

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**FARELERDE STAPHYLOCOCCUS AUREUS NEDENLİ  
YUMUŞAK DOKU ENFEKSİYONLARI ÜZERİNE İBUPROFENİN  
ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. M.UĞUR ÇİTİL**

**DANIŞMAN  
YARD. DOÇ.DR. ERGUN METE**

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**FARELERDE STAPHYLOCOCCUS AUREUS NEDENLİ  
YUMUŞAK DOKU ENFEKSİYONLARI ÜZERİNE İBUPROFENİN  
ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ  
DR. UĞUR ÇİTİL**

**DANIŞMAN  
YARD. DOÇ. DR. ERGUN METE**

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 29.05.2013 tarih ve 2013TPF003 nolu kararı ile desteklenmiştir.

**DENİZLİ-2014**

Yard. Doç. Dr. ERGUN METE danışmanlığında Dr. M.UGUR ÇİTİL tarafından yapılan “Farelerde *Staphylococcus aureus* nedenli yumuşak doku enfeksiyonları üzerine ibuprofenin etkisi” başlıklı tez çalışması 20/01/2014 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN : Prof. Dr. İlknur KALELİ



ÜYE : Doç. Dr. Nural CEVAHİR



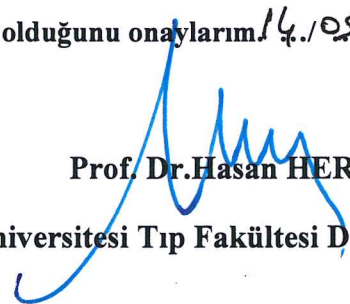
ÜYE: Yard. Doç. Dr. Ergun METE



Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım. 14.05.2014

Prof. Dr. Hasan HERKEN

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanı



## TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince her konuda yanımda olan, manevi yönden desteğini hissettiren; tezimin planlanmasında, içeriğinin düzenlenmesinde, tez sonuçlarının yorumlanmasında, tez çalışması için ortamın sağlanmasında ve tezin her aşamasında özverilerini, bilgilerini ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Ergun METE' ye saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Deneyleminin yürütülmesi esnasında, tüm laboratuvar imkânlarından faydalanmamı sağlayan ve laboratuvar çalışmalarımnda önerileri ile bana yol gösterici olan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. İlknur KALELİ'ye, Sayın Prof. Dr. Çağrı ERGİN'e, Sayın Doç.Dr. Melek DEMİR'e, Sayın Doç. Dr. Nural CEVAHİR'e, Sayın Yrd. Doç. Dr. Mustafa ŞENGÜL'e tezimin histolojik çalışması aşamalarında tecrübelerinden yararlandığım, Sayın Prof. Dr. Gülçin METE' ye ve fotoğrafları değerlendirmemde bana yardımları dokunan Sayın Doç. Dr. E. Oğuzhan OĞUZ' a, hayvan deney aşamasında her türlü imkanı sağlayan Veteriner Hekim Barbaros ŞAHİN' e, tezimin istatistik verilerinin oluşturulmasında emeği geçen Prof. Dr. Mehmet ZENCİR'e tez yazım aşamasında yardımlarını benden esirgemeyen tüm asistan arkadaşlarıma ve Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda çalışan ve tezimin yapılmasında emeği geçen herkese ayrıca tez projemi destekleyen Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi' ne teşekkür ederim.

Varlıkları ile kendimi şanslı ve güvende hissetmemi sağlayan, her türlü konuda yanımda olarak beni cesaretlendiren, hayatımdaki en önemli insanlar babam; Ekrem ÇİTİL'e, annem; Aysel ÇİTİL'e ve kardeşlerim Burak ve Mehmet'e ayrıca hayatıma renk katan ve beni mutlu kılan tüm arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI .....	III
TEŞEKKÜR .....	IV
İÇİNDEKİLER .....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	X
TABLolar DİZİNİ .....	XI
ÖZET .....	XII
İNGİLİZCE ÖZET .....	XIV
GİRİŞ .....	2
GENEL BİLGİLER .....	3
<b>STAFİLOKOKLAR</b> .....	3
Tarihçe.....	3
Genel Özellikler.....	3
<b><i>STAFİLOKOKUS AUREUS</i></b> .....	4
Morfoloji ve Biyokimyasal Özellikleri.....	4
Kültür Özellikleri.....	4
Virülans Faktörleri.....	4
<b>YUMUŞAK DOKU ENFEKSİYONLARI</b> .....	11
İmpetigo.....	11

<b>Fronköl ve Karbonköl.....</b>	<b>11</b>
<b>Paronişya ve Felon.....</b>	<b>12</b>
<b>Hidradenitis süpürativa ve Mastit.....</b>	<b>12</b>
<b>Sikozis ve Folikülit.....</b>	<b>12</b>
<b>Erizipel ve Selülit.....</b>	<b>12</b>
<b>Diyabetik Ayak.....</b>	<b>13</b>
<b>Dekübit ülseri.....</b>	<b>13</b>
<b>NON STEROİDAL ANTIİNFLAMATUAR İLAÇLAR.....</b>	<b>14</b>
<b>Kimyasal sınıflandırma.....</b>	<b>14</b>
<i>Non Selektif Cox-2 inhibitörleri.....</i>	<i>14</i>
<i>Selektif Cox-2 inhibitörleri.....</i>	<i>14</i>
<b>İbuprofen.....</b>	<b>14</b>
<b>SİTOKİNLER.....</b>	<b>16</b>
<b>İnterlökin-1 (IL-1).....</b>	<b>16</b>
<b>İnterlökin-6 (IL-6).....</b>	<b>16</b>
<b>Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF alfa).....</b>	<b>18</b>
<b>Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF).....</b>	<b>19</b>
<b>GEREÇ YÖNTEM.....</b>	<b>19</b>
<b>YUMUŞAK DOKU ENFEKSİYONU OLUŞTURULMASI.....</b>	<b>20</b>
<b>Deney Gruplarının Oluşturulması.....</b>	<b>20</b>
<i>Çalışma grupları.....</i>	<i>20</i>

<i>Kontrol grupları</i> .....	21
<b>Balb/c Farelerinin İmmüsuprese Hale Getirilmesi</b> .....	21
<b>Yara Yerinin Oluşturulması</b> .....	22
<b>Yara Yüzey Alanının Ölçülmesi</b> .....	22
<b>Deney Hayvanlarına İbuprofen Verilmesi</b> .....	22
<b>Deney Hayvanlarına Ampisilin Verilmesi</b> .....	22
<b>Farelerden Serum Alınması</b> .....	22
<b>SERUM SİTOKİN DÜZEYLERİNİN ELİSA İLE SAPTANMASI</b>	22
<b>HİSTOLOJİK İNCELEME</b> .....	23
<b>Doku takip yöntemi</b> .....	23
<i>İmmünohistokimyasal boyama</i> .....	24
<b>İSTATİSTİKSEL ANALİZ</b> .....	25
<b>BULGULAR</b> .....	26
<b>TARTIŞMA</b> .....	45
<b>SONUÇVE ÖNERİLER</b> .....	62
<b>KAYNAKLAR</b> .....	64

## SİMGELER VE KISALTMALAR

- YDE:** Yumuşak Doku Enfeksiyonu  
**ABD :** Amerika Birleşik Devletleri  
**SPP:** Subspecies  
**MRSA:** Metisilin Resistant *Staphylococcus aureus*  
**MSSA:** Metisilin Sensitif *Staphylococcus aureus*  
**NSAİİ:** Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçlar  
**GAS:** A grubu Beta Hemolitik Streptokok  
**NF:** Nekrotizan Fasiit  
**DM:** Diabetes Mellitus  
**HIV:** *Human Immunodeficiency Virus*  
**NAMA:** N-Asetil Muramik Asit  
**NAGA:** N-Asetil Glukozamin  
**CLSI:** Clinical and Laboratory Standards Institute  
**SpA:** Protein A  
**IL:** İnterlökin  
**kDa:** Kilodalton  
**NK:** Natural killer  
**CYP:** Siklofosfamid  
**Ig:** İmmunoglobulin  
**LPS:** Lipopolisakkarid  
**TNF alfa:** Tümör Nekroz Faktör Alfa  
**VEGF:** Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü  
**B:** Bakteri grubu  
**Bİ:** Bakteri + ibuprofen grubu  
**BA:** Bakteri +ampisilin grubu  
**BİA** Bakteri + ibuprofen + ampisilin grubu



## SİMGELER VE KISALTMALAR

**S1B2:** Siklofosfamidli bakterisiz kontrol grubu

**S2B1:** Nonimmünsüprese (Siklofosfamidsiz) bakteri ile enfekte grup

**S2B2:** Hiçbir işlem yapılmayan sham grubu

**ELISA:** Enzyme Linked Immunosorbent Assay

**SP:** Streptavidin peroksidaz

**CFU/ML:** Koloni miktarı

**HA:** Hiyaluronik asit

**PBS:** Phosphate-Buffered Saline

**PMNL:** Polimorf Nüveli Lökosit

**IM:** Intramuscular

**NAC:** N asetil sistein

**AOM:** Akut Otitis Media

**Kİ:** Kemik iliği

**ARK:** Arkadaşları

**LPS:** Lipopolisakkarid

**RA:** Romatoid artrit

## ŞEKİLLER DİZİNİ

		<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil 1</b>	İbuprofenin kimyasal yapısı	15
<b>Şekil 2</b>	Yara boyutlarının günlere ve gruplara göre değişim grafiği	28
<b>Şekil 3</b>	4. günde yara nekrozu	28
<b>Şekil 4</b>	7.günde amputasyona bağlı ekstremitte kaybı	29
<b>Şekil 5</b>	Tüm grupların 1., 3. ve 7.günde serum TNF alfa ölçüm değerleri	32
<b>Şekil 6</b>	Tüm grupların 1., 3. ve 7. günde serum IL-1 ölçüm değerleri	32
<b>Şekil 7</b>	Tüm grupların 1., 3. ve 7.günde serum IL-6 ölçüm değerleri	33
<b>Şekil 8</b>	Tüm grupların 1., 3. ve 7. günde serum VEGF ölçüm değerleri	33
<b>Şekil 9</b>	Grupların 1. gün immünohistokimyasal görüntüleri	40
<b>Şekil 10</b>	Grupların 3.gün immünohistokimyasal görüntüleri	41
<b>Şekil 11</b>	Grupların 7.gün immünohistokimyasal görüntüleri	42
<b>Şekil 12</b>	Grupların günlere göre H.E boyama görüntüleri	44

## TABLULAR DİZİNİ

		<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1</b>	IL lerin biyolojik etkileri	17
<b>Tablo 2</b>	<i>S.aureus</i> ile enfekte farelerin gruplandırılması	21
<b>Tablo 3</b>	Günlere ve gruplara göre ortalama yara boyutları	27
<b>Tablo 4</b>	Günlere ve gruplara göre ortalama sitokin değerleri	31
<b>Tablo 5</b>	1.gün TNF alfa immünohistokimyasal değerlendirmesi	34
<b>Tablo 6</b>	3. gün TNF alfa immünohistokimyasal değerlendirmesi	34
<b>Tablo 7</b>	7.gün TNF alfa immünohistokimyasal değerlendirmesi	35
<b>Tablo 8</b>	1. gün IL-1 immünohistokimyasal değerlendirmesi	35
<b>Tablo 9</b>	3.gün IL-1 immünohistokimyasal değerlendirmesi	36
<b>Tablo 10</b>	7. gün IL-1 immünohistokimyasal değerlendirmesi	36
<b>Tablo 11</b>	1.gün IL-6 immünohistokimyasal değerlendirmesi	37
<b>Tablo 12</b>	3. gün IL-6 immünohistokimyasal değerlendirmesi	37
<b>Tablo 13</b>	7.gün IL-6 immünohistokimyasal değerlendirmesi	37
<b>Tablo 14</b>	1.gün VEGF immünohistokimyasal değerlendirmesi	38
<b>Tablo 15</b>	3.gün VEGF immünohistokimyasal değerlendirmesi	39
<b>Tablo 16</b>	7.gün VEGF immünohistokimyasal değerlendirmesi	39

## ÖZET

### **Farelerde *Staphylococcus aureus* nedenli yumuşak doku enfeksiyonları üzerine ibuprofenin etkisi**

Dr. M.Uğur ÇİTİL

Yumuşak doku enfeksiyonları (YDE) oldukça yaygın görülen enfeksiyonlardandır. Bakteriyel kaynaklı YDE'lerin çoğunlukla nedeni *Staphylococcus aureus* gibi gram pozitif mikroorganizmalardır. İbuprofen gibi non steroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) analjezik ve antipiretik etkisi nedeniyle YDE'lerde sıklıkla kullanılmaktadır. Bu çalışmada; farelerde oluşturulan *S.aureus* nedenli YDE'lerde yara iyileşmesi üzerine, ibuprofenin etkisi araştırılmıştır.

Bu araştırmada farelerde siklofosfamidle yumuşak doku enfeksiyonu oluşturularak yara boyutları günlük olarak görüntülenmiş, deney ve kontrol gruplarının serumları alınarak ELISA yöntemiyle serum TNF alfa, IL-1, IL-6 ve VEGF seviyelerine bakılmıştır. Alınan doku örneklerinde immünohistokimyasal ve hematoksilen eozin yöntemleri kullanılarak doku sitokin reaksiyonları incelenmiştir.

Farelerde deney grupları; B grubu (bakteri grubu), Bİ grubu (bakteri + ibuprofen grubu), BA grubu, (bakteri + ampicilin grubu), BİA grubu (bakteri + ibuprofen + ampicilin grubu) olarak belirlenmiş, deney gruplarının tamamı siklofosfamidle immünsüprese edilerek *S.aureus* ile enfekte edilmiştir. Kontrol grupları ise; siklofosfamidli bakterisiz (S1B2), siklofosfamidsiz bakterili (S2B1), hiçbir işlem yapılmayan sham grubu (S2B2) olarak belirlenmiştir.

Bİ grubuyla, B grubunun yara boyutlarında ikinci günden çalışmanın sonuna kadar belirgin bir değişim görülmemiştir. BA grubu ile BİA grubunda ise; yara boyutlarında günler içinde dereceli olarak küçülme gözlenmiştir. Bİ grubu ve B grubu yara boyutları açısından karşılaştırıldığında yedi gün boyunca aralarında istatistiksel bir fark bulunmazken ( $p>0,05$ ) bu iki gruba BA grubu ile BİA grubu arasında ise istatistiksel fark saptanmıştır ( $p<0,05$ ). B grubunda oluşan nekroz Bİ grubuna göre daha erken gerçekleşmiştir. B grubunda ilerleyen günlerde amputasyona bağlı ekstremitte kaybı görülmüştür. BA grubu ile BİA grubunda; nekroz ve amputasyon görülmemiştir.

Serum TNF alfa ve IL-1 ortalama seviyeleri bütün gruplarda düşük olarak bulunmuştur. Grupların aralarında istatistiksel bir fark görülmemiştir ( $p>0,05$ ). Serum IL-6 ortalama değeri birinci günde B grubunda diğer gruplara göre daha yüksek olarak bulunmuş, bu fark; Bİ grubu, BA grubu ve sham grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). İlk gün oluşan bu fark diğer günlerde kaybolmuştur. Bİ grubuyla diğer gruplar arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Üçüncü gün tüm gruplarda düşük bulunan serum VEGF değerleri, 7. gün belirgin olarak artmıştır. Bİ grubunun diğer deney gruplarıyla aralarında istatistiksel bir fark bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ). Hematoksilen eozin boyama ve immünohistokimyasal çalışma sonuçları ELISA sonuçlarını desteklemiştir.

Sonuç olarak; ibuprofenin *S.aureus* nedenli YDE'lerde yara iyileşmesine olumsuz etkisinin bulunmadığı görülmüştür. Diğer NSAİİ'ler kullanılarak yapılacak olan çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır

**Anahtar Kelimeler:** NSAİİ. İbuprofen.. Ampisilin. Siklofosamid ELISA

## SUMMARY

### **The effect of ibuprofen upon soft tissue infections caused by *Staphylococcus aureus* in mice.**

Dr. M.Uğur ÇİTİL

Soft tissue infections (STI) is one of the most frequent infection diseases. Oftenly, the causes of bacterial STI are gram positive microorganisms such as *Staphylococcus aureus*. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) such as ibuprofen are often used in STI due to analgesic and antipyretic effects. In this study; in rats, the effects of ibuprofen on wound healing in STI caused by *S. aureus* were investigated.

In this study, the STI was created by using cyclophosphamide and the wound sizes were viewed daily, by taking the serum of treatment and control groups, the levels of serum TNF alpha, IL-1, IL-6 and VEGF were seen with ELISA method. With tissue samples, cytokine tissue reactions were studied by using immunohistochemical and hematoxylin- eosin methods.

The test groups were determined as ; group B, (bacterium group), group BI (bacterium + ibuprofen group), group BA, (bacterium + ampicillin group), group BIA., (bacterium + ampicillin + ibuprofen group) and the all test groups were immunosuppressed and infected with cyclophosphamide and *S. aureus*. And the control groups were determined as; cyclophosphamide without bacterium (S1B2), bacterium without cyclophosphamid(S2B1), and no action sham group (S2B2).

However there was no significant change until the end of study between wound sizes of the groups group B and group BI, but in group BA and in group BIA gradual reduction in wound sizes was observed within days. When group B and group BI compared in terms of wound size for seven days, there was no statistically significant difference between them ( $p>0,05$ ), but between these two groups, group BA and the group BIA, the statistical difference was observed ( $p <0.05$ ). Necrosis was realized early in group B than group BI. In the coming days , limb loss was observed depending on amputation in group B. In group BA and group BIA the necrosis and the amputation were not observed.

The average serum levels of TNF alpha and IL-1 was found low in all groups. There were no statistical differences between groups ( $p > 0.05$ ). The mean value of serum IL-6, in the first day in group B was found to be higher compared to other groups, and when this difference was compared to group B1, group BA and sham group, it was found statistically significant. ( $p < 0,05$ ). This difference occurred in the first day, was lost in other days. No statistical difference was found between group B1 and the other groups ( $p > 0.05$ ). Low serum VEGF levels in all groups on the third day, significantly increased on 7th day. There was no statistically significant difference between group B1 and the other treatment groups ( $p > 0.05$ ). The results of hematoxylin eosin staining and immunohistochemical studies have supported the results of the ELISA.

As a result; it was seen that there was no negative effect of ibuprofen on wound healing in soft tissue infections caused by *S. aureus*. There is a need for other studies to be performed using other NSAIDs.

**Keywords:** NSAIDs. Ibuprofen . Ampicillin. Cyclophosphamide. ELISA.

## GİRİŞ

Yumuşak doku enfeksiyonları (YDE) yaygın görülen enfeksiyonlardandır. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) YDE ile her yıl 14 milyon kişi hastanelere ve acil servislere başvurmaktadır (1, 2). Normal deri yüzeyi stafilocoklar, korinebakteriler, propionibakteriler ve mayalardan oluşan mikrobiyal bir flora ile kaplıdır. Bu flora patojen bakterilerin kolonize olmasını önler. Ancak travma, cerrahi yaralar, bacak ülserleri gibi deri bütünlüğünü bozan durumlarda bakteri kolonizasyonu gerçekleşerek deri enfeksiyonları ve YDE oluşabilir (3).

Bakteriyel kaynaklı YDE'lerin çoğunlukla nedeni gram pozitif mikroorganizmalardır. *Staphylococcus aureus*, A ve B grubu streptokoklar, *Streptococcus viridans* ve *Enterococcus faecalis* başta gelen nedenlerdir. Daha az sıklıkla *Haemophilus influenzae*, *Pasteurella multocida*, *Vibrio spp*, *Pseudomonas spp*, *Aeromonas spp*, *Proteus spp* gibi gram negatif mikroorganizmalar, *Mycobacterium spp* ve anaeroblar etken olabilir. Toplum kaynaklı Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)'lar ABD'de YDE'lerin en sık nedenidir (4).

Non steroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) analjezik ve antipiretik etkisi nedeniyle YDE'lerde sıklıkla kullanılmaktadır (5). İbuprofen, fenilpropionik asit türevidir ve en fazla kullanılan NSAİİ'dir. Analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar etkinliği diğer fenilpropionik asit türevlerine oranla daha zayıftır (6). Ampisilin ve ibuprofenin klinikte beraber kullanımının tedaviye etkisi ile ilgili veriler çelişkilidir. NSAİİ kullanımının, A grubu streptokok (GAS) ile oluşan enfeksiyonların prognozunu olumsuz yönde etkilediğini gösteren çalışmalar mevcuttur (5, 7). Daha önceki deneysel rat modeli ile yapılan çalışmalarda, peptostreptokoklar ile oluşturulan nekrotizan fasiit (NF) enfeksiyonunda, diklofenak'ın bakteri miktarı üzerine etkisi incelenmiş, bu ilacın bakteri yükünü artırdığı ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı saptanmıştır (8). Stafilocok ve streptokoksik toksik şok sendromu'nda yüksek mortalite patogenezinde NSAİİ'lerin rolü olduğu bildirilmiştir (5).



Bu çalışmada; immünsüprese farelerde *S.aureus* ile oluşturulan YDE tedavisinde ibuprofenin etkinliği incelenerek, ibuprofenin yara iyileşmesindeki rolünün araştırılması amaçlanmıştır. Bu maksatla ELISA yöntemiyle sitokin seviyeleri takip edilmiş, yara boyutları günlük görüntülenerek değerlendirilmiş ve alınan doku örneklere histopatolojik olarak incelenmiştir.

## GENEL BİLGİLER

### *STAPHYLOCOCCUS*

#### Tarihçe

Stafilokoklar; ilk olarak 1878’de Robert Koch tarafından tanımlanmış, 1880’de Pasteur tarafından sıvı besiyerinde üretilmiştir. 1881’de İskoçya’lı cerrah Alexander Ogston stafilokokların fare ve kobaylar için patojen olduğunu vurgulamıştır. Stafilokok tanımı ilk defa 1883 yılında yine Ogston tarafından inflamasyon ve süpürasyona neden olan mikrokok grupları olarak tanımlanmıştır. Ogston piyojenik kokları kümeler halinde olan stafilokoklar ve zincirler oluşturan streptokoklar olarak iki gruba ayırmıştır. Rosenbach 1884 yılında stafilokokları *S.albus* ve *S.aureus* olarak ayırmış, Zopf 1885’de küme oluşturan stafilokokları ve tetrad yapan mikrokokları *Micrococcus* genusu içine koymuştur. 1886 yılında Flüge *Staphylococcus* cinsi ile *Micrococcus* cinsini ayırmıştır (9).

#### Genel Özellikleri

Stafilokok cinsinin üyeleri; düzensiz üzüm benzeri kümeler oluşturan, daha az sıklıkla tek ve çift tetratlar ve kısa zincirler oluşturan, gram pozitif, 0.5-1.5 mikrometre çapında koklardır. Stafilokoklar hareketsiz, sporsuz ve genellikle katalaz pozitifdir. Tipik kapsül oluşturmazlar veya laboratuvar şartlarında sınırlı kapsül oluştururlar. Karbonhidratlardan gaz oluşturmazlar. *S. saccharolyticus* ve başlangıçta anaerobik üreyen fakat pasajla aerotoleran olan *S. aureus subsp. anaeribus* dışında fakültatif anaerobtur (10, 11). Stafilokok genusunda bu güne kadar 37 civarında tür saptanmış olup bunlardan 17 kadarı insana ait klinik materyallerden soyutlanmıştır. Stafilokok türleri DNA/DNA ilişkileri ve fenotipik özelliklerine göre en az dört grup altında toplanabilirler. İnsanlardaki stafilokok enfeksiyonlarında öncelikle patojen olarak *S. aureus* yer almaktadır. Bundan başka fırsatçı patojenler olarak *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus* sıklıkla enfeksiyon

oluştururlar. Daha nadir patojenler olarak *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. warneri*, *S. saccharolyticus*, *S. cohnii* ve *S. simulans* görülmektedir (12).

## **S.AUREUS**

### **Morfoloji ve Biyokimyasal Özellikleri**

*S. aureus*, yaklaşık 1 mikrometre çapında tam yuvarlağa yakın koklardır. Üremeleri sırasında birbirlerinden ayrılmadıklarından üzüm salkımı görünümü oluştururlar. Pigmentli, fakültatif anaerop olup çoğunlukla aerop üreyen, üreaz ve koagülaz olumlu bakterilerdir. Beta hemoliz yapmaları, mannitol, sükröz, maltoz ve trehaloz'dan asit oluşturmaları, %10 NaCl'de üremeleri, alfa toksin yapmaları, novobiocin duyarlılıkları, sporsuz ve hareketsiz oluşları diğer özellikleridir (12).

### **Kültür Özellikleri**

*S. aureus*'lar basit besiyerlerinde üreseler de kanlı besiyerinde daha iyi çoğalır ve koloniler etrafında tam hemoliz meydana getirirler. 37°C'de ve pH 7.4'de iyi ürerler. Jeloz besiyerinde üreyerek, yuvarlak kenarlı, mat, kabarık, parlak yüzeyli, S tipinde ve 1-2 mm çapında altın sarısı renkte koloniler yaparlar (12).

### **Virulans Faktörleri**

#### **Hücre Duvarı**

*S. aureus*'un hücre duvarı yapısı tipik gram pozitif kok özelliği göstermektedir. Hücre duvarı; peptidoglikan, teikoik asit ve protein A (SpA) şeklinde olmak üzere üç temel antijenik yapı taşımaktadır (11). Hücre duvarının en önemli bileşeni peptidoglikandır. Peptidoglikan tabakasının yapısında bulunan N-asetil muramik asit (NAMA) ve N-asetil glukozamin (NAGA) gibi polisakkaritler birbirlerine 1,4-beta bağlarıyla bağlıdır (13). *S. aureus*'un hücre duvarı yapısında 2 farklı teikoik asit bulunmaktadır. Bunlar ribitol teikoik asit ve gliserol teikoik asittir (14).

### ***Protein A (SpA)***

*S. aureus*'un önemli bir virulans faktörü olan SpA 42 kDa mol ağırlığında olup E, D, A, B ve C olmak üzere beş tane ekstraselüler immünoglobulin (Ig) bağlanma alanına sahiptir. Bu sayede Ig'lerin Fc ve Fab kısımlarına tutunmaktadır. Özellikle IgG'nin Fc kısmı ile IgM'nin Fab kısmına bağlanmaktadır. Bunların dışında da von willebrand faktör, tümör nekroz faktör reseptör-1 (TNFR-1) ve epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) gibi plazma proteinlerine de tutunmaktadır. SpA bu tutunmayı N-terminal bölgesi ile sağlamaktadır. C-terminal bölgesiyle de hücre duvarının peptidoglikan tabakasına bağlanmaktadır. SpA'nın ayrıca kompleman fiksasyonunu önleyici etkisinin yanında antifagositik, mitojenik ve kemotaktik etkileri de bulunmaktadır. SpA kanser tedavisinde kullanılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır. Çeşitli çalışmalarda SpA'nın endotoksinle kombinasyonunun IL-1 yapımını arttırdığı gösterilmiştir (15, 16, 17).

### ***Kapsül***

*S. aureus*'un kapsül üretimi ilk defa Gilbert tarafından 1931'de tanımlanmıştır. S ve M tipi koloniler üreten *S.aureus*'lar daha çok kapsül üretmektedir. Kapsül bakteriyi fagositozdan korur ve adherenste rol oynar. Bu bakterilerle oluşan enfeksiyonlar daha invazif seyrederler. Onbir kapsül serotipi tanımlanmıştır. İnsan enfeksiyonlarından genellikle serotip-5 ve serotip-8 sorumludur (18).

### ***Enzimleri***

#### ***Koagulaz***

Koagulaz enziminin serbest ve bağlı olmak üzere iki tipi bulunmaktadır. Isıya duyarlı ve ekstraselüler bir enzim olan serbest koagulazın sekiz serotipi bulunmaktadır. Tüp testi ile rutin laboratuvar uygulamalarında saptanabilen bu enzimin aktivasyonu için coagulase reacting factor (CRF) gereklidir. Bağlı

koagülazın aksine serbest koagülaz bir virulans faktörüdür. *S. aureus* serbest koagülaz ile etrafında kalın bir fibrin tabakası oluşturarak fagositozdan korunur. Isıya dirençli olan ve bakterinin hücre yüzeyinde bulunan bağlı koagülazın tek serotipi bulunmaktadır. Lam aglütinasyon deneyi ile varlığı saptanan bu enzimin aktivasyonu için CRF'ye ihtiyaç bulunmamaktadır. *S.aureus* koagülaz pozitifliği ile diğer stafilokoklardan ayrılır (12, 16, 19).

### ***Katalaz***

Bakterinin fagositozu sırasında ya da bakteri metabolizması sonucunda açığa çıkan katalaz enzimi fagositoz sırasında makrofajlar tarafından salınan hidrojen peroksiti ( $H_2O_2$ ) oksijen ve suya indirger. Ayrıca oluşan serbest oksijen doku hasarına neden olmaktadır. Bu enzim bütün stafilokoklarda mevcut iken streptokok türlerinde bulunmamaktadır (10, 12).

### ***Stafilokinaz***

Lizojenik stafilokok suşları tarafından salgılanan safilokinaz enzimi 15.5 kDa mol ağırlığında olup plazminojeni plazmine aktive eder. Açığa çıkan plazmin; fibrin, kollajen ve elastinin yıkımına neden olur. Antiviral ve bakterisidal etkinliğe sahip human neutrophil peptides' lere (HNP) bağlanarak onların bu etkilerini nötralize eder. Böylece fagositoza karşı direnç geliştirir (20).

### ***Hyaluronidaz***

*S. aureus* suşlarının birçoğu tarafından üretilen bu enzim 92 kDa mol ağırlığında olup yayılma faktörü olarak ta bilinmektedir. Bağ dokusu tarafından salgılanan ve bakteriyel ajanlara karşı bariyer oluşturan hyaluronik asiti hidrolize ederek virulansta görev alır (21).

### ***Lipaz***

Lipaz enzimi *S. aureus* suşlarının kolonizasyonu ve invazyonunda önemli rol oynar. Özellikle septisemi, abse ve derin doku enfeksiyonlarında enzim aktivitesinde artış meydana gelir. Önceki çalışmalarda anti lipaz serumunun *S. aureus*'un oluşturduğu biyofilm formasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (22).

### ***Nükleaz***

*S. aureus* suşlarının önemli bir kısmında bulunan ısıya dirençli bir enzimdir. Bu enzimin üretiminin özellikle intranasal kaynaklı akciğer enfeksiyonlarında mortaliteyi arttırdığı gösterilmiştir. Enzim bu etkisini neutrophil extracellular traps (NET) aracılı antimikrobiyal aktiviteyi inhibe ederek oluşturmaktadır (23).

### ***Slime Faktör***

Ekzopolisakkarit, teikoik asit ve proteinden oluşan slime factor; *S. aureus* suşlarının adheransını kolaylaştırarak bu mikroorganizmaların protez, endotrakeal tüp, kateter gibi biyomateryalleri kaplayan biyofilmler oluşturmalarını sağlar. Slime faktör bakteriyi fagositozdan korur, nötrofillerin etkisini önler ve lenfosit aktivitesini azaltır. Slime faktör üreten suşlar, antibakteriyel tedaviye, oluşturmayanlara göre daha dirençlidirler (24).

### ***Deoksiribonükleaz ( DNase)***

Koagülaz olumlu olan stafilokokların birçoğu DNase oluştururlar. Enzim niteliğindeki bu madde DNA yı hidrolize eder (12).

### ***Üreaz***

Üreaz enzimi aminoasit metabolizmasında ve üre siklusunda görev alan bir enzimdir. Bu enzime sahip olan bakteriler reaksiyonlar sonucu açığa çıkan üreyi

CO<sub>2</sub> ve NH<sub>3</sub>'e dönüştürürler. Biyofilm oluşturan bakteriler metabolizma sonucu oluşan laktik asit ve formik asit nedeni ile düşen asidik pH'dan üreaz enzimi ile korunurlar. Üreaz aktivitesinin biyofilm varlığının sürdürülmesinde önemli olduğu bildirilmektedir (25).

### ***Proteaz***

*S. aureus*'lar metallo, serin ve sistein proteazlar gibi ekstrasellüler proteazlar üretirler. Bu proteazlar konağa ait defans mekanizmalarını bozarak dokulara yayılmada rol oynarlar. Proteazlar konak proteinlerini yıkarak, yaygın doku harabiyetine neden olurlar. Ayrıca *S.aureus*'lar bu enzimle mikrobiyal üreme için gerekli besinlerin oluşumunu sağlarlar. Atopik dermatitli hastalardan izole edilen *S. aureus* suşlarında yüksek proteaz ekspresyonu olduğu gösterilmiştir (26, 27).

### ***Beta laktamaz***

Penisilini inaktive eden bir enzimdir. 1941 yılında penisilin G'nin klinikte kullanımıyla beraber *S. aureus*'a bağlı gelişen ölümcül infeksiyonlarda dramatik olarak azalma görülmüştür. Ancak *S .aureus*'ların salgıladıkları beta laktamaz enzimi 20 yıl içinde penisilin direnci oluşturmuştur. Bu nedenle 1959 yılında beta laktamaz enzimine dayanıklı semisentetik bir penisilin olan metisilin klinikte kullanılmaya başlanmıştır. Ancak, *S. aureus* infeksiyonlarının tedavisinde metisilin kullanımının başlamasından sadece iki yıl sonra, 1961 yılında ilk *MRSA* izolatı tanımlanmıştır (28, 29).

### **Toksinler;**

#### ***Hemolizinler***

Alfa Hemolizin (Alfa Toksin); *S. aureus*'un en önemli ekzotoksinidir. Hücre yüzeyinde porlar oluşturmak suretiyle konak hücre membran bütünlüğünü ve iyon gradiyentini bozarak hücrenin ölümüne neden olur. Alfa toksin'in stafilokokal

hastalık patogenezinde önemli rolü bulunmaktadır. Alfa toksin üretimi bozulan mutant suşların virulansında azalma görülmektedir (30, 31). Beta Toksin; *S.aureus*'un beta toksini magnezyum varlığında aktifleşen bir sphingomyelinazdır. Bakteri bu enzimle sphingomyelini seramid ve fosfokoline yıkar. Beta toksin en iyi koyun daha az olarak da tavşan eritrositlerini hemolize eder (32, 33). Gama Toksin; İlk olarak Smith ve Price tarafından 1938'de tanımlanmıştır. *S.aureus*'lar tarafından salgılanan bu toksine insan, tavşan ve koyun eritrositleri duyarlı iken at ve kuş eritrositleri dirençlidir (33). Delta Toksin; *S.aureus* suşlarının %97'sinde bulunmaktadır. Antijenik değildir. Litik spektrumu oldukça geniştir. Alfa ve beta toksinin aksine sekresyon mekanizması tam olarak anlaşılammıştır. Eritrosit, trombosit, lökosit ve makrofajları hasara uğrattır (34).

### ***Panton-Valentine Lökosidin (PVL)***

İlk defa 1932 yılında Panton ve Valentine tarafından tanımlanan bu toksin lökosit harabiyeti oluşturduğu için lökosidin olarak adlandırılmıştır. PVL-pozitif *S. aureus* enfeksiyonlarının PVL-negatif olanlara göre daha invazif seyrettiği bilinmektedir. F ve S olmak üzere iki komponentten oluşur. Her iki komponent te antijeniktir. Hücre zarında potasyum ve diğer katyonlara karşı geçirgenliği artıran gözeneklerin açılmasını sağlayarak hücre harabiyetine neden olmaktadır (11, 12, 35, 36).

### ***Pirojenik toksin***

*S. aureus*' lardan salınan pirojenik toksin tıpkı toksik şok sendromu toksini (TSST-1) ve enterotoksinler gibi süperantijen özelliği gösteren bir toksindir. Major histocompatibilitycomplex (MHC) sınıf II proteinlerine bağlanarak, aşırı T hücre yapımı ve sitokin salınımına neden olur (11, 12, 37).



### ***Enterotoksin***

Başta *S. aureus* olmak üzere, *S. epidermidis* gibi diğer bazı stafilokoklar tarafından yapılan enterotoksin tek zincirli, polipeptid yapıda, ısıya dirençli bir toksindir. Bu toksinin bilinen 14 serotipi bulunmaktadır (38, 11).

### ***Epidermolitik Toksin (Eksfoliatif toksin )***

Eksfoliatif toksin 24000 kDa ağırlığında olan ekzotoksin niteliğinde bir toksindir. 1971'de bulunan bu toksin soyulmuş deri sendromuna neden olmaktadır. Antijenik ve biyokimyasal yapıları bakımından A ve B tipleri vardır. A tipinin kromozomal ve B tipinin plazmide bağlı genler tarafından oluşturulduğu saptanmıştır (11, 39).

### ***Toksik şok sendromu toksini (TSST-1)***

Süper antijen niteliğinde bir ekzotoksindir. Bol miktarda IL-1, IL6, TNF alfa salınımına neden olarak ateş, hipotansiyon, böbrek yetmezliği ve baş ağrısı, bilinç bulanıklığına neden olur. Menstrüasyonla ilişkili olan ve non menstrüel olmak üzere iki alt tipinden bahsedilmektedir. Menstrüasyonla ilişkili olan tipinde altta yatan vajinal tampon kullanımı öyküsü bulunmaktadır (40, 41).

## YUMUŞAK DOKU ENFEKSİYONLARI

YDE deri ve deri altı yumuşak dokunun çeşitli mikrobiyal ajanlarla invazyonudur. Farklı etyolojik nedenlerle oluşabilen YDE'ler yaygın görülen enfeksiyonlardan olup hafiften orta şiddete kadar değişen klinik tablolara neden olmaktadır (42, 43). Travma, yanık, intravenöz ilaç kullanımı, diyabet ve diğer kronik rahatsızlıklar, malignite ve geçirilmiş olan ameliyatlar YDE için çeşitli risk faktörleridir (44).

Toplum kökenli YDE'lerin büyük bir kısmını selülit, impetigo, follikülit, erizipel, fronkül ve karbonkül oluşturur. Bu enfeksiyonların büyük çoğunluğu ciltte bulunan stafilokok ve streptokok cinsi gram pozitif bakteriler ile gelişir. Daha az sıklıkla karşılaştığımız nekrotizan YDE'ler ise aerop ve anaerop bakterilerin sinerjistik etkisiyle meydana gelen fulminan enfeksiyonlar sonucu gelişir (45).

### İmpetigo

İmpetigo, klasik olarak 2-5 yaş arası çocuklarda ve genç erişkinlerde görülen primer piyodermidir. Genellikle ekstremitelerde ve yüzde görülür. Basit yüzeysel impetigo ve büllöz impetigo olmak üzere iki farklı formda seyrederek (45, 46). Basit yüzeysel impetigo; daha sık görülür. Eritemli zeminde papüloveziküler olarak başlayıp daha sonra püstüle olur ve tipik bal rengi kabuklanma ile yavaş seyirle iyileşir. En sık baş, yüz ve uzuvlar gibi vücudun açık alanlarında görülür. Etkenler sıklıkla *Streptococcus pyogenes* ve *S. aureus*'tur. (45, 47). Büllöz İmpetigo; daha çok yenidoğan ve süt çocukluğu döneminde görülür. Eritemli zeminde açık sarı renkli büllöz lezyonlar püstüle olarak ince, kahverengi bir kurutla iyileşir. Kaşıntısızdır. En sık *S. aureus*'un faj II grubu toksini ile gelişir (45, 48).

### Fronkül ve Karbonkül

Fronkül; kıl folikülünün *S. aureus* ile akut nekrotik infeksiyonudur. Sıklıkla vellus tipi kıllar etkilenir. Kıl folikülünde abse gelişimini nekroz ve kıl folikülünün

destrüksiyonu takip eder (49). Karbonkül; birbiri ile bitişik abse formasyonlarından oluşur. *S. aureus*'un neden olduğu kıl foliküllerini ve subkutan yağ dokusunu etkileyen derin yerleşimli bir enfeksiyondur. (50).

### **Paronişya ve Felon**

Paronişya; parmakların en sık görülen enfeksiyonudur. Tırnak kökü yumuşak dokusunun genellikle *S. aureus* ile enfekte olması sonucu ortaya çıkar (51). Felon; parmak distal falanks pulpasının kapalı boşluklu enfeksiyonudur. Etken çoğunlukla *S. aureus*'dur (51).

### **Hidradenitis süpürativa ve Mastit**

Hidradenitis süpürativa; koltuk altı, kasık ve perianal bölgedeki apokrin bezlerin kronik tekrarlayıcı enfeksiyonudur. (51). Mastit; laktasyon dönemindeki kadınlarda özellikle postpartum ilk 6 haftada görülür. Emziren annelerin %3 ile %20 'sinde laktasyonel mastit görülebilir. İki hastalıkta da en sık etken *S. aureus*'dur (52).

### **Sikozis ve Folikülit**

Tüm folikül ünitesini etkileyen subakut ya da kronik seyirli piyojenik enfeksiyondur. Bu olgularda *S. aureus*'un burun taşıyıcılığı yüksek oranda söz konusudur. (49). Folikülit; aşırı hidrasyon veya keratin tıkaçı nedeniyle oluşan kıl folikülünün bakteri ve mantar gibi ajanlarla oluşan piyodermisidir. En sık etken *S. aureus*'dur (53).

### **Erizipel ve Selülit**

Erizipel; dermisin ve subkutan dokunun üst tabakalarının bakteriyel enfeksiyonudur. Keskin sınırlı eritemli bir sınırı vardır. Keskin sınırlı eritem subkutan dokunun üst kısımlarının tutulumu sonucu oluşur. Vakaların birçoğunda

genellikle GAS etkindir (49). Selülit; cilt ve cilt altı dokusunun akut karakterli bir enfeksiyonudur. Sıklıkla GAS ve *S. aureus* başta gelen etkenlerdir (54). Lokal hassasiyet, ağrı, kızarıklık, ısı artışı, ödem, ateş ve bölgesel lenfadenopati klinik bulgular arasında yer almaktadır (55).

### **Diyabetik Ayak**

Diabetes Mellitus (DM) hastalarının yaklaşık %15'i hayatlarının herhangi bir döneminde ayak ülseri problemi yaşarlar. Bu ülserlerin ise %40–80 oranında enfekte oldukları gösterilmiştir. Ayak enfeksiyonları diyabetin en sık ve ciddi komplikasyonlarından biridir. Yapılan çalışmalar, travmatik olmayan ayak ampütasyonlarının en önemli nedeninin diyabetik ayak enfeksiyonları olduğunu göstermektedir (56, 57). Bu tip enfeksiyonlarda *S. aureus* ve  $\beta$ -hemolitik streptokoklar (özellikle B grubu olmak üzere A, C ve G grubu) en sık izole edilen patojenlerdir (58, 59).

### **Dekübit ülseri**

Fiziksel durumu iyi olmayan yatağa bağımlı yaşlı kimselerde çok yaygın görülen ancak önlenabilir bir durumdur (60). Aerob ve anaerob bakteriler etken olabilirler. Aerob bakteriler anaeroblardan daha sık etkindir *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, enterokoklar, stafilokoklar ve pseudomonas türleri aerob etkenler olarak sayılabilir. Anaerob etkenlerden ise *Peptostreptococcus spp*, *Bacteroides fragilis* ve *Clostridium perfringens* başı çekmektedirler. Tüm bakteriler içerisinde dekübit ülserine ise en sık neden olan etkenler; *Bacteroides fragilis*, *Peptostreptococcus spp*, *Proteus mirabilis* ve *S. aureus*'lardır (61).

## NON STEROİDAL ANTIİNFLAMATUAR İLAÇLAR (NSAİİ)

Opioid analjezikler dışında kalan analjeziklere NSAİİ denir. Değişik seviyelerde antiinflamatuvar, analjezik ve antipiretik etkileri olan heterojen bir grup ilaçtır. Non selektif COX inhibitörleri ve selektif COX inhibitörleri olarak iki grupta sınıflandırılmaktadır (62,63).

### *Non selektif COX inhibitörleri (62,63)*

**Salisilik asid deriveleri:** Aspirin, sodyum salisilat, kolin magnezyum trisalisilat, salsalat, diflunisal, sulfosalazin, olsalazin

**Para-aminofenol deriveleri:** Asetaminofen

**İndol ve inden asetik asidler:** İndometazin, sulindak

**Heteroaril asetik asidler:** Tolmetin, diklofenak, ketorolak

**Fenilpropiyonik asidler:** İbuprofen, naproksen, flurbiprofen, ketoprofen, fenoprofen, okzaprozin

**Antranilik asid ( fenamatlar) :** Mefenamik asid, meklofenamik asid

**Enolik asidler:** Oksikamlar (piroksikam, meloksikam)

**Alkononlar:** Nabumeton

### *Selektif COX-2 inhibitörleri (62,63)*

**Diaril-substituted furanonlar:** Rofekoksib

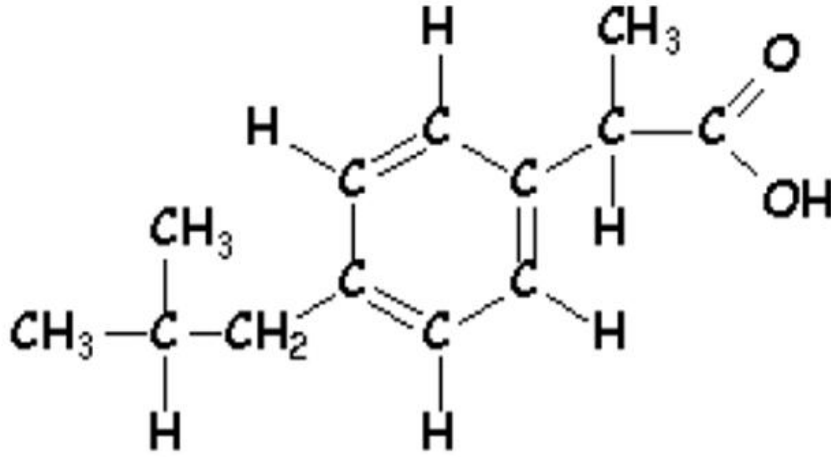
**Diaril-substituted pirazollar:** Selekoksib

**İndol asetik asitler:** Etodolak

**Sulfonanilidler:** Nimesulid (62, 63).

## İbuprofen

İbuprofen fenilpropionik asit türevleri içinde ilk bulunan ve en fazla kullanılan moleküldür. Asetilsalisilik asit ve parasetamolden sonra en fazla kullanılan analjezik ilaçlardır. Bazı batı ülkelerinde reçetesiz ilaç statüsündedir. Kullanım paterni ülkeden ülkeye farklılık gösteren bu ilaç özellikle akut ağrı, ateş ve inflamasyonda kullanılmaktadır. Plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanır. Karaciğerde metabolize edilmek suretiyle inaktive edilir. Eliminasyon yarılanma süresi 1.6-2.5 saattir. İbuprofenin en sık görülen yan etkileri gastrointestinal kanal ile ilgili olanlardır. Bu yan etkileri aspirin ve indometazine göre daha seyrek görülür. Nadiren su ve tuz retansiyonu, ödem ve kemik iliğinde (Kİ) granulositik aplazi yapabilir. Deney hayvanlarında teratojenik etki yapmadığı görülmüştür. Ancak diğer antiinflamatuvar ilaçlar gibi gebe kadınlarda ve emzirenlerde kullanılması tavsiye edilmez (62). İbuprofen'in kimyasal yapısı şekil-1 'de gösterilmiştir.



Şekil-1: İbuprofen'in kimyasal yapısı

## SİTOKİNLER

Sitokinler; organizmada immün sistemin regülasyonunda ve inflamatuvar olaylarda önemli rol oynayan moleküllerdir. Lenfositlerin meydana getirdiği sitokinlere lenfokin, monositlerin meydana getirdiği sitokinlere ise monokin denir. Sitokinler yabancı antijenlere ve ajanlara karşı organizmanın reaksiyonlarının kontrol ve düzenlenmesinde önemli rol oynarlarken aynı zamanda hücreler arası ilişkileri de düzenleyerek lokal ve sistemik inflamatuvar cevapta yer alırlar. Sitokinlerin önemli bir bölümü interlökinler (IL) olup başlıca görevleri immün sistem hücrelerini uyarmaktır (65). IL'lerin biyolojik etkileri tablo-1'de gösterilmiştir (66).

### İnterlökin-1 (IL-1)

IL-1 alfa ve IL-1 beta olmak üzere iki farklı proteinden meydana gelmektedir. IL-1'in esas kaynağı monositler ve tüm yerleşik makrofajlardır. Monositler daha çok IL-1 beta yapmakla beraber IL-1 alfa'yı da yapmaktadırlar. Bazı hücrelerde IL-1 devamlı olarak yapılabilirse de; mikroorganizmalarla, lipopolisakkarid (LPS) ve muramil dipeptid gibi maddelerle uyarımdan sonra daha fazla IL-1 yapılmaktadır. Uyarılan makrofajdan IL-1'in salınması ile ilgili mekanizma kesin olarak bilinmemektedir. Ancak hücre içinde yer alan kalsiyum iyonunun rol aldığı tahmin edilmektedir (65, 68).

### İnterlökin-6 (IL-6)

Yirmialtı kDa ağırlığında olan ve 184 amino asitten oluşan IL-6, ilk olarak preaktivasyon halindeki normal insan lenfositleri ve *Ebstein Barr Virüs*'ü tarafından transformasyona uğratılmış B lenfositler tarafından immunglobulin salgılatan bir faktör olarak tanımlanmıştır. IL-6 reseptörü başlıca hepatosit, monosit, B hücreleri ve nötrofiller tarafından eksprese edilmektedir. Pleiotropik bir sitokin olan IL-6 çeşitli görevlerinden dolayı B hücre stimulatör faktör II, interferon beta 2, myeloma/plazmasitoma büyüme faktörü, hibridoma büyüme faktörü, hepatosit

stimule edici faktör, B hücre farklılaştırıcı faktör ve sitotoksik T hücre farklılaştırıcı faktör olarak da adlandırılır (65, 67, 69).

**Tablo 1.** IL lerin biyolojik etkileri (66)

<b>İnterlökin</b>	<b>Temel hücre kaynakları</b>	<b>Biyolojik etkileri</b>
IL-1	Makrofajlar, keratinositler, fibroblastlar, T ve B lenfositler	T ve B lenfosit farklılaşması, yangı ve kan hücrelerinin yapımı, ateş, akut faz proteinlerinin sentezi, sitokin sentezini uyarma
IL-2	T lenfositler	T ve Natural Killer hücrelerinin (NK) aktivasyonu, T ve B lenfosit gelişim faktörü
IL-3	T lenfositler, makrofajlar, mast hücreleri	Hematopoetik büyüme faktörü, ilk myeloid hücrelerin gelişimini arttırma, mast hücrelerinin aktivasyonu ve histamin sentezi
IL-4	Yardımcı T lenfositler	T ve B hücre büyüme faktörü, IgE reaksiyonlarının arttırılması
IL-5	Yardımcı T lenfositler, mast hücreleri, B lenfositler	B hücre ve eozinofillerin uyarılması, IgA, IgE üretiminin arttırılması
IL-6	Fibroblastlar, monositler	B hücre büyüme faktörü, poliklonal Ig üretimi, yangının arttırılması
IL-7	Stroma hücreleri, dalak ve böbrek hücreleri	T ve B lenfosit gelişim faktörü, timosit çoğalması ve sitotoksik T lenfosit aktivitesini arttırma
IL-8	Makrofajlar, T lenfositler	Nötrofillerin aktive edilmesi, nötrofiller ve lenfositlerin yangı bölgesine çekilmesi, IgE sentezinin inhibisyonu
IL-9	T lenfositler	Lenfoid ve megakaryositik hücrelerinin gelişimi, Ig sentezi, alerji
IL-10	T lenfositler, mast hücreleri	Sitokinlerin baskılanması, NK hücre aktivasyonu, Ig sentezi
IL-11	Kİ stroma hücreleri	Hematopoetik hücre gelişimi, akut faz protein sentezi, nöron hücrelerinde farklılaşma



IL-12	Monositler, makrofajlar, dendritik hücreler, B lenfositler	T lenfositlerin çoğalması, NK hücre sitotoksitesi ve IFN-gama üretimini artırma
IL-13	T lenfositler	IgA ve IgE sentezi
IL-15	Aktive monosit, Kİ stroma hücreleri	IF-gama üretimi, B lenfosit çoğalması ve farklılaşması
IL-16	T lenfositler	CD4+ lenfositler, eozinofiller monositler için kemoatraktant ve CD4+'ler için büyüme faktörü
IL-17	T lenfositler	Sitokin üretimini artırma
IL-18	Monosit, makrofajlar	IFN-gama üretimini artırma

### **Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF alfa)**

İlk olarak bazı tümörlerin üzerinde nekrotik etki gösterdiği saptanarak kaşektin olarak adlandırılmıştır (68). TNF alfa sağlıklı bireylerde normal koşullarda serumda saptanamaz. Ancak inflamasyon ve enfeksiyon gibi durumlarda serum ve dokularda miktarı artmaktadır. Bu artış enfeksiyonun şiddeti ile koreledir. Monosit ve makrofajlar esas kaynağı olmakla beraber mast hücreleri, T ve B lenfositleri, NK'lar, nötrofiller, endotelial hücreler, düz kas ve kalp kas hücreleri, fibroblast ve osteoklast hücreleri tarafından da üretilenler (70).

Yapılan araştırmalarda dokularda oluşan enfeksiyon ve travmatik hasar sonucu vücutta hümmoral sistemin aktive olduğu ve çeşitli sitokinlerin salındığı gösterilmiştir. IL-1 ve TNF-a fosfolipaz A2 yi aktifleştirerek membran fosfolipidlerinden araşidonik asit (AA)'i serbestleştirir ve bu yolla inflamatuvar cevapta önemli olan prostoglandin ve lökotrien gibi eikozanoidlerin sentezlenmesine sebep olur.

Weng ve ark. (5) tarafından 2011 yılında Tayvan'da Nekrozitan Fasiit ve septik artritli hastalardan elde edilmiş 3 klinik bakteriyemik izolat (GAS-13, GAS-19, GAS-Jack) ile yapılan çalışmada ibuprofenin *S.pyogenes* kaynaklı YDE üzerine etkisi incelenmiştir. İbuprofenin Serum ve dokuda IL-6 veTNF alfa'yı arttırarak yara iyileşmesini geciktirdiği sonucuna varılmıştır.

## **Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)**

Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörleri süper ailesinin üyesi olan VEGF ailesi, endotel hücreleri için özgüdür. Vücutta hem fizyolojik olaylarda, hem de tümör büyümesi ve yayılmasını da içeren patolojik birçok hastalığın etiyolojisinde yer almaktadır. VEGF-(A-E) ve Plasenta büyüme faktörü olmak üzere altı üyesi bulunmaktadır. VEGFR-1 ve VEGFR-2 olarak iki trozin kinaz resptörü vardır. Sitokinlerin JAK/STAT yolağını aktive etmesiyle beraber nükleusta transkripsiyon başlar ve VEGF üretimi sağlanır (71, 72).

Bu çalışmada; fareler üzerinde oluşturulan *S. aureus* kaynaklı YDE modelinde yara iyileşmesi üzerine, ibuprofenin etkisi araştırılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### YUMUŞAK DOKU ENFEKSİYONU OLUŞTURULMASI

Bu çalışma; Ağustos 2013 – Ekim 2013 tarihleri arasında Pamukkale Üniversitesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarı ve Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı'nda yapılmıştır. Araştırmada denek olan 150 adet 18-22 gr dişi Balb/c fare, “Saki Yenilli Deneysel Hayvanları Üretim Laboratuvar'larından” alındı. Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Deneysel Araştırma Birimi tarafından 13/02/2013 tarih ve B.30.2.PAÜ.0.20.05.07/11 sayı ile etik kurulda onaylanmıştır. Fareler bir kafeste 6 tane olacak şekilde 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık ortam sağlanarak, ısıtma ve nemlendirme yapılabilen bir ortamda, standart fare yemi ve su kullanılarak barındırıldı. YDE oluşturmak amacıyla *S.aureus* ATCC 25923 (MSSA) suşu kullanılmıştır. Farelerde enfeksiyon oluşturabilmek için gerekli uygun doz ve sürenin saptanması için ön çalışma yapıldı. Ön denemelerde  $2 \times 10^6$  cfu/mL,  $2 \times 10^7$  cfu/mL,  $2 \times 10^8$  cfu/mL bakteri süspansiyonu kullanıldı. İmmünsüpresyon yapılmayan farelerde yara yerinde kızarıklık, ödem gibi hiçbir YDE belirtisi oluşmadığı, siklofosfamid kullanılarak immünsüpresyon yapılan farelerdeyse  $2 \times 10^8$  cfu/mL bakteri süspansiyonu varlığında enfeksiyon oluşumu gözlemlendi.

#### **Deney Gruplarının Oluşturulması**

Çalışma gruplarının tamamı siklofosfamidle immünsüprese edilmiş ve *S. aureus* ile enfekte edilmiştir.

#### **Çalışma grupları;**

B grubu: Bakteri grubu (*S.aureus* + serum fizyolojik)

Bİ grubu: Bakteri + ibuprofen grubu (*S.aureus* + ibuprofen)

BA grubu: Bakteri + ampisilin grubu (*S.aureus* + ampisilin)

BİA grubu: Bakteri + ibuprofen + ampisilin grubu (*S.aureus* + ibuprofen + ampisilin)

### **Kontrol grupları;**

S1B2: Sadece immünsüpresyon yapılan grup (*S.aureus* la enfekte değil)

S2B1: Nonimmünsüprese *S .aureus* ile enfekte grup

S2B2: Hiçbir işlem yapılmayan sham grubu

Tüm gruplar enfeksiyon oluşumundan sonra 1., 3. ve 7. günde değerlendirilecek şekilde düzenlendi (Tablo 2).

**Tablo 2.** *S .aureus* ile enfekte farelerin gruplandırılması

<b>Serumların alınma zamanlarına göre</b>			
Enfeksiyon grupları	1. gün	3. gün	7. gün
B grubu (n=23)	7	8	8
Bİ grubu (n=23)	7	8	8
BA grubu (n=23)	7	8	8
BİA grubu (n=21)	7	7	7

### **Balb/c Farelerinin İmmünsüprese Hale Getirilmesi**

Balb/c farelerinde immünsüpresyon Dai ve ark. (74) tanımladıkları şekilde yapıldı. İlk siklofosamid dozu farelerin enfekte edilmesinden 4 gün önce 150 mg/kg olacak şekilde, 2. doz farelerin enfekte edilmesinden 1 gün önce 100 mg/kg olacak şekilde intraperitoneal olarak verildi.

### **Yara Yerinin Oluşturulması**

Enfeksiyon oluşturulacak gruptaki farelerin sağ arka bacağı steril traş bıçağı ile traş edildi. Wim ark. (75) tarafından daha önce tanımlandığı şekilde;  $2 \times 10^8$  cfu/ml bakteri süspansiyonu 100 µl subkutan yolla verildi.

### **Yara Yüzey Alanının Ölçülmesi**

Çalışmaya dahil edilen tüm farelerin günlük fotoğrafları çekildi. Görüntü alımında NIKON COOLPIX L310 (Japonya) marka fotoğraf makinesi kullanıldı. Yara yeri “tahmini alan hesaplama yöntemiyle” ölçülerek milimetrekaire olarak not edildi.

### **Deney Hayvanlarına İbuprofen Verilmesi**

İbuprofen (Sigma Aldrich, 14883-1G İstanbul/Türkiye) Reagen ve ark. (5) tarafından daha önce tanımlandığı şekilde gastrik gavaj yoluyla 50 mg/kg/gün üç eşit doza bölünerek sekizer saat aralıklarla verildi.

### **Deney Hayvanlarına Ampisilin Verilmesi**

Ampisilin; (Sigma Aldrich, A9393-5G İstanbul/Türkiye) Mal ve ark.’nın (76) daha önce belirttikleri şekilde intramusculer (IM) yoldan 100 mg/kg olarak günde tek doz olacak şekilde verildi.

### **Farelerden Serum Alınması**

Belirlenmiş olan günlerde (1, 3, 7) uygun anestezi altında intrakardiyak yoldan kan alındı. Alınan kan 2000 x rpm 10 dakika santrifüj edilerek serumlar ayrıldı. Tüm serumlar ve çalışma anına kadar - 20°C’de saklandı.

## **SERUM SİTOKİN DÜZEYLERİNİN ELISA YÖNTEMİ İLE SAPTANMASI**

Serumdan TNF alfa, IL-6, IL-1 ve VEGF düzeylerini saptamak için ELISA yöntemi kullanıldı. Serum TNF alfa, IL-1, IL-6 düzeyleri Mouse ELISA kiti (AssayPro, ABD) (Katalog No: TNFalfa: EMT2010-1, IL-1: EMI2200-1, IL-6: EMI1006-1) kullanılarak sandwich ELISA yöntemiyle saptandı. Serum VEGF

düzeyleri Mouse ELISA kiti (Wuhan EIAab Science, Çin, Katalog No: E0143m) kullanılarak Sandwich ELISA yöntemiyle saptandı. Kitler analiz öncesi 2-8°C'de saklandığı için analiz öncesi tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Kit içeriği kitin prosedürüne göre hazırlanarak çalışıldı.

## **HİSTOLOJİK İNCELEME**

Alınan dokular tespit için %10'luk formaldehit solüsyonunda bekletildi. Tespit edilen dokular 72 saat sonunda rutin ışık mikroskopi altında takibe alındılar. Hazırlanan parafin bloklardan, Leica RM- 2125 rotary mikrotom kullanılarak 5 µ kalınlığında kesitler alındı. Kesitlere, hematoksilin eozin boyama ve TNF alfa, IL-1, IL-6 ve VEGF ifadelerini belirlemek amacıyla immunohistokimyasal boyama işlemi yapıldı. Kesitler daha sonra Olympus BX51 marka ışık mikroskobu (Olympus, Japonya) ve Olympus DP72 dijital kamera (Olympus, Japonya) ile resimlendi.

### **Reaktiflerin Hazırlanması**

**Fiksatif Solüsyonu Hazırlama:** % 37' lik formaldehitden 10 ml, distile sudan 90 ml alınarak % 10' luk fiksatif solüsyonu hazırlanmıştır.

### **Doku takip yöntemi**

- a.** Alınan dokular formaldehitde 72 saat bekletildi.
- b.** Musluk suyunda 30 dakika yıkandı.
- c.** %70' lik etil alkolde 1 saat bekletildi.
- d.** %80' lik etil alkolde 1 saat bekletildi.
- e.** %90' lık etil alkolde 1 saat bekletildi.
- f.** %100' lük etil alkolde 1 saat bekletildi.
- g.** Ksilende 2 saat bekletildi. Bir saat sonra ksilen yenilendi.

- h.** Parafinde 2 saat bekletildi. Bir saat sonra parafin yenilendi.
- i.** Dokulara parafine gömme ve etiketlenme işlemi yapıldı.

### **İmmunohistokimyasal boyama**

Doku takip yöntemi tamamlanan endometriyum bloklarından, mikrotom cihazıyla 5 µ' luk kesitler alınarak, benmaride bekletildi. Ardından uygulanan protokol sırası aşağıdaki gibidir (Reaktifler için İnvitrogen, MD 21704, USA, Lot: 948867A Histostain-Plus kit kullanılmıştır).

- a.** Kesitler, benmariden lamlara alınıp lam taşıma sepetine yerleştirildi.
- b.** Lam taşıma sepeti etüvde 60 °C'de 1 saat bekletildi.
- c.** Ksilende, deparafinizasyon işlemi için 1 saat bekletildi.
- d.** Kesitler sırasıyla %100, %96, %70, %50'lik etil alkol serilerinde ikişer dakika bekletildi.
- e.** Alkolden çıkan preparatlar musluk suyunda yıkanarak 10 dakika Phosphate-buffered saline (PBS)'de bırakıldı. Bu aşamada kesitler PAP pen kullanılarak işaretlendi.
- f.** Dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesi, % 30' luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Metanol (1: 9) karışımı ile 30 dakikalık uygulamayla ortadan kaldırıldı.
- g.** PBS ile yıkanan kesitler, üzerlerine ilave edilen serum bloklama solüsyonu ile 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
- h.** Kesitler üzerine uygun primer antikorlar ilave edilerek 1 gece over night yapıldı. Bu çalışmada kullanılan primer antikorlar ve kullanıldıkları dilüsyonlar şu şekildedir. TNF alfa (1: 100, Santa Cruz Biotechnology, Lot: #K2912, IL-1 (1:100, Santa Cruz Biotechnology, Lot: #E1713), IL-6 (1: 100, Santa Cruz Biotechnology, Lot: # H1313), VEGF (1: 100, Santa Cruz Biotechnology, Lot: #C3012). Bütün primer antikorlar PBS ile dilüe edildi

- i. Kesitler, PBS ile yıkandıktan sonra primer antikorlarla reaksiyon veren, biotinlenmiş afiniteye sahip sekonder antikorlarla 20 dakika muamele edildi.
- j. Tekrar PBS ile yıkanması yapılan kesitlere, biotinlenmiş sekonder antikorlara kolayca bağlanabilen horseradish peroksidaz konjugatı streptavidin (HRP-SA) 10 dakika kadar muamele edildi
- k. Kesitler son kez PBS ile yıkandıktan sonra kromojen boyası DAB ile 3-10 dakika kadar muamele edildi.
- l. Antijenin lokalizasyonunun daha iyi gözlenmesi için kesitlere hematoksilin (Merk Harris' hematoksilen) ile zıt boyama yapılmıştır.
- m. Kesitler musluk suyunda yıkanıp sırasıyla %50, %70, %96, %100' lük etil alkol serilerinde ikişer dakika bekletildi.
- n. Dokuların üzeri entellan ile kapatıldı.

### **Değerlendirme**

İmmunohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde; (+++): kuvvetli boyanma, (++): orta derecede boyanma, (+): zayıf boyanma, (/+/-) : çok zayıf boyanma, (-): boyanma yok şeklinde tanımlandı.

### **İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

Grupları kendi aralarında karşılaştırmak için istatistiksel değerlendirme One-Way ANOVA testi ile yapıldı.  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi



## BULGULAR

### YARA BOYUTLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Farelerde YDE *S.aureus* inokülasyonu yapıldıktan bir gün sonra deride kızarıklık ve deri altında eksuda olarak başladı. İlerleyen günlerde genellikle dışarıya drene olarak açık yara (ülser) oluştu. Çalışmanın başlangıcından son güne kadar geçen sürede B grubundan iki fare öldü. BA grubundan bir ve BİA grubundan ise 3 farede enfeksiyon oluşmadığı için değerlendirilmeye alınmadı. BA grubundan bir faredeyse yara oluşumu oldukça geç gerçekleşti. B grubunda iştah azalması tüy dökülmesi, kilo kaybı, canlılıkta azalma gözlenirken, diğer hiçbir grupta buna benzer tablolar gözlenmedi. Yedinci günün sonunda gruplardaki hiçbir farede yara kapanması tam olarak gerçekleşmedi.

Yara boyutları gruplara göre değerlendirildiğinde ilk gün için ortalama yara boyutları B grubunda ( $96 \text{ mm}^2$ ) en büyük olup, daha sonra büyükten küçüğe doğru sırasıyla Bİ grubu, BİA grubu, BA grubu olarak değerlendirildi ( $81 \text{ mm}^2$ ,  $45 \text{ mm}^2$ ,  $39 \text{ mm}^2$ ) (tablo 3).

B grubunda yara büyüklüğü çalışma sonuna kadar aynı kalırken yara derinliğinde artış meydana geldi. Üçüncü günde nekroz başladı. Dördüncü günden itibaren nekroz ilerledi ve amputasyona bağlı ekstremitte kaybı yaşandı (şekil-3, 4).

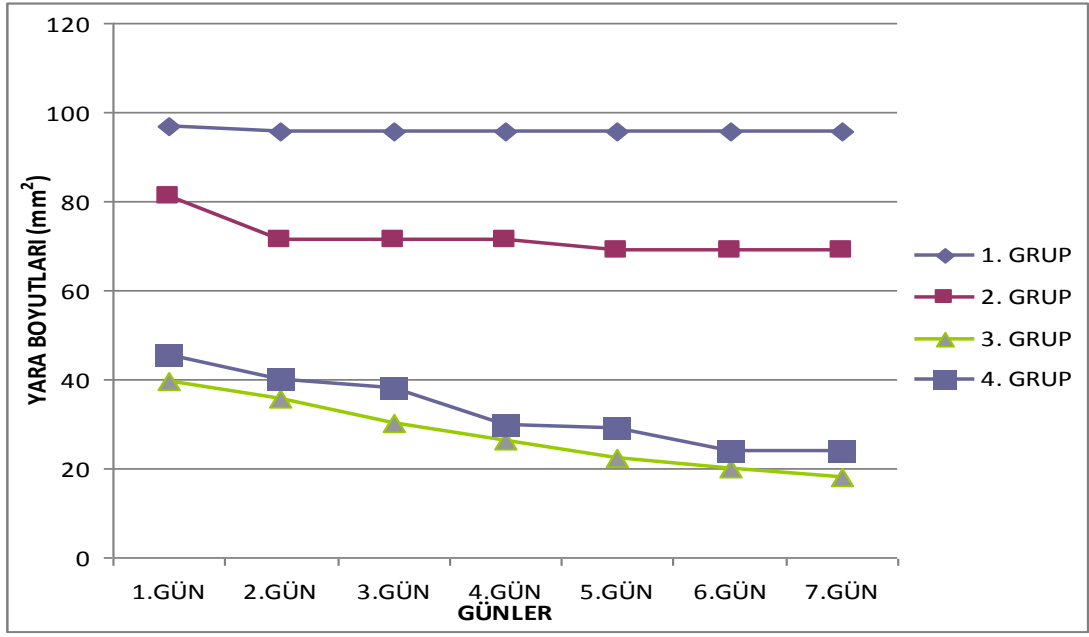
Bİ grubunda ikinci gün eksuda drenajı ile ülser oluştu. İkinci günde gerçekleşen bu küçülme B grubuyla ( $p=0.12$ ) ve BİA grubuyla ( $p=0.07$ ) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildi. BA grubuyla ( $p=0.01$ ) ise istatistiksel olarak belirgin bir fark oluştu. Daha sonraki günlerde yara boyutlarında değişim gözlenmedi. Bİ grubunda; B grubunda görülen yara derinlik artışı yaşanmadı. Nekroz Bİ grubunda B grubuna göre geç olarak 4. günde gerçekleşirken amputasyona bağlı ekstremitte kaybı ise hiçbir farede yaşanmadı.(şekil-2)

BİA grubu ve BA grubunda yara boyutlarında genellikle günler içinde küçülme görülürken BİA grubunda en belirgin küçülme 4. gün ile 5. günde yaşandı. Her iki grupta da yara derinliği oluşmayarak yüzeysel olarak kaldı. BİA grubu ile BA grubu karşılaştırıldığında aralarında yara boyutları açısından hiçbir günde istatistiksel bir fark bulunmuyordu ( $p>0.05$ ). BİA grubu ile BA grubunda nekroz ve amputasyona bağlı ekstremitte kaybı hiçbir farede görülmedi (şekil-2).

**Tablo.3** Günlere ve gruplara göre ortalama yara boyutları

GRUP	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	7. gün
B	96 mm <sup>2</sup>	91 mm <sup>2</sup>	91 mm <sup>2</sup>	91 mm <sup>2</sup>	91 mm <sup>2</sup>	91 mm <sup>2</sup>	90 mm <sup>2</sup>
Bİ	81 mm <sup>2</sup>	71 mm <sup>2</sup>	71 mm <sup>2</sup>	71 mm <sup>2</sup>	69 mm <sup>2</sup>	68 mm <sup>2</sup>	68 mm <sup>2</sup>
BA	39 mm <sup>2</sup>	35 mm <sup>2</sup>	30 mm <sup>2</sup>	26 mm <sup>2</sup>	22 mm <sup>2</sup>	20 mm <sup>2</sup>	19 mm <sup>2</sup>
BİA	45 mm <sup>2</sup>	40 mm <sup>2</sup>	38 mm <sup>2</sup>	30 mm <sup>2</sup>	26 mm <sup>2</sup>	24 mm <sup>2</sup>	24 mm <sup>2</sup>

B grubu: Bakteri grubu, Bİ grubu: Bakteri + İbuprofen grubu, BA grubu: Bakteri+ Ampisilin grubu, BİA grubu: Bakteri + İbuprofen + Ampisilin grubu



**Şekil 2.** Yara boyutlarının günlere ve gruplara göre değişim grafiği

1. grup: B grubu, 2. grup: Bİ grubu, 3. grup: BİA grubu, 4. grup: BA grubu

B grubu: Bakteri grubu, Bİ grubu: Bakteri + İbuprofen grubu, BA grubu: Bakteri + Ampisilin grubu, BİA grubu: Bakteri + İbuprofen + Ampisilin grubu



**Şekil 3.** B grubunda 4. günde yara nekroz



**Şekil 4.** B grubunda 7. günde amputasyona bağlı ekstremitte kaybı

## **ELISA SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

### **TNF ALFA**

Birinci, 3. ve 7. günlerde enfeksiyon ile artması beklenen TNF alfa değerleri tüm gruplarda oldukça düşük olarak gözlenmiştir. Birinci, 3. ve 7. günlerde Bİ grubunun diğer deney grupları ve kontrol gruplarıyla aralarında istatistiksel bir fark bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ). Tüm grupların 1., 3. ve 7. günde ortalama TNF alfa ölçüm değerleri şekil 5'te gösterilmiştir.

### **IL-1**

Birinci, 3. ve 7. günlerde IL-1 değerleri TNF alfa gibi tüm gruplarda oldukça düşük olarak gözlenmiştir. Birinci, 3. ve 7. günlerde Bİ grubunun diğer deney grupları ve kontrol gruplarıyla aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ). Tüm grupların 1., 3. ve 7. günde ortalama IL-1 ölçüm değerleri şekil 6'da gösterilmiştir.

## IL-6

Birinci gün serum IL-6 ortalama değerleri B grubunda diğer gruplara göre yüksek olarak bulundu. nc ve 7. gndeysel tüm gruplarda değerler birbirine yakın olarak gözlendi. Birinci günde B grubuyla diğer gruplar ve kontrol grupları arasında sırasıyla Bİ grubu ( $p=0.03$ ), BA grubu ( $p=0.008$ ), sham grupları ( $p=0.004$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı. B grubu ile, BİA grubu ( $p=0.07$ ) karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Birinci, 3. ve 7. günlerde Bİ grubunun diğer deney grupları ve kontrol gruplarıyla aralarında istatistiksel bir fark yoktu ( $p>0.05$ ) Tüm grupların 1., 3. ve 7. günde ortalama IL-6 lm değerleri Şekil 7’de gösterilmiştir.

## VEGF

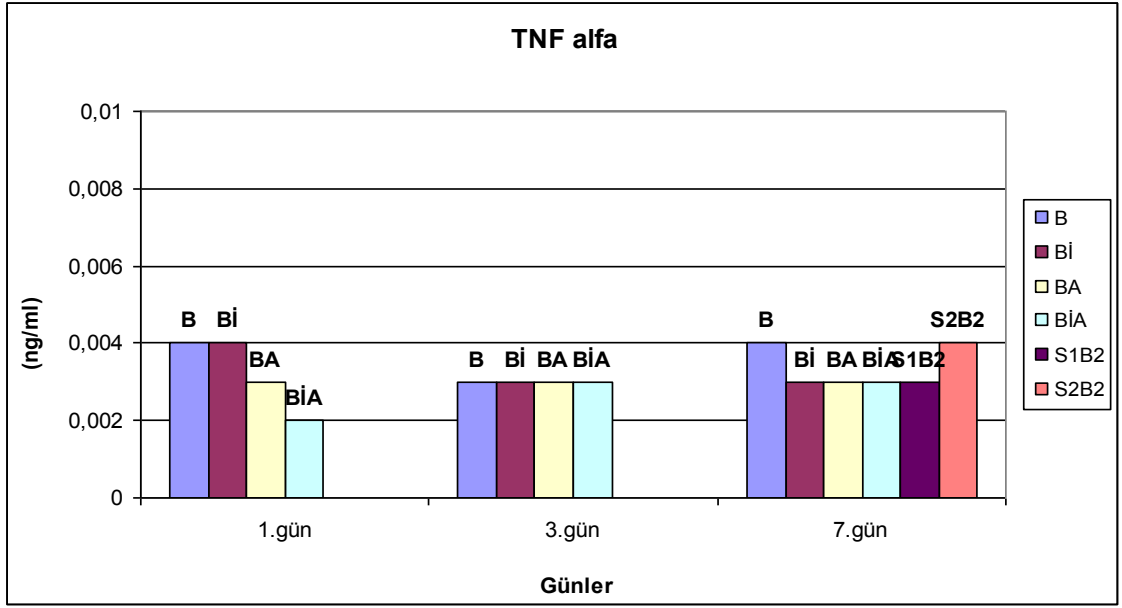
nc günde tüm deney gruplarından düşük olarak gözlenen ortalama VEGF değerleri yedinci günde belirgin olarak yükseldi. nc günde Bİ grubunun diğer deney gruplarıyla aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ( $p>0.05$ ). Hiçbir işlem yapılmayan sham grubuyla aralarında ise belirgin istatistiksel fark bulunuyordu ( $p<0.05$ ). Yedinci günde değerlerin yükselmesiyle beraber üçüncü günde sham grubuyla oluşan bu istatistiksel fark kayboldu ( $p>0.05$ ) (Şekil 12). Tüm grupların 1., 3. ve 7. günde ortalama VEGF lm değerleri Şekil 8’de gösterilmiştir.

Serum sitokin ortalama değerleri ELİSA değerleri tablo 4’te gösterilmiştir.

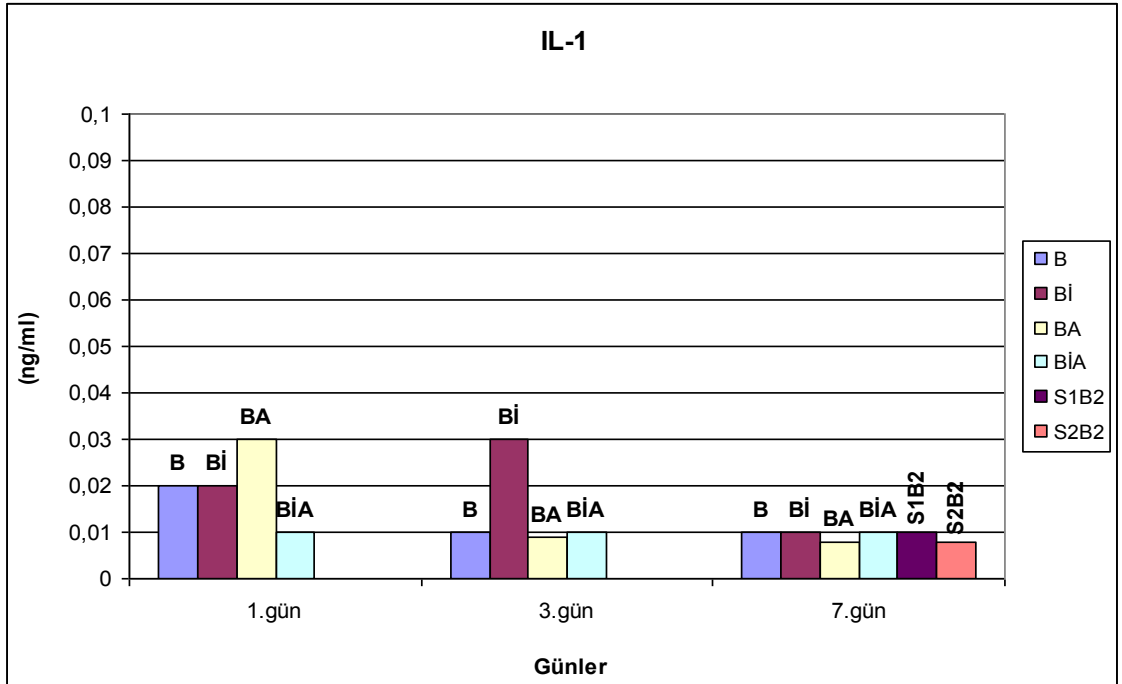
**Tablo 4.** Günlere ve gruplara göre ortalama sitokin değerleri

Gün	TNFalfa (pg/ml)			IL-1 (pg/ml)			IL-6 (pg/ml)			VEGF (ng/ml)	
	1.	3.	7.	1.	3.	7.	1.	3.	7.	3.	7.
B	0.004± 0,0008	0.003± 0,0005	0.004± 0,0005	0.02± 0.01	0.01± 0.01	0.01± 0.09	0.19± 0.07	0.06± 0.06	0.02± 0.02	27.7± 6,35	34.3± 7,62
Bİ	0.004± 0.001	0.003± 0.006	0.003± 0.0003	0.02± 0.01	0.03± 0.05	0.01± 0.03	0.06± 0.05	0.02± 0.02	0.01± 0.01	29.1± 10,3	35.9± 22,1
BA	0.003± 0.0005	0.003± 0.0005	0.003± 0.0005	0.03± 0.03	0.009± 0.005	0.008± 0.002	0.02± 0.01	0.006± 0.002	0.006± 0.001	24.4± 6,55	37.9± 7,88
BİA	0.002± 0.0004	0.003± 0.0005	0.003± 0.0004	0.01± 0.006	0.01± 0.01	0.01± 0.01	0.07± 0.1	0.007± 0.002	0.007± 0.005	22.7± 8,7	52.2± 18,7
S1B2	-	-	0.01± 0.0007	-	-	0.01± 0.01	-	-	0.008± 0.09	-	40.6± 0.09
S2B2	-	-	0.004± 0.002	-	-	0.008± 0.006	-	-	0.006± 0.008	-	57.2± 0.008

B grubu: Bakteri grubu, Bİ grubu: Bakteri + İbuprofen grubu, BA grubu: Bakteri+ Ampisilin grubu, BİA grubu: Bakteri + İbuprofen + Ampisilin grubu, S1B2: Sadece immünsüpresyon yapılan grup, S2B2:Hiçbir işlem yapılmayan sham grubu

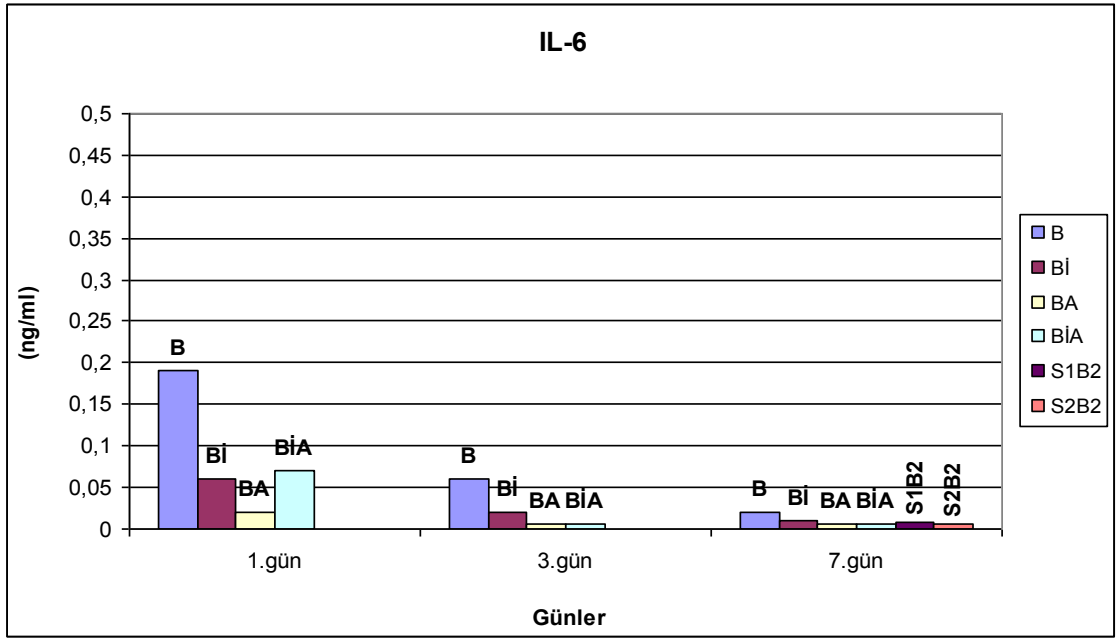


Şekil 5. Tüm grupların 1., 3. ve 7. günde ortalama TNF alfa ölçüm değerleri

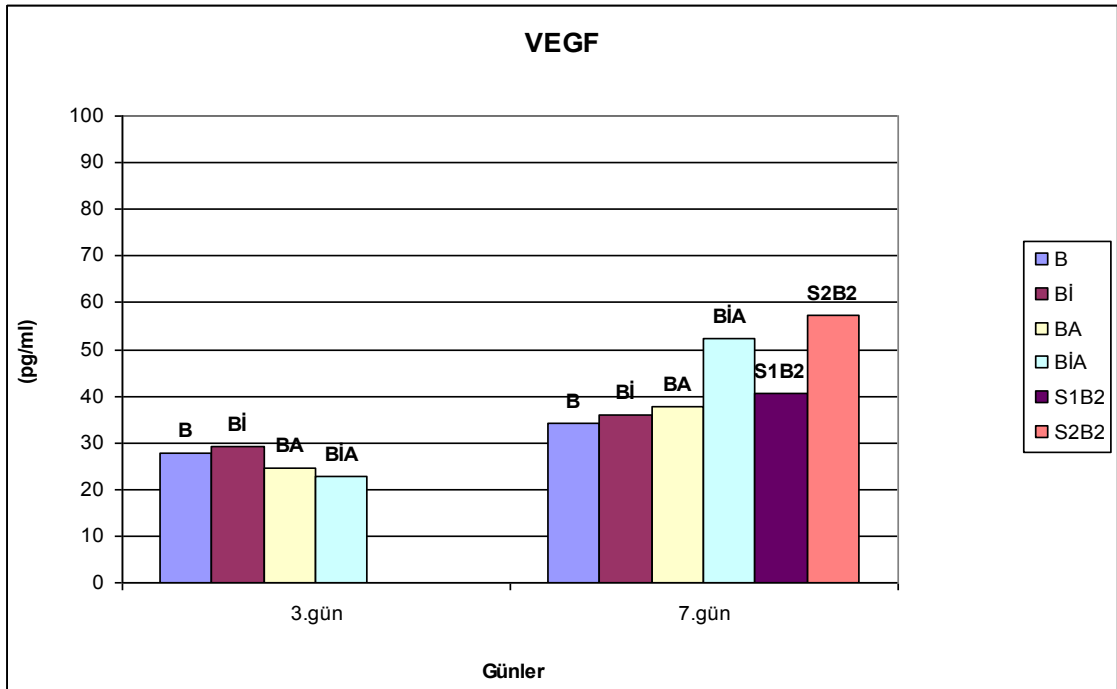


Şekil 6. Tüm grupların 1., 3. ve 7. günde ortalama IL-1 ölçüm değerleri

B grubu: Bakteri grubu, Bİ grubu: Bakteri + İbuprofen grubu, BA grubu: Bakteri + Ampisilin grubu, BİA grubu: Bakteri + İbuprofen + Ampisilin grubu, S1B2: Sadece immünsüpresyon yapılan grup, S2B2:Hiçbir işlem yapılmayan sham grubu



Şekil 7. Tüm grupların 1., 3. ve 7. günde ortalama IL-6 ölçüm değerleri



Şekil 8. Tüm grupların 3. ve 7. günde ortalama VEGF ölçüm değerleri

B grubu: Bakteri grubu, Bİ grubu: Bakteri + İbuprofen grubu, BA grubu: Bakteri+ Ampisilin grubu, BİA grubu: Bakteri+ İbuprofen + Ampisilin grubu, S1B2: Sadece immünsüpresyon yapılan grup, S2B2:Hiçbir işlem yapılmayan sham grubu



## HİSTOLOJİK BULGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

### İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Değerlendirmeler; epitel, bağ dokusu, sebace bezleri, ter bezlerinde ayrı ayrı yapılmıştır.

### TNF ALFA

Birinci ve 3.gün; tüm gruplarda TNF alfa reaksiyonu zayıf pozitif veya negatif olarak görüldü (tablo 5, 6).

Yedinci gün; Bİ grubunda, BA grubunda ve BİA grubunda bağ dokusu liflerinde pozitif reaksiyon görüldü. Bu üç grubun epitel dokusunda çok zayıf pozitif reaksiyon görüldü. BA grubunda ve BİA grubunda yağ bezlerinde TNF alfa için pozitiflik görüldü. Reaksiyonlar sitoplazmik ve yaygın şekildeydi çekirdek boyanması yoktu (Tablo 7).

**Tablo 5.** 1.gün TNF alfa immünohistokimyasal değerlendirme

1. gün TNF alfa Ekspresyonu				
Grup	Epitel	Bağ dokusu	Sebace bezleri	Ter bezleri
B	-	-	-	-
Bİ	+*	+	+	-
BA	-	+	+/-	-
BİA	-	-	-	-

\* Epitel hücrelerin apikal sitoplazmasında pozitif reaksiyon

**Tablo 6.** 3. gün TNF alfa immünohistokimyasal değerlendirme

3.ncü gün TNF alfa Ekspresyonu				
Grup	Epitel	Bağ dokusu	Sebace bezleri	Ter bezleri
B	+	+	+	-
Bİ	+	+	+	-
BA	+	+	+	-
BİA	+/-	+/-	+	-

**Tablo 7.** 7. gün TNF alfa immünohistokimyasal değerlendirme

7.nci gün TNF alfa Ekspresyonu				
Grup	Epitel	Bağ dokusu	Sebase bezleri	Ter bezleri
B*				
Bİ	+/-	+	+	-
BA	+/-	+	+	-
BİA	+/-	+	+	-

\* B grubunda epitel ve epitel altı bağ doku izlenmedi

B grubu: Bakteri grubu, Bİ grubu: Bakteri + İbuprofen grubu, BA grubu: Bakteri + Ampisilin grubu, BİA grubu: Bakteri+ İbuprofen + Ampisilin grubu

### IL-1

Birinci gün; IL-1 reaksiyonu en yüksek olarak B grubunda görüldü. Diğer tüm gruplarda zayıf pozitif veya negatif reaksiyon belirlendi (Tablo 8).

Üçüncü gün; IL-1 reaksiyonu tüm gruplarda zayıf pozitif ya da negatif olarak görüldü (Tablo 9).

Yedinci gün; Bİ grubunda, BA grubunda, ve BİA grubunda bağ dokusu liflerinde pozitif reaksiyon gözlenirken tüm grupların epitelinde ise negatif reaksiyon görüldü (Tablo 10).

**Tablo 8.** 1.gün IL-1 immünohistokimyasal değerlendirme

Birinci gün IL-1 Ekspresyonu				
Grup	Epitel	Bağ dokusu	Sebase bezleri	Ter bezleri
B	++	+++	++	-
Bİ	-	+	+	-
BA	-	-	-	-
BİA	-	-	+	-

**Tablo 9.** 3. gün IL-1 immünohistokimyasal değerlendirme

Üçüncü gün IL-1 Ekspresyonu				
Grup	Epitel	Bağ dokusu	Sebase bezleri	Ter bezleri
B	-	+	-	++
Bİ	-	-	-	-
BA	-	-	-	-
BİA	-	-	-	-

**Tablo 10.** 7. gün IL-1 immünohistokimyasal değerlendirme

Yedinci gün IL-1 Ekspresyonu				
Grup	Epitel	Bağ dokusu	Sebase bezleri	Ter bezleri
B*				
Bİ	+/-	+	-	-
BA	-	+	-	-
BİA	-	+	-	-

\*B grubunda epitel ve epitel altı bağ dokusu izlenmedi.

B grubu: Bakteri grubu, Bİ grubu: Bakteri + İbuprofen grubu, BA grubu: Bakteri+ Ampisilin grubu, BİA grubu: Bakteri+ İbuprofen + Ampisilin grubu

### **IL-6**

Birinci gün; epitel dokusunda IL-6 reaksiyonu B grubu dışındaki diğer gruplarda negatif olarak izlenirken, bağ dokusunda IL-6 reaksiyonu ise bütün gruplarda pozitif olarak görüldü (Tablo 11).

Üçüncü gün; epitel dokusunda IL-6 reaksiyonu tüm gruplarda zayıf pozitif veya negatif reaksiyon olarak izlenirken bağ dokusunda IL-6 reaksiyonu ise Bİ grubu hariç bütün gruplarda pozitif olarak görüldü. Ter ve sebase bezlerinde IL-6 reaksiyonu ise BA grubu ve BİA grubunda pozitif (Tablo 12).

Yedinci gün; epitel dokusunda IL-6 reaksiyonu tüm gruplarda negatif olarak görüldü. Bağ dokusu liflerinde pozitif reaksiyon ise B grubu hariç diğer tüm gruplarda vardı (Tablo 13).

**Tablo 11.** 1.gün IL-6 immünohistokimyasal değerlendirme

Birinci gün IL-6 Ekspresyonu				
Grup	Epitel	Bağ dokusu	Sebase bezleri	Ter bezleri
B	+++	+++	+++	-
Bİ	-	+++	-	+
BA	-	+++	-	+++
BİA	-	+++	-	-

**Tablo 12.** 3. gün IL-6 immünohistokimyasal değerlendirme

Üçüncü gün IL-6 Ekspresyonu				
Grup	Epitel	Bağ dokusu	Sebase bezleri	Ter bezleri
B	-	++*	-	-
Bİ	-	-	-	+
BA	-	++	++	+++
BİA	-	++	++	-

\* Reaksiyon bazal laminada çok kuvvetli

**Tablo 13.** 7. gün IL-6 immünohistokimyasal değerlendirme

Yedinci gün IL-6 Ekspresyonu				
Grup	Epitel	Bağ dokusu	Sebase bezleri	Ter bezleri
B*				
Bİ	-	++	-	-
BA	-	++	-	-
BİA	-	++	-	-

\*Bgrubunda epitel ve epitel altı bağ dokusu izlenmedi.

B grubu: Bakteri grubu, Bİ grubu: Bakteri + İbuprofen grubu, BA grubu: Bakteri+ Ampisilin grubu, BİA grubu: Bakteri+ İbuprofen + Ampisilin grubu

## VEGF

Birinci gün; VEGF reaksiyonu tüm gruplarda epitel ve bağdokusunda kuvvetli olarak görüldü. BA grubu ve BİA grubunda en kuvvetli reaksiyon izlendi. Bu gruplarda ter ve sebase bezleri de kuvvetli pozitif. B grubunda ve Bİ grubunda ise reaksiyon pozitif olmasına karşın bu pozitiflik diğer gruplara nazaran daha azdı. Boyanma BA grubu dışında sitoplazmik ve yaygındı. Ancak BA grubunda hem sitoplazmik hem de çekirdek boyanması oldukça dikkat çekiciydi (Tablo 14).

Üçüncü gün; epitel, bağ dokusu, ter ve yağ bezlerinde VEGF reaksiyonu B grubunda, Bİ grubunda ve BA grubunda zayıf pozitif veya orta derecede pozitif olarak görüldü. BİA grubunda ise epitel reaksiyonu negatif olmasına karşın bağ dokusu ve yağ bezlerinde reaksiyon pozitif (Tablo 16).

Yedinci gün epitel dokusunda VEGF reaksiyonu BA grubu ve BİA grubunda kuvvetli olarak görüldü. Bİ grubunda negatif olarak görüldü. B grubunda ise epitel görülmedi. Bağ dokusu liflerinde VEGF reaksiyonu; Bİ grubunda, BA grubunda ve BİA grubunda zayıf pozitif görüldü. Sebase bezlerinde reaksiyon BA grubunda ve BİA grubunda zayıf pozitif. Ter bezleri reaksiyonu tüm gruplarda negatif olarak görüldü. Reaksiyonlar sitoplazmik ve yaygın şekildeydi çekirdek boyanması yoktu (Tablo 17).

**Tablo 14.** 1.gün VEGF immünohistokimyasal değerlendirme

Birinci gün VEGF Ekspresyonu				
Grup	Epitel	Bağ dokusu	Sebase bezleri	Ter bezleri
B	++	++	+	-
Bİ	++	++	+	-
BA	+++*	+++	++	+++
BİA	+++	+++	+	++

\*BA grubunda sitoplazma ve çekirdek boyanması oldukça dikkat çekiciydi.

**Tablo 15.** 3. gün VEGF immünohistokimyasal değerlendirme

Üçüncü gün VEGF Ekspresyonu				
Grup	Epitel	Bağ dokusu	Sebase bezleri	Ter bezleri
B	++	++	++	++
Bİ	+	+	+++	+
BA	++	++	++	-
BİA	-	+	+/-	+/-

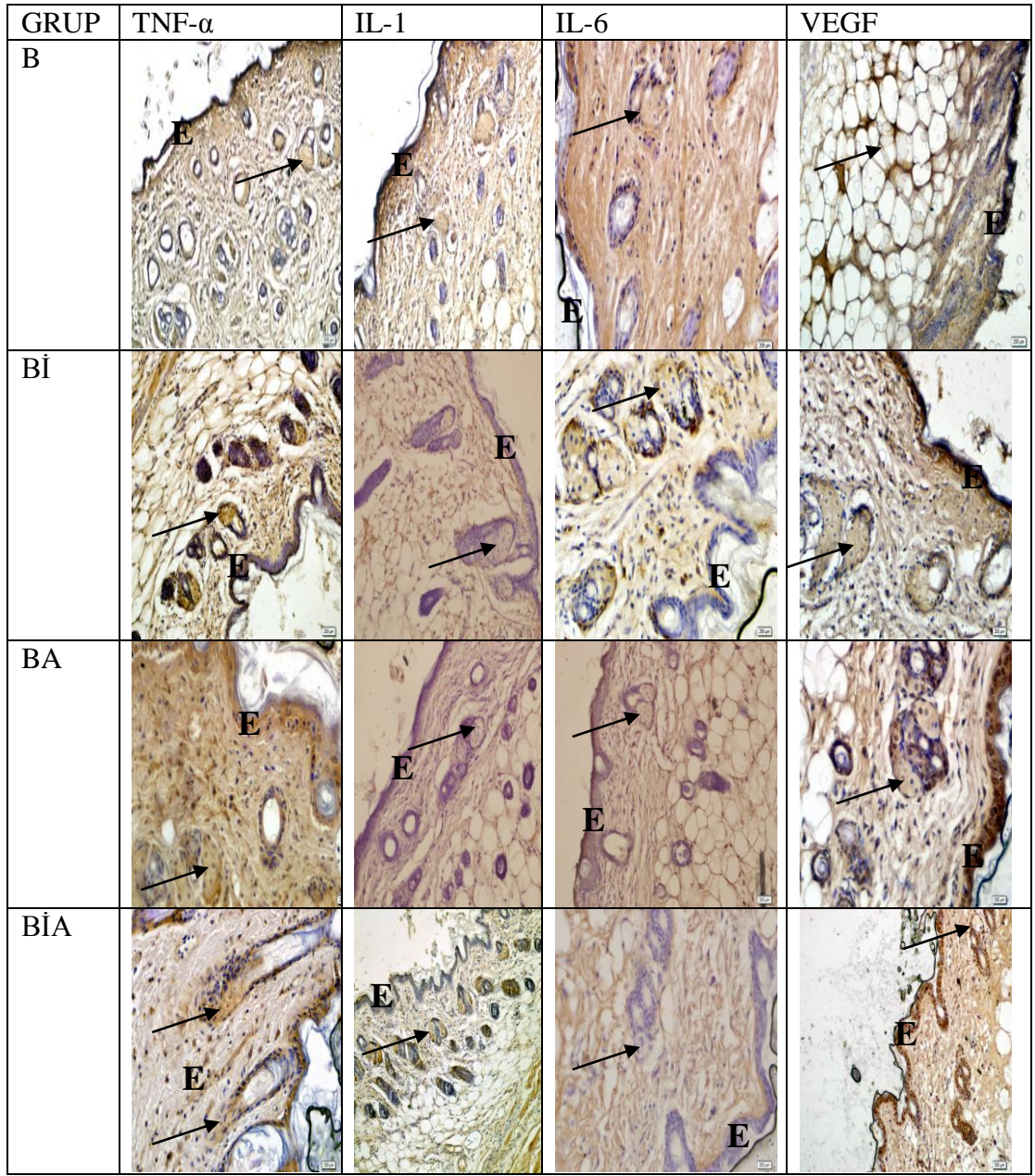
**Tablo 16.** 7.gün VEGF immünohistokimyasal değerlendirme

Yedinci gün VEGF Ekspresyonu				
Grup	Epitel	Bağ dokusu	Sebase bezleri	Ter bezleri
B*				
Bİ	-	+	-	-
BA	++	+	+	-
BİA	++	+	+	-

\* B grubunda epitel ve epitel altı bağ doku izlenmedi

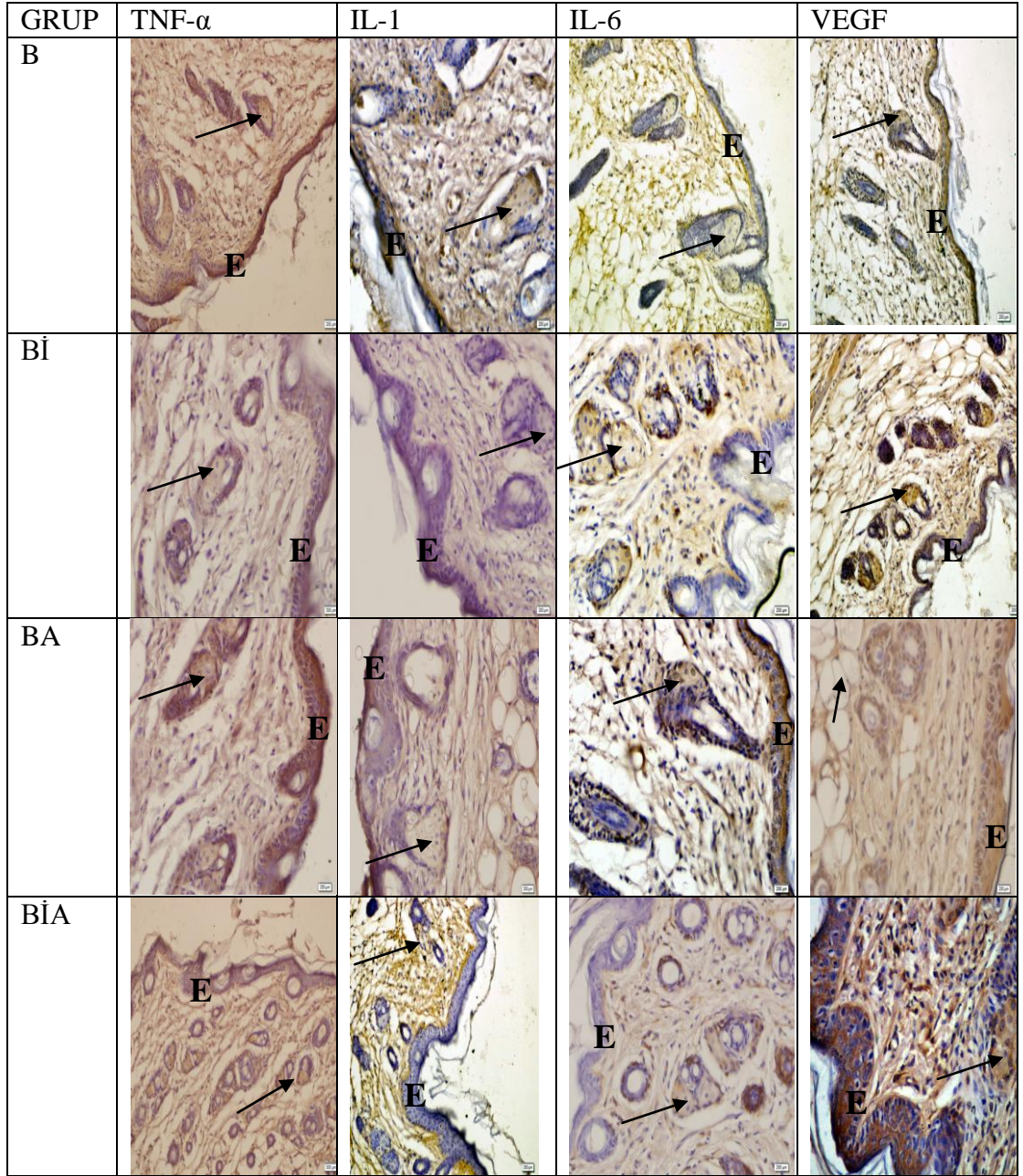
B grubu: Bakteri grubu, Bİ grubu: Bakteri + İbuprofen grubu, BA grubu: Bakteri+ Ampisilin grubu, BİA grubu: Bakteri+ İbuprofen + Ampisilin grubu

Tüm grupların 1., 3.ve 7. günlerde immünohistokimyasal görüntüleri şekil 9, 10, 11'de gösterilmiştir.



**Şekil 9.** Grupların 1.gün immünohistokimyasal görüntüleri

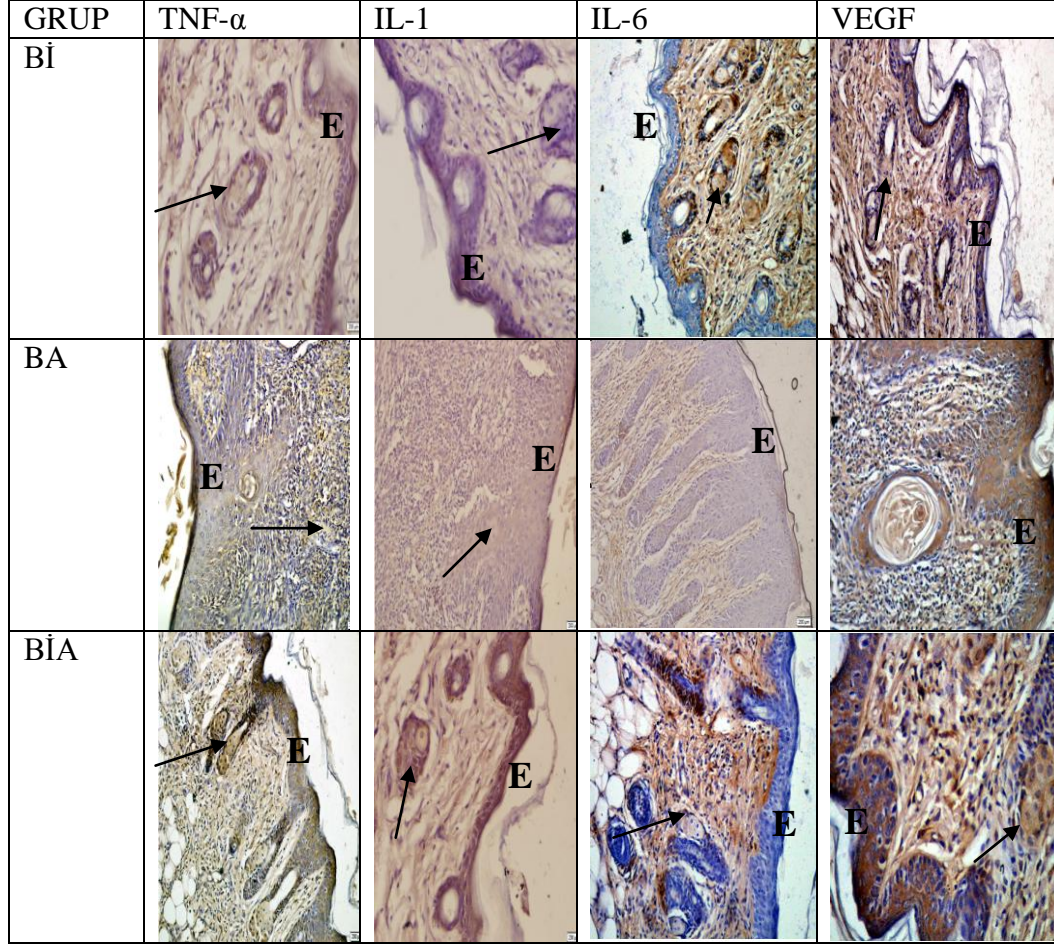
Grupların günlere göre sitokin ekspresyonları; epitel (E), yağ bezi (ok) ile gösterilmiştir.



**Şekil 10.** Grupların 3. gün immünohistokimyasal görüntüleri

Grupların günlere göre sitokin ekspresyonları; epitel (E), yağ bezi (ok) ile gösterilmiştir.





**Şekil 11.** Grupların 7. gün immünohistokimyasal görüntüleri

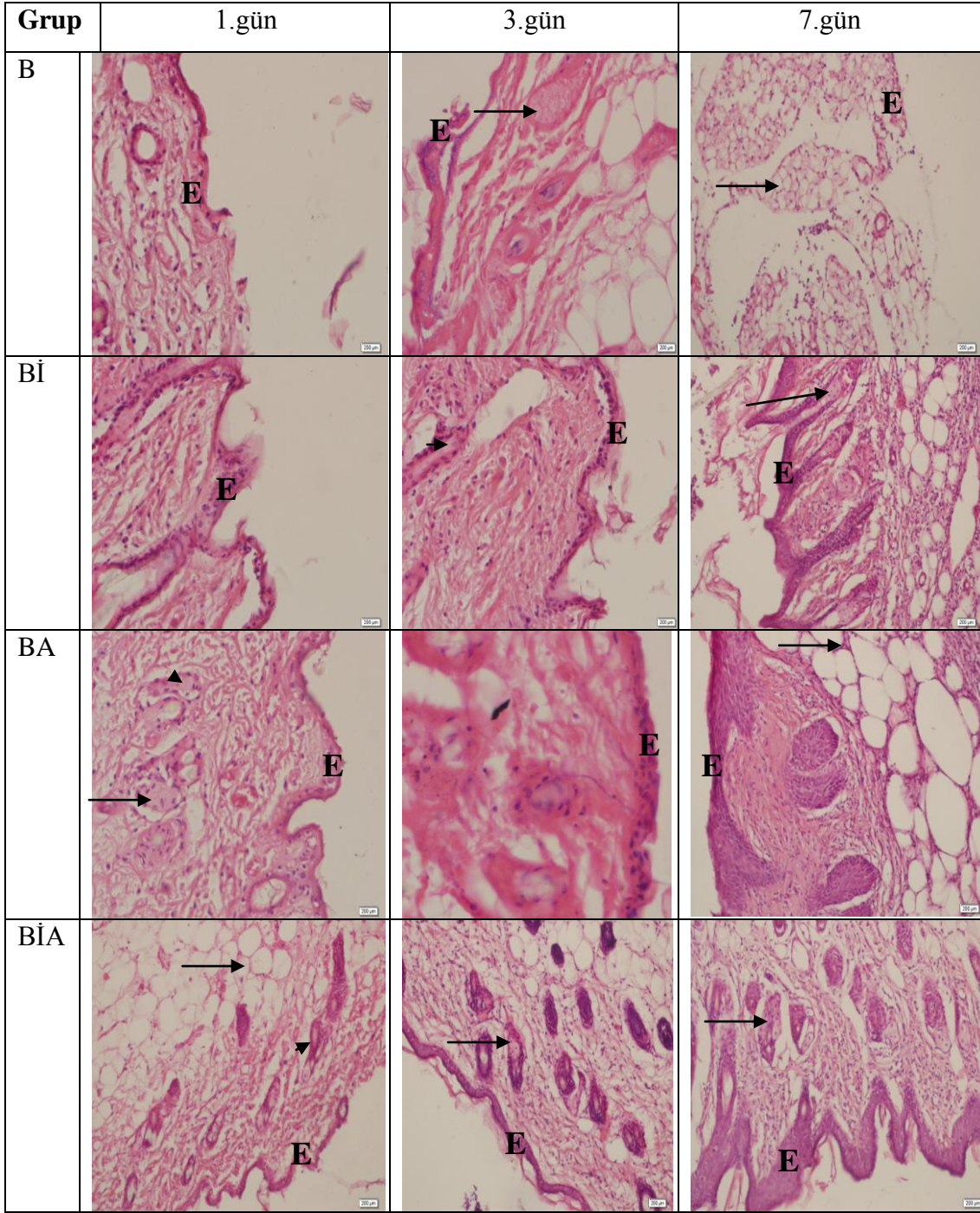
Grupların günlere göre sitokin ekspresyonları; epitel (E), yağ bezi (ok) ile gösterilmiştir. B grubunda epitel ve epitel altı bağ doku izlenmemiştir.

### Hematoksilen- Eozin Boyama

Birinci günde; B grunda epitel dokunun yer yer kaybolduğu izlendi. Epitel altı bağ dokusu varlığını devam ettiriyordu. Sebace bezleri, kıl follikülleri ve ter bezleri gözlenmekteydi. Diğer üç grubun epitelleri tek süreliydi ve kesintiler yoktu. Ancak bazı alanlarda epitel hücrelerinin oldukça yassı olduğu izlendi. Epitel altı bağ doku sebace bezleri ter bezleri ve kıl follikülleri normal yapısında izlendi.

Üçüncü günde; B grubunda birinci günde izlenen epitel doku kesinti boyutlarının artarak devam ettiği gözlemlendi. Aynı zamanda bağ dokusu liflerinin birbirlerinden ayrılarak arada boşluklar oluşturdukları dikkati çekti. Sebace bezleri, ter bezleri ve kıl follikülleri normal görünümdeydi. Diğer üç grupta epitel doku varlığını devam ettirmekle birlikte; BA grubunda ve BİA grubunda epitel dokuda hücre sıralarının arttığı ve özellikle BA grubundaki epitel hücrelerinin BİA grubuna göre daha düzgün olduğu izlendi. Bİ grubunda epitel hücrelerinin boyunun uzadığı gözlemlendi. Epitel altı bağ dokusu sebace bezleri ter bezleri ve kıl follikülleri normal yapısında izlendi..

Yedinci günde; B grubunda epitel ve epitel altı bağ dokusu izlenmezken diğer üç grupta epitelin çok katlı olduğu ve keratinizasyonun olduğu gözlemlendi. BA grubu ile BİA grubunda epitel kalınlığı Bİ grubuna göre daha fazlaydı. Epitel altı bağ dokusu sebace bezleri ter bezleri ve kıl follikülleri normal yapısında izlendi. Grupların HE boyama görüntüleri; şekil-12'de gösterilmiştir.



**Şekil12.** Grupların günlere göre HE boyama görüntüleri. Epitel (E), yağ bezi (ok) ter bezi (ok başı) ile gösterilmiştir.

## TARTIŞMA

*S. aureus* sağlıklı insanların yarısında flora elemanı olarak deride, burun deliklerinde, orofarinks, vajina ve perinede kolonize olabilmektedir. Bu nedenle deri bütünlüğünün bozulduğu durumlarda rahatlıkla deri ve YDE oluşturabilmektedir. *S. aureus* özellikle cerrahi yara enfeksiyonları gibi nozokomiyal enfeksiyonların da başta gelen nedenidir. Follikülit, fronkül, karbonkül, impetigo, selülit ve mastit gibi birçok YDE tablosuna neden olabilen *S. aureus* Diabetes mellitus'un artan görülme sıklığı ile beraber son yıllarda diabetik ayaklardan da izole edilebilmektedir. *S.aureus* YDE'den başka solunum yolu enfeksiyonları, sepsis, endokardit, idrar yolu enfeksiyonlarına da neden olabilir (11, 58).

IL-1 beta, IL-6, TNF-alfa gibi proinflamatuvar sitokinler, enfeksiyonlarda vücudun immun yanıtını oluşturan önemli mediatörlerdir. Sepsis süresince serum sitokin seviyelerinin yükseldiği bilinmektedir. IL-1, TNF alfa ve IL-6 gibi inflamatuvar yanıtta sentezleri artan proinflamatuvar sitokinlerin baskılanmasına neden olan IL-10; antiinflamatuvar sitokin olarak kabul edilmektedir (65, 77). Proinflamatuvar sitokinlerin başında TNF alfa, IL-1 ve IL-6 gelmektedir. İnflamasyon adı verilen bu süreçten daha çok gram negatif bakteriler sorumlu tutulmaktadır. Bununla birlikte gram pozitif bakteriler; içerdikleri peptidoglikan ve teikoik asit gibi hücre duvarı yapısal komponentleriyle, kapsül antijenleriyle ve *S. aureus* ve *S. pyogenes* gibi gram pozitif bakteriler ise ekzotoksinleriyle bu tabloya neden olabilmektedir (77, 78).

YDE'lerin tedavisinde antibiyotiğe ilaveten NSAİİ'lerin de kullanıldığı bilinmektedir. NSAİİ'lerden olan ibuprofen, aspirin ve parasetamolden sonra en fazla kullanılan analjezik ilaçlardır. Antiinflamatuvar etkinliği de olan ibuprofenin; kolay ulaşılabilir olması nedeniyle oldukça yaygın kullanım alanı bulunmaktadır. YDE modeli üzerinde NSAİİ'lerin prognostik rolüne dair veriler kısıtlıdır. Özellikle A grubu streptokoklar üzerinde yapılmış çalışmalar mevcut olup, *S.aureus* ile oluşturulan YDE modelinde yapılacak çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Weng ve ark. (5) tarafından 2011 yılında Tayvan’da Nekrozitan fasiit ve septik artritli hastalardan elde edilmiş 3 klinik bakteriyemik izolat (GAS-13, GAS-19, GAS-Jack) ile yapılan çalışmada; ibuprofenin *S.pyogenes* kaynaklı YDE üzerine etkisi incelenmiştir. GAS suşlarından herhangi biri 26 farenin sağ uyluğuna  $10^{10}$  cfu/ml inoküle edilmiştir. Gruplar; GAS ile enfekte farelerde, ibuprofen verilen ve SF verilen (kontrol grubu) olarak belirlenmiştir. Enfeksiyonun 1, 3, 5 ve 7. günlerinde serumda ve enfekte dokuda IL-6 ve TNF alfa düzeyleri ticari ELISA kitleri kullanılarak ölçülmüş, enfekte doku IL-6 düzeyi deney grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Benzer şekilde serum IL-6 düzeyi de deney grubunda anlamlı şekilde fazla bulunmuştur. Deney grubunda 3. günde serum IL-6 düzeyi pik yaparken kontrol grubunda tespit edilemez düzeydedir. Enfekte dokuda TNF alfa düzeyi deney grubunda kontrol grubuna göre özellikle 3.günde anlamlı olarak yüksek bulunmuş, Serum TNF alfa düzeyi ise her iki grup için 1. günde tespit edilemez düzeyde görülmüştür. Bu çalışmanın sonucunda; ibuprofenin, “proinflatuar sitokinlerden TNF alfa ve IL-6 düzeylerini serum ve dokuda arttırarak, yara iyileşmesini geciktirdiği” düşünülmüştür.

Guibal ve ark tarafından 1998’de tavşanlar üzerinde streptokoklar ile yapılan nekrozitan fasiit modeli üzerinde diklofenakın prognostik etkisi incelenmiştir. Tavşanlara *S. pyogenes* ile birlikte Stafilokok alfa toksini inoküle edilmiş, gruplar diklofenak verilen deney grubu ile kontrol grubu olarak belirlenmiştir. NSAİİ’lerin *S. pyogenes* nedenli YDE seyrine olumsuz yönde prognozunun olduğuna dair kanıt bulunamamıştır (5, 79).

Souyri ve ark. tarafından (80) 2007’de Fransa’da yapılan çalışmada çeşitli hastalık gruplarında NSAİİ kullanımına bağlı nekrozitan fasiit oluşumu değerlendirilmiştir. Özellikle çocuklarda Varicella enfeksiyonu sonrası kullanılan NSAİİ’lerin nekrozitan fasiit riskini arttırdığı görülmüştür. nekrozitan fasiitli hastalardan yapılan mikrobiyolojik inceleme sonuçları ise en sık nedenin *S. pyogenes* olmakla beraber daha az sıklıkta ise *S. aureus* olduğu yönündedir.

Rissing ve ark. tarafından (81) 1986 yılında ABD’de ratlar üzerinde *S. aureus* ile oluşturulan osteomyelit modelinde ibuprofenli grup ve kontrol grubu olarak iki grup oluşturulmuş, her iki grup için yara yerinde 6 ve 12. günlerde bakteri yükü değerlendirilmiştir. İbuprofenin prostaglandin E seviyesi üzerinden etkinliğinin de değerlendirildiği bu çalışmada; ibuprofen ve kontrol gruplarında bakteri yükü açısından belirgin fark oluşmadığı gözlenmiştir. *S. aureus* ile infekte olmayan farelerde ibuprofenin prostaglandin E seviyelerini ibuprofen kullanılmayan kontrol grubuna göre belirgin arttırdığı görülürken, infekte farelerde ibuprofenin prostaglandin E seviyelerini kontrol grubuna göre belirgin düşürdüğü görülmüştür. Her iki grup için bakteri yükünde fark oluşmaması ve ibuprofenin prostaglandin E seviyelerini infekte grupta kontrol grubuna göre belirgin düşürmesi *S. aureus* kaynaklı osteomyelit tablolarında; ibuprofenin, semptomları ortadan kaldırmak için güvenle kullanılabileceğini göstermektedir.

Biz çalışmamızda; Weng ve ark.’dan (5) farklı olarak yara yeri enfeksiyonu oluşumunda immünsüpresan olarak siklofosfamid kullandık. Ayrıca Weng ve arkadaşlarından (5) farklı olarak yara modelinde A grubu beta hemolitik streptokok yerine *S.aureus* kullandık. Yara iyileşmesinde sadece ibuprofenin değil, ampisilinin ve her iki ilacın beraber kullanımının etkinliğini de inceledik. Bu sonuçlar ile ibuprofenin *S.aureus* nedenli yara iyileşmesindeki prognoza olumlu ya da olumsuz katkısını değerlendirdik. Weng ve arkadaşlarının (5) buldukları sitokin pikini yakalamak için 1., 3. ve 7. günlerde serumdan ELISA çalışması yaptık. Yine aynı günlerde doku değişimlerini görebilmek amacıyla doku örnekleri alarak HE boyama ve immünohistokimyasal çalışma ile doku sitokin reaksiyonlarını değerlendirdik.

Bizim çalışmamızda Weng ve ark.’nın (5) kullandığı A grubu beta hemolitik streptokok yerine *S.aureus* kullanıldığı için sonuçlar Weng ve arkadaşlarının (5) bulmuş oldukları “ibuprofen yara iyileşmesini geciktirir” yerine Rissing ve ark’nın (81) çalışmasına benzer olarak bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda Weng ve ark.’nın (5) bulmuş oldukları yüksek serum IL-6 ve TNF alfa düzeyleri görülememiştir. Serum TNF alfa ortalama değerleri için

1., 3. ve 7. günlerde Bİ grubuyla, diğer çalışma grupları ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak belirgin bir fark oluşmamıştır ( $p>0.05$ ) IL-6 ortalama değeri birinci günde B grubunda diğer gruplara göre yüksek bulunmuştur. Oluşan bu fark Bİ grubu, BA grubu ve sham grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Bİ grubundaki IL-6 düşüklüğü; Weng ve ark.'nın (5) bulmuş oldukları ibuprofenin serum ve dokuda IL-6 seviyelerini arttırdığı hipotezi ile çelişmektedir.

Bizim çalışmamızda doku IL-6 pozitif reaksiyonu ise tüm gruplarda 1. günde pozitif olarak görülürken Weng ve ark.'nın (5) çalışmasına göre pik yapması beklenen 3. günde Bİ grubunda diğer grupların aksine negatif olarak görülmüştür. Bu veri Weng ve ark.'nın (5) bulmuş oldukları ibuprofen grubundaki kontrol grubuna göre dokudaki yüksek IL-6 sonuçlarıyla çelişmektedir. Yedinci günde ise IL-6 doku reaksiyonları Weng ve ark.'nın (5) bulmuş oldukları sonuca benzer nitelikte olup 1. ve 3. güne nispeten zayıf pozitif reaksiyon şeklinde gözlenmiştir. Ayrıca Weng ve ark.'nın (5) bulmuş oldukları doku TNF alfa değerleri bizim çalışmamızda bulunan zayıf veya negatif TNF alfa reaksiyonlarıyla çelişmektedir.

Weng ark. (5) yaptıkları çalışmada histolojik olarak deney grubunun kas dokusunda inflamatuvar değişiklikleri kontrol grubuna göre daha belirgin olarak görülmüştür. Mikroskopik incelemede deney grubunda subkutanöz ve kas dokularında makrofaj infiltrasyonu ve ödem daha ciddi olarak görülürken, deney grubunda dermis ve fasya tamamen çözülmüştür. Bu histoloji sonuçları ve yara yerinde görülen çok miktarda bakteri ve PNL infiltrasyonu varlığı "ibuprofenin yara iyileşmesini kötüleştirdiği" tezini pekiştirmiştir.

Bizim çalışmamızda HE boyamasında B grubunda epitel kaybının 1. günden başlayıp 3. günde belirginleştiği görülmüş, 7. günde ise epitelin tamamen kaybolduğu gözlenmiştir. Diğer üç deney grubunda 1., 3. ve 7. günde epitel doku varlığı mevcut olup 3. günde epitelde hücre sıralarının arttığı ve özellikle BA grubundaki epitel hücrelerinin her iki ilacın beraber verildiği gruba göre daha düzgün olduğu izlenmiştir. Bu üç deney grubunda epitelin çok katlı olduğu ve

keratinize olduğu gözlenmiştir. BA grubunda ve BİA grubunda epitel kalınlığı Bİ grubuna göre daha fazla bulunmuş, epitel altı bağ doku, sebace bezleri, ter bezleri ve kıl follikülleri normal yapısında izlenmiştir. Bu sonuçlar tek başına ibuprofen kullanımının ampisilin kadar olmasa da yara iyileşmesine etkisinin olabileceğini gösterirken; tek başına ampisilin kullanımının her iki ilacın beraber kullanımına göre çok belirgin bir fark olmasa da daha iyi prognozu olduğu yönündedir.

Weng ve ark. (5) tarafından yapılan çalışmada ibuprofen verilen farelerin yara boyutlarında kontrol grubuna göre anlamlı bir büyüme gözlenmiştir. Yine yara yerindeki eksuda oluşumu ibuprofen verilenlerde kontrol grubuna göre yüksek olarak gözlenmiştir.

Bizim çalışmamızda Bİ grubundaki başlangıç yara boyutunun (81 mm<sup>2</sup>) B grubuna (96 mm<sup>2</sup>) göre daha küçük oluşu, BİA grubu ile BA grubu arasında yara boyutlarında 1. günden 7. güne kadar istatistiksel bir farkın bulunmayışı (p>0.05), B grubunda görülen iştahta belirgin azalma ve kilo kaybı, tüylerde dökülme ve canlılıkta azalma gibi belirtilerin Bİ grubunda görülmeysi, ilerleyen günlerde nekrozun Bİ grubunda B grubuna göre daha geç gerçekleşmesi, B grubunda görülen yara derinliği artışının Bİ grubunda görülmeysi, Bİ grubunda 1. günden 7. güne kadar hiçbir günde ve hiçbir farede amputasyonun olmayışı ile Weng ve ark. (5) bulmuş oldukları “ibuprofen yara yeri iyileşmesini geciktirir” tezinden uzaklaşmıştır. Bizim çalışmamızda Weng ve ark'nın (5) yapmış oldukları çalışmaya ek olarak yara yeri enfeksiyon oluşumunda immünsüpresan olarak siklofosfamidin kullanılmış olması, Agrubu streptokok yerine *S. aureus* ile çalışılmış olması iki çalışma arasında ortaya çıkan serum sitokin seviyeleri ve yara boyutu farklılığını açıklayabilir.

İbuprofen'in sitokinler üzerine etkisi tartışmalı bir konudur. bazı araştırmacılar inflamatuvar yanıtta sitokin düzeylerini arttırdığını bildirmişlerdir. (82, 83). Ayrıca bazı çalışmalarda ibuprofenin inflamatuvar yanıtta sitokin düzeylerini değiştirmedine dair veriler mevcuttur (84).



Sirota ve ark. (82) tarafından 2001 yılında İsrail’de yapılan çalışmada, 80 preterm yenidoğanın kordon kanından elde edilen serumlardaki mononükleer hücrelerde sitokin üretimi ve düzeyleri araştırılmıştır. Kontrol grubu olarak 20-45 yaş arasında olan yirmibeş sağlıklı gönüllü yetişkin çalışmaya dahil edilmiştir. Erişkin ve pretermlerden elde edilen mononükleer hücre kültür süspansiyonları gruplara ayrılmış, grupların bazılarında ibuprofen değişen oranlarda verilirken, bazı gruplara *E coli* LPS konulmuştur. LPS konulmayan grupta IL-1, IL-6 ve TNF alfa’nın spontan sekresyonuna bakılmış, böylelikle gruplar yetişkinlerin ve yenidoğanların mononükleer hücrelerinde; LPS’li ve LPS’siz, ibuprofenli ve ibuprofensiz olarak oluşturulmuştur. Sitokin düzeylerinin saptanmasında ELISA yöntemi kullanılan bu çalışmada; IL-1’in LPS’li ve LPS’siz (spontan sekresyon düzeyleri) gruptaki düzeyleri pretermde yetişkinlere göre anlamlı derecede düşük saptanmıştır. İbuprofenin her iki grupta da (LPS’li ve LPS’siz) preterm ve yetişkin mononükleer hücrelerinde, IL-1’in sekresyonuna etkisi belirgin olarak görülmemiştir. İbuprofen yenidoğan ve yetişkinlerin mononükleer hücrelerinden IL-6 stimülasyonunu indüklemiştir. İbuprofen verilen LPS’li ile LPS’siz her iki grupta da TNF alfa düzeyleri doza bağımlı olarak yükselmiş, sonuç olarak; ibuprofenin yenidoğan ve yetişkin mononükleer hücrelerinde, LPS’li ve LPS’siz her iki grupta da TNF alfa düzeylerini yükseltirken IL-1’in sekresyonuna etkisi belirgin olarak görülmemiştir.

Ehsani ve ark.’nın (83) 2012 yılında İran’da, kronik apikal lezyonu olan değişik yaş gruplarında farklı cinsiyetlerde seksen hasta ile yaptıkları çalışmada; N asetil sistein (NAC) ve ibuprofen farklı konsantrasyonlarda (400 mg NAC, 400 mg ibuprofen, 400+200 NAC/ ibuprofen) hastalara verilmiştir. Lezyon bölgesinden alınan eksudadan, ELISA yöntemi ile IL-6, TNF alfa ve IL-17 gibi sitokin düzeyleri araştırılmıştır. TNF alfa bütün eksuda örneklerinden tespit edilmiştir. Ancak TNF alfa düzeyleri gruplar arasında plaseboya göre anlamlı bulunmamıştır. IL-6 ise eksuda örneklerinin tamamında tespit edilememiştir. İbuprofen ve plasebo gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Sepehri (84)ve ark tarafından 2011’de İran ‘da gönüllü genç erkekler üzerinde yapılan çalışmada ibuprofen kullanımının serum TNF alfa, IL-1 ve IL-6 üzerine etkisi incelenmiştir. Serum sitokin seviyelerinin ölçümünde ELISA yöntemi kullanılan bu çalışmada; 1500 metre koşu sonrası ibuprofen verilen grup ile kontrol grubu arasında sitokin seviyeleri açısından belirgin bir fark görülmemiştir. Profilaktik ibuprofen kullanımının proinflatuar sitokin salınımına etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır.

Antiinflamatuvar olarak düşünüldüğünde NSAİİ’lerin, IL-6 ve TNF alfa’yı arttırdığı bilgisi klasik bilgilerle çelişiyor gibi görülebilir. Kabul edildiği üzere inflamasyon alanına monosit ve makrofaj göçü olduktan sonra aktive makrofajlardan IL-1, IL-6, Koloni stimüle edici faktör-1, TNF alfa ve interferon-gama gibi proinflatuar sitokinler salgılanmaktadır. Aktive makrofajlardan salınan IL-1, TNF alfa ve interferon-gama gibi sitokinler dokulardaki monosit ve makrofajlardan IL-6 salınımını uyarırlar. Özellikle romatoid artrit (RA) gibi inflamatuvar hastalıklarda doku ve serumda yüksek düzeyde IL-6’ya rastlanmaktadır. Bu hastalıklarda analjezik ve antiinflamatuvar özelliklerinden dolayı kullanılan NSAİİ’ler; monosit ve makrofajlardan IL-1 ve IL-6 salgılanmasını inhibe ederler. Ayrıca IL-1, TNF alfa ve interferon-gama tarafından uyarılmış doku makrofajlarından salınan IL-6 üretimini de inhibe ederler. Her ne kadar NSAİİ’ler konusunda bu bilgi klasikleşmiş olsa da bazı çalışmalar NSAİİ’lerin anti inflamatuvar etkisinden başka proinflatuar etkilerinin de olabileceğini söylemektedir (62).

Etkisini siklooksijenaz enzim inhibisyonuyla prostaglandin sentezini inhibe ederek gösteren NSAİİ’lerin; inflamatuvar süreçteki rollerinin tam olarak anlaşılabilmesi için öncelikle prostaglandinlerin fonksiyonlarının bilinmesi gereklidir. 1969 yılında PGE<sub>2</sub>’nin RA’in deneysel modeli’’ olarak kabul edilen adjuvant artritinde yararlı etkisi olduğu bildirilmiştir (62). Bu çalışma prostaglandinlerin antiinfamatuvar etkisinin olduğunu gösteren ilk çalışmadır. Daha sonra çeşitli çalışma grupları tarafından akut, kronik ve immünolojik kaynaklı çeşitli deneysel inflamasyon modellerinde prostaglandinlerin yararlı etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Özellikle PGE<sub>1</sub> ve PGE<sub>2</sub>’nin mitojene yanıt verme, klonal çoğalma, E-

roset oluşumu ve lenfosit migrasyonu gibi çeşitli T lenfosit fonksiyonlarını inhibe ettiği gösterilmiştir. Son zamanlarda inflamasyonun geç dönemlerinde oluşan PGJ<sub>2</sub> öncülü olarak bilinen PGD<sub>2</sub> ve 15 deoksi-Δ<sup>12-14</sup> PGJ<sub>2</sub>'nin antiinflamatuvar etki oluşturduğu gösterilmiştir. Tüm bu bilgiler dikkate alındığında etkisini siklooksijenaz yolağını inhibe ederek gösteren NSAİİ'lerin; birbirine zıt olarak görünen proinflamatuvar ve antiinflamatuvar etkinin her ikisini birden nasıl oluşturabildiği anlaşılmaktadır. (62).

Araşidonik asitten siklooksijenaz yoluyla çok çeşitli ürünler oluştuğu gözönüne alınırsa, aynı metabolik yolağın uyarılması ile proinflamatuvar etki ve antiinflamatuvar etki oluşabilir. Bu da bir çelişki sayılmaz. Siklooksijenaz yolağının inhibisyonu sonucunda; yolağın lipooksijenaz tarafına kayması gerçekleşip, araşidonik asitten inflamasyonda önemli etkileri bulunan lipoksinler oluşabilir. Ayrıca araşidonik asitten sitokrom p450 enzimleriyle çeşitli diğer ürünler de oluşmaktadır. Klinik olarak antiinflamatuvar etkisi asetil salisilik asitle (aspirin) aynı olan sodyum salisilat gibi NSAİİ'lerin invitro çalışmalarda siklooksijenaz yolağını inhibe etme potansiyelleri düşük olarak bulunmuştur. Bu da NSAİİ'lerin antiinflamatuvar etkide siklooksijenaz enzim inhibisyonundan başka mekanizmaların da olabileceğini göstermektedir (62).

İbuprofen'in bakteriyel enfeksiyonlar üzerine etkisi tartışmalı bir konudur. Bazı araştırmacılar antiinflamatuvar ve analjezik özelliğinin yanında ibuprofen'in antibakteriyel etkisinin de varlığını idda etmişlerdir. İbuprofen'in antibakteriyel etkisi ile ilgili invitro duyarlılık çalışmaları bulunmaktadır (85).

Shaaban K. Mohamed (85) ve ark. tarafından İngiltere'de 2012 yılında yapılan çalışmada laboratuvar ortamında ibuprofen 3 ayrı kemoterapotik ajan olarak sentezlenmiş, elde edilen bu bileşiklerin *S.aureus*, *E.coli*, *B.subtilis*, *S.enterica*, *S.epidermidis*, *P.putida*, *P.aeruginosa*, *M.luteus*, *C.albicans*, *C.krusei*, *C.glabrata*'ya olan antibakteriyel ve antifungal etkinliğine invitro olarak Kirby bauer disk difüzyon yöntemiyle bakılmıştır. İbuprofen'in indolinhidrazide ile kombinasyonu sonucu elde edilen bileşiğe karşı, mantar ve bakterilerde antifungal ve antibakteriyel

etki yüksek olarak gözlenmiştir. Ancak bu etkinin bileşiğın içerisinde bulunan potansiyel farmakolojik etkileri bilinen thatistatinden mi yoksa ibuprofenin kendisinden mi kaynaklandığı anlaşılamamıştır. İbuprofenin benzene 1-4 dicarboldehyde ile elde edilen bileşiğında ise antifungal ve antibakteriyel etki düşük olarak gösterilmiştir.

Kumudhavalli ve ark (86) tarafından 2010 yılında Hindistan'da yapılan çalışmada ibuprofenin; invitro olarak bakteri ve mantarların üzerine antibakteriyel ve antifungal etkisi, Kirby bauer disk difüzyon yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Bakterilerden *S. aurues*, *E. coli*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, mantarlardan ise *C. albicans* çalışılmıştır. Bu mikroorganizmaların duyarlılık zon çapları ölçülerek kontrol grubundaki siprofloksasin ve tobramisine karşılaştırılmıştır. İbuprofenin invitro olarak *B. subtilis* ve *S. aurues*'a karşı güçlü antibakteriyel etkisinin varlığı ortaya konulurken *P. aeruginosa* ve *E. coli* için ise orta derecede antibakteriyel duyarlılık gözlenmiştir. İbuprofen'in mantarlar üzerinde de benzer etkisinin olabileceğitesbit edilmiştir.

İbuprofen ve bazı NSAİİ'lerin antibakteriyel etkisi ile ilgili olumlu veya olumsuz bildirimler veren invivo çalışmalar da bulunmaktadır (86, 87).

İbuprofenin *E. coli* LPS ile oluşan endoksemik aktivitesini sınırladığı tavşanlarda ve farelerde gösterilmiştir. İbuprofenin imidazol, oksadizol ve triazollerle yapılan kombinasyonlarında bu ilaçların antibakteriyel etkisini arttırdığı görülmüştür. Bu sonuç bir antiinflamatuvar ve analjezik olan ibuprofenin aynı zamanda antibakteriyel etkinliğinin varlığını da göstermiştir (86).

Grosso ve ark. (87) tarafından Brezilya'da 2003 yılında hayvan modeli ile yapılan çalışmada; stafilokok kaynaklı YDE'de sodyum diklofenak'ın serum ve dokuda amoksisilin konsantrasyonunu azaltarak yara iyileşmesini geciktirdiği saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda ibuprofenin antibakteriyel etkisi *invivo* ve *invitro* değerlendirilmemiştir. Ancak B grubunda gözlenen iştah kaybı canlılık azalması tüylerin dökülmesi gibi belirtiler Bİ grubunda gözlenmemiştir. Bİ grubunda nekroz başlangıcının B grubuna göre daha geç gerçekleşmesi, ve yine B grubunda görülen yara derinliğindeki artışın Bİ grubunda görülmeşi ve B grubunda görülen amputasyona bağlı ekstremitte kaybının Bİ grubunda hiçbir faredede olmayışı; ibuprofenin antibakteriyel etkisinin varlığını düşündürmektedir. Yara yerinden yapılacak olan bakteri sayımı gibi *invivo* çalışmalara ve özellikle *S.aureus*'la yapılacak *invitro* çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

İbuprofen ve ampisilin her ikisi de karaciğer sit p450 enzimi üzerinde indüksiyon veya inhibisyon oluşturmadıkları bilinmektedir. İbuprofen ve ampisilin beraber kullanımıyla ilgili yapılmış çalışmalar mevcuttur (88, 89).

Tigka ve ark. (90) tarafından adjuvant artritli ratlar üzerinde ampisilin ve NSAİİ kullanılarak yapılan çalışmada NSAİİ'lerin ampisilin binding proteini azaltarak serum ampisilin miktarını değiştirdiği bulunmuştur. Bu protein üzerinden etkileşim serumda mevcutken diğer dokular üzerinde görülmemiştir. Ayrıca bu değişimin adjuvant artritli vakalarda oluşu hastalığa özgü olabileceğini düşündürmüştür.

İbuprofen ve ampisilin klinikte beraber kullanımının tedaviye etkisi ile ilgili veriler sınırlı olmakla beraber daha çok akut otitis media (AOM) modeli üzerinde yapılan çalışmalar göze çarpmaktadır. Bazı çalışmalar enfeksiyonun sağaltımında ibuprofen ve ampisilin beraber kullanımının tek başına ampisilin kullanımına göre belirgin bir yararının olmadığı yönündeyken (91) bazı çalışmalarda çıkan sonuçlar ise adeta her iki ilacın beraber kullanımını teşvik etmektedir. Bu iki ilacın beraber kullanımındaki tarihsel süreç ise pozitif yönde ilerlemektedir.

Jung ve ark. (91) tarafından 1984 yılında yapılan çalışmada; pnömokokkal AOM tedavisi üzerinde penisilin ve ibuprofenin beraber kullanımının hastalığın seyrinde olumlu bir değişiklik oluşturmadığı bulunmuştur. Bu başarısızlığı bir

antiinflamatuvar olduğu halde ibuprofenin; eikonazoid sentezinde yer alan siklooksijenaz yolunu baskılması ile yolağın lipoksijenaz tarafına kayması sonucu lökotrien artışı ve mukozal inflamasyonun beklenin aksine artışı şeklinde yorumlamışlar, daha sonraki çalışmalarda efüzyon konsantrasyonundan alınan örneklerde lökotrien seviyesi iddianın aksine düşük olarak bulunmuş ve bu tez çürütülmüştür .

Diven ve ark. (91) tarafından 1994 yılında ABD’de yapılan benzer bir çalışmada; AOM hayvan modeli üzerinde ibuprofen ile ampisilin kombine tedavisinin hastalığın seyrine etkisi, histolojik olarak (mukoza kalınlığı) ve serolojik olarak (siklooksijenaz ürünlerinin ölçümü) değerlendirilmiştir. Sonuç olarak Jung ve ark.’nın aksine her iki ilacın kombine tedavisinin tek başına ampisilin kullanımına göre mukozal inflamasyonu ve inflamasyon alanındaki siklooksijenaz ürünlerinin oluşumunu azaltmak yönünde yararlı olduğu bulunmuştur.

Delprado ve ark (92) 2006 yılında İspanya’da yapmış oldukları çalışmada AOM tedavisi üzerinde amoksisilin ve eritromisinin ayrı ayrı ibuprofenle kombine kullanımı sırasında; orta kulak örneklerinden alınan sıvıda bakteri yükü değerlendirilmiş, her iki antibiyotiğin de ibuprofenle kombine tedavisi tek başına kullanımına oranla bakteri miktarını belirgin azaltmıştır. Prado ve ark. Weng ve ark.’nın (5) aksine ibuprofenin lökosit fagositozunu ve degranülasyonunu arttırarak bakteriyolojik etkisi bulunduğunu iddia etmişlerdir.

Bizim çalışmamızda başlangıç yara boyutu BA grubunda (39 mm<sup>2</sup>) BİA grubuna (45mm<sup>2</sup>) göre küçük bulunurken bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0.05). İlerleyen günlerde de bu iki grup arasında yara boyutlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (p>0.05). Serum ELISA değerlerinde her iki grup arasında TNF alfa, IL-1, IL-6 ve VEGF açısından tüm günlerde istatistiksel bir fark görülmemiştir (p>0.05). Her iki grupta da yaralar yüzeysel kalırken, 7. günde yara kapanması gerçekleşmemiştir. İmmünohistokimyasal reaksiyonlar değerlendirildiğinde her iki grup için benzer reaksiyonlar görülmüştür. Yara boyutları, HE boyama, immünohistokimyasal

reaksiyonlar ve serum sitokin seviyeleri dikkate alındığında prognozda; tek başına ampisilin kullanımının her iki ilacın beraber kullanımına göre çok belirgin bir fark olmasa da daha iyi olduğu yönündedir.

Bizim çalışmamızda Weng ve ark.'dan (5) farklı olarak YDE oluşumunda immünsüpresyon için siklofosfamid kullanılmıştır. Serum TNF alfa ELISA seviyeleri Weng ve ark'nın (5) aksine tüm gruplarda enfeksiyon varlığına rağmen 1., 3. ve 7. günde düşük olarak bulunmuştur. IL-6 seviyeleri ise belirgin olarak B grupunda yüksek olarak bulunmuştur. Bu yükseklik Bİ grubu ve BA grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.005$ ). İlk gün görülen bu yükseklik takip eden günlerde azalmıştır. Daha önceki çalışmalar ışığında bu yüksek serum IL-6 ve düşük TNF alfa ELISA değerlerinin siklofosfamid kullanımı ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür (93).

Marcinkiewicz ve ark. (93) tarafından 1994'te yapılmış olan çalışmada sunulan çalışmaya benzer sonuçlar elde edilmiş ve “düşük doz siklofosfamid kullanımının makrofajlardan IL-6 salınımını arttırarak, TNF alfa ve IL-1 salınımını ise azaltarak” etki gösterdiği sonucuna varılmıştır

Azotlu hardallardan olan siklofosfamid nitrojen mustard türevi alkilleyici antineoplastik bir ilaçtır. Sitotoksik etkisini DNA guaninin alkilleşmesi sonucu purin halkasında destruksiyon ve DNA replikasyonunda inhibisyon yoluyla oluşturmaktadır. siklofosfamid'in moleküler yapısı nitrojen mustardın metil grubuna bağlı oksazafosforin şeklindedir. Sitotoksik immünosüpresif ilaçların en güçlüsü olduğu kabul edilir ancak toksisitesinin fazlalığı nedeniyle, immünosüpresif ilaç olarak kısıtlı sayıdaki endikasyonlarda kullanılır. Başarılı bir antikanser ilacı olan siklofosfamid; ilk sentez edildiğinden bu yana yaklaşık 50 yıldır kemoterapik bir ajan olarak yaygın şekilde tercih edilmektedir. Özellikle birçok kanserde ve kan ve Kİ transplantasyonunda da kullanılmaktadır. Hem hematolojik ve hem de solid tümörlerin tedavisinde başarılı bulunmuştur. siklofosfamid güçlü immünosüpresif etkinlik göstermesi nedeniyle sadece malignitelerde değil; RA, behçet hastalığı, nefrotik sendrom ve diğer bazı otoimmün hastalıkların tedavisinde de

kullanılmaktadır. İntravenöz ve oral yolla uygulanabilmektedir. Karaciğerde aktif metaboliti olan fosforamid hardalına dönüşür. Bazen süpresör T lenfositleri baskılamak suretiyle paradoksik olarak immünoestimülasyon yaptığı bilinmektedir ( 94, 95, 96).

Siklofosfamidin sitokinler üzerine etkisi tartışmalı bir konudur. Bazı çalışmaların sonuçları siklofosfamidin sitokin seviyelerini arttırdığı yönüdeyken bazı çalışmaların sonuçları ise siklofosfamidin sitokin seviyelerinin azalttığı yönündedir (97, 98).

Chen ve ark. (97) tarafından 2013 yılında Çin’de 18-22 g ağırlığında 6-8 haftalık Balb/c erkek fareleri ile yapılan çalışmada; grupları; kontrol grubu ve aplastik anemili grup olarak ikiye ayırmışlar, kontrol grubuna hiçbir işlem yapılmazken, 2. gruptaki farelerde ışınlama ile aplastik anemi meydana getirilmiştir. Sonraki üç günde 40 mg/kg/gün olacak şekilde siklofosfamid ve 50 mg/kg/gün olacak şekilde kloramfenikol intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. IL-6 analizi, Kİ stromal hücrelerinden elde edilen süspansiyon ile yapılan ELISA yöntemiyle 4, 7 ve 10. günlerde değerlendirilmiştir. Yapılan bu çalışmada siklofosfamid ve kloramfenikol ile tedavi edilen aplastik anemi oluşturulmuş 2. grup farelerde IL-6 düzeyleri kontrol grubuna göre tüm günlerde yüksek saptanmıştır. Ayrıca siklofosfamid kullanan farelerde Kİ hücrelerinin diğer gruba göre azaldığı gözlemlenmiştir. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Herodin ve ark. (98) 1992 yılında ABD’de babunlar üzerinde radyasyonla ve siklofosfamid kullanarak oluşturdukları aplastik anemi modelinde IL-6 yüksekliği açısından Chen ve ark.’ninkine (97) benzer sonuç bulmuşlardır.

IL-6 çok çeşitli biyolojik aktiviteleri olan T ve B lenfositler, plazma hücreleri monosit ve fibroblastlar tarafından sentezlenen bir sitokindir. IL-6 üzerine yapılan son çalışmalarda, otoimmün neoplastik hastalıklar ve stres durumları dışında hematopoetik hücrelerin farklılaşmasında ve hematopoezin düzenlenmesinde tıpkı IL-3 ve eritropetin gibi görev aldığı gösterilmektedir. Bununla birlikte IL-6



proinflamatuvar bir sitokin olduğundan bir çok hastalığın patogenezinin sorumludur. IL-6 çok kompleks fonksiyona sahip bir sitokindir. Proinflamatuvar etkisinin yanında antiinflamatuvar etkisi de bulunmaktadır. Bu iki farklı fonksiyonuyla inflamatuvar yanıtta önemli rol oynamaktadır. Antiinflamatuvar yanıtının varlığı ile proinflamasyonun zararlı etkilerinden organizmayı korumaktadır. IL-6'nın RA, DM, HIV enfeksiyonu, pankreatit ve malignetelerde serum düzeyinin arttığı görülmektedir. Fonksiyonları tam anlaşılmış olmamakla beraber IL-6'nın aplastik anemi gibi hastalıklarda immün regülasyonda rol oynayarak inflamasyona neden olduğu zannedilmektedir. Radyasyon ve kemoterapiklerle oluşan aplastik anemi durumlarında Kİ hücre sayısının azalması IL-6'nın anormal yükselmesi ile ilişkili olabilir. Bazı araştırmacılara göre yüksek seviyelerdeki IL-6'nın Kİ stromal hücrelerinin çoğalmasını baskıladığı ve Kİ hücrelerinin destrüksiyonunu indüklediği düşünülmektedir. Yong ve ark.'nın yapmış oldukları çalışmada IL-6 seviyelerinin yüksekliği ile beraber Kİ lenfosit ve yağ hücrelerinde belirgin bir azalma görülmüş, bu azalmanın yükselen IL-6 seviyeleri ile ilişkili olabileceği üzerinde durulmuştur (97).

Son yıllarda IL-6'nın Kİ'de hematopoezdeki rolü merak konusu olmuştur. Bu mekanizmanın tam olarak anlaşılabilmesi için bu yönde çalışmalara gerek duyulmaktadır.

Bizim çalışmamızda IL-6 düzeyleri ilk günde sadece B grubunda yüksek olarak bulunurken, Bİ grubu ve BA grubunda bu yükseklik görülmemiştir. Serum IL-6 ortalama değeri 1. gün en yüksek bulunan B grubuyla, diğer gruplar ve kontrol grupları karşılaştırıldığında sırasıyla; Bİ grubu ( $p=0.03$ ), BA grubu ( $p=0.008$ ), sham grubu ( $p=0.004$ ) ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Aplastik anemi tablosunda Kİ biyopsisi değerlendirilmeli, Kİ IL-6 seviyeleri araştırılmalı ve IL-6'nın hematopoezdeki rolü aydınlatılmalıdır. İbuprofenin ve ampisilin'in aplastik anemi tablosuna etkinliği; IL-6 üzerinden araştırılmalıdır.

Beharry ve ark. (99) tarafından 2006'da ratlarda yapılan çalışmada indometazin ve ibuprofenin VEGF, IGF ve GH üzerine etkisi değerlendirilmiştir.

Yüksek ve düşük doz olmak üzere ibuprofen ve indometazin ile deney grubu oluşturulurken, kontrol grubu olarak da tuz kullanılmıştır. Düşük doz ve yüksek doz ibuprofen kullanılan deney grubunda retinada VEGF düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında baskılanmış olarak gözlenirken, iki grup arasında oluşan bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Her iki grupta serum VEGF seviyeleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Bizim çalışmamızda Weng ve ark.nın (5) çalışmasına ek olarak IL-1 ve VEGF seviyelerine de bakılmıştır. Serum IL-1 seviyeleri açısından Bİ grubuyla diğer gruplar arasında belirgin bir fark görülmemiştir. Bu sonuçlar Sirota ve arkadaşlarının (82) bulduğu serum IL-1 sonuçlarına benzemektedir. Dokuda IL-1 reaksiyonları Bİ grubunda 1., 3. ve 7. günlerde doku reaksiyonları zayıf pozitif veya negatif olarak görülürken, diğer gruplarla karşılaştırıldığında belirgin bir fark bulunmamıştır.

Garcia ve ark. tarafından (100) 2007 yılında Kaliforniya'da yapılan çalışmada 50 mg/gün oral siklofosfamid tedavisi alan over kanserli hastalarda plazma VEGF düzeyleri ELISA yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Yapılan bu çalışmada tedavi öncesinde bulunan serum VEGF düzeylerinin zamanla azaldığı ancak bu azalmanın klinik sonuç ile ilişkili olmadığı saptanmıştır.

Colleoni ve ark.'nın (101) 2001 yılında İtalya'da yaptıkları çalışmada; meme kanseri tanısı almış ve 50 mg/gün olacak şekilde oral siklofosfamid kullanan hastalarda ELISA yöntemiyle serumda VEGF düzeyleri araştırılmıştır. Yapılan bu çalışmada iki aylık siklofosfamid tedavisi sonrasında 48 hastanın serum VEGF düzeylerinde azalma olduğu saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda serum VEGF seviyeleri ise tüm gruplarda 3. günde 7. güne göre daha düşük bulunmuş, 7. günde ise anlamlı bir artış görülmüştür. Bu farkın kullanılan siklofosfamid ile ilişkili olabileceği düşünülmüş, 3. ve 7. gün için Bİ grubuyla diğer gruplar arasında belirgin bir fark görülmemiştir. Bu sonuç Beharry

ve ark.'nın bulmuş oldukları serum VEGF sonuçlarına benzemektedir. Bulmuş olduğumuz doku VEGF reaksiyonları ise Bİ grubunda; 1., 3. ve 7. günde diğer gruplara göre daha zayıf olarak görülmüştür. Bu sonuçlar da Beharry ve ark.'nın (99) bulmuş oldukları ibuprofen kullanımıyla dokuda oluşan düşük VEGF sonuçlarına benzemektedir.

VEGF, özellikle endotel hücreleri için özgül etkilere sahip olan çok yönlü trombosit kaynaklı bir büyüme faktörüdür. VEGF kronik inflamatuvar hastalıkları da kapsayan fizyolojik ve fizyopatolojik birçok olayda artmaktadır. Endotelial anjiogenesisin, kemotaksisin ve endotel hücrelerinde mitojenik etki ile damar gelişimini uyarmasının yanı sıra morfogenezde de önemli roller üstlendiği bilinmektedir. Trombositler, nötrofil, makrofaj, düz kas ve endotel hücreleri, fibroblastlar ve diğer birçok hücrelerden salınır. VEGF endotel yüzeyine eksprese edilen kendi reseptörlerine bağlanarak anjiogenesisi başlatır. VEGF reseptörleri tirozin kinaz reseptör ailesindedir. Bu reseptörler içinde anjiyogenez sürecinde en önemli rolü Flk-1/KDR reseptörü oynamaktadır. Flk-1/KDR alınan sinyali hücre içine ileterek hücre proliferasyonu ve kemotaksise neden olmaktadır. VEGF'nin mitojenik ve permeabilite oluşturmasında en önemli reseptörü VEGFR-2' dir.. VEGF-1 ise patolojik anjiogenesisi negatif yönde etkileyerek VEGFR-2'nin proanjiyogenik etkilerini azaltmaktadır. VEGF reseptörü en önemli neden hipoksi olmakla beraber, dokudaki düşük glikoz seviyeleri ve tümöral dokulardan salınan çeşitli büyüme faktörleri etkisiyle hücre yüzeyine eksprese olur. Bu durum tümöral dokulardaki anjiogenesisi ve artan VEGF miktarını açıklayabilir. Anti-apoptotik proteinlerin sentezinin artması veya anti-apoptotik sinyal yollarının aktivasyonu ile oluşan neoanjiogenesis; özellikle solid tümörlerin progresyonunda anahtar rol oynamaktadır. Ayrıca antianjiyogenik ajanlarla yapılan hayvan çalışmalarında kapiller retraksiyon oluşumu ile nekroz oluştuğu, metastazların azaldığı ve primer tümör odağının da küçüldüğü gözlenmiştir. Bu bilgiler ışığında geliştirilen ve klinik olarak halen kullanılan antianjiyogenik ajanlar mevcuttur. Çok yaygın olarak kullanılan siklofosfamid, doksorubisin ve paklitaksel gibi antikanser ilaçlarının anti anjiyogenik etkileri bilinmektedir. Siklofosfamid kullanımının Kİ hücrelerini baskılayarak başta trombositler olmak üzere birçok kan hücrelerinin sayısını azalttığı

bilinmektedir. Azalan trombosit sayısı ve VEGF nin de trombositlerin ana kaynağı olduğu düşünülürse siklofosfamid kullanımıyla oluşan VEGF düşüklüğünün nedeni anlaşılabilir (101, 102, 103, 104).

## SONUÇ VE ÖNERİLER

1. B grubunda ve Bİ grubunda yara boyutları ikinci günden son güne kadar belirgin bir değişim göstermemiştir.
2. BA grubu ile BİA grubunda yara boyutları hergün kademeli olarak küçülerek devam etmiştir.
3. B grubunda günler içinde yara derinliğinde artış gözlenirken Bİ grubunda ise yara derinliği yüzeysel kalmıştır.
4. B grubu ve Bİ grubunda yarada nekroz oluşmuştur. B grubunda nekroz oluşumu Bİ grubuna göre daha erken oluşmuştur.
5. B grubunda ilerleyen günlerde amputasyona bağlı ekstremitte kaybı gözlenirken bu tablo diğer hiçbir grupta görülmemiştir.
6. BA ve BİA grubunda yara derinliği yüzeysel kalırken, nekroz ve amputasyona bağlı ekstremitte kaybı gözlenmemiştir.
7. Serum TNF alfa ve IL-1 ortalama seviyelerinde 1., 3. ve 7. günlerde Bİ grubuyla diğer gruplar arasında istatistiksel bir fark görülmemiştir ( $p>0.05$ ).
8. Serum IL-6 ortalama değeri 1.günde B grubunda diğer gruplara göre yüksek olarak bulunmuştur. Bu fark Bİ grubu, BA grubu ve sham grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Birinci günde oluşan bu fark 2. ve 3. günde ortadan kalkmıştır.
9. Serum IL-6 ortalama değerinde 1., 3, ve7. günlerde Bİ grubuyla diğer gruplar arasında istatistiksel bir fark görülmemiştir.

10. Tüm gruplarda üçüncü günde düşük olarak görülen serum VEGF değerleri 7. Günde belirgin olarak artmıştır. Bİ grubuyla diğer çalışma grupları arasında 3. ve 7. günde belirgin istatistiksel bir fark oluşmamıştır.

11. İmmünohistokimyasal incelemelerde tüm gruplarda TNF alfa ve IL-1doku reaksiyonları zayıf pozitif veya negatif olarak görülürken Bİ grubuyla diğer gruplar arasında belirgin bir fark görülmemiştir.

12. İmmünohistokimyasal incelemelerde IL-6 reaksiyonu üçüncü günde Bİ grubunda negatif olarak görülmüş, diğer günlerde Bİ grubuyla diğer gruplar arasında belirgin bir fark görülmemiştir.

13. İmmünohistokimyasal incelemelerde VEGF reaksiyonu 1, 3 ve 7. günde Bİ grubunda diğer gruplara göre benzer ya da daha zayıf olarak görülmüştür.

14. İmmünohistokimyasal incelemeler yedinci günde B grubunda epitel ve epitel altı bağ dokusu izlenmemiştir.

15. H.E. boyamada B grubunda epitel kaybı 1. günde başlamış, 3. günde artmış ve 7. günde epitel tamamen kaybolmuştur. Diğer üç grupta ise epitel varlığı 7. güne kadar devam etmiştir. Yedinci günde BA grubu ile BİA grubunda epitel kalınlığı ve keratinizasyonun Bİ grubuna göre daha belirgin olduğu görülmüştür.

Bu sonuçlar ışığında; ibuprofenin *S.aureus* nedenli YDE'lerde yara iyileşmesine olumsuz etkisinin bulunmadığı sonucuna varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Rajan S. Skin and soft-tissue infections: classifying and treating a spectrum. *Cleve Clin J Med* 2012;79(1):57-66.
2. Hersh AL, Chambers HF, Maselli JH, Gonzales R. National trends in ambulatory visits and antibiotic prescribing for skin and soft-tissue infections. *Arch Intern Med* 2008;168:1585-91.
3. Dryden MS. Complicated skin and soft tissue infection. *J Antimicrob Chemother* 2010;65.
4. Templer SJ, Brito MO, Bacterial Skin and Soft Tissue Infections. *Hospital Physician* 2009;9-16.
5. Weng TC, Chen CC, Toh HS, Tang HJ. Ibuprofen worsens *Streptococcus pyogenes* soft tissue infections in mice. *J Microbiol Immunol Infect* 2011;44:418-23.
6. Kayaalp SO. *Tıbbi Farmakoloji 2nci Cilt* 8. Baskı Ankara: Hacettepe Taş Yayıncılık 1992;1043-45.
7. Aronoff DM, Bloch KC. Assessing the relationship between the use of nonsteroidal antiinflammatory drugs and necrotizing fasciitis caused by group A streptococcus. *Medicine (Baltimore)* 2003;82:225-35.
8. Eter EG, Khazzaka A, Mneimneh W, Karam-Sarkis D, Haddad A, Sarkis R. Does diclofenac increase the risk of cervical necrotizing fasciitis in a rat model? *Int J Exp Pathol* 2009;90:58-65.
9. Götz F, Bannerman T, Schleifer KH. The Genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*. Dworkin M , Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E, eds. *The Prokaryotes* 6th Ed springer 2006;4:5–75.

10. Murray PR. Klinik mikrobiyoloji Başustaoğlu A. 9.baskı cilt-1 Ankara: Atlas kitapçılık 2009;309-405.
11. Ustaçelebi Ş. Temel Ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi 1999;339-50.
12. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları 10.baskı İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi 2000;240-68.
13. Giesbrecht P, Kersten T, Maidhof H, Wecke J. Staphylococcal cell wall: morphogenesis and fatal variations in the presence of penicillin. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998;62:1371-1414.
14. Swoboda JG, Campbell J, Meredith TC, Walker S. Wall teichoic acid function, biosynthesis, and inhibition. *Chembiochem* 2010;11:35-45.
15. Widaa A, Claro T, Foster TJ, O'Brien FJ, Kerrigan SW. Staphylococcus aureus protein A plays a critical role in mediating bone destruction and bone loss in osteomyelitis. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998;62:1371-1414.
16. Özkan S, Sultan N, Avunduk M, Aybay C, Dağlı M, İmir T. Stafilokokkal protein A ve endotoksin kombinasyonunun kanserli hastalarda NK ve LAK hücreleri üzerine etkisi. *Türkiye Tıp Dergisi* 1998;5:227-34.
17. Visai L, Yanagisawa N, Josefsson E, Tarkowski A, Pezzali I, Rooijackers SH, et al. Immune evasion by Staphylococcus aureus conferred by iron-regulated surface determinant protein IsdH. *PLoS One* 2012;7:667–79.
18. O'Riordan K, Lee JC. Staphylococcus aureus capsular polysaccharides. *Clin Microbiol Rev* 2004;17:218-34.



19. Topçu AW. İnfeksiyon Hastalıkları İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri 1996;773-81.
20. Bokarewa MI, Jin T, Tarkowski A. Staphylococcus aureus: Staphylokinase. Int J Biochem Cell Biol 2006;38:504–09.
21. Hynes WL, Walton SL. Hyaluronidases of Gram-positive bacteria FEMS Microbiol Lett 2000;183:201-07.
22. Hu C, Xiong N, Zhang Y, Rayner S, Chen S. Functional characterization of lipase in the pathogenesis of Staphylococcus aureus. Biochem Biophys Res Commun 2012;419:617-20.
23. Berends ET, Horswill AR, Haste NM, Monestier M, Nizet V, Von Köckritz-Blickwede M. Nuclease expression by Staphylococcus aureus facilitates escape from neutrophil extracellular traps. J Innate Immun 2010;2:576-86.
24. Yaşar KK, Bilir YA, Pehlivanoğlu F, Şengöz G. Stafilokok suşlarında slaym faktör pozitifliği, metisilin ve antibiyotik direnci. ANKEM Derg 2011;25:89-93.
25. Resch A, Rosenstein R, Nerz C, Götz F. Differential gene expression profiling of Staphylococcus aureus cultivated under biofilm and planktonic conditions. Appl Environ Microbiol 2005;1:2663-76.
26. Archer GL. Staphylococcus aureus: a well-armed pathogen. Clin Infect Dis 1998;5:1179-81.
27. Miedzobrodzki J, Kaszycki P, Bialecka A, Kasprowicz A. Proteolytic activity of Staphylococcus aureus strains isolated from the colonized skin of patients with acute-phase atopic dermatitis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2002;21:269-76.

28. Miall LS, McGinley NT, Brownlee KG, Conway SP. Proteolytic activity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from the colonized skin of patients with acute-phase atopic dermatitis. *Arch Dis Child* 2001;84:160-62.
29. Appelbaum PC. Microbiology of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 2007;45:165–70.
30. Bhakdi S, Tranum-Jensen J. Alpha-toxin of *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Rev* 1991;55:733-51.
31. Bien J, Sokolova O, Bozko P. Characterization of virulence factors of *Staphylococcus aureus*: Novel function of known virulence factors that are implicated in activation of airway epithelial proinflammatory response. *J Pathog* 2011;2011:1-13.
32. Walev I, Weller U, Strauch S, Foster T, Bhakdi S. Selective killing of human monocytes and cytokine release provoked by sphingomyelinase (beta-toxin) of *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun* 1996; 64:2974-79.
33. Wiseman GM. The hemolysins of *Staphylococcus aureus*. *Bacteriol Rev* 1975;39:317-44.
34. Burnside K, Lembo A, De Los Reyes M, Iliuk A, Binhtran NT, Connelly JE, et al. Regulation of hemolysin expression and virulence of *Staphylococcus aureus* by a serine/threonine kinase and phosphatase. *PLoS One* 2010;5:1-16.
35. Ritz N, Curtis N. The role of Panton-Valentine leukocidin in *Staphylococcus aureus* musculoskeletal infections in children. *Pediatr Infect Dis J* 2012;31:514-18.
36. Boyle-Vavra S, Daum RS. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the role of Panton-Valentine leukocidin. *Lab Invest* 2007;87:3-9.

37. Ünal N. Subklinik mastitisli inek sütlerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* izolatlarında bazı toksin genleri ve metisilin direnç geninin araştırılması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2013;60:21-26.
38. Bhatia A, Zahoor S. *Staphylococcus Aureus* Enterotoxins: A Review. *J Clin Diagn Res* 2007;1:188-97.
39. Koneman E. *Konemans Color Atlas And Textbook Of Diagnostic Microbiology Sixth Edition Philadelphia: Lipincott Williams &Wilkins* 2006;624-38.
40. Sospedra I, Manes J, Soriano J.M. Report of toxic shock syndrome toxin1 (TSST-1) from *Staphylococcus aureus* isolated in food handlers and surfaces from foodservice establishments. *Ecotoxicol Environ Saf* 2012;80:288–90.
41. Bilen N, Aktürk AŞ. İnfeksiyöz ajanlara bağlı ölümcül olabilen deri Hastalıkları Skin diseases caused by infectious agents which may be fatal. *Türkiye Klinikleri J Dermatol-Special Topics* 2010;3:65-72.
42. Ki V, Rotstein C. Bacterial skin and soft tissue infections in adults: A review of their epidemiology, pathogenesis, diagnosis, treatment and site of care. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2008;19:173-84.
43. Stevens DL, Bisno AL, Chambers HF, Everett ED, Dellinger P, Goldstein EJ, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of skin and soft-tissue infections. *Clin Infect Dis* 2005;41:1373-1406.
44. Breen JO. Skin and soft tissue infections in immunocompetent patients. *Am Fam Physician*. 2010;81:893-99.
45. Gündeş G S. Toplum Kökenli Enfeksiyonların Tedavisi: Cilt ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları. *EKMUD Bilimsel Platformu*; 5-8 Ekim 2006; Bilkent Otel ve Konferans Merkezi, Ankara;95-107.

46. Seaton A. Skin and soft tissue infection. *Clinical Pharmacist* 2009;13-22.
47. Koning S, van der Sande R, Verhagen AP, van Suijlekom-Smit LW, Morris AD, Butler CC, et al. Interventions for impetigo. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;18:2-4
48. Ağuş N. Toplum Kökenli İnfeksiyonlarının Sağaltımına Akılcı Yaklaşımlar: Deri ve Yumuşak Doku enfeksiyonları XIII Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi; 14-18 Mart 2007; Antalya. *Klimik Derg. Klimik Derg* 2007;20(özel sayı 1) 81-85.
49. Tüzün Y. *Dermatoloji 3 üncü Baskı. İstanbul Nobel Tıp Kitabevi* 2008;(382/404).
50. Iyer SP, Kadam P, Gore MA, Subramaniyan P. Excision of carbuncle with primary split thickness skin grafting as a new treatment modality. *Int Wound J* 2012;10.
51. Buğra D. Hastane Dışı Cilt ve Yumuşak Doku Enfeksiyonlarında Antimikrobik Tedavi. *Ankem Derg* 1991;5:275-81.
52. Academy of Breastfeeding Medicine Protocol Committee. ABM clinical protocol #4: mastitis. Revision, May 2008. *Breastfeed Med* 2008;3:177-80.
53. Edlich RF, Winters KL, Britt LD, Long WB . Bacterial diseases of the skin. *J Long Term Eff Med Implants* 2005;15:499-510.
54. Çelik M, Elaldı N, Engin A, Dökmetaş İ, Bakır M. Selülitte ardışık intravenöz Levofloksasin ve oral Levofloksasin ile İntravenöz Seftriakson ve oral Sefiksime tedavisinin etkinliğinin karşılaştırılması *C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 2005;27:153 – 160.

55. Turhan Ö, Saba R, Öngüt G, Yalçın AN, Latife Mamıkoğlu. Bir üniversite hastanesinde izlenen 68 selülit olgusunun değerlendirilmesi. *Klimik Dergisi* 2006;19:114-16.
56. Yapar N. Diyabetik ayak enfeksiyonunda antimikrobik tedavi XIII Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi; 14-18 Mart 2007; Antalya. *Klimik Derg* 2007;20(özel sayı 1):56-60.
57. Ertuğrul M B, Baktıroğlu S. Diyabetik ayak ve osteomyeliti. *Klimik Dergisi* 2005;18: 8-13.
58. Lipsky BA, Berendt AR, Deery HG, Embil JM, Joseph WS, Karchmer AW. Diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Clinical Infectious Diseases* 2004;39:885–910.
59. Gadepalli R, Dhawan B, Sreenivas V, Kapil A, Ammini AC, Chaudhry R. A clinico-microbiological study of diabetic foot ulcers in an Indian tertiary care hospital. *Diabetes Care* 2006;29:1727-32.
60. Reddy M, Gill SS, Rochon PA. Preventing pressure ulcers: a systematic review. *JAMA* 2006;296:974-84.
61. Livesley NJ, Chow AW. Infected pressure ulcers in elderly individuals. *Clin Infect Dis* 2002;35:1390-96.
62. Kayaalp SO. *Tıbbi Farmakoloji 2nci Cilt* 11. Baskı Ankara:Hacettepe Taş Yayıncılık 2005:837-70.
63. Smith And Reynard Text Book Of Pharmacology ABD WB Sanders Company 1992;401-436.

64. Rainsford KD. Ibuprofen: pharmacology, efficacy and safety. *Inflammopharmacology*. 2009;17:275-342.
65. Baykal Y, Karaayvaz M, Kutlu M. İnterlökinler. *T Klin J Med Sci* 1998;18:77-84.
66. Güner İ, Özmen D, Bayındır O. Sitokinler *T Klin J Med Sci* 1997;17:65-74.
67. Heinrich PC, Castell JV, Andus T. Interleukin-6 And The acute phase response. *Biochem J* 1990;265:621-36.
68. Bilgehan H. *Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Birimi* 10.Baskı İzmir: Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları 2002;349-359
69. Barnes TC, Anderson ME, Moots RJ. The many faces of interleukin-6: the role of IL-6 in inflammation, vasculopathy, and fibrosis in systemic sclerosis. *Int J Rheumatol* 2011;2011:1-6.
70. Bradley JR. TNF-mediated inflammatory disease. *J Pathol* 2008;214:149-60.
71. Yazır Y, Gonca S, Filiz S, Dalçık H. Endotel hücreleri için önemli bir protein ailesi; vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), ailenin üyeleri, yapısı ve sentezi. *C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 2004;26:181-84.
72. Erol N. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü ve Anti-VEGF ajanlar. *Ret-Vit* 2007;15:(Özel Sayı)35-40.
73. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J* 1999;13:9-22.
74. Dai T, Kharkwal GB, Tanaka M, Huang YY, Bil de Arce VJ, Hamblin MR. Animal models of external traumatic wound infections. *Virulence* 2011;2:296-315.

75. Calame W, Feitsma HI, Ensing GJ, Goedemans WT, Camps JA, Van Furth R. Detection of a local staphylococcal infection in mice with technetium-99m-labeled polyclonal human immunoglobulin. *J Nucl Med* 1991;32:468-74.
76. Mal P, Ghosh D, Bandyopadhyay D, Dutta K, Bishayi B. Ampicillin alone and in combination with riboflavin modulates *Staphylococcus aureus* infection induced septic arthritis in mice. *Indian J Exp Biol* 2012;50:677-89.
77. Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature* 2002;420:885-91.
78. Lowy FD. Staphylococcal Infections. In: Anthony S. Fauci and Dennis L. Kasper, eds. *Harrison's Infectious Diseases* 2010;386-99.
79. Guibal F, Muffat-Joly M, Terris B, Garry L, Morel P, Carbon C. Effects of diclofenac on experimental streptococcal necrotizing fasciitis (NF) in rabbit. *Arch Dermatol Res.* 1998;290:628-33.
80. Souyri C, Olivier P, Grolleau S, Lapeyre-Mestre M. Severe necrotizing soft-tissue infections and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Clin Exp Dermatol* 2008;33:249-55.
81. Rissing JP, Buxton TB. Effect of ibuprofen on gross pathology, bacterial count and levels of prostaglandin E2 in experimental staphylococcal osteomyelitis. *J Infect Dis.* 1986;154:627-30.
82. Sirota L, Shacham D, Punskey I, Bessler H. Ibuprofen affects pro- and anti-inflammatory cytokine production by mononuclear cells of preterm newborns *Biol Neonate* 2001;79:103-08.

83. Ehsani M, Moghadamnia AA, Zahedpasha S, Maliji G, Haghanifar S, Mir SM, et al. The role of prophylactic ibuprofen and N-acetylcysteine on the level of cytokines in periapical exudates and the post-treatment pain. *Daru* 2012;20:30.
84. Sepehri G, Pourranjbar M, KashanianM, Khachaki AS, Sepehri E. The effect of a prophylactic dose of ibuprofen of plasma level of Interleukin 1, Interleukin 6 and Tumor Necrosis Factor-Alpha in a 1500 m running practice *Am J Appl Sci* 2011;8:50-54.
85. Mohamed SK, Albayati M, Omara W A. M, Abdelhamid AA, Potgeiter H, Hameed AS, Al-Janabi KM. Functionalization of ibuprofen core structure compound: Part 1 Synthesis of potential chemotherapeutic agents incorporated ibuprofen substructure and their in vitro antimicrobial study *J Chem Pharm Res* 2012;4:3505-3517.
86. Kumudhavallı M.V, Chandira M, Sripriya D, Jayakar B. Studies on synthesis, method development, characterization and antimicrobial activities of ibuprofen lysinate *J Pharma Bio Sci* 2010;2:1-25.
87. Groppo FC, Simões RP, Ramacciato JC, Rehder V, de Andrade ED, Mattos-Filho TR Effect of sodium diclofenac on serum and tissue concentration of amoxicillin and on staphylococcal infection. *Biol Pharm Bull* 2004; 27:52-5.
88. Kayaalp SO. *Tıbbi Farmakoloji 2nci Cilt* 11. Baskı Ankara: Hacettepe Taş Yayıncılık 2005:48-51.
89. Öncül O. Akılcı antibiyotik kullanımı ve erişkinde toplumdan edinilmiş enfeksiyonlar/Antibiyotikler 1. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri 2002;31:23-38.
90. Tigka E, Daskala I, Rallis G, Anagnostopoulou S, Tesseromatis. Adjuvant arthritis-induced changes on ampicillin binding in serum and tissues under the influence of non-steroidal anti-inflammatory drugs in rats. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 2005;4:235-41.



91. Diven WF, Evans RW, Alper C, Burckart GJ, Jaffe R, Doyle WJ. Treatment of experimental acute otitis media with ibuprofen and ampicillin. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1995;33:127-39.
92. Delprado G, Martínez MC, Huelves L, Gracia M, Rodríguez CV, Fernández RR, et al. Impact of ibuprofen therapy in the outcome of experimental pneumococcal acute otitis media treated with amoxicillin or erythromycin. *Pediatr Res.* 2006 ;60:555-9.
93. Marcinkiewicz J, Bryniarski K, Ptak W. Cyclophosphamide uncovers two separate macrophage subpopulations with opposite immunogenic potential and different patterns of monokine production. *Cytokine* 1994;6:472-7.
94. Emadi A, Jones RJ, Brodsky RA. Cyclophosphamide and cancer: golden anniversary. *Nat Rev Clin Oncol* 2009;6:638-47.
95. Atagündüz P. Antikanser ilaçlar. Oktay Ş, İstanbul:. 2. baskı, Nobel Tıp Kitabevi, 1998: 373-400.
96. Kayaalp SO. İmmün sistem bozuklukları ve immünomodülatör ilaçlar. Rasyonel TedaviYönünden Tıbbi Farmakoloji 11.Baskı Ankara :Hacettepe Taş Yayıncılık 2005;344-53
97. Chen YF, Wu ZM, Xie C, Bai S, Zhao LD. Expression level of IL-6 secreted by bone marrow stromal cells in mice with aplastic anemia. *ISRN Hematol* 2013;986219:1-6.
98. Herodin F, Mestries JC, Janodet D, Martin S, Mathieu J, Gascon MP, Recombinant glycosylated human interleukin-6 accelerates peripheral blood platelet count recovery in radiation-induced bone marrow depression in baboons. *Blood.* 1992;80:688-95.

99. Beharry KD, Modanlou HD, Hasan J, Gharraee Z, Abad-Santos P, Sills JH, et al. Comparative effects of early postnatal ibuprofen and indomethacin on VEGF, IGF-I, and GH during rat ocular development. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47:3036-43.
100. Garcia AA, Hirte H, Fleming G, Yang D, Tsao-Wei DD, Roman L, et al. Phase II clinical trial of bevacizumab and low-dose metronomic oral cyclophosphamide in recurrent ovarian cancer: a trial of the California, Chicago, and Princess Margaret Hospital phase II consortia. *J Clin Oncol* 2008;26:76-82.
101. Colleoni M, Rocca A, Sandri MT, Zorzino L, Masci G, Nolè F et al. Low-dose oral methotrexate and cyclophosphamide in metastatic breast cancer: antitumor activity and correlation with vascular endothelial growth factor levels. *Ann Oncol* 2002;13:73-80.
102. Wollenhaupt K. Expression of epidermal growth factor receptor (EGF-R), vascular endothelial growth factor receptor (VEGF-R) and fibroblast growth factor receptor (FGF-R) systems in porcine oviduct and endometrium during the time of implantation. *Reprod Dev* 2004;50:269-278.
103. Dvorak HF. Vascular permeability factor/ vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. *J Clin Oncol* 2002;20:4368-4380.
104. Kliche S. VEGF receptor signaling and endothelial function. *JUBMB Life* 2001;52:61-66.