösterdiği de belirlendi. On ve onbir haftalık köpeklere 5 gün süre ile 30 ve 200 mg/kg canlı ağırlık dozunda siprofloksasin verildiğinde 30 mg/kg lik grupta eklem kıkırdağında herhangi bir patolojik değişiklik görülmezken, 200 mg/kg uygulanan grupta ise erozyonlar oluştuğu bildirilmiştir (Stahlmann ve ark., 2000). Siprofloksasin (%5'lik) 25 µL olarak gün aşırı 2 hafta süre ile 3 haftalık ratlarda diz eklemine enjekte edildiğinde erken histopatolojik inceleme sonucu kondrositlerde nekroz oluştuğu, eklem kıkırdağı matriksinde ise herhangi bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Yedinci enjeksiyondan sonra eklem kıkırdağında yaygın nekrozlar ve oluklar oluştuğu görülmüştür (Takada ve ark., 1994).

Kinolon artropati oluşturucu doz, türler arasında ve kinolon türevleri arasında farklılık göstermektedir (Stahlmann ve ark.,1988a; Stahlmann ve ark., 1988b; Amacher ve ark., 1989; Machida ve ark., 1990; Stahlmann ve ark, 1993). On üç haftalık ratlara yemle verilen 7500 mg/kg enrofloksasin, canlı ağırlık artışında

gerileme ve diz ekleminde histopatolojik değişikliklere neden olurken, 300 mg/kg'lık dozda herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Buzağı, domuz yavruları, köpek yavruları gibi yetişkin olmayan hayvanlara enrofloksasin uygulanması sonucu diğer florokinolonlarda olduğu gibi, eklem kıkırdağında benzer dejeneratif değişiklikler meydana gelmiştir (EAEMP, 1998).

Çalışmada belirlenen yarıklanmalar etrafındaki hiperplastik ilkel (primitif) kıkırdak hücreleri, her ne kadar yenilenme ve onarımın gerçekleştiğini gösterse de, bu hücrelerin olgun kıkırdak hücrelerine dönüşümünün uzun sürede gerçekleştiği düşünülebilir. Bununla birlikte zehirliliğin devam etmesi ve kıkırdak hücrelerinin nekroze olmasıyla açığa çıkan hücre içi enzimlerin sağlam olanları etkilemesiyle kıkırdak dejenerasyonunun ilerleyici bir şekilde devam etmesi, tam bir iyileşme olasılığını zayıflattığından söz edilmektedir (Foster ve ark., 1996; Çavuşoğlu ve ark., 2000). Bu nedenle kinolonların oluşturduğu kıkırdak dokudaki bu tip dejenerasyonun ilerleyici ve kalıcı olabileceği de gözardı edilmemelidir.

Etkin oksijen gruplarının oluşumu ile eklemlerde meydana gelen hasar arasında ilişkinin olabileceği düşünülmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalarda *in vitro* ve *in vivo* olarak buna yönelik sonuçlar alınmıştır. Henrotin ve ark. (2003) tarafından yapılan çalışmada *in vitro* olarak kondrositlerde oksidasyon metabolizmasını uyardığı tespit edilmiştir. Aynı şekilde diğer çalışmalarda (Machida ve ark., 1990; Thuong-Guyot ve ark., 1994; Stahlmann ve ark., 2000; Kappel ve ark., 2002) norfloksasin, ofloksasin, siprofloksasin ve nalidiksik asidin buna yönelik etkileri belirlenmiştir.

Söz konusu çalışma kapsamında da bu konu ayrıntılı şekilde değerlendirilmiştir. Enrofloksasinin artan dozlarının eklemlerde histopatolojik olarak hasara yol açtığı gösterilmiştir. Aynı şekilde oksidatif hasarın göstergesi olarak değerlendirilen MDA miktarı ile SOD ve CAT aktivitelerindeki değişikliklerde bu görüşü doğrular niteliktedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma sonunda elde edilen veriler, enrofloksasinin piliçlerin eklem kıkırdağında önemli değişikliklere sebep olduğunu ve diğer kinolonların yaptığı geri dönüşümsüz lezyonlara benzer kondrotoksik lezyonlar oluşturduğunu göstermiştir. Lezyonların şiddetinin maruziyet süresi ve doz miktarına bağlı olduğu görülmüştür. Malondialdehid seviyesindeki artış ve antioksidan enzim (SOD ve CAT gibi) aktivitelerindeki değişiklikler enrofloksasin tarafından etkin oksijen gruplarının meydana getirildiği ve böylece oksidatif stres aracılığıyla kondrotoksik etkilerin açığa çıkmış olabileceği fikrini vermiştir. Enrofloksasin tarafından üretilen etkin oksijen gruplarının miktarı verilen doza bağlıdır. Bu sonuçlar dikkate alındığında; etkin oksijen oluşumu aracılığıyla enrofloksasinin yan etkisi olarak eklem kıkırdağında hasar oluşumundan söz edilebilir.

Bütün bu değerlendirmelerin ışığında, hastalıkların tedavisi noktasında ilaç seçiminde karar verilirken, kinolonların olası artropatik etkisi göz önünde bulundurulmalıdır. Kinolonlarla tedavi sırasında hayvanın yaşı, uygulanan doz ve tedavi süresi öncelikle düşünülmeli ve buna göre bir sağaltım modeli oluşturulmalıdır.

ÖZET

Enrofloksasinin Etlik Cıvciv ve Piliçlerde Eklemlere Yönelik Etkilerinin Histopatolojik ve Biyokimyasal Parametreler ile Değerlendirilmesi

Florokinolonlar, geniş spektrumlu etkileri ile veteriner hekimliğinde yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerdendir. Fakat bu ilaçların kullanılmasında bazı yan etkiler belirlenmiş ve gelişmekte olan hayvanların kıkırdaklarında hasara sebep oldukları rapor edilmiştir. Ancak bu etkilerin mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Bazı araştırmalarda etkin oksijen oluşumunun, florokinolonların kıkırdak yapı üzerine hasar yapmasında rol oynadığı gösterilmiştir.

Enrofloksasinin eklem kıkırdağındaki etkisi ve bununla oksidatif stres ilişkisinin incelenmesi amacıyla; enrofloksasin 10 günlük Ross-38 ırkı cıvcivlere 14 ve 30 gün süreyle 10, 100, 200 ve 400 mg/kg c.a. ağız yoluyla verildi. Uygulanan ilaçların plazma yoğunluğu agar jel disk difüzyon yöntemi ile belirlendi. Plazmadaki yoğunluğu ve plazma yoğunluğu altında kalan alan, ağızdan farklı dozların uygulanmasından sonra 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 ve 24 saatlerde 10, 100, 200 ve 400 mg/kg lık dozlar için sırasıyla 1.26 ± 0.85 , $2,86\pm 0.33$, 4.70 ± 0.17 , $5.75\pm 0.13\mu\text{g/ml}$ ve 21.74 ± 1.52 , 26.40 ± 2.42 , 60.32 ± 6.02 ve 72.10 ± 4.30 g.saat/ml olarak tespit edildi.

Enrofloksasinin diğer kinolonlardakine benzer şekilde tipik kıkırdak hasarına sebep olduğu gözlemlendi. Kıkırdak hasarı 10 mg/kg enrofloksasin ile tedavi edilen gruplarda piknotik çekirdekli kondrositler ve ödematöz matriks olarak başladı. Yüksek dozlarda (100, 200 mg/kg) ilaç uygulanan gruplarda boşluk oluşumu, kondrosit kümeleşmeleri, ödematöz matriks bölgeler, hücresel yoksunluk gibi hasara ilerledi. Bu hasarlar 400 mg/kg dozunda tedavi edilen grupta, eklem yüzeyindeki yaygın erozyonlar şeklinde daha fazla gözlemlendi.

Oksidatif stresin incelenmesi amacıyla, lipid peroksidasyonunun göstergelerinden olan plazma MDA miktarı, antioksidan enzimlerden, SOD ve CAT aktiviteleri değerlendirildi. Otuz gün boyunca tedavi edilen grupların tümünde dozun arttırılmasıyla MDA miktarlarının arttığı gözlemlendi. Ondört ve 30 gün boyunca tedavi edilen tüm gruplarda enrofloksasin dozunun arttırılmasıyla SOD aktivitesi arttı. Tüm tedavi edilen gruplarda CAT aktivitesi kontrol grubuyla kıyaslandığında önemli farklılıklar göstermedi.

Çalışma kapsamında 30 gün süresince artan dozlarda tedavi edilen gruplardaki Mg miktarlarının arttığı belirlendi.

Çalışma bulguları değerlendirildiğinde, enrofloksasinin piliçlerde artropatiye sebep olabileceği ve hasarın doza bağlı şekillendiği sonucuna varıldı. Elde edilen veriler enrofloksasinin artropatik etkilerinin oksidatif stresle ilişkili olabileceğini düşündürdü.

Anahtar Sözcükler: Enrofloksasin, Etlik piliç, Histopatoloji, Oksidatif stres.

SUMMARY

Evaluation of the Effects of Enrofloxacin in Articular Cartilage of Broilers Using Histopatological and Biochemical Parameters.

Fluoroquinolones are widely used antibiotic with a broad spectrum of activity. However, certain adverse effects have been observed in association with the use of those drugs. They have been reported to induce lesions in the cartilage of growing animals, although the mechanism of those effects were not fully understood. Some evidences indicate that free radicals formation might play a role in the mechanism of fluoroquinolones induced cartilage defects.

To investigate the effects of enrofloxacin on the articular cartilages and the possiblity of the involvement of an oxidative stress in this mechanism of action, enrofloxacin was orally administered to 10 day old Ross-38 chicken for 14 and 30 consecutive days, of 10, 100, 200 and 400 mg/kg body weight. Plasma concentrations of the drug were measured using agar gel diffusion test. The concentrations of the drug in the plasma and the area under curve measured 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 and 24 hours after oral adminstration of the different doses were 1.26 ± 0.85 , $2,86\pm 0.33$, 4.70 ± 0.17 , 5.75 ± 0.13 $\mu\text{g/ml}$ and 21.74 ± 1.52 , 26.40 ± 2.42 , 60.32 ± 6.02 , 72.10 ± 4.30 g.saar/ml respectively.

Enrofloxacin was found to induce cartilage lesions that were typical of those seen in other quinolones drugs. The cartilage lesions start as oedematous matrix and chondrocyte with necrotic nuclei in groups treated by 10 mg/kg enrofloxacin, extended to a typical lesions such as a cellular, oedematous matrix areas, chondrocyte clusters, cleft and cavity formation, in the groups treated by high doses (100, 200 mg/kg) of enrofloxacin. These lesions progressed to extensive erosion of the articular surface in the group treated by 400 mg/kg. The severity of the lesion increased with the increasment of the doses and duration of time.

To assess the oxidative stress, blood plasma MDA a biomarker of lipid peroxidation, antioxidant enzymes, SOD and CAT activities were evaluated. Malondialdehit, levels increased with increasment in doses in all groups treated for 30 days. Superoxid dismutase activity decreased significantly with the increasement of enrofloxacin doses in all groups treated. Catalase activity in all treated groups was not significantly different in comparison to control.

Determintion of plasma magnesium levels revealed increased with inccreasement of enrofloxacin doses in animals treated for 30 days.

Thus concluded that enrofloxacin is able to produced arthropathy on chicken and the damage is dose dependent. These results suggested that enrofloxacin arthropatic effect is related to oxidative stress.

Key Words: Enrofloxacin, Broilers, Pharmacokinetic, Oxidative stress, Histopathology.

KAYNAKLAR

- ALICIA, I.W., LAURA, I.U., HUGO, G. O., NORA, G.B. (2002). Ciprofloxacin increases hepatic and renal lipid hydroperoxides levels in mice. *Biocell*, **26**: 225-228.
- ALTAN, O., PABUCCUOGLU, A., ALTAN, A., KONYALIOGLU, S., BAYRAKTAR, H. (2003). Effect of heat stress on oxidative stress, lipid peroxidation and some stress parameters in broilers. *Br. Poult. Sci.*, **44**:545-50.
- ALTREUTHER, P. (1987). Data on chemistry and toxicology of Baytril. *Vet. Med. Rev.*, **2**: 87-89.
- ALTREUTHER, P. (1992). Safety and tolerance of enrofloxacin in dogs and cats. Proceedings 1st Int. Symposium on Baytril: p. 15-19.
- AMACHER, D.E., SCHOMAKER, S.J., GOOTZ, T.D., MCGUIRK, P.R. (1989). Proteoglycan and procollagen synthesis in rat embryo limb bud cultures treated with quinolone antibacterials. *In Vitro Toxicology*, (New York): 307-312.
- ANADON, A., MARTINEZ, L., DIAZ, J., BRINGAS, P., MARTINEZ, M., FERNANDEZ, C., FERNANDEZ, M. C., FERNANDEZ, R. (199). Pharmacokinetic and residues of enrofloxacin in chicken. *Am.J. Vet.Res.*, **56**: 501-506.
- AOF. (2006). Kıkırdak dokusu. Erişim: [http:// www.aof.edu.tr]. Erişim tarihi: 25.04.2006.
- ASHOUR, M., SALEM, S., HASSANEEN, H. (2000). Antioxidant status in children with juvenile rheumatoid arthritis (JRA) living in Cairo, Egypt. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, **51**: 85 – 90.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST (AOAC) (1970). Official methods of analysis(Ed. 11) Washinton D. C.
- AYDELOTTE, M.B., KUETTNER, K.E. (1988). Difference between sub-population of cultured bovine articular chondrocytes, morphology and cartilages matrix production, *Connect.Tissue Res.*, **18**: 205-222.
- AYDEMİR, R., ÖZTÜRK, L.A., BOZKAYA, T.L. (2000). Effect of antioxidant vitamins A,C,E and trace element Cu, Se, on CuZnSOD, GSH-Px, CAT and LOP levels in chicken erythrocyte. *Cell Biochem. Funct.*, **18**: 109-115.
- BAUMGARTNER, V.W., PANGERL, R. (1990). Zurwirksamkeit der oralen Baytril lösung bei atemwegsenkrankungen des kalbes. *Trierarztl Umschau.*, **45**: 641-644.
- BAYDAN, E., KURTDEDE, A., KAYA, S., BÖRKÜ, K., YARSAN, E., PEKKAYA, S. (1998). Sağlıklı ve piyelonefritisli köpeklerde enrofloksasinin farmakokinetiği üzerine çalışmalar. *YYÜ.Vet. Fak.Derg.*, **9**: 73-76.
- BAYER, A.G. (1999). Baytril. [http://www.baytril.com/index.php/fuseaction/download/lrm]. Erişim tarihi 5. 12. 2005.
- BELUCHE, A.L., BERTONE, A.L., ANDERSON. D.E., KOHN, C.W., WEISBRODE, S.E. (1999). *In vitro* dose-dependent effect of enrofloxacin on equine articular cartilage. *AJVR.*, **60**: 577-582.

- BENDELE, A.M., J.F. HULMAN, A.K., HARVEY, P.S., HRUBEY, CHANDRASEKHAR, S. (1990). Passive role of articular chondrocytes in quinolone-induced arthropathy in guinea pigs. *Toxicol. Pathol.*, **18**: 304-312.
- BENLIER, E. (1998). İskemik dokuda serbest oksijen radikali hasarının önleyici farklı ajanların tek başına ve beraberce etkilerinin araştırılması. Uzmanlık Tezi. İstanbul Üniv. Cerrahpaşa tıp fakültesi.
- BERGENDI, L., BENES, L., DURAKOVA, Z., FERENEIK, M. (1999). Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life Sciences*, **65**: 1865-1874.
- BERTINO, J.J. , FISH, D. (2000). The safety profile of the fluoroquinolones. *Clin. Ther.*, **22**: 798-817.
- BOOTHE, D. M. (1994). Enrofloxacin revisited. *Vet. Med.*, **8**: 744-753.
- BOOTHE, D.M. (1997). Principles of drug selection for respiratory infections in cats. *Suppl. Compend Contin. Educ. Pract. Vet.*, **19**: 5-15.
- BRANDER, G.C., PUGH, D.M., BYWATER, R.J., JENKINS, W.L. (1994). Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics. 5th Ed. 3rd Printing. Bailliere Tindall. London.
- BREITSCHWERDT, E.B., DAVIDSON, M.G., AUCOIN, D.P., LEVY, M.G., SZABADOS, N.S., HEGARTY, B.C., KUEHNE, A.L., JAMES, R.L. (1991). Efficacy of chloramphenicol, enrofloxacin, and tetracycline for treatment of experimental Rocky Mountain Spotted Fever in dogs. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **11**: 2375-2381.
- BROSICZKY, B., SZABO, Z., JABERANSARI, M.T., MACK, P.P., ROTH, E. (2003). Activated PMNs lead to oxidative stress in chondrocytes: study of swine knee. *Acta Orthop. Scand*, **74**: 190-195.
- BROWN, S.A. (1996). Fluoroquinolones in animal health. . *Vet. Pharmacol Therap.*, **19**: 1 - 14.
- BUCKWALTER, J.A., MANKIN, H. (1998). Articular cartilage: tissue design and chondrocyte-matrix interactions. *Instr Course Lect.*, **47**: 477-486.
- BUCKWALTER, J.A., MANKIN, H.J., GRODZINSKY, A.J. (2005). Articular cartilage and osteoarthritis. *Instr. Course Lect.*, **54**: 465-80.
- BURKHARDT, J.E., HILL, M.A., CARLTON, W.W., KESTERSON, J.W. (1990). Histologic and histochemical changes in articular cartilages of immature beagle dogs dosed with difloxacin, a fluoroquinolones. *Vet.Pathol.*, **27**: 162-170.
- BURKHARDT, J. E., HILL, M. A., CARLTON, W .W. (1992). Morphologic and biochemical changes in articular cartilages of immature beagle dogs dosed with difloxacin. *Toxiocl. Pathol.*, **20**: 246-52.
- BURKHARDT, J. E., HILL, M. A., LAMBAR, C. H., CARLTON, W. W. (1993). Effects of difloxacin on the metabolism of glycosaminoglycans and collagen in organ cultures of articular cartilages, *Fundam .Appl.Toxicol.*, **20**: 257-263.
- CARRERAS, M., CASRELLARI, GARCIA REGUEIRO, J.,A., GUERRERO, L. (2004). Influence of enrofloxacin administration and alpha- tocopheryl acetat supplemented diets on oxidative stability of broiler tissue. *Pou.l Sci* , **83**: 796-804.
- CARRERAS, I.,CASTELLARI, M., VALERO, A., ANTONIO, J., SARRAGA, C. (2005). Influence of enrofloxacin administration on the proteolytic and antioxidant enzyme activities of raw and cooked turkey products. *J. Sci. Food Agric.*, **85**: 2407-2412.

- CHRIST, W., TONI, L., BEATE, U. (1988). A specific toxicologic aspect of the quinolones. *Review of Infec Dis*, **10** (supp 1) 141s-146s.
- CHU, D.T.W., FERNANDES, P.B. (1989). Structure-activity relationship of the fluoroquinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **33**: 131-135.
- COMPORTI, M. (1993). Lipid peroxidation: biopathology significance. *Molec. Aspects. Med.*, **14**: 199-207.
- CORRADO, M.L., STRUBLE, W.E, PETER, C., HOAGLAND, V. SABBAJ, J. (1987). Norfloxacin: review of safety studies. *Am. J. Med.*, **26** (6B): 22-26.
- ÇAVUŞOĞLU, İ. (1995). Quinolones grubu antibiyotiklerin kıkırdak dokusu üzerine etkileri. Doktora Tezi, Uludağ Univ. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- ÇAVUŞOĞLU, I., KHAVECI, Z., NOYAN, S., MINBAY, Z.(2000). Quinolones arthropathy induced by ofloxacin in juvenile rats: a light microscopic study. *Turk J. Med. Sci.*, **30**: 441-447.
- ÇİMEN, M.Y., ÇİMEN, O.B., KAÇMAZ, M., ÖZTÜRK, H.S., YORGANCIOĞLU, R., DURAK, I. (2000). Oxidant/antioxidant status of the erythrocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Clin. Rheumatol.*, **19**: 275-277.
- DAVENPORT, C.L., BOSTON, R. C., RICHARDSON, D.W. (2001). Effects of enrofloxacin and magnesium deficiency on matrix metabolism in equine articular cartilage. *Am. J. Vet. Res.*, **62**: 160-166.
- DIKSHITH, T. S. (1990). Toxicology of Pesticides in Animals. CRC Press. Boca Raton, Boston.
- DONALDSON, W. E. (1993). Nutritional factors. In: Introduction to biochemical toxicology. (2nd Ed.) Edited by : E. Hodgson and P.E. Levi. Appleton and Lange. Norwalk, Connecticut.
- EGERBACHER, M, SEIBERL, G., WOLFESBERGER, B., WALTER, I. (2000). Ciprofloxacin causes cytoskeletal changes and detachment of human and rat chondrocytes *in vitro*. *Arch. Toxicol.*, **73**:557-563.
- EGERBACHER, M., WOLFESBERGER, B., GABLER, C. (2001). *In vitro* evidence for effects of magnesium supplementation on quinolone-treated horse and dog chondrocytes. *Vet. Pathol.*, **38**: 143-148.
- ELLERBROEK, L. (1991). Zum Microbiologischen Nachweis der Chinoloncarbonsäurederivate Enrofloxacin, Ciprofloxacin und Flumequin. *Fleischwirtsch.*, **71**: 197-189.
- ENDTZ, H. P., RUIJS, G.J., VAN, KLINGEREN, B., JANSEN, W.H., VAN DER, R. (1991). Quinolone resistance in campylobacter isolated from man and poultry following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine. *J. Antimicrob. Chemother.*, **27**(2): 199-208.
- EVANS, L. M., CAYLOR, K.B. (1995). Mycobacterial lymphadenitis in a cat. *Feline Practice*, **23**:14-17.
- FATMA, A. (2005). Cıvcıvlerde bazı kinolon grubu antibiyotiklerin katalaz aktivitesi ve malondialdehit düzeyi üzerine etkisi. *A. Ü. Sağ. Bi. Derg.*, **14**: 135-150.
- FILAZI, A. (1995). Kanatlılarda bazı iki değerli iz minerallerin, florokinolon grubu antibakteriyel ilaçların ağızdan bioyararlanımı üzerinde etkiler. Doktora tezi. Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- FITZGERALD, S.P., CAMPPELL, J.J., LAMONT, J.V. (1992). The establishment of reference ranges for selenium. The selenoenzyme Glutathione Peroxidase and Metalloenzyme Superoxide

Dismutase in Blood Fractions. The Fifth International Symposium on Selenium in Biology and Medicine, Tennessee, July 20.

- FOSTER, SCHWABE, R., LAZO, E., ZIPPEL, U., VORMANN, J., GÜNTHER, T., MERKER, H. J., FRAGA, C.G., ZAMORA, R., TAPPEL, A.L. (1989). Damage to protein synthesis concurrent with lipid peroxidation in rat liver slice: effect of halogenated compound. Peroxides and vitamin E. *Arch Biochem Biophys.* **270**: 84-91.
- FOSTER, C., OCIOK, K., MERKER, J., STAHLMANN, R. (1996). Quinolones induced cartilage lesion are not reversible in rats. *Arch. Toxicol.*, **70**: 474-481.
- FOSTER, SCHWABE, R., LAZO, E., ZIPPEL, U., VORMANN, J., GÜNTHER, T., MERKER, H.J., STAHLMANN, R. (1997). Quinolones induced arthropathy : exposure of magnesium deficient aged rats or immature rats, minerals concentration in target tissues and pharmacokinetics. *Arch. Toxicol.*, **72**: 26-32.
- FRAGA, C.G., ZAMORA, R., TAPPEL, A.L. (1989) Damage to protein synthesis concurrent with lipid peroxidation in rat liver slices: effect of halogenated compounds, peroxides, and vitamin E1. *Arch. Biochem. Biophys.*, **270**: 84-91.
- FRIDOVICH, I. (1978). Superoxide radicals, superoxide dismutases and the aerobic life style. *Photochem Photobiol.*, **28**: 733-741.
- FRIDOVICH, I. (1986). Superoxide dismutase. *Adv. Enzymol.*, **58**: 61-64.
- GALTIER, M., BRESSOLLE, F., DE LA COUSSAYE, J. E., GOMENI, R., JOUBERT, P., GENY, F., DUBOIS, A, RAFFANEL, C., SAISSI, G., ELEDJAM, J.J. (1993). Multiple-dose pharmacokinetics of pefloxacin in patients with hepatocellular deficiency. *Clin. Pharmacokinet.*, **25**: 415-23.
- GAMBHIR, J.K., LALI, P., JAIN, A.K. (1997). Correlation between blood antioxidant levels and lipid peroxidation in rheumatoid arthritis. *Clin. Biochem.*, **30**: 351– 355.
- GEORGIEVA, N.V., V. KOINARSKI B., GADJEVA, V. (2005). Antioxidant status during the course of Eimeria tenella infection in broiler chickens. [[http:// www.google.com](http://www.google.com)]. Erişim tarihi 10. 04.2005.
- GIGUERE, S., SWEENEY, R.W., HABECKER, P.L., LUCAS, J., RICHARDSON, D.W. (1999). Tolerability of orally administered enrofloxacin in adult horses : a pilot study. *Vet. Pharmacol. Therap.*, **22**: 343-347.
- GOUGH, A, BARSOUM, N.J., MITCHELL, L., MCGUIRE, E.J., DE LA IGLESIA, F.A. (1979). Juvenile canine drug induced arthropathy: clinicopathological studies on articular lesion caused by oxolinic and pipemidic acids. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **51**: 177-187.
- GOUGH, A.W, BARSOUM, N.J, RENLUND, R.C., STURGESS, J.M., DE LA IGLESIA, F.A. (1985). Fine structural changes during reparative phase of canine drug-induced artropathy. *Vet. Pathol.*, **22**: 82-84.
- GOUGH, A.W., KASALI, O.B., SIGLER, R.E., BARAGI, V. (1992). Quinolone arthropathy-acute toxicity to immature articular cartilage, *Toxicol. Pathol.*, **20**: 336-449.
- GOUGH, A., JOHNSON, R., CAMPBELL, E., HALL, L., TYLOR, J., CARPENTER, A., BLACK, W., BASRUR, P.K., BARAGI, V.M., SIGLER, R., METZ, A. (1996). Quinolone arthropathy in immature rabbits treated with the fluoroquinolone, PD 117596. *Exp. Toxicol. Pathol.*, **48**(4): 225-32.

- GURBAY, A., GONTHIER, B., DAVELOOSE, D., FAVIER, A., HINCAL, F. (2001). Microsomal metabolism of ciprofloxacin generates free radicals. *Free Radic. Biol. Med.*, **30** (10):1118-1121.
- GURBAY, A., GARREL, C., OSMAN, M., RICHARD, M.J., FAVIER, A., HINCAL, F. (2002). Cytotoxicity in ciprofloxacin-treated human fibroblast cells and protection by vitamin E. *Hum. Exp. Toxicol.* **21**: 635-641.
- GURBAY, A., HINCAL, F. (2004). Ciprofloxacin-induced glutathione redox status alterations in rat tissues. *Drug Chem., Toxicol.*, **27**: 233-242.
- HEALTH POULTRY (2004). In FAQs: General. [[http:// www.healthypoultry.com/faqs/](http://www.healthypoultry.com/faqs/)]. Erişim tarihi: 09.11. 2004.
- HENROTIN, Y.E., BRUCKNER, P., PUJOL, J.P.L. (2003). The role of reactive oxygen species in homeostasis and degradation of cartilage. *Osteo Arthritis and Cartilage* **11**: 747-755.
- HENROTIN, Y., KURZ, B., AIGNER, T. (2005). Review: Oxygen and reactive oxygen species in cartilage degradation: friends or foes?. *Osteo Arthritis and Cartilage*, **13**: 643-654.
- HILDEBRAND, H., G., KEMPKA, G., SCHLÜTEN, SCHMIDT, M. (1993). Chondrotoxicity of quinolones *in vivo* and *in vitro*. *Arch. Toxicol.*, **67**: 411-415.
- HIRAN, T.S., MOULTON, P.J., HANCOCK, J.T. (1997). Detection of superoxide and NADPH oxidase in porcine articular chondrocytes. *Free Radic. Biol. Med.*, **23**: 736-43.
- HOEDT-SCHMIDT, S., SCHNEIDER, B., KALBHEN, D. A. (1993). Histomorphological studies on the effect of recombinant human superoxide dismutase in biochemically induced osteoarthritis. *Pharmacology*, **47**:252-60.
- HOOPER, D. (2000). Quinolones. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. (5th ed) Philadelphia: Churchill Livingstone, p. 404-423.
- HOOPER, D.C., WOLFSON, J.S. (1993). Adverse effects. In Hooper DC, Wolfson JS (eds): Quinolone Antimicrobial Agents,(2nd ed). Washington DC, American Society for Microbiology: p.489-512.
- INGHAM, B., D.W., BRETNALL, E.A., DALE , MACFADZEAN, J.A. (1977). Arthropathy induced by antibacterial fused N-alkyl-3-pyridone-carboxylic acids. *Toxicol. Lett.*, **1**:21-26.
- INTORRE, L., MENGOZZI, G., BERTINI, S., BAGLIACCA, M., LUCHETTI, E, SOLDANI, G. (1997). The plasma kinetics and tissue distribution of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in the Muscovy duck. *Vet. Res. Commun.*, **21**: 127-36.
- JALLALI, N.H., RIDHA , M.B.,THRASIVOULOU , C. UNDERWOOD, H.N.,BUTLER, COWEN, F.S. (2005). Vulnerability to ROS-induced cell death in ageing articular cartilage: The role of antioxidant enzyme activity. *Osteo Arthritis and Cartilage*, **13**: 614-622.
- KANEKO, J.J. (1980). Clinical Biochemistry of Domestic animals. 3rd Ed. Academic Press. Inc.(London) Ltd.
- KAPPEL, E.M., SHAKIBAEI, M., BELLO, A., STAHLMANN, R. (2002). Effects of the Des-F(6)-quinolone garenoxacin (BMS-284756), in comparison to those of ciprofloxacin and ofloxacin, on joint cartilage in immature rats. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **46**: 3320-3322.
- KARAGÜL, H., ALTINTAŞ, A., FIDANCI, U.R., SEL, T.(2000). Klinik Biyokimya. Medisan Yayın Serisi: 45. Ankara.

- KARATAS, F., OZATES, I., CANATAN, H., HALIFEOGLU, I., KARATEPE, M., COLAKT R. (2003). Antioxidant status and lipid peroxidation in patients with rheumatoid arthritis. *Indian J. Med. Res.*, **118**: 178-181.
- KASHIDA, Y., KATO, M. (1997). Toxic effects of quinolone antibacterial agents on the musculoskeletal system in juvenile rats. *Toxicol. Pathol.*, **25**(6):635-43.
- KARPPANEN, E., RIZZO, A., SAARI, L., BERGE, S., BOSTROM, H. (1989). Investigation on trichothecene stimulated lipid peroxidation and toxic effect of trichothecenes in animal. *Aca. Vet. Scan.*, **30**: 391-399.
- KASTNER, M., RAHM, U., BAUMANN-WILSCHKE, I., BELLO, A., STAHLMANN, R. (2004). Concentrations of the des-F(6)-quinolone garenoxacin in plasma and joint cartilage of immature rats. *Arch. Toxicol.*, **78**: 61-67.
- KATO, M., ONODERA, T. (1988). Effects of ofloxacin on the uptake of (3H) thymidine by articular cartilage cells in the rat. *Toxicol. Lett.*, **44**: 131-142.
- KATO, M., S. TAKADA, S., OGAWARA, TAKAYAMA, S. (1995). Effect of levofloxacin on glycosaminoglycan and DNA synthesis of cultured rabbit chondrocytes at concentrations inducing cartilage lesions *in vivo*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **39**: 1979-1983.
- KAYA, S., BAYDAN, E., BILGİLİ, A., YARSAN, E., ŞEKER, Y. (1996). Etlik piliçlerde enrofloksasinin farmakokinetiği ve manganla enrofloksasin arasında emilme yönünden etkileşme. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **43**:195-202.
- KAYA, S. (2000): *Antibiyotikler*. S Kaya, İ. Pirinççi, A Bilgili (Editörler), Veteriner Uygula-malı Farmakoloji. Cilt 2. Baskı 2. Medisan Yayınevi. Ankara.
- KNOLL, U., GLÜDER, G., KIETZMANN, M. (1999). Comparative study of plasma pharmacokinetic and tissue concentration of danofloxacin and enrofloxacin in broiler chickens. *Vet. Pharmacol Therap.*, **22**: 239-246.
- KONTOS, V.I., ATHANASIOU, L.V. (1998). Use of enrofloxacin in the treatment of acute canine ehrlichiosis. *Canine Practice*, **23**: 10-14.
- KUHN, H., BORCHERT, A. (2002). Regulation of enzymatic lipid peroxidation: the interplay of peroxidizing and peroxide reducing enzymes. *Free Radic. Biol. Med.*, **33**: 154-172.
- KUNG, K., WANNER, M. (1993). Einfluß zweier verschiedener Futter auf die Pharmacokinetik von oral appliziertem Baytril® (Enrofloxacin) beim Hund. *Kleintierpraxis*, **2**: 95-102.
- KURZ, B., JOST, B., SCHUNKE, M. (2002). Dietary vitamins and selenium diminish the development of mechanically induced osteoarthritis and increase the expression of antioxidative enzymes in the knee joint of STR/1N mice. *Osteo Arthritis Cartilage*, **10**: 119–126.
- LI, P., NENG-NENG, CHEN, G., BIN-YAN, C., YONG-MING, W. (2004). *In vivo* and *in vitro* chondrotoxicity of ciprofloxacin in juvenile rats. *Acta Pharmacol. Sin.*, **2**: 1262-1266.
- LIETMAN, P.S. (1995). Fluoroquinolone toxicities. An update. *Drugs.*, **49** (Suppl 2): 159-163.
- LINDENSTRUTH, H., FROST, J.W. (1993). Enrofloxacin (Baytril®) – eine Alternative in der Psittakoseprophylaxe und -therapie bei importierten. *Psittaciden. Dtsch. tierärztl. Wsch.*, **100**: 364-368.

- LOZO, E., RIECKE, K., SCHWABE, R., VORMAN, J., STAHLMANN, R. (2002). Synergistic effect of ofloxacin and magnesium deficiency on joint cartilage in immature rates. *Antimicrob. Agents Chemother.* , **46**: 1755-1759.
- LUCK, H. (1965). Catalase. Methods in Analysis. Bergmeyer, H.U.Ed. Academic Press, Inc. NY and London.
- MACHIDA, M., KUSAJIMA, H., AIJIMA, H., MAEDA, A., ISHIDA, R., UCHIDA, H. (1990). Toxicokinetic study of norfloxacin-induced arthropathy in juvenile animals. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **105**: 403-412.
- MANKIN, J.H.(1982). The response of articular cartilage to mechanical injury. *J. Bone Joint Surg.*, **64**: 460-466.
- MARIE, A.S., PASCALE, G.P, ALAIN M., PIERRE, G., PATRICK, N., BERNARD, T. (1999). Proteoglycan and collagen biochemical variations during fluoroquinolone-induced chondrotoxicity in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **43**: 2915-2921.
- MARTIN, J.A., KLINGELHUTZ, A.J., MOUSSAVI-HARAMI, F., BUCKWALTER, J.A. (2004). Effects of oxidative damage and telomerase activity on human articular cartilage chondrocyte senescence. *J Gerontol A Biol. Sci. Med. Sci.*, **59**: 324-37.
- MARTINEZ, L.J., SIK, R., CHIGNELL, C. F. (1998). Fluoroquinolones antimicrobials: singlet oxygen, superoxide and phototoxicity. *photo. Chem. Photo Boil.*, **67**: 399-403.
- MCCORD, J.M. (1983). The biochemistry and pathophysiology of superoxide. *Physiologist*, **26**:156-158.
- MEINEN, J.B., MCCLURE, J.T., ROSIN, E. (1995). Pharmacokinetics of enrofloxacin in clinically normal dogs and mice and drug pharmacodynamics in neutropenic mice with Escherichia coli and Staphylococcal infections. *Am. J. Vet. Res.*, **56**: 1219-1224.
- MURPHY, C.L., SAMBANIS, A. (2001). Effect of oxygen tension on chondrocyte extracellular matrix accumulaton. *Connect. Tissue Res.*, **42**: 87-96.
- NAGAL, A., MIAZAKI, M., MORITA, T., FURUBO, S., KIZAWA, K., FUKUMOTO, H., SANZEN, T., HAYAKAWA, H., KAWAMURA, Y. (2002). Comparative articular toxicity of garenoxacin, a novel quinolones antimicrobial agent, in juvenile beagle doges. *Toxicol . Scien.*, **27**: 219-228.
- NEUMAN, M. (1988). Clinical pharmacokinetics of the newer antibacterial 4-quinolones. *Clin. Pharmacokinet.*, **14**: 96-121.
- OLIVERI, O., GIRELLI, D., TREVISAN, M.T. (1991). Red blood cell susceptibility to lipid peroxidation, membrane lipid composition and antioxidant enzymes in patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*,**18**: 1263– 1264.
- ÖZATEŞ, İ (2001). Romatoid artritli hastaların serumdaki antioksidan(A, E ve C) vitaminler ile plazma malondialdehit (MDA) duzeylerinin tespit edilerek aralarındaki ilişkilerin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Firat Üniv . Fen Bilimleri Enstitüsü.
- ÖZGÜNEŞ, H., GURER, H., TUNCER, S. (1995). Correlation between plasma malondialdehyde and ceruloplasmin activity values in rheumatoid arthritis. *Clin. Biochem.*, **28**:193–19 4.
- ÖZNER, A., SAĞLAM, M., AŞTİ, R. (1997). Kıkırdak dokusu. Alınmıştır. General histoloji. (5.Baskı), Yorum Matbaacılık Sanayi Ankara.

- PARLAR, A. (2000). Etlik piliçlerde enrofloksasin içeren müstahzarların farmakokinetiği. Doktora Tezi Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ankara
- PARLAR, A., KAYA, S. (2005). Etlik piliçlerde enrofloksasin içeren müstahzarların farmakokinetiği. *Ankara Üniv. Vet. fak. Dergi.*, **52**: 99-103.
- PATTERSON, D.R. (1991). Quinolone toxicity: methods of assessment. *Am. J. Med.*, **91**(6A): 35S-37S.
- PELLETIER, J.P., JOVANOVIĆ, D. V., LASCAU-COMAN, V., FERNANDES, J.C., MANNING, P.T., CONNOR, J.R.R. (2000). Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces progression of experimental osteoarthritis *in vivo*: Possible link with the reduction in chondrocyte apoptosis and caspase 3 level. *Arthritis Rheum.*, **43**: 1290- 1299.
- PETER, T.L., FULTON, R.M., ROBERSON, K.D., ORTH, M.W. (2002). Effect of antibiotics on *in vitro* and *in vivo* avian cartilage degradation. *Avian Dis.*, **46**: 75-86.
- PERTUISET, E G., LENOIR, M. JEHANNE, F. DOUCHAN, M. GUILLOT, MENKES, C.J. (1989). Tolerance articulaire de la pefloxacin et de l'ofloxacin chez les enfants et adolescents atteints de mucoviscidose. *Rev. Rheumatol.*, **56**: 735–740.
- PIERFITTE, C., ROYER, R. J. (1996). Tendon disorders with fluoroquinolones. *Therapie.*, **51**: 419-420.
- PIKUL, J., LESZCZYNSKI, D.E., KUMMEROW, F.A. (1985). Total lipid, fat composition and malonadehyde concentration in chicken liver, heart, adipose tissue and plasma. *Poul Scie*, **64**: 469-475.
- PRESNELL, J.K., SCHREIBMAN, M.P. (1997). Staining Microorganisms. *Humason's animal tissue techniques*. USA. Johns Hopkins Univ. Press. Ltd. p.: 310–312.
- PRISCILLA, M. C., HEATHER, S. T. (2000). Antioxidant; what role do they play in physical activity and health?. *Am. J. Clin. Nutr.*, **629**(supp): 636s-646s.
- RON, J.J., WILLIAM, D.B., ROBERT, E.S., VIJAYKUMAR, M.B., ALEC, W.G. (2000). Evaluation of toxicokinetic variables and arthropathic changes in juvenile rabbits after oral administration of an investigational fluoroquinolones, PD 117596. *AJVR.*, **61**: 1396-1402.
- SARBAN, A., SEZGIN, A., KOCYIGIT, B., MITHAT, Y., UGUR, A., ISIKAN, E. (2005). Plasma total antioxidant capacity, lipid peroxidation, and erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Clin. Biochem.*, **38**: 981 – 986.
- SCHAAD, U.B. (2000). Use of the Quinolones in Pediatrics. In: V.T. Andriole, Editor, *The Quinolones* (3rd ed.), Academic Press, San Diego., p. 455–475.
- SCHEER, M. (1987). Concentration of active ingredient in serum and in tissues after oral and parenteral administration of Baytril. *Vet. Med. Rev.*, **16**: 462-468.
- SCHERER, K., SCHUNKE, M., SELLCKAU, R., HASSENPFUG, J., KURZ, B., (2004). The influence of oxygen and hydrostatic pressure on articular chondrocytes and adherent bone marrow cells *in vitro*. *Biorheology*, **41**: 323-333.
- SCHLÜTER, G. (1987). Ciprofloxacin : review of potential toxicologic effects. *Am. J. Med.*; **82** (supp 4A): 91-93.

- SCULLY, B.E., (1990). Pharmacology of the fluoroquinolones. *Urology*, **5** (1 Suppl): 8-10.
- SEVEN, A., CANDAN, G.(1996). Antioxidant defence system. *Cerrahpaşa. J. Med.*, **27**:41-50.
- SEZGIN, S.A., ABDURRAHIM, K.B., MITHAT, Y.A., UGUR, E.I. (2005). Plasma total antioxidant capacity, lipid peroxidation, and erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Clin. Biochem.*, **38**: 981 – 986.
- SHAKIBAEI, M., K. PFISTER, R. SCHWABE, J. VORMANN, STAHLMANN, R. (2000). Ultrastructure of Achilles tendons of rats treated with ofloxacin and fed a normal or magnesium-deficient diet. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **44**: 261–266.
- STAHLMANN, R., BLANKENBURG, G., NEUBERT, D. (1988a). Studies on cartilage formation and differentiation in limb-bud culture in the presence of nalidixic acid, ofloxacin and ciprofloxacin. *Rev Infect. Dis.*, **10** (Supp 11): 147.
- STAHLMANN, R., BLANKENBURG, G., CHAHOUD, I., WEBB, J., MERKER, H.J., HINZ, N., NEUBERT, D. (1988b). Effects of quinolones on joint cartilage in juvenile rats and marmosets. non-human primates: *Developmental Biology and Toxicology*, (Eds. Neubert D, Merker HJ, Hendricks AG.) Ueberreuter Verlag, Wien p. 547-65.
- STAHLMANN, R., MERKER, H.J., HINZ, N., CHAHOUD, I., WEBB, J., HEGER, W., NEUBERT, D. (1990). Ofloxacin in juvenile non-human primates and rats. Arthropathia and drug plasma concentrations. *Arch Toxicol.*, **64** :193-204
- STAHLMANN, R., FORSTER, C., VAN SICKLE, D. (1993). Quinolones in children. Are concerns over arthropathy justified ?. *Drug Saf.*, **9**:397-403.
- STAHLMANN, R., FORSTER, C, SHAKIBAEI, M., VORMANN, J., GUNTHER, T., MERKER, H. J.(1995). Magnesium deficiency induces joint cartilage lesions in juvenile rats which are identical to quinolone-induced arthropathy. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **39**: 2013-2018.
- STAHLMANN, R. (1997). Quinolones induced arthropathy: exposure of magnesium deficient aged rats or immature rats, mineral concentrations in target tissues and pharmacokinetics. *Arch. Toxicol.*, **72**: 26-32.
- STAHLMANN, R., ZIPPEL, U., FORSTER, C., SCHWABE, R., SHAKIBAEI, M., MERKER, H. J., BORNER, K.(1998). Chondrotoxicity and toxicokinetics of sparfloxacin in juvenile rats. *Antimicrob Agents Chemother.*, **42**: 1470-1475.
- STAHLMANN, R, LODE, H. (1999) Toxicity of quinolones. *Drug*, **58** (Suppl 2):37-42.
- STAHLMANN, R., KÜHNER, S., SHAKIBAEI, M., SCHWABE, R., FLORES, J., EVANDER, S., A., VAN, D.C. (2000). Chondrotoxicity of ciprofloxacin in immature beagle dogs immunohistochemistry, electron microscopy and drug plasma concentration. *Arch. Toxicol.*, **73**: 564-572.
- STAHLMANN, R. (2002). Clinical toxicological aspect of fluoroquinolones. *Toxicol. letter*, **127**: 269-277.
- STAHLMANN, R. (2003). Children as a special population at risk-quinolones as an example for xenobiotics exhibiting skeletal toxicity. *Arch. Toxicol.*, **77**: 7-11.
- STRATTON, C.W. (1998). The safety profile of fluoroquinolones. *Antimicrob. Infect. Dis. News.*, **17**(Suppl. 8): 57-64.





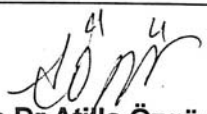
- STUDDERT, V.P., HUGHES, K.L. (1992). Treatment of opportunistic mycobacterial infections with enrofloxacin in cats. *JAVM*, **201**: 1388-1390.
- SUMANO, L.H., GUTIERREZ, O.L. (2000). Bases farmacológicas del uso de la enrofloxacin en la avicultura en Mexico. *Veterinaria Mexico*, **31**: 56-61.
- SUMANO, L.H., GUTIERREZ, O. L., ZAMORA, M. A. (2001). Bioequivalence of four preparations of enrofloxacin in poultry. *Vet. Pharmacol. Therp.*, **24**:309-313.
- SUMANO, L.H., GUTIERREZ, O. L., ZAMORA, Q. M. (2003). Strategic administration of enrofloxacin in poultry to achieve higher maximal serum concentrations. *Vet. J.*, **165**: 143-148.
- TAKAIZAWA, T., HASHIMOTO, K., MINAMI, T., YAMASHITA, S., OWEN, K. (1999). The comparative arthropathy of fluoroquinolones in dogs. *Hum. Exp. Toxicol.*, **18**: 392-399.
- TAKADA, S., M. KATO, TAKAYAMA, S. (1994). Comparison of lesions induced by intra-articular injections of quinolones and compounds damaging cartilage components in rat femoral condyles. *Toxicol. Environ. Health*, **42**: 73-88.
- TAYSI, S., POLAT, F., GUL, M., SARI, R.A., BAKAN, E. (2002). Lipid peroxidation, some extracellular antioxidants, and antioxidant enzymes in serum of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol. Int.*, **21**: 200–204.
- THUONG-GUYOT, M., O. DOMARLE, J.J. POCIDALO, AND G. HAYEM.(1994). Effects of fluoroquinolones on cultured articular chondrocytes flow cytometric analysis of free radical production. *Pharmacol. Exp. Therp.*, **271**: 1544-1549.
- UFUK, E. (1992). Deferoksamin iskemik deri fleplerinde serbest oksijen radikali hasarını öneleyici etkisi, vasodilatasyonun rolü . Uzmanlık Tezi. İstanbul Üniv. Sağlık Bilimleri Ens. İstanbul.
- UROPEAN AGENCY FOR THE EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS (EAEMP). (1998). Enrofloxacin summary report.[<http://eudra.org/emea.html>]. Erişim tarih: 04.10 .2005.
- URSINI, F., MAIORINO, M., FERRI, L., VALENTE, M., GREGOLIN, C. (1981). Hydrogen peroxide and hematin in microsomal lipid peroxidation. *Inorg. Biochem.*, **15**:163-169.
- VENKATESAN, N., THORP, B. H., HULMES, D.J. (1999). Articular cartilage proteoglycan metabolism in avian degenerative joint disease: effects of strain selection and body weight. *Connect Tissue Res.* **40**: 199-208.
- VORMANN, J., FÖSTER,C., ZIPPEL, U., LOZO,E., GÜNTHER,T., MERKER,H.J., STAHLMANN, R. (1997). Effects of magnesium deficiency on magnesium and calcium content in bone and cartilage in developing rats in correlation to chondrotoxicity. *Calcif. Tissue Int.* ,**61**: 230-238.
- WALKER, .D. (2000).The use of fluoroquinolones for companion animal antimicrobial therapy. *Aust. Vet.*, **78**: 84-90.
- WANGER, J. G. (1979). Fundamentals of clinical pharmacokinetics. Illinois: The Hamilton Press. Inc, USA.
- WENTLAND, M.P., LESHER, G.Y., REUMAN, M., GRUETT, M.D., SINGH, B., ALDOUS, S.C., DORFF, P.H., RAKE, J.B., COUGHLIN, S.A. (1993). Mammalian *topoisomerase II* inhibitory activity of 1-cyclopropyl-6,8- difluoro-1,4-dihydro-7-(2,6-dimethyl-4-pyridinyl)-4-oxo-3-quinolinecarb oxyllic acid and related derivatives. *J. Med. Chem.*, **36**: 2801-2809.

- WETZSTEIN, H.G., DEJONG, A. (1996). In vitro bactericidal activity and post antibiotic effect of fluoroquinolones used in veterinary medicine. *Suppl. Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.*, **18**: 22-29.
- WILSMAN, N.J., and VAN SICKLE, D.C.(1970). The relationship of cartilage canals to the intial osteogenesis of secondry centres of ossification. *Anat .Rec.*, **168**: 381-392.
- WOLFSON, J.S., HOOPER, D.C. (1989a). Treatment of genitourinary tract infections with fluoroquinolones:activity in vitro, pharmacokinetics, and clinical efficacy in urinary tract infections and prostatitis. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **33**: 1655-1661.
- WOLFSON, J. S., HOOPER, D. C. (1989b). Fluoroquinolones antimicrobial agent. *Clin. Microbio. Rev.*, 378-424.
- YABE, K., MURAKAMI, Y., NISHIDA, S., SEKIGUCHI, M., FURUHAM, K., GORYO, M., OKADA, K. (2001). A non-arthropathic dose and its disposition following repeated oral administration of ofloxacin, a new quinolone antimicrobial agent, to juvenile dogs. *J. Vet. Med. Sci.*, **63**: 867-72.
- YABE, H., SATOH, Y., ISHII, T., JINDO, T., SUGAWARA, K., FURUHAMA, M., GORYO, OKADA, K. (2004). Early pathophysiologic feature of arthropathy in juvenile dogs induced by Ofloxacin, a quinolone antimicrobial agent. *Vet. Pathol .*, **41**: 673-681.
- YALÇIN, A., S.(1998). Antioksidanlar. *Klin. Geliş.*, **11**: 342-346.
- YARSAN, E. (1998). Lipid peroksidason olayı ve önlenmesi yönelik uygulamalar. *YYıl Vet.Fak.Derg.*, **9**: 89-95.
- YAZAR, E., TRAS, B. (2001). Effect of fluoroquinolone antibiotic on hepatic superoxide dismutase and glutathion peroxidase activites in healthy and expermintelly induced perotenitis mice . *Revue. med. vet.*, **152**: 235-238.
- YOON, J.H., BROOKS, R.L. J.R., ZHAO, J.Z., ISAACS, D., HALPER, J. (2004a). The effects of enrofloxacin on decorin and glycosaminoglycans in avian tendon cell cultures. *Arch Toxicol.*, **78**: 599-608.
- YOON, J.H., BROOKS, R.L., JR, KHAN, A., PAN, H., BRYAN, J., ZHANG, J., BUDSBERG, S.C., MUELLER, P.O., HALPER, J.(2004b). The effect of enrofloxacin on cell proliferation and proteoglycans in horse tendon cells. *Cell Biol. Toxicol.*, **20**: 41-54
- YOSHIOKA, T., KAWADA, K., SHIMADA, T. (1979) Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygens toxicity in the blood. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **135**: 372-376.
- ZANETTI, M., RATCLIFFE, A., WATT,F.M. (1985). Two sub population of differentiated chondriocyte identified with amonoclonal antibody to keratin sulfate. *J. Cell Biol.*, **101**: 53-59.
- ZENGİN, H. (1996). Enrofloksasin'in kaz yumurtalarında embriyotoksisitesi ile kaz palazlarının çeşitli dokuları üzerine etkisi. Doktora Tezi, Yüzüncü Yıll Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

EKLER

EK-1(Etik Kurul Kararı)

ANKARA ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ Etik Kurul Kararları

Karar Sayısı : 2005/01	Karar Tarihi: 04 Ocak 2005	
<p>Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kuruluna Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalından gönderilen "Enrofloksasinin Etlik Cıvciv ve Piliçlerde Eklemlere Yönelik Etkilerinin Histopatolojik ve Biyokimyasal Parametreler ile Değerlendirilmesi" başlıklı proje değerlendirilmiştir.</p> <p>Çalışmada, toplam 100 adet etlik cıvciv-piliç kullanılacaktır.</p> <p>Projenin deney hayvanlarına ilişkin yönlerinin Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurul Yönergesinin 13. Maddesinde belirtilen "etik kurallara uygunluk esası" dikkate alınarak hazırlandığı belirlenmiştir.</p> <p>Yönergede belirtilen "Araştırmacıların Sorumlulukları" ve "Hayvan Deneyleri ile İlgili İlkeler" başlıkları altındaki etik kurallar saklı kalmak koşuluyla projenin hazırlanmasında "Etik Kurul Yönergesi" ilkelerine uyulduğuna karar verilmiştir.</p>		
 Prof.Dr. Bahri Emre Başkan	 Prof.Dr. Öznur Poyraz Başkan Yardımcısı	 Prof.Dr. Bahattin Koç Üye
 Doç.Dr. Ender Yarsan Üye	 Yrd.Doç.Dr. Atilla Özgür Raportör	

ÖZGEÇMİŞ

1- Bireysel Bilgiler	
Adı	Ishraga Gaafar
Soyadı	IBRAHİM
Doğum yeri ve tarihi	Hartum, Sudan, 1970
Medeni durumu	Bekar
Uyruğu	Sudan
Askerlik durumu	
İletişim adresi ve TLF	Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı 06110 Dışkapı/Ankara
2. Eğitimi	
Yüksek Lisans	Khartum Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Sudan (1998 - 2000)
Lisans	Khartum Üniversitesi , Veteriner Fakültesi (1988-1993).
Yabancı dil	Arapça (ana dil), İngilizce, Türkçe
3. Ünvanlar	Khartum Klinik Bölümü, Veteriner Hekimi (1994-1995). Hayvan Üretimi Bölümü Veteriner Hekimi (1995-1997). Yardımcı Araştırma Görevlisi (1997-2000). Araştırma Görevlisi (2000-)
4. Bilimsel İlgi Alanlar	
Bazı Yayınları	Ishraga, G. IBRAHİM, Amna E. KHALAFALLA, Barri, M.E., A. M. A/MAJİD and Shamat, A. M.(2000). Some minerals concentration in serum of Nubian and cross bred goats as effected by physiological status. The Sudan Journal of Vet Science and Animal Husbandry. Issue N 0562-5084. 39(1,2) 42-48. Ishraga, G. IBRAHİM, Amna E. KHALAFALLA, Barri, M.E., A. M. A/MAJİD a Y.R.Suleiman (2000). Some minerals concentration in milk of nubian and cross bred goats. The Sudan Journal of Vet Science and Animal Husbandry. Issue N 0562-5084 39(1,2). 49-55. Ender YARSAN, Ishraga G. IBRAHİM Florokinolon Antibiyotikler ve Kullanılma

	Alanları.Türk Veteriner Hekimleri Birliği Dergisi, ISSN 1302-9959 4 (1-2) 53-61.
Posterler	<p>Ishraga G., Ibrahim (2005). Variation of some macro and micro minerals concentration in serum and milk of Nubian and cross bred (Nubian X saanen) goats , according to physiological state, Ankara , Turkey, 2005.</p> <p>Ishraga G.Ibrahim, Yarsan E., Atmaca N., Kanici A. (2006). Influence of enrofloxacin treatment on some haematological parameters and body weight in broilers, Stara zogara, Bulgaria, 2006</p>
Bilimsel Etkinlikler	<p>Bovine Brucellosis tanı, gözetim ve aşılama kursu, FAO tarafından organize edilmiştir, Khartum, Sudan, 1995.</p> <p>Hayvan üretimi artırma, Uluslararası kursu, Holand, 1997</p> <p>Moleküler biyoloji kursu, central vet. Araştırma laboratuvarları, Soba, Sudan, 1999.</p> <p>İmmunolojik kursu, central Vet. Araştırma Lab., Soba, Sudan1999.</p> <p>Meme sağlığı, süt hijyen ve kalitesi eğitim kursu, İsveç, 2001</p>
Diğer Bilgiler	
Üyelik	<p>Sudan Veteriner Hekimleri Birliği</p> <p>Sudan Veteriner Hekimleri Konseyi</p> <p>Kadın Veteriner Hekimler Yönetim Kurulu üyesi</p> <p>Dünya Tavukçuluk Birliği Derneği</p>