

SIÇANLARDA BAZI ANTİBİYOTİKLERİN HÜMORAL İMMÜN CEVAP ÜZERİNE ETKİLERİNİN GÖSTERİLMESİ

DEMONSTRATION OF THE EFFECTS OF SOME ANTIBIOTICS ON HUMORAL IMMUNE RESPONSE IN RATS

Tercan BOLATLI*, Kevser EROL**, Mahmut ÖZDEMİR**
Yurdanur AKGÜN*

Özet: Bu çalışma, bazı antibiyotiklerin sıçanlarda hümorale immun cevap üzerine olan etkilerini saptamak amacıyla yapılmıştır. Hümorale immun cevap üzerindeki etkinin gösterilmesi için hayvanlara antijen olarak verilen koyun eritrositlerine karşı oluşan antikor cevabı kompleman birleşmesi testi ile araştırılmıştır. Sonuç olarak, kullanılan antibiyotiklerden siprofloksasin, imipenem ve sülbaktam-sefaperazon'un hümorale immun cevabı biraz artırdığı, rifampin ve netilmisin'in ise herhangi bir etki oluşturmadığı belirlenmiştir.

Summary: The present study was planned in order to investigate the effects of some antibiotics on humoral immune response in experimental rat models. The detection of antibody response against sheep erythrocytes injected to the animals was performed by using complement fixation test. As a result, it was observed that ciprofloxacin imipenem and sulbactam-cefoperazone slightly increased the humoral immune response while rifampin and netilmicine did not cause any effect.

G İ R İ Ş

Bakterilerin neden olduğu enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde antibiyotiklerin kullanımı, XIX. yüzyılın sonlarına rastlayan tıp dünyasındaki en önemli gelişmelerden biridir. Bu tip bir girişimin olumlu sonuç vermesi ise, doğal olarak etken mikroorganizmanın kullanılacak antibiyotiğe duyarlı olmasına ve antibiyotiğin enfeksiyon odağına aktif biçimde ve yeterli konsantrasyonda erişmesine bağlıdır. Etken bakterilerin üremelerini engelleyerek veya onları direkt olarak öldürerek etki gösteren bazı antibiyotiklerin tedavi amacıyla kullanımına başlandıktan bir süre sonra bu yararlı maddelerin yardımı gittikleri konak üzerinde toksik veya allerjik reaksiyonlara neden

* Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir.

** Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Eskişehir.

olarak, zararlı yan etkilere neden olduğu anlaşılmıştır. 1950'li yıllara gelindiğinde ise antibiyotiklerin, kemik iliğine toksisite gibi direkt yan etkilerinin yanısıra, organizmanın kendini savuna mekanizması olan bağışıklık sistemine de etki ettikleri saptanmıştır (1). Bugüne dek elde edilen bulgular, immün sistem üzerine antibiyotiklerin etkisinde iki farklı mekanizmanın rol oynadığını göstermektedir. "Direkt etki" şeklinde tanımlanan ilişki, antibiyotiklerin hücrel ve hümorale immün yanıtın çeşitli parametreleri üzerine etkisini, "indirekt etki" olarak isimlendirilen ilişki ise, uygun dozda kullanılmayan antibiyotiklerin bakteri hücresinde neden olduğu değişimler sonucu immün yanıtın etkisiz kalmasını kapsamaktadır (2).

Antibiyotiklerin immün sistemin çeşitli parametreleri üzerine etkilerini ele alan çok sayıda yayın olmasına karşılık, elde edilen bulguların oldukça çelişkili olduğu gözlenmektedir. Bir çalışmadan diğerine deney koşullarının ve kullanılan ölçüm tekniklerinin farklılığı, ayrıca deneylerde antibiyotiklerin farklı koşullarda ve dozlarda uygulanması, elde edilen sonuçların karşılaştırmasını güçleştirmekte, ortaya oldukça değişik ve çelişkili sonuçlar çıkmaktadır (3).

Rastgele ve yaygın antibiyotik kullanımının sık görüldüğü ülkemizde, bu konuyla ilgili yapılan çalışmalar sınırlıdır. Bu nedenle biz bu çalışmada genelde ciddi enfeksiyonlarda veya nötropenik hastalarda tedavi veya profilaktik amaçla kullanılan imipenem, siprofloksasin ile aminoglikozid grubundan netilmisin, beta-laktamaz inhibitörü içeren 3. kuşak sefalosporin grubundan sülbaktam-sefaperazon ve hümorale immün yanıt üzerinde süprese edici etkisi bilinen ve tüberküloz tedavisinde kullanılan rifampisin'in antikor yanıtını etkileyip etkilemediğini araştırdık.

GEREÇ ve YÖNTEM

Deney Hayvanları: Çalışmada her iki cinsten 250-300 gr ağırlığında daha önce hiç antibiyotik uygulanmamış sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar beşer sıçandan oluşan, birisi kontrol olmak üzere altı gruba ayrıldı.

Antibiyotikler: Deney grubunda beş ayrı antibiyotikten her biri, bir grup sıçana, insanda tedavi amacıyla önerilen ortalama dozlarda, 7 gün süre ile intraperitoneal olarak uygulandı. Kontrol grubundaki sıçanlara aynı miktar ve süre ile % 0.9'luk NaCl enjekte edildi. Kullanılan antibiyotikler ve uygulanan dozlar, aşağıda verilmiştir.

- | | |
|---|----------------|
| 1. Rifampisin (Rifocin, Sifar) | 40 mg/kg/gün |
| 2. Siprofloksasin (Ciproxin, Bayer) | 30 mg/kg/gün |
| 3. İmipenem (Tienam, Merck) | 70 mg/kg/gün |
| 4. Sülbaktam-Sefaperazon (Sulperazon, Pfizer) | 30 mg/kg/gün |
| 5. Netilmisin (Netromisin, Fako) | 6 mg/kg/gün |
| 6. Kontrol Grubu | % 0.9'luk NaCl |

Antijen: Antibiyotik uygulamasından 24 saat önce başlayacak şekilde, deney ve kontrol grubunda yer alan sıçanlara, % 0.9'luk NaCl ile 3 kez yıkanan ve 1/10'luk süspansiyonu hazırlanan koyun eritrositleri, intraperitoneal olarak enjekte edildi. Antijen

uygulanmasına deneyin üçüncü ve yedinci günlerinde devam edilerek toplam üç kez antijen enjeksiyonu yapıldı (4, 5).

Hümmoral İmmün Yanıtın Belirlenmesi: Bu amaçla sıçanlardan, son antijen enjeksiyonundan üç hafta sonra eter anestezi altında kardiyak ponksiyonla kan alındı, serumları ayrıldı. Bu serumlara, U pleytlerde mikrotitrasyon yöntemiyle kompleman birleşme testi uygulanarak, koyun eritrositlerine karşı oluşan antikorlar araştırıldı. Bu amaçla 1/2'den 1/512'ye kadar sıçan serum dilüsyonları her çukurda 50 µl. olacak şekilde hazırlandı. Üç kez yıkanmış koyun eritrositlerinin % 3'lük sulandırımından 50 µl. eklendi. Üzerlerine taze kobay komplemanının 1/30'luk sulandırımından 50 µl. eklenerek 37 °C'deki su banyosunda 30 dakika süreyle bekletildi. Bu sürenin sonunda tam hemoliz görünen en yüksek serum sulandırımı, o serumun hemolizin titresini olarak kabul edildi.

B U L G U L A R

Tablo 1'de deney ve kontrol grubundaki Kompleman Birleşmesi Deneyi (KBD) sonuçlarının dağılımı görülmektedir. Tablo 1 incelenecek olursa siprofloksasin, imipenem ve sülbaktam-sefaperazon uygulanan sıçan serumlarında hemolizin titrelerinin, kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu, buna karşılık netilmisin ve rifampisin verilen sıçanlardaki hemolizin titreleri ile kontrol grubu arasında fark olmadığı görülmektedir.

Tablo 1
Deney ve Kontrol Grubunda Kompleman Birleşmesi
Deney Sonuçlarının Dağılımı

	Kompleman Birleşmesi Deneyi				
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Kontrol	1	1	3		
Rifampisin		2	3		
Siprofloksasin			1	2	2
İmipenem			1	3	1
Sulbaktam-Sefaperazon			1	2	2
Netilmisin	1	2	1	1	

T A R T I Ş M A

Çalışmamızda oldukça sık kullanılan antibiyotik gruplarına ait siprofloksasin, imipenem, netilmisin, sülbaktam-sefaperazon ve tüberküloz tedavisinde kullanılan rifampisin'in humoral immün cevap üzerine olan etkileri araştırılmıştır. İlaçların uygulama süresi olarak, hem ağır olmayan enfeksiyonların tedavisinde kullanılan çok uzun olmayan bir tedavi süresi olması, hem de immün sistemin uyarımı ve cevabı düşünülerek 7 günlük bir şema seçilip, dozlar toksik etki oluşturmayacak şekilde intraperitoneal olarak uygulanmıştır.

Antibiyotiklerin immün cevap üzerine olan olumlu ve olumsuz etkileri, üzerinde en çok çalışılan konulardan biri olmuştur (6, 7). Ancak antibiyotiklerin immün modülatör etkileri pratikte çoğunlukla önemsenmeyerek gözardı edilmektedir. İdeal anlamda bir antibiyotikten, etken bakteriyi öldürerek enfeksiyonu kontrol ederken, aynı zamanda immün cevabı güçlendirmesi, inflamasyonun konağa olan zararlı etkilerini kontrol edebilmesi de beklenir. Çünkü klinik tablonun ağırlığını ve prognozunu sadece spesifik etken değil aynı zamanda konağın ona karşı oluşan tepkisinin şekli ve şiddeti de etkilemektedir (8).

Çalışmamızda, sıçanlara uygulanan antibiyotiklerden siprofloksasin, imipenem ve sülbaktam-sefaperazonun, humoral immün cevabı bir miktar artırdığı gözlenmiştir. Kinolonlarla immün sistem arasında sinerjik bir ilişki olduğu bilinmektedir (9). Usluer ve arkadaşlarının (10) yaptığı çalışmada da günde 30 mg/kg siprofloksasin uygulamasının humoral immün cevabı biraz artırdığı bildirilmiştir.

İmmün cevap üzerine beta-laktam grubu antibiyotiklerin direkt etkisi yoktur. Ancak bu grupta yer alan imipenemin, lökositlerin kemotaksis, aderans opsonizasyon, fagositoz ve öldürme kapasitelerini ve hatta antikora bağımlı hücrel sitotoksiteyi artırdığı gösterilmiştir (11). Yapılan deneysel bir çalışmada sefaperazon'un total IgM düzeyini artırdığı ancak IgG düzeyini etkilemediği bildirilmiştir (12). Öte yandan beta-laktam antibiyotiklerle kombine edilen sülbaktam'ın lökositlerin antibakteriyel aktivitelerini şiddetlendirdiği bilinmektedir (13). Bu çalışmalarla bizim araştırmamız arasında bir korelasyon olduğu görülmektedir.

Çalışmada kullandığımız netilmisin ve rifampisin'in humoral immün cevabı değiştirmedeği gözlenmiştir. Gerçekten de Artsimoviç'in yaptığı çalışmada da netilmisin, immün cevap üzerine amikasin ve sisomisin ile birlikte etkisiz bulunmuştur (14). Hümorale ve hücrel yanıt üzerine etkileriyle ilgili pek çok çalışmanın yapıldığı bir antibiyotik olan rifampisin için bulunan sonuçlar oldukça farklıdır. Bunlardan birisinde rifampisin'in *Salmonella typhi*'ye karşı anemnestik yanıtı (15) anlamlı derecede baskıladı; bir diğer çalışmada ise 13 aylık rifampisin tedavisine rağmen influenza aşısına karşı antikor yanıtını etkilemediği bildirilmiştir (16). Humber ve arkadaşları (17), rifampisin tedavisinin total Ig düzeyi ve çeşitli antijenlere karşı antikor yanıtını azalttığını, ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını göstermişlerdir. Çeşitli araştırmacıların bu şekilde farklı sonuçlar elde etmeleri, antibiyotik dozları ve uygulama sürelerindeki farklılıklardan veya değişik denek grupları ile çalışılmış olmasından kaynaklanabilir. Bizim çalışmamızda rifampisin'in antikor yanıtı üzerine belirgin bir etkisi olmadığı ve bu durumun tedavi süresiyle ilişkili olabileceği sonucuna varılmıştır.

Yaklaşık 40 yıldan beri antibiyotiklerin immün sistemin çeşitli parametreleri üzerine olan etkileri araştırılmaktadır. Sonuç olarak bizim ve diğer araştırmacıların bulguları, antibiyotiklerin terapötik konsantrasyonlarda hümorale ve hücrel immün cevabı etkileyebileceğini ortaya koymaktadır.

ANTİBİYOTİKLERİN HÜMORAL CEVABA ETKİSİ

Bu durumun özellikle uzun süre antibiyotik tedavisi uygulanan hastalarda, göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Bu çalışma, sıçanlarda bir haftalık tedavi sürecinden sonra siprofloksasin, imipenem ve sülbaktam-sefaperazon'un bir miktar hümorale immün cevabı artırdığını, netilmisin ve rifampisin'in ise belirgin bir olumlu ya da olumsuz etkisinin gözlenmediğini ortaya koymuştur. Ancak sıçanlarda elde edilen bu sonuçların insanlarda da aynı şekilde olabileceğini kabul etmek yanılgıya yol açabilir. İlaçların, insan ve sıçandaki metabolizmasının farklı olabileceği göz önünde bulundurularak, bu bulguların klinik çalışmalarla karşılaştırılmasının uygun olacağı görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

1. Badur S: Antibiyotik-İmmün sistem ilişkisi, 8. Türk Antibiyotik ve Kem. (ANKEM) Kong Simp Sunular s. 161, Antalya, 1993.
2. Gillisen G: Side effects of antibiotics on immune response parameters and their possible implications in antimicrobial chemotherapy. *Zbe Bakt Hyg A*, 270: 171, 1988.
3. Miller TE, North DK: Clinical infections, antibiotics ad immunosuppression; a puzzling relationship. *Am J Med*, 71: 334, 1981.
4. Forsgreen A, Banck G, Beekman H, Bellahsene A: Antibiotic host defense interaction in vitro and in vivo. *Scand J Infect Dis*, 24 Suppl 1: 195, 1980.
5. Bossi L, Di Berrandino L, Aridi Y, Slivestri LG, Cherie Ligniere EL: Conditions for immunosuppression by rifampin. *J Infect Dis*, 128: 736, 1973.
6. Garaffo R, Lambou D, Lapalus P: Effects of antibiotics on the production of prostoglandins by macrophages in vitro. *Pathol Biol*, 37: 643, 1989.
7. Shibl AM: Influence of antibiotics on host-parasite interactions with an emphasis on in vivo studies. *J Chemother*, 2: 75, 1990.
8. Ritts RE: Antibiotics as biologic response modifiers. *J Antimicrob Chemother*, 26 (suppl C): 31, 1990.
9. Editorial: Antibiotics as biologic response modifiers. *Lancet*, 337: 400, 1990.
10. Usluer G, Ulak G, Erol K, Gürer F, Cing Mİ, Özdemir M, Alpan RS: Siprofloksasin ve ofloksasinin farelerde hücresele ve hümorale immün cevap üzerine etkileri. *Mikrobiyol Bül*, 25: 330-339, 1991.
11. Rodrigez AB, Barriga C: Phagocytic function and antibody-dependent cellular cytotoxicity of human neutrophils in the presence of N-formimidoyl thienamycin. *Agents Actions*, 31: 86, 1990.
12. Akahane K, Furuhami K, Kato M, Une Y, Onodero T: Influences of cephem antibiotics on the immun response in mice. *Chemotherapy*, 36: 300, 1990.
13. Santos JI, Arbo A: The in vitro effect of sulbactam on polymorphonuclear leukocyte function. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 12: 1475, 1989.
14. Art Simović NG, Nastoiachechala NN, Navashin RG: Study of the immunotropic activity of aminoglycoside antibiotics. *Antibio Chemoter*, 36: 27, 1991.
15. Graber GD, Jebaily J, Lsalphin AL, Doering E: Light chain proteinuria and humoral immune competence in tuberculosis patients treated with rifampin. *Am Rev Respir Dis*, 107: 713, 1973.
16. Albert AK, Lakshminarayan S: Long term therapy with rifampin and secondary antibody response to killed influenza vaccine. *Am Rew Respir Dis*, 117: 605, 1978.
17. Hember DP, Nsanzumhire H, Aluoch JA, Webser ADB, Aber YR, Mitchison DA, Girling DJ: Controlled double blind study of the effect of rifampin on humoral and cellular immune responses in patient with pulmonary tuberculosis and in tuberculosis contact. *Am Rew Respir Dis*, 122: 425, 1980.