



TÜRKİYE CUMHURİYETİ

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HEMODİYALİZ HASTALARINDA BAZI ANTİBİYOTİKLERİN
POLİMORF NÜVELİ LÖKOSİT FONKSİYONLARI İLE
OKSİDATİF STRES VE ANTİOKSİDAN ENZİMLER ÜZERİNE
ETKİSİNİN İN VİTRO ARAŞTIRILMASI**

REFİYE GARİP

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. Ümran SOYOĞUL GÜRER

İSTANBUL-2014



TÜRKİYE CUMHURİYETİ

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HEMODİYALİZ HASTALARINDA BAZI ANTİBİYOTİKLERİN
POLİMORF NÜVELİ LÖKOSİT FONKSİYONLARI İLE
OKSİDATİF STRES VE ANTİOKSİDAN ENZİMLER ÜZERİNE
ETKİSİNİN İN VİTRO ARAŞTIRILMASI**

REFİYE GARİP

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. Ümran SOYOĞUL GÜRER

İSTANBUL-2014

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın seviyesi : Yüksek Lisans
Anabilim Dalı : Farmasötik Mikrobiyoloji
Tez Sahibi : Refiye Garip
Tez Başlığı : Hemodiyaliz Hastalarında Bazı Antibiyotiklerin Polimorf Nüveli
Lökosit Fonksiyonları İle Oksidatif Stres ve Antioksidan Enzimler
Üzerine Etkisinin İn Vitro araştırılması
Sınav Yeri : Farmasötik Mikrobiyoloji AbD
Sınav Tarihi : 10/03/2014

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)

Kurumu

İmza

Doç.Dr. Ümran Soyoğul Gürer

Marmara Üniversitesi Eczacılık Fak.



Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)

Prof.Dr. Azize Şener

Marmara Üniversitesi Eczacılık Fak.



Yard.Doç.Dr.Erkan Rayaman

Marmara Üniversitesi Eczacılık Fak.



Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 25/03/2014 tarih ve 29 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

- Sınav evrakları 3 iş günü içinde 3'er nüsha halinde Enstitüye teslim edilmelidir.
- Bu form bilgisayar ortamında doldurulacaktır.

BEYAN FORMU

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih:26.02.2014

Ad: Refiye Garip

İmza: 

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimin başından itibaren her zaman ve her konuda bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, desteğini ve ilgisini esirgemeyen, çok değerli hocam, sayın Doç. Dr. Ümran Soyoğul Gürer'e,

Değerli bilgi ve deneyimleri ile beni her zaman yönlendiren, destek ve ilgilerini daima hissettiğim çok kıymetli anabilim dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Adile Çevikbaş'a,

Hemodiyaliz hastalarının temini konusunda çok yakın ilgilerini gördüğüm değerli hocam Çapa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Şükrü Palandüz'e, Nefroloji Bilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Fatma Nilgün Aysuna'ya, hemodiyaliz ünitesinden sorumlu başhemşire Özlem Düzgün'e ve çalışmamız için gönüllü olarak kanını veren tüm hemodiyaliz hastalarına,

Biyokimyasal deneylerde birlikte çalıştığımız ve değerli vaktini ayıran sayın Prof. Dr. Azize Yaman Şener'e ve bize yardımlarını esirgemeyen yüksek lisans öğrencileri Özge Doğan ve Nazlı Gül Altındış'e, tezim süresince beni hiç yalnız bırakmayan, tecrübelerinden yararlandığım, yardımlarını esirgemeyen beraber çalıştığım sevgili hocam Öğr. Gör. Dr. Burçak Gürbüz'e, Yar. Doç. Dr. Erkan Rayaman'a ve Ecz. Esra Dalkılıç'a,

Çalışmamızın istatistiksel değerlendirmesini yapan sayın Prof. Dr. Nural Bekiroğlu'na,

Yüksek lisans eğitimim ve tezim süresince yanımda olan, ilgi ve desteklerini hep hissettiğim canım kardeşim ve biricik aileme,

Yüksek lisans eğitimine beraber başladığım bana bir kardeş kadar yakın olan canım arkadaşım Bio. Melike İşçi'ye

Sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Sevgi ve saygılarımla...

İÇİNDEKİLER

1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	6
4.1. Kronik Böbrek Yetmezliği	6
4.1.1. Hemodiyaliz	8
4.2. Antibiyotikler	11
4.2.1. Vankomisin	11
4.2.2. Daptomisin	14
4.2.3. Linezolid	16
4.2.4. Levofloksasin	18
4.2.5. Fusidik Asit	20
4.2.6. Meropenem	22
4.3. <i>Candida albicans</i>	23
4.4. Fagositoz	25
4.4.1. Oksijene bağımlı öldürme mekanizmaları	27
4.4.2. Oksijene bağımlı olmayan öldürme mekanizmaları	27
4.5. Lökositler	28
4.5.1. Polimorf nüveli lökositler	29
4.5.1.1. Nötrofiller	30
4.5.1.2. Eozinofiller	31
4.5.1.3. Bazofiller	32
4.6. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	33
4.7. LipidPeroksidasyonu	35
4.7.1. Malondialdehit (MDA)	36
4.8. Antioksidanlar	38
4.8.1. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)	39

4.9. Oksidan Enzimler	40
4.9.1. Miyeloperoksidaz (MPO)	40
5. GEREÇ ve YÖNTEM	43
5.1. Gereçler	43
5.1.1. Hasta grubu	43
5.1.2. Mikroorganizma	43
5.1.3. Besiyerleri	43
5.1.4. Çözeltiler	43
5.1.5. Boyalar	44
5.1.6. Antibiyotikler	44
5.1.7. Tamponlar	44
5.1.8. Mc farland standart bulanıklık tüpleri	45
5.1.9. Kimyasal maddeler	45
5.1.10. Kullanılan araç ve gereçler	46
5.2. Yöntemler	47
5.2.1. Antibiyotiklerin stok çözeltilerinin hazırlanması	47
5.2.2. Polimorf nüveli lökositlerin elde edilmesi	48
5.2.3. Polimorf nüveli lökosit canlılık deneyi	48
5.2.4. <i>Candida albicans</i> kökeninin hazırlanması	48
5.2.5. <i>Candida albicans</i> opsonizasyonu	49
5.2.6. Vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin hemodiyaliz hastalarının PNL fonksiyonları (fagositozve hücre içi öldürme aktivitesi) üzerine in vitro etkileri	49
5.2.7. Vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin oksidatif stres, antioksidan ve oksidan enzimler üzerine in vitro etkileri	51
5.2.7.1. Polimorf nüveli lökosit homojenatının hazırlanması	51
5.2.7.2. Hemodiyaliz hastalarının PNL'lerinde protein tayini	51

5.2.7.3. Hemodiyaliz hastalarının PNL’lerinde malondialdehit (MDA) düzeylerinin ölçümü	53
5.2.7.4. Hemodiyaliz hastalarının PNL’lerinde glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesinin ölçümü	54
5.2.7.5. Hemodiyaliz hastalarının PNL’lerinde miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesinin ölçümü	56
6. BULGULAR	57
6.1. Polimorf Nüveli Lökosit Canlılık Deneyi	57
6.2. Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin Hemodiyaliz Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL’lerinin Fagositik Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri.	58
6.3. Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin Hemodiyaliz Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL’lerinin Hücre İçi Öldürme Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri.	61
6.4. Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin Hemodiyaliz Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL’lerinin MDA Düzeyi Üzerine İn Vitro Etkileri.	64
6.5. Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin Hemodiyaliz Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL’lerinin GSH-Px Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri.	66
6.6. Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin Hemodiyaliz Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL’lerinin MPO Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri.	68
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	70
8. KAYNAKLAR	84
9. ÖZGEÇMİŞ	92

KISALTMA ve SİMGELER

AIDS	: Acquired Immune Deficiency Syndrome
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
BPI	: Bakterisid geçirgenlik artırıcı protein
DHP	: Dehidroproteinaz
EDTA	: Etilen Diamin Tetraasetik Asit
FTS	: Fizyolojik tuzlu su
FDA	: Food and Drug Administration
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GFD	: Glomerüler filtrasyon değeri
GFR	: Glomerüler filtrasyon hızı
GSSG-Red	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Glutasyon
HBSS	: Hank's balanced salt solution (Hanks'ın dengeli tuz çözeltisi)
HD	: Hemodiyaliz
hVISA	: Heterorezistan vankomisine orta dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
HCl	: Hipoklorik asit
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HETAB	: Hexadecylmetil amonyum bromid
H₃PO₄	: Fosforik asit
IU	: International Unit (Uluslararasıbirim)
IL	: İnterlökin
KBY	: Kronik böbrek yetmezliği
KVH	: Kardiyovasküler hastalık
LP	: Lipid peroksidasyonu
L⁻	: Lipid radikali
MDA	: Malondialdehit
µg	: Mikrogram
mg	: Miligram

MPO	:Miyeloperoksidaz
MEA	: Malnütrisyon, enflamasyon ve ateroskleroz
MRSA	: Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
mprF	: Lizil fosfatidil gliserol sentetazı kodlayan gen
MİK	: Minimal inhibitör konsatrasyonu
MRSE	: Metisiline dirençli <i>Staphylococcus epidermidis</i>
MNL	: Mononükleer lökositler
NF-Kb	: Nükleer faktör kabba B
NADPH	: Nikotinamid dinükleotid fosfohidrojen
NSP	: Nötral serin proteaz
NO	: Nitrik oksit
OH⁻	: Hidroksil radikali
O⁻²	: Süperoksit anyonu
PBS	:Phosphate buffered saline (Fosfat tamponlu tuzlu su)
PNL	:Polimorf nüveli lökosit
PRSP	: Penisiline dirençli <i>Streptococcus pneumoniae</i>
RpoB ve rpoC:	RNA polimeraz subuniti kodlayan genler
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RO	: Alkoksi radikali
ROO⁻	: Peroksi radikali
R-S⁻	: Tiyl radikali
SOR	:Serbest oksijen radikalleri
SDBY	:Son dönem böbrek yetmezliği
SAPD	: Sürekli ayaktan periton diyalizi
SDB	: Sabouraud dextrose agar
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBA	:Tiyobarbitürik asit
TCA	:Trikloroasetik asit
TNF-α	: Tümör nekroz faktör alfa
VRSA	: Vankomisine dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>

VRE : Vankomisine dirençli enterokoklar
VISA : Vankomisine orta dirençli *Staphylococcus aureus*
yycG : Histidinkinazı kodlayan gen

i. RESİMLERİN LİSTESİ

i.1. Hemodiyaliz hastalarının PNL'leri (x40 büyütme)	57
i.2. Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin HD Hastalarının PNL'lerinin Fagositik Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri (x40 büyütme; PNL içinde fagosit olmuş <i>Candida albicans</i> hücresi)	58
i.3. Vankomisin, Daptomisin, Levofloksasin, Linezolid, Fusidik Asit ve Meropenemin HD Hastalarının PNL'lerinin Hücre İçi Öldürme Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri (x40 büyütme) (PNL içinde ölmüş olan <i>Candida albicans</i> hücresi metilen mavisi ile maviye boyanmış)	61

i.i. TABLOLARIN LİSTESİ

i.i.1. PNL'lerde Protein Tayini	52
i.i.2. PNL'lerde MDA Tayini	53
i.i.3. PNL'lerde GSH-PxTayini	55
i.i.4. PNL'lerde MPO Tayini	56
i.i.5. Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin HD Hastalarının PNL'lerinin Fagositik Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri	59
i.i.6. Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin HD Hastalarının PNL'lerinin Hücre İçi Öldürme Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri	62
i.i.7. Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin HD Hastalarının PNL'lerinin MDA Düzeyi Üzerine İn Vitro Etkileri	64

i.i.8. Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin HD Hastalarının PNL'lerinin GSH-Px Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri	66
i.i.9. Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin HD Hastalarının PNL'lerinin MPO Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri	68
i.i.i. GRAFİKLERİN LİSTESİ	
i.i.i.1. Bovin Serum Albumin Standart Grafiği	52
i.i.i.2. Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin HD Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL'lerinin Fagositik Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri	60
i.i.i.3. Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin HD Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL'lerinin Hücre İçi Öldürme Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri	63
i.i.i.4. Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin HD Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL'lerinin MDA Düzeyi Üzerine İn Vitro Etkileri	65
i.i.i.5. Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin HD Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL'lerinin GSH-Px Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri	67
i.i.i.6. Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin HD Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL'lerinin MPO Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri	69

1. ÖZET

Çalışmamızda, terapötik konsantrasyonlarda vankomisin (40 µg/ml), daptomisin (60 µg/ml), linezolid (19 µg/ml), levofloksasin (7 µg/ml), fusidik asit (36 µg/ml) ve meropenemin (24 µg/ml) hemodiyaliz hastalarının polimorf nüveli lökosit (PNL) fonksiyonları (fagositik aktivite ve hücre içi öldürme aktivitesi), malondialdehit (MDA) düzeyleri, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve miyeloperoksidaz (MPO) aktiviteleri üzerine olan etkileri in vitro araştırılmıştır. PNL'ler venöz kandan ficoll-hypaque gradient santrifüj yöntemi ile izole edilmiştir. Fagositik aktivite ve hücre içi öldürme aktivitesi tayini Alexander'ın yöntemi modifiye edilerek yapılmıştır. Lipid peroksidasyonun göstergesi olarak MDA düzeyi Beuge'nin yöntemi, MPO aktivitesio-dianisidin yöntemi modifiye edilerek, GSH-Px tayini, Cayman'ın GSH-Px kiti kullanılarak yapılmıştır. Tüm sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Antibiyotik içermeyen kontrol deneyde, HD hastalarının HD sonrası PNL'lerinin fagositik aktivitesinin HD öncesine göre azaldığı ($p<0.05$), hücre içi öldürme aktivitesinin ise değişmediği saptanmıştır ($p>0.05$). Terapötik konsantrasyonlarda vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL'lerinin her iki fonksiyonunu etkilemediği saptanmıştır ($p>0.05$). Terapötik konsantrasyonlarda vankomisin, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin HD hastalarının HD öncesi PNL'lerinin MDA düzeyini artırdığı, HD sonrası ise MDA düzeyini azalttığı saptanmıştır ($p<0.05$). Daptomisin ve linezolidin ise HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL'lerinin MDA düzeyini değiştirmedeği bulunmuştur ($p>0.05$). Terapötik konsantrasyonlarda vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL'lerinin GSH-Px ve MPO aktivitesini etkilemediği saptanmıştır ($p>0.05$).

Anahtar Sözcükler: Glutatyon peroksidaz, hemodiyaliz, miyeloperoksidaz, oksidatif stres, polimorf nüveli lökosit fonksiyonları.

2. SUMMARY

In Vitro Investigation of The Effects of Some Antibiotics on Polymorphonuclear Leukocyte Functions, Oxidative Stress and Antioxidant Enzymes in Hemodialysis Patients.

In our study were investigated the in vitro effects of vancomycin (40 µg/ml), daptomycin (60 µg/ml), linezolid (19 µg/ml), levofloxacin (7 µg/ml), fusidic acid (36 µg/ml) and meropenem (24 µg/ml) at therapeutic concentrations and malondialdehyde (MDA) levels, glutathione peroxidase (GPx) and myeloperoxidase (MPO) activities on polymorphonuclear leukocyte (PMN) functions (phagocytic and intracellular killing activity) of hemodialysis patients. PMNs were isolated from venous blood by ficoll-hypaque gradient centrifugation method. Phagocytic activity and intracellular killing activity were assayed by modified Alexander's method. MDA level was detected by Beuge method which is as an indicator of lipid peroxidation. GPx activity was determined by using Cayman's GPx kit. PMN's MPO activity was determined by modified o-dianisidine method. All results were evaluated by statistical methods. In the control experiments with antibiotic-free which was found that PMN's phagocytic activity of HD patients decreased after HD compared to before HD ($p < 0.05$), although the intracellular killing activity did not change ($p > 0.05$). It was detected that vancomycin, daptomycin, linezolid, levofloxacin, fusidic acid and meropenem at therapeutic concentrations did not affect both PMN functions of HD patients before and after HD ($p > 0.05$). It was observed that vancomycin, levofloxacin, fusidic acid and meropenem at therapeutic concentrations increased PMN's MDA levels of HD patients before HD but decreased MDA levels after HD ($p < 0.05$). Daptomycin and linezolid did not change PMN's MDA levels of HD patients before and after HD ($p > 0.05$). It was observed that vancomycin, daptomycin, linezolid, levofloxacin, fusidic acid and meropenem at therapeutic concentrations did not changed PMN's GPx and MPO activity of HD patients before and after HD ($p > 0.05$).

Keywords: Glutathione peroxidase, hemodialysis, myeloperoxidase, oxidative stress, polymorphonuclear leukocyte functions.

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Mikroorganizma ve konak arasındaki ilişkiler; karşılıklı yararlanma, invazyon ve hastalık oluşturma gibi çeşitli biçimlerde kendini gösterir. Antimikrobik ilaçlar enfeksiyonlara karşı koymada önemli bir yer tutmaktadır. Geliştirilen terapötik ilaçlara karşı mikroorganizmaların oluşturdıkları direnç enfeksiyon hastalıklarının kontrolünü güçleştirir. Diğer yandan kanser, diyabet, kistik fibrozis, kronik böbrek yetmezliği (KBY)'nde enfeksiyon hastalıklarının görülme sıklığı giderek artmaktadır. Bu tip hastalarda immün sistem bozulmuş veya baskılanmıştır. Bu hastalarda enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antimikrobik ilaçlar ile hastanın immün sistemi arasındaki ilişki çok önemlidir. Hastanın bozulmuş immün sistemi dikkate alınarak doğru antibiyotik seçiminin yapılması tedaviyi olumlu yönde etkileyecektir. Bu nedenle antimikrobik ilaçlar ile konak savunma sistemi arasındaki ilişkiyi olumlu yönde geliştirecek araştırmaların yapılması çok önemlidir (1).

Mikroorganizma, antimikrobik ilaç ve konak immün sistemi arasındaki ilişkileri konu alan araştırmalar, özellikle immün sistemi bozuk ve baskılanmış kişilerde görülen hastalıkların tedavisinde önemli rol oynamaktadır. Enfeksiyon etkeni mikroorganizma, konak vücuduna girdiğinde konağın immün sistemi harekete geçer ve karmaşık bir etkileşim mekanizması ile yabancı etkeni yıkıma uğratar. Bakteriyel enfeksiyonlarda polimorf nüveli lökositlerin (PNL) konağın nonspesifik savunma mekanizmasında anahtar rolü oynadığı bilinmektedir (1).

Günümüzde yaygın kullanım alanı bulan antimikrobiklerin, immün sistem hücre ve humoral komponentlerin üzerine inhibitör ve immünomodülatör etkileri olduğu bilinmektedir (1). İmmün sistemi baskılanmış hastalarda görülen enfeksiyon hastalıklarında, hasta PNL'lerinin fagositoz ve hücre içi öldürme aktivitelerinin, antimikrobikler tarafından arttırılması, tedavide olumlu yanıt alınmasını kolaylaştırırken, hastanın tedavisine immünoterapik bir yaklaşım getirebilecektir.

Kronik Böbrek Yetmezliği (KBY), geri dönüşümsüz ve ilerleyici bir hastalıktır. Bu tip hastalarda böbreğin düzenleyici ve endokrin fonksiyonlarının kaybı görülmektedir. Diyaliz ve böbrek transplantasyonu düşünülen bu hastalarda kronik

glomerulonefrit, hipertansif skleroz, kronik interstisiyel nefrit, polikistik böbrek hastalığı ve Diabetes mellitus sık görülmekte ve hasta genellikle infeksiyon hastalığına yakalanmaktadır (2).

Kronik böbrek yetmezliği, oksidatif stres ile seyreden klinik tablolardan biridir. Son dönem KBY hastalarının tedavi seçeneklerinden olan hemodiyalizin (HD) oksidatif stresi artırdığı bilinmektedir. Normal şartlarda serbest oksijen radikallerinin (SOR) üretimi ile antioksidan savunma sistemi denge halindedir. Bu dengenin bozulması sonucunda biyomoleküllerde yapısal ve fonksiyonel modifikasyonlara neden olan oksidatif stres meydana gelir. Lipid peroksidasyonu (LP) oksidatif stresin bir göstergesidir. Malondialdehit (MDA) LP'nin ana reaksiyon ürünüdür. Akut ve kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda serum ve eritrosit MDA düzeylerinde artış gözlenmektedir. Ayrıca bu enzimin aktivitesinde HD sonrası azalma olduğu görülmüştür (2).

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) mevcut radikallerle reaksiyona girerek bunların daha zararlı formlara dönüşmelerini ve yeni serbest radikal oluşumunu önleyen bileşiklerdir. Nötrofilik miyeloperoksidaz sistemde güçlü oksidan kaynaklarından biridir ve hidrojen peroksit tarafından klorid iyonlarının oksidasyonu yoluyla hipoklorik asit üretimini katalizleyen enzimdir. Bu toksisitesi savunma sisteminde bakterilerin öldürülmesine katkıda bulunur. Buna karşılık oluşan hipoklorik asit aynı zamanda $\alpha 1$ antiproteinini inaktive etmekte ve sağlıklı insan dokusunu zarara uğratarak iltihaplanmalara neden olmaktadır. Bu enzimin aktivitesinin HD hastalarında yükseldiği gösterilmiştir (3).

Kronik böbrek yetmezliği olan bu hastalarda, hastalığın oluşturduğu toksik etkiler PNL'ler dahil, immün sistemi olumsuz yönde etkiler (2). İmmün sistemi baskılandığı bu tip hastalığa Diabetes mellitus ve habis tümörler gibi immün sistemi daha çok zayıflatıcı hastalıklar ve infeksiyon hastalıkları da eklenince hastanın immün sistemi daha da olumsuz yönde etkilenecektir.

Konak savunmasında önemli rolleri olan PNL'lerin fagositik aktivite ve hücre içi öldürme aktivitesindeki bozukluklar hastanın infeksiyonlara yatkınlığını artırır.

İnfeksiyona duyarlı bu tip hastalarda, etkene karşı etkili olmasına karşın, immün sisteme olumsuz etkileri bilinen bir antibiyotiğin tedavide kullanımı, etkenin

uzaklaştırılmasında yarar sağlarken, hastanın immün sistemini daha da kötüleştirebilir. Halbuki immün sisteme ve etkene karşı olumlu etkisi bilinen bir antibiyotiğin tedavide kullanımı hastanın baskılanmış veya bozulmuş immün sistem hücrelerini olumlu yönde aktive edebilir.

Yapılan çalışmalar, HD tedavisi alan son dönem KBY hastalarında PNL fonksiyonlarının bozulduğunu göstermektedir (1, 2).

Antibiyotik tedavisinde antibiyotiklerin hasta PNL'lerinin fagositik aktivite ve hücre içi öldürme aktivitesini arttırması istenir fakat her antibiyotikten her zaman olumlu sonuçlar alınamaz. KBY'de görülen bakteriyel infeksiyonlarda etkene ve immün sisteme karşı olumlu etki gösteren doğru antibiyotiğin seçimi, hastanın tedavisinin olumlu yönde gelişmesini sağlayabilir, KBY'li hastaların immün sistem hücre fonksiyonlarını düzeltebilir.

Çalışmamızda HD hastalarında çok sık görülen bakteriyel infeksiyonlara karşı vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenem gibi bazı antibiyotiklerin PNL fonksiyonları (fagositik aktivite ve hücre içi öldürme aktivitesi), oksidatif stresin bir göstergesi olan MDA düzeyleri, antioksidan enzimlerden olan GSH-Px aktiviteleri, hasarlı doku ve inflamasyonun göstergesi olan miyeloperoksidaz (MPO) aktiviteleri üzerine olan etkilerini in vitro araştırmayı amaçladık.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Kronik Böbrek Yetmezliği

Kronik böbrek yetmezliği (KBY), glomerüler filtrasyon değerinde (GFD) azalma sonucunda, böbreğin sıvı-katı dengesini düzenleme ve metabolik-endokrin fonksiyonlarında kronik ve ilerleyici bozulma olarak tanımlanabilir. KBY, çeşitli nedenlere bağlı olarak, fonksiyonel nefronların ilerleyici kaybı sonucunda ortaya çıkar. Nefron kaybı süresince, hemostazın sürdürülebilmesi için fonksiyonel nefronlarda çeşitli adaptif değişiklikler meydana gelir. Bir noktadan sonra bu değişiklikler yetersiz kaldığında böbrek hastalığı ortaya çıkar (4).

Kronik böbrek yetmezliği birçok nedene bağlı olarak gelişebilir. Bunlar içinde en sık rastlanan D.mellitus, hipertansiyon, kronik glomerulonefrit, böbreğin kistik hastalıkları, amiloidoz, obstruktif nefropati, interstisiyel nefrit, kollagen doku hastalıkları ve malignansiler etiyolojik faktörler olarak sayılabilir (4).

Kronik böbrek yetmezliğinin erken evresinde sadece böbreğin fonksiyonel rezervinde azalma vardır. Böbreğin ekskresyon, biyosentetik ve regülatuar fonksiyonları genellikle iyi olduğu için klinik belirti veya bulgu yoktur. Orta evrede, yani böbrek yetmezliğinde azotemi oluşur ve bazı klinik belirtiler ortaya çıksa da (anemi gibi) hastalar genellikle asemptomatiktir. Ancak, infeksiyon, hipovolemi, obstrüksiyon veya nefrotoksik ilaç kullanımı gibi araya giren akut stresler hastayı hızla üremik tabloya sokar. Reversibl faktörlerin giderilmesi ile hasta sıklıkla eski durumuna döner. Glomerüler filtrasyon hızındaki (GFR) azalmanın süresi 3-6 aydan daha uzundur. GFR, genellikle yıllar içinde giderek azalır ve bu azalma, altta yatan nedene göre büyük değişiklik gösterir. İleri evreye ulaşmış böbrek yetmezliğinde GFR 20-25 ml/dk'nın altına düşmüştür. Böbreğin ekskresyon, biyosentez ve regülasyon fonksiyonlarının büyük ölçüde bozulması, klinik belirti ve bulguların (persistan halsizlik, noktüri, kemik ağrıları gibi) ortaya çıkmasına neden olur (5).

Üremi, ileri derecede böbrek fonksiyon kaybının ortaya çıkardığı klinik bulgularla, metabolik ve biyokimyasal değişikliklerin tümüne verilen isimdir.

Üremik belirti ve bulgular böbrek kitlesinin azalma hızına göre hastadan hastaya değişiklik gösterir. KBY'nin son dönemlerinde GFD'nin %20-35 arasında olduğu bilinir ve son evrede azotemi ortaya çıkarken böbrek yetmezliğinin ilk bulguları görülmeye başlar (4, 6).

Kronik böbrek yetmezliğinde GFD'nin düşmesi ile daha spesifik belirtiler gözlenmekte; olayın ilerlemesi sonucunda vücudun tüm organ ve sistemlerini ilgilendiren belirti ve bulgular ortaya çıkmaktadır. KBY çeşitli aşamalarında; noktüri, anemi, sıvı-elektrolit dengesinde önemli değişiklikler, metabolik asidozun ortaya çıkışı, hipokalsemi, gastrointestinal kanama ve kolay gelişen infeksiyonlar saptanmaktadır (4).

Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda üremik toksisite sonucunda fagositik hücre fonksiyonlarında bozukluk görülmektedir. Fagositik fonksiyonlarda bakterileri öldürme yeteneğinin azalması, bu tip hastalarda yaygın olarak görülmektedir. Bu yeteneğin azalmasının sebebi, fagositoz evrelerinde enerji gerektiren glikoz metabolizmasında heksozmonofosfat yolu, süperoksit iyonları ve hidrojen peroksit oluşumundaki olumsuz koşullara bağlanabilir, muhtemelen bu durum KBY olan hastalarda infeksiyon hastalığının, dolayısıyla mortalitesinin artmasına neden olmaktadır (4).

Kronik böbrek yetmezliği hastalarında en çok karşılaşılan ölüm nedeni, kardiyovasküler hastalık (KVH)'lardır. Lipoprotein metabolizması bozuklukları, KBY hastalarında sık görülen ve KVH gelişimine yol açan aterosklerotik risk faktörlerindendir. Ayrıca, aşırı miktarda üretilen serbest oksijen radikalleri (SOR)'nin yol açtığı oksidatif stresin ve özellikle SOR ile oksitlenen düşük dansiteli lipoprotein (low density lipoprotein-LDL)'in ateroskleroz gelişiminde rol oynadığı bilinmektedir (7).

Başlangıçta ilaç, diyet ve koruyucu tedaviler yeterli olurken; ilerleyen dönemlerde diyaliz ve transplantasyona gereksinim duyulmaktadır (8). Klinik açıdan KBY, asemptomatik böbrek fonksiyonu azalmasından üremik sendroma kadar uzanan değişen bir spektrum gösterir. Aslında böbrek yetersizliğinin evreleri birbirinin içine girmiş olup kesin sınırlarla ayrılması mümkün değildir. Ancak,

fonksiyonel değişiklik derecesine göre evreleme klinik ve tedavi planlanması açısından faydalıdır (9).

Son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) hastalarının replasman tedavisinde en sık uygulanan yöntemler hemodiyaliz (HD) ve sürekli ayaktan periton diyalizi (SAPD)'dir (8).

Kronik böbrek yetmezliği hastalarında *in vivo* oksidatif stresin varlığı, malondialdehit (MDA) gibi lipid peroksidasyon ürünleri üzerinden de gösterilmektedir. Diğer taraftan, kronik enflamasyon, KBY hastalarında ve özellikle diyaliz tedavisi alanlarda yaygın bir durumdur. Aktif nötrofillerden miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ile üretilen süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve klorlu oksidanlar; üremi ve hemodiyalizle ilişkilendirilmekte, hatta diyaliz ortamı, oksidatif stres için bir model olarak kabul edilmektedir. Diyalizin dolaşımdaki nötrofilleri serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşturmak üzere tetiklediği ve antioksidan sistemin de zayıflamasına bağlı olarak, hastalarda oksidatif stresin oluşabileceği varsayılmaktadır (8).

Kronik böbrek yetmezliği oksidatif stres ile seyreden klinik tablolardan birisidir. Akut ve kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda serum ve eritrosit MDA düzeylerinde artış, eritrositlerde hemoliz, platelet disfonksiyonları ve defektif iyon transportu oluşmaktadır. Son dönem KBY hastalarının tedavi seçeneklerinden biri olan HD'in de oksidatif stresi artırıcı etkisi olduğu belirtilmektedir (4).

4.1.1. Hemodiyaliz

Hemodiyaliz (HD), hastadan alınan kanın antikoagülasyonla vücut dışında makine yardımıyla yarı geçirgen bir membrandan geçirilerek, sıvı solüt içeriğinin yeniden düzenlenip hastaya geri verilmesi işlemidir. İlk olarak 1946 yılında Willem Koff tarafından akut böbrek yetmezliğinin tedavisinde, 1960'lardan itibaren de giderek KBY olan hastaların tedavisinde uygulanmaya başlandı (9). HD sırasında üre, kreatinin, potasyum gibi maddeler kandan diyalizata, kalsiyum ve bikarbonat gibi maddeler ise diyalizattan kana geçerler. Böylece diyaliz işlemi ile bazı maddelerin plazma konsantrasyonlarında değişiklikler olur. HD işleminin

gerçekleştirilmesi için yeterli kan akımı sağlanmalıdır (erişkinde genellikle dakikada 200-600 ml) (9). Sürekli yenilenen kan akımı ve diyalizat ile iki kompartman arasında yüksek konsantrasyon gradiyenti sağlanır ve difüzyon oranı artırılır. Solüt uzaklaştırılması standart HD ile hızlıdır. Standart HD, transmembran basınç gradiyenti artırılarak sıvı uzaklaştırılması içinde kullanılır. Üre ve elektrolitler gibi küçük solütler ultrafiltrasyon sırasında sıvı içinde plazma ile aynı konsantrasyonlarda uzaklaştırılır (10).

Yeterli kan akımı sağlanması için kalıcı veya geçici vasküler giriş yolu gereklidir. Geçici vasküler giriş yolu için en yaygın olarak kullanılan yöntem çift lümenli bir kataterin femoral, subklaviyen veya internal juguler vene yerleştirilmesidir. Kalıcı vasküler giriş yolları ise arteriyovenöz greft ve arteriyovenöz fistüldür (9).

Hemodiyaliz işleminin; diyalizör (filtre), pompa yardımıyla kan diyalizat dolaşımını sağlayan sistem, solüt klirensi için belirli bir kimyasal kompozisyonda sıvı (diyalizat) olmak üzere 3 önemli bileşeni vardır (9).

Diyalizin etkinliğini arttırmak amacı ile diyalizat ve kan akımları ters yönlüdür. Diyalizörler Hallow fiber (içi boş kapiller) veya paralel tabakalar yapısında olabilir. Membranların kimyasal içeriği sellüloz, substituted sellüloz, sentetik sellüloz, sentetik olabilir. Diyaliz membranın (diyalizör) kapiller içinde hastanın kanı, kapiller arasında ise makine tarafından hazırlanmış diyalizat bulunur. Kan akımı 300 ml/dk'da tutmak için yeterli olan geçici ya da kalıcı damar girişiminden alınan kan yarı sentetik membrandaki çok sayıda kapillere pompalanır. Kan akımına ters yönde sodyum klorür, asetat veya bikarbonat ve değişken konsantrasyondaki potasyum içeren bir diyalizat diyalizöre verilir. Membrandaki diffüzyon, üre gibi küçük molekül ağırlıklı maddelerin konsantrasyon gradiyentine bağlı olarak kan tarafını bırakıp diyalizat tarafına hareket etmesini sağlar. Benzer şekilde genelde konsantrasyonu 35 mEq/L olan bikarbonat kan tarafına diffüze olur. Su ve sodyum klorür fazlalığının uzaklaştırılması, membran boyunca olan hidrostatik basınca bağlı olarak ultrafiltrasyonla olur. HD hastasının ortalama haftada üç kez-dört saat diyalize girmesi gerekir (9).

Hemodiyaliz komplikasyonları sık rastlanan ve ciddi olan (daha az rastlanan) komplikasyonlar olmak üzere ikiye ayrılır. Sık görülen komplikasyonlar; hipotansiyon, kas krampları, huzursuz bacak sendromu, bulantı, kusma, baş ağrısı, göğüs ve sırt ağrısı, kaşıntı, titreme ve ateştir. Ciddi komplikasyonlar; disequilibrium sendromu, anafilaktik reaksiyonlar, aritmiler, kalp tamponadı, intrakranial kanama, konvülsiyonlar, hemoliz, hava embolisi ve hipoksemidir (9).

Hemodiyaliz tedavisi, son dönem böbrek yetmezlikli hastalarda uzun dönemde morbidite ve mortaliteye neden olan malnütrisyon, enflamasyon ve aterosklerozdan (MEA) oluşan geniş bir sendromun önemli bir parçası olan kronik enflamasyon ile birliktedir. MEA sendromunun etiyolojisinde birden çok sebep yer alsa da kullanılan diyalizat kökenli mikrobiyolojik bulaşmanın bu nedenler arasında önemli yer kapladığına inanılmaktadır. Bu inanış diyalizat içindeki bakteriyel ürünlerin diyalizör membranını kolayca geçip, bağışıklık sisteminde görev yapan hücreleri uyarıp, enflamatuvar araçların salınımına neden olduğu kanıtına dayanmaktadır (11).

Fagositlerden kaynaklanan bu oksidanların yanı sıra, kullanılan membran ve diyalizat sıvıları alternatif komplemen yolunun aktivasyonunu sağlayarak hücre hasarının ilerlemesine yol açmaktadır. Diyaliz esnasında kullanılan membranlar ve kontamine diyalizat sıvıları interlökin-1 (IL-1), IL-6 ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) gibi proinflatuar sitokinlerin salınmasına yol açmaktadır. Sitokinlerin uyarısı ile aktive olan PNL'den kaynaklanan SOR, sitokinlerin transkripsiyon faktörü olan NF- κ B (Nükleer faktör kabba B)'yi aktive ederek, sitokinler ve SOR arasında kısır bir döngünün oluşmasına yol açar. SOR böbreğin endotelial ve mezenşimal hücrelerinde hasar oluşturarak glomerular filtrasyon hızında azalmaya, glomerül geçirgenliğinde değişikliklere, sıvı-solüt dengesinin ayarlanmasında bozukluğa neden olabilir (12). HD tedavisi üremik toksinleri uzaklaştırırken eser elementlerin ve hidrofobik yapıda, proteine bağlı olmayan düşük moleküler ağırlığa sahip yapıların da diyalizör sıvısına geçerek, serum düzeyinin azalmasına yol açmaktadır. Selenyum bu eser elementlerden birisi olup antioksidan enzimlerden glutatyon peroksidaz (GSH-Px) için esansiyeldir (13).

Hemodiyaliz tedavisi plazma SOD, katalaz, glutatyon redüktaz (GSSG-Red) ve GSH-Px gibi antioksidan enzim aktivitelerinde azalmaya yol açmaktadır. Bu azalma,

böbreklerdeki sentezinin azalmasına bağlı olabileceği gibi, üremik toksinlerin enzimin protein yapısında değişikliğe yol açmasına da bağlı olabilir. Nitekim MPO'dan kaynaklanan HOCl'in GSH-Px'i inaktive ettiği gösterilmiştir. Üremik hastalarda diyabet, yaşlanma, hipertansiyon, dislipidemi ve sigara gibi etkenler, HD hastalarının oksidatif stres hasarının daha da artmasına yol açmaktadır (13).

4.2. Antibiyotikler

4.2.1. Vankomisin

Vankomisin 1956 yılında *Streptomyces orientalis*'ten izole edilmiş, glikopeptid türü bir antibiyotiktir. Molekül ağırlığı 1450 Da olan trisiklik bir polipeptiddir (14). Oral yoldan alındığında emilmez ve damar içi uygulamalarda da sindirim yoluna hemen hiç ulaşmaz. Kas içi uygulamaları çok ağırlıdır bu yüzden damar içi infüzyon ile yavaş bir şekilde uygulanır. Vücut sıvılarına (plevra, perikard, sinovya vs.) dağılımı iyidir. Beyin omurilik sıvısına inflamasyon varlığında yeterince geçebilir ve tedaviye yanıt yeterli değilse intratekal (3-5 mg) uygulanabilir. Albümine %10-55 oranında bağlanır. Yarılanma ömrü ($t_{1/2}$) 6-8 saattir. Hemen tamamı böbreklerden atılır. Anürik hastalarda $t_{1/2}$ 7.5 güne kadar uzayabilir. Diyalizle uzaklaştırılmaz fakat yeni geliştirilen membranlar vankomisini uzaklaştırabilir ve kan düzeylerini izlemek gerekebilir. Böbrek yetmezliğinde, önerilen doz 2-5 günde bir verilebilir. Yaklaşık 2 saatlik antibiyotik sonrası etki tanımlanmıştır. Plazma pik konsatrasyonu 40 µg/ml'dir (14).

Aerop ve anaerop gram pozitif bakterilere etkilidir. Gram pozitif bakterilerde hücre duvar yapısını oluşturan peptidlerin terminal D-ala-D-ala dizisine bağlanmak suretiyle transglikolizasyon reaksiyonunu ve peptidoglikan oluşumunu inhibe eder. Ayrıca protoplast hasarı oluşturarak RNA sentezi üzerine de etkili olur. Beta-laktam antibiyotikler ile farklı aşamalarda etki gösterdiklerinden çapraz direnç yoktur (14, 15).

Gram negatif bakterilerin hedef yapılarına lipid tabakalarından geçememesi nedeniyle etkili olamaz (15). Ancak bu konuda birkaç istisna bulunmaktadır. *Chryseobacterium (Flavobacterium) meningosepticum* vankomisine duyarlı olabilir

ve bu bakteriyle oluşan infeksiyonların tedavisinde kullanılabilir. Ayrıca bazı *Neisseria gonorrhoeae* kökenleri de vankomisine duyarlı olabilir. Metisiline direçli *Staphylococcus aureus* (MRSA), koagölaz negatif stafilokoklar, viridans streptokoklar, *Corynebacterium spp.* (*C.jejikeium* dahil), *Bacillus spp.*, beta hemolitik streptokoklar, pnömokoklar (penisiline direçli suşlar dahil), anaerop streptokoklar ve *Clostridium spp.*'e karşı bakterisidal etki gösterir. Enterokoklara karşı ise bakteriyostatik etki gösterirler, aminoglikozidler ile sinerjistik etki sağlar. *Leuconostoc spp.*, *Pediococcus spp.*, *Erysipelothrix spp.* doğal olarak glikopeptidlere direçlidir. Laktobasilllerin direç durumu değişkendir. *Borrelia burgdorferi* de vankomisine duyarlıdır ve düşük dozları penisilin ile sinerjistik etki gösterir. Bakterisidal aktiviteye sahiptir (14, 15).

Bakteriler çeşitli mekanizmalarla D-alanil-D-alanin distal ucu yapısında değişiklik yaparak vankomisine direç geliştirirler. Vankomisine direçli enterokok suşlarında yeni bir D-ala-D-ala ligaz enzimi gösterilmiştir. Ligaz enziminin özelliği peptidoglikan yapısının öncül molekülü olan D-ala-D-ala distal ucunun yapısını değiştirmektir. Ligaz enziminin varlığında vankomisinin buraya bağlanmasını engelleyen konfüğürasyon bozukluğu meydana gelir. Sonuçta vankomisinin bağlanamaması beklenen antibakteriyel etkiyi engeller. Enterokok suşlarında vankomisin direnci VanA, VanB, VanC ve VanD olmak üzere dört fenotipte gelişir. VanA fenotipi direç vankomisinde yüksek düzeyde direç geliştiren fenotiptir. Tn1546 transpozonu üzerinde yer alan *vanA* gen grubunun plazmidler aracılığı ile bakteri türleri arasında kolayca yayılabilme potansiyeli enterokok suşlarında glikopeptid direncinin artışında önemli katkısı olmuştur. VanB fenotipi direç potansiyeli taşıyan suşlar vankomisine duyarlıdır. VanC fenotipi direç içsel bir vankomisin direncidir. VanD fenotipi direç hem vankomisin hem teikoplanin direç potansiyeli taşıır (15).

Enterokoklarda, *Staphylococcus haemolyticus* ve *Listeria monocytogenes* kökenlerinde vankomisine direç saptanmıştır. Enterokoklar arasında genelde plazmid transpozon ile aktarılan, Van A tipinde direç belirlenir. Bu fenotipteki direç en sık *Enterococcus faecium* kökenlerinde saptanır ve diğer bakterilere (diğer enterokoklar, *L. monocytogenes* ve MRSA) aktarılabilmesi nedeniyle çok tehlikelidir (14).

Metisiline dirençli *S. aureus* ve metisiline dirençli koagülaz negatif stafilokoklarla oluşan ciddi infeksiyonlarda kullanılır. Endokardit gibi ciddi infeksiyonlarda beta laktam allerjisi varsa tedavide seçilecek ajandır. Stafilokok infeksiyonlarında tedavi başarısız olursa rifampin ve/veya gentamisinle kombinasyon tercih edilmelidir. Enterokok endokarditlerinde aminoglikozidlerle (gentamisin, streptomisin) kombine edilerek bakterisidal etki sağlanabilir. Dirençli difteroid çomak (*C. jeikeium* gibi) infeksiyonları tedavisinde tercih edilecek ilaçlardır. Penisilin allerjisi olan hastalarda endokardit profilaksisinde kullanılabilir. Menenjit olgularında BOS'a geçişi daha iyi olan vankomisin tercih edilir. *Chryseobacterium* menenjitlerinde de vankomisin ilk seçeneklerdendir. Metisiline duyarlı stafilokok infeksiyonları tedavisinde kullanılmamalıdır. Bu infeksiyonlarda beta laktamlar (Betalaktam/betalaktamaz inhibitörü kombinasyonları, nafsilin, oksasilin gibi penisilinaza dirençli penisilinler ve 1. kuşak sefalosporinler) bakterileri öldürme yeteneği açısından glikopeptidlerden daha üstün ve hızlıdır. Penisiline dirençli pnömokoklara bağlı gelişen invaziv infeksiyonlarda üçüncü kuşak sefalosporin kullanılamıyorsa ya da menenjit gibi hayatı tehdit eden bir infeksiyonda sefalosporinle birlikte ya da yalnız başına kullanılabilir (14).

Vankomisin için önerilen doz 2 gr/gün'dür. Günde 4 kez 500 mg ya da iki kez 1 gr verilebilir. Diyaliz hastalarında haftada bir, 1 gr uygulama yeterli olmaktadır (14).

Vankomisin'in geliştirilen daha saf preparatlarında yan etki daha az saptanmaktadır. Ototoksisite doza bağımlıdır. Nefrotoksisite özellikle diğer nefrotoksik ilaçlarla (aminoglikozid, etakrinik asit) beraber kullanıldığında ortaya çıkmaktadır (14).

1990'lı yılların ortalarına doğru VanA fenotipi direncin laboratuvar koşullarında içlerinde *S.aureus* suşları da bulunan çeşitli gram pozitif koklara aktarılabildiğinin gösterilmesi direnç konusunda korkuların biraz daha artışına neden olmuştur. Vankomisine orta dirençli *S. aureus* (VISA) kaynaklı infeksiyon ilk olarak 1995 yılında Fransa'da santral kateter kaynaklı bakteriyemisi bulunan iki yaşında bir lösemi hastasında görülmüş, tedavi antibakteriyel bir ajandan ziyade başarılı bir cerrahi drenaj ile gerçekleştirilmiştir (15).

Bu gelişim, potansiyeli VISA dönüşümü sergileyebilecek MRSA suşlarının erken dönemde belirlenmesi ile sonradan ortaya çıkabilecek bir tedavi başarısızlığını ve epidemiyolojik yayılım sorununa en baştan çözüm şansı getirebileceği düşünülmüştür. O günlerde vankomisin ile ilgili ortaya çıkan bir başka kavram da heterorezistan suşlardır. Heterorezistan VISA (hVISA) suşları *S.aureus* suşları içinde vankomisine farklı duyarlılık paterni sergileyen suşlar olarak tanımlamaktadır. Vankomisin duyarlılığı farklılık gösteren bu tür *S.aureus* subpopulasyonları normal infeksiyon tedavilerinde potansiyel bir tehlike oluşturmaktadır. Fenotipik ve genotipik benzerliğe karşın subpopulasyondaki bu suşlar diğerlerinden farklı olarak vankomisine yüksek MİK değerlerine sahiptir (15).

Staphylococcus aureus suşlarında vankomisine azalan duyarlılığın nedeni VRE suşlarındaki plazmid kökenli *vanA* gen yapısının bu suşlara aktarımı olmadığının gösterilmesi beklentilerin aksine sürpriz bir gelişme olarak karşılanmıştır. 2002 yılına gelindiğinde ilk kez vankomisin dirençli *S. aureus* (VRSA) suşu tanımlanmıştır (15).

VRSA suşlarında vankomisine direnç mekanizması VRE suşlarındaki Tn1546 mobil genetik yapı vasıtasıyla *vanA* gen yapısının plazmid kaynaklı aktarımı sonucu edinilmektedir. VRSA izolatlarında D-ala-D-ala yapısından oluşan normal terminal peptid yerine D-ala-D-lac yapısından oluşan alternatif bir hücre duvar yapısı teşekkül eder. Vankomisin bu peptid yapıya alışlageldiği gibi bağlanamaz. VISA suşlarının aksine, bu suşlarda vankomisinle karşılaşıldığında *vanA* gen ekspresyonu ortaya çıkar. Bu durum antibiyotik etkisini azaltıcı bakteri hücre duvar değişikliği ile sonuçlanır (15).

4.2.2. Daptomisin

Daptomisin *Streptomyces roseosporus* tarafından üretilen 13 üyeli aminoasit yapısında bir siklik lipopeptiddir. Bu yapı gram pozitif bakterilerin duvarında bol miktarda bulunan lipoteikoik asidin içinde transmembran kanallar oluşturarak bakteri membranının sentezini bloke etmektedir. Bu kanallar hücre içi iyonların (K, Mg) ve ATP'nin sızmasına ve makromoleküllerin sentezinin engellenmesine neden olur. Kalsiyuma bağlanarak aktif hale geçmekte ve hücre membranı ile etkileşerek iyon

kanalları oluşturmaktadır. Bu kanallardan hücre dışına K^+ iyonlarının çıkışı olmakta ve bunun sonucunda da hücre membranında depolarizasyon meydana gelmektedir. Bunun yanında; bakteri hücrelerini lizis yapmadan bakterilerin ölümüne neden olduğundan toksin salınımına bağlı komplikasyon gelişme riski de azalmaktadır (16, 17).

Hızlı bakterisidaldir ve konsantrasyona bağımlı etkinlik göstermektedir. Bir *in vitro* çalışma da postantibiyotik etkinin *S. aureus* için 1-6.3 saat ve *Enterococcus faecalis* için de 0.6-6.7 saat olduğu gösterilmiştir. Hızlı bakterisidal aktivite ile direnç gelişim potansiyeli minimize edilmekte, bir infeksiyondaki bakteri üreme miktarı hızla azalmaktadır. Böylece hem tedavi süresi hem de hastanede kalış süresi kısalmaktadır (16, 17).

Geniş aerobik ve anaerobik gram pozitif etkinliğe sahiptir. Bu gram pozitif etkinlik arasında; stafilokoklar MRSA (Metisiline dirençli *S. aureus*), VISA (Vankomisine orta düzeyde duyarlı *S. aureus*), VRSA (Vankomisine dirençli *S. aureus*) dahil, enterokoklar (VRE (Vankomisine dirençli enterokok)'ları da içeren *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*) ve streptokoklar (PRSP-Penisilin dirençli *Streptococcus pneumoniae*) yer almaktadır. Ayrıca *Pediococcus*, *Leuconostoc* ve *Lactobacillus* gibi vankomisine dirençli kökenlere, *Bacillus* cinsi bakterilere, *Corynebacteria*, peptostreptokoklar, *Clostridium difficile* dahil anaeroplara da etkinliği bildirilmektedir (17).

Yaklaşık 8 saatlik bir yarı ömre ve 6-10 saatlik bir post antibiyotik etkiye sahiptir. Bu nedenle günde tek doz kullanım kolaylığı sağlamaktadır. Sadece intravenöz formülasyonu bulunmaktadır. 30 dakikalık intravenöz infüzyon şeklinde uygulanmakla birlikte 2 dakikalık enjeksiyon olarak da uygulanabilmektedir. Önerilen doz 4-6 mg/kg olmakla birlikte ciddi infeksiyonlarda dozu 8-10 mg/kg'a kadar yükseltilebilmektedir. Plazma pik konsantrasyonu 60 µg/ml'dir. Proteine bağlanma oranı %90-93'dür. Menenjit tedavisinde BOS'a geçişine güvenilmediğinden önerilmemektedir. Primer olarak böbrek yoluyla atılmaktadır. Kreatinin klirensi 30 ml/dk'nın altında olan hastalarda doz ayarlaması yapılmalı ve ilaç 48 saate bir 4mg/kg olarak uygulanmalıdır (17).

Staphylococcus aureus ve enterokok kökenlerinde daptomisine karşı direnç oranları henüz çok düşüktür. Dirençli *S. aureus* kökenlerinde direnç mekanizmasının hücre membranına bağlanmada azalma olduğu şeklinde gösterilmiştir. Stafilkokların daptomisin direncinde; *rpoB* ve *rpoC* (RNA polimeraz subunitlerini kodlayan), *yycG* (histidin kinazı kodlayan) ve *mprF* (lizilfosfatidilgliserol sentetazı kodlayan) genlerindeki mutasyonların rol oynadığı bildirilmektedir (17).

Komplike deri ve yumuşak doku infeksiyonları, metisiline duyarlı ve metisiline dirençli *S. aureus* izolatlarının neden olduğu sağ kalp enfektif endokarditi ve *S. aureus* bakteriyemisi için FDA onayı almıştır (17).

Önemli bir ilaç etkileşimi bulunmamaktadır. Statinlerle birlikte kullanıldığında kas toksisitesi açısından dikkatli izlenmesi gerekir. İn vitro olarak diğer antibiyotikler ile antagonistik etki göstermez. Enterokoklara karşı aminoglikozid ve rifampisin, stafilkoklara karşı aminoglikozidlerle birlikte kullanıldıklarında sinerjistikdir (16).

Sonuç olarak daptomisin; hızlı bakterisidal etkisinin yanısıra düşük MİK değerlerine sahiptir. Günde tek doz kullanım kolaylığı olan, doku geçişi iyi olan, güvenli ve tolere edilebilir yeni bir ajandır. Tüm bu özellikleri ile dirençli gram pozitif patojenlerin neden olduğu infeksiyonların tedavisinde terapötik bir seçenek olarak karşımıza çıkmaktadır (17).

4.2.3. Linezolid

Linezolid, oksazolidinon ismi taşıyan yeni bir antibiyotik grubunun üyesidir. Oksazolidinonlar ribozomal protein sentez inhibitörüdür. Bu etkilerini ribozomun 50S ribozomal alt ünitesine bağlanarak ve böylece 70S ribozom kompleksinin oluşmasını engelleyerek yaparlar (18).

Tüm önemli gram pozitif bakterilere karşı mükemmel in vitro aktiviteye sahiptir. Birçok gram pozitif türün %90'ı 4 mg/L'nin altındaki konsantrasyonlarda inhibe olmaktadır. *Streptococcus pneumoniae* ve enterokoklar için ≤ 2 mg/L duyarlı kabul edilmektedir. *Neisseria gonorrhoeae* ve *N.meningitidis*'e karşı in vitro etkilidir. *Haemophilus influenzae*'ya karşı ise sınırlı aktivite göstermektedir (MİK90 4-16 mg/L) (10). Dışarı atan pompalar nedeni ile gram negatif çomaklara karşı etkisizdir.

Atipik solunum patojenlerine (*Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae* ve *Chlamydia pneumoniae*) karşı etkilidir. Gram pozitif anaerob bakterilere etkili iken *Bacteroides fragilis*'e karşı sınırlı aktivite gösterir. *Mycobacterium tuberculosis* ve *M.avium* complex ve hızlı üreyen mikobakterilere karşı iyi in vitro aktivite gösterir. *Nocardia*'ya karşı mükemmel in vitro aktiviteye sahiptir (18).

Tamamen sentetik bir moleküldür. Tama yakın biyoyararlanıma sahiptir, bu nedenle aynı dozlar oral veya parenteral verilebilir. Atılım yarı ömrü günde 2 kez alınmasına izin verir (18).

Cilt ve yumuşak doku infeksiyonları, alt solunum yolu infeksiyonları ve vankomisin dirençli enterokok infeksiyonları için kullanım onayı almıştır. İlaç kabul edilebilir bir istenmeyen etki profiline sahiptir fakat iki haftadan daha uzun ve yüksek doz kullananlarda geriye dönüşebilen kemik iliği baskılanması gözlenmiştir (18).

İlaç genellikle 12 saatte bir 600 mg dozunda kullanılmaktadır (3). Oral ve intravenöz formu mevcuttur. Oral formu %100 biyoyararlanıma sahiptir. Oral dozdan 12 saat sonra maksimum plazma konsantrasyonuna (19 µg/ml) ulaşılmaktadır. Düşük (%31) plazma protein bağlanma oranına sahiptir. İlacın %30-35'i idrarla atılır, dışkıda bulunmaz. Oksidasyon yolu ile iki ana metabolite dönüşür. Sitokrom P450 sistemini indüklemey ve inhibe etmez. Renal ve hepatik yetmezlikte doz ayarlanmasına gerek yoktur. Linezolid ve iki metaboliti diyalizle uzaklaştırılır. Bu metabolitler antimikrobial aktivite ya da toksisite göstermemektedir. Hemodiyaliz sonrası ek doz verilmelidir (18, 19).

Zamana bağlı etkinlik gösterir. Deri, kemikler, kas, adipoz doku, ekstraselüler akciğer dokusu ve serebrospinal sıvıda hem erişkinlerde hem de çocuklarda hızla yüksek konsantrasyonlara erişmektedir. Özellikle proteinlere olan düşük bağlanma bu geniş dağılım için önem taşımaktadır (19).

Diğer antibiyotiklerle kombine edildiğinde genellikle aditif veya bağımsız etkileşim göstermektedir, nadiren antagonistik veya sinerjistikdir. Subinhibitör konsantrasyonları stafilokok ve streptokoklardaki virülans faktör yapımını inhibe eder (18).

Klinik uygulamalarda VRE ya da MRSA infeksiyonlarının tedavisinde linezolid kullanımı sırasında direnç gelişebileceği gösterilmiştir. Direnç gelişen olguların çoğunluğunun erişkin hastalar olması, uzun süreli linezolid tedavisinin söz konusu olması ve hastaların santral venöz kateterinin olması ortak çarpıcı özelliklerdir. Az sayıda da olsa daha önce hiç linezolid kullanmamış çocuk hastalarda direnç bildirimi bulunmaktadır (19).

Laboratuvar ve klinik kullanımda nadiren *Enterococcus faecium* ve *S. aureus*'ta dirençli mutant gelişimi gözlenebilmektedir. Bunlar sıklıkla 23S ribozomun V. bölgesinde gelişen değişik mutasyonlara bağlanmıştır. Şu ana dek ilacın inaktivasyonu yolu ile oluşan bir direnç mekanizması saptanmamıştır. Bakteriyostatiktir ancak streptokoklara karşı in vitro yavaş öldürme gözlenebilmektedir (18).

Ana kullanım onayını vankomisin dirençli *E. faecium* (VRE) infeksiyonları için almıştır. Diğer kullanım alanları *S. pneumoniae*'nin sebep olduğu toplum kökenli pnömoni ve *S. aureus*'a bağlı nozokomiyal pnömonilerdir. *S.aureus*'un yol açtığı komplike cilt ve yumuşak doku infeksiyonlarında da kullanım endikasyonu bulunmaktadır. *Haemophilus influenzae*'ye karşı zayıf etkisi nedeni ile toplum kökenli pnömonilerde ilk kullanılacak ilaçlar arasında kabul edilmemektedir. Esas etkinliğini nozokomiyal pnömoni çalışmalarında göstermiştir (18).

4.2.4. Levofloksasin

Levofloksasin, oral florokinolon grubuna ait bir antibiyotiktir ve rasemik ilaç maddesi ofloksasinin optik S-(-) izomeridir. Hayatı tehdit eden bazı bakteriyel infeksiyonlarda kullanılır (20, 21).

Gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı geniş spektrumlu in vitro aktiviteye sahiptir fakat anaeroplara karşı olan aktivitesinin azaldığı ispatlanmıştır. Ayrıca *Mycoplasma*, *Chlamydia*, *Legionella* and *Mycobacteria spp.* gibi patojenler de bu gruba dahildir. Levofloksasin anlamlı bir şekilde bakteriyel patojenlere karşı R-(+)- ofloksasinden daha aktiftir. İlacın oral uygulanması sonucunda insan dokularına ve sıvılarına penetrasyonu hızlı ve yaygındır (21). 500 mg oral yada

intravenöz dozlarının serum konsantrasyon profillerinde çok küçük farklılıklar vardır. Sağlıklı gönüllülerdeki plazma konsantrasyonu, 250 mg ve 500 mg oral uygulanmasından 1-2 saat sonra sırasıyla yaklaşık olarak 2.8 ve 5.2 mg/L dir. Oral levofloksasinin biyoyararlanımı %100'e ulaşır ve besin uygulamalarıyla da çok az etkilenir. Tek doz oral levofloksasin 50 mg dan 1000 mg a kadar Cmax ve AUC değişerek tahminen sırasıyla 0.6 - 9.4 mg/L ve 4.7 - 108 mg.h/L, her ikisi de doz ile orantılı olarak artmaktadır (20). Plazma pik konsantrasyonu 7µg/ml'dir. Japonyadaki klinik çalışmalarda, oral levofloksasin; solunum sistemi, genitoürüner, doğum, jinekolojik ve yumuşak deri gibi çeşitli infeksiyonlarda antibakteriyel etki gösterir. Ofloksasin ile levofloksasinin aktivitesinin karşılaştırıldığı çalışmalarda, tedavide günlük yarım doz ofloksasin alt sonum yolu infeksiyonları ve komplike idrar yolu infeksiyonlarında eşit etki, artmış insidans ve advers etkiler gösterir. Levofloksasin tolere edilebilir bir profile sahiptir ve diğer oral florokinolonlara benzer. Levofloksasinin çoklu doz ayarlaması ve tek doz ayarlaması benzer farmakokinetiğe sahiptir. Beraberinde levofloksasin kullanan hastalarda teofilin dozaj ayarlamasına gerek yoktur. Antasitlerle veya iki çekirdekli ya da üç çekirdekli katyon içeren diğer ilaçlarla uygulanması levofloksasinin absorpsiyonunu azaltır (21).

Levofloksasin ortalama 1.1 L/kg dağılımı ile çoğu vücut doku ve sıvılarına iyi nüfuz eder. İlaç konsantrasyonu doku ve sıvılarda plazmadan daha iyi gözlenmiş, fakat beyin omurlilik sıvısına penetrasyonu göreceli olarak daha zayıftır. Levofloksasinin serum proteinlerine bağlanma oranı muhtemelen %24-38 dir ve serum proteinlerine bağlanma serum ilaç konsantrasyonlarından bağımsızdır. Plazma eliminasyon yarı-ömrü ($t_{1/2}$ beta) böbrek fonksiyonları normal olan bireylerde 6-8 saat arasındadır. Levofloksasin yaklaşık %80'i değişmeden kalır, glomerüler filtrasyon ve tübüler sekresyon yoluyla idrarda atılır; minimal metabolizması farmakolojik aktiviteye sahip metabolit oluşumu ile olur. Renal klerens ve total vücut klerensi yüksek kreatinin klerensi (CLcr) ile ilişkilidir ve doz ayarlamaları önemli bir böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastalarda gereklidir. Hemodiyaliz tedavisi gören hastalarda azaltılmış dozda kullanımı önerilir. Levofloksasinin farmakokinetiği renal fonksiyon farklılıkları ve vücut kitle ve kompozisyonu dikkate alındığında; yaş, cinsiyet ya da ırktan etkilenmez. Önemli ilaç etkileşimleri alüminyum ve magnezyum içeren antasitler ve ferrosülfat ile birlikte diğer fluorokinolonlar, eş

zamanlı olarak uygulandığı zaman önemli ölçüde azalmış levofloksasin Emilimi ile sonuçlanır. Bu ajanlar levofloksasin uygulanmadan önce ya da sonra, en azından 2 saat uygulanmalıdır (21, 22).

4.2.5. Fusidik asit

Fusidik asit, *Fusidium coccineum* mantarından elde edilen, fusidan sınıfının bir üyesidir. Kimyasal olarak sefalosporin P1 ile yakınlık gösterir. Fusidik asitin sodyum tuzu olan fusidin geliştirilerek 1962 yılında kullanıma sunulmuştur. Ülkemizde 1998 yılından beri kullanıma girmiştir (23).

Bakterinin protein sentezini inhibe ederek antibakteriyel aktivite gösterir. Genellikle bakteriyostatik olmasına karşın, yüksek konsantrasyonlarda bakterisidal etki gösterir. Fusidik asidin ribozom uzama faktörü GTP+inorganik fosfor kompleksini stabilize edebildiği düşünülmektedir. Sonuçta GTP hidrolizi durur ve ribozomda proteinlere aminoasit transferi gerçekleşmez (24).

Fusidik asit dar spektrumludur. Özellikle metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* ve *S. epidermidis* (MRSA, MRSE) suşlarına etkilidir. β -laktamlarla çapraz direnç göstermedikleri için metisilin dirençli kökenlerde güvenle kullanılabilir. Fusidik asit özellikle hastane infeksiyonlarında sık karşılaştığımız MRSA infeksiyonlarının tedavisinde glikopeptid antibiyotiklere (vankomisin, teikoplanin) alternatif oluşturmakta ve bu infeksiyonların doğrudan veya ardışık tedavisinde, tek başına ya da diğer antistafilakoksik antibiyotiklerle birlikte kullanılabilir (24).

Staphylococcus saprophyticus, streptokok ve enterokok cinsi bakterilere karşı daha az etkilidir. *Clostridium tetani*, *C. difficile* ve *C. perfringens* gibi gram pozitif anaeroblar (*Fusobacterium necrophorum* hariç) ve *Bacteriodes fragilis* fusidik aside duyarlıdır. Tüm gram negatif basillerin fusidik aside dirençli olmalarına karşın, bazı gram negatif koklar (*Neisseria meningitidis*, *N. gonorrhoeae*) genellikle duyarlıdır. *Nocardia asteroides* ve *Corynebacterium* cinsi bakteriler fusidik aside duyarlıdır. Fusidik asitin *Mycobacterium tuberculosis* ve *M. leprae*'ye karşı da etkinliği bulunmaktadır. Mantarlar fusidik aside dirençlidir. Protozoonlardan *Giardia lamblia* ve *Plasmodium falciparum* fusidik asitten etkilenir (23).

Fusidik aside direnç farklı mekanizmalar ile oluşmaktadır. *S. aureus* kökenlerinde kromozomal ya da plazmide bağlı direnç oluşur. Akut infeksiyonlarda tek ilaç kullanıldığında %0-2 oranında direnç gelişirken, kombine tedavide bu oranın %1'den daha az olduğu gösterilmiştir. Kronik infeksiyonlarda da tek ilacın kullanıldığı çalışmalarda benzer direnç oranları bulunmuştur. Direnç gelişme olasılığı olduğu için ciddi infeksiyonlarda fusidik asidin diğer antistafilokoksik antibiyotiklerle (β -laktamaz dirençli penisilinler ya da sefalosporinler) birleşik kullanılması önerilmektedir (24).

Oral, intravenöz ya da topikal olarak kullanılabilir. Ülkemizde sadece oral kullanım ve topikal kullanım şekli bulunmaktadır. Duyarlı infeksiyonlarda günde 3 kez, 500 mg dozunda kullanılması önerilmektedir. Fusidik asit plazma konsantrasyonu 36 $\mu\text{g/ml}$ 'dir. Oral uygulamadan sonra emilim tama yakındır. Proteinlere yüksek oranda (%95-97) bağlanır, etkin kısmı %3-5'lik serbest kısmıdır. Yarılanma ömrü yaklaşık 14-16 saattir (24).

Fusidik asit proteinlere sıkı bağlandığı için tüm doku ve sıvılara iyi dağılır. BOS konsantrasyonu düşüktür ama beyin apselerinde kan konsantrasyonuna yakın geçiş vardır. Fusidik asit karaciğerde metabolize edilir ve enterohepatik sirkülasyona verilir. Fusidik asidin %2'si değişmeden dışkıya geçer, %1'i idrarda bulunabilir. Böbreklerden atılmadığı için renal yetmezliklerde ve hemodiyaliz hastalarında doz ayarlaması gerekmez. Karaciğer yetmezliği olan hastalarda dikkatli kullanılmalıdır (24).

Fusidik asit duyarlı bakterilerin oluşturduğu akut ve kronik osteomyelit, septik artritis, endokardit, yumuşak doku infeksiyonları ve kistik fibrözlü hastalarda alt solunum yolları infeksiyonlarının tedavisinde kullanılabilir. Stafilokoksik endokarditlerde penisilinaz dirençli semisentetik bir penisilin türevi ve *Corynebacteria*'ların etken olduğu endokardit olgularında ise eritromisin ile birleşik olarak kullanılmalıdır (24).

Stafilokokal infeksiyonların sistemik tedavisi, MRSA infeksiyonu ve kolonizasyonunun sistemik tedavisi, deri infeksiyonları ile atopik dermatitlerin topikal tedavisi fusidik asidin temel endikasyonlarıdır (23).

4.2.6. Meropenem

Meropenem, imipenemin aksine insan böbrek dehidropeptidaz I (DHP-1) enzimine karşı çok yüksek stabilite gösteren bir karbapenemdir. Meropenem birlikte bir DHP-I inhibitörünün verilmesine gerek olmayan bir parenteral karbapenemdir. Klinik olarak önemli olan hemen tüm aerobik ve anaerobik bakterilere karşı son derece etkilidir. PBP2, meropenemin başlıca hedefidir. Ancak meropenem, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli*'nin PBP2 ve 3'üne daha büyük bir afinite gösterir. Meropenem, stafilokoklara ait enzimler ve gram negatif bakterilerdeki karbapenemazlar hariç diğer tüm beta-laktamazların hidrolizine karşı dayanıklıdır. Karbapenemlerden imipenem, gram pozitif organizmalara karşı daha etkili gözükürken meropenem, gram negatiflere özellikle de *P. aeruginosa*'ya daha etkilidir. Meropenem genel olarak 3.kuşak sefalosporinlerden daha güçlü bir indükleyici olmasına karşın, *Enterobacter* ve *P.aeruginosa* izolatlarındaki grup 1 betalaktamazlar üzerindeki indükleyici etkisi imipeneme göre daha zayıftır (25).

Meropenemin *P. aeruginosa*'daki PBP2 ve PBP3'e karşı yüksek afinitesi olmasına rağmen, imipenemin afinitesi sadece PBP2'ye karşıdır. Bu durumun, özellikle meropenemin *P.aeruginosa* üzerinde daha güçlü bir etki gösterebilmesinde katkısının olabileceği ifade edilmektedir. Meropenem için asıl hedef *P.aeruginosa*'daki PBP3'dür (25).

Meropenem imipeneme etki spektrumu olarak benzemekle birlikte 1-beta-metil grup ve 2-tiopirolidinil eki dolayısı ile DHP-I'e dayanıklı hale gelmiştir ve uygulamada silastatine gerek yoktur. Merkezi sinir sistemi yan etkileri daha azdır (26).

Konsantre sıvılarda dayanıklılığı halen limitlidir. Etki spektrumu imipeneme benzemekle beraber ve gram negatif bakterilere daha etkilidir. *P. aeruginosa* 'ya karşı etkinliği imipeneme göre daha fazladır. Meropenemin serobrospinal sıvı da dahil olmak üzere vücut sıvılarına dağılımı iyidir ve bu nedenle *Serratia marcescens* menenjitinin tedavisinde kullanılabilir. ABD'de FDA 3 aydan büyük çocukların ve erişkinlerin bakteriyel menenjitlerinin tedavisi için onay vermiştir. Akciğerlere ve respiratuvar dokulara penetre olur, respiratuvar patojenlerin tedavisinde

kullanılabilir. Yarılanma ömrü 1 saattir. Bu nedenle gün içerisinde birkaç kez verilmesi gerekir. Plazma pik konsantrasyonu 24 µg/ml'dir. Renal yol ile atılır. Renal hasarı olan hastalarda doz ayarlaması gerekir (27).

4.3. *Candida albicans*

Candida albicans *Deuteromycota*'da yer alan *Blastomycetes* sınıfının *Cryptococcales* takımının *Cryptococcaceae* ailesinin üyesidir. *Candida* cinsi içerisinde sık rastlanan patojen türlerdendir. Tek hücreli ve blastosporların tomurcuklanması ile çoğalan bir mayadır (28, 29).

Sabouraud'un glikozlu agar besiyerinde (SDA), *C. albicans*'ın 2-3 günlük kolonileri gri-beyaz ya da krem renginde, yuvarlak ve hafif pürüklü olarak görülmektedir (28).

Mısır unlu-Tween 80'li agarda 25⁰C'de 72 saat inkübasyonu sonucunda *C.albicans*'ın 4 farklı şekil oluşturarak geliştiği görülmektedir. Bunlar; yalancı hif, blastosporlar, klamidosporlar ve çok nadir olarak gerçek hif oluşturmaktadır (30, 31).

Candida albicans kültürlerinde tomurcuklanarak, oval maya hücreleri (Blastokonidler) ve uzun mayamsı hücrelerden oluşan veya nadir de olsa gerçek bölmeli hifler halinde gelişebilen dimorfik bir mayadır. *C. albicans*'ın gerçek fenotipini pH, sıcaklık ve besiyeri gibi ortam koşulları belirlemektedir (30).

İnsanda *Candida* infeksiyonlarının en az %90'ı *C. albicans* tarafından oluşturulur. Tüm *Candida* türleri, sağlıklı kişilerde ağız mukozası, gastrointestinal sistem ve vajinada kommensal olarak bulunurlar. *C. albicans* her zaman infeksiyona yol açmayıp, sadece kişinin direncinin düştüğü zaman infeksiyon oluşturduğu için fırsatçı patojen olarak bilinir. Neden olduğu her türlü infeksiyon "Kandidamikoz" olarak tanımlanır (30). Yüzeyel infeksiyonlara neden olduğu gibi ağır derin doku infeksiyonları da oluşturabilir. *Candida* infeksiyonları özellikle ağız ve vajinada siktir ve bazı durumlarda tedaviye direnç gösterirler. Sistemik kandidiyaza ise daha az rastlanmakla beraber tıbbi girişimlerin (transplantasyon cerrahisi, immün sistemi baskılayıcı tedavi gibi) ve immün sistemi zayıflatan hastalıkların (AIDS, Diyabet,...) artması hastalığın görülme sıklığı ve önemini arttırmıştır (28).

Şişmanlık, Diabetes mellitus, geniş spektrumlu antimikrobiklerin, kortikosteroidlerin, immünosupresif ve sitotoksik ilaçların kullanımı, vücut direncini kıran kronik hastalıklar, immün yetmezlik, uyuşturucu bağımlılığı, sürekli ven kateteri ve sonda kullanımı gibi kandidamikoz oluşumunu kolaylaştıran faktörler, yüzeysel (mukozal) ve derin kandidamikozlar oluşturmaktadır. Kandidaların normal florada bulunması nedeni ile infeksiyonların çoğu iç kaynaklıdır (endojen infeksiyon) (30).

Candida albicans diğer *Candida* türlerinden basit morfolojik testlerle ayrılmaktadır. *C. albicans* serumda 37°C'de 90 dakika inkübe edildiğinde gerçek hif veya çimlenme borusu (germ tüp) meydana getirir. *C.albicans* besin bulunmayan ortamlarda büyük küresel klamidosporlar meydana getirmektedir (28).

Candida albicans'ın patogenezinde rol oynayan faktörler arasında epitel hücrelerine bağlanma, fagositoza direnç, hif oluşumu, proteinaz ve fosfolipaz gibi hücre dışı enzimlerin salgılanmasını sayabiliriz. Proteinaz enziminin *Candida* türlerini konak savunma sistemine karşı koruduğu ve konak dokusuna da zarar verdiği düşünülmektedir. Bu enzim *C. albicans*'ın PNL'ler tarafından fagositozunu engellemektedir. Buna karşın *C. albicans*'ın hücre içi öldürülmesinden sorumlu en büyük mekanizma miyeloperoksidaz, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit anyon (O_2^-) sistemidir. *C. albicans* 'ın nötrofiller tarafından alınımı ısıya duyarlı ve ısıya dirençli serum opsoninleriyle arttırılır. IgG ve diğer serum bileşikleri *C. albicans*'ı etkili bir şekilde opsonize ederler. Yaygın kandidiyazlı hastalar genellikle yüksek titrede antikor yanıtı verirler (30).

Candida'ların mukoza epitelyum ve endotel yüzeylerine yapışması kolonizasyonun ilk aşamasıdır. *C. albicans* mukozal yüzeylerine yapışma özelliğinden dolayı bu cins içerisinde en sık karşılaşılan türdür (28).

Kutanöz ve mukoz kandidiyazis, immün sistemi baskılanan kişilerde (AIDS, hamilelik, diyabet, yeni doğanlar ve yaşlılar) görülmektedir. Pamukçuk dilde, dudak ve çenede meydana gelmekte ve birçok AIDS hastasında görülmektedir. Vajinal mukozada mayaların yayılması vulvovajinit oluşturmaktadır. Bu durum genellikle hamileler ve diyabetli hastalarda görülmekte ve mikrobiyal floranın lokal asiditesini ve sekresyonunu değiştiren antibiyotiklerin kullanımı ile olmaktadır (28).

Nötrofiller, monositler ve eozinofiller *C. albicans* infeksiyonlarına karşı savunmada rol oynarlar. PNL'lerin savunmadaki rolü yalancı hiplere zarar vermek, blastosporları fagosite etmek ve öldürmektir. Monositlerin in vitro öldürme kapasitesi PNL'lerden daha etkilidir (28).

4.4. Fagositoz

Doğal bağışıklığın, infeksiyonlara karşı en etkili direnç mekanizması fagositoz ve akut inflamasyondur. Fagositoz; mikroorganizma veya yabancı maddenin fagositik hücreye bağlanması, hücre içine alınması, fagositik hücrenin yabancı madde veya mikroorganizmayı parçalayarak yıkıma uğratılması şeklinde gerçekleşir. Bu işlevde görevli başlıca hücreler; nötrofiller, monositler ve makrofajlardır (32).

Fagositoz birkaç morfolojik ve biyokimyasal basamaktan oluşan karmaşık bir işlemdir. Dokuya bir patojen girdiğinde, kompleman sisteminde yer alan serum proteinlerinin salınması ile karakterize olan lokal bir inflamasyon reaksiyonu başlamaktadır. Fagositozda ilk adım kemotaksidir. Eksojen ve endojen maddeler kemotaktik ajan olarak lökositleri etkileyebilir. Kemotaksi; kemotaktik maddeler (eriyen bakteriyel ürünler, kompleman komponent sistemi özellikle C_{5a} ve C_{3a} , araşidonik asit metabolizmasının lipoksigenaz yolla oluşan ürünleri, özellikle lökotrien B₄...) aracılığı ile fagositlerin bu sinyallere cevap vermesi ve fagositoz işleminin yapılacağı alana çekilmesi olayıdır. Kemotaksi lökositlerin vasküler endotelyuma yapışmaları ile başlar. Aktif endotel hücrelerinden salınan IL-8 etkisi ile aktive olan nötrofiller L ve E selektinler aracılığıyla bağlantı kurarlar. Bunu takiben lökosit yüzeyindeki çeşitli integrin moleküllerin etkisi ile karşılıklı ilişki sonucu sıkı bir nötrofil endotel adezyonu sağlanır. Daha sonra adezyon gevşer, nötrofiller endotel hücreleri arasından göç ederek inflamasyon alanına yönelirler. Bu alanda antikorlar ve kompleman komponentleri (C_{3b}) ile kaplanmış mikroorganizma fagosite edilir (32).

Fagositik hücrenin mukozal veya epitel tabakayı istila eden bakterilere saldırması ile fagositoz mekanizması aktive olur. Bakteri IgG veya komplemanın C_{3b} parçası gibi opsoninlerle kaplandığında, nötrofiller ve monositlerin yüzeyindeki reseptörler aracılığı ile tanınır ve mikroorganizmanın fagositik hücreye bağlanması

gerçekleşir. Mikroorganizmaların fagositozunu kolaylaştıran bu antikorlara “opsonin”, olaya ise “opsonizasyon” denir. Opsonizasyon olmadığı durumda da fagositoz meydana gelir, fakat çok zayıftır. Bağlanmadan sonra yabancı maddeler veya mikroorganizmalar, fagositik hücrenin psödopodları ile sarılarak, fagositik bir vakuol oluşur. Vakuolün membranı lizozomal granülün membranı ile kaynaşır (fagolizozom) ve lizozomlar içindeki hidrolitik enzimler fagozom içine boşaltılır (33).

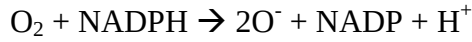
En önemli mikroorganizma öldürücü maddeler; reaktif oksijen türleri ve lizozomal enzimlerdir. Fagositoz, oksijen tüketiminde ani artış, glikojen katabolizması, glikoz oksidasyonunda artış ve reaktif oksijen metabolitlerinin üretimi ile karakterize solunum patlamasını uyarır. NADPH oksidazın, NADPH'ı oksidasyona uğratması sonucu, redükte nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADP) ve süperoksit radikali ($O_2^{\bullet}$) meydana gelir. Daha sonra süperoksit, spontan dismutasyonla ($O_2^{\bullet} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$) hidrojen perokside dönüşür. Bu reaktif oksijen türleri serbest radikaller gibi etki eder ve mikroorganizmaları öldürürler. Üretilen H_2O_2 miktarı genellikle birçok mikroorganizmayı öldürmeye yeterli değildir. Nötrofillerin lizozomları, miyeloperoksidaz (MPO) enzimi içerirler. MPO enzimi Cl^- varlığında H_2O_2 'i, $HOCl$ ye dönüştürür. $HOCl$ kuvvetli bir oksidan ve antimikrobiyal bir ajandır. Oksijen patlamasından sonra H_2O_2 katalaz etkisi ile suya ve O_2 'ne parçalanır, diğer reaktif oksijen türleri azalır. Reaktif nitrojen türleri özellikle NO, reaktif oksijen türleri gibi, aynı yolla etki eder. Reaktif oksijen türevlerinin yanı sıra, lökosit granüllerinin içerdiği diğer maddelerde, bakteri ve diğer infeksiyöz patojenleri öldürebilirler. Bunlar bakterisidal permeabilite artırıcı proteinlerdir. Fosfolipaz aktivasyonuna ve membran fosfolipidinin parçalanmasına neden olurlar. Lizozim, defensinler mikroorganizmaların membranlarında delikler oluşturan ve mikroorganizmaları öldüren peptitlerdir. PNL'ler mikroorganizmayı oksijene bağımlı ve/veya oksijene bağımlı olmayan öldürme mekanizmaları ile öldürürler (32, 33).

4.4.1. Oksijene bağımlı öldürme mekanizmaları

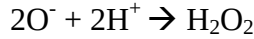
Bu mekanizma, solunum patlaması sonucunda oluşan toksik moleküllerle olmaktadır. Fagositlerin hedef patojene aderensinden önce aşırı oksijen tüketimi olayına solunum patlaması denir (34).

Fagositte edilmiş mikroorganizmaların öldürülme işlemi süperoksit, miyeloperoksidaz (MPO) sisteminin kombine çalışması ile başlar. Bakterisidal maddelerin çoğu solunum patlaması denilen bir dizi karmaşık oksidatif olay sonucu oluşur (33).

Oksijene bağımlı öldürme mekanizması nikotinamid dinikleotid fosfohidrojen (NADPH) oksidaz sisteminin aktivasyonuna bağlı olmakta ve bu sistem ile moleküler oksijen süperoksit anyonuna indirgenmektedir.



Hücre içindeki asidik ortamda, bu oksijen radikalının %80'i süperoksit dismutaz ile hidrojen perokside (H_2O_2)'e dönüştürülmektedir.



Halid varlığında azurofilik granüllerden MPO enzimi salınmakta ve H_2O_2 daha kuvvetli bir bakterisidal ajan olan hipoklorik aside (HOCl) dönüşmekte ve mikroorganizma öldürülmektedir (33).

4.4.2. Oksijene bağımlı olmayan öldürme mekanizmaları

Bu mekanizma, gastrointestinal yol ve vajinal mukoza gibi anaerobik ortamlardaki mikroorganizmaların öldürülmesinden sorumludur. Bu mekanizmada lizozim, laktoferin ve katyonik proteinler görev almaktadır (32).

Defensinler katyonik proteinler olup nötrofillerin azurofilik granüllerinin önemli bileşenlerindendir. Gram pozitif ve gram negatif bakterilere, mantarlara ve bazı zarflı virüslere karşı etkilidir. Aktiviteleri pH ve mikroorganizmaların büyüme fazına bağlıdır (32).

Bakterisid geçirgenlik artırıcı proteinler (BPI) yalnız nötrofillerde bulunur ve fonksiyonları enzimatik aktivite gerektirmektedir. BPI, toksinleri nötralize edebilmekte ve bakteri hücre zarlarının geçirgenliğini artırarak mikrobisid etki göstermektedir (32).

Nötral serin proteaz ailesi (NSP) azurofil granüllerin en önemli bileşenlerinden olup, bu ailenin elastaz, proteinaz 3, azurosidin ve katepsin G olmak üzere en az 4 üyesi bulunmaktadır. Elastaz ve katepsin G, patojenleri enzime bağlı ve enzime bağlı olmayan olmak üzere iki şekilde öldürmektedir (33).

Laktoferin nötrofillerin spesifik granüllerinde bulunan, demir bağlayabilen bir proteindir ve Fe^{+3} için yüksek afiniteye sahiptir. Bakteri gelişimi için gerekli olan demiri bağladığından fagosite edilmiş olan mikroorganizmanın hücre içinde gelişmesine olanak vermemekte ve bakterinin lizozime olan geçirgenliğini artırmaktadır (33).

Lizozim nötrofillerde spesifik ve azurofil granüllerde yer almaktadır. N-asetil muramik asit ve N-asetil glukozamin arasında β -1,4 bağlarına bağlanabilen çok fonksiyonlu bir proteindir (33).

Bu mekanizmaların hepsinin bir arada bulunması genellikle mikroorganizmaların ölmesini sağlamaktadır. Ölü mikroorganizmalar daha sonra lizozomal enzimler ile sindirilmektedir. Ölmüş nötrofiller, mikroorganizmalar ve yarı yarıya sindirilmiş yapılar iltihaplı bölgede sarı renkli ve kıvamlı bir sıvının (cerahat) birikmesine neden olur (33).

4.5. Lökositler

Lökositler (beyaz kan hücreleri), kırmızı kemik iliğinde, lenf düğümlerinde ve timüs bezinde üretilirler. Periferik kanda çekirdek ve plazma yapılarına bağlı olarak granülositler, monositler ve lenfositler olarak üç tipte bulunurlar. Dolaşımdaki lökositlerin %50-75'i granülosit, %2-8'i monosit, %20-40'ı lenfositlerdir. Her lökosit biçiminin farklı özellik ve görevleri vardır. Lökositlerin temel işlevi, vücudun savunmasıdır. Bazıları amöboid hareket yetenekleri ve kemotaksis özellikleri ile fagositöz yeteneğine sahiptir. Lökositler, kanda 4.000-10.000 hücre/mikrolitre

düzeyinde bulunurlar ve çekirdeklerinin yapısına göre granüllü ve granülsüz olarak ikiye ayrılırlar. Granüllü lökositler ya da polimorf nüveli lökositler (PNL); nötrofiller, bazofiller ve eozinofiller, granülsüz lökositler (MNL); lenfositler ve monositlerdir. Bağışıklık sisteminde rol oynayan fagositik hücreler polimorf nüveli lökositler (nötrofiller, bazofiller, eozinofiller) ve mononükleer fagositler (monositler ve makrofajlar) dir (34, 35, 36).

4.5.1. Polimorf nüveli lökositler

Polimorf nüveli lökositler (PNL), kemik iliğinde dakikada yaklaşık 80 milyon hızda üretilmekte olup 2-3 günlük ömürleri vardır. Toplam kan lökositlerinin %60-70'ini oluşturdukları gibi ekstrasvasküler alanlarda da bulunabilirler. Monositlere benzer olarak endotel hücrelerine tutunma ve diapedez olarak da bilinen ekstrasvaze olma yeteneğine sahiptir. Olgun polimorflarda çok parçalı çekirdek ve pek çok granüller bulunur. Polimorf nüveli lökositler sitoplazmalarındaki granüllerin histolojik boyalarla boyanma özelliğine göre nötrofil, bazofil ve eozinofil olarak 3 ana grupta incelenir. Polimorf nüveli lökositler mikroorganizmalara karşı yürütülen akut enflamasyonda rol oynamakta olup temel fonksiyonları fagositozudur (34, 35, 36).

Polimorf nüveli lökositler, enfeksiyonlara karşı konak savunmasında önemli rolleri olan hücrelerdir. PNL'ler antijen için özgüllük göstermezler, ancak antikor ve kompleman ile birlikte akut inflamasyonda mikroorganizmalara karşı korunmada önemli rol oynarlar. Enfeksiyonda sayıları artan PNL'lerin başlıca fonksiyonları; fagositoz ve hücre içi öldürme aktiviteleridir (32).

Polimorf nüveli lökositlerin genetik veya edinsel bozukluğu, hastada ciddi enfeksiyonların meydana gelmesine neden olur. Hücresel bağışıklıkta PNL'lerin hücre içi aktivitesinin bozulması; virulan fırsatçı patojenlerin, virusların, tüberküloz, brucella, riketsiya gibi hücre içinde yaşayan mikroorganizmaların fagositik hücreler içinde potansiyel patojen durumda kalmalarına neden olabilir. Bu mikroorganizmalar kan yolu ile hastalığın yayılmasına ve direncin kırılmasına yol açabilir. Bu durum hastanın başka etkenlerle de enfekte olmasına zemin hazırlar (32).

Sitotoksik tedavi, kortikosteroid tedavisi ve bazı antimikrobiyal ilaçlar da PNL'lerin bu fonksiyonlarını daha da bozarak hastada görülen infeksiyonların spektrumuna katkıda bulunabilirler.

İnfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılan bazı antibakteriyel ajanlar konağın immün cevabını değiştirebilirler. PNL ve antimikrobiyal ajanlar infeksiyonlarla mücadele etmek için sinerjistik etkileşim gösterirler. Kullanılan antimikrobiyal ajanların PNL'lerin fagositoz ve hücre içi öldürme aktivitesini arttırması istenilen immünomodülatör aktivitelerdir (37).

4.5.1.1. Nötrofiller

Nötrofiller, kanda lökositlerin %55-65'ini, dolaşımdaki polimorfların ise %90'ını oluştururlar. Dolaşım kanında veya damar duvarı endotelinde asılı halde bulunurlar. Güçlü fagositik aksiyonları vardır. Bunlar immün ve non-immün mekanizmalar ile aktive olabilir, salgıladıkları sitokin ve granül materyalleri ile etki gösterebilirler. Ayrıca akut faz cevabın oluşmasına katkısı vardır. Bu hücreler gözde daha çok konjktiva, kornea, sklera ve vitreusun bakteriyel infeksiyonlarda, ayrıca kornea ve retinanın viral infeksiyonlarında etkin rol oynarlar. Kemik iliğinde yapılp periferik kana verilirler. Kan yaymalarında 100 hücreden 50-70'i nötrofil lökositlerdir. Çapları 10-15 mikron kadardır. Sitoplazmalarında asit ve bazik boyalar ile boyanmayan granüller bulunur. Bu granüller proteaz, lipaz, nükleotidaz, peroksidaz, asit fosfataz ve karbonhidraz gibi enzimler taşırlar. Nötrofiller çoğalmazlar. İltihap odağındaki asit ortama daha fazla dayanıklı değildirler. Üç dört günde ölürlər. Öldükleri zaman ortamda serbest kalan granüllerindeki enzimler, hücre dışı sindirim yaparak ölü dokuları eritir ve su haline getirirler. Lökositler iltihapta kemotaktik maddelerin etkisi ile damar dışına göç ederler (34, 35,36).

Nötrofiller granülositlerin %90'ını oluşturur. Bu hücreler; antikor ve komplemanla birlikte akut yangıda, mikroorganizmalara karşı vücudun korunmasında rol oynar. İnfeksiyon durumunda sayıları artar, asıl görevleri fagositozudur. Nötrofillerin kandaki ömrü 6-20 saat iken, dokuda 4-5 gün yaşayabilirler. Çapları 10-20 µm olup, 4-5 parçalı çekirdekleri vardır ve çekirdekleri kromatin iplikçileri ile bağlantılı iki veya daha çok lobtan oluşur. Çekirdekteki lob

sayısı hücrenin yaşı ile ilgilidir. Genç hücreler lobsuz, ince uzun çekirdeklere sahipken, zamanla iki loblu, daha sonra da çok loblu hale gelirler (33).

Nötrofiller organel yönünden çok fakirdir. Az miktarda granüllü endoplazmik retikulum ve ribozom içermektedirler. Mitokondrileri küçük ve çok azdır. İmmün yanıtla doğrudan ilgili değildir (32).

Granüllerin içeriği yönünden iki tipe ayrılır. Birinci tip; hidrolaz, miyeloperoksidaz ve lizozim, ikinci tip; laktoferrin ve bazı lizozim molekülleri içerir. İçerdikleri antibakteriyel etkili maddelerle, organizmayı yabancı antijenlere karşı korurlar. Enfeksiyon sırasında kemotaktik faktörlerin (bakteri ürünleri, doku proteazları, kompleman C_{3a}, C_{5a}...) bulunduğu enfeksiyon alanına doğru göç ederler. Nötrofillerin membranında, kompleman ve antikor bağlayan reseptörler bulunur. Mikroorganizmalar opsoninle bağlandığında nötrofiller tarafından daha çabuk fagosite edilirler. Enfeksiyon alanına göç eden nötrofiller o bölgedeki antijen moleküllerini fagosite ederek temizler. Fagositoz olayından sonra, nötrofil içinde fosfolipit metabolizması artar ve heksoz monofosfat yolu aktivasyonu sonucunda H₂O₂ oluşur ve mikroorganizma ürünleri sindirilir (33).

4.5.1.2. Eozinofiller

Eozinofiller kemik iliğinde yapılırlar. Dolaşımdaki lökositlerin %2-5'ini oluştururlar. Sitoplazmalarında çift loblu çekirdekleri ve eozin ile koyu pembe-kırmızı boyanan iri sitoplazmik granülleri mevcuttur. Bu hücreler, mast hücreleri ve bazofillerden salınan kemotaktik faktörler ile enflamasyon alanına yönelirler. Zayıf fagositik aktiviteleri vardır. Primer, sekonder ve küçük yoğun granüller olmak üzere 3 çeşit granül içerirler. Sekonder granüller eozinofil içindeki tüm matur granüllerin %95'ini oluşturmakta olup çekirdek ve matriks bölümlerinden oluşur. Çekirdek bölümünde, eozinofil tarafından aktive olduğunda salınan majör bazik protein, eozinofil katyonik protein, eozinofil peroksidaz ve eozinofil nörotoksin gibi proteinler mevcuttur. Küçük granüller isearilsülfataz ve asit fosfataz gibi enzimler içerirler. Eozinofiller, oluşturdukları etkin oksijen metabolitler ve hedef hücre membranlarında oluşturdukları, ozmotik sitolize neden olan hasarlayıcı etkiler ile parazitlere karşı mücadelede de yer alırlar. IgE ve IgG2 bağlayabilirler. Allerjik ve

paraziter hastalıklarda, kanda ve iltihabi eksüdada oranları artar. Kronik iltihaplarda damarlardan göç ederek eksüda içine gelirler (34, 35,36).

Eozinofiller periferik kan lökositlerinin %2-5'ini oluşturur. Çapları 12µm'dir. Kemik iliğindeki kök hücreden oluşurlar. Kandaki yarı ömürleri 1 saat iken, dokuda ise 1 haftadır ve fagositoz yeteneği olan hücrelerdir. Sitoplazmalarındaki granüller, hematoxilen-eozin boyası ile kırmızı renge boyanmaktadır. Antijen antikor kompleksini fagosit etmektedirler. Kanda IgE antikorlarının fazla olduğu alerjik reaksiyonlarda ve invaziv helmint infeksiyonlarında sayıları artar. Eozinofiller; T lenfositleri, mast hücreleri, bazofiller tarafından salgılanan ürünlerle harekete geçerler (5). Eozinofillerden salgılanan histaminaz ve aril sulfataz alerjik reaksiyonlarda mast hücrelerinden açığa çıkan histamin ve yavaş reaksiyon veren maddeyi [SRS-A (Slow Reacting Substance of Anaphylaxis)] etkisizleştirir (33).

Eozinofillerde endoplazmik retikulum, golgi aygıtı iyi gelişmemiştir ve mitokondri sayısı azdır. Eozinofil granüllerinin ince yapısı türler arasında farklılık göstermektedir. Bu granüllerin içeriği H₂O₂'ce çok zengindir (33).

4.5.1.3. Bazofiller

Bazofiller dolaşımda çok küçük miktarda bulunmakta olup granülleri büyük ve bazofiliktir. Periferik kandaki lökositlerin %0.5'ini oluştururlar. Zayıf fagositik aktiviteye sahip hücrelerdir. Bu lökositler hipersensibilite (aşırı duyarlılık) reaksiyonlarında yer alırlar (34, 35,36).

Bazofiller, 8-12 µm çapında ve periferik kandaki lökositlerin %0.5'ini oluşturan hücrelerdir ve oldukça yoğun granüllüdürler. Çekirdekleri uzunca olup çoğunlukla U veya J şeklinde kıvrılmış ve iki parçalıdır. Çekirdekleri koyu mor boyanır. Bazofiller histamin ve heparin içermektedir. Bu hücrelerin metakromatik boyalarla boyanması, heparin ve histamin içermesi mast hücreleri ile ortak özelliklerindendir. Bazofiller aşırı duyarlılık reaksiyonlarında bağ dokusuna göç ederek mast hücrelerinin tamamlayıcısı olarak görev almaktadırlar (33).

4.6. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Serbest oksijen radikalleri (SOR), dış orbitallerinde bir veya birden fazla paylaşılmamış elektron içeren reaktif moleküllerdir. Her türden kimyasal ve biyokimyasal tepkime serbest radikallerin atomlarının dış orbitallerindeki elektronlar sayesinde gerçekleşir. Dış orbitallerde paylaşılmamış elektron bulunması serbest radikallerin reaktivitesini olağanüstü artırır. Bu nedenle serbest radikaller stabil değildir, dolayısıyla kimyasal aktifliği yüksek moleküllerdir (32).

Normal koşullarda SOR intraselluler ve ekstraselluler antioksidan savunma mekanizmaları ile detoksifiye edilerek dengede tutulmaktadır. Yoğun SOR üretimi yada antioksidan savunmanın azalması; biyomoleküllerde yapısal ve fonksiyonel modifikasyonlara neden olarak oksidatif strese neden olmaktadır. KBY'li hastalarda serbest radikallerin artması ve antioksidan savunma mekanizmalarının azalması neticesinde lipid peroksidasyonu (LP) artmaktadır (2, 4).

Serbest oksijen radikalleri organizmada, hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak hemde çevresel faktörlerin etkisi ile oluşabilmektedir. SOR reaktif yapıları nedeniyle başta lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve DNA olmak üzere oksitlenebilen tüm hücre elemanları ile etkileşmektedir (2).

Elektronlar orbital denem bölgelerde dönerler. Her orbital normal şartlarda birbirine zıt yönde dönen 2 elektron ihtiva eder. Serbest radikaller ortaklanmamış elektron içerir. Bu da en sık olarak elektron transfer zincirinde oluşan elektronların transferi ile veya oksidazlar ile tek elektron transferi ile oluşur. Serbest radikallerin bir başka oluşma şekli de moleküldeki bağların homolitik olarak parçalanması sonucu elektronlardan her birinin farklı atomlar üzerinde kalmasıyla olur. Ayrıca iyonize radyasyon da serbest radikal oluşumuna sebep olabilir (38).

Süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$), alkoksi radikali ($RO^{\cdot}$), peroksi radikali ($ROO^{\cdot}$), lipid radikalleri ($L^{\cdot}$), tiyil radikali ($R-S^{\cdot}$) ve hipoklorözait radikali bazı serbest radikal türlerindendir (32).

Tüm aerobik hücrelerde bulunan moleküller oksijen (O_2) meydana getirir. Süperoksit, H_2O_2 kaynağı ve geçiş metalleri (Fe^{+2}) iyonlarının indirgeyicisidir ve daha güçlü radikallerin oluşumuna yol açar (32).

Oksijen, iki elektronu eşleşmemiş şekilde bir elektron dağılımına sahiptir. Bu yüzden bazen oksijen bir radikal (moleküler oksijen) olarak değerlendirilir. Oksijen molekülünün reaktif bir özelliği olmamasına rağmen diğer radikallerle reaksiyona girme özelliğine sahiptir (38).

Serbest radikaller, hem indirgen, hem yükseltgen olarak ve bazen de her iki etkiyi birlikte göstererek DNA, hücresel proteinler ve lipidler üzerinde zararlı etkiler oluşturarak hücre hasarına neden olur. Aerobik canlılarda normal metabolizmaları gereği serbest radikaller oluşmaktadır. Bunlar organizmanın antioksidan savunma mekanizmaları ile zararsız hale getirilmektedir. Ancak patolojik durumlarda normalin üzerinde serbest radikal oluşabilir ve antioksidan savunma sisteminin yetersiz kalması sonucu bunlar hücrenin çeşitli bileşenleri ile etkileşerek hücrede yapısal ve fonksiyonel bozukluğa neden olurlar. Proteinlerde (yapısal sülfidril grubu içeren) inaktivasyon, karbonhidratlarda depolimerizasyona, nükleik asitlerde mutasyona ve plazma membranı ile organellerde bulunan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olurlar. Serbest radikallerin en iyi bilinen zararlı etkisi; hücre membranı yağ asitlerine ve lipoproteinlere saldırması ve lipid peroksidasyonu olarak bilinen zincir reaksiyonunu başlatmalarıdır. Lipid peroksidasyonunun ürünleri sonraki aşamalarda membran proteinlerinde hasara yol açarak yapısal ve fonksiyonel bozuklukların ortaya çıkmasına neden olurlar. HD işlemi sırasında da kanın yapay bir yüzey olan diyaliz membranı ile teması, serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşumunu arttırmaktadır (32).

Oksidan-antioksidan dengesinin bozulması sonucu ortaya çıkan oksidatif stres, diğer pek çok hastalıkta olduğu gibi KBY hastalarında da birçok komplikasyonun oluşumunda rol alan önemli bir etkidir. HD işleminin de oksidatif stresi arttırdığı bilinmektedir. Diyaliz hastalarında; üremik durum, diyaliz membranı ve diyalizatin bakteriyel kontaminasyonu oksidatif strese yol açabilecek üç temel mekanizmadır (32, 39).

Son dönem böbrek yetmezlikli hastalarda oksidatif stres; immünolojik bozukluklar, koagülopati, katarakt, amiloidoz ve ateroskleroz gibi üremik komplikasyonların gelişiminde rol almaktadır (32, 39).

Oksidatif stres artışı protein, lipid ve nükleik asitler gibi önemli moleküllerde yıkıcı etki başlatabilir. Nitekim vücutta SOR düzeyindeki aşırı artışın veya antioksidan savunma sisteminde bir yetersizliğin kalp hastalığı, serebrovasküler hastalık ve kanser gibi çeşitli hastalıkların patogenezinde rolü olabileceği kabul edilmektedir (2).

4.7. Lipid Peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonu (LP), zar fosfolipidlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan ve böylece zar lipid yapısını değiştirerek hücre yapı ve fonksiyonlarını bozan bir olaydır (32, 39).

Lipid peroksidasyonu kimyasal bir proses olup serbest radikallerin membrandaki doymamış yağ asitlerini etkilemesi ile başlar. LP bir zincir tepkimesi şeklinde başlayıp, daha ileri peroksidasyonu başlatacak serbest radikaller için kesintisiz bir kaynak oluşturur. Kendi kendini devam ettiren bu zincir reaksiyonların hücre membranına hasarı geri dönüşümsüzdür (32, 39).

Süperoksit gruplarının hızlı bir şekilde oluşturduğu tekli oksijen, hücre zarlarının fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol yapısındaki doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girdiğinde; peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli lipid peroksidasyon ürünleri oluşur. Lipid peroksitler, indirgenmiş glutatyona (GSH) bağımlı selenyum bir enzim olan GSH tarafından lipid alkollere çevrilerek inaktive edilirse ve süperoksit grupları ile birlikte fazla miktarda lipid peroksitlerin şekillendirilmesi gerçekleşirse, selenyum eksikliği sonucu, ortamdaki GSH'nın tükenmesine neden olabilen dietilmaleat, dioksin gibi maddeler bulunursa, lipid hidroperoksitlerinden serbest lipid grupları meydana gelir. Serbest lipid grupları da, ayrıca doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olur (32, 39).

Bunların sonucunda hücre içinde aşırı kalsiyum birikir ve hücre ölüm mekanizması meydana gelir (32, 39).

Membranda bulunan yağ asitleri ve kolesterolün doymamış bağları serbest radikallerle reaksiyona girip peroksidasyona neden olabilir. İlk önce yağ asidi hidrojen ve kendi üzerinde birer elektron kalacak şekilde parçalanır ve lipid

radikalini oluşturur. Lipid radikali de oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksil radikalini oluşturur. Lipid peroksil radikali de diğer doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girer. Böylece zincirleme bir reaksiyon başlamış olur. Ayrıca lipid peroksiller ortamdaki hidrojen atomları ile de reaksiyona girerek lipid hidroperoksidleri de oluştururlar (38).

Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan kuvvetli oksidleyici bir radikalın membran yapısında bulunan poliansature yağ asidi zincirindeki metilen gruplarından bir hidrojen atomu uzaklaştırması ile başlamaktadır. LP'yi başlatan başlıca radikal, hidroksil radikalidir. LP membran yapı ve bütünlüğünün bozulması, oluşan serbest radikallerin çeşitli hücre bileşenleri üzerine etkisi ve son ürünlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına neden olmaktadır. SOR'nin yol açtığı hücre hasarı, hücresel koruyucu sistemlerin etkinlik derecelerine bağlıdır. Enzimatik serbest radikal temizleyicileri, süperoksid dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalazdır. Katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri, reaktif hidroksillerin hasarlayıcı etkilerine karşı sınırlı direkt korunma sağlayabilirler. Bununla birlikte, düşük molekül ağırlıklı serbest radikal temizleyicileri (antioksidanlar), serbest radikallerle direkt reaksiyona girebilir ve onları en azından daha az zararlı, daha stabil metabolitlerine döndürürler (39).

Serbest ansature yağ asitleri, fosfolipid gibi esterleştiği zaman serbest radikal saldırılarına daha duyarlı olabilir. Daha az nötrofil aktivasyonuna neden olan diyaliz membranları ile serbest radikal reaksiyon ürünlerinde daha az artış ve daha az hipoksi olduğu bildirilmiştir. Bu literatür verilerine göre, renal anemi patojenezinde oksidatif hasar olasılığı ve hemodiyalizin oksidatif hasarı başlatıcı etkisi rol oynayabilir. Lipid peroksidasyonu ile oksidatif hasar hemolizle sonlanabilir (2).

4.7.1. Malondialdehit (MDA)

Malondialdehit lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olup, doku hasarında serbest radikaller tarafından meydana getirilir ve oksidatif stresin ölçülmesinde kullanılır (32, 40).

Lipid peroksidasyonu (LP) tepkimeleri sonucunda başta aldehitler ve diğer karbonil bileşikler ile etan, pentan gibi çok sayıda ürün oluşmaktadır. MDA, LP'nin bir göstergesidir. MDA, kan plazmasında kolaylıkla teşhis edilebilen, doku hasarı genel mekanizması ile serbest radikallerce meydana getirilen ve oksidatif stres ölçümlerinde kullanılan bir moleküldür. MDA üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu meydana gelir. LP'nin başlıca ürünü olan MDA uzun ömrü ve yüksek reaktivitesi ile hücre içi ve dışındaki protein, nükleik asit gibi birçok biyomoleküle etki ederek geri dönüşümü mümkün olmayan hücre hasarlarına yol açar. Bunun yanı sıra MDA membran akıcılığının azalmasına, membran fonksiyonlarının yavaşlamasına, membran reseptör ve enzimlerinin inaktive olmasına ve Ca^{+2} iyonlarının membran geçişlerinin artmasına neden olmaktadır. Dokularda MDA seviyesinin artması koroner arter hastalığına, akciğer kanseri ile diğer akciğer hastalıklarına, DNA'ya bağlanarak mutasyonlara ve iltihaplanmalara yol açtığı bildirilmektedir (40).

Lipid hidroperoksitleri yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilir ya da hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu MDA oluşmaktadır. MDA lipid peroksidasyonunun şiddetiyle orantılı olarak artar ancak spesifik değildir. Bu aldehitlerden en önemlisi malondialdehit (MDA) olarak adlandırılan moleküldür. MDA düzeyi, lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. MDA, suda çözünen bir lipid peroksidasyon ürünüdür ve normalde kısmi olarak idrarla itrah edilir ancak vücutta oluşan MDA'nın ne kadarının böbrekler yoluyla elimine edildiği açık değildir (32, 38, 41).

Lipid peroksidasyonunun ana reaksiyon ürünü MDA serum konsantrasyonunun ve eritrosit MDA içeriğinin artması, üremik serumun antioksidatif aktivitesinin azalması, vitamin E uygulananı ile intradiyalitik hemolizin azalması kronik hemodiyaliz hastalarında antioksidatif homeostazis değişikliklerini gösteren bulgulardır (2).

4.8. Antioksidanlar

Serbest radikal reaksiyonları nötrofil, makrofaj gibi immün sistem hücrelerinin savunma mekanizması için gerekli olsa da serbest radikallerin fazla üretimi, doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır (42).

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmada koruyucu birtakım mekanizmalar vardır. Bu mekanizmalardan bir kısmı serbest radikal oluşumunu, bir kısmı ise oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini önler. Bu işlevleri yapan maddelerin tümüne genel olarak “antioksidanlar” denmektedir. (22, 43, 44).

Antioksidanlar, endojen ve ekzojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan molekülleri, hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirirler. Hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler asıl antioksidan savunmayı sağlamaktadır. Antioksidan sistem enzimatik ve nonenzimatik olarak ayrılmaktadır (43, 44, 45).

➤ Enzimatik antioksidanlar

- ✓ Süperoksit dismutaz (SOD)
- ✓ Katalaz (CAT)
- ✓ Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)
- ✓ Fosfolipit hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PLGSH-Px)
- ✓ Glutasyon S-transferaz (GST)
- ✓ Glutasyon redüktaz (GSSG-R)
- ✓ Sitokrom oksidaz

Bakır, çinko, Se gibi eser elementler ise bu enzimlerin fonksiyonları için gereklidir.

➤ Non enzimatik antioksidanlar

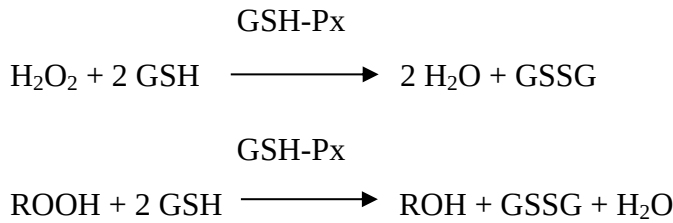
- ✓ Glutasyon (GSH)
- ✓ α -tokoferol (vit E)
- ✓ Askorbat (vit C)
- ✓ β -karoten
- ✓ Flavonoidler
- ✓ Ürat

- ✓ Bilirubin
- ✓ Albumin
- ✓ Seruloplazmin
- ✓ Transferrin
- ✓ Ferritin
- ✓ Laktoferrin
- ✓ Melatonin
- ✓ Sistein

Antioksidanlar; oksidatif hasarlara karşı dokuları veya hücreleri koruyucu özellikleri gözönüne alındığında, yaşlanmaya, doku hasarlarına ve toksik ajanlar ile zehirlenmeye karşı, koruyucu ajanlar olarak gösterilmektedir (42, 45).

4.8.1. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz organik hidroperoksitlerin (lipid hidroperoksitler, DNA hidroperoksitler) veya hidrojen peroksitin GSH tarafından indirgenmesi tepkimesini katalizleyen bir enzimdir. 1957’de Mills tarafından keşfedilmiştir. GSH-Px, hidroperoksitlerin redüksiyonunu katalizler, bunu glutasyonu kullanarak yaparken hücreleri de oksidatif hasardan korur (44, 46).



Glutasyon peroksidaz enzimi iki gruba ayrılabilir; selenyum bağlı ve selenyum bağlı olmayan. Selenyum bağlı grupta hidrojen peroksit ve diğer organik peroksitleri indirgeyen beş üye vardır, selenyum bağımsız GSH-Px ise hidrojen peroksit ile ihmal edilebilir bir aktifliğe sahip olup sadece organik hidroperoksitleri redükler. Sitozolde bulunur, 4 selenyum atomu içerir, tetramerik yapıdadır. GSH-Px’in fagositik hücrelerde de önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini önler. GSH-Px eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır.

Eritrosit GSH-Px aktivitesi yaşlılarda ve Down sendromlu hastalarda yüksek, prematürelerde düşük bulunmuştur. Lökosit GSH-Px aktivitesi yaşlılarda ve hipertansiyonlu hastalarda yüksek bulunmuştur (44, 46).

4.9. Oksidan Enzimler

4.9.1. Miyeloperoksidaz (MPO)

Miyeloperoksidaz ilk olarak 1941 yılında Agner tarafından köpek cerahatından izole edilmiştir (24). Esas olarak insan PNL'lerinde yaklaşık olarak %5 oranında bulunmaktadır. Ayrıca monositlerde (toplam proteinin ~ %1'i) ve doku makrofajlarında varlığı belirlenmiştir. MPO, PNL ve monositlerin azurofilik granüllerinde depolanmıştır. Hücresel aktivasyon ve degranülasyon süresince fagositik vakuollere salındığı gibi ekstraselüler alana da bırakılmaktadır (39, 46).

Miyeloperoksidaz arjinine zengin, 150 kDa molekül ağırlığında katyonik bir proteindir. Bu enzim 59 kDa'lık 1 ağır (α) ve 13.5 kDa 1 hafif (β) alt ünitelerden oluşur. Bu alt üniteler promotor olarak düzenlenmiştir ve alkilenen hemimiyeloperoksidaza indirgenebilir. İndirgenen hemimiyeloperoksidazdaki bu 2 promotor ünite enzimatik özellik taşımaktadır. Hem ve karbonhidrat parçalarının her ikisi enzimin ağır ünitesine bağlanır. Her MPO enzimi ağır alt ünitesine 2 demir bağlayan prostetik gruba sahiptir (32).

İnflamasyon göstergesi olan MPO nötrofiller tarafından kullanılan antibakteriyel savunma mekanizması enzimidir. Nötrofillerin ve monositlerin primer lizozomal granüllerinde yer alan bir hem enzimidir. Enzimin rengi yeşildir ve bu yüzden irine yeşil rengi verir. Bu proteinin ilk ismi verdoperoksidazdır. Bu enzim nötrofillerin ilk gelişimi safhasında sentezlenir ve azurofilik granüllerde depolandığından kolayca saptanabilir. Hafif granüllerde bu enzim bol miktarda bulunurken, ağır granüllerde miktarı biraz daha azdır (32). Süperoksit radikalının dismutasyonu sonucu oluşan hidrojen peroksit myeloperoksidaz enzimi aracılığıyla reaksiyona girerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan hipoklorik asidi oluşturur. Bu reaksiyonun toksisitesi savunma sisteminde bakterilerin öldürülmesine katkıda bulunur. Buna karşılık, oluşan hipoklorik asit aynı zamanda α 1-antiproteinaz'ı inaktive etmekte ve sağlıklı

insan dokusunu zarara uğratarak iltihaplanmalara neden olmaktadır. Nötrofiller, kompleman fragmanları, HO, reaktif oksijen radikalleri ve sitokinler tarafından aktive edilir (47).

Miyeloperoksidaz katalitik substrat olarak nitrik oksiti (NO) kullanır ve proteinlerin nitrasyonuna yol açarak endotel disfonksiyonuna katkıda bulunur. Ayrıca MPO aracılığıyla üretilen oksidanlar matriks metalloproteinazları aktive ederek plak stabilizasyonunun bozulmasına katkıda bulunur. İlâveten genetik çalışmalar ateroskleroz ve MPO'yu ilişkilendirmektedir (40).

Polimorf nüveli lökositler, enfeksiyona karşı insanlarda, konak bağışıklık savunmasında ilk aktive olan hücre türüdür. Bu hücreler, bakteri ve diğer harici mikroorganizmaları tanıyıp fagositte ettikleri enflamasyon bölgesine göç etmektedirler. Yabancı patojenler, granüller içerisine önceden depolanmış olan hidrolitik enzimler ve bakteri öldürücü proteinlere, ayrıca yeni üretilmiş reaktif oksijen türlerine (ROS) maruz kalmaktadırlar (39).

Polimorf nüveli lökositler, farklı proteinler ve enzimler içeren dört çeşit granül ile donatılmıştır. Granül içeriği hücrelerin aktivasyonu üzerine, oluşmuş fagozomlara ya da hücre içine yavaş yavaş salınmaktadır. Hücre içi kalsiyumunda yükselme degranülasyonu başlatmaktadır. Salgı keseciklerin ve üçüncül granüllerin içeriğinin salınması için Ca^{+2} seviyesinde orta seviyede ($0.25 \mu M$) bir artış olması yeterlidir. Bu tür granüller başlıca albümin, jelatinaz, kollajenaz ve diğer proteinleri bulundurmaktadır. Bu proteinler ve enzimler, PNL'lerin sıkıca paketlenmiş doku materyali içerisinden enflamasyon bölgesine ulaşabilmelerinde yardımcı olmaktadır (39).

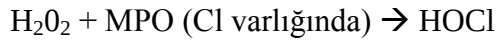
İkincil ve azurofilik granüllerden içeriğin salınması için hücre içi kalsiyumda daha yüksek bir artış ($0.7 \mu M$) olması gerekmektedir. Bu enzimler ve proteinlerin çoğu yabancı patojenlere yöneliktir. Burada bakteri duvarı bileşenlerini parçalayan özel enzimler bulunmaktadır. PNL'lerin azurofilik granülleri fazla miktarlarda ve benzersiz bir protein içermektedir ki, bu hem içeren enzim MPO'dur. NADPH oksidaz ile birlikte MPO biyolojik materyallerin oksidasyonunda ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunda yer almaktadır. Uyarılmış PNL'lerde NADPH oksidaz

moleküler oksijeni süperoksid anyonu radikaline indirgemektedir. Bu tür ve onun dismutasyon ürünü hidrojen peroksit MPO'nun substratlarıdır (39).

İn vitro koşullarda ve belirli hastalıklarda aktive olan nötrofiller ve makrofajlar süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve MPO salgılamaktadır (32).

Oksijene bağımlı fagositoz olayında MPO oksijen türevi serbest radikallerin üretimini sağlayan bir başka sistem içerir. Oksijenden bağımsız sistem patojenlerin öldürülmesinde fagolizozomdaki pH değişikliklerini ve lizozomal enzimleri kullanır. Bütününde, bu bakterisidal mekanizmaların en etkili MPO'dur (32).

Fagolizozom sırasında lizozomlarda bulunan MPO, peroksit ve klorür iyonlarını bakteriyi öldüren hipokloröz aside ($HOCl$) dönüştürür. Fazla peroksit katalaz veya glutatyon peroksidaz ile nötralize edilir (32).



Yukarıdaki tepkime sonucunda mikroorganizmalar parçalanır (32).

Nötrofillerdeki MPO düzeyinin plazma konsantrasyonundaki artışı sepsis, akut akciğer hasarı, akut inflamasyon gibi patolojik durumlarda PNL aktivasyonunun bir göstergesi olarak kabul edilir. PNL'ler kompleman parçaları, sitokinler veya patojen mikroorganizmalar ile uyarılınca (karşılaşınca) NADPH oksidaz aktive olur. Membrana bağlı olan NADPH oksidaz oksijenin tüketimini artırır ve solunum patlaması görülür ve bir seri aktive olmuş oksijen formdaki serbest radikal öncülü olan süperoksid anyon oluşumundan sorumludur. PNL stimülasyonu degranülasyona neden olur ve dolayısıyla granül içerikleri ekstrasellüler boşluğa dökülür (32).

Polimorf nüveli lökositlerin granül içeriğinde MPO bulunmaktadır. MPO, H_2O_2 kullanılarak peroksidaz aktivitesi ve Cl^- kullanarak klorlama aktivitesi olmak üzere 2 çeşit enzimatik aktiviteye sahiptir. Bu 2 aktivite ile güçlü bir oksidan olan MPO hipoklorid asidin ($HOCl$) oluşumunu katalize eder Hipoklorid asit ve diğer aktive oksijen türleri fagolizozom içinde bakterilerin yıkımını sağlar. Bu olaylar akut enflamasyon ile karakterize belirli patolojik olaylar sırasında PNL'ler yoğun bir şekilde aktive olunca yukarıda adı geçen maddeler ekstrasellüler boşluğa salındığı zaman hücre ve doku hasarı meydana gelir (32).

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Gereçler

5.1.1. Hasta grubu

Çalışmamıza 20-65 yaş aralığındaki hemodiyaliz hastaları katılmıştır. Çalışmamız için gerekli olan Etik Kurul Raporu “Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu” tarafından verilmiştir (Ek 1).

5.1.2. Mikroorganizma

Candida albicans ATCC 10231 standart kökeni.

5.1.3. Besiyerleri

Sabouraud Dextrose Agar (SDA) Merck

Sabouraud Dextrose Broth (SDB) Merck

İnsan Serumu

5.1.4. Çözeltiler

Tiyobarbitürik asit (TBA) Çözeltisi: 0.25 N HCl ile hazırlanmıştır.

TBA	0.375g
-----	--------

TCA	15 ml
-----	-------

HCl	95 ml
-----	-------

0.1 g/ml	EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid)
----------	--

% 0.9	NaCl
-------	------

% 1	BaCl ₂ .2H ₂ O
% 1	H ₂ SO ₄
%1	O-dianisidine dihidroklorid
5 mM/L	EDTA
100 mM/L	Potasyum fosfat tamponu
20 mM	H ₂ O ₂
% 0.5	Hexadecylmetil amonyum bromid (HETAB)
%85	(H ₃ PO ₄) Fosforik asit
1mg/ml	BSA (Bovin serum albümin)

5.1.5. Boyalar

Metilen Mavisi (%0.01) (Sigma)

Tripan Mavisi (%0.5) (Sigma)

5.1.6. Antibiyotikler

- Vankomisin (Koçak Farma)
- Daptomisin (Novartis)
- Linezolid (Koçak Farma)
- Levofloksasin (Nobel İlaç)
- Fusidik asit (Koçak Farma)
- Meropenem (Koçak Farma)

5.1.7. Tamponlar

0,1 M PBS (Fosfat Tamponlu Tuzlu Su) (pH=7.2)

NaCl	8 g
KCl	0.2 g
Na ₂ HPO ₄	1.15 g
KH ₂ PO ₄	0.4 g
Distile su	1000 ml

HBSS(Hanks'ın dengeli tuz çözeltisi) (pH=7.4)

NaCl	8 g
KCl	0.4 g
Na ₂ HPO ₄	0.048 g
KH ₂ PO ₄	0.06 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.1 g
Glikoz	1 g
NaHCO ₃	0.35 g
Fenol kırmızısı	17 mg
Distile Su	1000 ml

5.1.8. Mc farland standart bulanıklık tüpleri

Standart bulanıklık elde etmek için laboratuvarımızda hazırlanan Mc Farland 1 standart tüpü esas alınmış olup; 0.1 ml %1 BaCl₂'e 9.9 ml H₂SO₄ ilave edilerek hazırlanmıştır (32).

5.1.9. Kimyasal maddeler

EDTA	(Sigma)
NaCl	(Merck)
KCl	(Merck)
Na ₂ HPO ₄	(Merck)
KH ₂ PO ₄	(Merck)
MgSO ₄ .7H ₂ O	(Merck)
NaHCO ₃	(Merck)
BaCl ₂	(Merck)
H ₂ SO ₄	(Merck)
H ₃ PO ₄	(Merck)
Glikoz	(Merck)
Tripan Mavisi	(Merck)

Metilen Mavisi	(Merck)
Fenol Kırmızısı	(Merck)
Ficoll-Hypaque	(Sigma)
Polymorphrep	(Axis Shield)
O-dianisidine dihidroklorid (%1)	(Sigma)
Kümen Hidroperoksit	(Sigma)
Trikoroasetik Asit (TCA)	(Merck)
Tiyobarbitürik Asit (TBA)	(Merck)

5.1.10. Kullanılan araç ve cihazlar

Santrifüj	(NF-815 Nüve)
Kaba Terazi	(Kern 0.1g)
Hassas Terazi	(0.0001 g Bosch)
Mikroskop	(Olympus CX21)
Spektrofotometre	UV -2100 S (Shimadzu)
ELİSA Mikroplak Okuyucu	Epoch/ Biotek
Homojenizatör	Bandelin
Karıştırıcı	(IKA)
Buzdolabı	(Arçelik AR 5034)
Derin Dondurucu	(Uğur)
Otoklav	(OT 4060 Nüve)
Etüv	(EN 500 Nüve)
Pastör Fırını	(Electro-mag)
Su Banyosu	(Nüve ST 402)
Otomatik Pipetler	(Scorex)
(5-50 µl, 50-200 µl, 200-1000 µl)	
Cam Pipetler	(Prescicolor)
(0.5, 1, 2, 5, 10 ml)	
Pastör Pipeti	(Marienfeld)
Thoma Lamı	(Labart)

Enjektörler (2.5, 5, 10, 20 ml)	(Becton Dickinson)
Steril Membran Filtre (0.22-0.45 µm)	(Milipore)
Silikon Kaplı Deney Tüpleri	(Venoject)
Petri Kutuları	(Anubra)
pH indikatörü (0-14)	(Merck)
pH Metre	(Heildolph)
Otomatik Pipet Uçları	(Isolab)

5.2. Yöntemler

Çalışmamızda Alexander ve ark. (48)' nın nötrofil fonksiyonlarını değerlendirme yöntemi modifiye edilerek uygulanmıştır. Modifiye edilmiş yöntemimizde; dekstran yerine ficoll-hypaque, *Staphylococcus aureus* yerine ise *Candida albicans* kullanılmıştır.

5.2.1. Antibiyotiklerin stok çözeltilerinin hazırlanması

Çalışmamızda kullanılan antibiyotiklerden vankomisin, linezolid, meropenem vefusidik asit Koçak Farma, daptomisin Novartis, levofloksasin Nobel İlaç firmalarından temin edilmiştir. Antibiyotiklerin terapötik konsantrasyonlarının ana stok çözeltileri aşağıdaki formüle göre hazırlanmıştır.

$$\text{Tartılacak antibiyotik miktarı (mg)} = \frac{\text{İstenilen konsantrasyon (µg/ml) x Çözücü hacmi (ml)}}{\text{Potens (µg/mg)}}$$

Vankomisin 40 µg/ml, daptomisinin 60 µg/ml, linezolid 19 µg/ml, levofloksasin 7 µg/ml, fusidik asit 36 µg/ml ve meropenem 24 µg/ml konsantrasyonlarında hazırlandıktan sonra steril endorflara dağıtılarak, deneyde kullanılacakları güne kadar – 20⁰C’de derin dondurucuda saklanmışlardır.

5.2.2. Polimorf nüveli lökositlerin elde edilmesi

Hemodiyaliz tedavisi gören hastalardan izin alınıp, hasta onay formu kendi istekleri ile imzalatıldıktan sonra; hastaların herbirinden alınan 20 ml venöz kan, içinde 0.1 g/ml EDTA bulunan silikon kaplı tüplere aktararak, 2500 rpm'de 30 dakika santrifüjde çevrilmiştir. İşlem sonrasında tüpün dibine çöken eritrositler ile tüpün üst kısmında bulunan plazma arasında sarımsı beyaz renkli bir tabaka (Buffy coat) oluşmaktadır. Bu tabaka steril pastör pipeti ile alınarak ve içinde 2.5 ml ficoll-hypaque ve 2.5 ml polymorphoprep bulunan tüpe konularak 3000 rpm'de 30 dakika santrifüj edilmiştir. İşlem sonunda tüpün dibine çöken eritrositler ile üstteki monosit tabakasının arasında kalan PNL'ler pastör pipeti ile temiz bir tüpe alınarak üzerine buz soğukluğundaki 3 ml PBS eklenmiş ve 2000 rpm'de 10 dakika santrifüjde çevrilerek 3 kez yıkanmıştır. Yıkama sonrası PNL'ler Ca^{++} ve Mg^{++} içermeyen HBSS ile 2×10^7 hücre/ml olacak şekilde süspansiyon haline getirilmiştir (45, 49).

5.2.3. Polimorf nüveli lökosit canlılık deneyi

Lökositlerin canlılık tayini için, % 0.9 fizyolojik tuzlu su (FTS) içinde hazırlanmış % 0.5 tripan mavisini kullanılmıştır. PNL süspansiyonu ile tripan mavisini 1:1 oranında karıştırılarak oda ısısında 5 dakika bekletilmiş ve bu süre sonunda, mikroskopta mavi boyanmayan (canlı) hücreler sayılmıştır (45, 49).

5.2.4. *Candida albicans* kökeninin hazırlanması

Candida albicans kökeninin SDA besiyerine pasajı yapılarak 24 saat $37^{\circ}C$ 'de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun sonunda üreyen maya kolonilerinden, SDB besiyerine tekrar pasaj yapılmış ve 24 saat $37^{\circ}C$ 'de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun sonunda, deneylere başlamadan 1 saat önce bu pasajda üreyen maya kültüründen SDB besiyerine tekrar pasaj yapılmış ve $37^{\circ}C$ 'de 1 saat inkübe edilmiştir. Sonraki aşamada 1 saatlik bu kültür, besiyeri bileşenlerinin maya hücrelerinden uzaklaştırılması için 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek 2 kez FTS ile yıkanmıştır. Son aşamada ise maya hücrelerinin canlılığı metilen mavisini (% 0.01)

boyama yöntemi ile saptanmış ve maya hücrelerinin sayısı HBSS içinde 1×10^7 maya/ml (Mc Farland 1 standart bulanıklık tüpüne göre) olacak şekilde sulandırılarak maya süspansiyonu hazırlanmıştır (45, 49).

5.2.5. *Candida albicans* opsonizasyonu

Mc Farland 1 standart bulanıklık tüpü esas alınarak hazırlanan *C. albicans* süspansiyonu steril bir tüp içinde, sağlıklı kişilerden elde edilen taze insan serumu ile 4/1 oranında karıştırılarak 37°C 'de 30 dakika opsonize edilmiştir (45, 49).

5.2.6. Vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin hemodiyaliz hastaları PNL'lerinin fagositoz ve hücre içi öldürme aktivitesi üzerine in vitro etkileri

Vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin hemodiyaliz hastaları PNL'lerinin fagositik ve hücre içi öldürme aktivitesi üzerine in vitro etkileri hemodiyaliz öncesi ve hemodiyaliz sonrası olmak üzere ayrı ayrı 14 seri tüpte araştırılmıştır.

1. Tüp

Kontrol (Antibiyotik içermeyen)	Hastaların PNL'leri (300µl) + HBSS (300µl) (1×10^7 hücre/ml)
------------------------------------	---

2. Tüp

Hastaların PNL'leri (300µl) + Vankomisin (300µl) (1×10^7 hücre/ml)	(40 µg/ml)
---	------------

3. Tüp

Hastaların PNL'leri (300µl) + Daptomisin (300µl) (1×10^7 hücre/ml)	(60 µg/ml)
---	------------

4. Tüp

Hastaların PNL'leri (300µl) + Linezolid (300µl) (1×10^7 hücre/ml)	(19 µg/ml)
--	------------

5.Tüp

Hastaların PNL'leri (300µl) + Levofloksasin (300µl)
(1×10^7 hücre/ml) (7 µg/ml)

6.Tüp

Hastaların PNL'leri (300µl) + Fusidik Asit (300µl)
(1×10^7 hücre/ml) (36 µg/ml)

7.Tüp

Hastaların PNL'leri (300µl) + Meropenem (300µl)
(1×10^7 hücre/ml) (24 µg/ml)

Hazırlanan seri tüpler 37°C 'de çalkalayıcı etüvde 30 dakika boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında deney tüplerinin herbirine opsonize maya süspansiyonundan (1×10^7 maya/ml) 400 µl ilave edilip, aynı ortamda 30 dakika daha inkübe edilmiştir. Herbir tüpteki son hücre yoğunluğu 5×10^6 PNL/ml ve 5×10^6 maya/ml olmuştur. İnkübasyonun 25.dakikasında herbir tüpe fagositik olan ve PNL'ler tarafından öldürülen mayaların boyanması için 1ml metilen mavisi (0.01) ilave edilmiştir. İnkübasyonun 30. dakikasının sonunda herbir tüpten lam lamel arası preparat hazırlanmış, 100 adet PNL içinde fagositik ve hücre içi öldürme aktivitesi gösteren PNL'ler mikroskop altında (x40 büyütme) sayılmıştır.

Fagositik aktivite tayininde 100 adet PNL içinde canlı (boyalı olmayan) maya hücrelerini fagositik etmiş olan PNL'ler sayılmış, hücre içi öldürme aktivitesi tayininde ise 100 adet PNL içinde, PNL'ler tarafından öldürülen (mavi boyanmış) maya hücrelerini içeren PNL'ler sayılarak sonuçlar % cinsinden ifade edilmiştir (45, 49).

5.2.7. Vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin oksidatif stres, antioksidan ve oksidan enzimler üzerine in vitro etkileri

5.2.7.1. Polimorf nüveli lökosit homojenatının hazırlanması

5.2.6.'da anlatıldığı gibi ayrıca bir seri 14 adet tüp protein, MDA düzeyi, GSH-Px ve MPO aktivitelerinin tayini için ayrılmıştır. Hazırlanan seri tüpler, çalkalayıcı etüvde 30 dak. inkübe edilmiştir. İnkübasyonun sonunda her bir tüpteki PNL + antibiyotik karışımı, steril ependorf tüplere aktarılmış ve 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra antibiyotiklerin, PNL'lerden uzaklaştırılması için ependorf tüpler FTS ile 2 kez 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek yıkanmıştır. Alt kısımda çöken lökositler ultrasonik homojenizatörde 15 sn sürede % 70 amplitüd ile patlatılmıştır. Elde edilen süspansiyon protein, MDA düzeyi, GSH-Px ve MPO aktivitelerinin tayininde kullanılmıştır.

5.2.7.2. Hemodiyaliz hastalarının PNL'lerinde protein tayini

PNL homojenatlarından protein tayini Bradford (50) yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Bu yöntemin prensibi Commasie Brilliant Blue G250 boyasının farklı konsantrasyonlarındaki protein çözeltilerinden değişik şiddette mavi renk ortaya çıkarmasıdır. Boyanın özellikle arjinin gibi bazik aminoasitlere ve bazı aromatik aminoasitlere bağlanma eğiliminde olduğu gösterilmiştir. Örneklerin absorbansı asidik boyanın proteine bağlanmasıyla 595 nm'de okunmuştur.

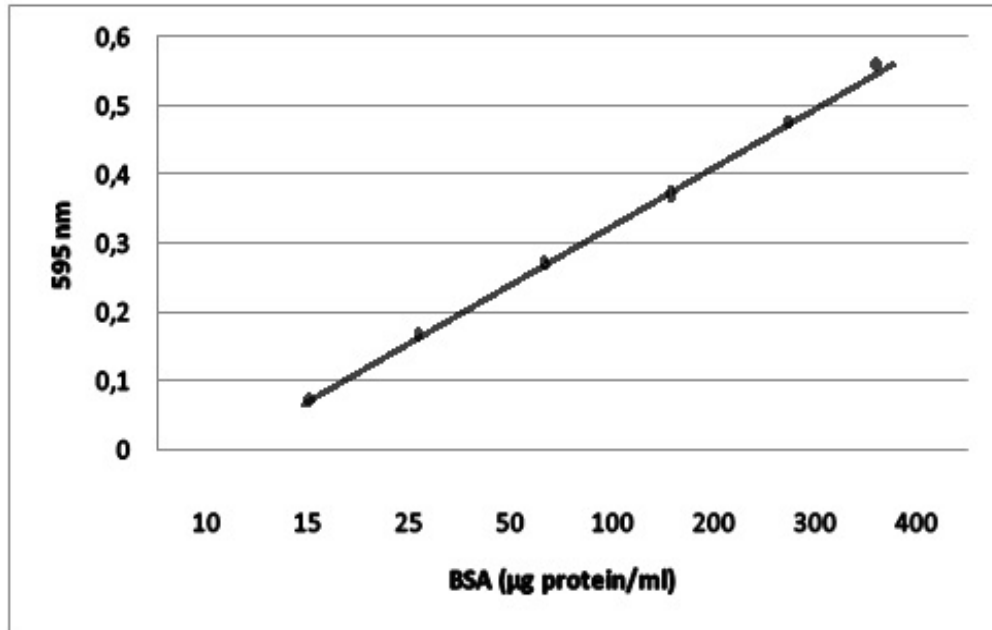
Çözeltilerin hazırlanması:

- Stok çözeltisi hazırlanması: 100 mg Commasie Brilliant Blue G250 boyası tartılarak 150 ml etanol-fosforik asit karışımında çözüldükten sonra hacim 1 litreye distile su ile tamamlanmıştır.
- Reaktif: 15 ml stok solüsyon üzerine distile su konularak son hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır.

- Standart: 10 mg sığır serum albumin (BSA), 10 ml distile suda çözülerek 1mg/ml'lik stok standart hazırlanmış, daha sonra bu stoktan 10-400 µg/ml arasında standartlar hazırlanmıştır.

Tablo 1: PNL'lerde Protein Tayini

	Kör	Örnek	Standart
Distile Su	50 µl	25 µl	-
Örnek	-	25 µl	-
Standart	-	-	50 µl
Reaktif	2.5 ml	2.5 ml	2.5 ml



Grafik 1: Bovin Serum Albümin Standart Grafiği

Tüm örnekler, oda sıcaklığında bekletildikten sonra 595 nm'de absorbans okunmuştur.

5.2.7.3. Hemodiyaliz hastalarının PNL'lerinde malondialdehit (MDA) düzeylerinin ölçümü

Hemodiyaliz hastalarının hem kontrol (antibiyotik içermeyen) hem de antibiyotik (vankomisin, daptomisin, levofloksasin, linezolid, fusidik asit, meropenem) ile muamele edilmiş HD öncesi ve HD sonrası PNL homojenatlarında MDA düzeyleri Buege yöntemine (51) göre yapılmıştır. Bu yöntem, lipid peroksidasyonu yıkım ürünlerinin asidik ortamda tiyobarbitürik asitle (TBA) ısıtılması sonucu oluşan pembe renkli kompleksin 532 nm dalga boyunda verdiği absorbansın spektrofotometrik olarak ölçülmesi prensibine dayanmaktadır.

Çözeltilerin Hazırlanması:

- TBA çözeltisi: %0.375 g TBA ve %15' lik TCA içeren çözelti, 0.25 N HCl ile hazırlanmıştır.
- Standartın hazırlanması: Standart olarak TEP (1,1,3,3 tetraetoksipropan) kullanılmıştır. TEP (25 µl) alınarak 50 ml distile suda çözülmüştür. Çözelti üzerine 0.1 mL 1N HCl ilave edilerek hacmi 100 ml'ye distile su ile tamamlanmıştır. Bu hazırlanan stok standart solüsyonu +4°C'de buzdolabında saklanmıştır. Stoktan çeşitli oranlarda seyreltmeler yapılarak 1-10 nmol/ml standartlar hazırlanmıştır.

Tablo 2: PNL'lerde MDA Tayini

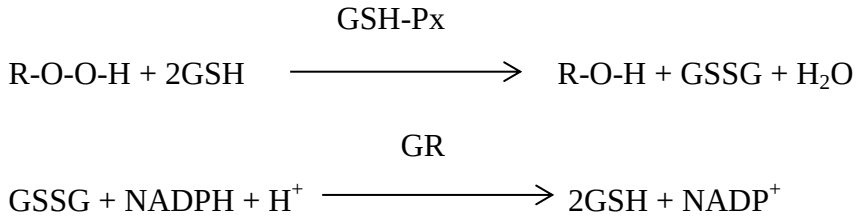
	Kör	Örnek	Standart
Distile Su	0.5 ml	-	-
Standart	-	-	0.5 ml
PNL Homojenatı	-	0.5 ml	-
TBA çözeltisi	1 ml	1 ml	1 ml

Hazırlanan tüpler 100 °C'de su banyosunda 15 dakika bekletilmiştir. Tüpler soğutulduktan sonra 3000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Pembe renkli üst faz alınarak oluşan rengin absorbansı 532 nm dalga boyunda okunmuştur. Örneklerin

lipid peroksidasyon düzeyleri $1.56 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ekstinksiyon katsayısı kullanılarak hesaplanmış ve MDA eşdeğer olarak nmol/ mg protein şeklinde ifade edilmiştir (51).

5.2.7.4. Hemodiyaliz hastalarının PNL'lerinde glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesinin ölçümü

Hemodiyaliz hastalarının hem kontrol (antibiyotik içermeyen) PNL homojenatı hem de antibiyotik (vankomisin, daptomisin, levofloksasin, linezolid, fusidik asit, meropenem) ile muamele edilmiş hemodiyaliz öncesi ve hemodiyaliz sonrası PNL homojenatlarının GSH-Px tayini, Cayman'ın GSH-Px kiti kullanılarak yapılmıştır. Bu kit GSH-Px aktivitesini glutatyon redüktaz ile çiftleşmiş reaksiyon ile yapmaktadır. GSH-Px'in hidropersit tarafından redüksiyonu üzerine üretilen okside glutatyon, GR (glutatyon redüktaz) ve NADPH tarafından geri dönüşümlü olarak tekrar indirgenmiş glutatyon haline dönüştürülür. Bu reaksiyonun absorbansı 340 nm'de mikropalak okuyucusu kullanılarak ölçülmüştür (52).



Çözeltilerin Hazırlanması:

- Analiz Tamponu: 50mM Tris-HCl (Tris: hidroksimetil aminometan hidroklorid) ve 5mM EDTA içeren analiz tamponu stok çözeltisinden (pH 7.6) 2 ml alınmış üzerine 18 ml distile su konulmuş ve 4°C 'de saklanmıştır.
- Örnek Tamponu: 50mM Tris-HCl, 5mM EDTA, 1mg/ml BSA içeren örnek tamponu stok çözeltisinden (pH 7.6) 2 ml alınarak 18 ml bidistile su eklenerek hazırlanan karışım 4°C 'de saklanmıştır.
- GSH-Px Kontrol: 10 µl enzim stok çözeltisi üzerine 490 µl örnek tamponu eklenerek karışım hazırlanmış ve buz içerisinde saklanmıştır.

- Co-Substrat Karışımı: İçerisinde NADPH, glutatyon, glutatyon redüktaz bulunan hazır stok üzerine 2 ml bidistile su eklenerek karışım hazırlanmış ve 25⁰C'de saklanmıştır.
- Kümen Hidroperoksit Çözeltisi: Kitin içerisinde hazır olarak bulunan çözelti oda ısısında çözüldükten sonra kullanılmıştır.

PNL'lerde GSH-Px tayini tablo 4 'te görüldüğü gibi yapılmıştır

Tablo 3 : PNL'lerde GSH-Px tayini

	Kör	Pozitif kontrol	Örnek
Ölçüm tamponu	120µl	100µl	100µl
Co-substrat	50µl	50µl	50µl
Pozitif GSH-Px Kontrol	-	20µl	-
Örnek	-	-	20µl
Kümen hidroperoksit	120µl	120µl	120µl

Tüm örneklerin mikrolaka kuyucuklarına konma işlemi buzun üzerinde yapılmıştır. Kuyucuklara son olarak hızlı bir şekilde kümen hidroperoksit konulmuş ve absorbanslar 5 dakika içerisinde her dakikada bir (1. , 2. , 3. , 4. , 5.) olmak üzere 340 nm'de mikrolaka okuyucusunda okunmuştur.

Sonuçlar aşağıdaki formüllere uygun şekilde hesaplanmıştır.

$$\Delta A_{340}/\text{dak} = \frac{A_{340}(\text{Zaman 2}) - A_{340}(\text{Zaman 1})}{\text{Zaman 2 (dak)} - \text{Zaman 1 (dak)}}$$

$$\text{GSH-Px Aktivite} = \frac{\Delta A_{340}/\text{dak}}{0,00373 \mu\text{M}^{-1}} \times \frac{0,19 \text{ ml}}{0,02 \text{ ml}} \times \text{Örnek dilüsyonu} = \text{nmol/dak/ml}$$

Sonuçlar örneklerin protein miktarına bölünerek nmol/mg protein olarak ifade edilmiştir.

5.2.7.5. Hemodiyaliz hastalarının PNL’lerinde miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesinin ölçümü

Hemodiyaliz hastalarının hem kontrol (antibiyotik içermeyen) hem de antibiyotik (vankomisin, daptomisin, levofloksasin, linezolid, fusidik asit, meropenem) ile muamele edilmiş HD öncesi ve HD sonrası PNL homojenatlarının MPO miktarı o-dianisidin yöntemi (53) ile ölçülmüştür.

Çözeltiler:

- 50 mM/L $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{NaHPO}_4$ tamponu (pH=6)
- O-dianisidin dihidroklorid (%1)
- 5 mM/L EDTA
- 100 mM/L sodyum fosfat tamponu
- 20 mM H_2O_2
- % 0.5 heksadesil trimetil amonyum bromid (HETAB)

Deneyin yapılışı:

Deney tüpü içindeki 100 μl PNL homojenatı üzerine, 100 μl HETAB çözeltisi konulduktan sonra vortekslenmiş ve 3 kez dondurma çözdürme işlemi yapılmıştır. Süspansiyon 4°C ’de soğutmalı santrifüjde 4000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiş ve tablo 4’te görüldüğü gibi deney yapılmıştır.

Tablo 4: PNL’lerde MPO Tayini

	Kör	Örnek
Örnek	-	30 μl
Fosfat tamponu	230 μl	200 μl
Hidrojen Peroksit	20 μl	20 μl
O-dianisidin dihidroklorür	20 μl	20 μl

Etüvde 37°C ’de 3 dakika inkübe edilmiş ve 460 nm’de mikropilaya okuyucusunda absorbans değişimleri gözlenmiştir. Sonuçlar okside o-dianisidin ekstinksiyon katsayısı ($1.13 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplanmış ve $\mu\text{mol/mg}$ protein olarak ifade edilmiştir.

6. BULGULAR

6.1. Polimorf Nüveli Lökosit Canlılık Deneyi

Hemodiyaliz hastalarının kanlarından izole edilen PNL'lerin canlılığı Tripan mavisi (%0.5) ile yapılan inceleme sonunda >%98 olarak bulunmuştur (Resim 1).



Resim 1:Hemodiyaliz Hastalarının PNL'leri (x40 büyütme)

6.2. Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin Hemodiyaliz Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL'lerinin Fagositik Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri

Vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL'lerinin fagositik aktivitesi üzerine in vitro etkileri Resim 2, Tablo 5, Grafik 2'de gösterilmiştir (n=12).



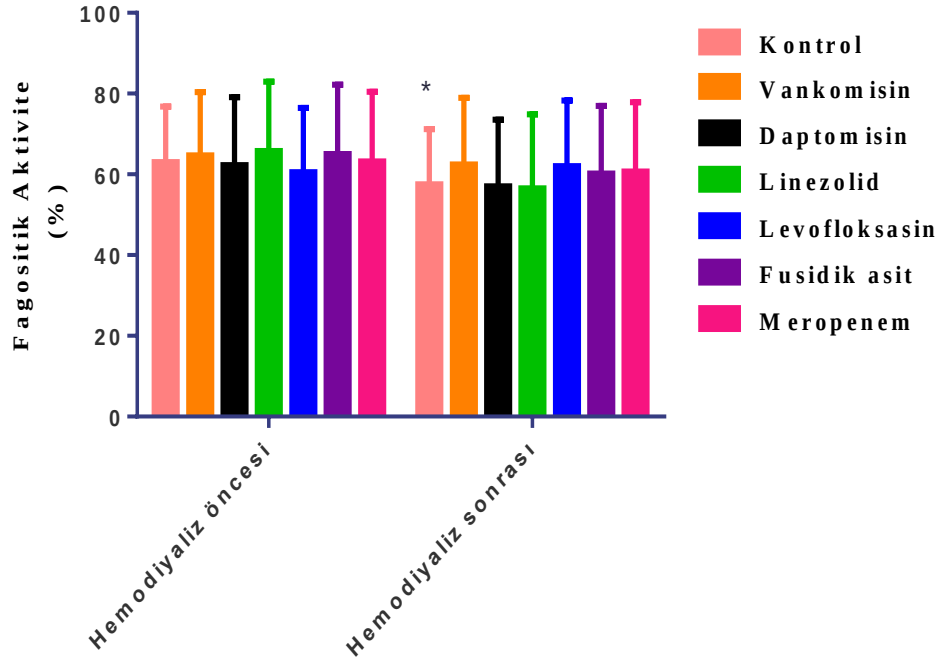
Resim 2: Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenem HD Hastalarının PNL'lerinin Fagositik Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri (x40 büyütme; PNL içinde fagosit olmuştur *Candida albicans* hücresi).

Tablo 5: Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin HD Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL'lerinin Fagositik Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri (n=12).

Antibiyotik	Fagositik Aktivite (%)	
	Hemodiyaliz Öncesi (n=12)	Hemodiyaliz sonrası (n=12)
Kontrol (Antibiyotik İçermeyen)	63.00 ± 13.81	57.58± 13.65*
Vankomisin (40 µg/ml)	64.67±15.74	62.42±16.56
Daptomisin (60 µg/ml)	62.33±16.76	57.08±16.45
Linezolid (19 µg/ml)	65.83±17.12	56.50±18.40
Levofloksasin (7 µg/ml)	60.50±15.99	62.00±16.32
Fusidik asit (36 µg/ml)	65.00±17.19	60.17±16.82
Meropenem (24 µg/ml)	63.17±17.25	60.67±17.21

* p<0.05

Değerler aritmetik ortalama ± SH olarak ve HD öncesi ve HD sonrası 12 deney ortalaması alınarak verilmiştir. Paired t test (Eşlenmiş örnekler için t-testi) ve Unpaired t testi uygulanmıştır.



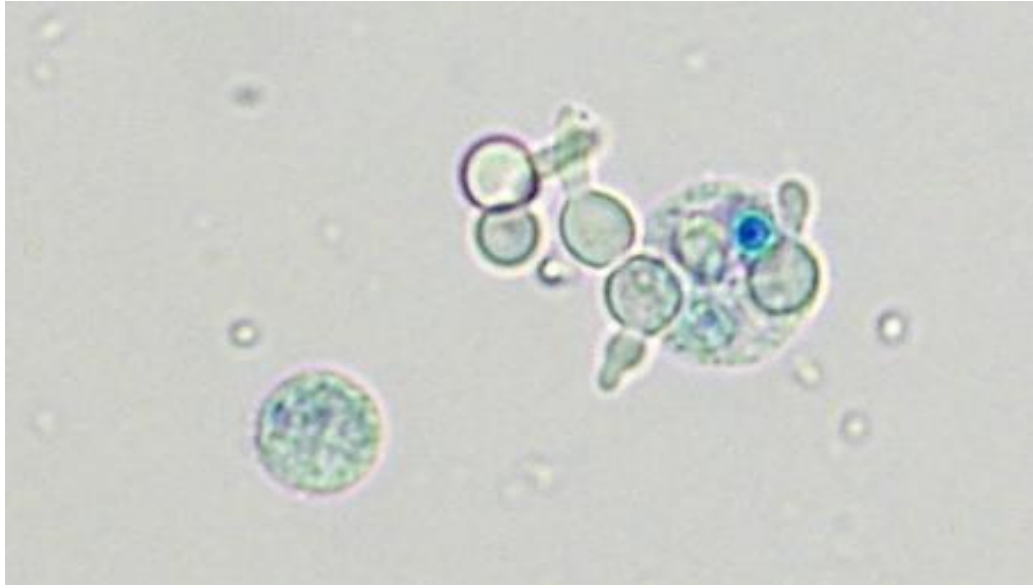
Grafik 2: Vankomisin, Daptomisin, Levofloksasin, Linezolid, Fusidik Asit ve Meropenemin HD Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL’lerinin Fagositik Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri.

Antibiyotik içermeyen kontrol deneyde, HD hastalarının HD sonrası PNL’lerinin fagositik aktivitesi, HD öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma göstermiştir ($p<0.05$).

Tablo 5 ve grafik 2’de görüldüğü gibi kontrol ile karşılaştırıldığında; terapötik konsantrasyonlarda vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL’lerinin fagositik aktivitesini etkilemediği saptanmıştır ($p>0.05$).

6.3. Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin Hemodiyaliz Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL'lerinin Hücre İçi Öldürme Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri

Vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL'lerinin hücre içi öldürme aktivitesi üzerine in vitro etkileri resim 3, tablo 6, grafik 3'te gösterilmiştir.



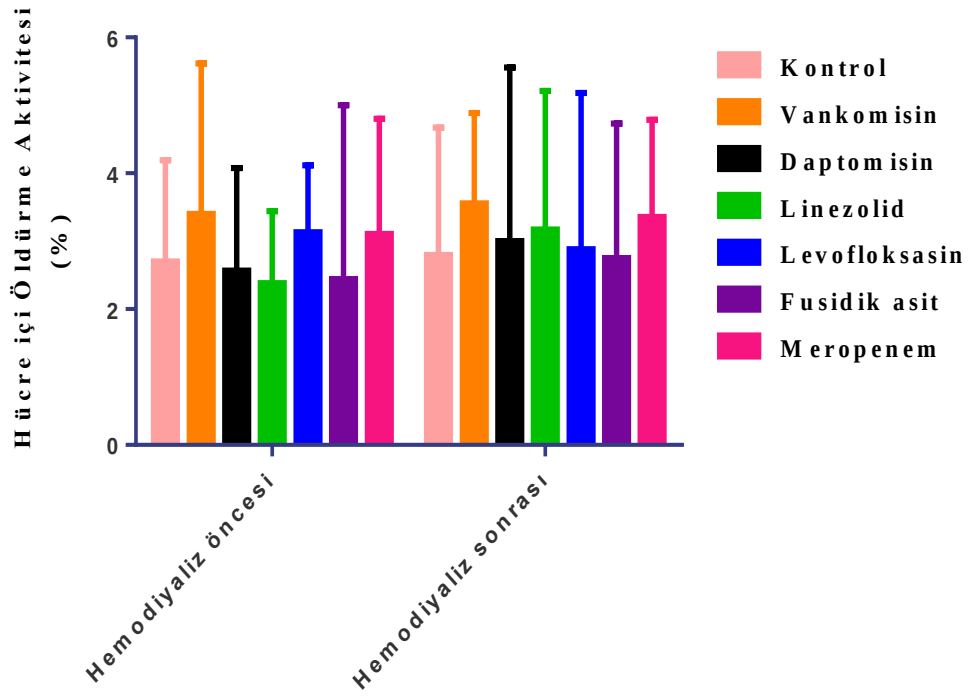
Resim 3: Vankomisin, Daptomisin, Levofloksasin, Linezolid, Fusidik Asit ve Meropenemin HD Hastalarının PNL'lerinin Hücre İçi Öldürme Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri (x40 büyütme) (PNL içinde ölmüş olan *Candida albicans* hücresi metilen mavisi ile maviye boyanmış).

Tablo 6: Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin HD Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL'lerinin Hücre İçi Öldürme Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri (n=12).

Antibiyotik	Hücre İçi Öldürme Aktivitesi (%)	
	Hemodiyaliz Öncesi* (n=12)	Hemodiyaliz sonrası* (n=12)
Kontrol (Antibiyotik içermeyen)	2.70 ± 1.49	2.80 ± 1.87
Vankomisin (40 µg/ml)	3.40 ± 2.22	3.56 ± 1.33
Daptomisin (60 µg/ml)	2.57 ± 1.51	3.00 ± 2.56
Linezolid (19 µg/ml)	2.38 ± 1.06	3.17 ± 2.04
Levofloksasin (7 µg/ml)	3.13 ± 0.99	2.88 ± 2.30
Fusidik asit (36 µg/ml)	2.44 ± 2.56	2.75 ± 1.98
Meropenem (24 µg/ml)	3.11 ± 1.69	3.36 ± 1.43

*p>0.05

Değerler aritmetik ortalama ± SH olarak ve HD öncesi ve HD sonrası 12 deney ortalaması alınarak verilmiştir. Paired t test (Eşlenmiş örnekler için t-testi) ve Unpaired t testi uygulanmıştır.



Grafik 3: Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin HD Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL’lerinin Hücre İçi Öldürme Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri.

Tablo 6 ve grafik 3’te görüldüğü gibi kontrol ile karşılaştırıldığında; terapötik konsantrasyonlarda vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL’lerinin hücre içi öldürme aktivitesini etkilemediği saptanmıştır ($p>0.05$).

6.4. Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin Hemodiyaliz Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL'lerinin MDA Düzeyi Üzerine İn Vitro Etkileri

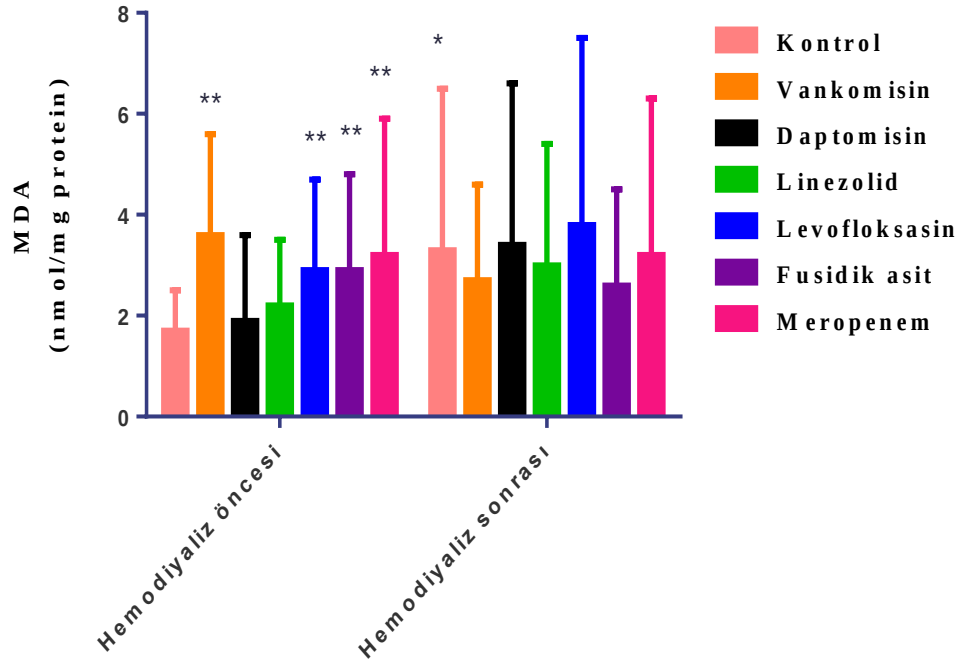
Vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL'lerinin MDA düzeyi üzerine in vitro etkileri tablo 7, grafik 4'te gösterilmiştir.

Tablo 7: Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin HD Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL'lerinin MDA Düzeyi Üzerine İn Vitro Etkileri (n=12).

Antibiyotik	MDA (nmol/mg protein)	
	Hemodiyaliz Öncesi (n=12)	Hemodiyaliz sonrası (n=12)
Kontrol (Antibiyotik içermeyen)	1.7 ± 0.8	3.3 ± 3.2*
Vankomisin (40 µg/ml)	3.6 ± 2**	2.7 ± 1.9
Daptomisin (60 µg/ml)	2.9 ± 2.7	3.4 ± 3.2
Linezolid (19 µg/ml)	2.2 ± 1.3	3.0 ± 2.4
Levofloksasin (7 µg/ml)	2.9 ± 1.8**	3.8 ± 3.7
Fusidik asit (36 µg/ml)	2.9 ± 1.9**	2.6 ± 1.9
Meropenem (24 µg/ml)	3.2 ± 2.7**	3.2 ± 3.1

*p=0.097, ** p<0.05

Değerler aritmetik ortalama ± SH olarak ve HD öncesi ve HD sonrası 12 deney ortalaması alınarak verilmiştir. Paired t test (Eşlenmiş örnekler için t-testi) ve Independent Samples t-testi (Bağımsız grupların ortalama karşılaştırılması: t-test) uygulanmıştır.



Grafik 4: Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin HD Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL’lerinin MDA Düzeyi Üzerine İn Vitro Etkileri.

Antibiyotik içermeyen kontrol deneyde; HD hastalarının HD sonrası PNL’nin MDA düzeyi HD öncesine göre artmış ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.097$).

Tablo 7 ve grafik 4’te görüldüğü gibi kontrol ile karşılaştırıldığında; terapötik konsantrasyonlarda vankomisin, levofloksasin, fusidik asit ve meropenem HD hastalarının HD öncesi PNL’lerinin MDA düzeyini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artırmıştır ($p<0.05$). Daptomisin ve linezolidin ise HD hastalarının HD öncesi PNL’lerinin MDA düzeyini etkilemediği saptanmıştır ($p>0.05$). Vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin HD hastalarının HD sonrası PNL’lerinin MDA düzeyini ise etkilemediği bulunmuştur ($p>0.05$).

Bu sonuçlara göre; terapötik konsantrasyonlarda vankomisin, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin HD hastalarının HD öncesi PNL’lerinin artmış olan MDA düzeyini HD sonrası azalttığı saptanmıştır.

6.5. Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenem'in Hemodiyaliz Hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL'lerinin GSH-Px Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri.

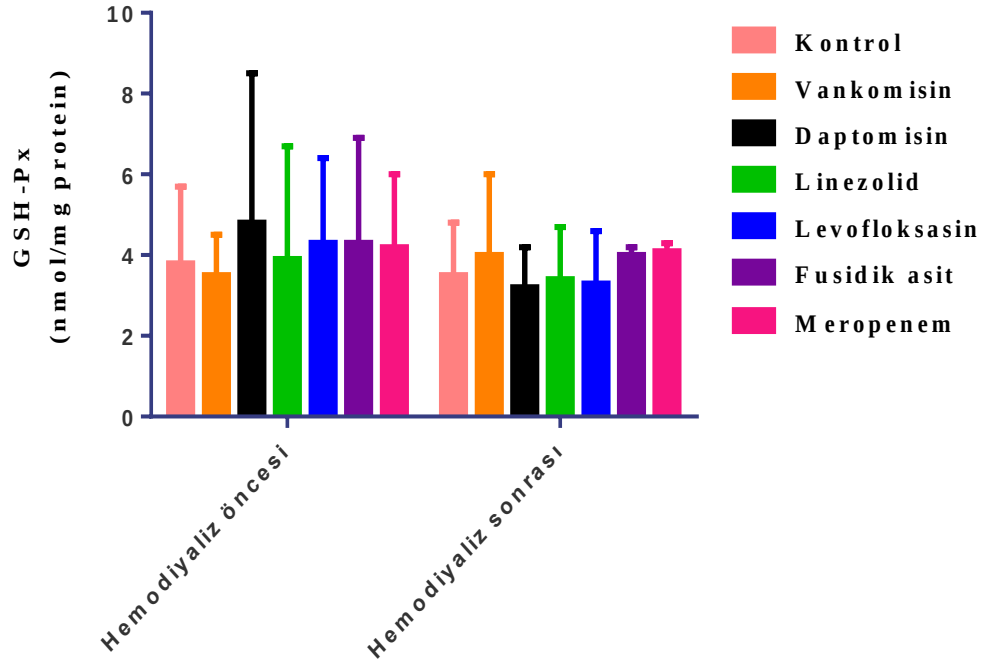
Vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenem'in HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL'lerinin GSH-Px aktivitesi üzerine in vitro etkisi tablo 8, grafik 5'te gösterilmiştir.

Tablo 8: Vankomisin, Daptomisin, Levofloksasin, Linezolid, Fusidik Asit ve Meropenem HD Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL'lerinin GSH-Px Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri (n=12).

Antibiyotik	GSH-Px (nmol/mg protein)	
	Hemodiyaliz Öncesi*	Hemodiyaliz sonrası*
	(n=12)	(n=12)
Kontrol (Antibiyotik içermeyen)	3.8 ± 1.9	3.5 ± 1.3
Vankomisin (40 µg/ml)	3.5 ± 1	4.0 ± 2.0
Daptomisin (60 µg/ml)	4.8 ± 3.7	3.2 ± 1
Linezolid (19 µg/ml)	3.9 ± 2.8	3.4 ± 1.3
Levofloksasin (7 µg/ml)	4.3 ± 2.1	3.3 ± 1.3
Fusidik asit (36 µg/ml)	4.3 ± 3.6	4.0 ± 0.2
Meropenem (24 µg/ml)	4.2 ± 2.8	4.1 ± 0.2

*p>0.05

Değerler aritmetik ortalama ± SH olarak ve HD öncesi ve HD sonrası 12 deney ortalaması alınarak verilmiştir. Paired t test (Eşlenmiş örnekler için t-testi) ve Independent Samples t-testi (Bağımsız grupların ortalama karşılaştırılması:t-test) uygulanmıştır.



Grafik 5: Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin HD Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL'lerinin GSH-Px Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri.

Tablo 8 ve grafik 5'te görüldüğü gibi hemodiyaliz hastalarının HD sonrası PNL'lerinin GSH-Px aktivitesi kontrol ile karşılaştırıldığında; vankomisin hariç, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin HD öncesine göre GSH-Px aktivitesini azalttığı saptanmış ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Bu sonuçlara göre; terapötik konsantrasyonlarda vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL'lerinin GSH-Px aktivitesini etkilemediği saptanmıştır ($p>0.05$).

6.6. Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin Hemodiyaliz Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL'lerinin MPO Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri.

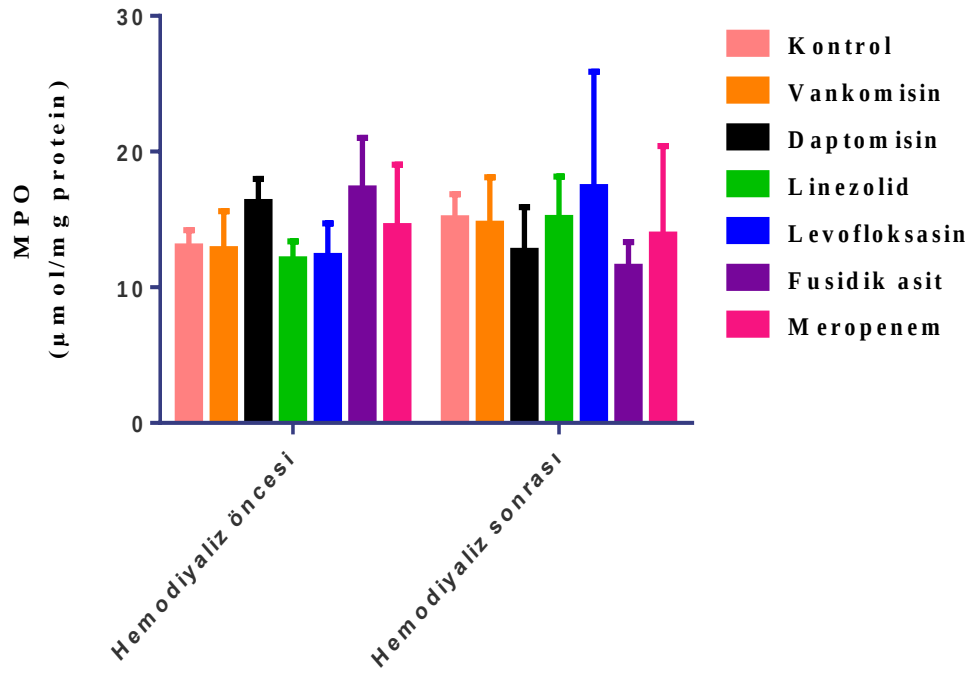
Vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL'lerinin MPO aktivitesi üzerine in vitro etkisi tablo 9, grafik 6'da gösterilmiştir.

Tablo 9:Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin HD Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL'lerinin MPO Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri (n=12).

Antibiyotik	MPO ($\mu\text{mol/mg protein}$)	
	Hemodiyaliz Öncesi* (n=12)	Hemodiyaliz sonrası* (n=12)
Kontrol (Antibiyotik içermeyen)	13.01 $\pm$ 1.2	15.09 $\pm$ 1.76
Vankomisin (40 $\mu\text{g/ml}$)	12.8 $\pm$ 2.82	14.7 $\pm$ 3.41
Daptomisin (60 $\mu\text{g/ml}$)	16.3 $\pm$ 1.69	12.7 $\pm$ 3.21
Linezolid (19 $\mu\text{g/ml}$)	12.06 $\pm$ 1.33	15.1 $\pm$ 3.06
Levofloksasin (7 $\mu\text{g/ml}$)	12.3 $\pm$ 2.41	17.4 $\pm$ 8.49
Fusidik asit (36 $\mu\text{g/ml}$)	17.3 $\pm$ 3.72	11.5 $\pm$ 1.83
Meropenem (24 $\mu\text{g/ml}$)	14.5 $\pm$ 4.54	13.9 $\pm$ 6.52

*p>0.05

Değerler aritmetik ortalama $\pm$ SH olarak ve HD öncesi ve HD sonrası 12 deney ortalaması alınarak verilmiştir. Paired t test (Eşlenmiş örnekler için t-testi) ve Independent Samples t-testi (Bağımsız grupların ortalama karşılaştırılması:t-test) uygulanmıştır.



Grafik 6: Vankomisin, Daptomisin, Linezolid, Levofloksasin, Fusidik Asit ve Meropenemin HD Hastalarının HD Öncesi ve HD Sonrası PNL’lerinin MPO Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkileri.

Hemodiyaliz hastalarının HD öncesi PNL’lerinin MPO aktivitesi kontrol ile karşılaştırıldığında; linezolidin MPO aktivitesini azalttığı, vankomisin, daptomisin, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin ise MPO aktivitesini artırdığı saptanmış ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Hemodiyaliz hastalarının HD sonrası PNL’lerinin MPO aktivitesi kontrol ile karşılaştırıldığında; fusidik asidin HD öncesine göre MPO aktivitesini azalttığı, vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin ve meropenemin ise MPO aktivitesini artırdığı saptanmış ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Bu sonuçlara göre; terapötik konsantrasyonlarda vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL’lerinin MPO aktivitesini etkilemediği saptanmıştır ($p>0.05$).

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Kronik böbrek yetmezliği (KBY); glomerüler filtrasyon değerinin azalmasına bağlı olarak, böbreğin temel fonksiyonlarının bozulması şeklinde kendini gösterir. KBY kronik ve ilerleyici bir hastalık olarak tanımlanır. Başlangıçta ilaç ve diyet hastalığın tedavisinde yeterli olurken; ileri safhalarda diyaliz ve transplantasyona gerek duyulmaktadır (41, 40).

Hemodiyaliz (HD) hastalarında infeksiyonlar; konağın immün sistemi, bakteriyel virülans ve diyaliz prosedürü gibi faktörlere bağlı olarak gelişmektedir. Bakteriyel etkenler eksojen veya endojen yollarla infeksiyona yol açar. Hemodiyaliz hastalarında bakteriyeminin en sık nedeni vasküler girişimlerdir. Biyofilm oluşumu, antimikrobiyal direnç, virülan faktörler gibi patojene ait faktörler; HD sıvılarının kontaminasyonu, diyalizerlerin tekrar kullanımı gibi hemodiyalizle ilişkili faktörler; kateter lokalizasyonu ve aseptik koşullara uyulmaması gibi katetere ilişkin faktörler; bozulmuş immünite, kötü kişisel hijyen ve *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığı gibi konakçı faktörleri kateter ilişkili bakteriyemi patogenezinde rol oynamaktadır (54). Koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) tarafından üretilen bir polisakkarit, kateterlerin ve diğer yabancı cisimlerin kolonize olmasını kolaylaştırır. Olguların 2/3'ünde gram pozitif bakteriler (*Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*) bakteriyemi etkenleri olarak bulunmaktadır. Gram negatif bakteriler (*Acinetobacter spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Serratia spp.*) hemodiyaliz için kullanılan kaynaklarda bulunur (3).

Tüm diyaliz hastalarına ampirik antibiyotik tedavisi uygulanmaktadır. Seçilecek antibiyotiklerin gram pozitif ve gram negatif bakterilere etkili olmaları gerekmektedir. Etkenlerin 2/3'ü gram pozitif bakteriler olduğundan kateter ilişkili bakteriyemi durumunda ampirik tedavide glikopeptid antibiyotikler (vankomisin veya teikoplanin) kullanılmaktadır (54).

Hemodiyaliz hastaları antibiyotiklere dirençli suşların bulaşması açısından risk altındadırlar. Bu hastaların sık hastaneye yatmaları, özellikle uzun süreli antibiyotik kullanımı ve cerrahi girişimler bunun nedeni olmaktadır. HD hastalarında sık

vankomisin kullanılması nedeniyle diyaliz hastaları vankomisine dirençli enterokok (VRE) yönünden artmış risk altındadır ve VRE epidemileri gözlenmektedir (54).

Antimikrobiyal direnç küresel bir tıbbi sorundur, en çok karşımıza çıkan dirençli bakteriyel patojenler; metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA), vankomisin dirençli enterokoklar (VRE), geniş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri, karbapenemaz dirençli *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii*'dir. Metisilin direnci *S. aureus* izolatları arasında artmaya devam etmektedir. MRSA suşları arasında vankomisine duyarlılığın azalmasının glikopeptid tedavi başarısızlığı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Daptomisin ve linezolid gibi yeni antimikrobiyal ajanlar, dirençli bu organizmaların neden olduğu komplike enfeksiyonların tedavisi için tarif edilmiştir. Tedavi seçenekleri oldukça sınırlıdır vebazı durumlar dışında, neredeyse hiç kullanılmamaktadır. *S. aureus* insanlarda enfeksiyona neden olan, virülansı yüksek bir patojendir. Bu yüzden stafilokokal enfeksiyonların önlenmesi büyük önem taşımaktadır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda kronik hemodiyaliz tedavisi alan bazı hasta gruplarında burun taşıyıcılık oranlarının yüksek olduğu bildirilmiştir. *S.aureus* taşıyıcısı olan hemodiyaliz hastaları, taşıyıcı olmayanlarla karşılaştırıldığında daha yüksek oranlarda bakteriyemi görüldüğü bildirilmiştir. Enterokoklar, bugün nozokomiyal üriner sistem ve cerrahi alan enfeksiyonlarında en sık izole edilen ikinci patojen, bakteriyemide de en yaygın görülen üçüncü patojen olarak karşımıza çıkmaktadır (55).

Diyaliz hastanın immün sistemini bozmakta ve hastanın enfeksiyonlara karşı duyarlılığını artırmaktadır. Enfeksiyonlar ve böbrek yetmezliği hücrel ve humoral yanıtta belirgin değişikliklere, lenfosit ve granülosit fonksiyonlarında bozulmalara neden olmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar HD hastalarında farklı türde immün fonksiyon bozuklukları oluştuğunu göstermektedir (47).

Hemodiyaliz hastaları baskılanmış bir immün sisteme sahiptir. Dolayısıyla bu hasta grubunun kullanacağı antibiyotiklerin immün sisteme olumsuz bir etki göstermemesi istenmektedir.

Antibiyotikler nötrofil fonksiyonlarını direkt veya indirekt olarak etkileyerek fagosit fonksiyonlarını arttırır veya azaltırlar. Antibiyotiklerin immünomodülatör

etkileri onların antioksidan etkilerine dayanır (33, 56). İmmün sisteme inhibitör etki yapabilen antibiyotikler, bu özellikleri nedeniyle immün sistemi baskılanmış hastalarda, güçsüz immün sistemlerin tamamen baskılanmasına neden olabilirler. Antibiyotiklerin optimal terapötik etkilerinin, konağın bağışıklık sistemi sağlıklı iken ortaya çıktığını immün sistemi baskılanmış olgularda bazı antibiyotiklerin işlevlerinin yerine getiremediklerini kanıtlayan çalışmalar yapılmıştır (57).

Birçok farmakolojik ajan nötrofillerden granüler enzim salınımını inhibe eder. Prostaglandin E, teofilin, dibütiril siklik adenosin monofosfat, 2-kloroadenosin, izoprotorenol ve adrenalin gibi bileşiklerin hücre içi adenosin-3'-5'-monofosfat seviyesini artırarak bu inhibisyonu yaptıkları ileri sürülmüştür. Yine aynı şekilde tetrasiklin, fenilbutazon, thioridazin, klorokin, kolşisin, sitokalsin-B, vinblastin ve kortikostreoidlerin fagositoz olayını inhibe ettikleri bildirilmiştir (58, 59).

Literatürlerde daptomisin dışında, vankomisin linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin HD hastalarının polimorf nüveli lökosit (PNL) fonksiyonları üzerine in vitro etkileri ile ilgili az sayıda çalışmaya rastladık.

Mehes ve ark. (60), düşük konsantrasyonlardaki vankomisinin (0, 0.5, 1.0, 2.0, 2.5, 4 ve 8 mg/l) HD'li hasta PNL'lerinin *S. aureus* suşlarına karşı fagositik ve hücre içi öldürme aktivitesini etkilemediğini bulmuşlardır.

Moran ve ark. (61), vankomisin (1-50 µg/ml) ve teikoplaninin (10-50 µg/ml) insan PNL'leri üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında; her iki antibiyotikğin fagositik ve hücre içi öldürme aktivitesi üzerine etkili olduğunu ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığını göstermişlerdir ($p < 0,019$).

Pedrer ve ark. (62), terapötik konsantrasyonlardaki (10, 25, 50, 75 ve 100 µg/ml) vankomisin ve teikoplaninin insan nötrofillerinin hücre içi öldürme aktivitesini artırdığını saptamışlardır.

Literatürlerde daptomisinin PNL fonksiyonları üzerine etkisini inceleyen çalışmalara rastlanmamıştır. Çalışmamızda tedavi seçenekleri oldukça sınırlı olan ve bazı durumlar dışında, neredeyse hiç kullanılmayan daptomisin ve linezolid gibi yeni antimikrobiyal ajanların hemodiyaliz hastalarının PNL fonksiyonlarından fagositik aktivite ve hücre içi öldürme aktiviteleri üzerine in vitro etkileri araştırılmış ve

terapötik konsantrasyonda daptomisin (60 µg/ml) ve linezolidin (19 µg/ml), HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL'lerinin fagositik aktivitesini ve hücre içi öldürme aktivitesini etkilemediği saptanmıştır ($p>0.05$).

Ballesta ve ark. (63), linezolidin terapötik konsantrasyonlarda (2, 10 ve 20 µg/ml) insan PNL'lerinin metisilin duyarlı ve dirençli *S.aures* ve vankomisin duyarlı ve dirençli *Enterococcus faecalis*'e karşı fagositik ve hücre içi öldürme aktivitesi üzerine etkisini incelemişler ve etkisiz olduğunu saptamışlardır.

Naess ve ark. (64) yaptıkları çalışmada, 10-60 µg/ml konsantrasyonlardaki linezolidin insan PNL fonksiyonları (fagositik aktivite ve hücre içi öldürme aktivitesi) üzerine etkisinin anlamlı olmadığını bulmuşlardır.

Araştırmacıların bulguları bizim çalışmamızı desteklemektedir.

Literatürlerde kinolon grubu antibiyotiklerin HD hastalarının PNL fonksiyonları üzerine etkisi ile ilgili az sayıda çalışmaya rastladık.

Gürer ve ark. (65), terapötik konsantrasyondasiprofloksasinin (2 µg/ml) KBY olan hastaların PNL fonksiyonlarını artırıcı bir etkisi olduğunu göstermişlerdir.

Cömerter ve ark. (66), levofloksasinin (2.8 µg/ml) tablet dozaj formunun sağlıklı gönüllülerden elde edilen nötrofillerin fagositik aktivitesini hammadde formuna göre anlamlı olarak azalttığını; 5.7 µg/ml tablet dozaj formunun ise hem fagositik hem de hücre içi öldürme aktivitesini azalttığını; 11.4 µg/ml konsantrasyondaki levofloksasinin hammadde formunun ise sadece fagositik aktiviteyi azalttığını bulmuşlardır ($p<0.05$).

Constance ve ark. (67), siprofloksasinin kronik granüloamatöz hastalığı bulunan çocukların PNL'lerinin *S.aureus*'a karşı hücre içi öldürme aktivitesini artırdığını göstermişlerdir.

Çalışmamızda terapötik konsantrasyonda levofloksasinin (7 µg/ml) HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL'lerinin fagositik ve hücre içi öldürme aktivitesini değiştirmedeği saptanmıştır ($p>0.05$).

Nielsen ve ark. (68), 64 µg/ml konsantrasyondaki fusidik asidin 3 farklı *S.aureus* suşlarına (A, B ve D) karşı PNL'lerin hücre içi öldürme aktivitesi üzerine etkisini

inceledikleri çalışmalarında; 3 farklı *S. aureus* suşundan sadece ikisine (B ve D) karşı etkili olduğunu göstermişlerdir ($p<0.0003$).

Çalışmamızda terapötik konsantrasyonda fusidik asidin (36 µg/ml) HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL'lerinin fagositik aktivitesini ve hücre içi öldürme aktivitesini etkilemediği saptanmıştır ($p>0.05$).

Matera ve ark. (69), yaptıkları çalışmada yüksek konsantrasyonlardaki meropenemin (50-200 µg/ml) insan PNL'lerinin fagositik aktivitesini artırdığını, düşük konsantrasyonlardaki meropenemin (5, 10, 20, 50, 100, 200 µg/ml) ise hücre içi öldürme aktivitesini etkilemediğini bulmuşlardır.

Herrera-Insúa ve ark. (70), 4x0.25 µg/ml MİK konsantrasyonundaki meropenemin insan PNL'lerinin *Escherichia coli* ve *S. aureus* suşlarına karşı hücre içi öldürme aktivitesini artırdığını saptamışlardır ($p<0.05$).

Anabilim dalımızda karbapenem grubu imipenem ile yapılan çalışmalardan; Adalati ve ark. (71), kronik hepatitli hastalarla yaptıkları bir çalışmada imipenemin (30 µg/ml) hepatit B enfeksiyonlu hastaların PNL'lerinin fagositik aktivitesini kontrol grubuna göre arttığını ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını saptamışlardır.

Gürbüz ve ark. (45), yaptıkları çalışmada imipenemin (30 µg/ml) bronşektazili hastaların PNL'lerinin fagositik ve hücre içi öldürme aktivitesini kontrole göre anlamlı olarak artırdığını saptamışlardır ($p<0.0001$).

Çalışmamızda antibiyotik içermeyen kontrol deneyde, HD hastalarının HD sonrası PNL'lerinin fagositik aktivitesi, HD öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma göstermiştir ($p<0.05$). Kontrol ile karşılaştırıldığında; terapötik konsantrasyonlarda meropenemin (24 µg/ml) HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL'lerinin fagositik aktivitesi ile hücre içi öldürme aktivitesini etkilemediği saptanmıştır ($p>0.05$).

Bu bulgular hastalığın ve tedavi protokollerinde yer alan antibiyotikler ve antibiyotik dışı ilaçların konağın immün sistem yanıtları üzerindeki inhibitör veya modülatör etkilerinin de göz önüne alınmasının önemini ortaya koymaktadır.

İmmün sistem üzerine olumsuz etkileri olan antimikrobiklerin kullanımı sonucu; dirençli mikroorganizmaların neden olduğu infeksiyonların gelişimi artar, konak direnci düşer ve infeksiyon ciddi boyutlar kazanır. Bu nedenle antimikrobiklerin doğru yerde ve doğru şekilde kullanılması immün sistemi bozulmuş olan KBY hastalarının tedavisinde yarar sağlayacaktır.

Polimorf nüveli lökositler, fagositik aktivite ve hücre içi öldürme aktivitesine sahip, immün sistemde önemli rolleri olan hücrelerdir. HD esnasında ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin en önemli kaynağı membranın aktive ettiği PNL'lerdir. PNL'nin aktive olması ile ortaya çıkan solunum patlamasında rol alan NADPH oksidaz, süperoksit dismutaz (SOD), nitrik oksit sentaz (NOS) ve myeloperoksidaz (MPO) gibi enzimler, süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), nitrik oksit (NO) ve hidroklorik asit (HOCl) gibi reaktif ürünlerin ortaya çıkmasına yol açar. Fagositlerden kaynaklanan bu oksidanların yanı sıra HD'de, kullanılan membran ve diyalizat sıvıları alternatif kompleman yolunun aktivasyonunu sağlayarak hücre hasarının ilerlemesine yol açmaktadır (72).

Hemodiyaliz; kanın vücut dışında bir makine aracılığıyla temizlenip vücuda geri verilmesi işlemidir. KBY hastalarında oksidatif stresin arttığı ve/veya antioksidan aktivitenin azaldığı bildirilmektedir. Son dönem KBY hastalarında oksidatif stres; immünolojik bozukluklara, koagülopati, katarakt, amiloidoz ve ateroskleroz gibi üremik komplikasyonların gelişmesine neden olmaktadır. Ayrıca HD işlemi sırasında da yapay bir yüzey olan diyaliz membranı ile kanın teması, serbest radikal oluşumunu arttırmaktadır (41, 40).

Normal koşullarda sağlıklı insan vücudundaki serbest oksijen radikallerinin (SOR) üretimi ile antioksidan sistem denge halindedir. Yoğun SOR üretimi ya da antioksidan savunmanın azalması ile bu denge bozulur ve oksidatif stres adı verilen olay meydana gelir (2).

Oksidatif stres ve serbest radikaller özellikle lipitlerde hasara yol açar. Oluşan serbest radikallerin çeşitli hücre bileşenleri üzerine etkisi sonucu lipid peroksidasyonu (LP) meydana gelir (47).

Malondialdehit, lipid peroksidasyonunun ve serbest radikal oluşumunun en önemli göstergesi ve non-enzimatik oksidatif lipid peroksitlerinin parçalanması

sonucu oluşan toksik etkili son ürünlerinden birisidir. Dokularda MDA seviyesinin artması, koroner arter hastalığına, akciğer kanseri ile diğerk akciğer hastalıklarına, DNA'ya bağlanarak mutasyonlara ve iltihaplanmalara yol açar (39).

Kronik böbrek yetmezliğı oksidatif stres ile seyreden klinik bir tablodur. Akut ve kronik böbrek yetmezliğı olan hastalarda serum ve eritrosit MDA düzeylerinde artış olduğı bildirilmiştir (2).

Birçok araştırıcı, kronik hemodiyaliz hastalarında eritrosit membran lipid peroksidasyonunu incelemişlerdir. Hemodiyalize girmeyen ve serum kreatinini 5 mg/dl üzerindeki hastalarda da eritrosit membran lipid peroksidasyonunda artış olduğı bildirilmiştir. Bu, lipid peroksidasyon anormalliğinin diyaliz süresinden ziyade renal yetmezlikle ilgili olduğunu düşündürmektedir (2).

Eritrositlerin oksidatif duyarlılıklarının artmasının, direkt olarak deforme olabilme yeteneklerindeki değışikliklerle ilgili olduğı sonucuna varmışlardır. Dolaşımdaki eritrositlerin yaşam süresi, mekanik özelliklerini etkileyen faktörlerle (hücrel deformabilite) ilgili gözükmeğdir. Hücre şekli ve yüzey alanı veya hücre hacmi oranı gibi ekstrinsik özellikler, internal viskozite ve membran mekanik davranışı gibi intrinsik özellikler hücrel deformabiliteyi oluşturmaktadır. HD hastalarında, serbest radikallerin başlattığı eritrosit membran lipid peroksidasyonu sonucu eritrosit deformabilitesinin bozulmasının ve splenik sekestrasyonun, eritrosit yaşam süresinde azalmaya neden olan en önemli faktörler olduğı bildirilmiştir (2).

Birçok araştırıcı, HD hastalarında eritrosit membran lipid peroksidasyonunu incelemişler ancak, PNL'lere MDA düzeylerini araştırmamışlardır. PNL'lerde MDA düzeyi üzerine etkisini inceleyen bir çalışmaya rastlamadık.

Miguel ve Linares (73), HD öncesi ve HD sonrası eritrosit lipid peroksidasyonunu karşılaştırdıklarında; HD sonrası MDA düzeyinin anlamlı olarak arttığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda antibiyotik içermeyen kontrol deneyde; HD hastalarının HD sonrası PNL'lerinin MDA düzeyi HD öncesine göre artmış ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.097$). HD hastalarının PNL'leri terapötik konsantrasyonlarda vankomisin (40 µg/ml), levofloksasin (7 µg/ml), fusidik asit (36

µg/ml) ve meropenem (24 µg/ml) ile inkübe edildiklerinde HD hastalarının HD öncesi PNL'lerinin MDA düzeyi anlamlı bir şekilde artırmıştır ($p<0.05$). Ancak aynı antibiyotiklerin HD hastalarının HD öncesi artmış olan MDA düzeyini HD sonrası azalttığı saptanmıştır. Bu azalmada antibiyotiklerin MDA düzeyi üzerine antioksidan bir etki yaparak immünomodülatör özellik gösterdiğini düşündürmektedir.

Bu sonuçlar terapötik konsantrasyonlarda vankomisin, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin HD'nin oksidatif stresi artırması sonucunda PNL'lerdeki H_2O_2 'in MPO enzimi tarafından HOCl ve OH gibi SOR radikallerine dönüşümünü engelleyerek hücre membranındaki lipid peroksidasyonunu önlediğini göstermektedir.

Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda hemodiyalizin oksidatif stresi artırdığı bilinmektedir. HD sırasında muhtemel lipid peroksidasyonu, antioksidatif sistem aktivitesinin azalması ve reaktif oksijen türleri oluşumunun artması sonucu olabilir. Araştırmacılar HD başladıktan sonra 30 dakika içinde serbest radikal aktivitesinde belirgin artış bildirmişlerdir. Ancak antioksidatif sistemin HD tedavisi ile nasıl etkilendiği tam bilinmemektedir (39).

Hemodiyaliz hastalarında diyaliz öncesi üremik serumun süperoksid anyon yakalama kapasitesinin arttığını, diyaliz sırasında ise %50 azaldığını göstermişler ve bunu antioksidanların diyalizat içine kaybına bağlamışlardır. Araştırmacılar C_{5a} aktive nötrofiller ile reaktif oksijen türleri oluşumunun intradiyalitik oksidatif hasara katkıda bulunabileceğini düşünmüşlerdir. Yapılan çalışmalarda daha az nötrofil aktivasyonuna neden olan diyaliz membranları ile serbest radikal reaksiyon ürünlerinde daha az artış ve daha az hipoksi olduğu bildirilmiştir (39).

Hemodiyalizde kullanılan diyaliz membranlarının diyalizde artmış oksidatif stresi ve serbest oksijen radikal oluşumunu sınırlandıran, komplemanı daha az aktive eden, anti-oksidatif etkili ve biyouyumlulukları en yüksek olan biyoaktif membranlar olduğu bildirilmiştir (74).

Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda MDA seviyesinin yüksek olduğu bilinir, ancak HD tedavisinin MDA seviyesinde yaptığı değişiklikler ile ilgili yapılmış çok sayıda çalışmadan farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Farelerde ginseng uygulamasının, fare PNL'lerinin oksidatif stresini azaltarak MDA düzeylerinin artışı baskıladığı bildirilmiştir (75).

Özden ve ark. (76), çalışmalarında HD ve sürekli ayaktan periton diyalizi (SAPD) hastalarında, HD öncesine oranla, HD sonrası plazma MDA düzeylerini anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır.

Hemodiyaliz sonrası MDA düzeylerinde artma eğilimi, HD hastalarının PNL'lerinin HD işleminden olumsuz etkilendiğini göstermektedir. Bu sonuç membran lipidlerinin oksidatif hasarında diyalizin rolünün olduğunu desteklemektedir.

Giardini ve ark. (77), diyaliz öncesinde ve sonrasında da HD hastalarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı eritrosit MDA artışı olduğunu göstermişlerdir.

Ghoreshi ve ark. (78), akut ve kronik böbrek yetmezliğinde HD'in etkilerini ve oksidan-antioksidan durumu değerlendirmişler; HD'den kaynaklanan oksidatif stres nedeniyle serum MDA düzeyinin artmış olduğunu göstermişlerdir.

Köse ve ark. (79), ise diyaliz sonrası plazma MDA seviyelerinde düşme olduğunu saptamışlardır.

Tacconne-Galluci ve ark. (80), diyalize girmemiş KBY'li hastalarda eritrosit MDA düzeyini yüksek bularak ilk kez eritrosit membranında lipid peroksidasyon artışı rapor etmişlerdir.

Erdoğan ve ark. (81), çalışmalarında hem HD hem de periton diyalizi uygulanan hastalarda serum MDA düzeylerinin kontrollere göre anlamlı farklılık göstermediğini bulmuşlardır.

Hemodiyaliz işleminin, plazma lipid peroksidasyonu üzerine etkisini inceleyen çalışmalarda, MDA düzeylerinin arttığı, azaldığı ya da değişmediği bildirilmektedir (2, 39, 40). Araştırmacıların bulguları çalışmamızı doğrulamaktadır.

Çalışmamızda HD hastalarının PNL'lerinin HD sonrası MDA düzeylerinde artma eğilimi görülmüş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.097$).

Literatürlerde HD hastalarının MDA düzeyleri üzerine vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin etkisini araştıran bir çalışmaya rastlamadık.

Altınordu ve Erarslan (82), siprofloksasin, enrofloksasin ve norfloksasin uyguladıkları (10 mg/kg/gün/oral) civcivlerde 1., 3., 5. ve 7. günlerde kan serumlarında MDA düzeylerini ölçtüklerinde 2. ve 3. kuşak kinolon grubu olan bu üç antibiyotiğin civcivlerde serum MDA düzeyini kontrole göre anlamsız olarak artırdığını bildirmişlerdir.

Anabilim dalımızda Rayaman ve ark. (83)'nın yaptıkları bir çalışmada, tip 2 Diabetes mellitus'lu hasta PNL'lerinin MDA düzeyi üzerine siprofloksasinin (2.5µg/ml) etkisi incelenmiş ve MDA düzeyinde anlamlı bir artış ($p<0.001$) olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda 3. kuşak kinolon grubu olan ve terapötik konsantrasyonda levofloksasinin (7 µg/ml) HD hastalarının HD öncesi PNL'lerinin MDA düzeyini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artırdığı saptanmıştır ($p<0.05$). Gerek veterinerlik alanındaki in vivo klinik çalışma, gerekse tip 2 Diabetes mellitus'lu hastalarla yapılmış olan çalışma sonuçları bizim in vitro çalışma bulgularımızı desteklemektedir ve bu nedenle bulgularımızın klinik çalışmalarla da kanıtlanması gerekliliğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda terapötik konsantrasyonlarda vankomisin (40 µg/ml), fusidik asit (36 µg/ml) ve meropenemin (24 µg/ml) HD hastalarının HD öncesi PNL'lerinin MDA düzeyini artırdığı, HD sonrası ise MDA düzeyini azalttığı saptanmıştır ($p<0.05$). Daptomisin ve linezolidin ise HD hastalarının HD öncesi PNL'lerinin MDA düzeyini etkilemediği saptanmıştır ($p>0.05$). Vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin HD hastalarının HD sonrası PNL'lerinin MDA düzeyini ise etkilemediği bulunmuştur ($p>0.05$).

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px); H_2O_2 'nin indirgenmesinden sorumlu antioksidan bir enzimdir ve hücreleri oksidatif hasara karşı korurken, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GSH-Px oksidan strese karşı bir antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma hidrojen peroksit birikmesine ve hücre hasarına yol

açar. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bazı antibiyotiklerin SOR ürünlerine ve GSH-Px aktivitelere etkili olduğu gösterilmiştir (84).

Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda GSH-Px seviyelerinin HD tedavisi sonrasında azaldığı bildirilmiştir (84).

Richard ve ark. (85), HD hastaları ile yaptıkları çalışmada, plazma GSH-Px aktivitesinde azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Paul ve ark. (86), HD hastalarında eritrosit GSH-Px aktivitesini kontrol gruba göre düşük bulmuşlardır.

İlhan ve ark. (87) çalışmalarında, HD öncesi GSH-Px aktivitesinin kontrol grubuna oranla belirgin olarak azaldığını ve bu antioksidan enzim aktivitesinin HD sonrası arttığını bulmuşlar ancak bu artışın HD öncesi ve HD sonrası GSH-Px aktiviteyi arasında anlamlı bir fark oluşturacak düzeyde olmadığını gözlemlemişlerdir. Yine yapılan bir çalışmada hemodiyalize girmeyen KBY'li hastalarda eritrosit GSH-Px aktivitesinde artış olduğu ve düzenli HD tedavisine geçilincebu artışın ortadan kalktığı gösterilmiştir (2).

Birçok araştırmacı, kronik HD hastalarında eritrosit GSH-Px aktivitesinde azalma bildirmişlerdir (39).

Seth ve ark. (88) üremik hastaların eritrositlerinde glutatyon (GSH) ve GSH-Px aktivitesinin azaldığını göstermişlerdir.

Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda eritrosit GSH-Px aktivitesi kontrollere göre daha düşük bulunmuş ve bu sonuçlara göre araştırmacılar KBY hastalarında eritrosit antioksidan savunmasının baskılandığını ve eritrosit membran peroksidasyonunun arttığını belirtmişlerdir (26).

Literatürlerde vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin HD hastalarının GSH-Px aktiviteyi üzerine etkilerini inceleyen araştırmalara rastlamadık.

Kobaylarda gentamisinin renal GSH-Px aktivitesini azalttığı bildirilmiştir (87).

Farelerde sefhaloridinin böbrekteki SOR ürünlerini azalttığı, roksitromisin, kloramfenikol ve tetrasiklinin fagositik hücrelerde SOR ürünlerini inhibe ettiği gösterilmiştir (87).

Bizim çalışmamızda HD hastalarının PNL'lerinin GSH-Px aktiviteleri HD öncesi ve HD sonrası aynı bulunmuştur ($p>0.05$). Bu sonuçlar terapötik konsantrasyonlarda vankomisin (40 µg/ml), daptomisin (60 µg/ml), linezolid (19 µg/ml), levofloksasin (7 µg/ml), fusidik asit (36 µg/ml) ve meropenemin (24 µg/ml) GSH-Px aktivitelerini değiştirmedığı sonucuna varılmıştır.

Kronik HD hastalarında çinko, bakır, selenyum eksikliğinin antioksidan enzim aktivitesini etkileyebileceği bildirilmiştir. GSH-Px selenyuma bağımlıdır. HD hastalarında serum selenyum düzeyi düşük bulunmuştur (39).

Çalışmamızda HD öncesi ve HD sonrası GSH-Px aktivitelerinin değişmemesi muhtemelen HD hastalarında selenyum eksikliğinin bulunmadığını göstermektedir. Ayrıca HD hastalarının PNL'leri terapötik konsantrasyonlarda vankomisin (40 µg/ml), levofloksasin (7 µg/ml), fusidik asit (36 µg/ml) ve meropenem (24 µg/ml) ile inkübe edildikten sonra da HD öncesi ve HD sonrası GSH-Px aktivitelerinin değişmediği görülmüştür. Bu sonuçlar terapötik konsantrasyonlarda vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin antioksidan enzim aktivitesini etkilemediğini göstermektedir.

Bu sonuçlara göre; terapötik konsantrasyonlarda vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin fagositik hücrelerin zarar görmesini engellediğini, hidrojen peroksit birikimine ve hücre hasarına yol açmadığını ve lipid peroksidasyonunun başlamasını önleyebildiğini söyleyebiliriz.

İnflamasyon durumunda MPO, ekstrasellüler ortama salınır. HD hastalarında, plazma MPO aktivitesinin yükseldiği gösterilmiştir. Son yıllarda MPO ile katalizlenen oksidatif olaylar, üremi ve HD'de, oksidatif stresin başlıca kaynağı olarak kabul edilmekte ve bu oksidatif reaksiyonların, doğrudan inflamasyonla ilişkili olduğu görülmektedir (89, 90).

Birçok araştırmacı, HD hastalarında eritrosit membran lipid peroksidasyonunu incelemişler ancak, PNL'lerin MPO aktivitesini araştırmamışlardır. Ayrıca

PNL'lerde MPO aktivitesi üzerine antibiyotiklerin etkisini inceleyen bir çalışmaya da rastlamadık.

Anabilim dalımızda sağlıklı gönüllüler ile sistemik lupus eritematozus, romatoid artrit, Diabetes mellitus ve allerjik astımlı hastaların PNL'lerinde MPO aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, tüm hasta gruplarının MPO aktivitesinin sağlıklı gönüllülere göre düşük bulunduğu, siprofloksasin (2.5µg/ml) ile muamele sonrasında ise MPO aktivitesinin kontrole göre anlamlı olarak ($p<0.001$) arttığı bildirilmiştir (32).

Çalışmamızda kinolon grubu antibiyotik olan levofloksasinin (7 µg/ml) HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL'lerinin MPO aktivitesini artırdığı saptanmış ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Çalışmamızda vankomisin(40 µg/ml), daptomisin(60 µg/ml), linezolid (19 µg/ml), levofloksasin (7 µg/ml), fusidik asit (36 µg/ml) ve meropenemin (24 µg/ml) HD hastalarının PNL fonksiyonları (fagositik aktivite ve hücre içi öldürme aktivitesi) üzerine olan etkileri ile oksidatif stres (MDA), antioksidan enzim (GSH-Px) ve oksidan enzim (MPO) aktiviteleri üzerine olan etkileri araştırılmış ve HD hastalarında hücrel immünite, oksidatif stres ve hücre içi enzimler üzerine immünomodülatör etkili antibiyotik seçiminin önemi gösterilmeye çalışılmıştır.

Sonuç olarak;

- 1) Antibiyotik içermeyen kontrol deneyde, HD hastalarının HD sonrası PNL'lerinin fagositik aktivitesi HD öncesine göre anlamlı olarak azalmıştır ($p<0.05$).
- 2) Kontrol ile karşılaştırıldığında; vankomisin (40 µg/ml), daptomisin (60 µg/ml), linezolid (19 µg/ml), levofloksasin (7 µg/ml), fusidik asit (36 µg/ml) ve meropenemin (24 µg/ml) HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL'lerinin fagositik aktivitesini değiştirmediği ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı saptanmıştır ($p>0.05$).
- 3) Kontrol ile karşılaştırıldığında; vankomisin (40 µg/ml), daptomisin (60 µg/ml), linezolid (19 µg/ml), levofloksasin (7 µg/ml), fusidik asit (36 µg/ml) ve meropenemin (24 µg/ml) HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası

PNL'lerinin hücre içi öldürme aktivitesini değiştirmediği ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı saptanmıştır ($p>0.05$).

- 4) Terapötik konsantrasyonlarda vankomisin (40 $\mu\text{g/ml}$), levofloksasin (7 $\mu\text{g/ml}$), fusidik asit (36 $\mu\text{g/ml}$) ve meropenemin (24 $\mu\text{g/ml}$) HD hastalarının HD öncesi PNL'lerinin MDA düzeyini artırdığı, HD sonrası ise MDA düzeyini azalttığı saptanmıştır ($p<0.05$). Daptomisin ve linezolidin ise HD hastalarının HD öncesi PNL'lerinin MDA düzeyini etkilemediği bulunmuştur ($p>0.05$). Vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin HD hastalarının HD sonrası PNL'lerinin MDA düzeyini ise etkilemediği görölmüştür ($p>0.05$).
- 5) Kontrol ile karşılaştırıldığında; vankomisin (40 $\mu\text{g/ml}$), daptomisin (60 $\mu\text{g/ml}$), linezolid (19 $\mu\text{g/ml}$), levofloksasin (7 $\mu\text{g/ml}$), fusidik asit (36 $\mu\text{g/ml}$) ve meropenemin (24 $\mu\text{g/ml}$) HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL'lerinin GSH-Px ve MPO enzim aktivitelerini değiştirmediği ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı saptanmıştır ($p>0.05$).

Çalışmamızda; terapötik konsantrasyonlardavankomisin (40 $\mu\text{g/ml}$), daptomisin (60 $\mu\text{g/ml}$), linezolid (19 $\mu\text{g/ml}$), levofloksasin (7 $\mu\text{g/ml}$), fusidik asit (36 $\mu\text{g/ml}$) ve meropenemin (24 $\mu\text{g/ml}$) HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL'lerinin hem fagositik aktivite ve hücre içi öldürme aktivitesi üzerine hem de oksidatif stres göstergesi olan MDA düzeyleri, antioksidan enzim (GSH-Px) ve oksidan enzim (MPO)aktiviteleri üzerine olumsuz etki yapmadıkları sonucuna varılmıştır.

Sonuç olarak; KBY'deki HD olgularında, vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin immun sistem hücre fonksiyonlarına, lipid peroksidasyonuna, antioksidatif enzim ve oksidadif enzim sistemleri üzerine olumsuz etki oluşturmadığı göröldüğünden, çalışmamızın klinik olarak da desteklenmesi sonucunda bu antibiyotiklerin HD hastalarının bakteriyel infeksiyonlarının tedavisinde yararlı olacağı kanısındayız.

8. KAYNAKLAR

1. Adalati R, Güner ÜS, Çevikbaş A, Johansson C. (2003). Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda sefodizimin polimorf nüveli lökosit fonksiyonları üzerine etkilerinin in vitro araştırılması. *Türk Mikrob Cem Derg*, 33:85-91.
2. Büyükbaş S, İnal A, Atalay H. (2007). Hemodiyaliz hastalarında oksidatif aktivitenin değerlendirilmesi. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 5(3):105-110.
3. Barutçugil B. (2008). Son Dönem Böbrek Yetmezliğinde Benign Melanositik Nevüs Sayısının Araştırılması. S.B. İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deri ve Zührevi Hastalıklar Kliniği, Tıpta Uzmanlık Tezi, İstanbul, (Danışman: Uzm. Dr. A. Tülin Mansur, Doç. Dr. Mehmet S. Gürel).
4. Kaya H, Polat F, Odabaş AR, Çetinkaya R, Kiki İ. (2000). Kronik hemodiyaliz hastalarında lipid peroksidasyonu. *Türk Nefroloji ve Transplantasyon Dergisi*, 2:90-94.
5. Ayköse MG. (2006). Kronik Böbrek Yetmezliği Nedeni ile Hemodiyaliz Tedavisi Gören Cinsel Disfonksiyonlu Erkeklerde Gonadal Fonksiyonların ve Testosteron Replasman Tedavisinin Değerlendirilmesi. Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. Üroloji Kliniği, Tıpta Uzmanlık Tezi, İstanbul, (Danışman: Klinik Şefi: Prof. Dr. Selami Albayrak).
6. Chugh SN, Jain S, Agrawal N, Sharma A. (2000). Evaluation of oxidative stress before and after haemodialysis in chronic renal failure. *J Assoc Physicians India*, 48:981-984.
7. Banni S, Lucchi L, Baraldi A, Botti B, Capelli G, Corongiu, Dessi MA, Tomasi A, Lusvarghi E. (1996). No direct evidence of increased lipid peroxidation in hemodialysis patients. *Nephron*, 72:177-183.
8. Çeliker H, Elkiran B, İlhan N, Günel Aİ, Doğukan A. (2001). Hemodiyaliz ve periton diyalizinin oksidatif stres parametreleri üzerine etkisi. *Türk Nefroloji ve Transplantasyon Dergisi*, 10(2):88-92.
9. Öztürk A. (2009). Hemodiyaliz tedavisi alan kronik böbrek yetmezliği olgularının hastalıkları ve hemodiyaliz hakkında bilgi, tutum ve davranışlarının incelenmesi. *Erciyes Tıp Dergisi*, 31(2): 119-125.

10. Taşkapan H, Utaş C. (2002). Akut Böbrek Yetmezliği Tedavisinde Diyaliz Yöntemleri. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 11(4):191-197.
11. Eyileten T, Yenicesu M, Altun B, Çakar M, Karaman M, Ay SA, Çağlar K, Oğuz Y, Vural A, Yılmaz Mİ. (2010). Hemodiyaliz hastalarında diyalizatın mikrobiyolojik niteliğinin enflamasyon belirteçleri üzerine etkisi. *Türk Nefroloji ve Transplantasyon Dergisi*, 19(3):162-169.
12. Antmen ŞE. (2005). Beta Talasemide Oksidatif Stres. Çanakkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana, (Danışman: Prof. Dr. L Kayrın).
13. Samouilidou E, Grapsa E. (2003). Effect of dialysis on plasma total antioxidant capacity and lipid peroxidation products in patients with endstage renal failure. *Blood Purif*, 21:209-212.
14. Aygün G. (2002). Antibiyotikler II. *Akılcı antibiyotik kullanımı ve erişkinde toplumdan edinilmiş enfeksiyonlar sempozyum dizisi*, No: 31, s. 39-54.
15. Öncül O. (2010). Vankomisin ve teikoplanin hikayesi. *Ankem Dergisi*, 24(ek 2):101-109.
16. Bozkurt GY, Kutlu H, Arslan A, Memikoğlu O. (2010). Yeni bir antibakteriyel ajan: Daptomisin. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 63(3):85-88.
17. Özaras R, Tabak F. (2010). Daptomisin. *Klinik Dergisi*, 23(2): 35-38.
18. Korten V. (2004). Linezolid. *ANKEM Dergisi*, 18(Ek 2):178-180.
19. Usluer G. (2010). Linezolid. *ANKEM Dergisi*, 24(Ek 2):114-118.
20. Fish DN, Chow AT. (1997). The clinical pharmacokinetics of levofloxacin. *Clin Pharm*, 32(2):101-119.
21. Davis R, Bryson HM. (1994). Levofloxacin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetics and therapeutic efficacy. *Drugs*, 48(1):132.
22. Yazar E, Tras B. (2001). Effects of fluoroquinolone antibiotics on hepatic superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in healthy and experimentally induced peritonitis Mice. *Revue Méd Vét*, 152(3):235-238.
23. Yaman G, Çıkman A, Berktaş M, Parlak M, Güdücüoğlu H, Karahocagil MK. (2010). Hastane kökenli *Staphylococcus aureus* izolatlarında MLS_B, fusidik asit ve diğer antibiyotiklere direnç. *ANKEM Dergisi*, 24(3):130-135.
24. Özaras R, Tabak F, Öztürk R. (2002). Antibiyotikler III. *Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi* No: 31; s. 55-82.

25. Sarı H. (2005). Karbapenemlere Dirençli Gram Negatif Basil İzolatlarında İmipenem-Edta/Meropenem-Edta Disk Yöntemi ve Modifiye Hodge Testi ile Metallo-Beta-Laktamaz (MBL) Varlığının Araştırılması. Kartal Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul, (Danışman: Uzm. Dr. Serap Gençler).
26. Mülazımoğlu L. (2010). 1986'dan günümüze karbapenemler. *ANKEM Dergisi*, 24(Ek 2):33- 35.
27. Alhan E. (2011). Yeni karbapenemler. *J Pediatr Inf*, 5(Suppl 1):90-94.
28. Adalati R. (1999). İmmün Yetmezliği Olan Hastalarda Antibiyotiklerin ve İnterferon α -2a'nın Polimorf Nüveli Lökosit Fonksiyonları Üzerine Etkilerinin İn Vitro Araştırılması. M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, (Danışman: Prof. Dr. Adile Çevikbaş).
29. Mandel GL, Bennet JE, Dolin R. (1995). Principles and Practice of Infectious Disease. In: Mycosis. Bennet JE, 3rd ed, Vol 2, Churchill Livingstone, New York, 2288-2308.
30. Ertaş Ö. (2004). Primer ve Sekonder Tüberküloz İlaç Kombinasyonlarının Sağlıklı Gönüllülerin Polimorf Nüveli Lökosit Fonksiyonları Üzerine İn Vitro Etkisinin Araştırılması. M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, (Danışman: Prof. Dr. Adile Çevikbaş).
31. Yücel A, Kantarcıoğlu SA. (1999). *Candida albicans*'ın taksonomisindeki önemli bazı değişiklikleri. *Cerrahpaşa J Med*, 30(3):236-246.
32. Rayaman P. (2010). Sağlıklı ve Hasta Polimorf Nüveli Lökositlerinde Miyeloperoksidaz ve Hücre İçi Öldürme Aktivitesinin İlişkisi ve Bazı İlaçların Miyeloperoksidaz Aktivitesi Üzerine Etkisinin Araştırılması. M. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Adile Çevikbaş).
33. Abbasoğlu U, Çevikbaş A. (2011). Farmasötik Mikrobiyoloji. Efil Yayınevi Ltd. Şti., İstanbul, s.165-167.
34. Özbal Y. (1994). Temel İmmünoloji. I. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, s: 34-38.
35. Kılıçturgay K. (1997). İmmünoloji, Güneş & Nobel Tıp Kitabevleri, s:15-21.
36. Akan E. (1992). Genel Mikrobiyoloji ve İmmünoloji, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, s: 322-324.

37. Özkan S, Fidan I, Yüksel S, İmir T. (2006). Telitromisinin insan polimorf nüveli lökosit fonksiyonları üzerine etkisinin in-vitro araştırılması. *ANKEM Dergisi*, 20(4):229-232.
38. Memişoğulları R. (2005). Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3:30-39.
39. Ersoy A, Dilek K. (1999). Hemodiyaliz hastalarında eritrosit membran lipid peroksidasyonu antioksidatif homeostazis değişiklikleri. *Türk Nefroloji ve Transplantasyon Dergisi*, 1:1-4.
40. Özşahin EA, Yazıcı C, Köse K, Utaş C, Tokgöz B. (2004). Hemodiyaliz hastalarında plazma malondialdehit ve tiyol seviyeleri. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(2):8-14.
41. Ögüş E, Yılmaz FM, Yılmaz H, Duranay M, Yücel D. (2004). Hemodiyaliz ve periton diyalizi hastalarında serum malondialdehit düzeyleri ve oksidasyona yatkınlık. *T Klin J Med Sci*, 24:316-322.
42. Fentoğlu Ö, Koçak H, Sütçü R, Kırzioğlu YF. (2010). Periodontal hastalıklı ve hiperlipidemili bireylerde salya malondialdehit, süperoksit dismutaz, glutatyon ve glutatyon peroksidaz seviyelerinin değerlendirilmesi. *S.D.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1(2):69-81.
43. Günaldı M. (2009). Kan Selenyum Düzeyi ve Glutatyon Peroksidaz Aktivitesinin Akut Miyokart Enfarktüsü Gelişimi Üzerine Etkisi. T.C. Sağlık Bakanlığı Ok Meydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi II. İç Hastalıkları Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul (Klinik Şefi Doç.Dr. Ayşen Helvacı).
44. Koca N, Karadeniz F. (2003). Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 16: 32-37.
45. Gürbüz B, Gürer Soyoğul Ü, Çevik Ö, Yalçinkaya İ, Bekiroğlu NG, Çevikbaş A. (2014). Bronşektazili hastalarda kolistin tek başına ve tigesiklin, imipenem ve rifampisin ile kombinasyonlarının polimorfnüveli lökosit fonksiyonları, oksidatif stres, oksidan ve antioksidan enzimler üzerine etkilerinin in vitro araştırılması. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 18:1-10.
46. Başaran Y. (2007). Miyeloperoksidaz Enziminin Lösemi Tedavisinde Kullanılan Doksorubisine Etkisinin İncelenmesi. Y.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, (Danışman: Prof. Dr. H Kuzu).

47. Hazar A. (2006). Akciğer kanserli hastalarda malondialdehit (MDA) ve total antioksidan kapasite (TAOK) düzeyi ölçümü ile oksidan-antioksidan dengenin araştırılması. Süreyyapaşa Göğüs ve Kalp-Damar Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Uzmanlık tezi, İstanbul, (Danışman: Klinik Şefi Uz. Dr. Armağan Hazar).
48. Alexander JW, Windhorst DB, Good RA. (1968). Improved tests for the evolution of neutrophil function in human disease. *J Lab Clin Med*, 72(1):136-148.
49. Morán FJ, Puente LF, Pérez-Giraldo C, Hurtado C, Blanco MT, Gómez-García AC. (1994). Effects of cefpirome in comparison with cefuroxime against human polymorphonuclear leucocytes in vitro. *J Antimicrob Chemother*, 33(1):57-62.
50. Bradford MM (1976). A Rapid and Sensitive Method for Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein dye Binding. *Anal Biochem*, 72:248-254.
51. Buege JA, Aust SD. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, 53:302-311.
52. Paglia DE, Valentine WN. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte GPx. *J Lab Clin Med*, 70(1):158-169.
53. Hillegas LM, Griswold DE, Brickson B, Albrightson-Winslow C. (1990). Assesment of myeloperoxidase activity in whole rat kidney. *J Pharmacol Methods*, 24:285-289.
54. Parlar E. (2008). Diyaliz hastalarının nozokomiyal enfeksiyon kontrolü. *Hastane Enfeksiyonları: Korunma ve Kontrol Sempozyum Dizisi*, 60: s.121-129.
55. Karkaç E, Tanboğa B. (2013). Periton diyalizi hastalarında *staphylococcus aureus* ve vankomisin dirençli enterokok taşıyıcılığı ve bu mikroorganizmaların neden olduğu invaziv enfeksiyonların değerlendirilmesi. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 11(3):116-123.
56. Kılıçturgay K. (1993). İmmün modülatör olarak antibiyotikler. *ANKEM Dergisi*, 7(3):157-160.
57. Badur S. (1991). Antimikrobiklerin immün sisteme istenmeyen etkinlikleri. *Klinik Dergisi*, 3(4): 105-108.
58. Bayram A, Vural Ö, Bakan E. (1985). Nötrofil fagositozu. *Türkiye Klinikleri*, 5 (3):276-279.
59. Demiray E, Bekmen N. (2008). *Helicobacter pylori* enfeksiyonu ve fagositoz. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 42:177-184.

60. Mehes L, Tasko S, Szekely A, Toth A, Ungvari E, Erdei I, Dombradi Z, Szabo J, Marodi L. (2011). Phagocytosis and intracellular killing of heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* strains. *J Med Microbiol*, 61(2):198-203.
61. Morán FJ, Puente LF, Pérez-Giraldo C, Blanco MT, Hurtado C, Gómez-García AC. (1991). Activity of vancomycin and teicoplanin against human polymorphonuclear leukocytes: a comparative study. *J Antimicrob Chemother*, 28(3):415-418.
62. Pedrera MI, Barriga C, Rodrigueuz AB. (1995). Intracellular activity of both teicoplanin and vancomycin against *Staphylococcus aureus* in human neutrophils. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 18(2):123-128.
63. Ballesta S, Pascual A, Garcia I, Perea EJ. (2003). Effect of linezolid on the phagocytic functions of human polymorphonuclear leukocytes. *Chemotherapy*, 49:163-166.
64. Naess A, Stenhaug Kilhus K, Nystad TW, Sornes S. (2006). Linezolid and human polymorphonuclear leukocyte function. *Chemotherapy*, 52:122-124.
65. Gürer SÜ, Palanduz Ş, Çevikbaş A, Derici K, Johansson C, Öztürk Ş. (1999). Effect of cefozidime, ofloxacin, ciprofloxacin and interferon α -2a, alone and in combination, on phagocytic and candidicidal functions of leucocytes from patients with chronic renal failure. *Int J Med Sci*, 27:315-318.
66. Cömerter H, Kadir T, Okuyan B, Sancar M, İzzettin VF. (2013). Assessment of levofloxacin effect on human neutrophil functions in vitro. *Turk J Pharm Sci*, 10(1):19-24.
67. Constance E, Rensburg JV, Joone G, Anderson R. (1990). Interactions of the oxygen dependent antimicrobial system of the human neutrophil with difloxacin, ciprofloxacin, pefloxacin and fleroxacin in the intraphagocytic eradication of *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol*, 32: 15-17.
68. Nielsen SL, Black FT. (1999). Extracellular and intracellular killing in neutrophil granulocytes of *Staphylococcus aureus* with rifampicin in combination with dicloxacillin or fusidic acid. *J Antimicrob Chemother*, 43:407-410.
69. Matera G, Berlinghieri MC, Foca A. (1995). Meropenem: effects on human leukocyte functions and interleukin release. *J Antimicrob Agents*, 5(2):129-133.
70. Herrera-Insúa I, Pérez P, Martínez P, Gómez-Lus ML, Prieto J. (1997). Meropenem-induced alteration of the susceptibility of *Escherichia coli* and *Staphylococcus*

aureus to the bactericidal activity of human polymorphonuclear leukocytes. *J Antimicrob Chemother*, 39:223-228.

71. Adalati R, Güner ÜS, Çevikbas. A, Johansson C. (2001). In vitro effect of amikacin, imipenem, cefodizime, IFN alpha-2a alone and combinations of antibiotics with IFN alpha-2a on polymorphonuclear leukocyte function in chronic hepatitis patients, *Chemotherapy*, 47(4):261-265.
72. Köken T, Kahraman A, Serteser M, Gökçe Ç. (2004). Hemodiyaliz ve oksidatif stres. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 5:9-13.
73. Miguel A, Linares M, Perez A, Moll R, Sanchis J, Escobedo JM, Miguel-Borja JM. (1988). Evidence of an increased susceptibility to lipid peroxidation in red blood cells of chronic renal failure patients. *Nephron*, 50(1):64-65.
74. Rao M, Guo D, Jaber LB, Sundaram S, Cendoroglo M, King JA, Pereira GJB, Balakrishnan SV. (2004). Dialyzer membrane type and reuse practice influence polymorphonuclear leukocyte function in hemodialysis patients. *Kidney Int*, 65:682-691.
75. Civan A, Keçeci T. (2010). Ginseng uygulamasının sporcularda ve sedanterlerde nitrik oksit ve malondialdehit üzerine etkisi. *Selçuk Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Bilim Dergisi*, 12(3):232-238.
76. Özden M, Meral H, Akayadın D, Çetinalp P, Kalender B. (2002). Erythrocyte glutathione peroxidase activity, plasma malondialdehyde and erythrocyte glutathione levels in hemodialysis and CAPD patients. *Clin Biochem*, 35:269-273.
77. Giardini O, Taccone-Gallucci M, Lubrano R. (1984). Effects of alpha-tocopherol administration on red blood cell membrane lipid peroxidation in hemodialysis patients. *Clin Nephrol*, 21:174-177.
78. Ghoresli Z, Jagtap PE, Ahaley SK, Gandhi. (2000). Oxidant-antioxidant status in acute and chronic renal failure. *Indian J Med Sci*, 54(4):131-135.
79. Köse K, Doğan P, Gündüz Z, Düşünsel R, Utaş C. (1997). Oxidative stress in hemodialyzed patients and the long-term effects of dialyzer reuse practice. *Clin Biochem*, 30:601-606.
80. Taccone-Gallucci M, Giardini O, Lubrano R. (1987). Red blood cell lipid peroxidation in predialysis chronic renal failure. *Clin Nephrol*, 27:238-241.

81. Erdoğan C, Unlucerci Y, Türkmen A, Kuru A, Çetin O, Bekpınar S. (2002). The evaluation of oxidative stress in patients with chronic renal failure. *Clin Chim Acta*, 322:157-161.
82. Altınordu Ş. ve Eraslan G. (2009). Effects of some quinolone antibiotics on malondialdehyde levels and catalase activity in chicks. *Food Chem Toxicol*, 47(11):2821-2823.
83. Rayaman P, Rayaman E, Çevikbaş A, Demirtunç R, Şehirli Ö A, Gürer SÜ. (2013). The effect of some antibiotics on polymorphonuclear leukocyte (PMN) functions and PMN's myeloperoxidase activity, glutathione and malondialdehyde levels of patients with type 2 diabetes mellitus in vitro. *MUSBED*, 3(4):200-207.
84. Wheeler CR, Salzman JA. (1990). Automated assay for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione reductase activity. *Anal Biochem*, 184:193-199.
85. Richard M, Arnaud J, Jurkovitz C. (1991). Trace elements and lipid peroxidation abnormalities in patients with chronic renal failure. *Nephron*, 57:10-15.
86. Paul JL, Sall ND, Soni T, Poignet JL, Lindenbaum A, Man NK, Moatti N, Raichvarg D. (1993). Lipid peroxidation abnormalities in hemodialyzed patients. *Nephron*, 64(1):106-109.
87. İlhan N, Var A. (2002). Sürekli ayaktan periton diyalizi ve hemodiyaliz hastalarında oksidatif aktivitenin değerlendirilmesi. *Türk Biyokimya Dergisi*, 27(1):17-22.
88. Seth RK, Saini AS, Aggorwai SK. (1985). Glutathione peroxidase activity and reduced glutathione content in erythrocytes of patients with chronic renal failure. *Scand J Haematol*, 35:201-204.
89. Yazıcı C, Köse K. (2004). Kronik böbrek yetmezliğinde oksidatif stres ve "biyomarkır"ları. *Nefroloji Dergisi*, 13(3):117-124.
90. Akan T. (2007). Hemodiyaliz Süresinin Kan Eser Element Düzeyleri Üzerine Etkisi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, Afyon, (Danışman: Doç. Dr. Tülay Köken).

9. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Refiye	Soyadı	Garip
Doğum Yeri	V.Preslav/Bulgaristan	Doğum Tarihi	14.04.1987
Uyruğu	T.C.	TC Kimlik No	28939775820
E-mail	refiye.g@gmail.com	Tel	0544 348 06 46

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Marmara Üniversitesi	2014
Lisans	İstanbul Üniversitesi	2010
Lise	Beylikdüzü 75.Yıl Cumhuriyet Lisesi (YDA)	2006

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
Mikrobiyoloji Analisti	Koçak Farma İlaç	Devam ediyor
Editör	VGS Danışmanlık	2,5 ay
Ücretli öğretmen	Nüzhet Usta Bilgincan İlköğretim Okulu	3 ay
Satış danışmanı	Oysho	2 ay

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	Çok iyi	İyi	Çok iyi

* Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Yabancı Dil Sınav Notu #								
KPDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
57,50								

#Başarılmış birden fazla sınav varsa, tüm sonuçlar yazılmalıdır

#KPDS: Kamu Personeli Yabancı Dil Sınavı; ÜDS: Üniversitelerarası Kurul Yabancı Dil Sınavı; IELTS: International English Language Testing System; TOEFL IBT: Test of English as a Foreign Language-Internet-Based Test TOEFL PBT: Test of English as a Foreign Language-Paper-Based Test; TOEFL CBT: Test of English as a Foreign Language-Computer-Based Test; FCE: First Certificate in English; CAE: Certificate in Advanced English; CPE: Certificate of Proficiency in English

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	71,3		

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Word, Excel, Power Point	Çok iyi

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Uluslararası ve Ulusal Yayınları/Bildirileri/Sertifikaları/Ödülleri/Diğer