

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

**STATİN VE KİNOLONLARIN ANTİFUNGAL ETKİLERİNİN VE ANTİFUNGAL
İLAÇLARLA ARASINDAKİ SİNERJİZMİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hazırlayan: Bio. Suhail J. Fadil

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Semra KUŞTİMUR

ANKARA
Ağustos 2009

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

..... Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : ... / ... / 2009

İmza
Jüri Başkanı
Prof .Dr. Semra KUŞTİMUR

İmza
Prof.Dr. Aydın KARAARSLAN

İmza
Doç.Dr. Ayşe KALKANCI

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	I
İçindekiler	II
Şekiller, Resimler, Grafikler	V
Tablolar	VI
Semboller, Kısaltmalar	VII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Antifungal ilaç tanımı	2
2.2. Antifungal ilaçların sınıflandırılması	3
2.2.1. Kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması	3
2.2.2. Etki mekanizmalarına göre sınıflandırılması	7
2.2.3. Uygulanma şekline göre sınıflandırılması	7
2.2.3.1. Lokal tedavide kullanılan antifungal ilaçlar	7
2.2.3.2. Sistemik tedavide kullanılan antifungal ilaçlar	13
2.3. Antifungal olmayan ancak antifungal etkisi olan maddeler	18
2.3.1. Bitkilerden izole edilen doğal bileşikler	18

2.3.2. Antifungal olmayan ilaçlar	21
2.3.3. Antifungal olmayan antimikrobiyaller	23
2.3.4. Diğer bileşikler	27
2.4. Statinler	31
2.5. Kinolonlar	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM	34
3.1. Gereçler	34
3.1.1. Cihazlar	34
3.1.2. Kimyasallar	35
3.2. Yöntemler	36
3.2.1. Örneklerin toplanması	36
3.2.2. Antifungal ilaçların hazırlanması	36
3.2.3. Atorvastatin ve moksifloksasin'in hazırlanması	36
3.2.4. Antifungal duyarlılık testi	37
3.2.5. Moksifloksasin ve atorvastatin'in in vitro duyarlılık testi	37

3.2.6. Kombinasyon testleri	38
3.2.7. Dama tahtası (Checkerboard) yöntemi	38
3.2.8. Fraksiyonel inhibitör konsantrasyon (FİK) ve FİK İndeksinin hesaplanması	39
3.2.9. İstatiksel analiz	42
4. BULGULAR	44
4.1. Amfoterisin B ve flukonazol'ün in vitro duyarlılık testinin sonuçları	44
4.2. Atorvastatin ve moksifloksasin'in in vitro duyarlılık testinin sonuçları	44
4.3. Kombinasyon testinin sonuçları	45
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇ	61
7. ÖZET	62
8. SUMMARY	65
9. KAYNAKLAR	68
10. ÖZGEÇMİŞ	78

Şekiller, Resimler, Grafikler	sayfa no
Şekil 1. Poliyen grubu antifungal ilaçların yapısal formülü	4
Şekil 2. Azol grubu antifungal ilaçların yapısal formülü	5
Şekil 3. Tetrahydroforanlar grubu antifungal ilaçların yapısal formülü	6
Şekil 4. Alilamin grubu antifungal ilaçların yapısal formülü	6
Şekil 5. Peptid-nuklosid grubu antifungal ilaçların yapısal formülü	6
Şekil 6. Sinerjik, aditif ve antagonistik etkileşimlerinin plak görüntüleri	41
Grafik 1. Amfoterisin B-Atorvastatin kombinasyonundaki etkileşim oranları	52
Grafik 2. Amfoterisin B-Moksifloksasin kombinasyonundaki etkileşim oranları	52
Grafik 3. Flukonazol-Atorvastatin kombinasyonundaki etkileşim oranları	52
Grafik 4. Flukonazol-Moksifloksasin kombinasyonundaki etkileşim oranları	52

Tablolar	sayfa no
Tablo 1. Kinolon grubu antibiyotikler	33
Tablo 2. Dama tahtası yönteminde ilaçların dilüsyonları	39
Tablo 3. İstatistiksel analizde MİK değerlerine karşılık gelen veriler	43
Tablo 4. Bilgili sisteminden elde edilen istatistik sonuçları	43
Tablo 5. Amfoterisin B, flukonazol, atorvastatin, moksifloksasin'in <i>C. albicans</i> kökenleri için MİK değerleri	46
Tablo 6. Amfoterisin B ve atorvastatin'in MİK sonuçları ile kombinasyon sonucundaki etkileşim tipleri	47
Tablo 7. Amfoterisin B ve moksifloksasin'in MİK sonuçları ile kombinasyon sonucundaki etkileşim tipleri	48
Tablo 8. Flukonazol ve atorvastatin'in MİK sonuçları ile kombinasyondaki etkileşim tipleri	49
Tablo 9. Flukonazol ve moksifloksasin'in MİK sonuçları ile kombinasyon sonucundaki etkileşim tipleri	50
Tablo10. Kombinasyonların sonucundaki sinerjik, aditif ve antagonistik etki bulunan kuyucuk sayıları ve etkileşim oranları (%)	51

Semboller, Kısaltmalar

Amf-B :	Amfoterisin B
GSF :	Griseofulvin
KTZ :	Ketokonazol
MİZ :	Mikonazol
FKZ :	Flukonazol
İTZ :	İtrakonazol
VKZ :	Vorikonazol
İV :	İntravenöz yol
5-FS:	Flusitozin
WHO:	World Health Organization
gyrA :	DNA gyrase subunit A
MSS :	Merkezi Sinir Sistemi
SCID :	Severe combined immunodeficiency
RPMI :	Roswell Park Memorial Institute
LDL :	Düşük dansiteli lipoprotein
HMG-KoA :	Hidroksimetilglutaril koenzim A
CLSI :	Clinical and Laboratory Standards Institute
DMSO :	Dimethyl sulfoxide
ATCC :	American Type Culture Collection
FİK :	Fraksiyonel inhibitör konsantrasyonu
MİK :	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
TOR:	Target of rapamisin

1.GİRİŞ

Mantar enfeksiyonlarının sıklığı son yıllarda kanser, AIDS, organ transplantasyonu, kemoterapi ve radyoterapi gibi çeşitli nedenlere bağlı immün yetmezlikli hasta sayısının artması, invaziv girişimlerin yaygınlaşması ve klinik mikrobiyolojideki gelişmelere paralel olarak artış göstermektedir. Mantar hastalıklarının artması ampirik antifungal kullanımının yaygınlaşmasına, dirençli mantar suşlarının ortaya çıkmasına ve direnç oranlarının artmasına neden olmaktadır. Buna ek olarak elde edilen aktif antifungal ilaçların azalması, bizi uygun ilaç seçimine, yeni ilaçlar incelemeye, yeni antifungal ilaçların geliştirilmesine, başka maddelerin antifungal etkilerini tek başlarına veya kombine olarak araştırmaya yönlendirmiştir. Antifungal ilaçlar zamanla tek başlarına uygulandığında elde edilen etki sonuçları yeterli olmadığı için, kombinasyon antifungal ya da antifungal ilaçlar ile başka maddeleri kombine yaparak antifungal ilaçlarda sinerjik etki oluşturmak, ilaçların etkileşimlerinde , toksisitelerinde potansiyel artış yaratmak ve etkenin ortadan kaldırılmasını sağlamak istenmektedir.^{1,2,3.}

Bu çalışmada, antifungal ilaç olmayan Statinlerden atorvastatin ve Kinolonlardan moksifloksasin'in antifungal etkileri, ayrıca antifungal ilaçlardan amfoterisin B ve flukonazol ile kombine edilerek sinerjik etkileri, üç standart ve yedi klinik *Candida albicans* kökeniyle in vitro çalışılarak araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Günümüzde, mantar enfeksiyonlarının önem kazanmasının nedenlerinden biri de bu enfeksiyonlara yol açan mantarların cins ve tür düzeyinde dağılımının değişmesidir. Etken olarak en sık gördüğümüz *Aspergillus fumigatus* ve *Candida albicans* yerine non-albicans *Candida* türleri, *Fusarium*, *Trichosporon* ve *Scedosporium* gibi daha nadir görülen mantar cins ve türleri ortaya çıkmıştır. Konvensiyonel ve yeni antifungal ilaçların ise bu etkenlere karşı olan aktiviteleri ya sınırlıdır ya da tam olarak bilinmemektedir. Bu nedenlerden dolayı, yeni ve dirençli mantar cins ve türlerine karşı etkili, toksik etkisi bulunmayan veya az olan ve kullanımda olan antifungal ilaçlarla çapraz direnç göstermeyen yeni antifungal ilaçlara ihtiyaç doğmuştur.^{1, 2, 3, 4.}

2.1. ANTİFUNGAL İLAÇ TANIMI

Antifungal ilaçlar, küf veya maya mantarlarının neden olduğu lokal ve sistemik enfeksiyonlarda kullanılan ilaçlardır. Mantarların tedavisinin zaman alması, sabır istemesi yanında tedavinin planlanmasında etkenin ve hastanın immün durumunun iyi bilinmesi gerekir. 1950'li yıllara kadar iyod, fenol türevleri, salisilik asid ve türevleri, benzoik asid gibi karbonik asidler kullanılıyordu. 1951 yılında hem oral hem de topikal etkili poliyen antibiyotik nistatin bulunmuştur . 1956'da ise poliyen bir antibiyotik olan amfoterisin B'nin bulunması sistemik antifungal tedavide dönüm noktası olmuştur. 1970 yılında esasen sitostatik madde olarak üretilen flusitozin mantar tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. 1958'de yüzeysel mikozların tedavisinde kullanılabilecek oral antifungal olan griseofulvin bulunmuştur. 1969 yılında imidazol türevlerinde klotrimazol ve mikanozol, 1977'de ketakonazol ve 1980'li yıllarda da geniş etki alanına sahip flukonazol ve itrakonazol piyasaya sürülmüştür.²

2.2. ANTİFUNGAL İLAÇLARIN SINIFLANDIRILMASI

Antifungal ilaçları üç şekilde sınıflandırabiliriz :

- . Kimyasal yapılarına göre
- . Etki mekanizmalarına göre
- . Kullanıldığı hastalığa göre

2.2.1. Antifungal ilaçların kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması

Poliyenler : Amfotersin B, Nistatin

Azoller : Ketokonazol, Flukonazol, İtrakonazol, Mikonazol, Vorikonazol, Klotrimazol, Bifonazol, Ekonazol, İzokonazol, Oksikonazol, Fentikonazol

Alilaminler : Terbinafin

Florinitidler : Flusitozin

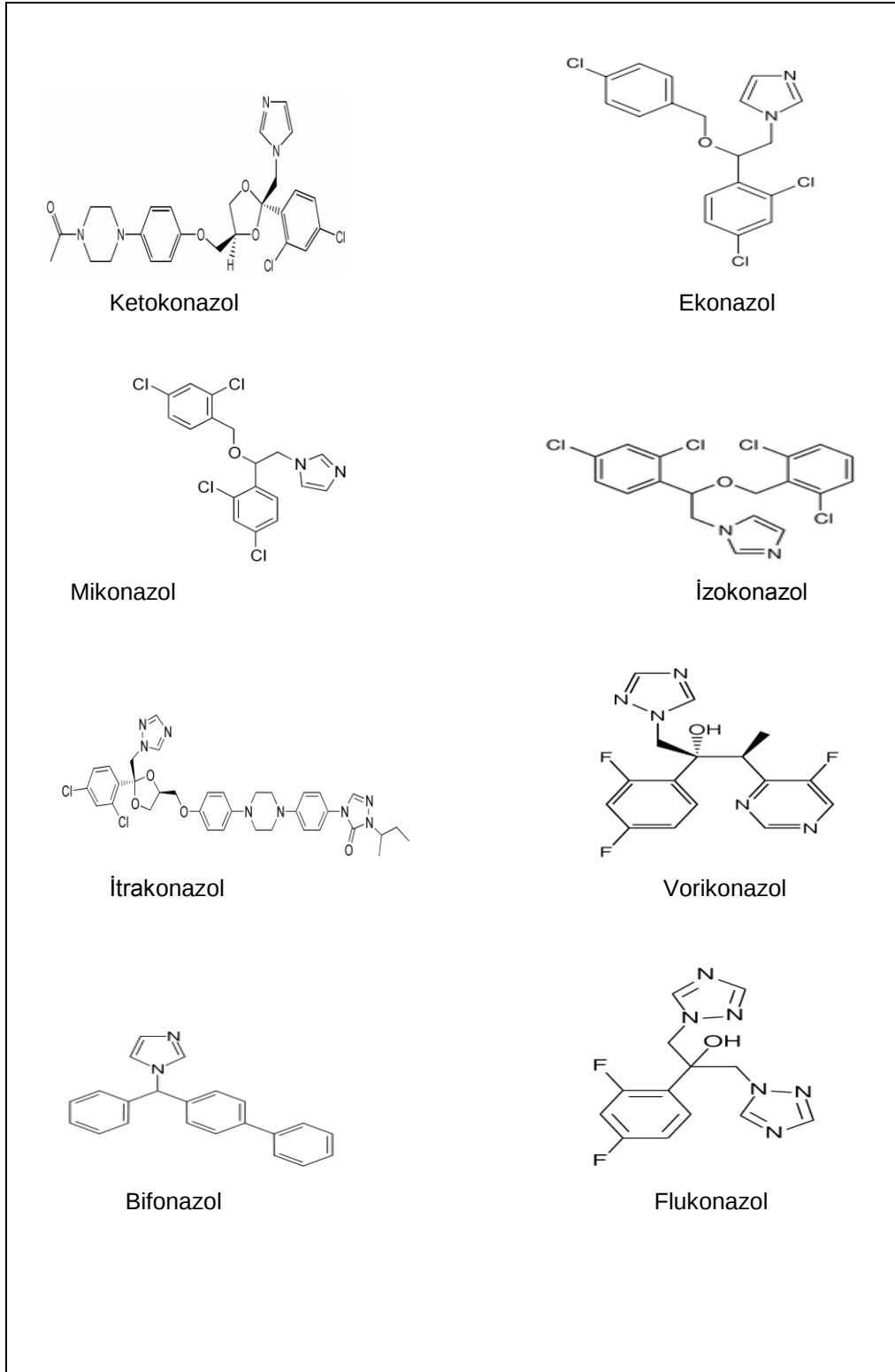
Ekinokandinler : Kaspofungin, Anidulafungin, Mikafungin

Peptid-nükleosidler : Nikkomisin Z

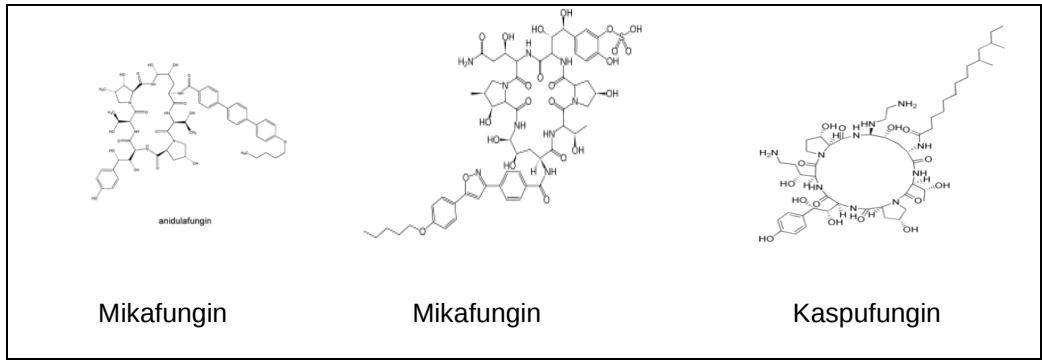
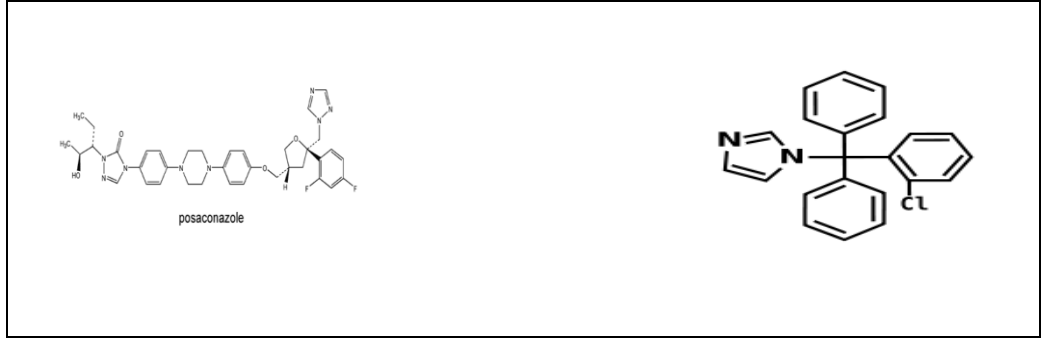
Tetrahidroforanlar : Sordarin, Azosordarin

Diğerleri : Griseofulvin^{5,6,7}.

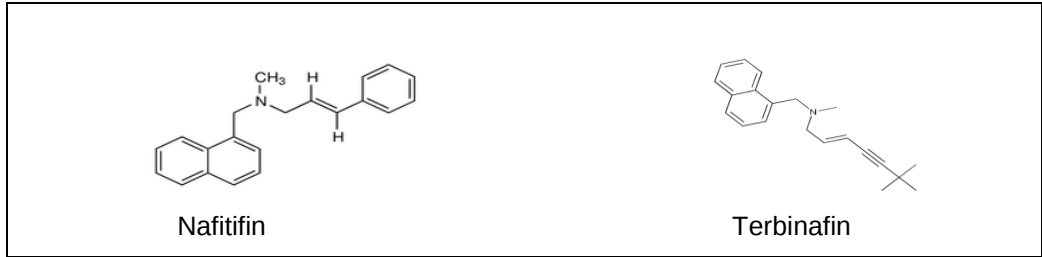




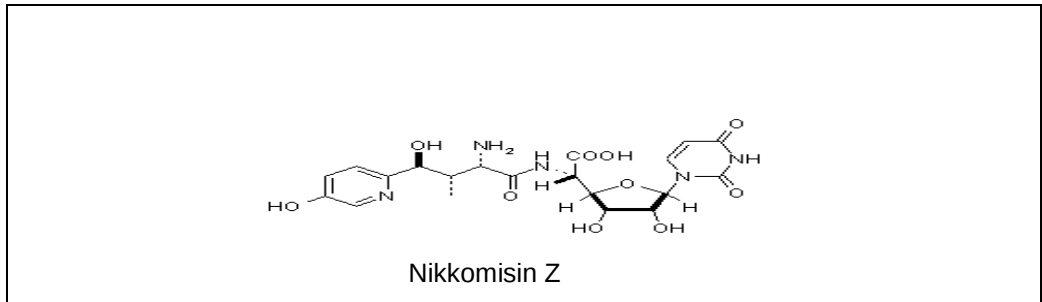
Şekil 2. Azol grubu antifungal ilaçların yapısal formülü



Şekil 3. Tetrahydroforanlar grubu antifungal ilaçların yapısal formülü



Şekil 4. Alilamin grubu antifungal ilaçların yapısal formülü



Şekil 5. Peptid-nuklosid grubu antifungal ilaçların yapısal formülü

2.2.2. Antifungal ilaçların etki mekanizmalarına göre sınıflandırılması

Antifungal ilaçların etki mekanizmalarına göre sınıflandırılması mantar hücresinde etkilenen yapılara göre yapılır.⁸

Mantar hücre membranını bozan : **Amfotersin B**

Ergosterol sentezini inhibe eden : **Azoller, Alilaminler**

Mantar hücre nükleik asidini inhibe eden : **Flusitozin**

Mantar hücre glukon sentezini inhibe eden : **Ekinokandinler**

Mantar hücre kitin sentezini inhibe eden : **Nikkomisin Z**

Mantar hücre protein sentezini inhibe eden : **Sordarin, Azosordarin**

Mantar hücre spindellerini inhibe eden : **Griseofulvin**

2.2.3. Antifungal ilaçların uygulanma şekline göre sınıflandırılması

Antifungal ilaçlar kullanıldığı hastalığa göre 2 sınıfa ayrılır :

1. Lokal tedavide kullanılan antifungal ilaçlar
2. Sistemik tedavide kullanılan antifungal ilaçlar

2.2.3.1. Lokal tedavide kullanılan antifungal ilaçlar

Amfoterisin B (Amf-B) : *Streptomyces nodosus*'dan elde edilen makrosiklik poliyen bir antimikotiktir. Sistemik ve fırsatçı mantar enfeksiyonlarında kullanılabilecek ilk seçenek ilaçtır. Amf-B hücre zarının temel sterolu olan ergosterole bağlanıp zarın geçirgenliğini bozar. Bu duruma bağlı olarak hücrenin metabolizması bozulur ve ölür. İlaç ayrıca hücreye oksidatif zarar verir. Amf-B geniş spektrumlu bir antifungal

olup, maya ve küflere etkilidir. Ancak dermatofitler, *Fusarium* türlerine *Pseudallescheria boydii*, kromoblastomikoz etkenlerine etkisizdir. Flusitozin veya rifampisin(tek başına etkisiz olsa da) ile kombinasyon belirli mantar türlerinde in vitro olarak sinerjistik etkili olabilmektedir. Amfoterisin B deri ve mukozadan emilmez. Bu neden ile intravenöz olarak verilir.Karaciğer ve böbrek yetmezliği ilacın serum yoğunluğunu etkilemez. Verilen dozun %90'ı serum proteinlerine bağlıdır. Dolayısı ile organlardaki yoğunlukları düşüktür. Amf-B'nin intraveöz formundan ayrı olarak,oral süspansiyon , tablet,krem ve pomat şekilleri mevcuttur. Deri kandidozu ve vulvovajinal kandidoz tedavisinde kullanılır.Ancak sistemik kullanımı olan bu antifungal ajanın topik kullanımına sıcak bakılmaz. Amf-B'nin klasik koloidal formundan ayrı olarak lipozomal formu da rutinde kullanılmaktadır. Lipozomal form yüksek dozlarda dahi toksik özelliği azaltılmıştır.Klasik koloidal formunda günlük doz 0.3-1 mg/kg iken, lipozomal formunda 1-3 mg/kg'dır. Ancak lipozomal formu oldukça pahalıdır. Amfoterisin B'nin üşüme, titreme, ateş bulantı kusma gibi erken reaksiyonlar yanında, renal tübüler harabiyetin de görüldüğü böbrek yetmezliği ve anemi ile seyreden komplikasyonları söz konusu olabilir.^{8, 9}

Nistatin : İlk bulunan poliyen grubu antifungal ilaçtır.Başlıca *Candida* cinsi mayaları etkiler. Ağız ve barsak kandidiyozunun lokal tedavisinde kullanılır. Nistatin mantarlarda sitoplazma membranının geçirgenliğini arttırarak etki eder. Nistatin *Candida albicans* ve diğer *Candida* türlerine, *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum* ve *Aspergillus*'a etkilidir. Erişkin ve çocuklarda intestinal tedavide günde1.5-3 M.Ü, 0.5-1ÜM (1yaşına kadar) üç ayrı doza bölünmüş olarak verilir. *Candida* vajinitinde en az 2 hafta günde 1-2 fitil uygulanır. Nistatin film tablet, draje, süspansiyon, ağız jeli, pomat, krem, macun, fitil, vajinal tabet ve genital krem şeklinde bulunabilir.^{8, 9.}

Pimarisin : Fungistatik etkili tetraen olarak poliyen grubuna dahildir. Işığa duyarlı, suda erimez ve rezorbe olmaz. Candida, Trichophyton ve Microsporum türleriyle oluşan derinin mantar enfeksiyonlarında kullanılabilir. Pimarisin, krem, drajeler, göz pomadı olarak mantarlarla oluşan deri hastalıklarında neomisin ve hidrokortizon ile birlikte losyon ve pomat olarak da kullanılır.^{8,9}

Klotrimazol: Geniş spektrumlu ve lokal toleransı iyi olan imidazol derivelerinin başlıca substratıdır. Zayıf bazik, suda çözünmez, fakat lipid çözücülerde iyi çözünür. Klotrimazol'un dermatofitlere (Trichophyton ve Microsporon türleri, *Epidermophyton floccosum*), mayalara (Candida) ve yaygın mantar enfeksiyonlarının belirli etkenlerine karşı fungistatik etkisi vardır. Klotrimazol'un katkı maddelerine karşı (ör. propilen veya isopropanol) deride nadiren hassasiyet ve reaksiyonlar görülebilir. Vajinal preparatların kullanımında ufak bir rezorbe olabilir (<%10) ve bu durumda da tahriş semptomları görülebilir. Klotrimazol, deri kremi veya pomadı günde 2-3 kez hastalıklı bölgeye ince bir şekilde sürülür ve ovalanır. Sprey, günde 2 kez ince tabaka halinde püskürtülür. Vajinal tablet akşamları günde 1-2 kez (7 gün boyunca), Candida ve Trichophyton ile oluşan deri enfeksiyonlarında 0.5 g olarak 4-6 hafta, eritrazma ve pityriasis versicolor olgularında ise 3 hafta verilir.⁸

Bifonazol : Geniş spektrumlu ve iyi tolere edilebilen güçlü etkili bir antimikotiktir. Dermatofitler, Candida, Aspergillus türleri, *Malassezia furfur* ve *Corynebacterium minutissimum*'a karşı etkili topikal bir antifungal ilaçtır. Bu maddenin, deride uzun süre kalması nedeniyle günde bir kez uygulanma kolaylığını sağlaması bir avantajdır. Bifonazolun, lokal tedavi için krem, pudra veya sprey şekilleri mevcuttur.⁸

Ekonazol: Mikonazol ile kimyasal olarak yakın olan (1 klor atomu eksik) imidazol derivativesidir. Ekonazol in vitro olarak, mantarlara biraz daha güçlü bir etki gösterir. Deri mikozlarının ve vajinal pamukçuğun lokal tedavisinde güçlü bir etkisi vardır. Ekonazol lokal olarak pudra, krem, losyon, solüsyon, fitil, sprey şeklinde kullanılmaktadır. Yan etkileri olarak kızarıklık, yanma ve kaşıntı oluşabilir. ^{8, 11}

İzokonazol: Candida, dermatofitler ve saprofit küf mantarlarına etkili olan bu azol, derinin yüzeysel mikozlarında (eritrazma ve *Pityriasis versicolor* dahil) %1'lik krem veya sprey olarak kullanılır. Ketil stearil alkol (kremde) veya propilenglikole karşı (spreyde) aşırı duyarlılık mümkündür. Gözlerle temas engellenmelidir. İzokonazol, geniş alanlarda veya uzun süreli olarak kullanılmaz. Yan etkileri olarak deri ve mukozada tahriş belirtileri görülebilir. ^{8, 11}

Oksikonazol: Trichophyton, Epidermophyton, Microsporum ve Candida türleri, *Malassezia furfur* ve saprofit küf mantarlarına karşı, geniş etki spektrumlu, lokal kullanılan bir azoldur. Oksikonazol, deriden neredeyse hiç rezorbe olmaz. Yan etkileri olarak, tedavi edilen deri bölgesinde yanma ve kaşıntı hissi, daha uzun süreli uygulamada kuruma ortaya çıkabilir. Oksikonazol'un krem, pudra, veya solüsyonu (sürmek veya püskürtmek için) en az 3 hafta hastanın deri bölgesine uygulanmalıdır. Nükslerin engellenmesi için deri belirtileri tamamen iyileştikten sonra lokal tedavinin 1-2 hafta devam ettirilmesi önerilmektedir. Candida vajinitinin tedavisi için vajinal tabletler de vardır. ⁸

Fentikonazol : Topikal kullanılan imidazol derivativesidir. Dermatofitler, *Candida* türleri ve saprofit küflere etkili olup Aspergillus türlerine ise etkisizdir. Candida'ya in vitro olarak klotrimazolden daha zayıf etkili olduğu gösterilmiştir. Deriden rezorbsiyon <%0.5, intravenöz uygulama sonrasında ise %1-3'dür. Topikal kullanımda yan etkiler olarak

bazen yanma, kaşıntı ve aşırı duyarlılık reaksiyonları görülebilir. Krem, sprey ve solüsyon şeklinde bulunmaktadır.^{8, 9,11}

Terbinafin : Alilaminler grubunda bulunan hem fungistatik hem de fungisid özellikte olan bir antifungaldir. Skualen epoksidaz inhibitörü olarak ergosterol sentezini inhibe eder ve hücre zarının işlevini bozar. Dermatofitlere oldukça etkili olup, Candida türlerine hem fungustatik etki hem de fungusid etki gösterir. Aspergillus türlerine in vitro olarak etkili iken, in vivo olarak etkisizdir. Sonuç olarak ilacın kullanımı dermatofitozlar ile sınırlanmıştır. Terbinafinin topikal uygulama için kremi, sistemik kullanım için oral tableti mevcuttur. Topikal tedavinin etkisiz kaldığı durumlarda oral tableti günde tek doz 250 mg verilir. 2-6 hafta süre ile kullanılır. Terbinafin topikal olarak deriye uygulandığında dozun %5'i, ağızdan verildiğinde ise dozun %79'u gastrointestinal sistemden emilir. İyi tolere edilir. Günlük 250 mg'lık tedavilerde yan etki azdır, doz arttırıldığında mide yakınmaları, hastaların %1-2 sinde raş, ürtiker gibi deri reaksiyonları gözlemlenebilir.^{8, 9,11}

Naftifin: Alilamin grubundan, tedavi etme oranı yüksek olan bir antimikotiktir. Dermatofitler, mayalar, saprofit küfler ile oluşan dermatofitozlara etkilidir. Krem, jel ve solüsyon içerisinde %1 konsantrasyonda naftifin bulunur. Naftifin iyi tolere edilir. Nadir olgularda geçici lokal tahrişler yanma ve deride kuruma oluşabilir. Bu belirtiler kremdeki ketil ve stearil alkol ve solüsyondaki propilenglikol sonucu da oluşabilir. Gözde kullanılmaz. Naftifin günde 1-2 kez ince olarak sürülmelidir. Onikomikozlar da solüsyon şekli kullanılır.^{8,9,10}

Amorolfın : Morfolin derivesi olan topikal antimikotiktir. Mantarlarda sterol sentezini inhibe ederek fungusid etki gösterir. Özellikle dermatofitlere ve Candida türlerine karşı geniş etki spektrumuna sahiptir. Topikal preparasyonlardan neredeyse hiç rezorbe olmaz.

Tolnaftat: Kokusuz ve renksiz topikal antimikotiktir. Trichophyton, Microsporum ve Epidermophyton türlerine fungisid etkili olduğu halde, Candida türlerine etkili değildir. ⁸

Siklopiroksolamin: Lokal antimikotik olup başka antimikotiklerle benzeri olmayan piridon derivesidir. Aminoetanol tuzu olarak kullanılır, dermatofitlere, patojen mayalara ve saprofit küflere etkilidir. Derinin stratum corneum tabakalarına ve tırnaklara penetrasyon yeteneği güçlüdür. Perkütan rezorbsiyonu yaklaşık %1'dir. Vajinal mukozaya uygulama yapıldığında, daha güçlü rezorbsiyon gösterir (bu nedenle gebelikte kullanılmaz). Genelde iyi tolere edilir, nadiren deride kaşıntı ve yanma oluşabilir. Gözlere temas engellenmelidir. Krem ve vajinal krem ketil alkol içermektedir. Derinin lokal mantar enfeksiyonları, tırnak mikozu ve vajinal kandidozun tedavisi başarılıdır. Ticari olarak solüsyon, krem pudra ve vajinal krem (günde 2-3 kez ince bir şekilde sürülür) olarak bulunur. Tırnaklara uygulanan özel bir solüsyonu da vardır.

8

Griseofulvin (GSF): Bazı Penicillium türleri tarafından üretilen ve dermatofitlerin tedavisinde ağızdan alınarak kullanılan ilk antifungaldir. Mantar hücrelerinin mikrotübüler proteinlerine bağlanmak sureti ile mitozu baskılayarak etki gösterir. Sadece dermatofit türlerine etkilidir. Direnç ve tedavi başarısızlığı söz konusu değildir. GSF lipofilik olup, yağlı yemekler ile alınması emilim miktarı ve hızını artırır. Günde tek doz 500 mg veya 10 mg/kg/gün için 4-6 hafta, tırnak enfeksiyonları için 6-12 ay uygulanır. Barbitüratlar GSF'nin emilimi ve etkisini azaltabilir. Karaciğerde metabolize olur, metabolitler idrarla atılır. Ancak GSF alındıktan sonra ilaç ve metabolitlerden bir tanesi keratine bağlanır ve hücrelerin üremesi ile pasif olarak deri yüzeyine doğru taşınır. GSF genellikle iyi tolere edilir. En sık görülen yan etkileri baş ağrısı ve deri döküntüleridir. Bu etkilere fotosensitivite eşlik edebilir. Bu neden ile ilaç alanların güneş ile temasının azaltılması istenir. Ayrıca bulantı, kusma,

karın ağrısı gibi yan etkiler gözlenebilir. Gebelik, porfiri, karaciğer yetmezliği ve sistemik lupus eritematozusda kullanımı kontrendikedir.^{8, 9,11}

2.2.3.2. Sistemik tedavide kullanılan antifungal ilaçlar

Ketokonazol (KTZ): Sentetik bir dioksolon imidazol bileşiğidir. Mantar hücre zarındaki ergosterol sentezinde sitokrom P450'ye bağımlı 14 α -demetilasyon basamağını önleyerek hücre zarı işlevini bozar. Kandidalar, sistemik mantar etkenleri, dermatofitlere etkili bir ilaçtır. Aspergillus ve Mucor'a çok az etkili veya dirençlidir. KTZ'nin topikal preparatları krem ve şampuan, sistemik preparatı ise oral tablettir. Deri mikozlarında sabah-akşam olmak üzere, pityriasis versicolor'da 2-3 hafta, dermatofit enfeksiyonlarında 3-6 hafta kullanılır. KTZ oral tablet kronik mukokutanöz kandidoz, sistemik mikoz ve bazı yüzeysel mikozlarda kullanılır. Erişkin dozu 200-400 mg/gün olup, doz 800 mg/gün'e kadar çıkarılabilir. Günlük tek doz veya sabah-akşam bölünmüş dozlar şeklinde uygulanır. Ketakonazolün yüksek doz uygulanmasında en sık gözlenen yan etkisi bulantı ve kusmadır. Hastaların %5-10'unda karaciğer fonksiyon testlerinde yükselme olabilir. Ayrıca yüksek doz KTZ, steroid metabolizmasını bozarak testosteron azalmasına neden olabilir ve libidoda azalma, oligospermi, kıl dökülmesi, jinekomasti gibi belirtiler ortaya çıkarabilir.^{8, 9}

Mikonazol (MKZ): Sentetik bir fenetil imidazol türevidir. KTZ benzeri etki gösterir. MKZ ağızdan alındığında iyi emilmez. Parenteral uygulamada 1000 mg ile en yüksek serum konsantrasyonu elde edilir. BOS'a geçmez. Eklem sıvısı ve göze geçişi iyidir. MKZ'nin derin kandidoz ve kriptokokozdaki etkisi bilinmemekte olup, ülkemizde preparatı yoktur. Mikonazol'un oral tablet, oral jel, krem ve vajinal ovul olmak üzere çeşitli topikal preparatları mevcuttur. Özellikle mikonazolün topikal preparatların kullanılması önerilmektedir.^{8,9}

Flukonazol (FKZ): Sentetik bir bistriol bileşimidir. Mantar hücre zarındaki ergosterol sentezinde sitokrom P450'ye bağımlı 14 α -demetilasyon basamağını önleyerek etki gösterir. Ergosterol yerine metillenmiş sterollerin birikimi hücre zarı fonksiyonlarını bozar. Geniş spektrumlu bir antifungaldır. *Candida krusei* ve *Torulopsis glabrata*'nın bazı suşlarında direnç gözlenmekle birlikte diğer suşları duyarlıdır. Ayrıca *Cryptococcus neoformans* ve sistemik mikoz etkenlerine etkilidir. *Aspergillus* ve zigomikoz etkenlerine etkisi yoktur. Ağızdan alınan FKZ'nin tamamı yakını GİS'ten emilir. Yiyecekler emilimi etkilemez. Vücut sıvılarına yayılımı iyidir. Flukonazol diğer azollerden farklı olarak, vücutta metabolize olmaz, idrar ile aktif maddesi doğrudan dışarı atılır. Flukonazol'ün 50-100 mg'lık oral kapsülleri, 2 mg/ml aktif madde içeren 50 ml'lik parenteral eriyikleri mevcuttur. Bu preparatları günde tek doz olarak kullanılır. Flukonazol genellikle sistemik kandida ve kriptokok enfeksiyonunda kullanılmakla birlikte lokal uygulama için de preparatları mevcuttur. Flukonazol iyi tolere edilir. Bulantı, kusma en sık gözlenen yan etkisi olmakla birlikte nadir olarak gözlenir.^{8,9}

Itrakonazol (ITZ) : sentetik bir dioksolon triazol bileşimidir. Etki mekanizması FKZ'a benzer. Ancak ITZ'de sistemik mantar, kandida ve kriptokok enfeksiyonları yanında, *Aspergillus*, *Malassezia* türleri ve dermatofitlere de etkilidir. Ağızdan ITZ'nin yaklaşık %55'i gastrointestinal sistemden emilir. İlaç lipofilik olup, tok karına emilimi artar. Mide asiditesi yetersizliğinde emilim azalır. İtrakonazol'ün %99'undan fazlası serum proteinlerine bağlanır. Dermatofitozlarda 100 mg/gün 2-4 hafta, oral kandidozda 100-200 mg/gün 2 hafta, vajinal kandidozda günde iki defa 200 mg verilir. İyi tolere edilir. Yan etkileri nadirdir. Bazı vakalarda asemptomatik olarak karaciğer fonksiyon testlerini yükseltebilir.^{8,9}

Vorikonazol (VKZ): Düşük konsantrasyonlarda mantarların sterol sentezini tamamen inhibe eden yeni, sistemik etkili

triazol derivativesidir. *Candida albicans*'a karşı in vitro olarak flukonazolden daha güçlü olup, aynı zamanda flukonazole dirençli *C. albicans* suşlarına karşı da etkilidir. Bunun dışında *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *Cryptococcus neoformans*, *Pseudallescheria boydii* ve *Blastomyces dermatitidis*'e de etkilidir. Aspergillus türlerine (*A. fumigatus* dahil) karşı aktivitesi amfoterisin B'den daha güçlü ve itrakonazol ile eşdeğerdir. Amfoterisin B ve itrakonazol dirençli *Aspergillus fumigatus* suşları VKZ'e duyarlı olabilir. Vorikonazolün amfoterisin B veya itrakonazol ile kombinasyonları Aspergillus türlerinde in vitro olarak indifferans veya antagonizma gösterir. Yan etkileri, serumda karaciğer enzimlerinin artması sonucu karaciğer fonksiyon bozuklukları ve geçici görme bozukluklarıdır. Deri döküntüleri de görülebilir. 0.2 g'lık tabletler, İV infüzyon için ampuller(10 mg/ml) mevcuttur. Uzun bir süre için (birkaç hafta) günde 1-2 kez oral yoldan 0.2 g verilir. ^{8, 9,11}

Flusitozin (5-FS) : Florlu primidin olan 5-FS, sitozin permeaz aracılığı ile hücre içine girer. Yine aynı enzim tarafından 5-florositozini 5-florourasile ve sonra da 5-florouradilik asite çevirir. Bu RNA ile birleşerek, RNA'daki urasilin yerine geçer ve protein sentezini bozar. 5-FS ayrıca timidilat sentetazı inhibe ederek DNA sentezini önler. 5-FS özellikle kandida türleri ve *Cryptococcus neoformans*, *Geotrichum* ve *Cladosporium* türlerine de etkilidir. Ağızdan alınan 5-FS'in tümüne yakını gastro intestinal kanaldan emilir. 250 ve 500 mg kapsülleri mevcuttur. Günde 4 kez uygulanarak, 25 mg/kg/gün doz ile etkin serum düzeylerine ulaşılır. İlaç ağızdan alınmadığında infüzyon tarzında intravenöz olarak verilebilir. Genellikle iyi tolere edilir. Yan etki olarak gastrointestinal sistem, karaciğer ve hemopoetik sistemle ilgili semptomlar gelişebilir ve ilaç kesilmesi ile kaybolur. Bulantı, kusma ve ishal en sık görülen komplikasyonlardandır. Hemopoetik komplikasyonlar için en sık olarak lökopeni ve daha az olmak üzere trombositopeni gelişebilir. Komplikasyonların gelişip gelişmediğinin takibi için ilaç alan hastaların

haftada iki kez tam kan sayımı yapılmalı, serum kreatinin ve transaminaz düzeyleri izlenmelidir. Flusitozin, amfoterisin B ile verildiğinde amfoterisin B'nin nefrotoksik etkisi artar. Bu nedenle amfoterisinin B'nin daha düşük dozları uygulanır. Flusitozin tek başına verildiğinde direnç gelişme riski yüksektir.^{8,9,10}

Ekinokandinler: Son yıllarda araştırmacılar mantarların farklı bir yapısal komponentini hedefleyen ilaçlar üzerine odaklanmıştır. İnsanda hastalık etkeni olan birçok mantarın duvarında, memelilerde bulunmayan kendilerine özgü komponentler vardır. Duvarın dış yüzünü mannopteinler, iç yüzünü 1,3-beta-D-glukan oluşturur. Glukan hücre duvarının yapısal bütünlüğünden sorumludur. Ekinokandinler, mantar hücre duvarının bileşeni olan 1,3-beta-D-glukan sentezini non-kompetitif inhibe ederek mantar hücre duvarı oluşumunu engellerler.

Kaspofungin, Mikafungin ve Anidulafungin içeren ekinokandinler kimyasal olarak modifiye edilmiş mantar molekülleridir. Aralarında farmakokinetik, farmakodinamik, yan etkiler ve ilaç etkileşimleri açısından minimal farklar olmakla birlikte etki mekanizmaları ve spektrumları benzerdir. Kaspofungin, ruhsatlanan ekinokandin ajanların ilkidir. Bu sınıftaki tüm ilaçlarla birlikte bu ilacın sadece parenteral peraparatları (50 ve 70 mg IV formülasyonları) mevcuttur ve spektrumu çoğunlukla *Candida* ve *Aspergillus* türleri ile sınıflandırılmıştır. Özellikle ampirik kullanım ile ilgili olarak bu sınıftaki ilaçlar *C. neoformans* ya da *Aspergillus*'tan başka diğer filamentöz mantarlara karşı belirgin bir aktivite göstermişlerdir.

Fungisidal özellikte olan bu grup, esas olarak diğer antifungallere dirençli olan suşlar dahil olmak üzere *Candida*lara etkilidir. *Candida parapsilosis* ve *C. guilliermondii*'ye etkinlikleri daha az olmakla beraber klinik önem taşımaz. *Cryptococcus neoformans*'a etkili değildir. *Aspergillus*'lara etkin olmakla beraber, çoğalmakta olan hiflere etkisi sınırlıdır. Mikafungin ve

anidulafungin şimdiye kadar yetersiz olan ağır Aspergillus enfeksiyonlarının tedavisinde gelecek için umut veren bir maddedir.^{8,9,10,11}

Nikkomisin Z: Nikkomisin Z, mantarlarda kitin sentezi inhibitörü olan modifiye bir nukleozid dipeptittir. Mantarların hücre duvarının yapımında gerekli olan kitin sentetazı inhibe eder. *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis* ve *Blastomyces dermatitidis* gibi mantarlar oldukça yüksek bir kitin içeriğine sahip olduklarından, nikkomisin Z'ye belirgin olarak duyarlıdır. Maya türlerine karşı aktivite daha zayıftır. Aspergillus'lar dirençlidir. Sağlıklı gönüllülere oral yoldan tek uygulama halinde 1 g verildikten sonra 4.5 mg/l değerinde ortalama serum pik düzeylerine ulaşılmaktadır.⁸

Sordarin : Sordarin derivesi bir tetrahidrofuran türevidir ve belirli mantarların protein sentezini (elongasyon faktörü) selektif olarak inhibe eden yeni bir antimikotikdir. Sordarin, in vitro olarak çok düşük konsantrasyonlarda hem azole duyarlı hem de azole dirençli *C. albicans* suşları ile *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis*'e etkili olmakla birlikte, *C. krusei* ve Aspergillus'lara etkisizdir.⁸

Azasordarin : Aktivasyon profili daha geniş ve farmakolojik özellikleri daha iyi olan yeni sordarin türevleri geliştirilmesi için yapılan çalışmalar sonucunda azasordarinler olarak adlandırılan grup ortaya çıkmıştır. Azasordarinler, *C.krusei* hariç flukonazole dirençli suşlar dahil olmak üzere çeşitli Candida türlerine karşı aktivite gösterirler. Bunun yanı sıra bu bileşikler, *Pneumocystis jiroveci*, *Rhizopus arrhizus* ve *B. capitatum*'a karşı da potent etkiye sahiptir. *Cryptococcus neoformans* ve Aspergillus türlerine karşı ise etkisi yoktur.⁸

2.3. ANTİFUNGAL OLMAYAN ANCAK ANTİFUNGAL ETKİSİ OLAN MADDELER

Son yıllarda birden fazla ilaca karşı dirençli olan mantar suşlarının yayılması, elde edilen aktif antifungal ilaç sayısının az olması ve gelişen direnç mekanizmalarını önlemek nedeniyle yeni antifungal etkili bileşiklere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle araştırmacılar, antimikrobiyal olmayan bileşiklerden ve tıbbi bitkilerden izole edilen, antifungal etkili maddeleri araştırmaya yönelmişlerdir.

2.3.1. Bitkilerden izole edilen doğal bileşikler

Mikroorganizmaların sebep oldukları çeşitli hastalıkların tedavisi için çok değişik yollar denenmiştir. Bunların bir tanesi de doğal olarak yetişen ve halk arasında şifalı bitkiler olarak adlandırılan birçok bitkinin ilaç olarak kullanılmasıdır. Bunlar çeşitli hastalıklara karşı eskiden olduğu gibi günümüzde de yaygın şekilde kullanılmaktadır. Dünya Sağlık Teşkilatı WHO, 91 ülkenin farmakoterapi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerinin toplam miktarının 20000 kadar olduğunu bildirmiştir. Doğal olarak yetişen bitkilerin gövde, yaprak, tohum ve köklerinden elde edilen ekstraktlar, yağlar, terpinoidler, saponinler, fenolik bileşikler, alkaloidler, peptidler ve proteinler bir çok mikroorganizmanın büyümesini inhibe etmektedir. Bu şifalı bitkilere karşı ilginin fazla olmasının birçok sebebi vardır. Bunlardan biri; şifalı bitkilerin sentetik kökenli ilaçlar gibi beklenmedik yan etkilere sebep olmamalarıdır. Ayrıca bu bitkisel ilaçların birden fazla hedef bölgeleri bulunmaktadır. Çok eski çağlardan beri kullanılmaları yan etkilerinin daha iyi bilinmesini sağlamıştır.

Liliaceae ailesinden *Allium sativum* (sarımsak ve soğan), agar dilisyon aracılığıyla elde edilen (aqueos) ekstraktlarının *Malassezia furfur*, *C. albicans* ve dermatofitlere (*T. rubrum* ve *T. mentagrophytes*) etkileri gözlenmiştir.¹²

Rutaceae ailesinden *Citrus paradisi*'nin (üzüm meyvesi) tohum ekstraktının, agar difüzyon yöntemi ile *C. albicans* üzerine antifungal etkisi (MİK 25 ug/MI) gösterilmiştir. Bu üzüm ekstraktlarının farelere amfoterisin B ile kombine verildiğinde doza bağlı olarak sinerjik antifungal etki (MİK 5 ug/MI) ortaya çıktığı saptanmıştır. ¹³

Apiaceae ailesinden *Pimpinella anisum*'dan (anise meyvesi) elde edilen yağların in vitro olarak üç klinik *Candida* türüne (*C. krusei*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis*) karşı etkili (MİK %17-20) olduğu gözlenmiştir. Aynı meyveden alınan yağların *T. rubrum* ve *T. mentagrophytes*'e karşı (MİK % 1.5-9.0) inhibisyon etkisi de gözlenmiştir. ¹⁴

Umman'da yetişen *Haplophyllum tuberculatum* bitkisinden elde edilen kimyasal yağ bileşikleri doza bağlı olarak *Fusarium oxysporium* mantarının üremesini inhibe etmektedir. ¹⁵

Toxodiaceae ailesinin *Cryptomeria japonica* (japonya pirinci) dokularından izole edilen yağların in vitro olarak altı patojen mantarın üremesini inhibe ettiği gözlenmiştir. ¹²

Apiaceae ailesinin, *Daucus carota* (Vaha havucu) kökünden bioassay 'guided fractionation' aracılığıyla elde edilen ve seter tuzu içeren terpenlerin *Fusarium oxysporum* ve *Aspergillus niger* mantarlarına etkileri saptanmıştır. Bu tür terpenler cartol ve B-caryophyllene de içermektedir. Cartol havuç tohumunun temel yapısıdır ve bu da mantarın radyal üremesini %65 inhibe etmektedir. ¹²

Solanaceae ailesinin *Solanum tyberosum* (Patates) tuberlerinden izole edilen AFP-J proteini *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum* ve *Saccharomyces cerevisiae*'nın üremesini önlemiştir. ¹²

Fabaceae ailesinin *Phaseollus vulgaris* (fasulye) tohumundan izole edilen vularin peptidinin *Fusarium oxysporum* ve *Botrytis cinerea* mantarlarının in vitro olarak üremelerini inhibe ettiği bildirilmiştir. ¹²

Türkiye’de halk arasında adaçayı ismiyle tanınan *Salvia* L. cinsi (*Lamiaceae*) bitkiden su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağların *Candida albicans* üzerine etkisi olduğu gözlenmiştir. ¹⁶

Bir çalışmada, Kahramanmaraş ve Hatay yöresinden toplanan *Parmelia furfuracea* (L). Zopf. (Liken), *Crocus chrysanthus* (çiğdem), *Rumex scutatus* L. (kuzukulağı), *Myrtus communis* L. subsp. *communis* Ic: sibth & sm. (mersin), *Asphodelus aestivus* L. (çiriş) *Eugenia caryophyllata* Thumb.(karanfil) ekstraktlarının *C. albicans* ve *S. cerevisiae* mayaları üzerine etkileri bildirilmiştir. ¹⁷

Erzincan bölgesinden toplanan kara dut (*Morus nigra* L.) meyvelerinin su ve metanol ekstrelerinin antikandidal aktivitesi *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ve *Geotricum candidum* izolatları üzerinde, disk difüzyon yöntemi ile değerlendirilmiş ve MİK olarak antikandidal aktiviteleri belirlenmiştir. ¹⁸

Başka bir çalışmada *Punica grantum* L. (*Punicaceae*) nar, *Citrus paradisi* Mc. Fad ve (*Rutaceae*) greyfurt ,*Cydonia oblonga* Miller (*Rosaceae*) ayva meyvelerinin disk difüzyon ve oyuk agar metodu ile *Rodotorula rubra* ve *S. cerevisiae*, için inhibisyon zonu %45 olarak saptanmıştır. ¹⁹

Berberidaceae ailesinden *Mahonia aquifolium* bitkisinin kökünden (berberine ve jatorrhizine) elde edilen alkaloidlerin 20 *Candida* türüne ve kronik vulvovaginal kandidoza etkisi olduğu gösterilmiştir. ¹³

2.3.2. Antifungal olmayan ilaçlar :

Kemoterapötik olmayan bileşikler, antineoplastik ajanlar, sulphonamide ve sentetik antibakteriyal ilaçların, antifungal aktiviteleri ilk olarak 20 yüzyılın başlarında keşfedilmiştir. Bazıları chlorpromazine, antiaritmik ilaçlar, kolesterol düşürücü ajanlar, immünsupresiv ajanlar ve antiparazit olan bu nonantifungal ilaçlar, geniş antifungal spektrumlu bileşiklerdir. Mantar hücrelerinin ökaryotik olmaları ve insan hücreleri ile birçok yolağı paylaşmaları, bu bileşiklerin antifungal aktivitede bulunma olasılıklarını arttıran özelliklerdir. Bu ilaçlar, tek başlarına veya klasik antifungal ilaçlarla kombine olarak uygulandıklarında, mantar enfeksiyonlarının tedavisinde etkili olmuşlardır. Antifungal olmayan bu antimikrobiyal ilaçların, antifungal ilaçların aktivitelerini arttırdığı in vitro veya hayvan modellerinde çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir.

Antipsikotik ilaçlar : Başta şizofreni olmak üzere psikotik bozuklukların bulgularını kontrol etmede kullanılan ilaçlardır. Fenotiyazin, antipsikotik ilaçların bir türü olmak üzere, membran modifikasyonu, halkasal nükleotidin değişimi ve ilaçların DNA'ya bağlanması gibi çok farklı etkiye sahiptir. Fenotiyazin ayrıca hücre içi pek çok işlemde düzenleyici olarak iş gören Kalmodulin'e bağlanır. Fenotiyazin in vitro olarak *C. albicans*'a hem fungisitik hem de fungistatik (2 ug/ml) etkiye sahiptir. Germ tüp oluşumunu inhibe etmektedir. Fenotiyazin Amfoterisin B ile kombine verildiğinde sinerjik bir etkileşim göstermektedir. Trifluperazin, fenotiyazin gibi ilaçlar *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* ve *C. neoformans* (MİK 10-30 ug/ml) in vitro olarak inhibe etmektedir. Bu ilaçlar invaziv kandidoz ve kriptokokkozda en ufak dozlarda bile kontrol ile karşılaştırıldığında hayatta kalmayı arttırmışlardır. İnsanlarda ilacın plazma konsantrasyonu 0.1-0.5 ug/ml olarak değişir. Bu ilaçlar MSS'de, plazmadan 70 kez daha yüksek seviyede birikirler ve bu yüzden MSS mantar enfeksiyonlarının tedavisinde

potansiyel olarak yararlıdırlar. Kuvvetli bir kanal engelleyici olan bu ilaçların ketokonazol ile kombinasyonu 138 *C.glabrata* ve *C. krusei* içeren klinik maya suşlarında sinerjik etki göstermiştir.^{20, 21,22}

Antineoplastik ilaçlar : Sisplatnum, çeşitli solid tümörlerin tedavisi için etkili bir kemoterapötik ajandır. Bu ilaç *C. albicans*'lara karşı in vitro etkili olup 40 ug/ml kadar düşük konsantrasyonlarda bile inhibitör etki göstermiştir. Bu etki *C. albicans* hücrelerinin önceden mikonazol veya amfoterisin B ile muameleri sonucunda artmaktadır. Bunun sinerjik etkileşim nedeniyle olduğu düşünülmekte ancak bu konuda daha fazla in vitro ve in vivo araştırmalar yapılmasına gereksinim vardır. Metotreksat, siklofosfamid, virkristin, bleomisin ve doksorubisin MIC'leri, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr* ve *Trichosporon*'a karşı 500 ve 1,500 ug/ml arasında değişmektedir. Bu ilaçlar arasında, *C. tropicalis*'e karşı en aktif olanı bleomisin ve doksorubisin'dir. Fakat, bleomisin mayalara in vitro etkili olsa da, hayvan modellerinde antifungal etkisi görülmemiştir. Farklı antineoplastik ilaçların (Metotreksat, Siklofosfamid ve 5-florourasil), *Candida* ve *Trichophyton*'a karşı tek başına ve mikonazol, flusitozin ve amfoterisin B ile kombine halinde in vitro etkileri incelenmiştir. Kombinasyonlar çok sayıda mantar türüne etkili olmaktadır; fakat en iyi kombinasyon farklı ilaç oranları içermektedir. Genel olarak 5-florourasil, doksorubisin ve metotreksat poliyenlerle (amfoterisin B) kombine edildiğinde, mayalara karşı sinerjistik bir etkileşim göstermiştir. Bunun nedeni amfoterisin B'nin hücre zarını etkilemesi sonucunda ikinci ilacın hücre içine girmesi olabilir. Günümüze kadar, klinik uygulamalarda kullanılan herhangi bir antineoplastik ilacın, mantar enfeksiyonlarının tedavisinde olumlu etkisini gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Diğer bir yandan, bu ilaçların hedeflediği patojen mantar türlerinin birçoğu homologlara sahiptirler ve bu tür ilaçların dikkatli bir şekilde analiz edilmesi, yeni seçimli, antifungal ilaçların gelişimini

sağlayabilir. Antineoplastik ilaçlar, antifungal ilaçların aktivitesini güçlendirebilir ama, bulguların klinikte uyumu henüz bilinmemektedir.^{20, 23, 24}

Antiaritmik ilaçlar : Kalsiyum ve onun bileşeni kalmodolin proteini, çeşitli hücre türlerinin metabolizmasını, farklılaşmasını ve proliferasyonunu düzenler. Kalsiyum kanal blokörleri kalmodolin sistemini etkiler. Serbest hücreler arası kalsiyum konsantrasyonu, ökaryotik hücrelerde voltaja bağlı kalsiyum kanallarını açar ki bu da ekstraselüler Ca^{+} 'un hücreye girmesine izin verir. Organik bileşiklerin birçok kimyasal farklı sınıfları, kalsiyum kanallarını tıkayarak kalsiyum akımını engelleme yeteneğini paylaşırlar. Bu kanallar mayalarda ve küflerde bulunur ve bu yüzden de yeni antifungal bileşenler için potansiyel bir hedeftir. Sinarizin, verapamil, nifedipin, ve nimodipin yalnız veya ketokonazol ile kombinasyon halinde klinik *C. albicans* örneklerine karşı test edilmiştir. Bu ilaçlar tek başına, in vitro olarak yüksek konsantrasyonlarda antifungal aktivite gösterirler. Verapamil ise tek başına sinarizin'den ve nifedipin'den daha aktiftir. Kombinasyon halinde ise ketokonazol ile kombine edildiğinde ketokonazol'un aktivitesini kuvvetlendirmiştir. Bu ilaç lidocaine, bupivakain ve ropivakain , lokal anestezipler, *C. albicans*'ın germ tüp oluşumunu inhibe etmişlerdir ve bu etki doza bağımlı, pH'den bağımsızdır.^{20, 25, 26}

2.3.3. Antifungal olmayan antimikrobiyaller :

Antibakteriyal ilaçlar: Sulfonamid, rifampisin, tetrasiklin, makrolid ve kinolon gibi antibiyotikler, hayvan modellerinde ve klinik denemelerde, tek başlarına ya da poliyenler ve azoller ile in vitro kombinasyon halinde test edilmişlerdir. Sulfa ilaçlar, 1932'deki keşiflerinden beri antimikrobik kemoterapi için kullanılmaktadır. In vitro

olarak sulpha ilaçlar, Actinomyces, Chlamydia, Plasmodium ve Toxoplasma dahil Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin geniş spektrumuna karşı azaltıcı etkiye sahiptir. In vitro olarak trimetoprim-sulfametaksazol kombinasyonu *Paracoccidioides brasiliensis*'e karşı oldukça aktiftir. Yapılan bir çalışmada orta şiddetli paracoccidioido mikozlu hastalarda, sSulfadiyazin, itrakonazol veya ketokonazol ile aynı etkide bulunmuştur. Ketokonazol'un sulfametaksazol ile kombinasyonu, *C. albicans*'lara karşı sinerjistik etki göstermiştir. sulfa ilaçlar, immün baskılanmış hastalarda, *P. jiroveci* pnömonisi 'nin tedavisinde ve önlenmesinde yoğun olarak ve başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. *Pneumocystis jiroveci* artık, gen analizi bazında fungus olarak düşünülmektedir. Sulfa ilaçları, Aspergillus türlerine karşı etkilidir. Sulfametaksazol ve sulfametoksipiridazin'nin *A. ustus* ve *A. terreus* dışında, test edilen diğer Aspergillus türlerinin birçoğunda etkili olduğu tespit edilmiştir. Son zamanlarda, sulfametaksazol'ün AIDS hastalarında invaziv aspergillozisi önlemede kullanılabileceği gösterilmiştir. Rifampisin, *Streptomyces mediterranei* tarafından üretilen makrolid bir antibiyotiktir. Tek başına bu ilaç fungal büyümeye hiçbir etki yapmaz, fakat amfoterisin B ile kombine olunca, mayalara, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis* ve Aspergillus türleri gibi mantarlara karşı in vitro sinerjik etkileşim göstermiştir. Zaman-öldürme eğrileri kullanılarak amfoterisin B ve rifampicinin, *C. neoformans*'a karşı sinerjistik etkisi görülmüştür. Bu kombinasyon, Rhizopus, Absidia, Mucor, Rhizomucor ve Cunninghamella gibi birçok zygomisetlere karşı da etkilidir. Tetrasiklinin ise in vitro koşullarda 150µg/ml konsantrasyonunda *C. albicans*'ın üremesini inhibe ettiği gösterilmiştir. ^{20, 27,28}

Antiparazit ilaçlar : Klorokin, sıtma ve romatizmal hastalıkların tedavisi için 60 yıldan fazla klinik kullanımı olan zayıf bir bazdır. Bu antiprotozoal ilaç kinakrin'den elde edilmektedir. Her iki ilaç da, sıtma parazitlerinin asit besin vakuolü içinde birikirler. Bu bileşiklerin çok

yüksek konsantrasyonlarının, *Saccharomyces cerevisiae*'nin büyümesini inhibe ettikleri ortaya çıkmıştır. 10µg konsantrasyonlar, ex-vivo deneylerinde insan fagositlerinin *C. neoformans*'lara karşı antimikrobiyal aktivitelerini arttırmışlardır. Klorokin, fareyi BALB/s veya SCID kullanarak kontrol ile karşılaştırıldığında invaziv *Cryptococcus* enfeksiyonuna karşı korumuştur. Başka bir çalışmada, klorokin'in 30 µM'i *Cryptococcal* büyümeyi engellemiştir ve ≥100 µM ise in vitro fungisidal etkisi görülmüştür, özellikle 7 ph'da, fakat by etki 5 ph'da ortadan kaybolmuştur. Kinakrin'nin klorokin'e nazaran 10-100 kez daha aktif olduğu bulunmuştur . Bu ilacın 1 µM'l fungal büyümeyi inhibe etmiştir ve 5µM'l ise fungisidal etkili olmuştur. Kinakrin aynı zamanda insan monositlerinin antikriptokokal aktivitesini önemli ölçüde arttırmıştır. Klorokin intraselüler büyümeyi inhibe edip insan monositlerinde *H. capsulatum*'un ölümüne sebep olmaktadır. Histoplasmoz'un fare modelinde kullanıldığında, klorokin'in 120 mg/kg dozu, fareleri *H. capsulatum* ile ölümcül enfeksiyona karşı korumuştur. Klorokin ve kinakrin'in *H. capsulatum*'a karşı etki mekanizmasının demir eksikliği ile ilgili olduğu saptanmıştır. Meflokin, amfoterisin B ile karşılaştırıldığında *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. kursei* ve *C. neoformans*'a karşı daha güçlü in vitro etki sergilediği gözlenmiştir. MİK'ler 0.8 ve 3.5 ug/ml arasında değişmiştir. Pentamidin, bir dizi farklı bakteri ve protozoa'ya karşı aktivitesiyle, aromatik 'diamine' sınıfının bir üyesidir. *Candida albicans*, *S. cerevisiae*, *C. neoformans*, *A. niger*, *A.terrus*, *A. nidulaus*, *A. ustus* dahil olmak üzere, in vitro antifungal aktivitesi mayalara karşı gösterilmiştir. Pentamidin'nin analogları, *C. albicans*'ların Flukonazol'a dirençli suşları, *C. krusei* ve *C. glabrata* dahil olmak üzere *Candida* türlerine karşı ve *A. fumigatus*, *A.flavus* ve *Fusarium* dahil olmak üzere küflerde in vitro etkilidir. Ketokonazol ve pentamidin kombine olduğunda sinerjistik etkileşim görülmektedir. *Scedosporium prolificans* yaygın enfeksiyonu, genel olarak hematolojik rahatsızlıkları bulunan neutropenic hastalarda meydana gelir. Ateş ve multiorgan yetersizliği belirginleşen, ve ölümcül olan bir enfeksiyondur. Birçok hasta amfoterisin

B ile tedavi edilmiştir ve genel olarak sık sık başarısız sonuçlar alınsa da, amfoterisin B ile pentamidin in vitro kombine edildiğinde *S. proliferans*'ın 30 klinik örneğine karşı sinerjik etkisi görülmüştür. Albendazol, potansiyel antifungal aktivitesini kanıtlamak için test edilmiştir. *Candida* türlerine ve *C. neoformans*'a karşı gayet iyi bir aktivite göstermektedir, fakat bu ilaç hayvan modelinde etkisiz bulunmuştur. Bu da metabolite olan albendazol sulfoksid'in mayalara karşı inaktif kalmasından kaynaklanabilir.^{20, 29, 30}

İmmüsupresiv ilaçlar : Siklosporin A (CsA), takrolimus (TcS) ve sirolimus esas olarak antifungal aktiviteleri için geliştirilen ilaçlardır, fakat daha sonra immün baskılama özelliklere sahip oldukları anlaşılmıştır. Bu ilaçların hedefi, hücre dönüşümlerini düzenleyen, hücrelerin uzamasını, bitkisel büyümeyi, pozitif iyonların dengelenmesini , hücre duvarı sentezini düzenleyen ve aynı zamanda hücreler arası Ca^{+} konsantrasyonunu düzenleyen (kalsiyum karbonat) kalkanörindir. Bu ilaçlar bağışıklık sistemini, kalkanörini engelleyerek bastırırlar. Siklosporin A, *C. neoformans*'a in vitro olarak 24 °C'de değil 37 °C'de etkilidir. Siklosporin A aynı zamanda 1µg/ml'de *C. immitis*'e karşı da aktiftir, fakat 10ug/ml değerine kadar bile diğer iki fazlı mantarların; *H. capsulatum* ve *B. dermatitidis*'in miçelyal fazını engellememiştir. Bu ilacın, patojenik maya mantarlarına karşı in vitro aktivitesine dair herhangi bir ulaşılabilir bilgi yoktur. Siklosporin A, *A. niger*'e karşı etkili görülmekle birlikte *A. fumigatus* ve *A. flavus*'a etkisizdir. Bu bileşiklerin immün sistemi baskılama etkisini azaltmak için, birçok araştırmacı, immün baskılama göstermeyen fakat antifungal aktivite gösteren CsA ve TsS analoglarını üretmişlerdir. Siklosporin A ve sirolimus analogları *C. neoformans*'a karşı test edilmiştir, MİK'leri 0.39'dan 1.56 ug/ml'e kadar artmış ve CsA, *C. neoformans*'ın flukonazol'e dirençli klinik suşlarına karşı bile 37°C'de fungisidal aktivite göstermiştir. Flukonazol ve Siklosporin A kombinasyonu, *C. albicans* ile oluşturulan deneysel endokardit modelinde başarılı olmuştur. Bu kombinasyon fungisidal etkilidir. Araştırmacılar amfoterisin B ile

kombinasyonun tek başına amfoterisin B'den daha etkili olduğunu önceki çalışmalarında belirlemelerine rağmen, in vitro fungisidal aktivitesi olan amfoterisin B bu enfeksiyonun tedavisinde etkili bulunmamıştır. Mantar enfeksiyonlarında kullanılan immün sistemi baskılayıcı ilaçların klinik başarısı, Candida ve Fusarium gibi patojenlerin neden olduğu diğer invaziv mantar enfeksiyonları için değerlendirilmemiştir. Bu ilaçların antifungal aktivitelerinin değerlendirilmesi, klinik bulguların göz önüne alınarak yapılmalıdır.^{20, 31}

2.3.4. Diğer bileşikler:

İnsan için önemli olan besin kaynakları, doğal ürünler, antimikrobiyal olmayan ve çeşitli canlılardan izole edilen maddeler çok eski zamanlardan beri çeşitli tedavilerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bu tür maddeler bilimsel araştırmaların eksikliği nedeniyle günümüzde modern ilaç endüstrisinde çok az kullanılmaktadır. Bu antimikrobiyal olmayan maddelerin tek başlarına veya antifungal ilaçlar ile etkileşimlerinde, mantarlara karşı antifungal aktiviteleri bir çok çalışmada gösterilmiştir.

Kitosan (chitosan): Kabuklu hayvanların kabuğunda bulunan polisakkarit şeklinde bir bileşiktir. Bu bileşik kanda kolesterol oranını düşüren ve böbrek hastalıklarında da kullanılan bir maddedir. Kitosan, mantarın adezyon olayında rol oynayan aspartil proteinaz gibi virulans faktörlerini zayıflatmaktadır. Bir çalışmaya göre kitosan, *C.albicans*, *C. glabrata* ve *C. krusei*'nin, demir ve potasyuma bağlanarak beslenmesinin azalmasına yol açmaktadır. Bir başka çalışmaya göre, kitosan *Aspergillus* türü mantarlarda kitin sentezinin inhibe olmasına neden olmaktadır. Kitosan *A.niger*'in ve *A. parasiticus*'un aflatoksin üretimine etki etmektedir. *Aspergillus parasiticus*'un aflatoksin üretimini,

4.0-5.0 mg/ml konsantrasyonunda, tamamen inhibe etmektedir. Yeni bir çalışmaya göre kitosan-Amfoterisin B-nanopartikül formülünün geliştirilmesi ile *C. albicans*'a karşı in vitro antifungal aktivitesi ve sistemik kandidoza etkisi büyük ölçüde artmıştır.^{32, 33}

Laktoferin : Tükürüğün nonspesifik savunma faktörlerinden olan laktoferinin, demire bağlı türü olan glikoprotein, birçok ekzokrin sıvısında, gözyaşı ve bronşiyel gibi yüksek konsantrasyonlu dış salgılarda bulunur. Bakteri, maya ve virüslere karşı geniş spektrum özelliklerine sahiptir. Bu proteinin, bulunduğu konağın mukozal enfeksiyonlara karşı savunmasında önemli katkı sağladığı bilinmektedir. Laktoferinin anti-kandida aktivitesi, bazı araştırmacılar tarafından belirlenmiştir. Atmosferisdeki demire bağlanıp, ayrılma özelliğine sahiptir. Demire bağlı olmayan laktoferin (apo-laktoferin), hücre yüzeyinin geçirgenliğini değiştirerek *C. albicans* ve *C. kurse*'i öldürme kabiliyetine sahiptir. Demire bağlı olan ve olmayan laktoferinin, 100 mg/ml'de MİK değeri 0.5µg/ml iken klinik Candida örneklerinin üremelerini inhibe ettiği gözlenmiştir. Fungistatik etkisi olan ve antifungal ilaçlara sinerjik etki gösteren laktoferinlerin gelecekte tedavide kullanılabileceği düşünülmektedir. Laktoferinlerin sinerjik etki gösterdikleri konusunda belirsizlik olmasına rağmen 5-FC, flukonazol, amfoterisin B gibi ilaçlarla kombine olarak uygulandıklarında sinerjik etkiyi açıkça ortaya koyduklarını gösteren bir çok çalışma mevcuttur. Laktoferinlerin flukonazol ile kombinasyonunda %50'ye varan sinerjik etki gözlenmiştir ve bu kombinasyonda flukonazol'ün konsantrasyonunda önemli bir azalma olmasına rağmen, mantar üremesinin inhibisyonu sağlanmıştır. Laktoferinin fungisidal etki mekanizmaları, demir iyonlarını ayırarak maya metabolizması için gerekli olan demir eksikliğini sağlaması, yapı değişikliğine neden olarak hücre duvarına etki etmesi ve intraselüler otolaktik enzim sistemini aktifleştirerek laktoferinin emilimini arttırması olarak açıklanmaktadır.^{34, 35}

Propolis : Propolis, bitki filiz ve tomurcuklarından elde edilen, renkleri bitkinin türüne bağlı olarak değişen, yapışkan ve reçinemi bir maddedir. Yine bitkisel kaynağına bağlı olarak içeriğinde çeşitli bileşikler ve kimyasal maddeleri barındırmaktadır. Propolisin etanol ekstraktında bulunan, pinobaksin-3 acetate (flavonid), pinocemprin, galangin, benzil pconmarate ve kafeik asit maddelerinin antimikrobiyal aktivitelerinin olduğu saptanmıştır. Türkiye’de Bingöl’ün Genç ilçesinden alınan propolis örneklerinin *C. albicans* ve *R. rubra*’nın üremelerini(sırasıyla 55 ve 61 mm inhibisyon zonu olarak) inhibe ettiği gözlenmiştir. Başka bir çalışmada ise, Brezilya’da bulunan yeşil propolis’in oral kandidoza neden olan *C. albicans*’ın germ tüp oluşumunu ve hücre duvarını etkilediği belirlenmiştir. Propolis’in bu antifungal etkisini öne süren birçok sebep vardır, örneğin mantar hücre duvarında değişiklikler yaparak, zedelenmiş membran hacmini artırır. Hücre duvarının sağlam olması, hücrenin bölünmesinde önemli bir rol oynar. Propolis hücre duvarını etkileyerek hücrenin bölünmesine engel olur, yani üremesini inhibe eder. Araştırmacılar, propolis’in antifungal aktivitesini flavonid, fenolik asit ve ester maddelerinden kaynaklandığını açıklamışlardır. Propolis’in antifungal etki mekanizması, propolis varlığında engellenen hücre bölünmesi ya da DNA replikasyonunun inhibe olması olarak açıklanmaktadır. ^{36, 37, 38, 39}

İnsan serumu : İnsan serumunun, *C. neoformans*’ın çoğalmasına ve flukonazol ile etkileşiminin inhibitör etkisine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Nassar ve ark. çalışmalarında %5 insan serumunun RPMI 1640’da üretilen *C. neoformans*’ın, çoğalmasını %76 oranında azatlığını göstermişlerdir. İnsan serumunun inhibitör etkisinin donöre, albumin veya globüline bağlı olmadığı, sabit ısıda (56°C’de 30 dakika) aktif olduğu gösterilmiştir. %5 insan serumu ilave edilmiş besiyerinde flukonazol’ün fungistatik konsantrasyonu (5µg/ml) 24 saatte %40 ölüm etkisi göstermiştir. Serumun yüksek konsantrasyonları flukonazol etkisini daha fazla artırmaktadır. Flukonazol’ün yüksek konsantrasyonlarının

örneğin 20µg/ml, öldürme etkisi zaten vardır, ancak serum bu etkiyi artırmaktadır. Araştırmacılar, çalışma bulgularına göre insan serumunun iki komponenti olduğunu, bunlardan makromoleküler olanın *C. neoformans*'ı önleme, düşük moleküler ağırlıklı olanın ise flukonazol'un anti-kriptokokkal aktivitesini arttırma kabiliyeti bulunduğunu açıklamışlardır.⁴⁰

Lityum : Depresyon hastalığında sıkça kullanılan bir ilaçtır. Mayalarda ozmotik strese ve metabolik patikanın inhibisyonuna neden olarak toksik etki göstermektedir. Lityum, galaktoz içeren ortamda üreyen mayanın, üreme metabolizmasının anahtar enzimi olan fosfoglukomutaz enzimini inhibe edebilmektedir. Lityum galaktoz içeren ortamda *C. albicans* ve *S. cerevisae* mantarlarının üremesini engellemek için fosfoglukomutaz enzimini hedef alır. Galaktoz içeren ortamın olma gerekçesi ise galaktozun mayanın üreme metabolizmasını oluşturmasıdır. Lityumla ilgili başka bir çalışma da ise, tek karbon kaynağı olan galaktozu içeren solid ortamda, *C. albicans*'ın hif gelişmesini inhibe ettiği belirlenmiştir. Lityumun *C.albicans* morfolojisine etkisinin rapamisin ile meydana gelen inhibisyon etkisi ile aynı olduğu ve bu iki bileşiğin de rapamisin yolağının hedefini (TOR yolağı) inhibe ederek etki ettiği belirtilmektedir.^{41, 42, 43}

Pseudomonas aeruginosa: Pseudomonas cinsi bakterilerin antimikrobiyal özellik gösteren maddeler oluşturdukları eskiden beri bilinmektedir. Bu maddelerden piyosyanin, pirolnitrit ve psödomonik asid preparatları günümüzde kullanılmaktadır. *P. aeruginosa*'nın antifungal aktiviteye sahip bir madde ürettiği ilk kez 1994 yılında gösterilmiştir. Kistik fibrozis'li hastalardan izole edilen 10 *P. aeruginosa* suşunun tamamının *C. albicans*'a karşı antifungal etkisi olduğunu sentetik besiyeri ortamında saptanmıştır. Tekrarlayan veya kronik akciğer enfeksiyonları, kistik fibrozda en fazla morbidite ve mortalite nedenidir. *Pseudomonas aeruginosa* kistik fibrozlu hastaların solunum yolundan sık izole edilen bir

mikroorganizmadır. Çünkü kemoterapötiklerle yoğun bir tedaviye karşın, bu hastalarda kronik *P.aeruginosa* kolonizasyonu ender olarak ortadan kaldırılabilir. *Candida albicans*'ın kistik fibrozis'li hastalarda geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanılmasıyla birlikte sıklıkla izole edilmesine karşın derin enfeksiyonlara yol açmaması sevindirici bir durumdur. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının ürettiği antifungal aktiviteyi oluşturan ürün veya ürünlerin yapısının ne olduğu henüz bilinmemektedir. Bu ürünlerin bir gen tarafından mı kodlandığı ya da sekonder bir metabolitin oluşmasıyla indirekt olarak mı ortaya çıktığı açık değildir. ⁴

2. 4. Statinler

Lipit düşürücü ilaç grubu olan statinler (veya HMG KoA redüktaz inhibitörleri) yüksek kan kolesterol düzeylerinden dolayı kardiyovasküler hastalık riski taşıyan kişilerde kolesterolü düşürmek için kullanılırlar. Statinler HMG-KoA redüktaz enzimini yarışmalı olarak engeller (competitive inhibition). Bu enzim, vücudun kolesterol sentezi için kullandığı HMG-KoA redüktaz yolunda yer alır. Statinler dahili kolesterol sentezini engellemekle beraber etkileri bundan da ileri giderek hücre içi kolesterol düzeylerini azaltır ve karaciğer hücrelerinde LDL reseptör sentezinin artmasına neden olurlar. Böylece kandan LDL'nin alınması hızlanır.

Statinler, jenerik adlarına göre alfabetik sırayla aşağıda listelenmiştir. Parantez içindeki marka isimleri ülkeden ülkeye değişebilmektedir.

- . Atorvastatin (Lipitor, Lipidra, Ator, Kolesterol, Tarden, Alvastin)
- . Fluvastatin (Lescol)
- . Lovastatin (Movacor)

- . Mevastatin (Yan etkileri nedeniyle artık hiperlipidemi tedavisinde kullanılamıyor. Pravastatin üretiminde kullanıyor).
- . Pravastatin (Pravachol)
- . Pitavastatin (Livalo, Pitava)
- . Rosuvastatin (Crestor)
- . Serivastatin (Lipobay) olumsuz yan etkilerinden dolayı 2001’de piyasadan çekilmiştir.
- . Simvastatin (Zovatin, Zocor, Simvakol)

Lipit düşürme gücü ilaçtan ilaca fark eder. Atorvastatin ve rosuvastatin bunların en etkilisidir. Ardından etki sırasına göre, simvastatin, lovastatin, pravastatin ve fluvastatin gelir.

Mantar hücre zarının temel sterolü olan ergosterolün, sentezindeki enzimlerden biri HMG-CoA sentetazdır. Statin grubu kolesterol düşürücü ilaçlar yarışmaya girerek bu enzimi inhibe ederler. Bu enzim inhibe olduğunda kolesterol sentezi gibi ergosterol sentezi de durur. Statinlerin Candida ve Cryptococcus türlerine in vitro etkili olduğu 1997 yılında göstermiştir.^{45, 46,47}

2.5. Kinolonlar :

Kinolonlar sentetik olarak üretilen kimyasal maddelerdir. Nalidiksik asid 1960’lı yıllarda ilk kullanıma giren kinolon bileşiğidir. Kinolonlarda yapılan yapı değişiklikleri ile yeni jenerasyon kinolonlar geliştirilmiştir. Kinolonların temel çekirdeği iki halkadan oluşmaktadır. Birinci pozisyonda N, üçüncü pozisyonda COOH ve dördüncü karbon atomunda O içeren temel yapı antibakteriyel etki için şarttır. Son 15-20 yılda bu çekirdekten türetilen çok sayıda kinolon klinik kullanıma girmiş olup, çok daha fazlasının da klinik öncesi çalışmaları devam etmektedir.

Kinolonlar sentez edildikleri sıraya ve antimikrobiyal etkilerine göre dört gruba ayrılır (Tablo1).

Tablo 1. Kinolon grubu antibiyotikler

1. Kuşak	2. Kuşak	3. Kuşak	4. Kuşak
Nalidiksik asid Oksolinik asid Pipedimik asid Sinoksasin	Siprofloksasin Ofloksasin Pefloksasin Norfloksasin Enoksasin Fleroksasin	Grepafloksasin Sparfloksasin Levofloksasin	Travofloks asin Moksifloks asin

Kinolonlar bakterisidal antibiyotiklerdir, etkilerini DNA sentezini bozarak gösterirler. Kinolonların bakteri hücrelerinde temel hedefleri DNA-giraz (Topoizomeraaz II) enzimidir. DNA giraz enzimi gyr A tarafından kodlanan A ve gyr B tarafından kodlanan B olmak üzere 2 alt bölümden oluşur. Florokinolonlar bu enzimin A kısmına bağlanarak etki göstermektedir. Kinolon ile karşılaşan bakteriler bölünme yeteneğini kaybederler, fakat uzamaları devam eder ve sonuçta ölürler.

Kinolonlar bakterilerdeki DNA giraz enziminin inhibisyonu yolu ile protein sentezi üzerine etki ederler. Ökaryotik hücrelerdeki DNA giraz ya da topoizomeraaz enziminin bakteriler ile benzer olabileceği bildirilmiştir. Kinolonlar, amfoterisin B ve azoller ile kombine edildiklerinde maya ve küfler üzerine sinerjik etkili olabilmektedirler.^{47, 4}

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Gereçler

3.1.1. Cihazlar :

Santrifüj : Boeco U-32 R, Almanya

Hassas terazi : Shimadzu, Libror AEG-220, Almanya

Etüv : Elektro-mag M5040BP, Türkiye

Mikroskop : Olympus CX 31, Japonya

Otoklav : Sanyo ML-3020-U, Japonya

Mikropipet (10-100-1000 µl'lik) : Biohit, Finlandiya

Steril pipet uçları

Ependorf

Mikrodilüsyon plak

Mezur

Parafilm

Tüm istatistiksel analizler SPS 16.0 bilgisayar programını kullandık.

3.1.2. Kimyasallar :

Saboraud dekstrozu agar : Fluka, İsviçre

MOPS : Sigma, A.B.D

1640 RPIM medium (1X) + 2.05 Mm L-Glutamine : HyClone , A.B.D.

Agar powder : Himedia, India

90128, 90028 ve 10231 ATCC *Candida albicans* suşları : A.B.D

Amfoterisin B : Himedia, India

Flukonazol : Sigma, Almanya

Atorvastatin : ABDİ İbrahim, Türkiye

Moksifloksasin : Bayar, Türkiye

3.2. Yöntemler

3. 2.1. Örneklerin toplanması :

Bu çalışmada, Gazi üniversitesi Tıp fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarında çeşitli klinik örneklerden izole edilen yedi klinik ve üç referans *C.albicans* köken dahil edilmiştir. Örnekler Saboraud dekstroza agar besiyerine üç gün süreyle ekilip 37°C’de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası 0.5-1.0 mm çapında bulunan koloniler direkt mikroskopi ve gram boyası ile incelenmiş ve insan serumunda 37°C’de üç saat inkübe edildiğinde çimlenme borusu (germ tüp) oluşturan, maya mantarları *Candida albicans* olarak teşhis edilmiştir. Deneye üç referans *Candida albicans* ATCC 90128, ATCC 90028 ve ATCC 10231 suşları kontrol organizmalar olarak alınmıştır.

3.2.2. Antifungal ilaçların hazırlanması :

Amfoterisin B ve flukonazol’ün etken maddeleri kullanılmıştır Clinical Laboratory Standards Institution (CLSI) standardına uygun olarak antifungal ilaçlar su veya DMSO içinde çözülerek istenilen final konsantrasyonlara göre sulandırım yapılmıştır. Amfoterisin B için 16-0.03 µg/ml, flukonazol için ise 128-0.25 µg/ml arasındaki sulandırımlar kullanılmıştır.

3.2.3. Atorvastatin ve moksifloksasin’in hazırlanması

Bu çalışmada, tek başına veya antifungal ilaçlar ile kombine olarak etkileri incelemiş olan, atorvastatin ve moksifloksasin steril distile su içinde çözülerek sulandırılmıştır. Atorvastatin 625 – 5 µg/ml, moksifloksasin ise 1750 -14 µg arasındaki konsantrasyonlarda kullanılmıştır.

3.2.4. Antifungal duyarlılık testi :

Antifungal duyarlılık testi CLSI önerilerine uygun olarak M27-A2 mikrodilüsyon yöntemi ile yapılmıştır. Amfoterisin B, flukonazol, stok çözeltileri steril distile su kullanılarak hazırlanmıştır. Sonraki sulandırımalar deney besiyeri ile yapılmıştır. Her antifungal ilacın seri olarak iki katı sulandırımları M27-A belgesinde belirlendiği şekilde yapılmış ve antifungal ilaçların son konsantrasyonları amfoterisin B için 16-0.03, flukonazol için 128-0.25 µg/ml olmuştur. L-glutamin ve fenol kırmızısı içeren RPMI 1640 besiyerinin (Thermo) pH'sı, 0.165 M morfolinopropan sulfonik asit (MOPS) (Sigma.A.B.D) kullanarak, 7.0'ye ayarlanıp her kuyucuğa 100 µl dağıtılmıştır. RPMI 1640 ve antifungal içeren 96 kuyucuklu mikrodilüsyon plaklarının kuyucuklarına Sabouraud dekstroz agarda 37°C'de 24 saat inkübe edilen suşların üreyen kolonilerinden steril distile su kullanarak Mc Farland 1'e uygun bulanıklıkta hazırlanan süspansiyonları 10 µl eklenmiştir. Plaklar 37°C'de 48 saat inkübe edilmiş, okuma, bir okuma aynası yardımıyla yapılmıştır . MİK değeri ilk 24 saatten sonra ilaçsız kontrol kuyucuğunda üreme gözlemlendiği zaman, mantarın üremesinin , amfoterisin B için %100, flukonazol için ise %50 oranında inhibe eden en düşük konsantrasyon olarak belirlenmiştir. ^{.49,50, 51, 52, 53}

3.2.5. Moksifloksasin ve atorvastatin'in in vitro duyarlılık testi :

İn vitro duyarlılık testi için moksifloksasin (Avelox) infüzyon solüsyonunun seri dilüsyonları 1750 ile 14 ug/ml olarak hazırlanmıştır. Atorvastatin için ise 10 mg tabletleri steril distile su içinde çözerek ve konsantrasyonları 625 ile 5 µg/ml arasında olacak şekilde

hazırlanmıştır. Moksifloksasin ve atorvastatin için elimizde standart bir MİK değeri olmadığı için MİK sonuçları 37°C’de 48 saatlik inkübasyon sonrası üreme kontrolü kuyucuğuna göre yapılan karşılaştırmada üremenin %50 inhibe olduğu ilk kuyucuk olarak kayıt edilmiştir.

3.2.6. Kombinasyon testleri :

Her bir köken ve denenecek her kimyasal ajan için, 96 kuyucuklu ve U tabanlı steril mikropipler kullanarak dama tahtası (Checkerboard) yöntemi uygulanmıştır. *Candida albicans* suşlarında atorvastatin-amfoterisin B, moksifloksasin-amfoterisin B, flukonazol-atorvastatin ve flukonazol-moksifloksasin kombinasyonlarının etkisi incelenmiştir.

3.2.7. Dama tahtası (Checkerboard) yöntemi :

Dama tahtası yöntemi genellikle kombinasyon halinde test edilen ilaçların benzer doza ve zaman aralığına bağlı cevap eğrileri ve de karıştırılabilir aktivitesine sahip olduğu düşünülerek uygulanır. Bu çalışmada, her kimyasal ajan için çift kat seri dilüsyonlar CLSI önerilerine uyularak yapılmıştır. A11 sütunundaki kuyucuklar üreme kontrolü, A12 sütunundaki kuyucuklar ise besiyeri kontrolü olarak kullanıldığından ilaç eklenmemiştir (Tablo 2). Kombinasyonlardaki iki ilaç, ilki için (amfoterisin B veya flukonazol) ilk yatay sıra (A sırası), ikincisi için ise ilk dikey sıra (1nolu sütun) kullanılarak sulandırılmaya başlanmıştır. İlk ilacın iki kat dilüsyonu mikrodilüsyon plağının 2 nolu sütunundan başlayarak (ör:amfoterisin B) 10 sütuna kadar dağıtılmıştır. İkinci ilacın çift kat dilüsyonları (ör:atorvastatin) ise her bir dilüsyon bir satırın tümüne konulmak üzere mikrodilüsyon plağının A satırından H satırına kadar aktarılmıştır. Daha sonra tüm kuyucuklara mantar süspansiyonundan 10 µl konulmuştur (Tablo 2). Plaklar 37°C’de 48 saat inkübe edildikten sonra üremeler görsel olarak

değerlendirilmiştir ve ilaçlar arasındaki etkileşimi değerlendirmek için fraksiyonel inhibitör konsantrasyon indeksi (FİK indeksi) kullanılmıştır.^{54, 55}

Tablo 2. Dama tahtası yönteminde ilaçların dilüsyonları

→ İlaç A

İlaç B ↓

16 625	8 625	4 625	2 625	1 625	0.5 625	0.25 625	0.12 625	0.06 625	0.03 625	nk	pk
16 312	8 312	4 312	2 312	1 312	0.5 312	0.25 312	0.12 312	0.06 312	0.03 312	nk	pk
16 156	8 156	4 156	2 156	1 156	0.5 156	0.25 156	0.12 156	0.06 156	0.03 156	nk	pk
16 78	8 78	4 78	2 78	1 78	0.5 78	0.25 78	0.12 78	0.06 78	0.03 78	nk	pk
16 39	8 39	4 39	2 39	1 39	0.5 39	0.25 39	0.12 39	0.06 39	0.03 39	nk	pk
16 20	8 20	4 20	2 20	1 20	0.5 20	0.25 20	0.12 20	0.06 20	0.03 20	nk	pk
16 10	8 10	4 10	2 10	1 10	0.5 10	0.25 10	0.12 10	0.06 10	0.03 10	nk	pk
16 5	8 5	4 5	2 5	1 5	0.5 5	0.25 5	0.12 5	0.06 5	0.03 5	nk	pk

3.2.8. Fraksiyonel inhibitör konsantrasyon (FİK) ve FİK indeksinin hesaplanması:

Amfoterisin B, flukonazol, atorvastatin ve moksifloksasin'in tek başlarına *C. albicans* üzerine MİK değerleri

okunduktan sonra (amfoterisin B-atorvastatin, amfoterisin B-moksifloksasin, flukonazol-atorvastatin ve flukonazol-moksifloksasin) ilaçların birlikte bulunduğu kuyucuklar üreme yönünden değerlendirilmiştir. Her suş için yapılan kombinasyonda, üreme olan kuyucuklarda FİK indeksi hesaplanmıştır. FİK indeksi, sinerjik, aditif ve antagonistik olarak belirlenmiştir. FİK indeksi, iki ilacın FİK değerlerinin toplanması ile bulunmuştur. FİK değeri ise, her ilacın kombinasyonda kullanıldığı zamandaki MİK'inin tek başına kullanıldığındaki MİK'ine bölünmesi ile elde edilen değerdir.

FİK indeksi aşağıdaki formüle göre hesaplandı.^{54, 55}

$$\left(\frac{(A)}{(MİK_A)} \right) + \left(\frac{(B)}{(MİK_B)} \right) = FİK_A + FİK_B = FİK \text{ indeksi}$$

(A) =Kombinasyonda A ilacının MİKdeğeri

(B) =Kombinasyonda B ilacının MİK değeri

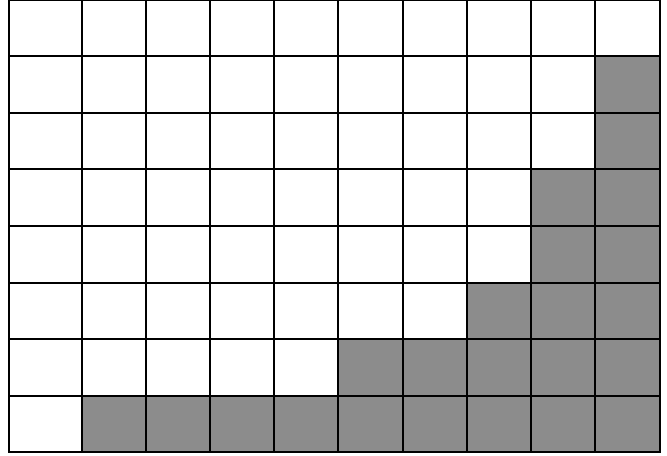
(MİK_A) =Tek başına A ilacının MİK değeri

(MİK_B) =Tek başına B ilacının MİK değeri

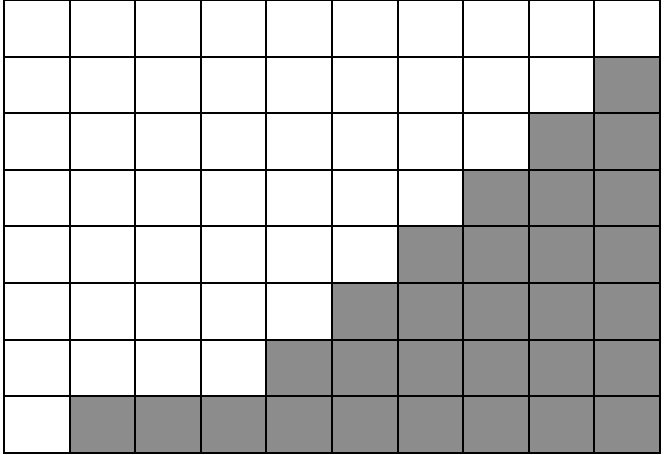
(FİK) =Fraksiyonel inhibitör konsantrasyon

İlaç etkileşimleri : FİK indeksi ≤ 0.5 ise sinerjik, FİK indeksi 0.5 ile 4 arasında ise aditif, FİK indeksi >4 ise antagonistik olarak değerlendirildi.⁵⁶

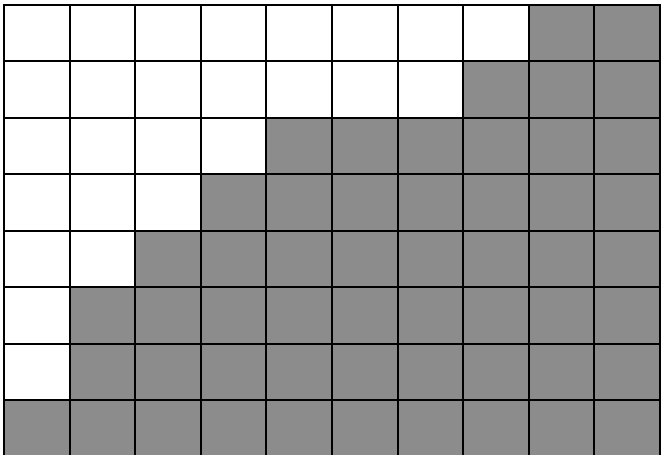
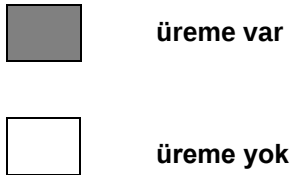
a. Sinerjistik etkili iki ilacın plak görüntüleri



b. Aditif etkili iki ilacın plak görüntüleri



c. Antagonistik etkili iki ilacın plak görüntüleri



Şekil 6: Sinerjik, aditif ve antagonistik etkileşimlerinin plak görüntüleri

Yukarıdaki şekillerde ilaç kombinasyonlarında üremenin inhibisyonuna göre, etkileşimin değerlendirilmesi sinerjik, aditif veya antagonistik olarak üç standart şekilde görülmektedir. Ancak kuyucuklarda ilaç konsantrasyonları farklı olduğu için, gözlem sonuçları sinerjik, aditif veya antagonistik olmasına rağmen, FİK değerlerine göre matematiksel değerlendirme yaptığımızda farklı sonuçlarla karşılaşmıştır. Bu yüzden kombinasyonları değerlendirirken hem plak genelinde hangi etkileşimin baskın olduğuna, hem de her kuyucuktaki FİK değerine bakılmıştır.

3.2.9. İstatistiksel analiz :

İlaçlar tek başlarına uygulandıklarında elde edilen MİK değerlerine karşılık gelen üremeyi inhibe oranları ile ilaçlar kombine olarak uygulandığında sinerjik etkili oluşan kuyucuklardaki ilaçların MİK değerlerine karşılık gelen inhibe oranlarının toplamını bulup SPSS programında değerlerin dağılımının normal olduğunu gözlemledikten sonra Paired Sample Test (iki bağımlı değişken için T testi)'i kullanarak değerlendirilmiştir. Tüm kombinasyonlarda istatistiksel anlamlılığı belirtmek için p değerini kullanılmıştır. Bu test için hipotezimizi :

Ho : kombinasyon etkili olmamıştır

H1 : kombinasyon etkili olmuştur, şeklinde kurduk.

Tüm testlerin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığını incelemek için yaptığımız t testinin sonucuna göre, significance değerini (P değeri) 0.001 olarak bulduk.

No.	Amfo Ator	Amf +Ator	Amf Mok	Amfo+ Moks	Fluk Ator	Fuko+Ator	Fluk Moks	Fluko+Moks
1	7	11	4	12	8	8	5	8
2	6	13	5	11	7	10	6	9
3	6	14	6	13	6	3	6	8
4	5	12	6	12	5	8	6	9
5	7	13	6	13	7	10	6	8
6	4	13	6	14	4	8	6	8
7	5	12	6	12	5	8	6	8
10231	6	13	7	13	6	8	7	7
90231	6	13	5	11	6	9	5	9
90028	5	14	7	13	5	8	7	10

Tablo 1. MİK değerlerine karşılık gelen verilerin girdiği tablo

Tablo 2. Elde edilen sonuçların tablosu

	Paired Differences					t	df	Sig (2-tailed)
	Mean	Std.Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 Amf Ato	-7.100	1.449	,458	-8,137	-6,063	-15,493	9	,000
Amf+Ator	-6.600	0.843	,267	-7,203	-5,997	-24,750	9	,000
Pair 2 Amf Mok	-2.100	2.079	,657	-3,587	-,613	-3,194	9	,100
Amf+Mok	-2.400	1.075	,340	-3,169	-1,631	-7,060	9	,000
Pair 3 Flo Ato								
Flo+Ator								
Pair 4 Flo Mok								
Flo+Mok								

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan yedi klinik ve üç referans *C. albicans* kökeni için amfoterisin B ve flukonazol duyarlılık testi, atorvastatin ve moksifloksasin duyarlılık testi ve dört kombinasyon Amfoterisin B-atorvastatin, amfoterisin B-moksifloksasin, flukonazol-atorvastatin ve flukonazol-moksifloksasin) denenip FİK değerleri hesaplanmıştır.

4.1. Amfoterisin B ve flukonazol'un in vitro duyarlılık test sonuçları :

Candida albicans kökenlerinin MİK değerleri 24 ve 48. saatte belirlenmiştir. Kökenlerin 24 saatte yeterli üreme göstermemesi nedeniyle 48 saatlik veriler esas alınmıştır. MİK değeri, Amfoterisin B için üremenin tamamen inhibe olduğu, flukonazol için ise üreme kontrolüne göre üremede %50 azalmanın olduğu en düşük ilaç konsantrasyonu olarak belirlenmiştir. Amfoterisin B için direnç sınırı ≥ 2 ug/ml olarak kabul edilmiştir. MİK değerleri ≥ 64 ug/ml olan örnekler flukonazol'e dirençli, 16-32 ug/ml arasında olanlar ise doza bağımlı duyarlı olarak değerlendirilmiştir. MİK değerleri (Tablo 5)'de görülmektedir.

4.2. Atorvastatin ve moksifloksasin'in in vitro duyarlılık testinin sonuçları:

Atorvastatin ve moksifloksasin için elimizde standart bir MİK değerleri olmadığı için üremenin %50 inhibe olduğu ilk kuyucuk MİK olarak kabul edilmiştir. Sonuçlar Tablo 5'de görülmektedir.

4.3. Kombinasyon testinin sonuçları :

Amfoterisin B-atorvastatin, amfoterisin B-moksifloksasin, flukonazol-atorvastatin ve flukonazol-moksifloksain kombinasyonlarında, kökenler için her iki ilacın MİK değerleri ve her köken için sinerjik, aditif veya antagonistik etkileşim için FİK değerleri hesaplanmıştır.

Her iki ilaç için MİK değerleri amfo-ator ve amfo-moksi kombinasyonlarında üremenin tamamen %100 inhibe olmasıyla, flu-Ator ve flu-moksi kombinasyonlarında ise %50 (MİK₅₀) olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmaya alınan yedi klinik ve üç standart *C.albicans* kökeni için dört kombinasyon (amfo-ator, amfo,moksi, flu-ator ve flu-moksi) denenmiş ve 320 kuyucuğun FİK değerleri hesaplanmıştır. En yüksek sinerji oranı (%54) amfo-ator kombinasyonunda saptanmıştır. Sinerjik, aditif ve antagonistik etkileşimlerin her suş için sayıları ve oranları Tablo 10'da görülmektedir.

Kökenlerin, (amfo-ator, amfo-moksi, flu-ator ve flu-moksi) kombinasyonlarında etkileşim sonuçları Tablo 6, 7, 8 ve 9'da görülmektedir.

(amfo-ator, amfo-moksi, flu-ator ve flu-moksi) kombinasyonların etkileşim oranları grafik 1,2,3 ve 4'de görülmektedir.

Tablo 5 : Tek başına amfoterisin B, flukonazol, atorvastatin ve moksifloksasin'in *Candida albicans* kökenleri için MİK değerleri

No.	MİK (µg/ml)			
	Amfoterisin B	Flukonazol	Atorvastatin	Moksifloksasin
1	1	4	78	875
2	1	4	156	437
3	1	8	156	219
4	1	8	312	219
5	1	8	78	219
6	1	8	625	219
7	1	8	312	219
*10231	1	8	56	109
*90128	1	8	156	437
*90028	1	8	312	109

* 10231, 90128 ve 90028 suşları ATCC suşlarıdır.

Tablo 6 : Amfoterisin B ve atorvastatin'in MİK sonuçları ile kombinasyon sonucundaki etkileşim tipleri

No.	MİK (µg/ml)		Kombinasyon(FİK)
	Amfo	Ator	Etkileşim tipleri
1	1	78	aditif
2	1	156	sinerjik
3	1	156	aditif
4	1	312	sinerjik
5	1	78	aditif
6	1	625	sinerjik
7	1	312	sinerjik
*10231	1	156	aditif
*90128	1	56	sinerjik
*90028	1	312	sinerjik

* 10231, 90128 ve 90028 suşları ATCC suşlarıdır

Tablo 7 : Amfoterisin B ve moksifloksasin'in MİK sonuçları ile kombinasyon sonucundaki etkileşim tipleri

No.	MİK (µg/ml)		Kombinasyon (FİK)
	Amfo	Moks	Etkileşim tipleri
1	1	875	sinerjik
2	1	437	sinerjik
3	1	219	aditif
4	1	219	aditif
5	1	219	aditif
6	1	219	aditif
7	1	219	aditif
*10231	1	219	aditif
*90128	1	437	sinerjik
*90028	1	109	aditif

* 10231, 90128 ve 90028 suşları ATCC suşlarıdır

Tablo 8 : Flukonazol ve atorvastatin'in MİK sonuçları ile kombinasyondaki etkileşim tipleri.

No.	MİK (ug/ml)		Kombinasyon (FİK)
	Fluk	Ator	Etkileşim tipleri
1	4	78	antagonistik
2	4	156	sinerjik
3	8	156	antagonistik
4	8	312	aditif
5	8	78	aditif
6	8	625	sinerjik
7	8	312	aditif
*10231	8	156	aditif
*90128	8	156	aditif
*90028	8	312	aditif

* 10231, 90128 ve 90028 suşları ATCC suşlarıdır

Tablo 9: Flukonazol ve moksifloksasin'in MİK sonuçları ile kombinasyon sonucundaki etkileşim tipleri.

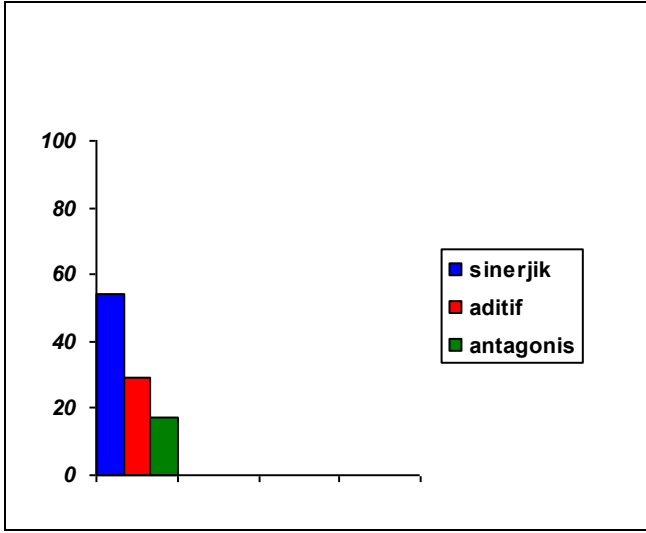
No.	MİK (µg/ml)		Kombinasyon (FİK)
	FLO	MOK	Etkileşim tipleri
1	4	875	aditif
2	4	437	sinerjik
3	8	219	aditif
4	8	219	aditif
5	8	219	sinerjik
6	8	219	aditif
7	8	219	sinerjik
*10231	8	109	aditif
*90128	8	437	aditif
*90028	8	109	sinerjik

*10231, 90128 ve 90028 suşları ATCC suşlarıdır

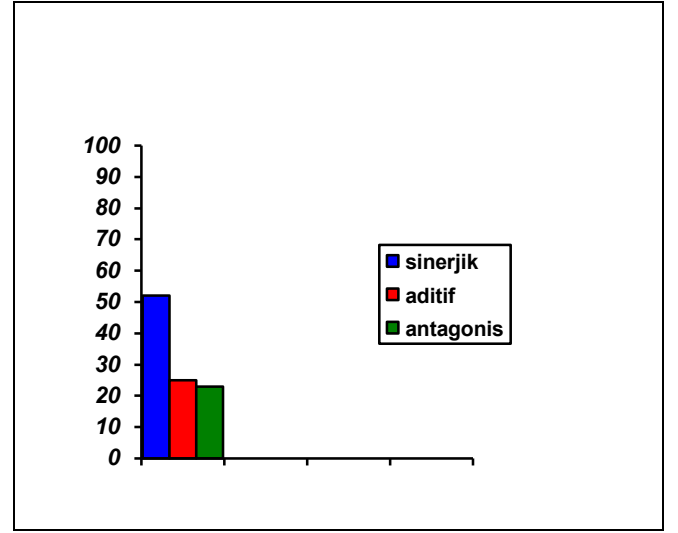
Tablo 10: Kombinasyonların sonucundaki sinerjik, aditif ve antagonistik etki bulunan kuyucuk sayıları ve etkileşim oranları (%)

Amfoterisin B-Atorvastatin				Amfoterisin B-Moksifloksasin			Flukonazol-Atorvastatin			Flukonazol-Moksifloksasin		
No.	Sinerjik	aditif	antagonistik	Sinerjik	aditif	antagonistik	Sinerjik	aditif	antagonistik	Sinerjik	aditif	antagonistik
1	2	6	0	6	2	0	0	2	0	3	3	2
2	4	4	0	5	2	1	4	2	2	4	4	0
3	4	1	3	4	2	2	0	0	8	2	4	2
4	6	1	1	4	2	2	3	3	2	3	3	2
5	4	2	2	4	2	2	1	4	3	3	4	1
6	7	1	0	4	2	2	5	3	0	2	4	2
7	4	3	1	4	2	2	3	5	0	3	3	2
*10231	4	2	2	3	2	3	3	4	1	1	5	2
*90128	5	1	2	5	2	1	3	4	1	2	5	1
*90028	3	2	3	3	2	3	3	5	0	4	2	2
%54 %29 %17				%52 %25 %23			%31 %40 %29			%34 %46 %20		

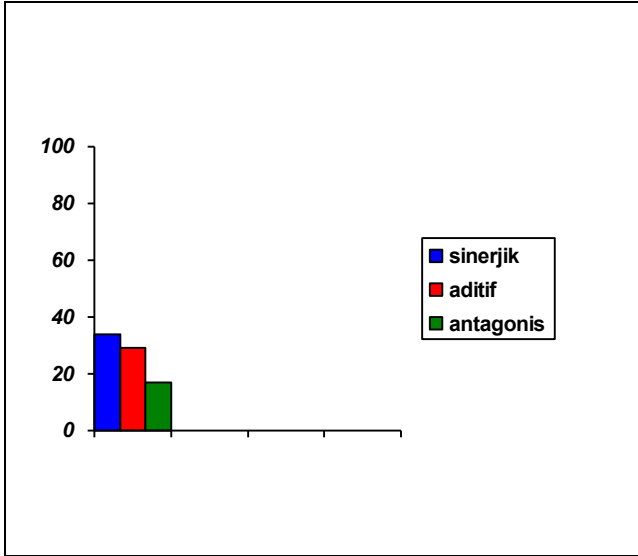
* 10231, 90128 ve 90028 suşları ATCC suşlarıdır



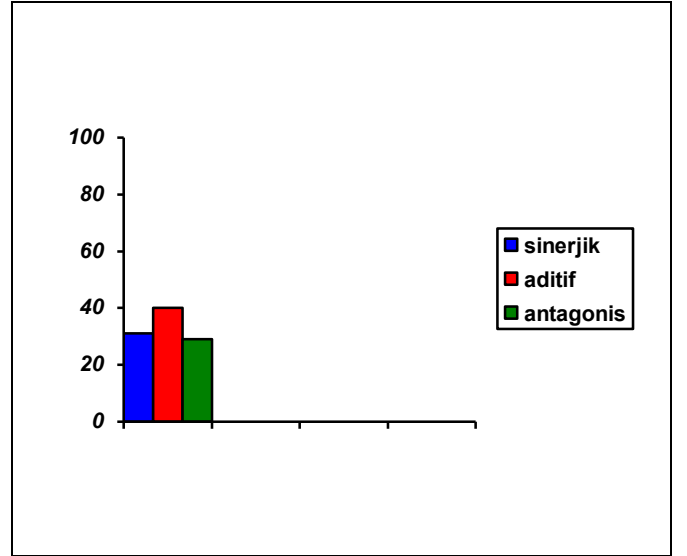
Grafik 1. Amfoterisin B-Atorvastatin kombinasyonundaki etkileşim oranları



Grafik 2. Amfoterisin B-Moksifloksasin kombinasyonundaki etkileşim oranları



Grafik 2. Flukonazol-Moksifloksasin kombinasyonundaki etkileşim oranları



Grafik 4. Flukonazol-Atorvastatin kombinasyonundaki etkileşim oranları

(Kuyucuk sayılarına göre yapılan analizdir)

5. TARTIŞMA

Son yıllarda, bağışıklığı baskılanmış hastalarda çeşitli *Candida* türleri ile oluşan derine yerleşmiş enfeksiyonların insidensi artmakta ve tüm olguların >%75'i *C. albicans* ile oluşmaktadır. Azollerden flukonazol, ağızdan çok iyi kullanım, stabil parenteral formülasyon, poliyenlerden çok daha az toksik olmak gibi birçok üstünlüğe sahip olup, sistemik *Candida* enfeksiyonlarının tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak flukonazol, diğer türevleri gibi yalnızca fungistatiktir. Ayrıca flukonazol'e dirençli *C. albicans*'ın daha sık karşılaşıldığı AIDS ve kanserli hastalarda tedavi başarısızlıkları artmaktadır. Poliyenlerden ise amfoterisin B, sistemik ve fırsatçı mantar enfeksiyonlarının tedavisinde ilk seçenek olmaktadır, fakat özellikle *C. lusitania* ve *C. tropicalis* gibi bazı mantar türlerinde direnç oranları gittikçe artmaktadır. Bağışıklığı ciddi şekilde baskılanmış olgulardaki derin kandidozun tedavisindeki başarısızlık insidensinin ve dirençli mantar türlerinin artması nedeniyle yeni, daha etkili maddelerin ve/veya kullanılmakta olan antifungal maddelerin etkinliğini artıracak kombinasyonların geliştirilmesine gereksinim duyulmaktadır. Kombinasyonlar, istenilen antifungal etkinliğe ulaştırılmasını sağlayabilir⁵⁷

Statin grubu olan atorvastatin, lipid düşürücü (veya HMG KoA redüktaz inhibitörleri) olup, yüksek kan kolesterol düzeylerinden dolayı kardiyovasküler hastalık riski taşıyan kişilerde kolesterolü düşürmek için kullanılmaktadır. Kinolon grubu olan moksifloksasin, bakterisidal antibiyotiktir ve bakteri hücreesindeki temel hedefi DNA-giraz (Topoizomerez II) enzimidir.

Bu çalışmada, atorvastatin ve moksifloksasin'in flukonazol ve amfoterisin B ile kombinasyon etkileşimleri araştırılmıştır .

Etki mekazımları farklı olan iki veya daha fazla ilacın birlikte kullanımının basit olarak tek başına kullanımından daha etkili olacağı her zaman beklenmemektedir. Antifungal ilaçlar başka ilaçlarla veya antimikrobiyal olmayan maddeler ile kombine olduğunda, antifungallerin öldürme ve klinik etkinlikleri azalabilir, ilaç etkileşimleri ve toksisite potansiyeli ise artabilir⁵⁷. Kombinasyon sonucunda elde edilen sinerjik etkide bazı mekanizmalar ileri sürülmektedir : 1) Aynı biyokimyasal yolda farklı aşamaların inhibisyonu, 2) Kombinasyondaki iki ilaçtan birinin hücre duvarı veya hücre membranından geçişi artırması 3) Hücre membranına yapılan etkiyle, maya hücresinden ilacın dışarı taşınmasının önlenmesi, 4) Aynı anda farklı hedeflerin inhibisyonu, 5) Hızlı fungisidal bir ilacın mantar yükünü azaltması, ikinci ilacın az sayıdaki mantar hücrelerinin ortadan kaldırılmasını sağlaması.⁵⁷

Antagonistik etkileşimde de farklı mekanizmalar söz konusudur: 1) Aynı hedefte etki sonucu kompetitif olarak ikinci ilacın etkisinin azalması, ya da birinci ilacın hedefi değiştirmesi ve ikincisinin etki gösterememesi, 2) Hücre yüzeyine bir ilacın adsorpsiyonu sonucu ikincisinin bağlanamaması, 3) Hedefin değişmesi sonucu patojenin diğer antifungallere daha az duyarlı hale gelmesi⁵⁷

Mantar hücre membranında bulunan steroller, insan hücre membranında bulunan sterollerden farklılık göstermesi nedeniyle, antifungal ilaçlar için önemli bir hedef haline gelmiştir. Ergosterol, mantar hücre zarının başlıca sterolü olup, hücrenin çeşitli fonksiyonlarına katılır ve tüm mantarların canlılığında temel bir görev üstlenir. Ergosterolün biyosentezini durduran çeşitli antifungal bileşikler keşfedilmiştir, bunların en önemlileri skualen epoksidazın baskılanması ve C14 demetilasyonunun baskılanmasıdır. Poliyen antifungaller (amfoterisin B), mantar hücre zarında ergosterole bağlanarak hücre zarının özelliğini değiştirir. Bu bağlanma sonucunda hücre içerisinde Na, K ve H atomları hücre dışına çıkarak hücre ölümüne

neden olmaktadır. Azol antifungaller (flukonazol) ise ergosterol biyosentezinde görevli bir enzim olan lanesterol demetilaz ile etkileşime girerek ergosterol biyosentezini baskılar.⁵⁸

Yeni olası hedefler arasında ergosterol sentezinin skualen molekül oluşumundan önceki basamaklarda yer alan, 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (HMG-CoA) sentezini sağlayan HMG-CoA sentetaz ve mevalonik asit sentezini sağlayan HMG-CoA redüktaz gibi enzimler bulunmaktadır.

Bilindiği gibi, ergosterol sentez yolağında hız sınırlayan enzim, HMG-Co A sentetazdır. Statin grubu kolestrol düşürücü ilaçlar, kompetisyon yoluyla HMG-CoA redüktaz enzimini inhibe ederler. Bu enzimin inhibisyonu sonucunda kolesterol ve ergosterol sentezi inhibe olmaktadır. Dolayısıyla, günümüzde çeşitli çalışmalarda statin grubu ilaçların in vitro antifungal etkinlikleri araştırılmaktadır.⁵⁸

Bu, çalışmamızda, atorvastatin tek başına uygulandığında ve amfoterisin B veya flukonazol ile kombine edildiğinde, elde edilen sonuçlara bakınca, atorvastatin'in tek başına *Candida albicans*'ın klinik kökenleri üzerine az miktarda antifungal etkisi olduğunu gözlemledik. Kombine olarak, atorvastatin ve amfoterisin B'nin etkileşiminde %54 oranında güçlü bir sinerjik etkiyle karşılaştık. (Tablo.10). Fakat flukonazol ile kombine edildiğinde %31 oranında sinerjik etki gözlemlenmiştir (Tablo 10) .

Chin ve ark. fluvastatin, pravastatin, lovastatin ve simvastatin in vitro koşullarda *Candida* türlerine ve *C. neoformans*'a karşı flukonazol ve itrakonazol ile olan etkileşimini araştırmışlar ve sadece fluvastatinin bu iki azol grubu ilaçla sinerjik etki gösterdiğini saptamışlardır. Ancak lovastatin ve simvastatin birer ön ilaçtır ve bu formdayken herhangi bir etkinlikleri yoktur. Bu ilaçlar, sindirim sistemi salgılarıyla karşılaştıktan sonra, inaktif

olan lakton formundan, aktif olan asit formuna dönüşmektedirler. Fluvastatin ise bir ön ilaç değildir.⁵⁹

Macreadie ve ark. ise, simvastatin ve atorvastatinin *Candida* türleri ve *A. fumigatus*'a karşı in vitro etkinliklerini araştırdıkları çalışmalarında, bu iki ilacı kullanmadan önce inaktif olan lakton formundan aktif olan asit formuna dönüştürmüşlerdir. Sonuç olarak, bu iki statin grubu ilacın *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* ve *A. fumigatus*'un üremelerini inhibe ettiğini, ancak *C. krusei* için böyle bir etkinin olmadığını saptamışlardır. Bu çalışmada kullanılan üremeyi inhibe eden ilaç düzeyi, hiperkolestrolemi tedavisinde kullanılan ilaç düzeyiyle benzerdir.⁶⁰

Chamilos ve ark, lovastatin'in klinik zigomiç örneklerine ve özellikle *Drosophila melanogaste* türüne karşı in vitro etkisinin olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca incelemeleri sonucunda lovastatin'in vorikonazol ile kombinasyonunun zigomiçlere karşı sinerjik şekilde daha etkili olduğunu görmüşlerdir.⁶¹

Rhodotorula rubra, *S. cerevisiae* mayalarının simvastatin atorvastatin varlığında üremelerinin inhibe olduğu ve ergosterol seviyelerinin düştüğü gösterilmiştir.⁶⁰

Macreadie ve ark, simvastatin ile muamele edilen kandidalarda ergosterol seviyelerinde bir düşme olduğunu doğrulamışlardır. Mevalonik asit biyosentezinde anahtar bir enzim olan HMG-CoA reduktaz enziminin inhibisyonu sonucunda düşük ergosterol seviyelerinin artmasının beklendiğini belirtmişlerdir. Bu statin bağımlı üreme inhibisyonunun ise sterol alım oranlarından veya mevalonik asit yolundan ya da ergosterol tüketimi sebebiyle membrana yapılan etkilerden kaynaklanabileceğini göstermişlerdir. Bunlara ek olarak, üreme inhibisyonunu etkileyen başka faktörlerinde olduğu unutulmamalıdır. Örneğin statin, protein

prenilasyonunun azalmasına neden olmaktadır. Lovastatin, *Mucor racemosus*'ta apoptoz benzeri hücre ölümüne neden olarak Ras proteinlerinin prenilasyonunun azalmasını sağlamaktadır.⁶⁰

Bazı çalışmalara göre,örneğin Chin ve ark, lovastatin, pravastatin ve simvastatin'in agar difüzyon yönteminde hiçbir antifungal etkilerinin olmadığını göstermişlerdir, fakat bunun ön ilaç olan lovastatin ve simvastatin'in aktivitesindeki eksiklikten dolayı olabileceğini açıklamışlardır.⁵⁹ Ayrıca, ön ilaç olmayan fluvastatin'in *Candida* türlerine ve *C. neoformans*'a karşı aktif bir antifungal etkisinin olduğunu belirlemişlerdir. Buna ek olarak, fluvastatin-flukonazol veya fluvastatin-itrakonazol kombinasyonunun yüksek sinerjik antifungal aktivite gösterdiğini açıklamışlardır.⁶⁰

Wikhe ve ark, çalışmalarında simvastatin ile muamele edilen *C. glabrata*'daki ergosterol'ün önemli bir ölçüde azaldığını ve onunla birlikte üremenin de inhibe olduğunu görmüşler, fakat üremenin, ergosterol veya kolesterolün eklenmesiyle tamamen geri döndüğünü saptamışlardır.⁶²

Atorvastatin ve simvastatin *Candida albicans*'daki gibi, diğer patojen *Candida* türlerinin ve *A. fumigatus*'un üremelerini de inhibe etmektedir. Bu etki *Candida albicans* ve *C. glabrata*'da en fazla olup *C. krusei*'de ise orta seviyededir. Bu sonuç statinle tedavi edilen hastalarda, mantar kolonizasyonunun etkilenebileceğini düşündürmektedir. Statinlerin mantar kolonizasyonunu etkilediğine dair ortaya konmuş ayrıntılı birçok kanıt vardır. Statin alan kandidemili hastaların statin verilmeyenlere göre üç kat daha fazla yaşadıkları bildirilmiştir. Statin alan bu hastalarda *C. albicans* kolonizasyonu çok azdır. Bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlara göre statinlerin (atorvastatin) etki oranları diğer araştırmacıların sonuçlarıyla uyumludur .Statinlerin hem kandida hem de diğer mantar enfeksiyonlarına

etkisini belirlemek bu enfeksiyonların tedavilerini geliştirmek için gereklidir. Bu konuda daha fazla çalışmalara gereksinim vardır.

Topoizomeraz enzimi DNA sentezi için gerekli olan ve tüm ökaryotik hücrelerde bulunan bir enzimdir. Mantarlar da ökaryot organizmalar oldukları için fungal topoizomeraz enzimine sahiptirler⁶³. Patojenik mantarlarda topoizomeraz 1 ve 2'nin çok miktarda bulunduğu bildirilmiştir. Topoizomeraz inhibitörlerinin antifungal etkinliklerinin olduğunu ve fungal topoizomerazlara etki ederken, aynı dozlarda, memelilerin topoizomeraz enzimlerini inhibe etmeyen ilaçlar geliştirmenin mümkün olduğunu göstermişlerdir.⁶⁴

Kinolon antibiyotikler, topoizomeraz enzimini inhibe ederek etki gösterdikleri bilinmesine rağmen, kinolon antibiyotiklerin fungal topoizomeraz enzimini de inhibe edip edemeyeceği ve dolayısıyla antifungal etkinliğinin olup olmadığı merak uyandıran ve araştırılan bir konu olmuştur.⁶³

Kinolon antibiyotiklerin topoizomeraz enzim inhibisyonunun sadece bakterilere spesifik olmadığı, *Pneumocystis carini* gibi diğer patojenlerin enzimlerini de inhibe edebildikleri gösterilmiştir.⁶³

Bu çalışmada moksifloksasin'in, klinik *Candida albicans* kökenleri üzerine az miktarda antifungal etkisinin olduğunu gözlemlenmiştir. Amfoterisin B ile kombine edildiğinde %52, flukonazol ile kombine edildiğinde ise %34 oranında sinerjik etki saptanmıştır (Tablo.10) .

Nakajima ve ark. Kendi yaptıkları bir kinolon antibiyotik olan DU-6859a maddesinin, tek başına antifungal etkinliği olmamasına rağmen, in vitro ve in vivo (farelerde) olarak amfoterisin B ve flukonazol'un, *C. albicans* ve *A. fumigatus*'a karşı antifungal etkinliğini arttırdığını göstermişlerdir .⁶⁵

Bir başka in vivo çalışmada, farelerde invazif sistemik *C. albicans* kandidozunda, siprofloksasin ve travofloksasinin tek başlarına kullanıldığında antifungal etkinliklerinin olmadığı, fakat kombine edildiklerinde amfoterisin B ve flukonazol'ün *C.albicans*'a karşı etkinliğini arttırdıkları gösterilmiştir.⁶⁶

Aynı çalışmada siprofloksasin ve travofloksasin ile kombine edildiğinde amfoterisin B'nin optimum dozundan (1mg /kg /gün) daha düşük dozlarda da aynı etkinliği gösterdiği ve flukonazol ile kombine edildiklerinde ise flukonazole dirençli *C.albicans* suşunun duyarlı hale geldiği de gösterilmiştir.⁶⁶

Amfoterisin B ile siprofloksasin ve levofloksasin'in, Candida suşlarına ve *Exophilia spinifera*'ya karşı, amfoterisin B ile norfloksasin'in ise *C. albicans*'a karşı in vitro olarak sinerjik etki gösterdikleri ve amfoterisin B'nin norfloksasin ile kombine edildiğinde, *C.albicans* ve *Cryptococcus* için MİK değerlerinin 2 ile 32 kat azaldığı bildirilmiştir.⁶³

Nalidiksik asit ve enoksasinin, amfoterisin B ve imidazol antifungaller ile sinerjik etki göstermekle birlikte, fluorinize kinolonlar (siprofloksasin, norfloksasin gibi) antagonistik etki göstermektedirler.⁶³

Piyasada mevcut olan kinolon antibiyotiklerin antifungallerle kombine edildiklerinde gösterdikleri sinerjistik etkinin mekanizması bilinmemektedir.

Özdek ve ark, tarafından yapılmış olan in vitro çalışmada moksifloksasin ve diğer 4. kuşak florokinolon olan gatifloksasin'in fungal göz enfeksiyonlarından izole edilen Candida suşlarına karşı belirgin antifungal etkileri tüp mikrodilüsyon testi ile gösterilmiştir.⁶⁷

Bütün bu sonuçlar göz önüne alındığında, kinolonların antifungal ilaçlarla kombine edildiklerinde sinerjik etki göstererek antifungal ilaçların etkinliklerini arttırmaları, ciddi toksisteleri olan bu ilaçların terapötik dozlarını azaltmaları ve bazı dirençli suşların duyarlı hale gelmelerini sağlayabilmeleri mümkün görülmektedir

Günümüzde fungal topoizomerazlara yönelik daha spesifik etki gösterebilecek yeni kinolonların, yeni bir antifungal ilaç grubu olarak ele alınıp üzerinde çalışılması gerektiği düşünülmektedir.

6. SONUÇ

Bu çalışma, moksifloksasin ve atorvastatin'in in vitro antifungal etkisini ve amfoterisin B veya flukonazol ile kombine edildiğinde sinerjik etkilerini gösteren bir çalışmadır. Çalışmaya alınan klinik veya referans *C. albicans* kökenlerinin üremelerinde kontrol ile karşılaştırıldığında belirgin bir azalma görülmüştür. Ayrıca amfoterisin B ile kombine edilen atorvastatin veya moksifloksasin, amfoterisin B'nin tek başına kullanıldığına göre üremeyi tamamen inhibe etmiştir.

Bu çalışmada atorvastatin ve moksifloksasinin tek başına kullanımında in vitro antifungal etkinliği düşük olmasına rağmen, amfoterisin B veya flukonazol ile kombine edildiğinde in vitro olarak amfoterisin B ve flukonazol'ün etkinliğini arttırdığı, yani amfoterisin B, flukonazol ile sinerjik etki gösterdiği saptanmıştır.

Statin veya kinolon grubu gibi antifungal olmayan fakat çeşitli çalışmalarla antifungal etkileri gösterilen maddelerin tedavide yeni ilaç grubu olarak kabul edilmeleri ve geliştirilmeleri için geniş çalışmalara gereksinim vardır.

7. ÖZET

Statin ve Kinolonların antifungal etkilerinin ve antifungal ilaçlarla arasındaki sinerjizmin araştırılması.

İnvaziv fungal infeksiyonların mortalite ve morbiditesinin yüksek oluşu, ampirik antifungal kullanımının yaygınlaşması, dirençli mantar suşlarının ortaya çıkması ve aktif antifungal ilaçların azalması nedeniyle yeni ilaç arayışları hız kazanmıştır. Yeni antifungallerle, özellikle küf mantar infeksiyonlarında, yanıtta dramatik bir artış sağlanamaması, antifungal ilaçların başka ilaçlar veya maddeler ile kombinasyonu şeklindeki tedavi seçeneğine yönelime neden olmuştur. Kombinasyon tedavisiyle daha geniş etki spektrumu yaratılması, etkinliğin artırılması ve dirençli mikroorganizma sayısında azalma olması teorik olarak beklenmektedir. Günümüze dek antifungal ilaçların başka antimikrobiyal ilaçlar (kinolon veya statin) ile etkileşimlerini inceleyen az sayıda çalışma yapılmıştır.

Amfoterisin B ve flukonazol günümüzde mevcut olan en etkili antifungal ilaçlar olmalarına rağmen ciddi oküler ve sistemik toksisiteleri ilaçların kullanımını sınırlamakta ve mantar enfeksiyonlarının tedavisinde en önemli problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Ayrıca diğer sorun mantar enfeksiyonlarına neden olan etkenlerin antifungallere direncinin artmasıdır. Bu nedenle özellikle protein translasyon mekanizmaları ve DNA topoizomeraaz enzimlerini ve hidroksimetilglutaril koenzim A (HMG-CoA) redüktazı hedef alan yeni antifungal ilaç arayışları çok önem kazanmıştır.

Moksifloksasin, geniş spektruma (Gram pozitif, Gram negatif, anaerob) sahip, topoizomeraaz 2 ve topoizomeraaz 4 enzim inhibisyonu ile etki gösteren 4. kuşak bir fluorokinolon antibiyotiktir. Moksifloksasinin

antibakteriyel etkinliğinin yanı sıra immün modülasyon yoluyla fungal enfeksiyonlarda koruyucu etki gösterdiği oftalmoloji dışındaki alanlarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Ayrıca literatürde diğer kinolonların antifungal ilaçlarla sinerjik etki gösterdiğine dair pek çok çalışma olmasına rağmen moksifloksasinin antifungal etkinliği ve antifungal ilaçlara olan ilişkisi üzerine yapılmış in vitro çalışmaların sayısı azdır.

Statin grubundan olan atorvastatin, koenzim A (HMG-CoA) redüktaz inhibitörleri ya da sık kullanılan isimleri ile 'statinler' günümüzde kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanılan farmakolojik ajanların başında gelmektedir. Bu ilaçlar, kolesterol sentezinin hız kısıtlayıcı basamağı olan HMG-CoA redüktazı parsiyel olarak inhibe ederek endojen kolesterol sentezinde azalmaya yol açarlar ve bu sayede LDL reseptörlerinin sayısını arttırmakta, LDL ekstraksiyonu ile katabolizmasına katkıda bulunmaktadır.

Bu çalışmada *C. albicans* üzerine moksifloksasin ve atorvastatinin tek başlarına antifungal etkinliğinin olup olmadığı ve amfoterisin B veya flukonazol ile kombine edildiğinde sinerjik etki gösterip göstermediğinin in vitro olarak ortaya konulması amaçlanmıştır.

Bu çalışmada, yedi klinik ve üç referans *C. albicans* suşu kullanılmıştır. Toplam on suş üzerine önce moksifloksasin, atorvastatin, amfoterisin B ve flukonazol'ün in vitro etkileri mikroplak dilüsyon yöntemi ile ve amfoterisin B-atorvastatin, amfoterisin-moksifloksasin, flukonazol-atorvastatin ve flukonazol-moksifloksasin kombinasyonlarına ise dama tahtası yöntemi ile bakılmıştır.

MİK değerlerine göre ve kontrol üreme kuyucuğu ile karşılaştırdığımızda moksifloksasin ve atorvastatinin tek başlarına kullanıldığında bir miktar in vitro antifungal etkinliği olduğu görölmüştür. Kombine şeklinde ise her iki

antifungal ilacın (amfoterisin B ve flukonazol) MİK deęerleri daha dūřūktūr. Amfoterisin B'nin tek bařına ve moksifloksasin veya atorvastatin ile kombine yapıldığında MİK deęeri açısında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamasına raęmen, amfoterisin B'nin tek bařına kullanırken ūreme % 15 mevcutken kombine halinde kullanıldığında hiçbir ūrnekte ūreme gōrūlmemiřtir. Flukonazol ise tek bařına kullanıldığında ūremeyi %65 inhibe ederken kombine halinde ise %75'e yūkselmiřtir. Dolayısıyla moksifloksasin ve atorvastatinin amfoterisin B veya flukonazol ile sinerjik etki gōsterdięini sōylemek mūmkūndūr.

Sonuç olarak bu çalışmada antifungal ilaç olmayan moksifloksasin ve atorvastatinin tek başlarına in vitro antifungal etkisi az olmakla beraber amfoterisin B veya flukonazol ile birlikte kullanıldıklarında amfoterisin B ve flukonazol'ūn etkilerini arttırarak sinerjik etki gōsterdikleri belirlenmiştir .

8. SUMMARY

A study on antifungal effects of statins and quinolons and their synergism with antifungal medicines.

The reason of high mortality and morbidity rate in invasive fungal infections, widely empiric antifungal use, occurrence of resistant fungal strains and decrease of active antifungal drugs have accelerated new drug researches. Because a dramatic increase of response with new antifungal drugs in fungal infections has not been provided, this has caused to tend treatment option in combination with antifungal drugs and other drugs or agents. Formation of broader action spectrum, enhancement of activity and decrease of the number of resistant microorganism have been anticipated theoretically. Numerous in vitro sensitivity tests examining interections of antifungal drugs with other antimicrobial drugs (quinolon and statin) and animal studies until today have been carried out. The limitatons of implementation to human as a result of these must be certainly taken into consideration.

Although nowadays available amphotericin B and fluconazol are the most efficient drugs, serious ocular and systemic toxicity have limited use of the drugs and we encounter a primary important problem of treatment of fungal infections. Also other problem is that factors causing fungal infections increase resistance to antifungal drugs. And therefore especially new antifungal drug searches targeting protein translation mechanisms and DNA topoisomerase enzymes and hydroxymethylglutari coenzyme A (HMG-CoA) reductase have became more of an issue.

Moxifloxacin, broder action spectrum (gram-positive, gram-negative, anaerob), effective with topoisomerase 2 and topoisomerase 4 enzyme inhibiton, is a fourth generation quinolon antibiotic. Researches out of

ophthalmology field have determined that protective activity of moksifloksasin in fungal infections through immune modulation as well as antibacterial efficacy of it is demonstrated. Although there are also numerous studies regarding synergistic activity with antifungal drugs of other quinolons in literature, there is limited number of studies concerning antifungal activity and relationship with antifungal drugs of moxifloxacin.

Atorvastatin that is in a statin group, coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitors or often with used names " statines ", lead among pharmacological agents used for prevention and treatment of cardiovascular diseases. This drugs cause to decrease of endogenic cholesterol by inhibiting partially HMG-CoA reductase which is rate limiting step in cholesterol synthesis and therefore this drugs increase the number of LDL receptors and contribute its catabolism by extraction of LDL .

In this study, it is aimed to determine by in vitro whether moxifloxacin and atorvastatin by itself have an antifungal efficacy on *C. albicans* and synergic activity in combination with amphotericin B or fluconazol.

In this study, seven clinical and three reference *C. albicans* strains are used. Moxifloxacin, atorvastatin, amphotericin B and fluconazol on total ten strains in vitro effects by microplac dilution method and also in combination with amphotericin B-atorvastatin, amphotericin-moxifloxacin, fluconazol-atorvastatin and fluconazol-moxifloxacin by chessboard method are examined.

It is determined that alone each of moxifloxacin and atorvastatin have some in vitro antifungal activity according to MIC and to compare control proliferation well. MIC values for both antifungal drugs (amphotericin B and fluconazol) as for combination drugs are low. Although alone amphotericin B and in combination with moksifloksasin or atorvastatin in terms of MIC value are not determined statistically a significant difference;

available proliferation is 15% when alone amphotericin B uses; it is not determined any proliferatin in samples as for using amphotericin B in combination with other drugs. While alone use of fluconazol inhibits 65 % of proliferation rate, use of fluconazol in combination with other drugs is 75% of proliferation rate. Therefore it is possible to say that synergistic activity with amphotericin B or fluconazol of moksifloksasin and atorvastatin show.

As a result, in this thesis study, it is determined that moxifloxacin and atorvastatin out of antifungal drugs alone have not an antifungal activity in vitro but moxifloxacin and atorvastatin demonstrate a synergistic activity for amphotericin B and fluconazol in combination with amphotericin B or fluconazol.

9. KAYNAKLAR

1. Tümbay E, İnci R. Antifungal ilaçlar. içinde: Willke-Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, editörler. İnfeksiyon Hastalıklarında Tedavi. İstanbul: Nobel Kitapevleri; 2008. s.387-399.

2. İnci R. Antifungal ilaçlar. içinde: Ustaçelebi Ş, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi; 1999.s. 1155-1158.

3. Adiloğlu A, Şirin M, Cicioğlu B, Can R, Dermirci M. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen Candida kökenlerinin identifikasyonu ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması. ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi 2004; 5(3): 33-36.

4. Kaya K, Kaya S, Avunduk H, Özyazıcı G, Bakıcı M. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 10 aylık periyotta saptanan kandiduri etkenlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıkları. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2004; 26 (2): 71-74.

5. Koçoğlu E, Bayram A, Balcı İ . Klinik örneklerden izole edilen kandida türleri ve antifungal duyarlılıkları. Van Tıp Dergisi 2005; 12 (3): 195-200.

6. Kuzucu K, Yetkin G, Çalışkan A. Bir yıl içerisinde kan kültürlerinden izole edilen Candida türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıkları. Erciyes Tıp Dergisi 2007; 29 (2): 115-119.

7. Yeşim Metin D. Simpozyum: Antifungal tedavide yenilikler. Ege üniversitesi Tıp Fakültesi İnfeksiyon Dergisi 2007; cilt 21(EK): 185-187.

8. Anđ Ö, Tümbay E, Küçüker Anđ M, Erturan Z, Mülazımoğlu L. Hastanede ve Muayenehane Hekimliğinde Antibiyotik Tedavisi. Simon-Stille (Çev), Ankara : Nobel Tıp Kitapevleri ; 2008.

9. Saniç A. Antifungal ilaçlar. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Dönem 4 Ders Notları 2001: 233-236.

10. Somer A. İnvaziv mantar enfeksiyonlarında tedavi. Çocuk Enfeksiyon Dergisi 2007; 1: Özel Sayı 1; 29-32.

11. Kebudi R. Yeni antifungaller. ANKEM 2007; 21(Ek2): 210-215.

12. Abad M J, Ansuategui M, Bermejo P. Active antifungal substances from natural sources. Arkivoc 2007;(vii) 116-145.

13. Han Y, Synergic effect of grape seed extract with amphotericin B against disseminated candidiasis due to *Candida albicans*. Phytomedicine 2007; 14: 733-738.

14. Kosalec I, Pepelinjak S, Kustrak D. Antifungal activity of fluid extract and essential oil from anise fruits (*Pimpinella anisum* L., *Apiaceae*) . ACTA Pharmaceutica 2005; 55: 377-385.

15. Al-Burtamani S K S , Fatope M O, Marwah R G, Onifade A K, Al-Saidi S H. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of the essential oil of *Haplophyllum tuberculatum* from Oman. J Ethnopharmacol 2005; 96: 107-112

16.Başer K HJ, Kırimer N, editörler. Haznedaroğlu M Z, Öztürk T, Konyalıoğlu S. *Salvia smyrnaea* boiss. Uçucu yağının antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler Kitabı;2002 29-31 Mayıs, Eskişehir.

17. İlçim A, Dışrak M. Bazı bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerinin araştırılması. TurK J Biol 1998; 22 :119-125.

18. Yiğit N, Yiğit D, Özgen U, Aktaş A E. Kara dut (*Morus nigra* L.)'un antikandidal aktivitesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2007; 37(3): 169-173.

19. Dağcı E K, Dışrak M. Bazı meyve ekstraktlarının antibakteriyal ve antifungal aktiviteleri. KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi 2008; 8:(2) 1-5.

20. Afeltra J, Verweij P E. Antifungal activity of nonantifungal drugs. Eur J Clin Microbiol Infect Derg 2003 ; 22: 397-407.

21. Eilam Y, Polacheck I, Ben-Gigi G, Chernichovsky D. Activity of phenothiazines against medically important yeasts. Antimicrob Agents and Chemother 1987;31(5): 834-836.

22. Wood N C, Nugent K M. Inhibitory effects of chlorpromazine on *Candida* species. Antimicrob Agents Chemother 1985; 27(5): 692-694.

23. Graybill J R, Bocanegra R, Fothergill A, Rinaldi M G. Bleomycin therapy of experimental disseminated candidiasis in mice. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40(3): 816-818

24. Chandrasekar K, Shyla J H, Malathi R. Can antitumor platinum compounds be effective against *Candida albicans* ? A screening assay using disk diffusion method. J Clin Microbiol 2000; 38(10): 3905.

25. Pina-Vaz C, Rodrigues A G, Sansonetty F, Martinez-De-Oliveira J, Fonseca A F, Mardh P-A. Antifungal activity of local anesthetics against *Candida* species. Infect Dis Obstet Gynecol 2000; 8:124-137.

26. Rodrigues A A G, Pina-Vaz C, Mardh P-A, Martinez-De-Oliveira J, Fonseca A F. Inhibition of germ tube formation by *Candida albicans* by local anesthetics: An effect related to ionic channel blockade. Curr Microbiol 2000; 40: 145-148.

27. Stevens D A, Vo P T. Synergistic interaction of trimethoprim and sulfamethoxazole on *Paracoccidioides brasiliensis*. Antimicrob Agents Chemother 1982; 21 (5): 852-854.

28. McCool L, Mai H, Essmann M, Larsen B. Tetracycline effects on *Candida albicans* virulence factors. Infect Dis Obstet Gynecol 2008; 10: 7 sayfa.

29. Levitz S M, Harrison T S, Tabuni A, Liu X. Chloroquine induces human mononuclear phagocytes to inhibit and kill *Cryptococcus neoformans* by a mechanism independent of iron deprivation. J Clin Invest 1997.; 100(6): 1640-1646.

30. Delling U, Raymond M, Schurr E. Identification of *Saccharomyces cerevisiae* genes conferring resistance to quinoline ring-

containing antimalarial drugs. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42(5): 1034-1041.

31. Kirkland T N, Fierer J. Cyclosporin A inhibits *Coccidioides immitis* in vitro and in vivo. Antimicrob Agents Chemother 1983; 24(6): 921-924.

32. DeLucca A J, Bland J M, Jacks T J, Grimm C, Cleveland T E, Walsh T J. Fungicidal activity of cecropin A. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41(2): 481-483.

33. Azcurra A I, Barembaum S R, Bojanich M A, Calamari S E, Aguilar J, Battellino L J, Dorronsoro S T. Effect of the high molecular weight chitosan and sodium alginate on *Candida albicans* hydrophobicity and adhesion to cells. Oral Med Pathol Oral Cir Bucal 2006; 11: E120-125.

34. Samaranayake Y H, Samaranayake L P, Pow E H N, Beena V T, Yeung K W S. Antifungal effects of lysozyme and lactoferrin against genetically similar, sequential *Candida albicans* isolates from a human immunodeficiency virus-infected Southern Chinese Cohort. J Clin Microbiol 2001; 39(9): 3296-3302.

35. Kuipers M E, Vries H G, Eikelboom M C, Meijer D K F, Swart P J. Synergistic fungistatic effects of lactoferrin in combination with antifungal drugs against clinical *Candida* isolates. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43(11): 2635-2641.

36. Mello A M, Gomes R T, Lara S R, Silva L G, Alves J B, Cortes M E, et al. The effect of Brazilian Propolis on the germ tube formation and cell wall of *Candida albicans*. Pharmacol Online 2006; 3: 352-358.

37. Aksoy Z, Dışrak M. Bingöl yöresinde toplanan bal ve propolisin antimikrobiyal etkisi üzerinde in vitro araştırmalar. Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik. Bilimleri Dergisi 2006;18(4): 471-478.

38. Ota C, Unterkircher C, Fantinato V, Shimizu M T. Antifungal activity of propolis on different species of *Candida*. Mycoses 2001; 44: 375-378.

39. Santos V R, Pimenta F J G S, Aguiar M C F, do Camo M A V, Naves M D, Mesquita R A. Oral candidiasis treatment with Brazilian ethanol propolis extract. Phytotherapy Res. 2005; 19: 652-654.

40. Nassar F, Brummer E, Stevens D A. Different components in human serum inhibit multiplication of *Cryptococcus neoformans* and enhance fluconazole activity. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39(11): 2490-2493.

41. Martins L F, Montiro-Lomeli M, Masuda C A, Fortes F S A, Previato J O, Mendonça-Previato L. Lithium-mediated suppression of morphogenesis and growth in *Candida albicans*. FEMS Yeast Res 2008; 1-7.

42. Bro C, Regenber B, Lagniel G, Labarre J, Montero-Lomeli M, Nielsen J. Transcriptional, proteomic, and metabolic responses to lithium in galactose-grown yeast cells. J of Biol Chem 2003; 278 (34): 32141-32149.

43. Masuda C A, Xavier M A, Mattos K A, Galina A, Montero-Lomeli M. Phosphoglucosyltransferase is an in vivo lithium target in yeast. J Biol Chem 2001; 276 (41) : 37794-37801.

44. Erturan Z, Kiraz N, Anđ Ö. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antifungal aktivitelerinin araştırılması. KLİMİK Derg1997;10 (3):. 125-126.

45. Bahadır Arslan M. Metabolik sendromlu hastalarda lipid düşürücü medikal tedavinin küçük yoğun LDL üzerine etkisinin araştırılması. Uzmanlık Tezi. İstanbul: Sağlık Bakanlığı Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi ; 2007.

46. Statinler-Vikipedi [online]. 2009. [24.04.2009]
Available from: URL:
<http://www.Statinler Vikipedi.htm>.

47. Kuştımur S. Antifungaller. Ağaçfıdan A, Erturan Z, editörler. XXXIII. Türk Mikrobiyoloji Kongre Kitabı.İstanbul: Çatı Grafik Reklamcılık; 2008.s.381-385.

48. Leblebicioğlu H. Kinolonlar.Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Dergisi 2001; 6 (3); 209-213.

49. Sümer Z, Kaya S, Çetin A, Hakgüdener Y. *Candida albicans* üzerine omeprazolün in vitro antifungal etkisinin flukonazol ile karşılaştırmalı çalışması. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2005; 27(2): 74-78.

50. Koçoğlu E, Bayram A, Balcı İ. Klinik örneklerden izole edilen Kandida türleri ve antifungal duyarlılıkları. Van Tıp Dergisi 2005; 12(3):195-200.

51. Adiloğlu A K, Şirin M C, Cicioğlu-Arıdoğan B, Can R, Demirci M. Çeşitli klinik örenklerden izole edilen Candida

kökenlerinin identifikasyonu ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması. ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi 2004; 5(3): 33-36.

52. Kiraz N, Erturan Z, Uzun M, Durmaz G, Us Tercan, Akgün Y, Ang Ö . Üç yüz *Candida albicans* suşunun amfoterisin B, flusitozin, flukonazol ve mikonazole duyarlılıklarının araştırılması. Klimik Dergisi 1998 ; 11 (3): 116-118.

53. Ergon M C, Yücesoy M. Mayaların antifungal duyarlılıklarının araştırılmasında 'high resolution' besiyeri kullanılan mikrodilüsyon yönteminin değerlendirilmesi. İnfek Derg 2005; 19 (4) : 445-451.

54. Şener A G, Türk M, Afşar İ, Türker M. Çoğul dirençli *Acinetobacter* kökenlerinde ampisilin / sulbaktam-siprofloksasin, ampisilin / sulbaktam-amikasin, imipenem - siprofloksasin, imipenem-amikasin kombinasyonlarının in vitro etkileşimlerinin araştırılması. İnfek Derg 2005; 19 (1): 107-110.

55. Çınar T, Leblebicioğlu H, Eroğlu C, Sünbül M, Esen Ş, Günaydın M. Enterokoklarda penisilin-aminoglikozid sinerjisinin araştırılması. KLİMİK Derg1999; 12(1): 39-42.

56. Kantarcıoğlu A S, Yücel A. Terbinafin ile flukonazol kombinasyonunun *Candida albicans* kökenlerine karşı in vitro etkisi. İnfek Derg 2003; 17(1): 71-75.

57. Uzun Ö. Antifungal kombinasyon tedavisi. ANKEM Dergisi 2006; 20 (Ek 2): 36-37

58. Sancak B. Araştırılmakta olan antifungal etkili diğer bileşikler. 5. Ulusal Mantar Hastalılıkları ve klinik Mikoloji Kongresi, Çanakkale, Tutanaklar. İnfek Derg 2007; 21 (Supl):.189-194.

59. Chin N-X, Weitzman I, Della-Latta P. In vitro activity of fluvastatin, a cholesterol-lowering agent, and synergy with fluconazole and itraconazole against *Candida* species and *Cryptococcus neoformans*. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41(4): 850-852.

60. Macreadie I G, Johnson G, Schlosser T, Macreadie P I. Growth inhibition of *Candida* species and *Aspergillus fumigatus* by statins. FEMS Microbiol Lett 2006; 262: 9-13.

61. Chamilos G, Lewis R E, Kontoyiannis D P. Lovastatin has significant activity against Zygomycetes and interacts synergistically with voriconazole. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50(1): 96-103.

62. Wikhe K, Westermeyer C, Macreadie I G. Biological consequences of statins in *Candida* species and possible implication on for human health. Biochemical Society Transactions 2007; 35 (6): 1529-1532.

63. Deren Tiftikçioğlu Y. Deneysel *Candida albicans* endoftalmili tavşan gözlerinde intravitreal moksifloksasin ve amfoterisin B monoterapileri ile kombinasyon tedavisinin antifungal etkinliğinin karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi Göz hastalıkları AD ; 2006.

64. Shen L L, Baranowski J, Foster J, Montgomery D A, Lartey P A. DNA topoisomerases from pathogenic fungi: targets for the

discovery of antifungal drugs. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36 (12) :2778-2784.

65. Nakajima R, Kitamura A , Someya K, Tanaka M, Sato K. In vitro and in vivo antifungal activities of DU-6859a, a fluoroquinolone, in combination with amphotericin B and fluconazole against pathogenic fungi. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39(7):1517-1521.

66. Sugar A M, Liu X P, Chen R-J . Effectiveness of quinolone antibiotics in modulating the effects of antifungal drugs. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1997; 41(11): 2518-2521.

67. Ozdek S, Miller D, Flynn PM, Flynn HW. In vitro antifungal activity of the fourth generation fluoroquinolones against *Candida* isolates from human ocular infections. *Ocular Immunology and Inflammation* 2006; 14(6): 347–351.

10. Özgeçmiş:

24.07.1980 yılında Musul'a bağlı Telafer ilçesinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Telafer'de tamamladım. 2004 yılında Musul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldum. Mezuniyetten sonra 2005-2006 yıllarında Telafer'de öğretim görevlisi olarak çalıştım. Türkiye'de bir yıl Türkçe eğitimi aldıktan sonra 2007-2008 öğretim yılında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesinin Mikrobiyoloji anabilim dalında yüksek lisans eğitimime başladım. Halen burada eğitimimi sürdürmekteyim.