

# BAZI ANTİBİYOTİKLERİN HÜCRESEL İMMÜN YANIT ÜZERİNE ETKİLERİ

Neşe ATABEY<sup>1</sup>, Muharrem GÖKOĞLU<sup>2</sup>

## ÖZET

Sefoperazon, ampisilin-sulbaktam, mezlosilin ve rifamisinin hücresel immün yanıt etkileri incelenmiştir. Hücresel yanıt etkinin in vivo incelenmesi amacı ile deney ve kontrol gruplarında yer alan toplam 25 tavşana antijen (BCG) enjekte edilmiş ve her gruba o antibiyotik için kullanılması önerilen dozlarda yedi günlük bir tedavi modeli uygulanmıştır. Hücresel yanıt etkinin in vitro değerlendirilmesi amacı ile, hazırlanan lenfosit kültürlerinde mitotik indekse etki, insan nötrofillerinin maya hücrelerini fagosite etme yeteneklerine etki değerlendirilmiştir. Deri testi sonuçlarına göre, incelenen tüm antibiyotiklerin geç tip aşırı duyarlılık reaksiyonunu azaltıcı etki yaptığı, ancak bu azalmanın yalnızca rifamisin grubunda anlamlı olduğu ( $p<0.05$ ) saptanmıştır. Lenfosit kültürlerinin incelenmesi ile, 50-3.125 mcg/ml sefoperazon, 506.25 mcg/ml ampisilin, sulbaktam ve mezlosilin, 50-1.6 mcg/ml rifamisin varlığında mitotik indeksin anlamlı derecede azaldığı ( $p<0.001$ ) belirlenmiştir. Nötrofillerin maya hücrelerini fagosite etme yeteneği tüm antibiyotik sulandırımalarında azalmış, ancak bu azalmanın 50-1.6 mcg/ml rifamisin ve 50-12.5 mcg/ml ampisilin-sulbaktam ve mezlosilin varlığında anlamlı olduğu görülmüştür ( $p<0.001$ ).

## SUMMARY

*The effect of some antibiotics on cellular immune response.*

The effects of cefoperazone, ampicillin-sulbactam, mezlocillin and rifamycin on cellular immune response were studied. Antigen (BCG) was injected to 25 rabbit, consisting experimental and control groups, 24 hours before antibiotic administrations. Antibiotics were administered in human therapeutic doses for seven days. In in vitro part of the study, lymphocyte cultures and neutrophil phagocytosis were used to determine the effects of antibiotics on cellular immune response. The delayed type hypersensitivity reactions were suppressed significantly by only rifamycin ( $<0.05p$ ). Significant suppression of lymphocyte proliferation were recorded in lymphocyte cultures containing 503.125 mcg/ml cefoperazone, 50-6.25 mcg/ml ampicillin-sulbactam and mezlocillin, 50-1.6 mcg/ml rifamycin ( $p<0.001$ ). The capacity of phagocytosis of yeasts by human neutrophils were significantly decreased in 50-12.5 mcg/ml mezlocillin and ampicillin-sulbactam, and 50-1.6 mcg/ml rifamycin ( $p<0.05$ ).

## GİRİŞ

İnfeksiyon hastalıklarından korunmada konak savunmasındaki en önemli hücrelerden biri olan nötrofillerin ana fonksiyonu vücuda giren mikroorganizmaların fagositozu ve öldürülmesidir. Antibiyotiklerin fagositoz üzerine etkileri konusundaki araştırmalar bazı antibiyotiklerin fagositozu artırdığını, bazılarının ise azalttığını göstermiştir (5,10) Alexander ve Good (1), bakteri, antibiyotik ve

1- Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

2- Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sivas.

lökositler arasındaki karşılıklı ilişkiyi ortaya koymak amacı ile yaptıkları bir seri deneyde, fagosite edilen bakterilerin antibiyotiklerin letal etkisinden korunduğunu, buna bağlı olarak iyileşmenin gerçekleşmediğini belirlemişlerdir. Bir başka çalışmada *Candida albicans*'ın antibiyotik kullanan kişilerde hastalık oluşturma insidansının yükselmesinden yola çıkarak sülfonamidlerin varlığında nötrofillerin *Candida* türlerini fagosite etme yeteneğinin azaldığı bildirilmiştir (12). Makrofajların antibiyotiklerden değişik oranlarda etkilendiğinin belirlenmesinden sonra lenfositlerin de bunlardan etkilenip etkilenmediği sorusu akla gelmiştir. İn vitro koşullarda bazı antibiyotiklerin mitojen veya antijen ile indüklenen lenfosit proliferasyonunu baskıladığı belirlenmiştir (2-4). İn vivo koşullarda hücrel immün yanıtın bir göstergesi olan geç tip aşırı duyarlılık ise ikinci antijenik uyarımı takiben 24-48 saat sonra ödem ve hücrel infiltrasyon ile karakterize bir şekilde ortaya çıkar ve bu olayda T lenfosit artışı çok önemlidir. Bu etkinin belirlenmesi amacıyla çeşitli antijenlerin kullanıldığı deri testleri yapılmaktadır. Elde edilen sonuçlar bazı antibiyotiklerin geç tip aşırı duyarlılık reaksiyonunu baskıladığını, hiç etkilemediğini veya artırdığını göstermiştir (9, 11, 14).

## GEREÇ VE YÖNTEM

Deney hayvanları: Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkezi Araştırma ve Deney Hayvanları Laboratuvarından sağlanan, sağlıklı, daha önce hiç antibiyotik uygulanmamış 25 Yeni Zelanda tavşanı ile çalışılmıştır. Hayvanlar beşer tavşan içeren dördü antibiyotik, biri kontrol olmak üzere toplam beş gruba ayrılmıştır.

Antibiyotikler: Deney grubunda yer alan tavşanlara sefoperazon, ampicilin--sulbaktam, mezlosilin ve rifamisın insanda tedavi amacı ile önerilen dozlarda yedi gün süre ile kas içi uygulanmıştır. Kontrol grubundaki tavşanlara aynı miktar ve süre ile % 0.9'luk serum fizyolojik enjektelerde edilmiştir.

Antijen: Hücrel yanıtı uyarmak amacı ile hem deney hem de kontrol grubundaki tavşanlara, antibiyotik uygulanmasından 24 saat önce deri içi yolla 0.1 ml BCG enjektelerde edilmiştir (9, 11, 17).

1- Geç tip aşırı duyarlılık reaksiyonuna etkinin belirlenmesi: Tavşanlara BCG enjeksiyonundan 21 gün sonra PPD deri testi uygulanmış ve test 48 saat sonra değerlendirilmiştir (9, 14, 17).

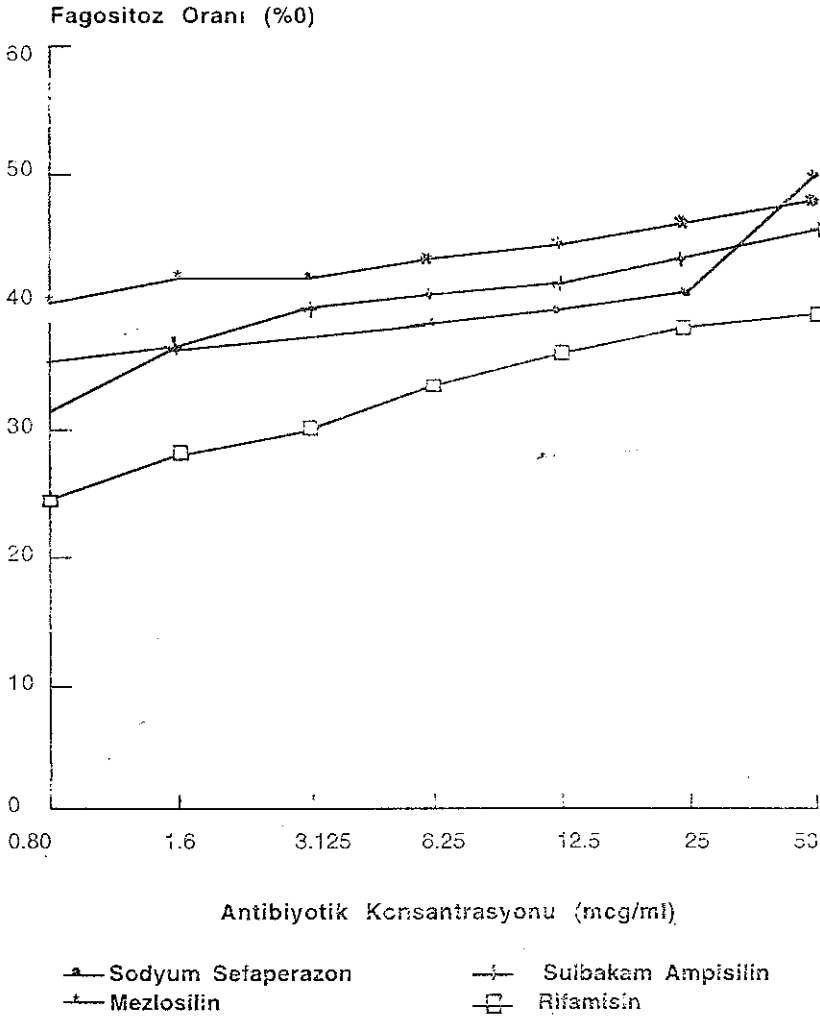
2- Lenfosit proliferasyonunun etkinin ve mitotik indeksin belirlenmesi: Moorhead ve arkadaşlarının tanımladığı tekniğe göre hazırlanan lenfosit kültürlerine, her antibiyotik steril çözücüsü içerisinde hazırlanan süspansiyonundan 0.8-50 mcg/ml eklenmiştir. Kontrol olarak antibiyotik eklenmemiş lenfosit kültürleri kullanılmıştır. Mitotik indeks her preparatta en az 100 lenfosit sayılarak hesaplanmıştır (15).

3- Fagositoza etkinin belirlenmesi: Brand tarafından tanımlanan ve Miller tarafından (13) modifiye edilen yöntem ile çalışılmıştır. Yönteme uygun olarak hazırlanan preparatlarda her sulandırım için en az 100 nötrofil sayılarak maya hücrelerini fagosite etme oranı belirlenmiştir.

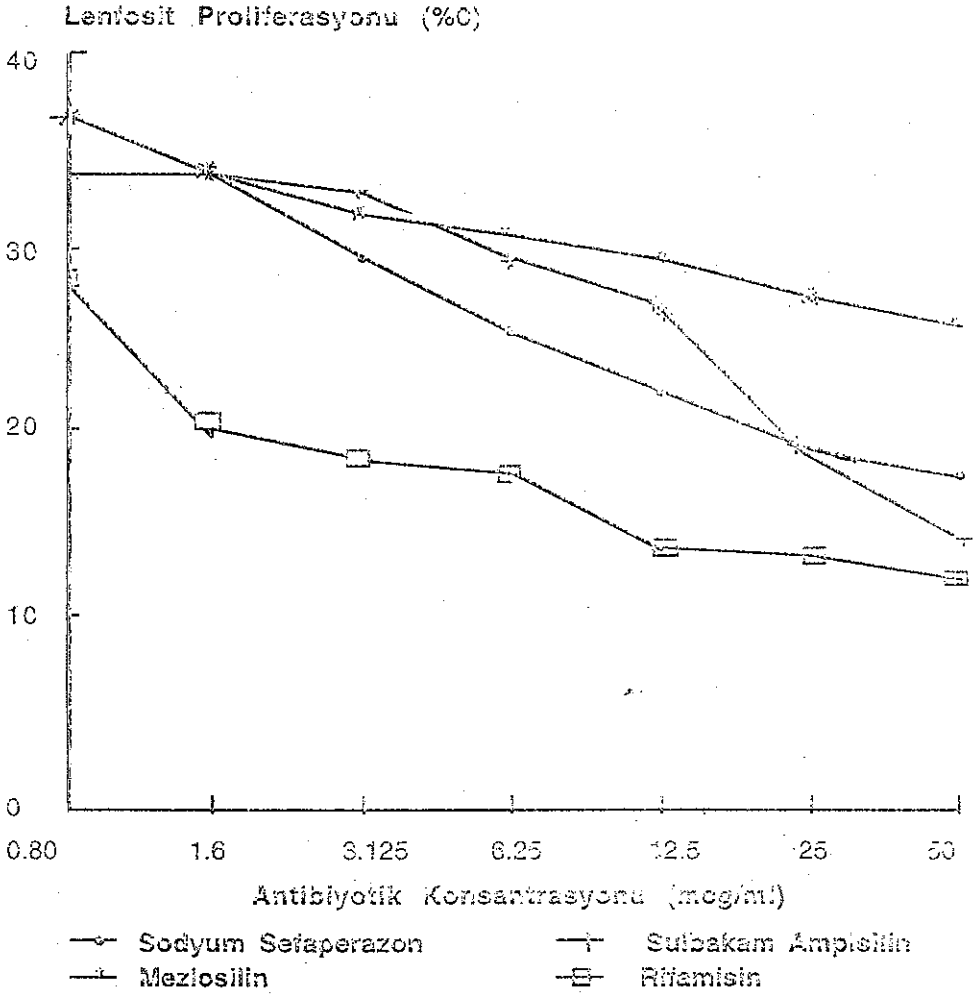
Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde deri testi sonuçları için Fisher kesin Ki-kare testi, lenfosit proliferasyonuna etkinin değerlendirilmesinde dört gözlü düzende Ki-kare testi uygulanmıştır.

## BULGULAR

Çalışılan antibiyotiklerin tamamının hücresel yanıtın çeşitli basamaklarını değişik oranlarda etkilediği, antibiyotiklerin çeşitli sulandırılmalarının insan nötrofilleri üzerine eklenmesi ve bu antibiyotikler ile 30 dakika inkübe edilmesi sonucunda, antibiyotik konsantrasyonu arttıkça maya partiküllerinin fagosite edilme oranında azalma olduğu belirlenmiştir (Şekil 1). Bu farklılıklar kontroller ile karşılaştırıldığında rifamisin'in 50-1.6 mcg/ml ve ampisilin-sulbaktam ile mezlosilin'in 50-12.5 mcg/ml'lik konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Çalışmaya alınan antibiyotiklerin tamamının PHA ile uyarılan T lenfosit proliferasyonunu azaltıcı etki yaptığı görülmüştür. Lenfosit kültürüne eklenen antibiyotik miktarı arttıkça lenfosit proliferasyonu azalmaktadır (Şekil 2). Deney ve kontrol grupları arasındaki farklılık istatistiksel olarak



Şekil 1 : Çeşitli Antibiyotik Konsantrasyonlarında ve Kontrollerde Fagositoz Yüzdesi



Şekil 2 : Çeşitli Antibiyotiklerin Farklı Sulandırılmalarının Lenfosit Proliferasyonuna Etkisi.

değerlendirildiğinde sefoperazonun 50-3.125 mcg/ml, ampisilin-sulbaktam ve mezlosilinin 50-6.25, rifamisininin 501.6 mcg/ml'lik sulandırımalarında lenfosit proliferasyonunu anlamlı derecede azalttığı belirlenmiştir (p<0.001). Deri testi sonuçlarına göre, kontrol grubunda % 80 olan pozitiflik oranının sefoperazon ve ampisilin-sulbaktam grubunda % 20'ye, mezlosilin grubunda % 40'a düştüğü, rifamisin grubunda ise tüm sonuçların negatif olduğu belirlenmiştir. Bu farklılıklar rifamisin grubu dışında anlamlı bulunmamıştır (p>0.05).

## TARTIŞMA

Bulgularımıza göre çalışmaya alınan antibiyotiklerin tamamı hücrel yanıtı değişik oranlarda etkilemektedir. Bu da pek çok araştırmacının sonucuna benzerlik göstermektedir. Forsgren ve ark. (7) çalıştıkları antibiyotiklerin fagositozu anlamlı derecede inhibe ettiğini belirlerken, bu konudaki bir başka çalışmada protein sentezini etkileyen tüm antibiyotiklerin fagositozu azalttığı bildirilmiştir (3). Bunların aksine Hand ve arkadaşları (10) protein sentezini etkileyen antibiyotiklerin nötrofillerin fagositoz yeteneğini artırdığını belirlemişlerdir. Rubinstein ve Pellet (18) ise rifamisinin tedavi edici dozlarda uygulanmasını takiben fagositozu anlamlı derecede inhibe ettiğini saptamışlardır. Bir başka çalışmada MIC konsantrasyonlarında sefalosporinlerin ortama eklenmesi halinde nötrofillerin *E. coli*'yi fagosite etme yeteneklerinin arttığı belirlenmiştir. Bu etkinin hücre duvarı sentezini etkileyen tüm antibiyotikler için geçerli olduğu; antibiyotiklerin etkisi ile ortaya çıkan bakteri hücre duvarı komponentleri, lipid ve teikoik asitlerin etkisi ile nötrofillerin fagositoz yeteneklerinin artması sonucunda ortaya çıktığı bildirilmektedir (8). Cuffini ve ark. (5) sefalosporinlerin ortama eklenmesi halinde makrofajların *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'yı fagosite etme yeteneklerinde artış olduğunu belirlemişlerdir. Antibiyotiklerin lenfosit proliferasyonunu da anlamlı bir şekilde azalttığı ve bu etkinin özellikle rifamisin grubunda belirgin olduğu saptanmıştır (7). Ruben ve ark. (17) ise aktif tüberkülozlu hastalardan elde ettikleri lenfositler ile çalışmışlar ve rifamisinin lenfosit proliferasyonunu etkilemediğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada antibiyotiklerin direkt kültür ortamına eklenmeyip, tedavi dozlarında insanlara uygulanmasını takiben kültüre edilmesi bu farklı sonuçların nedeni olabilir. Sefalosporinler ile çalışan Roszkowski ve ark.'nın (16) aksine Munster ve ark. (15) sefalosporinlerin ve penisilinlerin lenfosit proliferasyonunu stimüle ettiğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacıların hücrel yanıtı etkiyi yedi günlük bir tedavi modelinde in vivo incelemeleri sonucunda, sefalosporin ve mezlosilinin geç tip aşırı duyarlılık reaksiyonunu azalttığı ve bu etkinin sefalosporin grubunda 12, mezlosilin grubunda ise 20 gün süre ile devam ettiği belirlenmiştir. Bir başka çalışmada rifamisin uygulamasının insanda deri testi sonuçlarının negatifleşmesine neden olduğu bildirilken (17), Mukarjee ve ark. (14) hem tüberkülozlu hem de sağlıklı kişilerde rifamisine bağlı geç tip aşırı duyarlılık reaksiyonunun değişmediği sonucunu elde etmişlerdir. Deney hayvanı ile çalışan Durupınar(6) rifamisin ve kontrol grubunda deri testi sonuçlarında anlamlı bir farklılık belirlememiştir. Bu sonuçlar antibiyotiklerin farklı doz ve sürelerde uygulanmasından kaynaklanabilir. Çalıştığımız diğer antibiyotiklerin geç tip aşırı duyarlılık reaksiyonuna etkisini inceleyen yayına rastlamadık. Ancak T hücre yanıtını ve nötrofillerin fagositoz yeteneklerini azaltması geç tip aşırı duyarlılık reaksiyonuna etkisini açıklar niteliktedir. Bu sonuçlar hastalıktan korunmada veya iyileşmede hücrel immünitenin primer rol oynadığı hastalıkların tedavisi sırasında antibiyotik seçiminde dikkatli olunması gerektiğini göstermektedir. Ayrıca hücrel immünitede primer rol oynayan T hücrelerinin proliferasyonunda herhangi bir azalma T

hücreleri aracılığı ile uyarılan B lenfositlerinin de stimülasyonunu engelleyecek, antikor oluşturan hücrelerin oluşmaması da humoral immüniteyi etkileyecektir. Bu durum geniş spektrumlu antibiyotiklerin seçiminde çok daha duyarlı olunması gerektiğini rezistan suşların gelişimi yanısıra bir başka yönden daha vurgulamaktadır.

#### KAYNAKLAR

- 1- Alexander JV, Good RA: Effect of antibiotics on the bactericidal activity of human leukocytes, *J Lab Clin Med* 71:971 (1968).
- 2- Anderson R, Grahov G, Oosthuizen R, Theron A, Van Resburg AJ: Effects of SMZ and TRM on human neutrophil and lymphocyte function in vitro: In vivo effects of co-trimoxazole, *Antimicrob Agents Chemother* 17:322 (1980).
- 3- Banck G, Forsgren A: Antibiotics and suppression of lymphocyte function in vitro, *Antimicrob Agents Chemother* 17:352 (1980).
- 4- Chaperon EA, Saunders WE: Suppression of lymphocyte responses by cephalosporins, *Infect Immun* 19:378 (1978).
- 5- Cuffini AM, Carlone NA, Xerri L, Pizzoglio FM.: Synergy of ceftazidime and killing of *S. aureus* and *P. aeruginosa*, *J Antimicrob Chemother* 20:261 (1987).
- 6- Durupınar B.: Bazı ilaçların immün yanıt üzerine etkileri, *Mikrobiyol Bül* 21:117 (1987).
- 7- Forsgren A, Banck G, Beekman H, Bellahcene A: Antibiotic host defense interaction in vitro and in vivo, *Scand J Infect Dis* 24 (Suppl): 195 (1980).
- 8- Gillisen GJ: Influence of cephalosporins on humoral immune response "Eickenberg HL, Hahn H, Opferkuch W(eds): *The Influence of Antibiotics on the Host Parasite Relationship*", Springer Verlag, New York (1982).
- 9- Grassi GG, Pozzi E: Effect of rifampicin on delayed hypersensitivity reaction, *J Infect Dis* 126:542 (1972).
- 10- Hand WL, Thompson NK, Johnson LD: Influence of bacteria and antibiotic interaction on subsequent antimicrobial activity of alveolar macrophages, *J Infect Dis* 149:271 (1984).
- 11- Larson SE, Damert GE, Collins-Lech C, Sohnie PG: Direct stimulation of lymphokine production by cephalothin, *J Infect Dis* 142:265 (1980).
- 12- Lehrer RI: Inhibition by sulfonamids of the candidal activity of human neutrophils, *J Clin Invest* 50:2498 (1971).
- 13- Miller EM: Phagocytosis in newborn infant: Humoral and cellular factors, *J Pediatr* 74:255 (1969).
- 14- Mukarjee AM, Schuldt S, Kasik JE: Effect of rifampin on cutaneous hypersensitivity to PPD in humans, *J Antimicrob Chemother* 4:607 (1973).
- 15- Munster AM, Loadholdt BC, Leary AG, Barnes MA: The effect of antibiotics on cell mediated immunity, *Surgery* 81:692 (1977).
- 16- Roszkowski W, Roszkowski K, Jel Jaszewicz J, Pulloverer G: Antibiotics and immunomodulation: Effects of cephodoxime, amikacin, mezlocillin, piperacillin and clindamycin, *Microbiol Immunol* 173:279 (1985).
- 17- Ruben FL, Winhenstein A, Fotiadis IG: Immunological responsiveness of tuberculosis patients receiving rifampin, *Antimicrob Agents Chemother* 5:383 (1974).
- 18- Rubinstein A, Pellet B: False positive NBT tests due to transient malfunction of neutrophils, *Lancet* 1:383 (1973).