

T. C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

**SAĞLIKLI ve DENEYSEL OLARAK PERİTONİT OLUŞTURULMUŞ
FARELERDE FLOROKINOLON GRUBU ANTİBİYOTİKLERİN
SÜPEROKSID DİSMUTAZ ve GLUTASYON PEROKSİDAZ
ENZİMLERİ ÜZERİNDEKİ ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Arş. Grv. Enver YAZAR

Danışman
Doç. Dr. Bünyamin TRAŞ

89038

KONYA-2000

TC. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

**SAĞLIKLI ve DENEYSEL OLARAK PERİTONİT OLUŞTURULMUŞ
FARELERDE FLOROKİNOLON GRUBU ANTİBİYOTİKLERİN
SÜPEROKSID DISMUTAZ ve GLUTASYON PEROKSİDAZ
ENZİMLERİ ÜZERİNDEKİ ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Araş. Grv. Enver YAZAR

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 23.06.2000 günü sözlü olarak
yapılan tez savunma sınavındaOYPUİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

(S.B.E. Yön. Kur. Karar tarih ve no:)

Tez Jürisi Juri Başkanı: Prof. Dr. İbrahim PİRİNÇÇİ

Danışman : Doç. Dr. Bünyamin TRAŞ

Üye : Prof. Dr. Mehmet ATEŞ

Üye : Doç. Dr. A. Levent BAŞ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Muammer ELMAS

İÇİNDEKİLER

1.GİRİŞ	1-2
2.LİTERATÜR BİLGİ	3-15
2.1.Serbest Oksijen Radikalleri	3
2.1.1. Serbest oksijen radikallerinin kaynakları	4
2.1.2.Serbest oksijen radikallerinin hücresel yapılar üzerindeki etkileri	5
2.2.Antioksidan Savunma Sistemi	6
2.2.1.Antioksidan enzimler	6
2.2.1.1.Süperoksid dismutaz	6
2.2.1.2.Glutasyon peroksidaz	7
2.1.1.3.Katalaz	8
2.2.2.Antioksidan maddeler	8
2.3.<i>Escherichia coli</i> ve Deneysel Peritonit	9
2.4.Florokinolon Grubu Antibiyotikler	10
2.4.1.Florokinolon antibiyotiklerin serbest oksijen radikallerine etkisi	11
2.5.Diğer Antibiyotiklerin Serbest Oksijen Radikalleri ve Antioksidan Enzimlere Etkileri	12
3. MATERİYAL ve METOT	16-23
3.1. Materyal	16
3.1.1. Hayvan materyali ve grupların oluşturulması	16
3.1.2. Araç ve gereçler	16
3.1.3. İlaçlar ve kimyasallar	17
3.1.4. Bakteri	17
3.1.5. Solüsyonlar	18
3.2. Metot	18
3.2.1.İlaç ve bakteri uygulaması	18
3.2.2.Karaciğer örneklerinin toplanması	19
3.2.3.Karaciğerden süperoksid dismutaz ve glutasyon peroksidaz enzimlerinin ekstraksiyonu	19
3.2.4.Süperoksid dismutaz düzeyinin belirlenmesi	19
3.2.4.1.Kitin çalışma prensibi	19
3.2.4.2. Standart eğrinin hazırlanması	20

3.2.4.3. Karaciğer örneklerinde süperoksid dismutaz düzeyinin belirlenmesi	21
3.2.5. Glutasyon peroksidaz düzeyinin belirlenmesi	22
3.2.5.1. Kitin çalışma prensibi	23
3.5.5.2. Karaciğer örneklerinde glutasyon peroksidaz düzeylerinin belirlenmesi	23
3.2.6 Total protein ölçümü	24
3.3. İstatistiksel Analiz	24
4. BULGULAR	25-29
4.1. Süperoksid Dismutaz Enzimi	25
4.2. Glutasyon Peroksidaz Enzimi	26
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	30-34
6. ÖZET	35
7. SUMMARY	36
8. KAYNAKLAR	37-48
9. ÖZGEÇMİŞ	49
10. TEŞEKKÜR	50

TABLO ve GRAFİK LİSTESİ

Tablo 4.1. Deneme süresince enrofloksasin (ENR), danofloksasin (DAN) ve deneysel peritonit (DEP) gruplarında karaciğer süperoksid dismutaz (U/mg protein) seviyesinde gözlenen değişimler	25
Tablo 4.2. Deneysel peritonit (DEP), deneysel peritonit + enrofloksasin (DEP+ENR), deneysel peritonit + danofloksasin (DEP+DAN) gruplarında süperoksid dismutaz (U/mg protein) seviyesinde deneme süresince gözlenen değişimler	26
Tablo 4.3. Enrofloksasin (ENR), danofloksasin (DAN) ve deneysel peritonit (DEP) gruplarında karaciğer glutasyon peroksidaz (U/mg protein) seviyesinde deneme süresince gözlenen değişimler	27
Tablo 4.4. Deneysel peritonit (DEP), deneysel peritonit +enrofloksasin (DEP+ENR), deneysel peritonit + danofloksasin (DEP+DAN) gruplarında karaciğer glutasyon peroksidaz (U/mg protein) seviyesinde deneme süresince gözlenen değişimler	27
Grafik 4.1. Enrofloksasin, danofloksasin ve deneysel peritonit gruplarında karaciğer süperoksid dismutaz (U/mg protein) düzeyinde deneme süresince gözlenen değişimler	28
Grafik 4.2. Deneysel peritonit, deneysel peritonit + enrofloksasin, deneysel peritonit + danofloksasin gruplarında karaciğer süperoksid dismutaz (U/mg protein) düzeyinde deneme süresince gözlenen değişimler	28
Grafik 4.3. Enrofloksasin, danofloksasin ve deneysel peritonit gruplarında karaciğer glutasyon peroksidaz (U/mg protein) düzeyinde deneme süresince gözlenen değişimler	29
Grafik 4.4. Deneysel peritonit, deneysel peritonit +enrofloksasin, deneysel peritonit + danofloksasin gruplarında karaciğer glutasyon peroksidaz (U/mg protein) düzeyinde deneme süresince gözlenen değişimler	29

1.GİRİŞ

Son yıllarda serbest oksijen radikallerinin kaynakları, oluşum mekanizmaları, istenmeyen etkileri ve antioksidan maddeler hakkında yoğun araştırmalar yapılmaktadır. Serbest oksijen radikalleri, dış yörüngelerinde bir veya daha fazla paylaşılmamış elektrona sahip ve oksijen içeren atom veya moleküllerdir. Canlılarda hücresel solunum ve fagositik hücrelerde solunum patlaması esnasında meydana gelir. Vücut için zararlı olabilecek bu radikaller, organizmada antioksidan enzimler (süperoksid dismutaz, glutasyon peroksidaz ve katalaz) tarafından etkisizleştirilir. Serbest oksijen radikallerinin enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan hastalıklar, yangı, stres ve yaşılanma gibi daha birçok olaylarda rol aldığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda kimyasal maddelerin ve gazların da serbest oksijen radikalleri oluşumu üzerine etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Bu enzimlerin düzeylerinde hastalık, yaşılanma ve canlinın kimyasal maddelere maruz kaldığı durumlarda değişiklikler gözleendiği bildirilmektedir.

Antibiyotik uygulamalarının antioksidan enzim düzeylerinde değişimlere neden olduğu, makrolidler, kloramfenikoller ve tetrasiklinlerin antioksidan etkinliğe sahip olduğu ve florokinolonların ise fagositik hücrelerde serbest oksijen radikalı üretimini artırdığı bildirilmiştir. Kanser tedavisinde kullanılan ilaçların da başta kalp olmak üzere karaciğer, barsak ve böbrek dokusunda serbest oksijen radikalı üretimini artırdığı ve kalpte lipid peroksidasyonuna sebep olduğu bildirilmiştir.

Karaciğerde yüksek seviyelerde bulunan antioksidan enzimler, bu organda metabolize olan bir çok maddeden kaynaklanan serbest oksijen radikallerini etkisiz hale getirirler.

Bu araştırma da, sağlıklı ve deneyel olarak peritonit oluşturulan farelerde enrofloksasin ve danofloksasin uygulamasının, karaciğer süperoksid dismutaz ve glutasyon peroksidaz enzim düzeyleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır.



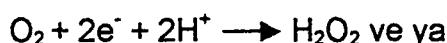
2.LİTERATÜR BİLGİ

2.1.Serbest Oksijen Radikalleri

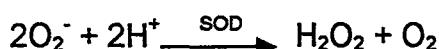
Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir veya daha fazla paylaşılmamış elektron (e^-) içeren, kısa ömürlü atom ve ya moleküllerdir. Bir serbest radikaldeki paylaşılmamış elektron, başka atom ve ya moleküller ile elektron alış-verışı yapıcaya kadar reaktiftir ve diğer atom ya da molekülleri reaktif bir yapı haline getirme eğilimindedir. Canlılar için büyük öneme sahip, serbest oksijen radikalleri (SOR)'nin biyolojik sistemlerdeki varlığı ilk olarak 1954 yılında Gerschman ve arkadaşları tarafından tespit edilmiştir (Turrens 1991). Oksijen atomu (O_2), bir elektron alarak süperoksid (O_2^-) radikalini oluşturur.



Süperoksid radikali tüm aerob hücrelerde oksijenin taşınması esnasında solunum zincirinde sürekli şekillenir. Oksijen molekülünün çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması ile peroksid oluşur. Peroksid ise iki hidrojen alarak hidrojen peroksid meydana getirir.



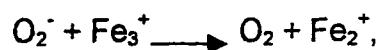
Bu molekül serbest oksijen radikali olmamasına rağmen, zararlı bileşiklere dönüşebilme eğilimindedir ve hücre zarlarını kolayca geçebilir. Ancak biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi süperoksidin dismutasyonu ile oluşur. İki süperoksid molekülü iki hidrojen alarak hidrojen peroksid ve suyu oluşturur. Reaksiyon ya kendiliğinden yada süperoksid dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenir.



Süperoksid ile etkileşen hidrojen peroksid, hücreler için çok toksik olan hidroksil radikalini ($\cdot\text{OH}$) oluşturur. Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir.



Reaksiyon katalizörsüz ve çok yavaş şekillenir. Ancak demir iyonlarının varlığında reaksiyon çok hızlı gelişir. Ferri demir (Fe_3^+) süperoksid tarafından önce ferro demire (Fe_2^+) indirgenir. Oluşan ferro demir hidrojen peroksid ile etkileşerek hidroksil radikalini oluşturur. Bu reaksiyona da Fenton reaksiyonu adı verilir.



Paylaşımamış elektronu olmayan, ancak oksijenin elektronlarından birinin kendisine zıt başka yörüngeye geçmesi ile oluşan yapı singlet oksijen (${}^1\text{O}_2$) olarak adlandırılır. Singlet oksijen kimyasal bileşikler ile etkileştiğinde kemiluminesans verir ve bu özellikten faydalılarak SOR'nın ölçümü gerçekleştirilebilir (Akkuş 1995, Aslan 1997).

2.1.1. Serbest oksijen radikallerinin kaynakları

Mitokondrial elektron taşınma sistemi, duyarlı fagositler, ksantin oksidaz, iskemi, hiperoksi, kanser ilaçları, bazı antibiyotikler, radyasyon, alkol, uyuşturucular, sigara, stres, hava kirliliğine yol açan maddeler, halojenli hidrokarbonlar ve bazı hastalıklar (enfeksiyöz, immunolojik ve metabolizma) başlıca SOR kaynaklarıdır (Sazuka ve ark 1989, Vijayalekshmy ve ark 1992, Habib ve ark 1993, Swei ve ark 1997, Thome ve ark 1997, Traş 1997). Canlıda SOR'nın en fazla üretiltiği sistem, hücrelerin enerjilerini sağladıkları, moleküller oksijenin suya indirgenmesi esasına dayanan mitokondrial elektron taşınma

sistemidir. Solunum ile alınan oksijenin büyük kısmı hidrojen ile birleşerek su oluştururken, %4-5'i ise süperokside dönüşür. Organlar içinde ise en fazla karaciğerde ve akciğerde oluşur (Perez-Campo ve ark 1993, Akkuş 1995, Aslan 1997, Traş 1997).

Fagositik hücreler (makrofajlar ve nötrofiller) duyarlı hale geldiklerinde mitokondri dışı oksijen kullanımında ani artış ile oluşan solunum patlaması sonucu antibakteriyel savunma için gerekli olan serbest oksijen radikallerini oluştururlar. Bu olayı hücre zarında bulunan NADPH oksidaz katalizler.



Oluşan süperoksid, bakterisidal bir radikal olan hidrojen perokside dönüşür.



Dış ortama salınan radikaller ise yanılı dokunun hasar görmesine sebep olur (Elsbach ve Weiss 1985, Solonkim ve ark 1985, Hampton ve ark 1998).

2.1.2. Serbest oksijen radikallerinin hücresel yapılar üzerindeki etkileri

Canlıda fizyolojik fonksiyonlara bağlı olarak şekillenen SOR üretimi ile antioksidan sistemler arasında denge mevcuttur. Ancak bazen bu denge SOR lehine bozulur ve sonuçta bulundukları yerde doku hasarına sebep olurlar. Etkisizleştirilemeyen SOR, hücrelerde başta lipidler olmak üzere, protein, karbonhidrat ve DNA gibi yapılar üzerinde etkili olurlar. Hücre zarında bulunan yağ asitlerinin doymamış bağları, SOR ile etkileşerek yağ asitlerinin oksidatif yıkımını başlatır ve bu olay “lipid peroksidasyonu” olarak tanımlanır. Oluşan yıkım zincirleme reaksiyon şeklinde devam eder ve zar bütünlüğü geri dönüşümsüz nitelikte bozulur. Lipid peroksidasyonu sonucu malondialdehid oluşur ve

malondialdehid miktarı ölçüerek lipid peroksidasyonunun şiddeti hakkında bilgi edinilebilir.

Proteinler SOR'ne lipidlerden daha az duyarlıdır. Ancak yapılarında sülfür bulunduran amino asitlerden (histidin, sistein, metiyonin, fenil alanin vs.) oluşan proteinler, SOR'ne dayanıksızdır ve SOR bu proteinlerin yapısının bozulmasına sebep olur. Yapılarında sülfür bulunduran IgG ve albümin, SOR'ne maruz kaldıklarında yapıları bozulup görevlerini yapamaz duruma gelirler.

Hücrelerde oluşan hidroksil radikali ve fagositlerden salınan hidrojen peroksid diğer hücrelerin çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına yada hücre ölümüne sebep olabilir.

SOR'ne en dayanıklı hücresel yapı karbonhidratlardır. Romatizmal eklem hastalığında fagositlerden salınan SOR'nın hyaluronik asidi parçaladıkları tespit edilmiştir (Aruoma 1994, Akkuş 1995, Aslan 1997).

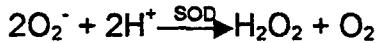
2.2.Antioksidan Savunma Sistemi

Hücreler, vücutta bazı reaksiyonlar sonucu oluşan SOR'ne karşı kendilerini antioksidan enzimler ve bazı biyolojik maddeler yardımcı ile korurlar. Antioksidan enzimlerin çeşit ve yoğunluk bakımından, dişi ve erkek bireylerde farklı olmadığı bildirilmiştir (Guemouri ve ark 1991, Ceballos-Picot ve ark 1992).

2.2.1.Antioksidan enzimler

2.2.1.1.Süperoksid dismutaz

İlk olarak 1969 yılında McCord ve Fridovich tarafından tanımlanan (Guemouri ve ark 1991) süperoksid dismutaz (EC, 1.15.1.1, SOD), süperoksidin hidrojen peroksid ve oksijene dönüşümünü sağlar.



Hücrede süperoksidin etkisizleştirilmesinde en önemli antioksidan enzimdir. Memelilerde üç farklı SOD bulunur. Bunlar, sitoplazmada ve peroksizomlarda bulunan CuZnSOD, mitokondride bulunan MnSOD ve hücre dışı ortamda bulunan ECSOD'dır. Hücre içi SOD enzim miktarının %85-90'ını yarı ömrü 6-8 dakika olan CuZnSOD oluşturken, %10-15'ini yarı ömrü yaklaşık 7 saat olan MnSOD oluşturur (Bolann ve Ulvik 1991, Turrens 1991, Portoles ve ark 1996). Fagositik hücrelerde glutasyon peroksidaz ile birlikte solunum patlaması sonucu oluşan SOR'ne karşı hücreyi korurlar (Akkuş 1995). SOD enziminin yetersizliğinde, hücre için en zararlı radikal olan hidroksil radikali oluşumu artar (Krinsky 1992). SOD enziminin yangı önleyici ve nötrofillerin yangı bölgесine göçünü engelleyleti etkinlige sahip olduğu ve (Fridovich 1986) seviyesinin yaşılık ile azaldığı tespit edilmiştir (Kurata ve ark 1993).

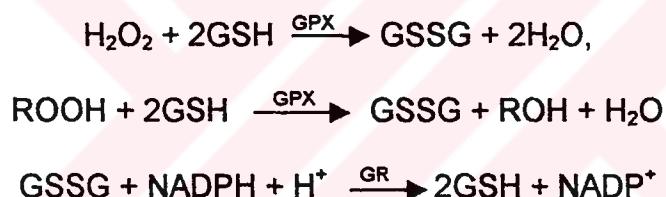
2.2.1.2.Glutasyon peroksidaz

Glutasyon peroksidaz (EC, 1.11.1.9, GPX), yapısında 4 selenyum atomu içeren sitoplazmik bir enzimdir. Ayrıca canlılarda plazma, süt ve akciğer lavajı gibi hücre dışı ortamlarda bulunan ve selenyum içermeyen farklı bir GPX (ECGPX) enziminin varlığı da tespit edilmiştir (Himeno ve ark 1993, Kurata ve ark 1993, Bolzan ve ark 1997).

GPX, karaciğer ve akciğer hücreleri ile fagositik hücrelerde yüksek seviyelerde bulunur (Himeno ve ark 1993) ve bir çok organda üretilerek dolaşma verilen lipid peroksidlerinin karaciğerde etkisiz hale getirilmesinde rol oynar (Kawai ve ark 1988). Ayrıca hücre zarında oluşan yağ asitleri peroksidlerini etkisizleştirerek (Krinsky 1992), hücre zarının ve hücre içi organellerin

bütünlüğünün korunmasını sağlar (Turrens 1991). Hücre zarı bütünlüğünün korunmasında GPX enziminin etkinliği, vitamin E ve selenyumun varlığında artar (Aslan 1997). SOD enzimin aksine, yaşılanma ile seviyesinin arttığı tespit edilen bu enzim, fagositik hücrelerde ise solunum patlaması sonucu oluşan hidrojen perokside karşı hücreyi korur (Akkuş 1995).

GPX enzimi, SOD enzimi tarafından oluşturulan hidrojen peroksidini, katalazdan farklı olarak indirgenmiş glutasyon (GSH) kullanarak suya dönüştürür. Reaksiyona giren GSH, okside glutasyon (GSSG) formuna geçer. GPX enziminin etkinliğinin sürekliği için GSH'a ihtiyaç duyulur. Bu sebep ile GSSG, NADPH'a bağımlı glutasyon redüktaz (GR) tarafından sürekli indirgenir (Kurata ve ark 1993, Chan ve Decker 1994).



2.1.1.3.Katalaz

Dört hem molekülü içeren katalaz (EC, 1.11.1.6, hücrede peroksizomlarda bulunan bir hemoproteindir. Hidrojen peroksid su ile oksijene ($2\text{H}_2\text{O}_2 - \text{CAT} - 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$) parçalar (Shull ve ark 1991) ve yarı ömrü 6-8 dakikadır (Turrens 1991). Ancak antioksidan etkinliği GPX enzimi kadar olmadığından biyolojik önemi daha azdır (Aslan 1997).

2.2.2.Antioksidan maddeler

Canlıda antioksidan enzimlerin dışında bazı biyolojik maddeler de antioksidan etkinlik göstererek hücreleri SOR'nin zararlı etkilerine karşı korur.

Vitamin A, E ve D hücre zarında lipid peroksidasyonunu engellerler (Hermansen ve Wasserman 1986, Cacio ve ark 1993, Sardar ve ark 1996). Vitamin C, indirgenmiş glutasyon, ürik asit, taurin, mukus ve albümin hem hücre içi hem de hücre dışı ortamda SOR'ni yakalayarak etkisizleştirirler. Selenyum ise glutasyon peroksidaz enziminin yapısına katılarak antioksidan etkinlik gösterir (Krinsky 1992, Chan ve Decker 1994, Traş 1997).

Bilirubin, seruloplasmin, transferrin, melatonin ve laktoterrinin de antioksidan etkinlikleri bulunmaktadır (Krinsky 1992, Chan ve Decker 1994).

2.3. *Escherichia coli* ve Deneysel Peritonit

Escherichia coli (*E.coli*), Enterobacteriaceae familyasında yer alan gram (-), aerobik, spor vermeyen, çomak biçimli, fiziksel ve kimyasal etkenlere karşı dirençli bir bakteridir. *E.coli* normal barsak florásında bulunmasının yanı sıra hastalıklara da neden olabilmektedir. Yapılarında somatik (O), flagellar (H) ve kapsül (K)抗ijenlerini bulundururlar. Ayrıca enterotoksin üretme yetenekleri de vardır (Mimbay 1982).

Günümüzde septisemi ve septik şok vakalarında ölüm oranının %40-60 arasında olduğu ve ölümlerde SOR'nın önemli rolü bulunduğu bildirilmiştir (Peralta ve ark 1993). *E.coli* ve toksini ise deneysel peritonit ve endotoksemi modeli oluşturmada sıkça kullanılmaktadır (Kunimoto ve ark 1987, Fink ve ark 1990). Fagositik hücreler, bakteri veya endotoksine maruz kaldıklarında güçlü antibakteriyel etkinliği olan SOR üretmekte ve yanılı dokuda SOR miktarı ve fagositik hücre sayısı artmaktadır. Oluşan SOR hücresel hasara sebep olmasının yanı sıra araşidonik asid döngüsünü etkileyerek lökotirenler ve prostaglandinlerin

sentezini de artırmaktadır (Konukoğlu ve ark 1999). Peritonit ve endotoksemi vakalarında en fazla etkilenen organın karaciğer olduğu, oluşan hasarda ise etkinleşmiş nötrofiller ve kupfer hücrelerinden kaynaklanan SOR'nin rol aldığı belirtilmiştir. Bu sebep ile peritonitin antioksidan enzimler üzerine etkinliğinin belirlenmesinde, karaciğer antioksidan enzim düzeylerinin ölçümünden faydalanailecegi belirtilmiştir (Kunimoto ve ark 1987, Takahashi ve ark 1988, Portoles ve ark 1993, Umezawa ve ark 1995, Watson ve ark 1999).

2.4. Florokinolon Grubu Antibiyotikler

Yapı olarak nalidiksik aside benzerler. Enrofloksasin [1-siklopropil-6-floro-1,4-dihidro-4-okso-7-{4-etil-1-piperazinil}-3-kuinolin karboksilik asit] ve danofloksasin [1-siklopropil-6-floro-1,4-dihidro-4-okso-7-{5-metil-2,5-diazabisiklo-(2.2.1)hept-2-yl}-3-kuinolin karboksilik asit] veteriner sahada kullanılmak üzere geliştirilen florokinolon antibiyotiklerdir. Danofloksasinin akciğere daha iyi nüfuz etmesi dışındaki diğer özellikleri enrofloksasine benzer (Friis 1993, Elmas 1997). Plazma proteinlerine düşük oranlarda bağlanırlar ve fagositik hücreler dahil, canlinin bütün doku ve organlarına dağılırlar. Florokinolonlar değişik oranlarda karaciğerde metabolize olurlar ve oluşan metabolitlerinin de anibakteriyel etkinliği vardır, ancak yarılanma ömürleri daha kısadır. Enrofloksasinin metabolizması sonucunda yine antibakteriyel etkinliğe sahip olan siprofloksasin oluşmaktadır. Florokinolonlar, karaciğer, böbrek ve akciğerde yüksek yoğunluklara ulaşırlar (Vancutsem 1990, Kaya 1997).

Bu grup ilaçlar, bakterilerde DNA'nın sentezi ve kalibinin çıkarılmasında rol alan DNA jiraz'ın (topoizomeraz II) etkinliğini engelleyerek, bakterinin bölünmesini durdurup uzayarak ölmesine neden olur. Gram (-), gram (+) bakteriler ve

mikoplazmaları da içine alan geniş etki spekturma sahiptirler. Ancak gram (-) aerobik bakterilere daha iyi etkirler. *Escherichia coli* dahil birçok bakteri için EKEY₉₀ (en küçük engelleyleici yoğunluk) değerleri 1 µg/ml'den daha düşüktür ve EKEY ile EKÖY (en küçük öldürücü yoğunluk) değerleri birbirine yakındır. Bu grup antibiyotikler duyarlı bakterilerden kaynaklanan sindirim, solunum, idrar ve üreme kanalı, karın ve pelvis içi organları, kemik, eklem ve yumuşak doku enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılır. Kıkırdak dokusu üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı gençlerde ve gebelerde kullanılmaması gereği (Kaya 1997), bu etkilerini ise SOR üretecek kıkırdak hücrelerinde hasar oluşturarak gösterdikleri bildirilmiştir (Thuong-Guyot ve ark 1994).

2.4.1. Florokinolon antibiyotiklerin serbest oksijen radikallerine etkisi

Yapılan kaynak taramalarında florokinolonların antioksidan enzimlere etkisi ile ilgili herhangi bir bilgiye rastlanamamıştır. Ancak SOR oluşumu üzerine etkili olduklarına dair bilgiler mevcuttur.

Bu grup antibiyotiklerin vücutun tüm dokularına dağıldığı, fagositlerde solunum patlamasını uyararak hücre içi parazitlere karşıda etkili oldukları bildirilmiştir (Jansen Van Rensburg ve ark 1990, Nielsen ve ark 1997). Fagositik hücrelerde kemilumimetrik ölçümelerde, siprofloksasin, norfloksasin, pefloksasin ve ofloksasinin (0.5, 1, 5, 10 µg/ml) SOR oluşumunu etkilemediği (Boogaerts ve ark 1986), enrofloksasin ve norfloksasinin ise yüksek dozda (200 µg/ml) SOR oluşumunu artırdığı ancak yüksek dozda siprofloksasinin benzer etkisinin olmadığı (Duncker ve Ullman 1986) ortaya konmuştur. Diğer bir araştırmada enrofloksasinin (100 µg/ml) süperoksid oluşumunu artırırken, danofloksasinin (100 µg/ml) SOR oluşumunu düşürdüğü, ancak bu durumun araştırmada

kullanılan luminolden kaynaklandığı bildirilmiştir (Hoeben ve ark 1997). Enrofloksasinin ve fleroksasinin bu etkilerini zarda bulunan NADPH oksidazı etkinleştirerek gösterebileceği ifade edilmektedir (Matsumoto ve ark 1996, Hoeben ve ark 1997). Fleroksasin ve ofloksasinin (25 ve 100 µg/ml) SOR oluşumunu artırdığı, sparfloksasin ve lemofloksasinin aynı dozlarda SOR oluşumu azalttığı bildirilmiştir (Kubo ve ark 1994). Belirtilen araştırmaların sonuçlarından, bu grup ilaçların SOR üretimi üzerindeki değişik etkilerinin yapı farklılığından kaynaklanabileceği anlaşılmaktadır. Ayrıca, bu ilaçlardan kaynaklanan fototoksisitenin sebebinin de ilaçların singlet oksijen ve süperoksid üretmesinden kaynaklandığı ve hücre kültürlerine ilave edildikten sonra lipid peroksidasyonuna ve hücre ölümlerine sebep oldukları bildirilmektedir (Saniabadi ve ark 1996, Umezawa ve ark 1997, Bulera ve ark 1999).

2.5.Diğer Antibiyotiklerin Serbest Oksijen Radikalleri ve Antioksidan Enzimlere Etkileri

İlaçların hücrelerde neden olduğu SOR'nin kemiluminesans metodу kullanılarak yapılan ölçümlerinde elde edilen verileri ile antioksidan enzim ölçümlerinden elde edilen veriler arasında paralellik bulunamamıştır.

Kanser tedavisinde kullanılan antrasiklin grubu ilaçların, doza bağlı olarak başta kalp olmak üzere karaciğer, barsak ve böbrek dokusunda SOR oluşumunu artırarak lipid peroksidasyonuna neden olduğu ve kalp dokusunda yeterince antioksidan enzim bulunmamasının, bu organı daha hassas kıldığı bildirilmiştir. Ayrıca bu grup ilaçların nötrofillerin zarında bulunan NADPH oksidazı etkinleştirip SOR üretilmesine aracılık ettiği ve bu durumun ilaç toksisitesine katkıda bulunduğu belirtilmiştir (Neilson ve ark 1986). Doktorubusin uygulamasının,

ratlarda beyin ve kalp katalaz düzeyini 48 saat sonunda artırdığı ve lipid peroksidasyonuna neden olduğu (Ciaccio ve ark 1993), farelerde ise karaciğer GPX düzeyini düşürürken (Hermansen ve Wasserman 1986, Julicher ve ark 1988), SOD düzeyini ise ilk gün azaltıp, ikinci gün yükselttiği; ancak devam eden 4 gün boyunca kontrol değerinin altında seyrettiği ve GPX düzeyinin de 6 gün süresince düşük oranda seyrettiği bildirilmiştir. Bu durumun, ilaçın dokularda SOR üretimini artırması veya protein sentezini engelleyerek enzim üretimini azaltması ile ilgili olabileceği ifade edilmiştir (Sazuka ve ark 1989). Ayrıca bleomisinin de SOR üretecek akciğerde fibrosise neden olduğu bildirilmiştir (Habib ve ark 1993).

Nötrofillerde kemilumimetrik ölçümlerde, ampirisin'in H_2O_2 oluşumunu engellediği (Gunther ve ark 1993), ancak 150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ düzeyinde süperoksid oluşumun artırdığı (Umeki 1990); böbrekte metabolize olan sefaloridin'in ise ratlara tek doz uygulanması (1 g/kg, damar içi) sonucunda böbrek SOD ve GPX düzeylerini düşürdüğü ve bu etkilerinin SOR üretimine neden olması ile ilişkili olabileceği bildirilmektedir (Suzuki ve Sudo 1990, Yokozawa ve Owada 1999).

Makrolid antibiyotiklerden eritromisin (10, 20, 100, 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$), roksitromisin (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$), diritromisin (0.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$) ve klindamisinin nötrofillerde SOR üretimini azalttığı bildirilmiştir (Miyachi ve ark 1986, Anderson 1989, Labro ve ark 1989, Hand ve ark 1990, Moutard ve ark 1997). Makrolidlerin bu etkilerini nötrofillerde bulunan NADPH oksidaz enzim etkinliğini engelleyerek gösterdikleri ve ayrıca roksitromisin, klaritromisin ve azitromisinin astımlı hastaların akciğer epitellerini, duyarlı fagositlerden salınan SOR'ne karşı korudukları ve bu sebeple yanık önleyici etkiye sahip oldukları belirtilmiştir (Feldman ve ark 1997).

Aminoglikozidlerin ototoksik ve nefrotoksik etkilerini SOR üretimini uyararak gösterdikleri ifade edilmiştir (Song ve Schacht 1996, Song ve ark 1997). Streptomisin uygulamasının (100 mg/100 g, 2 hafta, damar içi) rat karaciğer SOD düzeyini (0.44 – 0.53 U/mg protein) arttığı Vijayalekshmy ve ark. (1992)'ları tarafından ortaya konmuştur. Diğer yandan, gentamisin uygulamasının (100 mg/kg, 6 gün, damar içi) ratların böbrek SOD (16 –8 U/ mg protein) (Ramsammy ve ark 1987), kobayların (200 mg/kg, 10 gün, kas içi) kalp SOD (359 – 228 U/mg protein) ve GPX (0.355 – 0.324 U/mg protein) (Öztürk ve ark 1997), böbrek CuZnSOD düzeylerinde (520 – 431 U/mg protein) düşmeye ve böbrek MnSOD (12 – 37 U/mg protein) ve GPX (0.046 – 0.088 U/mg protein) düzeylerinde ise artışa sebep olduğu; ayrıca böbrekte H₂O₂ oluşumunu artırdığı da bildirilmiştir (Kavutçu ve ark 1996). Sonuçlar arasındaki gözlenen farklılıkların deney hayvanının türünden, dozaj rejiminden, uygulama yolunun farklılığından ve besleme şartlarından kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Kavutçu ve ark 1996).

Kloramfenikolon fagositik hücrelerin zarında bulunan NADPH oksidazı etkileyerek nötrofillerde süperoksid oluşumunu engellediği (Hoeben ve ark 1997) ve in vitro şartlarda 4000 µg/ml düzeyinde ise solunum patlamasını tamamen durdurduğu ifade edilmektedir (Paape ve ark 1990). Ayrıca iki hafta kloramfenikol (100 mg/ 100 g, ağızdan) uygulanan ratların karaciğer SOD düzeyi değişmezken (0.44 – 0.43 U/mg protein) katalaz enzim düzeyinin (1.2 – 1.5 U/mg protein) arttığı bildirilmiştir (Vijayalekshmy ve ark 1992).

Tetrasiklin grubu antibiyotiklerin fagositik hücrelerde SOR oluşumunu engellediği (Duncker ve Ullman 1986, Van Baar ve ark 1987, Hoeben ve ark 1997) ve ratlara tetrasiklin uygulamasının (100 mg/ 100 g, iki hafta, ağızdan)

karaciğer SOD düzeyini (0.44 – 0.32 U/mg protein) düşürdüğü belirtilmektedir (Vijayalekshmy ve ark 1992).

Genç ratlara izoniazid ve rifampisin uygulaması (50 mg/kg/gün, 2 hafta, periton içi) sonucunda karaciğer SOD (16 – 12 U/mg protein) ve GPX (437 – 202 µM/dak/mg protein) düzeylerinin düşüğü ve bunun muhtemel sebebinin ise, bu ilaçların metabolizması esnasında O₂⁻ oluşumunu artırabileceği ve bu artışında başta SOD enzimi olmak üzere GPX düzeyini düşürebileceği ve bu durumun enzimlerin kan düzeylerinde de azalmaya sebep olabileceği ifade edilmektedir (Sodhi ve ark 1997).

3. MATERİYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Hayvan materyali ve grupların oluşturulması

Araştırmada 2-3 aylık, 23-32 gram ağırlığında, farklı cinsiyette 132 adet beyaz fare (Balb/C) kullanıldı.

Fareler;

1. Kontrol grubu (6 adet),
2. Enrofloksasin grubu (30 adet),
3. Danofloksasin grubu (30 adet),
4. Deneysel peritonit grubu (30 adet),
5. Deneysel peritonit+enrofloksasin grubu (18 adet) ve
6. Deneysel peritonit+danofloksasin grubu (18 adet) olmak üzere 6 gruba ayrıldı. Fareler deneme süresince pelet yem ve su ile adlibitum beslenmeye tabi tutuldu.

3.1.2. Araç ve gereçler

1. Spektrofotometre (Shimadzu UV 2000)
2. Homojenizatör (Braun Potter S)
3. Soğutmalı santrifüj (Hettich Universal 30 RF)
4. pH metre (Hanna H1 931401)
5. Dijital terazi (Shimadzu Bibror EB-330H)
6. Derin dondurucu (Beko)
7. Vortex (Thermolyne)
8. Otomatik pipetler (Socorex)

9. Sıcak su banyosu (Kottermann)

10. Operasyon seti

11. İnsülin enjektörü

12. Rutin laboratuar malzemeleri

3.1.3. İlaçlar ve kimyasallar

1. Enrofloksasin (Baytril %10 enj., Bayer)

2. Danofloksasin (Advocin enj., Pfizer)

3. Süperoksid dismutaz kiti (Randox-Ransod, SD 125)

4. Glutasyon peroksidaz kiti (Randox-Ransel, RS 505)

5. Total protein reagent (500 ml, 541-2, Sigma)

6. Sukroz (S-7903, Sigma)

7. Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA, 17-1324-01, Pharmacia Biotech)

8. Tris (T-1503, Sigma)

9. Serum fizyolojik

10. Hidroklorik asit (Merck)

11. Na₂HPO₄ (Merck)

12. NaH₂PO₄ (Merck)

3.1.4. Bakteri

Escherichia coli K99 suşu Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji

Anabilim Dalı kültür koleksiyonundan temin edildi. *E.coli* tryptone soya broth (Oxoid)'da 37 °C'de 24 saat inkübe edilerek dilüsyon metoduna göre sayım yapıldı.

3.1.5. Solüsyonlar

Süperoksid dismutaz (SOD) ve glutasyon peroksidaz (GPX) enzimlerinin dokudan ekstraksiyon için 0.25 M sukroz+10 mM Tris+1 mM EDTA (pH:7.4, HCl ile ayarlandı) içeren solüsyon ve SOD enzimi ölçümü için fosfat tampon (0.01 M pH:7.0) solüsyonları hazırlandı.

3.2. Metot

3.2.1. İlaç ve bakteri uygulaması

1. Kontrol grubu: İlaç veya bakteri uygulaması yapılmadı.
2. Enrofloksasin (ENR) grubu: Enrofloksasin fareler için tavsiye edilen dozda (10 mg/kg), 12 saat ara ile deri altı yolla 5 gün süre ile uygulandı (Allen ve ark 1998).
3. Danofloksasin (DAN) grubu: Danofloksasin, 10 mg/kg deneme dozunda 12 saat ara ile deri altı yolla 5 gün süre ile uygulandı.
4. Deneysel peritonit (DEP) grubu: Her bir fareye 1×10^9 sayıda canlı *E.coli* periton içi yolla uygulandı.
5. Deneysel peritonit+enrofloksasin (DEP+ENR) grubu: Her bir fareye periton içi 1×10^9 sayıda canlı *E.coli* uygulaması yapıldıktan sonra enfeksiyon gelişmesi için 24 saat beklendi ve 10 mg/kg dozunda 12 saat ara ile deri altı yolla 3 gün enrofloksasin uygulandı.
6. Deneysel peritonit+danofloksasin (DEP+DAN) grubu: Her bir fareye periton içi 1×10^9 canlı *E.coli* uygulaması yapıldıktan sonra enfeksiyon gelişmesi için 24 saat beklendi ve 10 mg/kg dozunda 12 saat ara ile deri altı yolla 3 gün danofloksasin uygulandı.

3.2.2.Karaciğer örneklerinin toplanması

Kontrol grubunda bulunan altı adet fare boyun kırma yöntemi ile öldürülerek karaciğer örnekleri toplandı. ENR, DAN ve DEP gruplarında ilk uygulamayı takip eden 1., 2., 3., 4. ve 5. günlerde, DEP+ENR ve DEP+DAN gruplarında bakteri uygulaması takiben 3., 4. ve 5. günlerde altışar adet fare aynı yöntem ile öldürülerek karaciğerleri elde edildi. Karaciğerlerden safra keseleri uzaklaştırıldıktan sonra soğuk serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra temizlendi ve 300 mg'ı tartılıp ekstraksiyon solüsyonu ile homojenize edilerek ölçüm zamanına kadar -20°C 'de, derin dondurucuda muhafaza edildi.

3.2.3.Karaciğerden süperoksid dismutaz ve glutasyon peroksidaz enzimlerinin ekstraksiyonu

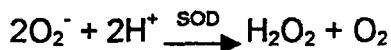
Enzimlerin dokudan ekstraksiyonu; Geller ve Winge (1984), Vani ve ark (1990), Coa ve Chen (1991), Portoles ve ark (1996) ve Di Simplico ve ark (1997)'nin belirttiği metodlar temel alınarak gerçekleştirildi. 300 mg doku 1.5 ml soğuk ekstraksiyon solüsyonu ile buz içinde 1000 devirde 2 dakika homojenize edildi. Homojenatlar $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 10.000 devirde 15 dakika santrifüj edilerek üstte oluşan kısım SOD ile GPX enzimleri ve total protein ölçümleri gerçekleştirilene kadar -20°C 'de muhafaza edildi.

3.2.4.Süperoksid dismutaz düzeyinin belirlenmesi

3.2.4.1.Kitin çalışma prensibi

SOD enzimi, süperoksid radikalının (O_2^-), H_2O_2 ve O_2' e dönüşümünü hızlandırır. Bu metodda ksantin, ksantin oksidaz varlığında ürik asit ve O_2^- e dönüşür. Oluşan O_2^- , INT [2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrasolium klorid]

ile etkileşerek kırmızı renk oluşturur. SOD enzim miktarı, bu reaksiyonun oluşma derecesine göre belirlenir.



Ayraç içerikleri	Miktarı	Hazırlanması
1. Karışık substrat		20 ml buffer ile sulandırıldı
Ksantin	0.05 mM/L	
INT	0.025 mM/L	
2. Buffer	-	Kullanıma hazır
3. Ksantin oksidaz	80 U/L	10 ml bidistile su ile sulandırıldı
4. Standart	5.4 U/ml SOD enzimi	10 ml bidistile su ile sulandırıldı

3.2.4.2. Standart eğrinin hazırlanması

Kitte bulunan standardın bir şişesi 10 ml bidistile su ile çözürüldü. Bu sulandırmadan 5 ml alınıp üzerine 5 ml 0.01 M fosfat tampon (pH:7.0) ilave edildi. Aynı şekilde yapılan 3 sulandırma sonrasında, 5.4 U/ml (S1), 2.7 U/ml (S2), 1.35 U/ml (S3), 0.675 U/ml (S4) ve 0.337 U/ml (S5) SOD enzimi içeren sulandırmalar elde edildi. Bu sulandırmalara aşağıdaki işlemler uygulanarak, 505 nm dalga boyunda, 37 °C'de havaya karşı spektrofotometrede okundu.

	Ayraç Körü	Standartlar (S1-S5)
Standart	-----	25 μ l
Fosfat tampon	25 μ l	-----
Karışık substrat	850 μ l	850 μ l
Vortexleme sahası		
Ksantin oksidaz	125 μ l	125 μ l
	1000 μ l	1000 μ l

Ksantin oksidaz küvete ilave edildiği andan itibaren 30. saniyede (A1) ve 120. saniyede (A2) absorbanslar okundu. Ayraç körü ve standart sulandırmalarının her biri için;

$A2-A1/3=\Delta_{\text{ayraç körü}}$ ve $\Delta_{\text{standartlar}} (\text{S1-S5})$ hesaplandı. $\Delta_{\text{ayraç körü}}$ 38.88 olarak bulundu ve her bir standardın % engellemesi;

% engelme derecesi = $100-(\Delta_{\text{S1-S5}} \times 100)/38.88$, formülünden hesaplandı. Her bir standarta karşılık gelen % engelme değerinin Log_{10} 'a karşılık gelen birimi bulundu ve Log_{10} 'a karşı U/ml SOD değerinden oluşan standart eğri hazırlandı.

3.2.4.3. Karaciğer örneklerinde süperoksid dismutaz düzeyinin belirlenmesi

Örnekler çözürüldükten sonra, 505 nm dalga boyunda, 37 °C'de havaya karşı spektrometrede ölçüldü. Örnek sulandırmalarının % engelme derecesi, %30-60 arasına uyacak şekilde hazırlandı.

Örnek sulandırmalarının % engellemesi;

$(100-(\Delta_{\text{örnek}} \times 100)/38.88) \times \text{sullandırma katsayısi}$, formülü ile hesaplanarak standart eğriden SOD miktarı tespit edildi. Elde edilen sonuçlar, aynı örneklerden

ölçülen mg/dl total protein sonucu ile karşılaştırılıp sonuç U/mg protein cinsine çevrildi.

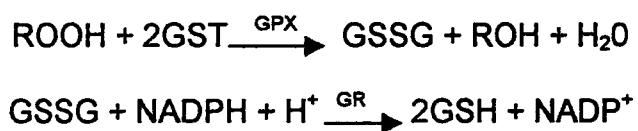
Örnekler

Sulandırılmış örnek	25 µl
Karışık substrat	850 µl
<hr/>	
Voteksleme safhası	
Ksantin oksidaz	125 µl
	<hr/>
	1000 µl

3.2.5.Glutasyon peroksidaz düzeyinin belirlenmesi

3.2.5.1. Kitin çalışma prensibi

GPX enzimi, kümen hidroperoksid ile beraber glutasyonun (GST) oksidasyonunu katalize eder. Okside glutasyon (GSSG) NADPH varlığında, glutasyon redüktaz (GR) tarafından indirgenir. Bu esnada ise NADPH, NADP'ye oksitlenir. Bu reaksiyonun meydana getirdiği absorbans azalması ölçülebilir enzim miktarı hesaplanır.



Ayraçların içerikleri	Miktarı	Hazırlanması
1.Reagent		10 ml buffer ile sulandırıldı
Glutasyon	4 Mm/L	
Glutasyon redüktaz	0.5 U/L	
NADPH	0.28 mM/L	
2.Buffer	---	Kullanıma hazır
3.Kümen hidroperoksid	0.18 mM/L	10 µl'si 10 ml bidistile su ile sulandırıldı
4.Sulandırma tamponu	-----	200 ml bidistile su ile sulandırıldı

3.5.5.2.Karaciğer örneklerinde glutasyon peroksidaz düzeylerinin belirlenmesi

Örneklerdeki absorbanslar aşağıdaki işlemleri gerçekleştirilecek, spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda, 37 °C'de havaya karşı okundu.

	Örnek	Ayraç körü
Distile su	---	16 µl
Sulandırılmış örnek	16 µl	—
Reagent	800 µl	800 µl
Sulandırma tamponu	32 µl	32 µl
	848 µl	848 µl

Yukarıda belirtilen işlemler gerçekleştirildikten sonra 1. ve 3. dakikalarda absorbanslar okundu, ilk değerden ikinci değer çıkarılıp sonuç ikiye bölünerek.

$\Delta_{\text{ayraç körü}}$ ve $\Delta_{\text{örnek}}$ değerleri bulundu. Doku GPX enzim değeri,

$$(8412 \times \Delta_{\text{örnek}} - 8412 \times \Delta_{\text{ayraç körü}}) \times \text{sulandırma katsayıısı},$$

formülünden hesaplandı.

Elde edilen U/dl GPX değeri, aynı örmekten elde edilen mg/dl total protein sonucu ile karşılaştırılarak U/mg protein şekline dönüştürüldü Ölçümü yapılan ömek sulandırmalarının, ayraç köründen daha yoğun olması sağlandı.

3.2.6 Total protein ölçümü

Total protein, homojenattan kit prosedürüne uygun şekilde spektrofotometride 540 nm dalga boyunda ölçüldü.

3.3 İstatistiksel Analiz

Grup içi karşılaştırma, Minitab release 11.12 (1996) bilgisayar programında 2-sample *t* testi ($P<0.05$) ile yapıldı.

4.BULGULAR

4.1. Süperoksid Dismutaz Enzimi

Bütün gruplarda deneme süresince SOD düzeylerinde gözlenen değişimler

Tablo 4.1 ve 4.2'te sunulmuştur.

ENR ve DEP grup değerleri (Grafik 4.1), kontrol grup değerleri ile kıyaslandığında istatistiksel önem arz eden bir farklılığın ($P>0.05$) olmadığı gözlandı.

DAN grubu (Grafik 4.1), kontrol grubu ile kıyaslandığında 1. ile 2. günlerde önemli ($P<0.05$) artış, 3. günde önemli ($P<0.05$) düşme belirlendi. Ayrıca, 3. günde belirlenen düzeyin bütün denem gruplarında gözlenen en alt seviye ($P<0.05$) olduğu gözlandı.

Tablo 4.1. Deneme süresince enrofloksasin (ENR), danofloksasin (DAN) ve deneysel peritonit (DEP) gruplarında karaciğer süperoksid dismutaz (U/mg protein) seviyesinde gözlenen değişimler ($n=6$, ortama \pm ortalamanın standart hatası)*.

	Kontrol	1. gün	2.gün	3. gün	4.gün	5.gün
ENR	6.712 \pm 0.50	8.233 \pm 2.10	6.518 \pm 1.30	5.785 \pm 0.89	6.947 \pm 1.80	6.550 \pm 1.00
DAN	6.712 \pm 0.50	35.45 \pm 4.00	56.82 \pm 10.00	3.630 \pm 0.55	6.410 \pm 0.67	6.460 \pm 0.67
DEP	6.712 \pm 0.50	5.490 \pm 0.37	6.140 \pm 0.48	6.630 \pm 0.79	6.558 \pm 0.68	5.603 \pm 0.77

*Aynı satırda farklı harfler istatistiksel olarak önem ($P<0.05$) arz eder.

DEP, DEP+ENR (Grafik 4.2) ve DEP+DAN (Grafik 4.2) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında gruplar arasında önemli bir değişiklik ($P>0.05$) belirlenmedi.

Tablo 4.2. Deneysel peritonit (DEP), deneysel peritonit + enrofloksasin (DEP+ENR), deneysel peritonit + danofloksasin (DEP+DAN) gruplarında süperoksid dismutaz (U/mg protein) seviyesinde deneme süresince gözlenen değişimler ($n=6$, ortama \pm ortalamanın standart hatası)*.

	3. gün	4.gün	5.gün
DEP	6.630 \pm 0.79	6.558 \pm 0.68	5.603 \pm 0.77
DEP+ENR	5.218 \pm 0.46	7.133 \pm 0.33	6.002 \pm 0.40
DEP+DAN	4.997 \pm 0.32	6.108 \pm 0.38	6.565 \pm 0.34

*Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak önem ($P<0.05$) arz eder

4.2. Glutasyon Peroksidaz Enzimi

Bütün grplarda deneme süresince GPX enzim düzeylerinde gözlenen değişimler Tablo 4.3 ve 4.4'te sunulmuştur.

ENR grubundaki değerler (Grafik 4.3), kontrol ile kıyaslandığında 1., 2. ve 3. günlerde önemli ($P<0.05$) azalma, denemenin 3. günündeki azalmanın ise 1. ve 2. günlerdekine göre daha az olduğu ($P<0.05$) gözlandı.

DAN grubu (Grafik 4.3) kontrol ile kıyaslandığında, danofloksasının tüm deneme süresince önemli ($P<0.05$) azalmalara sebep olduğu ve 2. ve 4. günlerde ise en alt seviyeye indiği ($P<0.05$) belirlendi.

DEP grubu (Grafik 4.3 ve 4.4), kontrol ile kıyaslandığında, deneysel peritonitin tüm deneme süresince önemli ($P<0.05$) azalmalara yol açtığı belirlendi.

Tablo 4.3. Enrofloksasin (ENR), danofloksasin (DAN) ve deneysel peritonit (DEP) gruplarında karaciğer glutasyon peroksidaz (U/mg protein) seviyesinde deneme süresince gözlenen değişimler (n=6, ortama ± ortalamanın standart hatası)*.

	Kontrol	1. gün	2.gün	3. gün	4.gün	5.gün
ENR	1.550±0.150	0.427±0.100	0.440±0.120	0.742±0.180	1.863±0.290	1.490±0.120
DAN	1.550±0.150	0.636±0.130	0.240±0.037	0.720±0.087	0.265±0.043	0.760±0.060
DEP	1.550±0.150	0.920±0.097	1.075±0.089	0.828±0.071	1.030±0.065	1.076±0.074

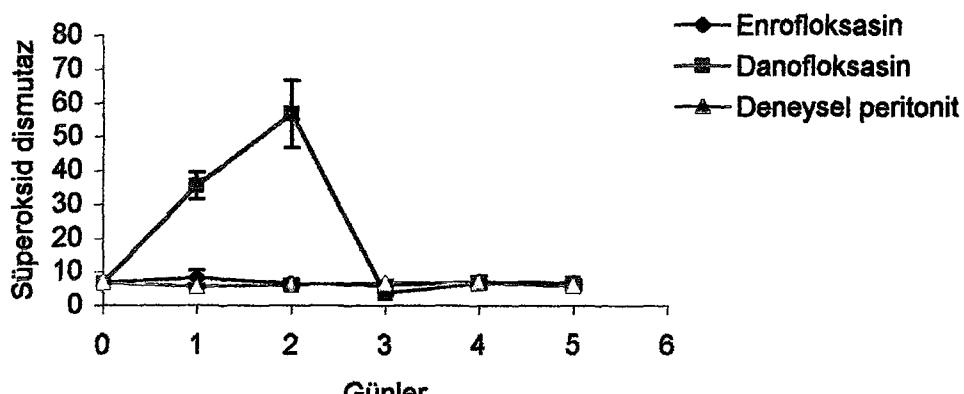
*Aynı satırda farklı harfler istatistiksel olarak önem (P<0.05) arz eder.

DEP ve DEP+DAN (Grafik 4.4) gruplarında zaman ile azalan bir düşme, DEP+ENR (Grafik 4.4) grubunda ise zamanla artan bir düşme tespit edildi. DEP grubu DEP+ENR ve DEP+DAN grubundaki değerler ile kıyaslandığında, 3. ve 5. günlerde istatistiksel olarak önemli olan (P<0.05) bir farklılığın olduğu tespit edildi. Ayrıca 3. gün DEP+ENR grubu ile DEP+DAN grupları arasında da istatistiksel yönden önemli olan (P<0.05) farklılık gözlandı.

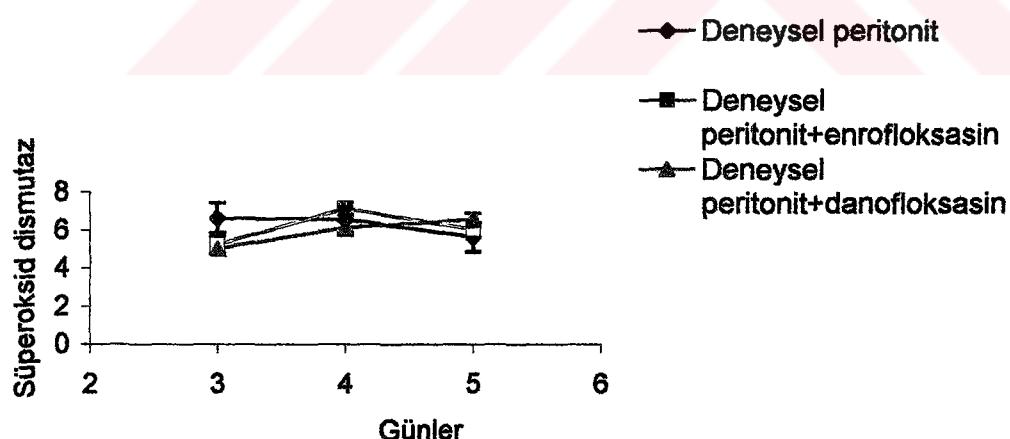
Tablo 4.4. Deneysel peritonit (DEP), deneysel peritonit +enrofloksasin (DEP+ENR), deneysel peritonit + danofloksasin (DEP+DAN) gruplarında karaciğer glutasyon peroksidaz (U/mg protein) seviyesinde deneme süresince gözlenen değişimler (n=6, ortama± ortalamanın standart hatası)*.

	3. gün	4.gün	5.gün
DEP	0.828±0.071	1.030±0.065	1.076±0.074
DEP+ENR	1.293±0.090	0.772±0.130	0.767±0.130
DEP+DAN	0.537±0.110	0.718±0.120	0.720±0.093

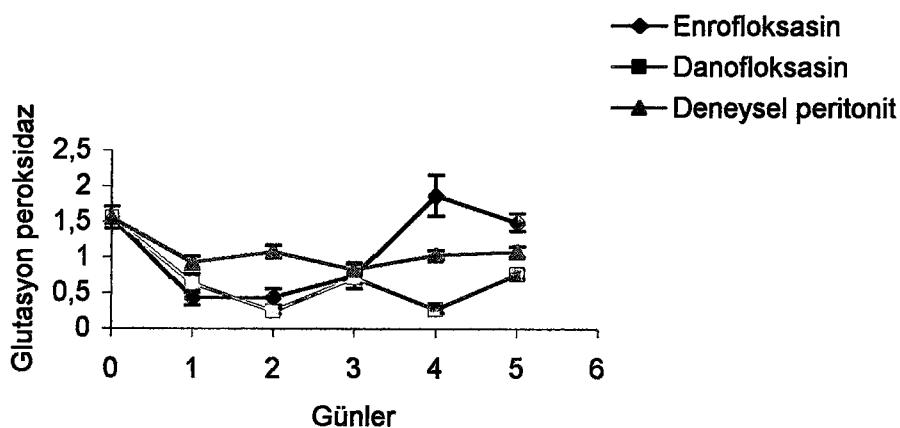
*Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak önem (P<0.05) arz eder.



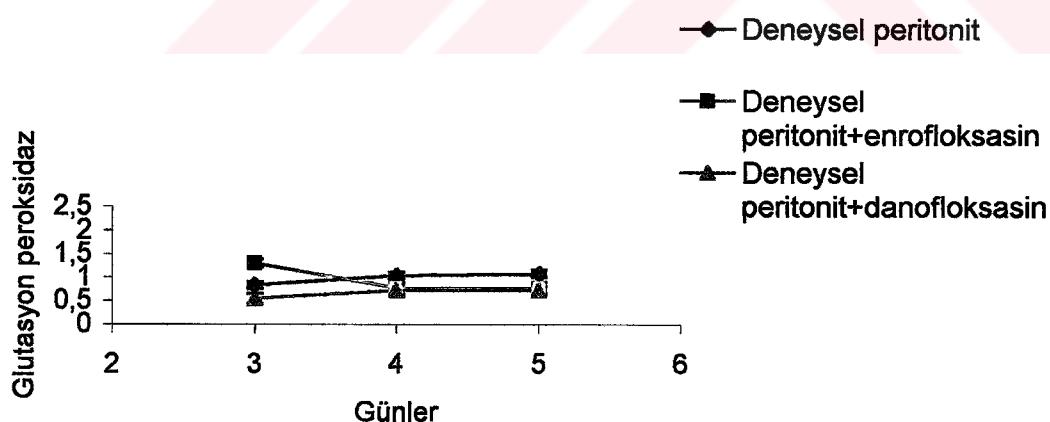
Grafik 4.1 Enrofloxasin, danofloxasin ve deneysel peritonit gruplarında karaciğer süperoksid dismutaz (U/mg protein) düzeyinde deneme süresince gözlenen değişimler



Grafik 4.2 Deneysel peritonit, deneysel peritonit+enrofloxasin, deneysel peritonit+danofoxsasin gruplarında karaciğer süperoksid dismutaz (U/mg protein) düzeyinde deneme süresince gözlenen değişimler



Grafik 4.3 Enrofloxasin, danofloxasin ve deneysel peritonit gruplarında karaciğer glutasyon peroksidaz (U/mg protein) düzeyinde deneme süresince gözlenen değişimler



Grafik 4.4 Deneysel peritonit, deneysel peritonit+enrofloxasin ve deneysel peritonit+danofoxsasin gruplarında karaciğer glutasyon peroksidaz (U/mg protein) düzeyinde deneme süresince gözlenen değişimler

5.TARTIŞMA ve SONUÇ

Karaciğer, *E.coli* ile oluşturulan deneysel peritonit enfeksiyonlarından en fazla etkilenen organlardan biridir. Bu organda, etkinleşmiş nötrofil ve kupfer hücrelerinden köken alan SOR'nin şeiklenen ölümlere önemli oranda katkı sağladığı ve bu gerekçe ile antioksidan enzim düzeyi değişimlerinin belirlenmesinde en uygun organın karaciğer olacağı belirtilmektedir (Kunimoto ve ark 1987, Takahashi ve ark 1988, Peralta ve ark 1993, Portoles ve ark 1993). Ayrıca, farklı organlarda antioksidan enzim düzeylerinde meydana gelen değişimlerin belirlenmesinde, alyuvarlar yerine ilgili organdan alınacak numunelerde ölçüm yapılmasının daha gerçekçi sonuçlar vereceği bildirilmiştir (Burr ve ark 1987).

DEP grubunda, deneme süresince GPX düzeyinde önemli düşme ($P<0.05$) izlenirken, SOD düzeyinde ise herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Takahashi ve ark (1988) *Salmonella typhimurium* LT-2 ile deneysel peritonit oluşturdukları farelerde, karaciğer SOD düzeyinin 3-9. günlerde %50 oranında azaldığını, fakat *Salmonella typhimurium* SL-1118 ile enfekte edilen farelerde ise herhangi bir değişiklik gözlemediğini bildirmiştirlerdir. Diğer yandan, *E.coli* ile DEP oluşturulmuş ratların kaslarında GPX düzeylerinin düzensiz bir seyir izlediği, ancak 30. saatten sonra normal düzeye ulaştığı belirtilmektedir (Peralta ve ark 1993). Kim ve ark (1997) *Leptospira interrogans* ile DEP oluşturulmuş kobayların karaciğer SOD düzeyinin sadece 2. günde arttığını bildirmiştir. Bu araştırmalarda SOD düzeylerine ilişkin bulgular Takahashi ve ark (1988)'nın *Salmonella typhimurium* SL-1118 kullanarak elde ettikleri sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. Diğer araştırmalar ile gözlenen farklılığın sebebi, değişik bakteri

ve deney hayvanı kullanılması olabilir. Takahashi ve ark (1988)'da çalışmalarında aynı bakteriye ait farklı suş kullanımı ile farklı SOD düzeyleri tespit etmişlerdir. Bununla birlikte enfeksiyonun başlangıcında SOD ve GPX düzeylerinin düşebileceği ve bu durumun fagositlerden fazla oranda ortama salınan O_2^- ve H_2O_2 'ten kaynaklanabileceği ifade edilmektedir (Kawai ve ark 1988, Chen ve ark 1996).

İlaçlar kendileri SOR üretebildikleri gibi, karaciğerdeki biyotransformasyonları esnasında SOR üretilmesine aracılık eden olaylara katılarak da SOR'nin üretimini artırabilmektedirler (Harvey 1989, Kayaalp 1994). Bu araştırmada kullanılan florokinolon grubu antibiyotikler, karaciğerde metabolize olurlar. Florokinolon antibiyotiklerin antioksidan enzimler üzerine etkinliği ile ilgili herhangi bir veriye rastlanılmazken, enrofloksasinin fagositlerin hücre zarında bulunan NADPH oksidazı etkinleştirerek SOR oluşumunu artırdığı ifade edilmektedir (Matsumoto ve ark 1996, Hoeben ve ark 1997).

ENR grubunda denemenin 1., 2. ve 3. günlerinde GPX düzeyinde önemli azalma ($P<0.05$) tespit edilmesine karşın, SOD düzeyinde ise sadece ilk gün istatistiksel önem arz etmeyen bir artış belirlenmiştir. Hücre içi SOD düzeyinin etkilenmesi için yüksek oranda SOR üretilmesi gereği ve ortamdaki küçük değişimlerden önemli oranda etkilenmediği bildirilmektedir (Kawai ve ark 1988). *In vitro* şartlarda enrofloksasinin yüksek dozu (10 – 100 μ g/ml) ile kemiluminesans ölçüm metodu kullanılarak yapılan araştırmalarda, fagositlerde süperoksid oluşumunun arttığı gözlenmiştir (Duncker ve Ullman 1986, Matsumoto ve ark 1996, Hoeben ve ark 1997). Oluşan süperoksid radikalının GPX seviyesini düşürücü etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Turrens 1991, Hasegawa ve ark 1992).

Bu çalışmada, enrofloksasinin SOD üzerinde herhangi bir etki oluşturmazken, GPX düzeyinde yaptığı azalma, SOD düzeyini etkilemeyecek düzeyde oluşan süperoksid oluşumundan kaynaklanabilir. Enrofloksasinin fagositik hücrelerde NADPH oksidazı uyararak O_2^- oluşumunu artırdığı dikkate alındığında H_2O_2 oluşumu da artıracaktır. Oluşan H_2O_2 'te GPX düzeyinin azalmasına ($H_2O_2 + 2GSH \xrightarrow{GPX} H_2O + GSSG$) sebep olabilir. Ayrıca enrofloksasin veya metabolitinin doğrudan etkisi ile de, GPX enziminde azalma gözlenebilir.

Danofloksasin uygulaması, farelerin GPX düzeyinde kontrol değerinin altında seyreden dalgalanmalara neden olurken, SOD düzeyi üzerinde ise kararsız bir etki göstererek, 1. ve 2. günlerde önemli artışa ($P<0.05$) 3. günde önemli düşmeye ($P<0.05$) neden olduğu gözlendi. Fare hariç diğer hayvanlarda, danofloksasin için önerilen tedavi dozu, enrofloksasin dozunun (1.25 mg/kg) yarısı oranındadır. Ancak bu araştırmada enrofloksasin ile aynı dozda (10 mg/kg) kullanılmıştır. SOD enziminde gözlenen artışın nedeni dozun fazlalığından kaynaklanan aşırı SOR üretimine ile ilgili olabilir. Çünkü SOR uyarısı ile SOD enziminde artış, GPX düzeyinde ise azalma gözlenebileceği bildirilmektedir (Kawai ve ark 1988, Turrens 1991, Hasegawa ve ark 1992). SOD enziminde gözlenen artışın bir diğer sebebi de, danofloksasinin doğrudan enzimi uyarması olabilir. Hoeben ve ark (1997) danofloksasinin kemilumimetrik ölçümdede SOR oluşumunu engellediği, ancak bunun sebebinin denemedede kullanılan luminolden kaynaklandığını bildirmiştirlerdir.

Deneysel peritonit oluşturulan farelere enrofloksasin uygulaması sonucunda SOD düzeyinde değişiklik gözlenmedi. DEP grubu DEP+ENR grubu ile kıyaslandığında GPX düzeyinin 3. günde yüksek diğer zamanlarda ise düşük olduğu gözlendi. Diğer yandan sağlıklı hayvanlara enrofloksasin uygulaması,

DEP+ENR grubuna göre GPX enziminde daha fazla azalmaya neden olduğu dikkate alınırsa, enfeksiyon durumlarında enrofloksasinin GPX üzerindeki yalın etkisinin azaldığı gözlenmektedir. Benzer etki DEP+DAN grubunda da gözlenmiştir. Bunun durumun, örnekleme zamanından veya enfeksiyon durumda SOR dışında kalan diğer etkenlerden de kaynaklanabilir.

Deneysel peritonit oluşturulmuş farelere danofloksasin uygulaması SOD enziminde değişikliğe neden olmazken, GPX enziminde azalmalara neden olmuştur. Ancak danofloksasinin sağlıklı hayvanlarda 1. ve 2. gün artış ve 3. gün azalma yaptığı tespit edilmiştir. Bu sonuçların deneysel peritonit oluşturulmuş deneklerde gözlenmemesinin sebebi, enfeksiyon esnasında oluşan olayların danofloksasinin SOD üzerindeki etkisini değiştirmesi ve ya örnekleme zamanının farklılığı olabilir. Her iki ilaçın da sağlıklı hayvanlarda yaptığı enzim değişikliklerinin deneysel peritonitli hayvanlara uygulanması sonucu enzimleri düşürücü etkilerinin azalması, ilaçların enfeksiyon durumlarında farmakokinetiğinin, özellikle biyotransformasyonlarının değişikliğinden kaynaklanabilir.

Bu alanda yapılan araştırmalarda, antibiyotiklerin fagositik hücrelerde SOR üretimini belirlemeye kullanılan kemulimumetrik ölçümelerde ve enzim düzeylerinin ölçümelerinde birbiri ile çelişen sonuçlar tespit edilmiştir. Bunun başlıca sebepleri, denemedede kullanılan hayvan türlerinin (Kawai ve ark 1988), laboratuvar şartlarının, dozaj rejiminin, kullanılan kimyasallar ve metotların farklılığı olarak belirtilmiştir (Duncker ve Ullman 1986, Breheim ve Dahlgren 1987, Van Der Auwera 1987). Enzim ölçümelerinde gözlenen farklılığın diğer nedenleri ise örnek sayısı, örnekleme zamanı ve ölçüm yapılan organların farklı olmasıdır.

Sonuç olarak;

- Enrofloksasinin ön görülen tedavi dozunda karaciğer SOD enzim düzeyini etkilemediği, ancak GPX enzimin düzeyinde ilk üç gün azalmaya; danofloksanının ise ilk iki günde SOD enzim düzeyinde artıça, üçüncü gün düşüşe, GPX enziminde ise deneme süresince azalmalara neden olduğu tespit edilmiştir. Bunun sebebinin tam olarak anlaşılabilmesi için SOR'nin ve malondialdehitin ölçümlerinin de yapılarak, gözlenen değişimlerin sebebinin SOR'inden mi yoksa enrofloksasinin doğrudan etkisinden mi kaynaklandığı ortaya konmalıdır.
- *E.coli* ile oluşturulmuş peritonit durumunda, enrofloksasin ve danofloksasin uygulamasının enzimler üzerindeki etkisinin sağlıklı hayvanlardan farklı olduğu gözlenmiştir. Bu durum, enfeksiyon durumlarında SOR üretimi dışında kalan diğer etkenlerin rol almasından ve ya ilaçın farmakokinetiğinde oluşan değişikliklerden kaynaklanabilir.
- GPX enziminin, *E.coli* ile enrofloksasin ve danofloksasin uygulamalarından SOD enzime göre daha çabuk etkilendiği belirlenmiştir.

6. ÖZET

**S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmakoloji ve Toksikoloji (Vet) Anabilim Dalı
DOKTORA TEZİ/KONYA 2000
Enver YAZAR**

**Sağlıklı ve Deneysel Olarak Peritonit Oluşturulmuş Farelerde Florokinolon
Grubu Antibiyotiklerin Süperoksid Dismutaz ve Glutasyon Peroksidaz
Enzimleri Üzerindeki Etkinliğinin Araştırılması, 98/094**

Bu araştırmada, enrofloksasin ve danofloksasının sağlıklı ve deneysel olarak peritonit oluşturulan farelerin karaciğer süperoksid dismutaz ve glutasyon peroksidaz enzim düzeylerine etkilerinin belirlenmesi amaçlandı. Bu amacıyla 132 adet beyaz fare kullanıldı. Fareler, kontrol grubu, enrofloksasin grubu, danofloksasin grubu, deneysel peritonit grubu (canlı *E.coli*), deneysel peritonit (canlı *E.coli*) + enrofloksasin ve deneysel peritonit (canlı *E.coli*) + danofloksasin grubu olmak üzere 6 gruba ayrıldı. Karaciğer dokusu örneklerindeki enzim düzeyleri spektrofotometre ile ölçüldü.

Yapılan ölçümler sonucunda, danofloksasının süperoksid dismutaz enzim düzeyini ilk iki gün artırdığı üçüncü gün düşürdüüğü, enrofloksasının ise glutasyon peroksidaz enzimin düzeyini ilk üç gün düşürdüğü tespit edilmiştir. Danofloksasin ve *E.coli* uygulamasının ise tüm deneme süresince glutasyon peroksidaz enziminde azalmalara neden olduğu gözlenmiştir.

7.SUMMARY

Investigation Of Effects of Fluoroquinolone Antibiotics on Superoxide Dismutase and Glutathione Peroxidase Enzyme Levels in Healthy and Experimentally Induced Peritonitis Mice, 98/094

In this study, it was investigated that effects of fluoroquinolone antibiotics on superoxide dismutase and glutathione peroxidase enzyme levels in healthy and experimentally induced peritonitis mice. 132 mice randomly divided into six groups. Group 1 served as control, group 2 was injected enrofloxacin, group 3 was injected danofloxacin, group 4 was injected live *E.coli*, group 5 was injected live *E.coli* and enrofloxacin and group 6 was injected live *E.coli* and danofloxacin. Liver antioxidant enzyme levels were measured by spectrophotometer.

As results, enrofloxacin caused a decrease glutathione peroxidase enzyme level at first three day, and danofloxacin caused an increase superoxide dismutase enzyme level at 1st and 2nd day and a decrease at 3rd day. Danofloxacin and *E.coli* caused a decrease glutathione peroxidase enzyme level during all experimental period.

8.KAYNAKLAR

Akkuş İ (1995) Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Basım, Yayın ve Dağıtım A.Ş., Konya.

Allen DG, Pringle JK and Smith DA (1998) Common dosages for rodents and rabbits in "Handbook of Veterinary Drugs", 605-627, second edition, Lippincott-Raven Publisher, New York.

Anderson R (1989) Erythromycin and roxithromycin potentiate human neutrophil locomotion in vitro by inhibition of leukoattractant activated superoxide generation and autooxidation, J Infect Disease, 159, 966-973.

Aruoma OI (1994) Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidant, Fd Chem Toxicol, 32, 7, 671-683.

Aslan R (1997) Sedanterlerde akut ve programlı submaksimal ekzersizin eritrosit membranı lipid peroksidasyonu ve antioksidan savunma sistemi üzerine etkilerinin araştırılması, Doktora tezi, Y. Y. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van.

Bolann BJ and Ulvik RJ (1991) Improvement of a direct spectrophotometric assay for routine determination of superoxide dismutase activity, Clin Chem, 37, 1993-1999.

Bolzan AD, Bianchi MS and Bianchi NO (1997) Superoxide dismutase, catalase and glutathion peroxidase activities in human blood: influence of sex, age and cigarette smoking, Clin Biochem, 30, 449-454.

Boogaerts MA, Malbrain S, Scheers W and Verwilghen RL (1986) Effects of quinolones on granulocyte function in vitro, Infection, 14, 258-262.

- Breheim G and Dahlgren C (1987)** *Influence of antibiotics on formylmethionyl-leucyl-phenylalanine induced leukocyte chemiluminescence*, Antimicrob Agent Chemother, 31,763-767.
- Bulera SJ, Theiss JC, Festerling TA and de la Iglesia FA (1999)** *In vitro photogenotoxic activity of clinafloxacin:a paradigm predicting photocarcinogenecity*, Toxicol Appl Pharmacol, 156, 222-230.
- Burr IM, Asayama K and Fenichel GM (1987)** *Superoxide dismutase, glutathion peroxidase, and catalase in neuromuscular disease*, Muscle and Nerve, 10,150-154.
- Ceballos-Picot I, Trivier JM, Nicole A, Sinet PM and Thenvein M (1992)** *Age correlated modifications of copper zinc superoxide dismutase and glutathione related enzyme activities in human erythrocytes*, Clin Chem, 38,1, 66-70.
- Chan KM and Decker EA (1994)** *Endogenous skeletal muscle antioxidants*, Crit Rev Food Sci, 34, 4, 403-4026.
- Chen LH, Xi S and Cohen DA (1996)** *Liver endogenous antioxidant defense in mice fed AIN-76A diet and infected with murine AIDS*, Chemico Biological Interactions, 99,17-28.
- Ciaccio M, Valenza M, Tesoriere L, Bongiorno A, Albiero R and Livrea MA (1993)** *Vitamin A inhibits doxorubicin induced membrane lipid peroxidation in rat tissues in vivo*, Arch Biochem Biophys, 32,103-108.
- Coa G and Chen J (1991)** *Effects of dietary zinc on free radical generation, lipid peroxidation, and superoxide dismutase in trained mice*, Arch Biochem Biophys, 291,147-153.

Di Simplicio P, Rossi R, Falcinelli S, Ceserani R and Formento ML (1997)

Antioxidant status in various tissues of the mouse after fasting and swimming stress, Eur J Appl Physiol, 76, 302-307.

Duncker D and Ullman U (1986) Influence of various antimicrobial agents on the chemiluminescence of phagocytosing human granulocytes, Chemotherapy, 32,18-24.

Elmas M (1997) Bazı antimikroiyal ilaçların plazma ve lenf sıvısındaki farmakokinetik profillerinin karşılaştırılması, Doktora Tezi, S. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.

Elsbach P and Weiss J (1985) Oxygen dependent and oxygen independent mechanisms of microbicidal activity of neutrophils, Immunol Lett, 11,159-163.

Feldman C, Anderson R, Theron AJ, Ramafi G, Cole PJ and Wilson R (1997) Roxitromisin, clarithromycin and azithromycin attenuate the injurious effects of bioactive phospholipids on human respiratory epithelium in vitro, Inflammation, 21, 655-665.

Fink MP, Heard F and Heard SO (1990) Laboratory models of sepsis and septic shock, J Surg Res, 49,186-196.

Fridovich I (1986) Biological effects of the superoxide radical, Arch Biochem Biophys, 247,1,1-11.

Friis C (1993) Penetration of danofloxacin into respiratory tract tissues and secretions in calves, Am J Vet Res, 54, 1122-1127.

Geller BL and Winge DR (1984) Subcellular distribution of superoxide dismutase in rat liver, Method Enzymol, 105,105-114.

Guemouri L, Artur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cuny G and Siest G (1991)

Biological variability of superoxide dismutase, glutathion peroxidase and catalase in blood, Clin Chem, 37,1932-1937.

Gunther MR, Mao J and Cohen MS (1993) Oxidant scavenging activities of ampisilin and sulbactam their effect of neutrophil functions, Antimicrob Agent Chemother, 37,950-956.

Habib MP, Lackey DL, Lantz RC, Sobonya RE, Grand R, Earnest DL and Bloom JH (1993) Vitamin A pretreatment and bleomycin induced rat lung injury, Res Commun Chem Pathol Pharmacol, 81,199-208.

Hampton MB, Kettle AJ and Winterbourn CC (1998) Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing, Blood, 92, 3000-3017.

Hand WL, Hand DL and Thompson NL (1990) Antibiotic inhibition of the respiratory burst response in human polymorphonuclear leukocytes, Antimicrob Agent Chemother, 34, 863-870.

Harvey JV (1989) Erythrocyte metabolism in "Clinical Biochemistry of Domestic Animals", Ed:Kaneko JJ, 4th edition, 185-224,Academic Press Inc, NewYork, USA.

Hasegawa T, Kaneko F and Niwa Y (1992) Changes in lipid peroxide levels and activity reactive oxygen scavenging enzymes in skin, serum and liver following UVB irradiation in mice, Life Science, 50, 1893-1903.

Hermansen K and Wasserman K (1986) The effect of vitamin A and selenium on doxorubicin (Adriamycin) induced delayed toxicity in mice, Acta Pharmacol Toksicol, 58, 31-37.

- Himeno S, Takekawa A, Toyoda H and Imura N (1993) Tissue specific expression of glutathion peroxidase gene in guinea pigs, Biochim Biophys Acta, 1173, 283-288.**
- Hoeben D, Dosogne H, Heyneman R and Burnevich C (1997) Effect of antibiotics on the phagocytotic and respiratory burst activity of bovine granulocytes, Eur J Pharmacol, 332,289-297.**
- Jansen Van Rensburg CE, Joone G and Anderson R (1990) Interactions of the oxygen dependent antimicrobial system of the human neutrophil with difloksasin, ciprofloxacin, pefloxacin and fleroxacin in the intraphagocytic eradication of *Staphylococcus aureus*, J Med Microbiol, 32,15-17.**
- Julicher RHM, Sterrenberg L, Haenen GRMM, Bast A and Noordhoek J (1988) The effect of chronic adriamycin treatment on heart, kidney and liver tissue of male and female rat, Arch Toxicol, 61, 275-281.**
- Kavutçu M, Canbolat O, Öztürk S, Olcay E, Ulutepe S, Ekinci C, Gökhun İH ve Durak İ (1996) Reduced enzymatic antioxidant defense mechanism in kidney tissues from gentamicin treated guinea pigs : effects of vitamin E and C, Nephron, 72,269-274.**
- Kawai S, Komura J, Asada Y and Niwa Y (1988) Experimental burn induced changes in lipid peroxide levels, and activity of superoxide dismutase and glutathion peroxidase in skin lesions, serum and liver of mice, Arch Dermatol Res, 280, 171-175.**
- Kaya S (1997) Kinolonlar "Veteriner Uygulamalı Farmakoloji" cilt 2, ikinci baskı, Ed; Kaya S, Pirinçci İ ve Bilgili A, 364-373, MEDİSAN Yayın Evi, Tıbbi**

Alet, İlaç, Kimyasal Madde Gıda Sanajı İç ve Dış Ticaret Ltd Şti, Ulus,
Ankara.

Kayaalp SO (1994) *İlaçların toksik tesirleri ve toksikolojinin temel kavramları*
“Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji” Cilt1, 7. Baskı, 303-
389, Güneş Kitabevi Ltd Şti, Feryal Matbacılık, Ankara.

Kim YG, Jeon DY and Yang MK (1997) *Superoxide dismutase activity and lipid peroxidation in the liver of guinea pig infected with Leptospira interrogans*, Free Radic Res, 25,1-6.

Konukoğlu D, İynem H ve Ziylan E (1999) *Antioxidant status in experimental peritonitis : effects of alpha tocopherol and taurolin*, Pharmacol Research, 39, 3, 247-251.

Krinsky NI (1992) *Mechanism of action of biological antioxidants*, Exp Biol Med, 200, 248-254.

Kubo S, Matsumoto T, Takahashi K, Haraoka M, Tanaka M, Sakumoto M, Sakamoto Y and Kumazawa J (1994). *Enhanced chemiluminescence response of polymorphonuclear leukocytes by new quinolone antimicrobials*, Chemotherapy, 40, 333-336.

Kunimoto F, Morita T, Ogawa R and Fuita T (1987) *Inhibition of lipid peroxidation improves survival rate of endotoxemic rats*, Circ Shock, 21,15-22.

Kurata M, Suzuki M and Agar SN (1993) *Antioxidant systems and erythrocyte life-span in mammals*, Comp Biochem Physiol, 106, 3, 477-487.

Labro MT, El Benna J and Chavaye CB (1989) Comparison of the *in vitro* effect of several macrolides on the oxidative burst of human neutrophils, *J Antimicrob Chemother*, 24, 561-572.

Matsumoto T, Takahashi K, Nagafuji T, Kubo S, Sakumoto M, Mochida O, Sakamoto Y, Mizunoe Y and Kumazawa J (1996) Fleroxacin enhancement of superoxide production by polymorphonuclear leukocytes: The role of protein kinases, *Chemotherapy*, 42, 280-285.

Mimbay A (1982) *Enterik infeksiyonlar “Özel Mikrobiyoloji”*, Arda M, Mimbay A ve Aydın O, 117-135, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.

Miyachi Y, Yoshioka A, Imamura S and Niwa Y (1986) Effect of antibiotics on generation of reactive oxygen species, *J Invest Dermatol*, 9, 86, 449-453.

Moutard I, Grebbier B, Brunet C, Dine T, Luyckx M, Cazin M and Cazin JC (1997) In vitro interaction between dirithromycin or its metabolite, erythromycylamine, and oxidative polymorphonuclear metabolism, *Journal of Antibiotics*, 50, 53-57.

Neilson CP, Brenner D and Olson RD (1986) Doxorubicin and doxorubicinol induced alterations in human polymorphonuclear leukocyte oxygen metabolite generation, *J Pharm Exp Ther*, 238, 19-25.

Nielsen SL, Obel M, Storgaard M and Anderson PL (1997) The effect of quinolones on the intracellular killing *S.aureus* in neutrophil granulocytes, *JAC*, 39, 617-622.

Öztürk HS, Kavutçu M, kaçmaz M, Canbolat O and Durak İ (1997) The effects of gentamicin on the activities of glutathione peroxidase and superoxide

dismutase enzymes and malondialdehyde levels in heart tissues of guinea pigs, Curr Med Res Opin, 14, 47-52.

Paape MJ, Miller RH and Ziv G (1990) *Effects of florfenicol, chloramphenicol and thiampenicol on phagocytosis, chemiluminescence and morphology of bovine polymorphonuclear neutrophil leucocytes*, J Dairy Sci, 73,1734-1744.

Peralta JG, Llesuy S, Evelson P, Carreras MC, Flecha BG and Poderoso JJ (1993) *Oxidative stress in skeletal muscle during sepsis in rats*, Circ Shock, 39,153-159.

Perez-Campo R, Torres ML, Rojas C, Cadenas S and Barja G (1993) *A comparative study of free radicals in vertebrates- I. Antioxidant enzymes*, Comp Biochem Physiol, 105, 749-755.

Portoles MT, Ainaga MJ and Pagani R (1993) *The induction of lipid peroxidation by E.coli lipopolysacharide on rat hepatocytes as an important factor in the etiology of endotoxic liver damage*, Biochim Biophys Acta, 1158, 287-292.

Portoles MT, Catala M, Anton A and Pagani R (1996) *Hepatic response to the oxidative stress induced by E.coli endotoxin: Glutathione as an index of the acute phase during the endotoxic shock*, Molecular and Cellular Biochemistry, 159,115-121.

Ramsammy LS, Josepovitz C, Ling K, Lane BP and Kaloyanides GJ (1987) *Failure of inhibition of lipid peroxidation by vitamin E to protect against gentamicin nephrotoxicity in the rat*, Biochem Pharmacol, 36, 2125-2132.

Saniabadi AR, Wada K, Umemura K, Sakuma S and Nakashima M (1996)

Impairment of phagocytic cell respiratory burst by UVA in the presence of fluoroquinolones: an oxygen dependent phototoxic damage to cell surface microvilli, Journal of Photochemistry and Photobiology B:Biology, 33, 137-142.

Sardar S, Chakraborty A and Chatterjee M (1996) Comparative effectiveness of vitamin D₃ and dietary vitamin E on peroxidation of lipids and enzymes of the hepatic antioxidant system in sprague-dawley rats, Inter J Vit Nutr Res, 66, 1, 39-45.

Sazuka Y, Tanizawa H and Takino Y (1989) Effect of adriamycin on the activities of superoxide dismutase, glutathion peroxidase and catalase in tissues of mice, Jpn J Cancer Res, 80, 89-94.

Shull S, Heintz NH, Periasamy M, Manohar M, Janseen YWM, Marsh JP and Mossman BT (1991) Differential regulation of antioxidant enzymes in response to oxidants, Journal of Biological Chemistry, 266, 24398-24403.

Sodhi CP, Rana SV, Mehta SK, Vaiphei K, Attari S and Mehta S (1997) Study of oxidative stress in isoniazid-rifampicin induced hepatic injury in young rats, Drug and Chem Toxicol, 20, 255-269.

Solonkim JS, Cotta LA, Brodt JK and Hurst JM (1985) Regulation of neutrophil superoxide production in sepsis, Arch Surg, 120, 93-98.

Song B and Schacht J (1996) Variable efficacy of radical scavengers and iron chelators to attenuate gentamicin ototoxicity in guinea pig *in vivo*, Hearing Research, 94, 87-93.

- Song B, Anderson DJ and Schacht J (1997) Protection from gentamicin ototoxicity by iron chelators in guinea pig *in vivo*, J Pharm Exp Ther, 282, 369-377.**
- Suzuki Y and Sudo J (1990) Lipid peroxidation and generations of oxygen radicals induced by cephaloridine in renal cortical microsomes of rats, Japan J Pharmacol, 52,233-243.**
- Swei A, Lacy F, Delano FA, Schmin-Schönbein GW (1997) Oxidative stress in the dahl hypertensive rat, Hypertension, 30,1628-1633.**
- Takahashi M, Ushijima T and Ozaki Y (1988) Changes in hepatic superoxide dismutase and xanthine oxidase activity in mice infected with *Salmonella typimurium* and *Pseudomonas aeruginosa*, J Med Microbiol, 26, 281-284.**
- Thome J, Nara K, Foley P, Gsell W, Wiesbeck GA, Böning J and Riederer P (1997) Time course of manganese superoxide dismutase concentrations in serum of alcohol dependent patients during abstinence, Drug Alcohol Depen, 44,151-155.**
- Thuong-Guyot M, Domale O, Pocidalo JJ and Hayem G (1994) Effects of flouroquinolones on cultured articular condrocytes flow cytometric analysis of free radical production, J Pharmacol Exp Ther, 271, 1544-1549.**
- Traş B (1997) Solunum sistemi ilaçları "Veteriner Uygulamalı Farmakoloji" cilt 2, 2. Baskı, ED; Kaya S, Pirinçci İ ve Bilgili A, 153-169, MEDİSAN Yayın Evi, Tıbbi Alet, İlaç, Kimyasal Madde gıda Sanajı İç ve Dış Ticaret Ltd Şti, Ulus, Ankara.**

- Turrens JF (1991) The potential of antioxidant enzymes as pharmacological agents in vivo, Xenobiotica, 21,8,1033-1040.**
- Umeki S (1990) Ampicillin serve as electron donor, Int J Biochem, 22,1291-1293.**
- Umezawa K, Ohnishi N, Tanaka K, Kamiya S, Koga Y, Nakazawa H and Ozawa A (1995) Granulation in liver of mice infected with *Samonella typhimurium* is caused by superoxide released from host phagocytes, Infect Immun, 63, 4402-4408.**
- Umezawa N, Arakane K, Ryu A, Mashiko S, Hirobe M and Nagano T (1997) Participation of reactive oxygen species in phototoxicity induced by quinolone antibacterial agents, Arch Biochem Biophys, 342, 275-281.**
- Yokozawa T and Owada S (1999) Effect of ginsenoside-Rd cephaloridine induced renal disorder, Nefron, 81,200-207.**
- Van Baar HMJ, Van De Kerkhof PCM, Mier Pd and Happle R (1987) Tetracyclines are potent scavenger of the superoxide radical, Brit J Dermatol, 117,131-134.**
- Van der Auwera P, Petrikos G, husson M and Klastersky J (1986) Influence of various antibiotics on superoxide generation by normal human neutrophils, Arch Int Physiol Biochim, 94, 23-28.**
- Vancutsem PM, Babisch JG and Schwark WS (1990) The fluoroquinolone antimicrobials, structure, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical use in domestic animals and toxicity, Cornell Vet, 80,173-186.**
- Vani M, Reddy GP, Reddy R, Thyagaraju K and Reddanna P (1990) Glutathion-S-transferase, superoxide dismutase, xantine oxidase, catalase,**

glutathion peroxidase and lipid peroxidation in the liver of exercised rats,

Biochem Int, 21, 17-26.

Vijayalekshmy KS, Menon VP and Leelamma S (1992) Role of antibiotics in lipid

peroxidation, Ind J Biochem Biophys, 29, 371-374

Watson AM, Warren G, Howard G, Shedlofsky SI and Blouin RA (1999)

Activities of conjugating and antioxidant enzymes following endotoxin

exposure, J Biochem Molecular Toxicology, 13, 2, 63-69.

9.ÖZGEÇMİŞ

Konya ilinin Karapınar ilçesinde 1970 yılında doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Karapınar ilçesinde tamamladı. 1987 yılında S.Ü. Veteriner Fakültesini kazanarak 1992 yılında mezun oldu. S.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'nda 15.07.1995 yılında Uzman olarak göreveye başladı ve 1996 yılında doktora eğitimi'ne başladı. Aynı Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevliliği sınavını kazanarak 16.01.1998 yılında Araştırma Görevliliği kadrosuna atandı. Evli ve bir çocuk babasıdır.

10. TEŞEKKÜR

Tez çalışmam esnasında yardımlarını esirgemeyen danışmanım Doç. Dr. Bünyamin TRAŞ'ın yanı sıra, Doç. Dr. A. Levent BAŞ, Yrd. Doç. Dr. Vahdettin ALTUNOK, Yrd. Doç. Dr. Atilla ŞİMŞEK, Yrd. Doç. Dr. Muammer ELMAS ve Anabilim Dalımız araştırma görevlilerine teşekkür ederim.

