

TC
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ
ANABİLİM DALI

**RATLARDA CERULEİN VE GLİKODEOKSİKOLİK ASİT İLE
OLUŞTURULAN AKUT NEKROTİZAN PANKREATİTTE
LOKAL ORGAN HASARI ÜZERİNE TEMPOL'ÜN ETKİSİ
(DENEYSEL ÇALIŞMA)**

UZMANLIK TEZİ

DR.HALİL ERBİŞ
PROF. DR. ERGÜN ERDEM

DENİZLİ-2007

TC
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ
ANABİLİM DALI


**RATLARDA CERULEİN VE GLİKODEOKSİKOLİK ASİT İLE
OLUŞTURULAN AKUT NEKROTİZAN PANKREATİTTE
LOKAL ORGAN HASARI ÜZERİNE TEMPOL'ÜN ETKİSİ
(DENEYSEL ÇALIŞMA)**


UZMANLIK TEZİ


DR.HALİL ERBİŞ
PROF. DR. ERGÜN ERDEM


DENİZLİ-2007


İş bu çalışma jürimiz GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan Prof.Dr. Ergün ERDEM 

Üye Prof.Dr. Akın ÖZDEN 

Üye Prof.Dr. Uğur SUNGURTEKİN 

Üye Doç.Dr. Burhan KABAY 

Üye Doç.Dr.H. Çağatay AYDIN 

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

31/5/2007
DEKAN

Prof. Dr. Hüseyin BİNGÖL
Dekan

TEŐEKKÜR

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakóltesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'ındaki Uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük katkı ve emekleri geçen, değerli hocalarım ve bana destek sağlayan sevgili asistan arkadaşlarıma anabilim dalı başkanımız değerli hocam sayın Prof. Dr. Ergün Erdem'in kişiliğinde ayrı ayrı teőekkürlerimi sunarım.

Tezimin tüm aşamalarında ve cerrahi konusundaki değerli bilgilerini bana aktaran ve daima teővik gördüğüm sayın hocam Prof.Dr. Ergün Erdem'e teőekkürü borç bilirim.

Dr.Halil ERBİŞ

İÇİNDEKİLER

I- GİRİŞ	1
II- GENEL BİLGİLER	2
1) PANKREAS ANATOMİSİ	2
2) AKUT PANKREATİT	4
3) SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ	25
4) TEMPOL	32
III- GEREÇ VE YÖNTEM	37
1) HAYVANLAR	37
2) İLAÇLAR	37
3) AKUT PANKREATİT OLUŞTURULMASI	38
4) ÇALIŞMA GRUPLARI	40
5) DOKU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI	43
6) HİSTOPATOLOJİK İNCELEMELER	43
7) BİYOKİMYASAL İNCELEMELER	45
8) ORGAN YAŞ/KURU AĞIRLIK ORANLARI	46
9) İSTATİSTİKSEL METOD	47
IV- BULGULAR	48
1) BİYOKİMYASAL İNCELEMELER	48
A) SERUM İNCELEMELERİ	48
B) DOKU İNCELEMELERİ	50
2) ORGAN YAŞ/KURU AĞIRLIK ORANLARI	52
3) HEMATOLOJİK İNCELEMELER	53
4) HİSTOPATOLOJİK İNCELEMELER	54
V- TARTIŞMA	59
VI- SONUÇLAR	65
VII- ÖZET	66
VIII- YABANCI DİLDE ÖZET	67
IX- KAYNAKLAR	68

TABLULAR ÇİZELGESİ

Tablo – 1 : Akut Pankreatitte Terminoloji	5
Tablo – 2 : Akut Pankreatitte Etiyolojik Faktörler	6
Tablo – 3 : Hiperamilazemi yapan nedenler	14
Tablo – 4 : Akut pankreatit tomografi bulguları	17
Tablo – 5 : Balthazar Klasifikasyonu ve BT Şiddet Skoru	17
Tablo – 6 : Ranson Prognostik Kriterleri	19
Tablo – 7 : Imrie Kriterleri	20
Tablo – 8 : Akut Pankreatit Doğal Seyri	20
Tablo – 9 : Akut pankreatitin komplikasyonları	24
Tablo – 10 : ROS Meydana Gelen Durumlar	26
Tablo – 11 : Reaktif Oksijen Türleri	28
Tablo – 12 : Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) Oluşum Yolları	28
Tablo – 13 : ROS'ların Tayin Yöntemleri	31
Tablo – 14 : Pankreas Histopatolojik Skorlama Sistemi	44
Tablo – 15 : Biyokimyasal Değerler ve Kan Gazı Analizi	48
Tablo – 16 : Hematolojik değerler	53
Tablo – 17 : Histopatolojik bulgular	54

ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

Şekil 1 : Sağ internal juguler venin bulunup askıya alınması	39
Şekil 2 : Sağ internal juguler ven kateterinin tespiti ve supraskapular alana 16 gauge branül ile tünel yapılarak çıkarılması	39
Şekil 3 : Pankreatik kanalın 24 gauge kateter ile kanülasyonu	40
Şekil 4 : Tempol'ün infüzyon şeklinde verilmesi	42
Şekil 5 : Pankreas MDA seviyelerinin gruplara göre dağılımı	51
Şekil 6 : Pankreas MPO seviyelerinin gruplara göre dağılımı	52
Şekil 7 : Pankreas dokusu yağ/kuru ağırlık oranının gruplara göre dağılımı	53
Şekil 8 : Sham grubuna ait pankreas dokusunun mikroskopik görüntüsü	55
Şekil 9 : ANP grubuna ait pankreas dokusunda asiner nekroz alanlarının mikroskopik görüntüsü	56
Şekil 10 : ANP grubuna ait pankreas dokusunda yağ nekrozu, perivasküler inflamasyon ve ödem alanlarının mikroskopik görüntüsü	57
Şekil 11 : Tempol grubuna ait pankreas dokusunun mikroskopik görüntüsü	58
Şekil 12 : ANP + Tempol grubuna ait pankreas dokusunun mikroskopik görüntüsü	58

KISALTMALAR ÇİZELGESİ

ERCP	Endoskopik retrograt kolanjiopankreatografi
crp	c reaktif protein
ALP	Alkelen fosfataz
GGT	Gama glutamil transpeptidaz
ALT	Alanin amino transferaz
AST	Aspartat amino transferaz
P. Amilaz	Pankreatik Amilaz
Ca	Kalsiyum
AC	Akciğer
USG	Ultrasonografi
BT	Bilgisayarlı Tomografi
BTŞS	Bilgisayarlı Tomografi Şiddet Skoru
MRCP	Manyetik Rezonans Kolanjiopankreatografi
AKŞ	Açlık kan şekeri
LDH	Laktat dehidrogenaz
BUN	Kan üre azotu
SIRS	Sistemik İnflamatuvar Cevap Sendromu
ARDS	Adult Respiratuvar Distres Sendromu
TNF α	Tümör Nekrozis Faktör alfa
ROS	Reaktif Oksijen Türleri (Reactive Oxygen Species)
SOD	Süperoksit Dismutaz
GSH	Glutasyon Peroksidaz
PMN	Polimorfonükleer lökositler
LTB ₄	Lökotrien B ₄
PAF	Trombosit Aktive Edici Faktör
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
MPO	Myeloperoksidaz
ESR	Elektron Spin Rezonans Spektroskopisi
MDA	Malondialdehid
DMSO	Dimetil Sülfoksit

PD	Lipid Peroksid
TBARS	Tiobarbiturik Asit Reaktif Maddeler
Tempol	4 – hidroksi - 2, 2, 6, 6 – tetrametilpiperidin – <i>N</i> – oksil
DCF	Dikloroflüoresein
MCP – 1	Monosit Kemotaktik Protein-1
IL	İnterlökin
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
MOF	Çoklu Organ Yetmezliği
DNA	Deoksiribonükleik Asit
ANP	Akut Nekrotizan Pankreatit
PMSF	Phenylmethanesulphonyl Fluoride
EDTA	Ethylenediamin Tetra Asetik Asitte
TMB	Tetrametil Benzidin
M	Mean, Oratlama
SEM	Standart Error of Mean, Standart Hata
HE	Hematoxylin-Eosin

I – GİRİŞ

Akut pankreatit klinik olarak akut ödematöz pankreatitten öldürücü infekte pankreatik nekroza kadar değişik şiddetlerde görülebilen ve mortalitesi % 5-10'lara çıkabilen bir hastalıktır. Çoğu hastada orta düzeyde, kendi kendisini sınırlar şeklindedir ve prognoz iyidir. Pankreatik nekroz ile karakterize ve uzak organ yetmezliği olan % 10-20 hasta grubunda ise mortalite % 40 lara ulaşabilmektedir (13, 14).

Etiyolojiden bağımsız olarak, akut pankreatit sindirim enzimlerinin prematür hücre içi aktivasyonu ile birlikte primer asiner hücre ölümünden kaynaklanır. Proteaz, amilaz, lipaz, fosfataz ve elastaz gibi aktive edilmiş enzimlerin parankim içine salınımı, pankreasın ve çevre organların kendi kendisini sindirmesine yol açar. Hasar görmüş asinüs hücrelerinden serbest oksijen radikalleri açığa çıkar. Serbest radikaller lökositleri inflamasyon sahasına çekerler. Lökositlerden açığa çıkan medyatörler ve sitokinler organizma için tahrip edicidir. Akut pankreatitte önemli rol oynadığı sanılan sitokinler ve serbest oksijen radikalleri akut pankreatitin ilerlemesinde ve uzak organ işlev bozukluğunda önemli rol alırlar.

Tempol, biyolojik membranları geçip sitozolde biriken düşük moleküler ağırlıklı stabil bir piperidin nitroksid'tir. Tempol'un yararlı etkilerinin pekçoğu bu ajanın hücre içerisinde hidroksil radikallerini temizleyebilmesine bağlıdır. Tempol'un inflamasyona bağlı doku hasarını azalttığı konusunda kanıtlar vardır. Sıçanlarda serulein ve glukodeoksikolik asitin birlikte kullanılması ile akut nekrotizan pankreatit oluşmaktadır. Thiemermann ve arkadaşları, sıçanlarda inflamasyon ile giden, pankreatit, plörezi, artrit ve çoklu organ yetmezliği gibi hastalıklarda Tempol'un yararlı etkilerini göstermişlerdir (49).

Biz bu çalışmada, serulein ve glukodeoksikolik asit ile oluşturulan akut nekrotizan pankreatit modelinde, Tempol'un, hücre içerisinde hidroksil radikallerini temizleyici etkisi nedeniyle lokal organ hasarını engelleyip engelleyemeyeceğini araştırmayı planladık.

II – GENEL BİLGİLER

I- PANKREAS ANATOMİSİ

Pankreas karnın üst kısmında lumbar 1 ve lumbar 2 vertebra seviyesinde mide ve küçük omentumun arkasında bulunur. Duodenumdan dalak hilusuna doğru oblik ve hafifçe yükselerek uzanır. İnfior vena cava, aorta, splenik ven, sol adrenal bezin önünde yer alır. Ortalama 15-20 cm. uzunluğunda, 70-100 gr. ağırlığında, yaklaşık 3.1 cm. genişliğinde ve 1-1,5 cm kalınlığındadır (1, 2).

Cerrahi olarak baş, uncinat proces, boyun, gövde ve kuyruk olmak üzere kabaca beş kısma ayrılabilir (3).

Pankreasın baş kısmı duodenumun ikinci ve üçüncü parçası tarafından sıkıca çevrelenmiş olup lumbar iki vertebra hizasında uzanır ve inferior vena cava, portal ven, süperior mesenterik ven ve süperior mesenterik arterin önünde yer alır (1, 4).

Uncinat proces pankreas başının inferior kısmının solunda yerleşir. Genellikle portal ven ile süperior mesenterik damarların arkasında ve inferior vena cava ile aortanın önündedir. Uncinat proces bazen olmayabilir yada süperior mesenterik arter ve ven ile sıkı yapışıklık içinde veya bunları tamamen sarmış durumda olabilir (2, 3).

Boyun kısmı pankreasın en kısa parçasıdır ve 1.5 – 2.5 cm. uzunluğundadır. Boyunun üst sınırında koledok kanalı, vena porta ve hepatik arter hapatoduodenal ligamanın içine girer. Arkasında süperior mesenterik ven ile splenik ven birleşerek vena portayı oluşturur. Burası ile pankreas arasında genellikle dallar yoktur. Boyun kısmı pankreas başı kanserinde pankreatikoduodenektomi operasyonu sırasında genellikle transekte edilir (2, 3).

Pankreas gövdesi süperior mesenterik damarların solunda yer alır. Gövdenin üst kenarı sağda çölyak aks ve hepatik arter, solda splenik damarlar ile komşudur. Arka yüzeyi aort, sol adrenal bez, sol böbrek, sol böbrek damarları ve splenik ven

ile komşudur. Gövdenin ön yüzü omental bursanın arka duvarının pankreas ve mide yüzeyini ayıran çift peritoneal tabakası ile örtülüdür (3, 4).

Pankreas kuyruğu pankreas gövdesinin devamıdır, daha mobildir ve genellikle lienorenal ligaman içinde dalak hilusuna ulaşır.

Pankreas embriyolojik olarak fötal hayatın dördüncü haftasında ön barsağın kaudal kısmından ventral ve dorsal pankreatik tomurculardan gelişir. Gebeliğin 35. gününde ventral pankreatik tomurcuk saat yönünde dönmeye başlar ve altıncı yedinci haftalarda ventral ve dorsal pankreatik tomurcuklar birleşir. Aynı zamanda duodenumun rotasyonunu tamamlaması ve C konfigürasyonunu almasıyla pankreas da sola geçerek normal konumunu alır. Ventral pankreatik tomurcuktan uncinata proces ve pankreas başının inferior kısmı gelişirken bezin geri kalan kısmı dorsal pankreatik tomurcuktan gelişir. Dorsal pankreası drene eden pankreatik kanalın büyük kısmı ventral pankreasa ait kanal ile birleşerek ana pankreatik kanalı (Wirsung Kanalı) oluşturur. Bu kanal vakaların çoğunda koledok kanalı ile birleşerek müşterek bir kanal halinde ampulla vatre açılmaktadır. Dorsal pankreatik kanalın küçük bir kısmı aksesuar pankreatik kanal (Santroni Kanalı) olarak kalır fakat genellikle oblitere olur.

İnsanların % 10 unda dorsal ve ventral pankreas kanalları birleşmeyip iki ayrı kanal halinde duodenuma açılır. Buna pankreas divisum denir. Bu anatomik yerleşim çok nadir olarak pankreatite neden olabilir.

Pankreas arteriyel kanlanması esas olarak çölyak trunkus ve süperior mesenterik arterin dallarından gelir. Pankreas başının kanlanımı duodenum ile ortak olup gastroduodenal arterin dalı olan süperior anterior ve posterior pankreatikoduodenal arter ve bu arter ile birleşen süperior mesenterik arterin dalı olan inferior anterior ve posterior pankreatikoduodenal arter ile olmaktadır. Gövde ve kuyruk kısmının arteriyel kanlanması ise, dorsal pankreatik arter sağlamaktadır. Dorsal pankreatik arter % 40 splenik arterden, % 22 çölyak arterden, % 14 süperior mesenterik arterden, % 12 ise common hepatik arterden çıkmaktadır. Pankreas venöz drenajı splenik vane olmakla beraber, bezin dorsal yüzünden çıkan geniş venler vena portaya dökülebilir (5, 6).

Pankreasın lenfatik drenajı multiple lenf nodlarına olmaktadır. Baş ve uncinata proces subpilorik, portal, mesenterik, mesokolik ve aorta-caval lenf nodlarına drene olur. Gövde ve kuyruk kısmı çölyak, aorta-caval, mesenterik ve mesokolik lenf nodları ve splenik hilusa doğru drene olmaktadır (1).

Pankreas splanknik sinirlerle sempatik, vagus yolu ile parasempatik inervasyona sahiptir. Sinirler genellikle damarları izlerler. Splanknik sinirler aynı zamanda çölyak plexus ve ganglionlardan geçen visseral afferent ağrı liflerini taşırlar (1, 4).

II – AKUT PANKREATİT

TANIM :

Akut pankreatit pankreasın kendi enzimlerinin interstisyel aralığa sızması ve aktive olmasıyla, bezin sindirimi sonucu, pankreasta ödemden nekroza kadar değişik şiddette patolojik olaylarla seyredabilen pankreasın nonbakteriyel inflamasyonudur.

Akut pankreatitin doğru olarak ilk tanımlanması ve sınıflandırılması Fitz tarafından 1889 yılında yapılmıştır (8, 9). 1963 ve 1984 yıllarında Marsilya’da yapılan sınıflamaya göre akut ve kronik olmak üzere iki grupta toplanmıştır (10). 1991 yılında Ulm ve 1992 yılında Atlanta Konsensüsü’nde akut pankreatit ve komplikasyonları için ortak bir sınıflama elde edilmiştir (Tablo 1, 9, 11, 12). Toplantının bugün de geniş kabul gören sonucuna göre; şiddetli akut pankreatit, organ yetmezliği ve lokal komplikasyonların (nekroz, pseudokist ve abse) varlığı şeklinde sınıflandırılmıştır.

Bu sınıflandırmalara göre akut pankreatit; ani başlayan karın ağrısı ve pankreatik enzimlerin kanda ve idrarda yükseldiği durum olarak tanımlanmıştır (10).

Akut pankreatitin klinik spektrumu akut ödematöz pankreatitten öldürücü infekte pankreatik nekroza kadar değişik şiddetlerde olabilen ve mortalitesi % 5-10 lara çıkabilen bir hastalıktır. Çoğu hastada orta düzeyde ve kendi kendisini sınırlar şekildedir ve prognoz iyidir. Şiddetli pankreatik nekroz ile karakterize veya uzak

organ yetmezliği olan % 10-20 hasta grubunda yoğun bakım ihtiyacı ve cerrahi gerektirebilir ve bu hasta gruplarında mortalite % 40'lara ulaşabilmektedir (13, 14).

Tablo 1 : Akut Pankreatitte Terminoloji

Atlanta Konsensüsü (11-13 Eylül 1992)

- Akut Pankreatit
- Şiddetli akut pankreatit
- Hafif akut pankreatit
- Akut sıvı koleksiyonu
- Pankreatik nekroz
- Akut pseudokist
- Pankreatik abse

Ulm (Beger ve Buchler, 1991)

- İnterstisyel ödematöz pankreatit
- Nekrotizan pankreatit (steril ve enfekte)
- Pankreatik abse
- Pankreatik pseudokist

ETİYOLOJİ :

Biliyer sistem taşları ve kronik alkol kullanımı akut pankreatitin iki en önemli sebebidir ve tüm olguların % 60–80'ini kapsar. İdiyopatik nedenler akut pankreatitin üçüncü sıklıktaki sebebidir ve büyük serilerde % 10-40 arasındadır (10, 13, 15, 17). Akut pankreatitdeki etyolojik faktörler tablo 2 de gösterilmiştir (1, 10, 13, 16, 18, 19, 20).

Bayanlarda erkeklerden daha sık görülür. Bayanlarda etyolojik faktör olarak biliyer sistem taşları çok önemli olmasına rağmen erkeklerde aşırı alkol tüketimi daha önemlidir. Akut pankreatit en sık 50–70 yaşları arasında görülür. Akut alkolik pankreatit erkeklerde daha fazla ve daha erken yaşlarda ortalama 30–45 yaşlarında görülür (18).

Akut pankreatit vakalarının % 30-75'inde bilier sistem taşı saptamasına rağmen safra taşı olan hastaların sadece %3-8'inde akut pankreatit gelişmektedir (6, 13). Safra taşları ile akut pankreatit arasındaki ilişkiyi ilk defa 1901 yılında Opie tariflemiştir. Ancak safra taşlarının hangi mekanizmayla akut pankreatit yaptığı kesin olarak bilinmemektedir. Opie, ortak kanal teorisinde, safra taşlarına bağlı obstrüksiyon sonucu pankreatik duktal sisteme safra reflüsü geliştiği ve akut

pankreatite yol açtığı, diğer bir yazısında da safra taşının, ödem ve inflamasyonun pankreatik kanal obstrüksiyon yaptığı ve safra reflüsü olmadan akut pankreatite yol açtığını ileri sürmüştür (1, 13, 21).

Acosta ve Ledesma akut pankreatit geçiren hastaların dışkılarında safra taşlarını sık saptamaları nedeniyle safra taşı migrasyonunun ve papillada geçici tıkanmanın önemli rol oynadığını ileri sürmüşlerdir. Bu araştırmacılara göre safra kesesi içindeki taşların birden çok ve küçük olması, sistik kanalın geniş olması, koledokta taş bulunması, koledok ile wirsung kanalları arasındaki açının geniş olması ve ortak kanalın ortalama 5 mm.'den uzun olması akut pankreatit yönünden risk faktörü olarak kabul edilmektedir (10, 13, 22).

Tablo 2 : Akut Pankreatitte Etiyolojik Faktörler

A – Sık Sebepleri :

- 1 – Biliyer sistem taşları
- 2 – Alkol kullanımı
- 3 – Endoskopik retrograt kolanjiopankreatografi (ERCP) ve endoskopik sfinkteretomi
- 4 – İdiyopatik

B – Sevrek Sebepleri :

- 1 – Pankreatik kanalı tıkayan olaylar
 - a –Tümör : pankretik veya periampuller
 - b – Pankreatik divisium
 - c – Ampuller stenoz
 - d – Periampuller divertikül
 - e – Penetre duodenum ülseri
 - f – Afferent lup sendromu
 - g – Paraziter obstrüksiyon (Ascaris, Clonorchis)
- 2 – Enfeksiyonlar
 - a – Kabakulak virüsü
 - b – Coxackie Virüsü
 - c – Echo virüs

d – Mycoplasma pneumonia

e – Karaciğer kist hidatiği

3 – İlaçlar ve kimyasal ajanlar

Azotioprine, Estrojen, Tiazid diüretikleri, Furasemid, Sulfonamidler, Didanosine, Tetrasiklinler, L-Asparaginase, Kortikosteroidler, Ethacrynic asid, Phenformin, Procainamide, Valproik asid, Clonidine, Pentamidine, Gadolinum

4 – Travma

a – Künt karın travmaları

b – Delici karın travmaları

c – Cerrahi girişimler

Koledok eksplorasyonu

Sfinkteroplasti

Distal gastrektomi

5 – Metabolik

a – Hiperparatiroidi

b – Hiperkalsemi

c – Terminal böbrek yetmezliği, üremi

d – Hipertirigliseridemi

6 – İskemik Faktörler

a – Hipotansiyon ve şok

b – Kardiyopulmoner bypass

c – Atheroembolizm

7 – Vasküler Faktörler

a – Periarteritis nodosa

b – Hipotermi

c – Malign hipertansiyon

d – Sistemik lupus eritematozis

e – Henöch schönlein purpurası

f – Romatoid artrit

8 – Herediter Faktörler

Familial hipolipoproteinemi Tip 1-4-5

9 – Toksin : Akrep zehiri

Kronik alkoliklerin yaklaşık %5-10'unda akut pankreatit atakları gelişmektedir. Kronik alkol kullanımı olmayan bireylerde akut pankreatit gelişimi çok nadirdir ve alkoliklerde pankreatit genellikle 10-20 yıl süreyle günlük 150-175g. alkol alımından sonra meydana gelmektedir. Genel kabul gören görüş alkolün kronik pankreatite neden olduğu ve bu hastalarda görülen akut pankreatit ataklarının kronik pankreatit zemininde geliştiği şeklindedir. Alkolün hangi mekanizmalarla pankreatite neden olduğu tam bilinmemektedir. Oddi sfinkterinde spazm ve pankreatik salgıyı artırarak duktal hipertansiyona yol açtığı, pankreas kanallarının geçirgenliğini değiştirdiği, pankreatik salgıda protein konsantrasyonunu artırarak kanalları protein tıkaçlarıyla tıkadığı, golgi kompleksinde sindirim ve lizozomal enzimleri ayıran mekanizmaların bozulmasıyla uygunsuz olarak pankreas enzimlerini aktive ettiği gibi teoriler ileri sürülmektedir. Ayrıca pankreas asiner hücreleri üzerine direkt toksik etkili olduğunda gösterilmiştir (1, 10, 13, 23, 24, 25).

Endoskopik retrograt kolanjiopankreatografi (ERCP) uygulanan hastaların % 3-5'inde akut pankreatit gelişebilmektedir. % 90 oranında hafif seyreden bu pankreatite neden muhtemelen kanala uygulanan basınçlı kontrast madde, tekrarlayan enjeksiyonlar ve uygulanan stentlerdir (6, 28).

Hipertirigiliserideminin pankreatite nasıl yol açtığı kesin olarak bilinmemekle birlikte, 1000 mg/dl üzerindeki trigiserid düzeyleri akut pankreatite neden olabilir. Hipertrigiseridemi akut pankreatitli olguların % 1-7'sinde etiyolojik faktördür. Serum tirigiserid artışında pankreatik lipazın etkisi ile ortaya çıkan serbest yağ asitleri pankreas dokusu ve pankreas mikrosirkülasyonuna zarar vererek akut pankreatite neden olmaktadır (26, 27).

Duktal obstrüksiyon yapan periampüller tümörlerde ilk başvuru akut pankreatit olabilir. İnfeksiyonlardan kabakulak, koksaki virüsleri ile askaris gibi parazitler pankreas kanalını tıkayarak akut pankreatite neden olabilir.

Bunların dışında hiperparatiroidi durumunda, hipotermide, gebelik ve böbrek transplantasyonu sonrası nadir olarak akut pankreatit meydana gelebilmektedir. Tüm bu nedenler olmasına rağmen % 10-40 vakada hiçbir neden bulunamaz ve idiyopatik pankreatit olarak kabul edilir.

PATOGENEZ

Akut pankreatitin pankreasın kendi enzimleri tarafından sindirilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Patogenezi klinik ve deneysel gözlemlere göre çeşitli teorilerle açıklanmaya çalışılmıştır.

Obstrüksiyon sekresyon teorisi :

Hayvanlarda pankreatik kanalın bağlanması, insandaki ödematöz pankreatite benzer tablo oluşturur. Ancak bu durum kendini sınırlar niteliktedir ve kısa sürede düzelebilir. Pankreas salgısının uyarılması ile birlikte kısmi kanal tıkanıklığı oluşturulduğunda çok daha şiddetli pankreas inflamasyonu ortaya çıkar.

Ortak kanal teorisi :

Ortak kanalın tıkanması ile pankreatik kanala oluşan safra reflüsü sonucu pankreatik kanal geçirgenliği artar ve pankreatik enzimler pankreas parankim içine sızar ve akut pankreatite neden olur. Ortak kanalın 5 mm'den uzun olması pankreatit için risk faktörüdür. Ancak ortak kanal insanların % 90'ında reflüye izin vermeyecek kadar kısadır.

Duodenal reflü teorisi :

Duodenal içeriğin ampulla vateri içerisinde pankreatik kanala reflüsü hayvanlarda deneysel olarak pankreatite yol açmaktadır. İnsanlarda duodenal duvar ve oddi sfinkteri reflüyü etkin bir şekilde önler.

Pankreatik kanal geçirgenliğinin artması :

Hayvan deneyleri çok çeşitli durumların pankreatik kanalların geçirgenliğini artırdığını ve duktus içerisindeki pankreatik enzimlerin dışarı sızarak pankreatite neden olabileceğini göstermiştir. Bu nedenler arasında etanol alınması, kanalların dekonjuge safra tuzlarına maruz kalması, tıkanıklık ile birlikte pankreatik salgının artması ve hiperkalsemi sayılabilir.

Enzim otoaktivasyonu :

Deneysel olarak serulein ile pankreas salgısının uyarılması veya etioninle desteklenmiş kolinden fakir diyet ile besleme yapıldığında, tripsinojenin intrapancreatik otoaktivasyonu olur ve pankreatit meydana gelir.

Son görüş, etiyojiden bağımsız olarak, akut pankreatitin primer asiner hücre ölümünden kaynaklandığıdır. Akut pankreatit, asiner hücreden ekzokrin enzim sekresyonunun inhibisyonu ile veya daha az sıklıkla, herediter pankreatitte olduğu gibi, tripsinin, inaktif prekürsörü tripsinojenin primer hücre içi aktivasyonu ile başlar. Bu uyarı reseptör birleşiminin bozulması, asiner hücre tarafından sentezlenen sindirim enzimlerini depolayan intrasellüler organeller olan zimojen granüllerin artışına yol açar. Bu granüller de lizozomlar tarafından hücre içi olarak eritilir. Lizozomlar asit hidrolaz içerdiği için, tripsinojen gibi inaktif proenzim prekürsörü olarak sentezlenen hücre içi proteazları aktive etme yetenekleri vardır. Normalde bu inaktif proenzim prekürsörleri, duodenumda ekstrasellüler olarak mukozadan kaynaklanan enzim olan enterokinaz tarafından aktive edilirler. Bu kolokalizasyon teorisi, hayvanlarda ve insanlarda hafiften ağır pankreatite kadar farklı deneysel modelleri açıklamaktadır. Bundan dolayı yukarıda açıklanmış olan teoriler eski teori olarak kabul edilmektedir.

Son görüş, etiyojiden bağımsız olarak, akut pankreatitin, sindirim enzimlerinin prematür hücre içi aktivasyonu ile birlikte primer asiner hücre ölümünden kaynaklandığıdır. Proteaz, amilaz, lipaz, fosfataz ve elastaz gibi aktive edilmiş enzimlerin parankim içine salınımı, pankreasın ve çevre organların kendi kendisini sindirmesine yol açar.

Hasar görmüş asinüs hücrelerinden serbest oksijen radikalleri açığa çıkar. Bu maddeler lökositleri inflamasyon sahasına çekerler. Burada önce nötrofiller, sonra monosit, lenfosit ve diğerleri görülür. Lökositlerden açığa çıkan medyatörler ve sitokinler özellikle tahrip edicidir. Akut pankreatitte önemli rol oynadığı sanılan sitokinler ve serbest oksijen radikalleri akut pankreatitin ilerlemesinde ve uzak organ işlev bozukluğunda önemli rol alırlar.

PATOLOJİ

Hafif pankreatitte başlangıçta ödem, hiperemi ve hafif şiddetli bir inflamasyon vardır. Hastalığın ilerlediği durumlarda tabloya hemoraji ve nekroz eklenir. Nekroz, asiner hücre nekrozu ve yağ nekrozu şeklindedir. Bu değişikliklerin boyutu hastalığın şiddeti ile direkt olarak ilişkilidir (1).

Yağ nekrozu alanları makroskopik olarak soluk, sarı-beyaz renklidir. Pankreas içinde veya pankreas çevresindeki komşu mesenterik yağ dokusunda oluşabileceği gibi peritoneal yağ dokusuna kadar yayılabilir. Enzimatik yıkıma ve lipaza bağlı oluşan yağ nekrozu sonucu açığa çıkan serbest yağ asitleri ise özellikle kalsiyumla presipite olarak çözülmeyen tuzlar, kalsiyum depositleri meydana getirir ve kan kalsiyum seviyelerinde düşmeye hipokalsemiye neden olur.

İleri olgularda hemoraji çok belirgindir ve pankreas bölgesinde büyük boyutlu hematoma oluşumu gözlemlenebilir.

Mikroskopik olarak pankreasta erken dönem değişikliklerinde asiner hücre homojenizasyonu, epitel dejenerasyonu ile beraber duktal dilatasyon, diffüz interstisyel ödem ve lökositik infiltrasyon gözlenir.

Yağ nekrozu bölgeleri erken dönemde nötrofiller tarafından infiltre edilir. Nötrofiller yerlerini köpüksü histiositlere ve lenfositlere bırakır. Pankreatik nekrotik dokuda sekonder enfeksiyon gelişebilir ve enfekte pankreatik nekroz olarak adlandırılır.

İyileşen akut pankreatit olgularında geride düzensiz fibrozis ve kalsifikasyon alanları ile endokrin ve ekzokrin alanların kaybı görülebilir. Pankreatik apse ve pseudokist oluşumu görülebilir. Pankreatik pseudokistler, iyileşen akut pankreatitlerin önemli bir komplikasyonudur ve % 50'ye varan oranda görülebilir. Konnektif dokuyla çevrili, içinde kan, nekrotik pankreas dokusu ve pankreas enzimlerinden zengin bir sıvı bulunan bu kistler, sekonder enfeksiyon alanlarına veya apselere dönüşebilir (1, 29).

TANI

Akut pankreatit tanısı konulurken klinik, biyokimyasal ve radyolojik bulgular bir arada değerlendirilerek konulmalıdır.

KLİNİK BULGULAR

Akut pankreatit vakaların yaklaşık % 70-80'i hafif seyirli ödematöz interstisyel inflamasyon şeklindedir. Bu hastalarda tüm bulgular ve şikayetler ortalama bir hafta içerisinde normale döner. Geri kalan hastalarda akut pankreatit ağır ve komplikasyonlarla seyreder. Bu gruptaki hastalarda mortalite oranları % 40'lara kadar çıkabilmektedir.

Karın ağrısı, bulantı ve kusma en önemli semptomlardır. Ağrı en sık epigastrium lokalizasyonundadır ancak paraumbilikal bölgede, karnın üst ve alt tarafında, göğüs alt kısımlarında, sırtta veya tek yada her iki omuzda hissedilebilir. Çoğu hasta ağrının bıçak saplanır gibi aniden başladığını ve kuşak tarzında sırtta doğru yayıldığını tarif eder. Ağrı genellikle sürekli olmakla birlikte oturmakla azalma gösterirken yatar durumda artar.

Bulantı ve kusma çoğu hastada rastlanan bulgulardır. Pankreatitteki bulantı ve kusma mide boşalmasından sonrada devam eder. Kusma gastro-özafagial bileşke yırtıklarına ve üst gastro intestinal kanamaya neden olabilir.

Hastaların % 20-25'inde sarılık ortaya çıkabilir. Safra taşına bağlı pankreatitte koledok tıkanıklığına bağlı sarılık gelişebilirken, sarılık sıklıkla safra taşı olmayan pankreatitlerde de ortaya çıkabilir. Bu sarılık pankreas başındaki ödem nedeniyle ortak safra kanalının pankreas içerisindeki kısmının kompresyonuna bağlıdır.

Fizik muayene bulguları atağın şiddetine göre değişkenlik gösterebilir. Şiddetli pankreatitli hastalarda anksiyete ve korku vardır. Sıklıkla karnın üst yarısında ve epigastriumda hassasiyet ve hafif defans olabilir. Karında distansiyon vardır ve perküsyonda timpanik ses duyulur. Epigastrium yada karnın sol üst yarısında pankreas ve çevre dokuların inflamasyonuna, pankreatik pseudokiste

veya pankreas apsesine bağlı kitle ele gelebilir. Barsak sesleri sıklıkla azalmış veya yoktur.

Komplike olmayan hastalarda ateş hafifçe yükselmiştir (38 °C - 38.5 °C). Ateş sitokinler ve proinflamatuvar maddelerin hasarlı pankreas dokusundan salınımına bağlı olarak yükselir.

Taşikardi, taşipne, hipotansiyon ve şok benzeri bulgular görülebilir. Bunlar ;

1 – Kan ve plazma proteinlerinin retroperitoneal alana sızması sonucu hipovolemi,

2 – Kinin peptidlerinin salınımına bağlı vasodilatasyon ve vasküler geçirgenlikte artış,

3 – Proteolitik ve lipolitik enzimlerin dolaşıma salınıp sistemik etkilerine bağlı olarak meydana gelir.

Plevratik ve karın ağrısına bağlı olarak nefes almak zorlaşmıştır. Akciğer alt zonlarda solunum sesleri azalmıştır, rall duyulabilir ve atelaktazi görülebilir. Bileteral plevral efüzyon görülebilceği gibi sol tarafta plevral efüzyon daha sık gözlenir. şiddetli akut pankreatitli hastalarda sıklıkla akut akciğer hasarı meydana gelir ve adult respiratuvar distres sendromuna (ARDS) yol açabilir.

Hastaların % 1’inde peripankreatik ve retroperitoneal bölgeye olan kanamanın ekstrevaze olmasıyla sırtta (Grey Turner belirtisi) veya göbek çevresinde (Cullen belirtisi) ekimotik renk değişikliği gözlenebilir (1, 2, 4, 6, 7, 10, 30).

LABORATUVAR BULGULARI

Akut pankreatit tanısını koymada en sık kullanılan testler inflama bezden pankreas enzimlerinin salgılanmasına dayanır. İlk kez 1929 yılında Elman ve arkadaşları akut pankreatitte amilaz değerlerinin yükseldiğini rapor etmiştir. Serum amilaz konsantrasyonu akut atağın başlamasından 6 saat sonra normalin 2.5 katına çıkar ve 36-48 saat yüksek kalır. Normal serum amilaz değerinin % 60’ı tükruk bezi % 40’ı pankreas kaynaklıdır. Tablo 3’ te gösterilen nedenlere bağlı olarak, amilaz

değerleri akut pankreatit dışındaki hastalıklarda da yüksek değerlere ulaşabilmektedir. Akut pankreatit tanısında serum amilaz yüksekliğinin sensitivitesi % 80-85 civarındadır. Amilaz yüksekliğinin sensitivitesi safra taşına bağlı akut pankreatitte % 90-100, alkolik pankreatitte % 55-80, hiperlipidemide % 50 civarındadır. Bunlarda göstermektedir ki normal serum amilaz değerleri akut pankreatit tanısını ekarte ettirmez. Ranson ve arkadaşları pankreatit dışı karın ağrısı nedeniyle acile başvuran hastaların % 5'inde, pankreatit nedeniyle acile başvuran hastaların % 95'inde amilaz değerlerini yüksek bulmuşlardır. Amilaz yüksekliğinin akut pankreatit tanısında önemli olmasına rağmen, hastalığın şiddetini ve prognozunu belirlemede bilgi vermez.

Serum amilaz ölçümüne ek olarak idrar amilaz ölçümü akut pankreatit tanısını kuvvetlendirir.

Tablo 3 : Hiperamilazemi yapan nedenler

<u>Karın İçi</u>	<u>Karın Dışı</u>
<u>Pankreatik Hastalıklar</u> Akut pankreatit Kronik pankreatit Travma Kanser Pseudokist Pankreatik asit Pankreas apsesi	<u>Tükrük bezi hastalıkları</u> Kabakulak Parotis iltihabı Taş Radyasyon sialoadenitisi
<u>Pankreas dışı hastalıklar</u> Biliyer sistem hastalıkları İntestinal tıkanıklık Mesenterik infarkt Özofagus perforasyonu Peptik ülser delinmesi Peritonit Aferent loop sendromu Ektopik gebelik rüptürü Salpanjit Aort anevrizma rüptürü	<u>Amilaz atımında bozukluk</u> Böbrek yetmezliği Makroamilazemi
	<u>Çeşitli</u> Pnömoni Pankreatik plevral efüzyon Mediastinal pseudokist Kafa travması Şiddetli yanık Diabetik ketoasidoz Gebelik İlaç alımı Bisalbumiemi

Serum lipazı, akut pankreatit tanısında diğer önemli bir enzimdir. Bu enzim çoğunlukla pankreas kaynaklıdır ve amilazdan daha uzun süre serumda yüksek

olarak seyreder. Lipaz yüksekliği, akut pankreatit tanısında amilaz yüksekliğine göre daha spesifik ve daha sensitiftir. Akut pankreatitten şüphenilen hastada her iki testinde kullanılması tanıda yanlışlıkları azaltacaktır.

Akut pankreatitte birçok protein serumda yükselebilir. Akut pankreatit tanısında serum tripsin ölçümü amilaz ve lipaz ölçümünden daha iyi bir göstergedir ancak ölçümü zaman alır ve kolay değildir. Elastaz 1, amilaz ve lipazdan daha uzun süre yüksek kalır ancak rutin olarak kullanılmaz. Polimorfonükleer alestaz, fosfolipaz A2, ribonükleaz, alfa makroglobülin, c reaktif protein (crp) yüksekliği serumda tespit edilebilir. Tüm bu proteinler tanısından daha çok hastalığın şiddeti hakkında bilgi verir.

Biliyer sistem taşlarına bağlı akut pankreatitte serum bilürubin, alkelen fosfataz (ALP), gama glutamil transpeptidaz (GGT), alanin amino transferaz (ALT) ve aspartat amino transferaz (AST) değerleri yüksek olarak bulunabilir. Bu değerler taşın biliyer sistemden geçmesiyle hızlı bir şekilde normal değgerlere döner. Serum bilürubin değerlerinin yüksek olarak devam etmesi biliyer tıkanıklığın devam ettiğini gösterir.

Akut pankreatitte hemotokrit değerleri dehidratasyona bağlı olarak yüksek bulunabileceği gibi, pankreatik veya retroperitoneal kan kaybı nedeniyle düşük te olabilir.

Süpüratif komplikasyonların yokluğunda beyaz küre sayısı 12000/mm³ üzerinde nadir olarak ölçülür.

Sıvı açığı nedeniyle prerenal böbrek yetmezliği ve buna bağlı kreatinin yüksekliği tespit edilebilir.

Serum kalsiyum (Ca) düzeyleri düşük ölçülebilir, 7.5 mg/dl altındaki kalsiyum değerleri kötü prognostik faktördür.

GÖRÜNTÜLEME YÖNTEMLERİ

Akut pankreatit şüphesinde; akciğer (AC) grafisi, direk karın grafisi, ultrasonografi (USG), bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ve endoskopik retrograt kolanjiopankreatografi (ERCP) klinik ve laboratuvar verilerine destek olur.

Akciğer grafisindeki bulgular akut pankreatite spesifik değildir ancak akut pankreatitli hastaların % 50'sinden fazlasında akciğer grafisinde anormallikler gözlenir. Bunlar plevral efüzyon, sol diafragmada yükselme ve sol alt lobta atelektazi gibi bulgulardır. Bu bulgular retroperitoneal, peridiafragmatik bölge inflamasyonuna ikincil olarak gelişen bulgulardır (31).

Pankreasa komşu duodenum yada proksimal ince barsak anslarında, pankreastaki inflamasyona bağlı olarak ileus gelişebilir. Direk karın grafisinde duodenum yada ince barsak anslarında hava-sıvı seviyesi gözlenebilir. Bu görüntüye nöbetçi ans denilir. Kolonda ise cut-off işareti denilen splenik fleksuradan itibaren kolon gazının aniden kesilmesi ile oluşan görüntü bulunur (6,13,31).

Abdominal ultrasonografi, safra kesesi taşlarını, koledok taşlarını, intrahepatik, ekstrahepatik safra yollarının değerlendirilmesinde, pankreatik ödem, peripankreatik sıvı koleksiyonunun değerlendirilmesinde yararlıdır. Ayrıca pankreas alanlarının dışında küçük omentumda, pararenal bölgede sıvı koleksiyonunun tespitinde yarar sağlar. Dezavantajı ise ileus nedeniyle gaz gölgesi, obez hastalarda geniş yağ dokusu nedeniyle pankreas değerlendirmesi zorlaşır (6, 13, 31, 32, 33).

Endoskopik ultrasonografi, pankreatik genişlemeyi, parankimal heterojeniteyi, doku damarlanmasını, gastroduodenal duvar ödemi ve peripankreatik sıvı koleksiyonunu değerlendirmede faydalıdır (34).

Kontrastlı bilgisayarlı tomografi akut pankreatitin tanısında en önemli görüntüleme yöntemidir. Erken inflamatuvar değişiklikleri göstermede, şiddetli akut pankreatitin derecelendirilmesinde, nekroz gibi komplikasyonları göstermede mükemmeldir. Akut pankreatitteki tomografi bulguları tablo 4'te özetlenmiştir.

Tomografik olarak değerlendirilen parankimal değişiklikler ile akut pankreatitin şiddeti arasında yüksek oranda ilişki vardır. Balthazar tarafından yapılmış olan klasifikasyon ve bilgisayarlı tomografi şiddet skoru tablo 5'te özetlenmiştir (6, 13, 31, 32,33,35).

Tablo 4 : Akut pankreatit tomografi bulguları

Pankreatik değişiklikler

- Parankimal genişleme : diffüz yada fokal
- Parankimal ödem
- Parankimal nekroz

Peripankreatik değişiklikler

- Yağ planlarının silinmesi
- Çevre doku planlarının kalınlaşması
- Sıvı koleksiyonları
- Vasküler komplikasyonlar : Splenik ven, Süperior mesenterik ven,
Portal ven trombozu

Nonspesifik bulgular

- Barsak distansiyonu
- Plevral efüzyon
- Mesenterik ödem

Tablo 5 : Balthazar Klasifikasyonu ve BT Şiddet Skoru (BTSS)

<u>Pankreas görüntülemesi</u>	<u>BTSS</u>
Grade A Normal	0
Grade B Pankreasta odaksal veya yaygın büyüme	1
Grade C Peripankreatik inflamasyon ile birlikte Pankreasta anormallik	2
Grade D Tek lokalizasyonda sıvı koleksiyonu	3
Grade E İki yada daha fazla sıvı koleksiyonu yada Pankreas veya çevre dokuda gaz görünümü	4
<u>Pankreatik nekrozun boyutu</u>	
% 30 <	2
% 30 – 50	4
% 50 >	6

Akut pankreatit tanısında manyetik rezonans görüntüleme bilgisayarlı tomografi kadar yaygın değildir. Özellikle böbrek yetmezliği ve iyod alerjisi olan hastalarda bilgisayarlı tomografiye alternatiftir. Pankreas çevresindeki veya local hemorajiyi göstermede bilgisayarlı tomografiden daha üstündür. Manyetik rezonans kolanjiopankreatografi (MRCP) duktal anatomiye ortaya koymada ve fonksiyonel anormalliklerini tahmin etmede risksiz bir yöntemdir. MRCP ile biliyer sistem anatomisi, pankreas divisium, biliyer ve pankreatik birleşim yerindeki benign yada malign kitleler hakkında ve oddi sfinkter disfonksiyonu hakkında bilgiler elde edilebilir (36).

ERCP etiyojisi aydınlatılmamış tekrarlayan akut pankreatit, safra taşına bağlı gelişen akut pankreatitlerde uyulanabilir. ERCP ile tıkanıklık oluşturan bir biliyer sistem taşı çıkarılabilir ve sfinkterotomi yapılarak tedavi sağlanabilir.

AYIRICI TANI

Akut pankreatit ayırıcı tanısında serum amilaz ve lipaz yüksekliği yapan nedenler akla gelmelidir. Tablo 3’te amiaz yüksekliği yapan nedenler özetlenmiştir. Bazı durumlarda ayırıcı tanı yapılamaz ve eksploratif laparotomi ile ancak tanı konulabilir.

ŞİDDET TAYİNİ VE PROGNOSTİK FAKTÖRLER

Akut pankreatitin ciddi komplikasyonlarının gelişmesi yönünden yüksek risk altında bulunan hastaların erkenden belirlenmesi mortalite oranını azaltabilecek daha agresif bir yaklaşıma olanak sağlar. Organ yetmezlikleri ve ağır metabolik bozukluklar gibi ciddi komplikasyonlar vakaların % 20 – 30’unda ortaya çıkmakta ve bunların % 8 – 20’si mortalite ile sonuçlanmaktadır.

Akut pankreatitte prognostik göstergelerden en çok kullanılanı Ranson kriterleri olmakla birlikte, Imrie, Mc Mahon kriterleri de kullanılmaktadır. Ranson ve Imrie kriterleri gerekli laboratuvar parametrelerinin tayini için belirli bir zamana ihtiyaç göstermektedir. Klasik sepsis skorlama sistemlerinden APACHE II skoru hem prognozu hem şiddeti belirlemede kullanılmaktadır. Bu sınıflamanın avantajı,

hasta yattıktan bir süre sonrada uygulanabilmesi iken, hesaplamanın zor ve zaman alıcı olması başlıca dezavantajıdır.

Ranson kriterlerinde hastanın ilk başvurusunda ve ilk 48 saat içindeki laboratuvar bulguları değerlendirilmiştir. Tablo 6’da ranson kriterleri özetlenmiştir. Imrie kriterleri ise ranson kriterlerin bir modifikasyonudur (Tablo 7). Mc Mahon peritoneal sıvının kalitatif değerlendirilmesini önermiştir. Burada aspire edilen peritoneal sıvı standart bir renk ile karşılaştırılmaktadır. Ksantokromi derecesinin artışının pankreatit atağının ağırlığı ile doğru orantılı olduğu gösterilmiştir.

Tablo 6 : Ranson Prognostik Kriterleri

	<u>Safra Kesesi Taşı Yok</u>	<u>Safra Kesesi Taşı Var</u>
<u>Başvuru ve tanı esnasında</u>		
Yaş	>55	>70
Lökosit (/mm ³)	>16000	>18000
AKŞ (% mg)	>200	>200
Serum LDH (IU)	>350	>400
AST (IU)	>250	>250
<u>İlk 48 saat içinde</u>		
Hemetokritte düşüş	>%10	>%10
BUN artışı	>% 5	>%2
Serum Ca(%mg)	<8	<8
PaO ₂ (mmHg)	<60	<60
Baz açığı (mEq/l)	>4	>5
Tahmini sıvı sekestresyonu(litre)>6		>4

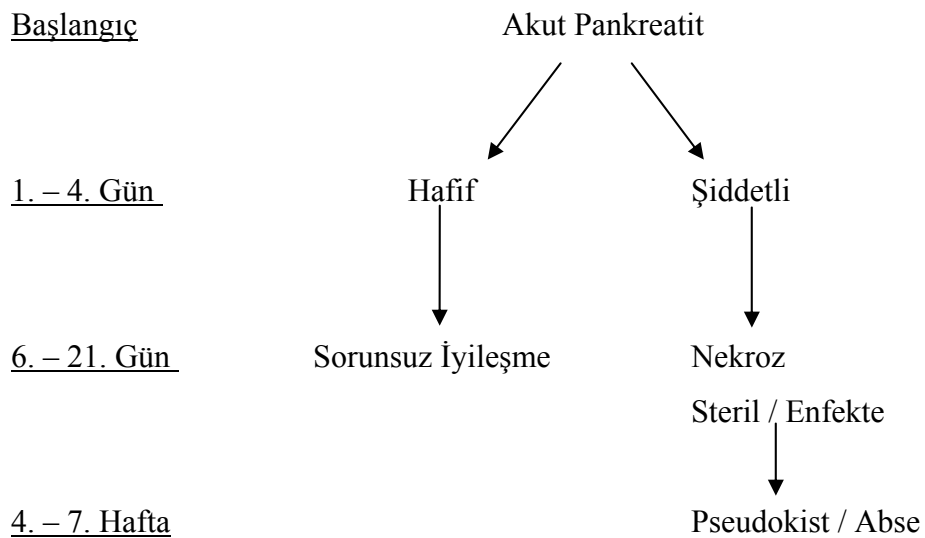
Akut pankreatitte Ranson prognostik kriterlerinde morbidite ve mortalite oranı kriterlerin sayısı ile doğru orantılıdır. Skor 0 – 2 arasında mortalite % 2, skor 3 – 4 arasında mortalite % 15, skor 5 – 6 arasında mortalite % 40, skor 7 – 8 arasında ise mortalite oranları % 100’e ulaşabilmektedir.

Tablo 7: İmrie Kriterleri

- pO2 düzeyinin 8 kpa altında olması
- Kalsiyum düzeyinin 2.0 mmol/lit altında olması
- Glukoz düzeyinin 10 mmol/lit üzerinde olması
- Albumin düzeyinin 3.2 gr/lit altında olması
- Üre düzeyinin 16 mmol/lit üzerinde olması
- LDH düzeyinin 600 IU/lit üzerinde olması
- AST düzeyinin 200 IU üzerinde olması
- Lökosit düzeyinin 15000/mm3 üzerinde olması

Akut pankreatitte erken dönem, başvurudan sonraki ilk 4–10 günlük dönemdir ve patofizyolojik olarak peripankreatik sıvı ve dolaşımında vazoaktif maddelerin bulunması ile karakterizedir. Bunun sonucu; solunumsal ve renal disfonksiyon ile gastrointestinal sitemde adinamik ileustur. Başvurudan iki hafta sonrasında ise geç dönem klinik seyir hakim olur ve bu dönem barsaktan, oluşmuş nekroz alanlarına doğru bakteriyel translokasyonla karakterizedir. Kliniğe yansımaları ise lokal ve sistemik komplikasyonlar şeklindedir (tablo 8, 9). Akut pankreatitin bu seyri esnasında inflamatuvar kaskadın şiddeti, prognozunu belirleyicisi olmaktadır.

Tablo 8 : Akut Pankreatit Doğal seyri



TEDAVİ

Medikal Tedavi

Komplike klinik özellikleri ile akut pankreatitin tedavisi multidisipliner bir yaklaşım gerektirir. Tedavinin ilk ve en önemli unsuru vital bulguların yakın monitörizasyonudur. Hafif pankreatitli hastalar genellikle oral alımın sınırlandırılması, intravenöz hidrasyon ve uygun analjezi ile başarılı bir şekilde tedavi edilir. Konservatif tedavi ile çoğu hastada hafif pankreatit kendini sınırlar ve semptomlar hızlı bir şekilde geriler. Kusması veya gastrik distansiyonu olan hastalarda nazogastrik sonda uygulanması semptomatik yarar sağlayabilir, fakat hastalığın progresyonunu değiştirmez. Hafif pankreatitte antibiyotik kullanımı gerekmez.

Pankreatitin biliyer kaynaklı olduğu kanıtlanmış ise, ağrı geçtikten ve şiddetli intraperitoneal inflamatuvar reaksiyon olmadığı kanıtlandıktan sonra, aynı yatış süresi içinde kolesistektomi planlanılabilir. Cerrahi yaklaşım papilla vateriden başka bir safra taşının geçişine bağlı rekürren akut pankreatit ihtimalini önlemektedir.

Şiddetli akut pankreatitte, pankreas nekrozu veya infekte nekrozun yol açtığı sistemik inflamatuvar cevap sendromu (SIRS), sepsis veya organ yetmezliği gibi komplikasyonlar gelişebilir. Bu hastalarda daha agresif ve yoğun bir tedavi, organ spesifik tedavi protokolleri izlemek gerekir.

Akut pankreatitte, pankreasa komşu retroperitonda büyük hacimlerde sıvı kaybedilebileceği için sıvı gereksinimi oldukça fazladır. Verilen sıvı tedavisi (kristalloid, kolloid, kan), miktarı dolaşımdaki kan hacmi ve idrar çıkıntısını koruyabilecek miktarlarda olmalıdır. Akut pankreatit nedeniyle ölen hasta gruplarında böbrek yetmezliği sık rastlanan bir bulgudur. Akut pankreatitli hastalarda kusma ve sıvı kaybına bağlı olarak ciddi elektrolit bozuklukları meydana gelebilir. Hipokalsemi görülebilir ve prognoz ile yakın ilişkilidir.

Şiddetli akut pankreatitli hastalarda hafif atelettaziden ARDS'ye kadar değişen akciğer sorunları ortaya çıkabilir. Akut pankreatitli hastaların %30'unda arteriyel hipoksemi ($PaO_2 < 70 \text{ mmHg}$) görülür ve oksijen tedavisi gerekir.

Hipoksemi akciğer grafisi bulgularından önce ortaya çıktığından bu hastalarda sık aralıklarla arteriyel kan gazı bakmak gerekir. Şiddetli akut pankreatit olgularının %20'sinde ARDS görülmektedir. ARDS gelişen hastalarda erken endotrakeal entübasyon ve mekanik ventilasyon gerekebilir (39).

Akut pankreatitte başlıca ölüm nedenlerinden birisi de sekonder bakteriyel enfeksiyonlardır. Bu olayda bakteriyel translokasyon önemlidir, ayrıca bakteriyel translokasyonun önlenmesinde enteral beslenme çok önemlidir. Enfeksiyonda rol oynayan belli başlı ajanlar E. Coli, enterobakter, klebsiella, stafilokok türleridir. Kullanılacak antibiyotikler bu ajanlara etki etmelidir. Ayrıca kullanılan antibiyotiklerin etkin doku konsantrasyonlarına ulaşması gerekmektedir. Pankreas doku konsantrasyonu en yüksek olan antibiyotikler kinolon grubu, klindamisin, metronidazol, mezlosilin ile imipenem başta olmak üzere karbapenemlerdir (38). Akut pankreatitte antibiyotik kullanımının yeri sekonder kontaminasyon ve bakteriyel translokasyonun neden olduğu enfeksiyon durumlarıdır.

Akut pankreatitte fungal enfeksiyonlar literatürde son zamanlarda artan sıklıkta rapor edilmektedir. Fungal enfeksiyon gelişmesinde risk faktörler, multiple ve uzun süreli antibiyotik kullanımı ve uzun süreli santral venöz katater kullanılmasıdır. En sık tespit edilen ajan candida'dır. Antifungal profilaksi fungal enfeksiyon gelişmesini azaltabilir (41).

Akut pankreatitte antibiyotikler dışında medikal tedavinin amacı pankreas salgısının inhibisyonudur. Antikolinerjikler, H₂ reseptör bloke edici ajanlar, proton pompa inhibitörleri duodenal pH'ın 4,5 üzerine çıkmasını ve pankreasın sekretin tarafından stimülasyonunun engellenmesini sağlar. Proteaz inhibitörlerinden aprotinin, gabexilat'ın akut pankreatitte kullanımının mortalite, morbidite ve hastanede kalış süreleri üzerine yararlı etkileri gösterilmemiştir (40). Pankreatik sekresyonun direkt inhibitörü olan somatostatin, somatostatin analogu olan octreotid, glukagon, kalsitonin akut pankreatitte kullanılmış ancak morbidite ve mortalite üzerine anlamlı etkileri bulunmamıştır. Obstrüktif sarılıkta somatostatinin bakteriyel translokasyonu artırdığına dair çalışmalar mevcuttur (37).

Akut pankreatitin sistemik etkilerini düzeltmede sitokin manüplasyonunun rolü vardır. Pankreatite ağıl sistemik bir hadise oluşmaktadır. Pankreas hasarı, inflamatuvar hücreleri (makrofaj, monosit, lökosit...) hasar alanına çeker, bunun sonucunda portal sisteme sitokin salınımı gerçekleşir. Bu sitokin salınımı daha sonra karaciğer ve akciğerler tarafından artırılır. Bu sitokin döngüsü, SIRS gelişimi ile infeksiyondan bağımsız olarak akciğerler, böbrekler, barsak ve karaciğerde uzak organ etkilerine yol açar. Doku hasarı, apoptozis, ateş, hipotansiyon, kaşeksi ve şok gibi lokal ve sistemik etkilerde tümör nekrozis faktör alfa (TNF α) nın rolü vardır. Trombosit aktive edici faktör döngünün erken safhasında akut pankreatitin sistemik belirtilerine aracılık eder.

Akut pankreatit tedavisinde diğeri önemli bir konuda beslenme desteğidir. Hafif akut pankreatitte beslenme desteğine gerek yoktur. Orta veya şiddetli akut pankreatitte, kardiyak ve solunumsal denge sağlandıktan sonra olabildiğince erken olarak beslenme desteği sağlanmalıdır. Başlangıçta kusma ve aspirasyon riski olmadığından emin olana kadar parenteral solusyonlar kullanılabilir. Bunlar esansiyel yağ asidi açığını önleyici yağ solüsyonları içermelidir. Tanı ve tedavi amaçlı cerrahi girişim gerektiren hastalarda beslenme jejenostomisi konmalı, cerrahi girişim yapılmayacaksa stabilite sağlandıktan sonra beslenme tüpleri ile naso-enteral yol ile olabildiğince hızlı bir şekilde enteral beslenme başlanılmalıdır.

Cerrahi Tedavi

Akut pankreatitin erken safhalarında cerrahi tedavinin rolü yoktur. Cerrahi tedavi akut pankreatitin pankreatik infeksiyon, infekte nekroz, pankreatik apse, infekte pseudokist gibi komplikasyonlarına yöneliktir. İnfekte pankreatik nekrozun cerrahi olarak debridmanı bir kaç temele dayanır. Bunalar :

1-İnfekte pankreas dokusundan, bakteriler ve toksik komponentler sirkülasyona salınmaktadır ve uzak organ yetmezliğine yol açabilmektedir.

2-İnfekte dokunun debridmanı geç bir komplikasyon olan pankreatik abseyi önlemektedir.

3-Cerrahi ile sürekli drenaj sağlanabilir.

4-Geride kalan sağlam pankreas dokusunun endokrin ve ekzokrin fonksiyonları uzun dönemde iyi sonuçlar vermektedir.

İnfekte nekroz cerrahi debridman için mutlak bir endikasyondur. Steril pankreas nekrozunun tedavisi tartışmalıdır. Steril pankreas nekroz olduğu kanıtlanan hastalar 10 gün–3 hafta boyunca profilaktik antibiyotikler ve beslenme desteği ile ameliyatsız tedavi edilebilir. Steril nekrozu, maksimal yoğun bakıma rağmen sebat eden, kötüleşen, organ yetmezliği bulunan hastalarda nekrozektomi yapılabilir (42).

AKUT PANKREATİTİN KOMPLİKASYONLARI

Akut pankreatitin sistemik ve lokal bir çok komplikasyonu vardır. Bunlar tablo 9’da özetlenmiştir (43).

Tablo 9 : Akut pankreatitin komplikasyonları

I – Pankreatik

- 1 – Nekroz : steril yada infekte
- 2 – Pseudokist oluşumu : İnfeksiyon, rüptür, hemoraji
- 3 – Apse oluşumu

II – Lokal Ekstrapankreatik

1 – Pankreas komşu organlara ait : İntra peritoneal kanama, gastrointestinal kanama, splenik ven, superior mesenterik ven, portal ven trombozu, barsak nekrozu

- 2 – Pankreatite bağlı asit oluşumu
- 3 – Tıkanma sarılığı

III – Sistemik komplikasyonları

- 1 – Solunum sistemi komplikasyonları
 - a – Erken arteriyel hipoksi
 - b – Atektazi, pnömoni, plevral efüzyon
 - c – ARDS
- 2 – Kardiyak : Şok, perikardiyal efüzyon, aritmi, EKG, değişiklikleri
- 3 – Hematolojik : DİK
- 4 – Gastrointestinal : Kanama, kolon nekrozu, ileus
- 5 – Böbrek : Azotemi, oligüri, böbrek yetmezliği

- 6 – Metabolik : Hipokalsemi, hiperglisemi
hipertrigliseridemi, asidoz
- 7 – Kranial Sistem : Pisikoz, pankreatik ensefelopati
Purtscher's retinopati
- 8 – Yağ nekrozu
- 9 – Çeşitli : artrit, rabdomiyolliz

III – SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ

Kuantum kimyasına göre ancak iki elektron birlikte bir bağ yapısına girebilir. Elektron çiftleri oldukça kararlı bir halde bulunurlar. İnsan vücudundaki elektronlar neredeyse tamamen elektron çifti halindedir. Bir bağ koptuğu zaman elektronların ikisinde bir atomda kalarak birlikte yada her ikisi de ayrı ayrı atomda kalarak ayrılırlar. Eğer birlikte kalırlarsa oluşan atom iyon olur, ayrıldıklarında oluşan atom serbest radikal olur. Serbest oksijen radikali terimi yerine; radikal olan ve aslında radikal olmayan ancak reaksiyonları ile oksijen radikallerinin oluşumuna neden olan molekülleri içine alan Reaktif Oksijen Türleri (ROS : Reactive Oxygen Species) terimi kullanılmaktadır.

ROS'lar dış yörüngelerinde eşleşmemiş, yüksek enerjili elektron bulunan kimyasal türevlerdir. ROS'lar stabil hale gelebilmek için yakınlarında bulabilecekleri herhangi bir molekül ile etkileşime girerek, elektron alış verişinde bulunurlar. Serbest radikallerle reaksiyona giren moleküller sıra ile serbest radikallere dönüşerek, hasar zincirini ilerleterek yayarlar. Bu radikaller protein, lipid, karbonhidrat gibi organik ve inorganik kimyasal maddeler ile reaksiyona girerler. Hücrelerde olduğu zaman özellikle nükleik asitler ve çeşitli membran moleküllü ile tepkimeye girerek onları parçalar. Hücre içi organelleri etkilerken hücre dışı kompartmana da geçerek uzak etkiler oluşturmaktadır.

ROS'lar fotooksidasyon, emisyon gibi çevresel kaynaklı olabileceği gibi, mitokondrial metabolizma ve normal hücre fonksiyonları sırasında da meydana gelebilmektedir (Tablo 10).

Tablo 10 : ROS Mevdana Gelen Durumlar

- Oksijen toksisitesi
- Radyasyon
- İltihap
- İnflamasyon
- Kimyasal maddeler
- İskemi ve reperfüzyon hasarı

Serbest radikaller hücre içerisinde birkaç yol ile oluşabilir :

Normal fizyolojik olaylar sırasında oluşan redüksiyon-oksidasyon (redoks) reaksiyonlarında : Normal solunum esnasında, mitokondrilerde moleküler oksijen su oluşturmak için dört elektronun ilavesiyle birbiri ardına indirgenir. Bu olayda az miktarda toksik ara türevler meydana gelir. Bunlar süperoksid radikalleri (O_2^-), hidrojen peroksidi (H_2O_2) ve hidroksili (OH^-) kapsar. Ayrıca bazı hücre içi ksantin oksidaz gibi oksidazlar aktivitelerinin sonucunda doğrudan süperoksid radikalleri oluşturur. Bakır ve demir gibi değişimli metallerde hücre içi bazı reaksiyonlar sırasında serbest elektron alıp vererek Fenton reaksiyonunda olduğu gibi serbest radikal oluşumunu katalize eder ($Fe^{++} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{+++} + OH^- + OH^-$). Hücre içi serbest demirin çoğu ferrik durumda (Fe^{+++}) olduğundan, Fenton reaksiyonuna katılmak için ilk olarak ferröz (Fe^{++}) şekle indirgenmelidir. Redüksiyon süperoksid iyonu ile yükseltildiğinden demir ve süperoksidin her ikisinde maksimum oksidatif hücre zedelenmesi için gereklidir.

Radyan enerjinin absorpsiyonu ile (ultraviyole ışığı, x-ışınları gibi) : Örneğin iyonize radyasyon suyu hidroksil (OH^-) ve hidrojen (H^+) serbest radikallerine hidrolize edebilir.

Dış kaynaklı kimyasal maddelerin yada ilaçların hücre içi enzimatik metabolizmaları ile : Örneğin kloroformun (CCl_4) hücre içi metabolizması sonucu CCl_3 serbest radikali oluşur.

Çeşitli hücre tiplerinde normal olarak sentezlenen önemli bir kimyasal mediyatör olan nitrik oksit (NO), oksijen ile reaksiyona girdiğinde, özellikle mitokondrial solunumu inhibe eden bir serbest oksijen türü olan radikal olmayan peroksinitrit yanı sıra radikal olan nitrojen dioxid (NO₂) ve nitrojen trioxid (NO₃) gibi nitrit türevlerine dönüşebilir (44, 45).

Serbest radikallerin hücre zedelenmesinde etki mekanizmaları

Serbest radikallerin hücrelerdeki zedeleyici etkileri sonucu temelde gerçekleşen olay, hücreye ait plazma ve organel membranlarının devamlılığını kaybetmesidir. Sonuçta su yanı sıra sodyum ve kalsiyum iyonları hücre içine girerler. Morfolojik olarak bu hücreler şişer ve soluk granüler stoplazmaları ile tanınırlar. Zaman içinde bu yapısal bozukluk hücreyi geri dönüşümsüz değişikliklere ve ölüme götürür.

I – Membranların Lipit Peroksidasyonu

Membranda çift bağlı poliansatüre lipitler oksijen türevi serbest radikallerin etkisiyle kolayca zedelenir. Lipit–radikal etkileşimleri değişken ve reaktif olan peroksidleri oluşturarak otokatalitik zincir reaksiyonları meydana gelir.

II – Deoksiribonükleik asit (DNA) parçalanması

Timin ile serbest radikal reaksiyonları nükleer ve mitokondriyal DNA’da tek-iplik kırılmaları oluşturur. Bu gibi DNA hasarı hem hücre ölümü hem de hücrelerin malign değişiminde rol alır.

III – Proteinlerin Çapraz Bağlanması

Serbest radikaller sülfidril aracılı protein çapraz bağları oluşturarak parçalanmanın artmasına veya enzimatik aktivitenin kaybına neden olur. Serbest radikal reaksiyonları doğrudan polipeptid parçalanmasına da yol açabilir.

Serbest radikal oluşumu, kimyasal ve radyasyon zehirlenmesi yanısıra, solunum, rutin hücresel aktiviteler ve mikrobiyolojik savunmada yer alır. Serbest radikallerin değişken tabiatlı ve genellikle kendiliğinden yok olması bir şanstır. Örneğin süpeoksit, su varlığında hızla oksijen (O₂) ve hidrojen perokside (H₂O₂) dönüşür. Bu dönüşümün oranı birçok hücre tipinde bulunan süperoksit dismutazların (SOD'lar) etkisiyle anlamlı bir biçimde artırılır (Katalize reaksiyon : 2O₂⁻ + 2H⁺ → H₂O₂ + O₂).

Bununla beraber, hücrelerde serbest radikalleri inaktive eden birçok enzimatik ve enzimatik olmayan sistemler bulunur. Glutasyon peroksidaz (GSH) gibi enzimler de hidrojen peroksid (H₂O₂) yıkımını katalize ederek zedelenmeye karşı koruyucu rol oynar (2GSH + H₂O₂ → 2H₂O + GSSG [glutasyon homodimer]). Peroksizomlarda bulunan katalaz, hidrojen peroksidin (H₂O₂) parçalanmasını sağlar (2H₂O₂ → O₂ + 2H₂O). Vitamini E, A, C, β-karoten ve serüloplazmin gibi endojen veya ekzojen antioksidanlar serbest radikal oluşumunu engelleyerek yada oluştuklarında onları yok ederek antioksidan özellik göstermektedirler (44, 45, 46).

Serbest oksijen radikalleri (ROS) vücutta normal biyolojik işlevler, stres yaratan durumlar ve yaşlanma süresince oluşabilmektedir. Başlıca ROS'lar tablo 11 ve ROS oluşum yolları tablo 12'de gösterilmiştir.

Tablo 11 : Reaktif Oksijen Türleri

Radikaller

- Süperoksit radikali (O₂⁻)
- Hidroksil radikali (OH⁻)
- Alkoksil radikali (RO⁻)
- Peroksil radikali (ROO⁻)

Non-Radikaller

- Hidrojen peroksid (H₂O₂)
- Lipid peroksid (LOOH)
- Hipoklorik asit (HOCL)
- Ozon (O₃)

Tablo 12 : Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) Oluşum Yolları

1- Normal biyolojik işlemler

- Oksijenli solunum
- Katabolik ve anabolik işlemler

2- Oksidatif stres meydana getiren durumlar

- İskemi, hemoraji, travma, radyoaktivite, entoksikasyon
- Ksenobiyotik maddelerin etkisi : inhale edilenler, alışkanlık yapan maddeler, ilaçlar
- Stres ile artan katekolaminlerin oksidasyonu
- Fagositik enflamasyon hücrelerinden salgılanma
- Uzun süreli metabolik hastalıklar
- Diğer nedenler : sıcak şoku, güneş ışını

3- Yaşlanma süreci

ROS'lar oksijenden (O_2), Fenton veya Haber-Weis reaksiyonlarından, ksantin oksidaz enziminden, katekolaminlerden, nitrik oksid'ten, eikasonoid metabolizmasından yada aktive olmuş lökositlerden ortaya çıkabilmektedir.

Lökosit kökenli radikal üretimi

ROS'ların önemli kaynaklarından birisi polimorfonükleer (PMN) lökositlerdir (nötrofiller). Hücre hasarı sonrası, endotel veya parankim hücrelerinden ksantin oksidaz aracılığıyla oluşan ROS'ların lökosit yapışması ve aktivasyonuna direkt etkisi yanında, endotel hücre membranındaki fosfolipaz- A_2 'yi aktive ederek lökotrien B_4 (LTB_4) ve trombosit aktive edici faktör (PAF) gibi kemotaktik ajanların açığa çıkmasına yol açar.

Metabolik olarak aktive olmuş lökositler, inflamatuvar reaksiyon yaratarak hücre dışı aralığa kemotaktik ajanlar salgırlar. Lökositler yapışır ve hücrelerin aralarından içeriye geçederler. Lökositlerin hücre membranında bulunan nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz enzimi antibakteriyel etki için gereklidir. Lökosit aktivasyonu ve bu enzimin salgılanmasıyla oluşan süperoksid radikali organizmanın kendisine zarar verir. Lökositlerden myeloperoksidaz, elastaz, kollajenaz ve hyaluronidaz gibi enzimlerde salgılanır. Vasküler yatakta biriken lökositlerin mekanik etkisiyle mikrosirkülasyon bozukluğu

artarak iskemi ağırlaşır. ROS'larda kapiller geçirgenliği arttırıp ödem meydana getirir. Böylece artmış interstisyel doku basıncı ve perfüzyon bozukluğu oluşur.

Nötrofillerin lizozomları myeloperoksidaz (MPO) enzimi içerirler. Myeloperoksidaz (MPO), hidrojen peroksid (H_2O_2) ve klorürden kuvvetli bir oksidan, antimikrobiyal ve antifungal bir ajan olan hipoklorik asit (HOCL) oluşturan reaksiyonu katalize eder. Bu reaksiyondaki H_2O_2 , NADPH oksidaz enzimiyle açığa çıkan süperoksidin (O_2^-) dismutasyonu ile meydana gelir. MPO aktivitesindeki artış lökosit aktivitesindeki artışı gösterir. Bu yüzden MPO düzeyinin ölçümü lökositlerin olaya katılım derecesini gösterir (47).

ROS'ların Ölçümü

ROS'lar yarı ömrü çok kısa olan kararsız bileşiklerdir ve dokuda kantitatif ölçümler zordur. Elektron spin rezonans spektroskopisi (ESR), ROS'ların tayinine olanak veren tek direkt yöntemdir. Direkt ölçüm yöntemleri zor olduğu için daha çok reaksiyon ürünleri ölçülmekte veya inhibitör deneyleri tercih edilmektedir. Bu amaçla pek çok lipid deriveleri ölçülebilir.

Dokuda lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak aldehidler (hekzanal, malondialdehid [MDA], 4-hidroksinonenal), tiyobarbitürik asid reaktivitesi, konjuge diene'ler ve az miktarda oluşan etan ve pentan (hidrokarbiler), ayrıca hidroperoksidler ROS ölçümünde kullanılır. En sık olarak MDA kullanılır. Tiyobarbitürik asid yöntemiyle MDA tayini MDA'nın asidik ortamda tiyobarbitürik asidle renk oluşturma ilkesine dayanır. MDA, serbest oksijen radikallerinin artması sonucu ortaya çıkan hücre membran harabiyetinin bir göstergesidir.

ROS tayininde idrarda, DNA deriveleri ve okside ürünler, nükleik asit yıkım ürünleri ve glutatyon ölçülebilir. İnhibitör deneylerinden süperoksid dismutaz (SOD) ve katalaz spesifik olarak, allopurinol, deferoksamin, mannitol ve dimetil sülfoksit (DMSO) nonspesifik olarak ROS tayininde araştırılabilir (tablo 13, 48).

Tablo 13 : ROS'ların Tayin Yöntemleri

A – Direkt Tayin Yöntemleri

- Spektrofotometri
- ESR spin tuzak yöntemi
- NMR spin tuzak yöntemi
- Kemiluminesans

B – Reaksiyon Ürünlerinin Ölçümü

- Lipid peroksidasyonu

Lipid Peroksid (PD) Assay

Tiobarbiturik Asit Reaktif Maddeler (TBARS) Assay,
(Malondialdehid [MDA] Tayini)

- Nükleik asit yıkım ürünleri

C – İnhibitör Çalışmaları

- Spesifik : Süperoksid dismutaz, Katalaz, Glutasyon peroksidaz
- Kısmen spesifik : Allopürinol, Deferoksamin
- Non-spesifik : Mannitol, Dimetil Sülfoksit (DMSO)

Antioksidan Mekanizmalar

Hücrelerde serbest radikalleri ortadan kaldırmaya yönelik bir çok mekanizma mevcuttur. Organizmanın ROS'lara karşı mücadelesinde ki amaç oksidanları artırıcı etkenleri ortadan uzaklaştırmak, tetiklenen biyokimyasal reaksiyonları kırmak, oksidan salgılayan hücreleri inaktive etmek ve artmış oksidanları etkisizleştirecek antioksidanlar kullanarak ROS miktarını azaltmaktır.

Antioksidanların etki mekanizmaları

Söndürme (quenching) : Oksidanlarla etkileşime girip onlara hidrojen iyonu vererek aktivitelerini söndüren ve inaktif hale getiren moleküllerin etkinliğine

söndürme (quenching) etkisi denilir. Vitaminler (E, A,) glutatyaon bu şekilde etki gösterir.

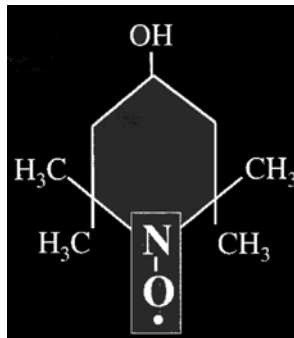
Temizleyici (scavenging) : Oksidanlarla etkileşip onları tutma ve daha zayıf yeni bir moleküle çevirerek etkisiz hale getirmeye temizleyici (scavenging) etki denilir. Doğal antioksidanlardan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu etkiyle oksidanların miktarını azaltır.

Zincir kırıcı (chain breaking) etki : Oksidanları kendilerine bağlayıp zincirlerini kırarak ROS fonksiyonlarını engellerler. Hemoglobin, seruloplazmin ve ağır metaller bu şekilde etki gösterir.

Onarıcı (repair) : Antioksidan savunma sistemleri etkili olmazsa, onarıcı enzimler serbest radikallerin zedelediği proteinleri parçalar ve DNA'daki serbest radikal hasarını tamir ederler. Bu etkinliğe onarıcı (repair) etki denilir (46).

IV – TEMPOL

Tempol (4 – hidroksi - 2, 2, 6, 6 – tetrametilpiperidin – N - oksil), elektron spin rezonans spektroskopide geniş çapta kullanılan spin label Tempo'nun suda çözünen bir analogudur. Spin label, mikroskopik çevresine ilgi duyan ve spin label'in elektron spin rezonans (ESR) spektrumuyla açığa çıkarılan moleküler bir yapının bir parçasına bağlı stabil bir paramanyetik gruptur (genellikle bir nitril radikali). Tempol, biyolojik membranları geçen düşük moleküler ağırlıklı (moleküler ağırlığı, 172 Dalton) stabil bir piperidin nitroksid'tir (Şekil 1, 49).



Şekil 1 : Tempol'ün kimyasal yapısı

Tempol'ün Etki Mekanizması

Biyolojik membranları geçemeyen rekombinant süperoksit dismutazın (SOD) aksine, Tempol biyolojik membranları geçip sitozolde birikir (49).

Tempol ile ROS'lar Arasındaki Etkileşimler

Tempol ve diğer stabil nitroksitlerin SOD taklitçileri mi olduğu yoksa süperoksit anyonlarının temizleyicileri olarak mı işlev gördüğü tartışmalıdır. Kesin etki mekanizmasına bakmaksızın, Tempol süperoksit anyonlarının etkilerini in vitro azaltır. Tempol, Fenton reaksiyonunda hücre içi ferröz demir seviyelerini düşürerek meydana gelen hidroksil radikallerinin oluşumunu azaltır. Son zamanlarda, Tempol'ün, sıçan kalp myoblastlarında H_2O_2 'e bağlı mitokondriyal solunumda bozulmayı, konsantrasyon bağımlı bir şekilde azalttığı gösterilmiştir. Bu hücrelerde H_2O_2 'e bağlı mitokondriyal solunumdaki azalmaya, hidroksil radikallerinin üretimi aracılık eder ve peroksinitrit oluşumundan bağımsızdır. Tempol'ün yararlı etkilerinin pekçoğunun bu ajanın hidroksil radikallerini temizleyebilmesine bağlı olduğu hipotezi aşağıdaki bulgularla desteklenir. Tempol, kontraktiledaki bozulmayı azaltır, hemen izole edilmiş sıçan kardiyak myozitlerinde H_2O_2 'e bağlı laktat dehidrojenaz salınımını da azaltır. Tavşanın lens epitel hücrelerinde H_2O_2 'e bağlı hücre hasarı deferoksamin ile azaltılır. Tempol, süperoksit anyonların ve hidroksil radikallerin üretimine sekonder olan, adriyaminin kardiyotoksik etkilerini azaltır. Tempol gibi, Tempo da (1 mM) geniş çapta myokardiyal iskemi ve reperfüzyona tabi tutulan sıçan kalplerinde hidroksil radikallerinin (2,5-dihidrobenzoik asit oluşumu olarak ölçülen) oluşumunu ve laktat dehidrojenaz salınımını azaltır. Bu nedenlerle 1999'da, Tempol'ün koruyucu etkilerinin, bu stabil nitroksit radikalın hücre içi süperoksit anyonlarının özellikle hidroksil radikallerinin temizleyicisi olarak işlev görebilmesine bağlı olduğu ileri sürülmüştür (49).

Tempol ve Sitokinler

Endotel hücrelerinin, proinflamatuvar sitokinler gibi pekçok uyarıya yanıt olarak ROS ürettiği bilinmektedir. Volk ve arkadaşları reaktif oksijen yükünün ölçüsü olarak 2,7-dikloroflüoresein (DCF)-flüoresans'da zamana bağımlı artışlar kullandı ve tek endotel hücrelerini TNF- α , interlökin-1 (IL-1) ve interferon- γ ile enkübe ettikten sonra DCF-flüoresansı ölçtü. DCF-flüoresans'daki artışlar Tempol ile ortadan kaldırıldı, fakat NO sentaz inhibitöründen (L-NMMA) etkilenmedi (50). Sitokine bağlı endotelial DCF-flüoresansı nikotinamid adenin dinükleotid varlığında arttı, oysa nikotinamid adenin dinükleotid fosfat veya ksantin ile birlikte etkisizdi. Flavoenzim inhibitörü difenilyodoniyum yukarıdaki sitokinlere bağlı DCF-flüoresansındaki artışı ortadan kaldırdı. Ayrıca TNF- α , IL-1 ve interferon- γ endotel hücrelerinin, Tempol ile ortadan kaldırılan fakat L-NMMA ile ortadan kaldırılmayan bir etki olan, monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1) ve IL-6 üretimini uyardı. Böylece, endotel hücrelerinin TNF- α , IL-1 ve interferon- γ ile uyarılması ROS oluşumuna (muhtemelen nikotinamid adenin dinükleotid oksidaz yoluyla) sebep oldu. Bu radikallerin oluşması MCP-1 ve IL-6 üretimini uyarır. Hücre içi radikal temizleyicisi Tempol, TNF- α , IL-1 ve interferon- γ 'ya bağlı ROS oluşumunu, MCP-1 ve IL-6 oluşumunu azalttı. Bu sonuçlar, hayvanlarda inflamasyon ve iskemi-reperfüzyon hasarı modellerinde Tempol'ün bazı yararlı etkilerinin, MCP-1 gibi kemokinlerin veya IL-6 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin oluşumunun önlenmesine ikincil olduğu görüşünü destekler (49).

Tempol ve İnflamasyon

Sledzinski ve arkadaşları ratlarda pankreatit modelinde tempolün faydalı etkileri olduğunu, inflamasyon derecesini azalttığını, lokal ve sistemik doku hasarlanmasını azalttığını gözlemlemiştir. Bu faydalı etkiler carrageenan ile oluşturulan plörezi, kolit, zimosanın indüklediği çoklu organ yetmezliğinde ve uveoretinitde de gözlenmiştir (51).

Tempol ve Pankreatit

Seruleinin 3 saat infüzyonu ratlarda akut pankreatite neden olur. Pankreasın histolojik incelemesinde interstisiyel ödem, asiner hücre vakuolizasyonu, pankreatik kapillere lökosit marginasyonu gözlenir. Elektron mikroskopisinde daha ileri inceleme yapıldığında, mitokondrial parçalanma, mitokondrial kristanın harabiyeti, zimojen granülleri ve liposom birleşmesinden oluşan geniş vakuolizasyon oluşumları gözlenir. Pankreatit modelinin en önemli noktası dokularda ve pankreasta hidrojen peroksid (H_2O_2) birikimi ile sonuçlanmasıdır. Serulein ile oluşturulan pankreatit modelinde, Tempol infüzyonu serbest radikallerin oluşumunu ve doku hasarını azaltır. Elektron rezonans spektrometrik analizler tempolün pankreas dokusu içerisinde biriktiğini ve nitroksidin biyolojik membranlardan geçişini sağladığını göstermiştir. Bu çalışma tempolün anti-inflamatuvar etkisini gösteren ilk çalışmadır ve ratlarda akut pankreatitle ilişkili doku hasarını azalttığını göstermektedir (49).

Tempol ve Plörezi

Carrageenan inflamasyonun patofizyolojisinde rol alan ROS oluşumuna neden olur. Carrageenan ile oluşturulmuş plöreziye tempol histolojik olarak gösterilmiş akciğer hasarını, myeloperoksidaz (MPO) ve malondialdehid (MDA) doku düzeylerini azaltır. Aynı zamanda tempol ile tedavide aşağıdaki olaylar meydana gelir;

- 1 – Peroksinitrit oluşumu azalır
- 2 – DNA hasarı azalır
- 3 – Mitokondrial solunum onarılır
- 4 – Makrofajlarda hücresel düzeyde nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) seviyesindeki düşüş azalır.

Tempol aynı zamanda H_2O_2 'nin insan endotilyal hücrelerde oluşturduğu hasarı azaltır.

Tempol ve Çoklu Organ Yetmezliği (MOF)

Zimosanın neden olduğu MOF'ta tempol peritoneal eksudasyonu ve PMN migrasyonunu engeller. Tempol karaciğer, akciğer ve barsakta zimosanın neden olduğu MPO ve MDA artışıını engeller. Tempol peroksinitrit oluşumunu, DNA hasarını, mitokondrial solunumun bozulmasını ve peritoneal kaviteye makrofajların geçişini engeller (49).

III – GEREÇ VE YÖNTEM

I – HAYVANLAR

Çalışmada Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvar'ında yetiştirilen ağırlıkları 250-350 gr. arasında değişen toplam 24 adet Wistar Albino cinsi erkek rat kullanıldı. Ratlar randomize olarak 4 gruba ayrıldı. Çalışma boyunca hayvanların tümü 24°C oda ısısında, %50 nem ortamında, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık siklus içerisinde, her kafeste 2 hayvan olacak şekilde korundu. Hayvanlar deney süresince operasyondan bir gece öncesine kadar standart hayvan yemi ve su ile beslendi. Operasyondan 12 saat öncesinde hayvan yemi kesilerek sadece su içmelerine izin verildi. Operasyon öncesi anestezi, invaziv girişim ve cerrahi işlemler, Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü'nün “Deney Hayvanları” rehber kitabına uygun olarak yürütüldü. Pamukkale Üniversitesi Tıbbi Etik Kurul Başkanlığı'ndan 08.02.2006 tarihli ve 2006/019 sayılı yazı ile “Tıbbi Etik Kurul İzni” alındı.

II – İLAÇLAR

Ketamine : Ketalar flakon (50 mg/ml, Eczacıbaşı İlaç ve Ticaret A.Ş. İstanbul – Türkiye). 50 mg/kg dozunda intramusküler olarak anestezi sağlamak amacıyla verilmiştir.

Xylazine : Rompun flakon (23.32 mg/ml, Bayer Türk Kimya San. Ltd. Şti. İstanbul – Türkiye). 10 mg/kg dozunda intramusküler olarak analjezi ve kas gevşetici amacıyla verilmiştir.

Tempol : Fluka, 56516 – 5 gr. granül. (4 – Hydroxy – 2, 2, 6, 6 – tetramethyl – piperidine 1 – oxyl). Tempol, % 0,9 NaCl solüsyonu içerisinde çözündürülüp 30 mg/kg dozunda intravenöz olarak verilmiştir.

Serulein : Fluka , 21026 – 0.5 gr.([Tyr(SO₃H)⁴]Caerulein) Serulein % 0.9 NaCl solüsyonu içerisinde çözündürülüp 5 µg/kg/h dozunda intravenöz olarak verilmiştir.

Glycodeoxycholic acid (GDOC) : Sigma, G6132 – 100 mg. (3 α ,12 α -Dihydroxy-5 β -cholanoic acid N-[carboxymethyl] amide) Glycodeoksikolik acid pH 8 olan tampon çözeltisi içerisinde çözündürülüp 10 mmol/L olacak şekilde hazırlanıp taze olarak biliopankreatik kanaldan infüzyon olarak verilmiştir.

Heparin : Nevparin flakon (25000 IU/5 ml, Mustafa Nevzat İlaç San. A.Ş. Mecidiyeköy, İstanbul – Türkiye). Kan gazı çalışması için insülin enjektörü heparin ile yıkanmıştır.

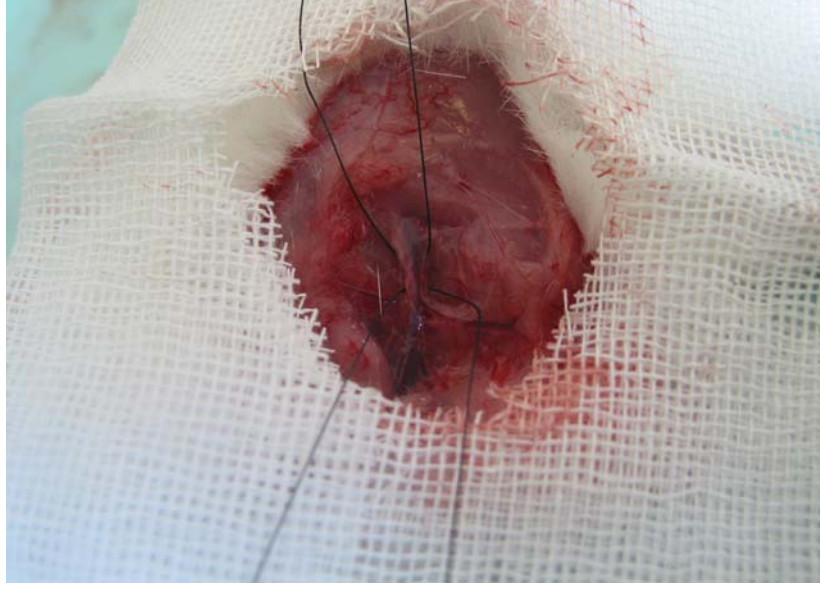
III – AKUT PANKREATİT OLUŞTURULMASI

Ratlara 12 saatlik açlığı takiben 50 mg/kg ketamine (Ketalar flakon, Parke-Dawis, Eczacıbaşı İlaç ve Ticaret A.Ş. İstanbul - Türkiye) ve 10 mg/kg xylazine hidroklorür (Rompun flakon, Bayer, Leverkusen, Almanya) ile intramuskuler yoldan genel anestezi uygulandı. Çalışmaya alınan her rata operasyon öncesi dehidratasyonu önlemek amacıyla subkutan olarak 10 ml Ringer Laktat solüsyonu enjekte edildi. Çalışma süresince tüm ratların spontan olarak solunum yapmasına izin verildi. Anestezi derinliği kontrol edildikten sonra ratlar vücut ısısını yaklaşık 37 C’de tutmak amacıyla ısıtıcı lamba altına alınıp ısıtıcı ped üzerine yatırıldı.

Sonra boyun orta hattın 2 cm insizyon yapılarak sağ internal juguler ven açık olarak bulunup 4/0 atravmatik ipek (Boz Tıbbi Malzeme ve San. A.Ş. Ankara – Türkiye) ile askıya alındı (Şekil 1). Sağ internal juguler ven çapı 0.60 mm olan yumuşak polietilen kateter (Braun AG, Melsungen, Germany) ile kanule edildi. Sağ internal juguler ven kateterin distalinden 4/0 atravmatik ipek ile bağlandı. Proksimaldeki askı sütürü ile kateter sağ internal juguler vene tespit edildi. Sağ internal juguler ven kateteri 16-gauge branül ile tünel yapılarak supraskapular alana çıkarıldı (Şekil 2). İnsizyon bölgesi 3/0 ipek ile suture edilerek kapatıldı.

Ratların karın bölgeleri tıraşlandı ve % 10 Povidone-iodine solüsyonu ile temizlenerek steril şartlar altında 4 cm’lik orta hat insizyonu ile laparotomi yapıldı. Duodenum ve biliopankreatik kanal bulundu. Duodenum duvarı antimesenterik kenardan 24 gauge kateter ile delinerek, kateterin branül kısmı papilla vateriden biliopankreatik kanala yerleştirildi (Şekil 3). Bu işlemi takiben, ratlar beş dakika

boyunca 60 derecelik açıyla yükseltilerek, duktus içerisindeki pankreatik sekresyonun ve safranın drene olması sağlandı. Tüm bu işlemler sırasında cerrahi tekniğin travmatik olmamasına büyük özen gösterildi. Duktus kanülasyonu sırasında, hiçbir ratta duktus perforasyonu yada cerrahi işleme bağlı intrapankreatik hemoraji gelişmedi.

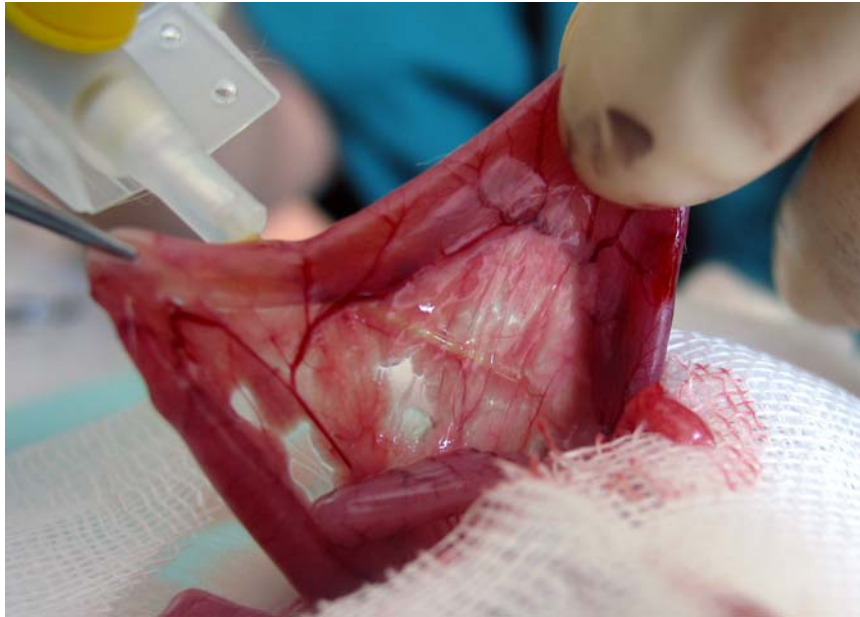


Şekil 1 : Sağ internal juguler venin bulunup askıya alınması.



Şekil 2 : Sağ internal juguler ven kateterinin tespiti ve supraskapular alana 16 gauge branül ile tünel yapılarak çıkarılması.

Transduodenal intraduktal kanulasyon tamamlandıktan sonra 10 mmol/L olarak hazırlanan glikodeoksikolik asid 1.2ml/kg dozunda 30 mmHg basınç altında 10 dakika boyunca pankreatik kanala bir perfüzör (Braun, Perfusor-Compact, Germany) ile infüzyon yapıldı. İntraduktal infüzyon tamamlanmasını takiben kateter çıkarıldı. GDOC infüzyonu bittikten hemen sonra serum fizyolojik içinde çözündürülmüş serulein 5 µg/kg/h dozunda 6 saat boyunca sağ internal juguler ven kateterinden perfüzyon (Braun, Perfusor-Compact, Germany) ile infüzyon yapıldı. Total infüzyon miktarı 8 ml/kg/h hızında olacak şekilde ayarlandı. Karın insizyonu 4/0 atravmatik ipek sütürler ile kapatıldı.



Şekil 3 : Pankreatik kanalın 24 gauge kateter ile kanülasyonu.

IV – ÇALIŞMA GRUPLARI

Çalışmaya alınan ratlar randomize olarak 4 gruba ayrıldı.

Grup – 1 : Sham grubu 6 adet rat

Grup – 2 : Kontrol grubu 6 adet rat (sham + Tempol)

Grup – 3 : Kontrol grubu 6 adet rat (Pankreatit grubu, sham+Serulein+GDOC)

Grup – 4 : Tedavi grubu 6 adet rat (Pankreatit + Tempol, Serulein+GDOC+Tempol)

Grup – 1: Sham Grubu: (n = 6)

Sham grubundaki ratlara anestezi uygulandıktan sonra sağ internal juguler ven kateteri yerleştirildi. Laparotomi yapıp intraduktal kanülasyon sonrası aynı miktar, süre ve basınç altında serum fizyolojik verildi. Karın insizyonu 4/0 atravmatik ipek sütürler ile kapatıldı. Sağ internal juguler ven kataterinden 6 saat süresince total doz 8 ml/kg/h olacak şekilde serum fizyolojik infüzyonu yapıldı. Deney süresi kadar beklendi. Altıncı saatin sonunda laparotomi yapılarak iliak arterler bifurkasyonundan enjektör ile aort kanüle edilerek toplam 5–6 ml. kan hematolojik ve biyokimyasal çalışmalar için alındı. Ratlar bu şekilde kansızlaştırma yöntemi ile sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen ratların pankreası alındı.

Grup – 2: Kontrol grubu (sham + Tempol, n = 6)

Grup 2 kontrol grubundaki ratlara anestezi uygulandıktan sonra sağ internal juguler ven kateteri yerleştirildi. Laparotomi yapıp intraduktal kanülasyon sonrası aynı miktar, süre ve basınç altında serum fizyolojik verildi. Karın insizyonu 4/0 atravmatik ipek sütürler ile kapatıldı. Sağ internal juguler ven kateterinden Tempol, 4 saat boyunca boyunca 30 mg/kg/h dozunda bir perfüzör (Braun, Perfusor-Compact, Germany) ile intravenöz perfüzyon şeklinde uygulandı. Deney süresi kadar beklendikten sonra laparotomi yapılarak iliak arterler bifurkasyonundan enjektör ile aort kanüle edilerek toplam 5–6 ml. kan hematolojik ve biyokimyasal çalışmalar için alındı. Sakrifiye edilen ratların pankreası alındı.

Grup – 3: Kontrol grubu (ANP, Akut Nekrotizan Pankreatit grubu, sham + Serulein + GDOC, n=6)

Grup 3 kontrol grubundaki ratlara anestezi uygulandıktan sonra sağ internal juguler ven kateteri yerleştirildi. Laparotomi yapıp intraduktal kanülasyon sonrası aynı miktar, süre ve basınç altında GDOC verildi. Karın insizyonu 4/0 atravmatik ipek sütürler ile kapatıldı. Sağ internal juguler ven kateterinden 6 saat süresince serulein infüzyonu yapılarak akut pankreatit modeli oluşturuldu. Serulein infüzyonunun sonunda laparotomi yapılarak iliak arterler bifurkasyonundan enjektör

ile aort kanüle edilerek toplam 5–6 ml. kan hematolojik ve biyokimyasal çalışmalar için alındı. Bu şekilde sakrifiye edilen ratların pankreası alındı.

Grup – 4 : Tedavi grubu (ANP+Tempol, Akut Nekrotizan Pankreatit + Tempol, Serulein+GDOC+Tempol, n=6)

Grup 4 tedavi grubundaki ratlara anestezi uygulandıktan sonra sağ internal juguler ven kateteri yerleştirildi. Laparotomi yapıp intraduktal kanülasyon sonrası aynı miktar, süre ve basınç altında GDOC verildi. Karın insizyonu 4/0 atravmatik ipek sütürler ile kapatıldı. Sağ internal juguler ven kateterinden serulein infüzyonu başlandı. Serulein infüzyonu ile aynı anda sağ internal juguler ven kateterinden Tempol infüzyonu başlandı. Tempol, 4 saat boyunca 30 mg/kg/h dozunda bir perfüzör (Braun, Perfusor-Compact, Germany) ile intravenöz perfüzyon şeklinde uygulandı (Şekil 4). Tempol ve seruleinin toplam dozları 8ml/h olacak şekilde ayarlandı. Deney süresi sonunda laparotomi yapılarak iliak arterler bifurkasyonundan enjektör ile aort kanüle edilerek toplam 5–6 ml. kan hematolojik ve biyokimyasal çalışmalar için alındı. Sakrifiye edilen ratların pankreası alındı.



Şekil 4 : Tempol'ün infüzyon şeklinde verilmesi.

V – DOKU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Grup 1 sham grubunda ve grup 2 kontrol grubunda akut pankreatit oluşturulmaksızın, grup 1'e serum fizyolojik, grup 2'ye Tempol verildi. Grup 3 kontrol grubunda ve grup 4 tedavi grubunda akut pankreatit oluşturuldu. Grup 4 tedavi grubu Tempol ile tedavi edildi.

Her gruptaki ratlar için deney süresi boyunca beklenildi. Altıncı saat sonunda laparotomi yapılarak iliak arterler bifurkasyonundan enjektör ile aort kanüle edilip toplam 5–6 ml. kan hematolojik ve biyokimyasal çalışmalar için alındı. Enjektör içerisinden, heparinize insülin enjektörüne 1 ml. kan kan gazı çalışmaları için, 2 ml. kan tam kan sayımı için EDTA'lı tüpe ve 3 ml. kan biyokimyasal çalışmalar için standart biyokimya tüpüne alındı.

Alınan kan örneklerinden alanin amino transferaz (ALT), aspartat amino transferaz (AST), amilaz, pankreatik amilaz (P.Amilaz), lipaz ve glukoz değerleri, kan gazı ölçümleri (Pamukkale Üniversitesi Biyokimya laboratuvarı, Aeroset-Abbort Automated Instrument Analyzer, Japan, Easy Blood Gas, Medica Corporation Bedford-Massachusetts-USA) ve tam kan sayımı (Pamukkale Üniversitesi Hematoloji laboratuvarı, Cell DYN-3700 Abbott, USA) yapıldı.

Kan örnekleri alındıktan hemen sonra, pankreas dokusu çevre dokulardan serbestleştirilerek total olarak çıkarıldı. Çıkarılan pankreas eşit 3 parçaya bölündü. 1. parça biyokimyasal malondialdehid (MDA) ve myeloperoksidase (MPO) tayini için, 2. parça yaş/kuru ağırlık için ve 3. parça histopatolojik inceleme için ayrıldı.

VI – HİSTOPATOLOJİK İNCELEMELER

Alınan pankreas doku örnekleri, % 10 nötral tamponlu formaldehid içerisinde fikse edildi. Fikse dokular, PAÜTF Patoloji A.D. Laboratuvarında önce dereceli etanolde dehidrate edilip (Shandon Pathcentre, UK) sonra parafine (Leica EG 1160, Germany) gömüldü. Kesitler 5 mikrometre kalınlığında kesilip (Sliding Microtome, Lecia RM 2265, Germany) xylene ile parafin uzaklaştırıldı. Sonra doku kesitleri ışık

mikroskopunda (Olympus BX50, Japan) incelenmek üzere hematoxylin-eosin ile boyanıp, iki patolog tarafından kör bir şekilde yapılan histopatolojik incelemeye alındı.

Pankreas dokusu histopatolojik skorlaması pankreasta ödem, asiner nekroz, hemoraji ve yağ nekrozu, inflamasyon ve perivasküler infiltrat derecesine göre yapıldı (tablo 14, 52).

Tablo 14 : Pankreas Histopatolojik Skorlama Sistemi

Ödem :

0	: yok
0.5	: interlobar alanda fokal genişleme
1	: interlobar alanda diffüz genişleme
1.5	: Grade 1 + interlobüler alanda fokal genişleme
2	: Grade 1 + interlobüler alanda diffüz genişleme
2.5	: Grade 2 + interasiner alanda fokal genişleme
3	: Grade 2 + interasiner alanda diffüz genişleme
3.5	: Grade 3 + intersellüler alanda fokal genişleme
4	: Grade 3 + intersellüler alanda diffüz genişleme

Asiner Nekroz :

0	: yok
0.5	: Fokal bir alanda 1-4 nekrotik hücre görünmesi
1	: Diffüz alanda 1-4 nekrotik hücre görünmesi
1.5	: Grade 1 + fokal bir alanda 5-10 nekrotik hücre görünmesi
2	: Diffüz alanda 5-10 nekrotik hücre görünmesi
2.5	: Grade 2 + fokal alanda 11-16 nekrotik hücre görünmesi
3	: Diffüz alanda 11-16 nekrotik hücre görünmesi
3.5	: Grade 3 + fokal bir alanda 16'dan fazla nekrotik hücre görünmesi
4	: Diffüz alanda 16'dan fazla nekrotik hücre görünmesi

Yağ Nekrozu ve Hemoraji

0	: yok
0.5	: 1 odakta görülmesi
1	: 2 odakta görülmesi
1.5	: 3 odakta görülmesi
2	: 4 odakta görülmesi
2.5	: 5 odakta görülmesi

- 3 : 6 odakta görülmesi
3.5 : 7 odakta görülmesi
4 : 8 veya daha fazla odakta görülmesi

İnflamasyon ve Perivasküler İnfiltrat

- 0 : İntralobüler veya perivasküler alanda 0-1 lökosit
0.5 : İntralobüler veya perivasküler alanda 2-5 lökosit
1 : İntralobüler veya perivasküler alanda 6-10 lökosit
1.5 : İntralobüler veya perivasküler alanda 11-15 lökosit
2 : İntralobüler veya perivasküler alanda 16-20 lökosit
2.5 : İntralobüler veya perivasküler alanda 21-25 lökosit
3 : İntralobüler veya perivasküler alanda 26-30 lökosit
3.5 : 30'dan fazla lökosit veya fokal mikroapse
4 : 35'den fazla lökosit veya mikroapselerin yaygın olması

VII – BİYOKİMYASAL İNCELEMELER

Biyokimyasal MDA ve MPO tayini için sakrifikasyondan hemen sonra alınan pankreas doku örnekleri, -196°C 'deki sıvı azota daldırılıp çıkartıldıktan sonra analizin yapılacağı güne kadar -78°C 'deki derin dondurucu içerisinde muhafaza edildi. Sonra derin dondurucudan çıkarılan pankreas doku örnekleri, -80°C 'deki kuru buz konteynerine konuldu. Soğuk zincir ile biyokimyasal parametrelerin çalışılacağı Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Biyokimya A.D. Laboratuvarına gönderildi.

A – MALONDİALDEHİD (MDA) DÜZEYİ ÖLÇÜMÜ

Lipid peroksidasyon ürünü olarak malondialdehid (MDA) ölçümü, malondialdehidin (MDA) asidik ortamda tiyobarbitürik asitle oluşturduğu rengin 532 nm'de absorbansının ölçülmesi prensibine dayanan Ohkawa ve arkadaşlarının yöntemi uygulanarak ölçüldü (53). Kısaca 0,5 ml örnek üzerinde % 8,1 sodyum dodesil sulfat 0,2 ml, pH'sı 3,5 olan % 20 asetik asit 1,5 ml ve % 0,8 tiyobarbitürik asit solüsyonu 1,5 ml eklenerek 95°C 'de 60 dakika ısıtıldı. Soğutulduktan sonra 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Üst tabakanın absorbansı 532 nm'de ölçüldü. Standart olarak 1,1, 3,3- tetraetoksipropan kullanılarak çizilen kalibrasyon

grafisinde numunedeki MDA miktarı hesaplandı ve nmol/g doku olarak ifade edildi (53).

B – MYELOPEROXİDASE (MPO) DÜZEYİ ÖLÇÜMÜ

Lökosit aktivasyonunun göstergesi olarak kullanılan doku MPO aktivitesi ölçüldü. Dokular 50 mM proteaz inhibitörü içeren fosfat tamponunda (ph 7,4, 1/10 w/v) 0.2 µM phenylmethanesulphonyl fluoride (PMSF) ve 1 mM ethylenediamin tetra asetik asitte (EDTA), 4 °C'de 30 saniye bir homojenezör (Potter S, B. Braun, Germany) kullanılarak homojenize edildi. MPO ölçümü için uygun miktarda homojenat kullanıldı.

Bu metot Suziki ve arkadaşlarının metodunun modifiye edilmiş şeklidir. Bu yöntem sentetik 3,3',5,5' tetrametil benzidinin (TMB) MPO ile oksidasyonunu temel alır. Standart reaksiyon karışımı 500 µl tampon (160 mM potasyum fosfat tamponu, pH 5,4, % 1 hexadecyltrimethylammonium bromid), 100 µl TMB (16 mM dimetil formamid içinde çözülmüş), 50 µl homojenat ve 300 µl su içermektedir. Reaksiyon 50 µl H₂O₂ (% 0.003 dilüe edilmiş) ilave edilmesi ile 37 °C'de başlatıldı. TMB'nin MPO ile katalize edilmiş oksidasyon oranı 655 nm'de emilimindeki artışı kaydedilerek izlenmiştir. Reaksiyonun başlangıç ve lineer fazını hesaba katarak dakikadaki emilim değişimini ölçtük, bir enzim birimi analiz koşullarında bir dakikada bir emilim değişimi meydana getiren enzim miktarı olarak belirlendi. Emzim aktivitesi birim/yaş ağırlık gramı olarak hesaplandı (54).

VIII – ORGAN YAŞ/KURU AĞIRLIK ORANLARI

Pankreas ödem formasyonunun ayrı bir ölçüsü olarak organ yaş/kuru ağırlık oranları belirlendi (55). Ratlar sakrifiye edildikten sonra üç parçaya ayrılmış olan pankreas dokusu önceden darası alınmış tabaklar üzerinde tartıldı ve sonra sıcak etüve konuldu. Organlar 60 °C'de 5 gün sıcak etüvde bırakıldı. Kurutma sonrası tekrar tartıldı. Kurutma öncesi ve sonrası organ ağırlıklarına göre yaş/kuru ağırlık oranı hesaplandı (56).

IX – İSTATİSTİKSEL METOD

Bu çalışmadaki değerler ortalama \pm ortalama standart hata olarak verilmiştir. İstatistiksel analizler için SPSS 11.5 bilgisayar programı kullanılmıştır. Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Post Hoc Tukey testi kullanılarak yapılmıştır. Gruplar arası farklar için $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

IV – BULGULAR

I – BİYOKİMYASAL İNCELEMELER

A – SERUM İNCELEMELERİ

Deney sonrası her gruptaki ratlardan biyokimyasal çalışmalar (3 ml) ve kan gazı analizi (1 ml) için kan örnekleri alındı. Biyokimyasal kan örneklerinden AST, ALT, amilaz, P. amilaz, lipaz ve glukoz değerleri çalışıldı. pH ve baz açığı ölçümleri kan gazı analizi ile yapıldı. Sonuçlar gruplara göre ortalama değerleri (M) ± standart hata (SEM) olarak tablolandırıldı (Tablo 15).

Tablo 15 : Biyokimyasal değerler ve kan gazı analizi (M±SEM).

Parametreler	SHAM	TEMPOL	ANP	ANP+TEMPOL
AST (IU/l)	547,66±104,06	193,16±67,32	552,00±127,50	462,66±85,20
ALT (IU/l)	250,50±36,84	110,66±50,62	201,00±68,72	249,33±65,09
Amilaz (U/l)	2857,33±279,17*	1706,00±126,34 [§]	20875,16±2836,15	11681,66±2045,42 [‡]
P.Amilaz (U/l)	2635,66±273,93*	1451,66±116,93 [§]	19339,33±2333,23	11238,00±2077,55 [‡]
Lipaz	45,26±13,50*	23,00±9,04 [§]	1534,50±102,57	1034,16±209,07 [‡]
Glukoz (mg/dl)	292,50±40,67	307,50±30,34	130,66±13,89 [§]	135,00±13,44 [#]
pH	7,326±0,01*	7,29±0,00 [§]	7,15±0,01	7,29±0,00 [‡]
Baz açığı	-5,483±0,34*	-6,03±0,53 [§]	-12,23±1,27	-6,30±0,50 [‡]

ANP : Akut nekrotizan pankreatit, *, §, ‡, \$, # için $p<0,05$.

* Sham vs. ANP

§ TEMPOL vs. ANP

‡ ANP vs. ANP + TEMPOL

\$ ANP vs. Sham, ANP vs. TEMPOL

ANP + TEMPOL vs Sham, ANP + TEMPOL vs TEMPOL

Gruplar arasında AST, ALT değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır (AST: $F=2,93$, $df=3$, $p=0,058$, ALT: $F=1,33$, $df=3$, $p=0,289$).

Serum amilaz seviyeleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ($F=25,84$, $df=3$, $p=0,0004$). ANP, serum amilaz seviyelerini sham ve Tempol grubuna göre anlamlı olarak artırmıştır ($p=0,0002$, $p=0,0001$). ANP + Tempol grubunda, serum amilaz seviyeleri ANP grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır ($p=0,007$). Sham ve Tempol gurubunda amilaz değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır ($p= 0,966$).

Serum P.amilaz seviyeleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ($F=28,28$, $df=3$, $p=0,0002$). ANP, serum P.amilaz seviyelerini sham ve Tempol grubuna göre anlamlı olarak artırmıştır ($p=0,0001$, $p=0,0005$). ANP + Tempol grubunda, serum P.amilaz seviyeleri ANP grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır ($p=0,008$). Sham ve Tempol gurubunda P.amilaz değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır ($p= 0,950$).

Serum lipaz seviyeleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ($F=41,30$, $df=3$, $p=0,0009$). ANP, serum lipaz seviyelerini sham grubu ve Tempol grubuna göre anlamlı olarak artırmıştır ($p=0,0009$, $p=0,0007$). ANP + Tempol grubunda, serum lipaz seviyeleri ANP grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır ($p=0,031$). Sham ve Tempol gurubunda lipaz değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır ($p= 0,999$).

Serum glukoz seviyeleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ($F=12,69$, $df=3$, $p=0,0007$). ANP grubunda, serum glukoz seviyeleri sham grubu ve Tempol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,002$, $p=0,001$). Benzer şekilde ANP + Tempol grubunda, serum glukoz seviyeleri sham grubu ve Tempol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,003$, $p=0,001$). Sham ve Tempol gurubunda glukoz değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır ($p= 0,979$). ANP ve ANP + Tempol gurubunda glukoz değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır ($p= 0,999$).

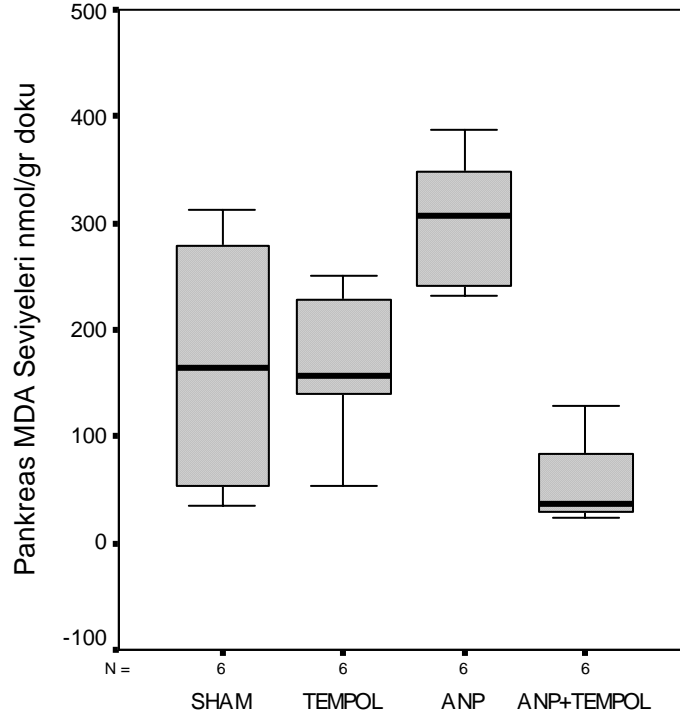
Kan gazı incelemelerinden pH değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ($F=72,49$, $df=3$, $p=0,0006$). ANP, pH seviyelerini sham grubu ve Tempol grubuna göre anlamlı olarak dşrmştur ($p=0,0001$, $p=0,0003$). ANP + Tempol grubunda, pH seviyeleri ANP grubuna göre anlamlı derecede yükselmiştir ($p=0,003$). Sham ile Tempol ve ANP + Tempol guruplarında pH değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,112$, $p=0,099$).

Kan gazı incelemelerinden baz açığı karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ($F=17,51$, $df=3$, $p=0,0008$). ANP grubunda, baz açığı sham grubu ve Tempol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır ($p=0,0002$, $p=0,0006$). ANP + Tempol grubunda, baz açığı ANP grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır ($p=0,0001$). Sham ile Tempol ve ANP + Tempol guruplarında baz açığı karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,955$, $p=0,870$).

B – DOKU İNCELEMELRİ

i – Pankreas dokusu MDA seviyeleri

Pankreas dokusunda MDA seviyeleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ($F=10,67$, $df=3$, $p=0,0002$). ANP, pankreas dokusunda MDA seviyelerini sham grubu ve Tempol grubuna göre anlamlı olarak artırmıştır ($p=0,027$, $p=0,023$). ANP + Tempol grubunda, pankreas dokusunda MDA seviyeleri ANP grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır ($p=0,0008$). Sham ile Tempol ve ANP + Tempol guruplarında, pankreas dokusu MDA seviyeleri karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır ($p=1,000$, $p=0,083$). Ortalama pankreas dokusunda MDA seviyeleri, sham grubunda $167,74\pm 46,10$, Tempol grubunda $164,56\pm 28,58$, ANP grubunda $303,50\pm 24,77$ ve ANP + Tempol grubunda $56,33\pm 16,81$ olarak bulunmuştur (şekil 5).

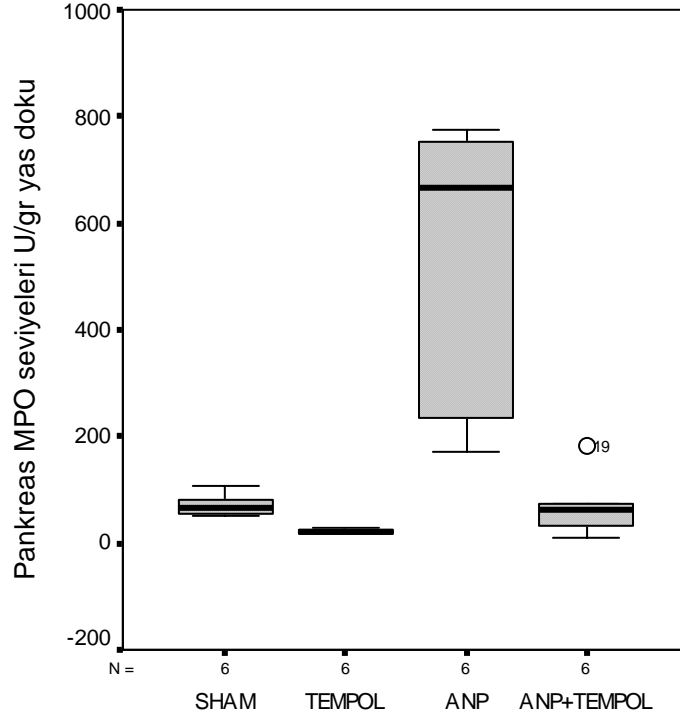


Şekil 5 : Pankreas MDA seviyelerinin gruplara göre dağılımı.

Sütunlar medyan değerleri, uç değerleri ve dağılım aralığını göstermektedir.

ii – Pankreas dokusu MPO seviyeleri

Pankreas dokusunda MPO seviyeleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ($F=18,85$, $df=3$, $p=0,0004$). ANP, pankreas dokusunda MPO seviyelerini sham grubu ve Tempol grubuna göre anlamlı olarak artırmıştır ($p=0,0004$, $p=0,0001$). ANP + Tempol grubunda, pankreas dokusunda MPO seviyeleri ANP grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır ($p=0,0004$). Sham ile Tempol ve ANP + Tempol guruplarında, pankreas dokusu MPO seviyeleri karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,923$, $p=1,000$). Ortalama pankreas dokusunda MPO seviyeleri, sham grubunda $71,91 \pm 8,63$, Tempol grubunda $22,05 \pm 1,96$, ANP grubunda $543,48 \pm 110,04$ ve ANP + Tempol grubunda $71,35 \pm 24,03$ olarak bulunmuştur (Şekil 6).

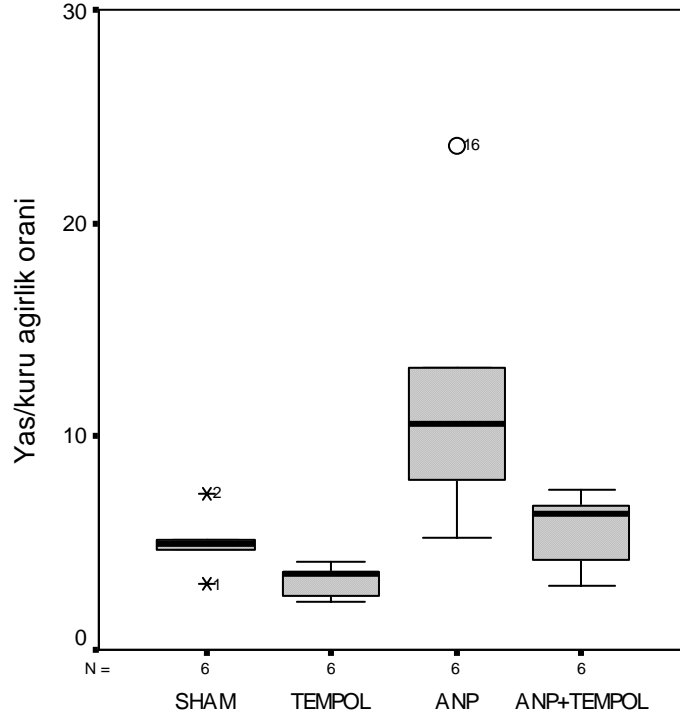


Şekil 6 : Pankreas MPO seviyelerinin gruplara göre dağılımı.

Sütunlar medyan değerleri, uç değerleri ve dağılım aralığını göstermektedir.

II – ORGAN YAŞ/KURU AĞIRLIK ORANLARI

Pankreas dokusunda yaş/kuru ağırlık oranı açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ($F=7,27$, $df=3$, $p=0,002$). ANP, pankreas dokusunda yaş/kuru ağırlık oranını sham grubu ve Tempol grubuna göre anlamlı olarak artırmıştır ($p=0,011$, $p=0,002$). ANP + Tempol grubunda, ANP grubuna göre yaş/kuru ağırlık oranını anlamlı derecede azaltmıştır ($p=0,024$). Sham ile Tempol ve ANP + Tempol guruplarında, pankreas dokusu yaş/kuru ağırlık oranları karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,817$, $p=0,984$). Ortalama pankreas dokusunda yaş/kuru ağırlık oranı, sham grubunda $5,01\pm 0,55$, Tempol grubunda $3,29\pm 0,30$, ANP grubunda $11,86\pm 2,60$ ve ANP + Tempol grubunda $5,71\pm 0,69$ olarak bulunmuştur (Şekil 7).



Şekil 7 : Pankreas dokusu yaş/kuru ağırlık oranının gruplara göre dağılımı. Sütunlar medyan değerleri, uç değerleri ve dağılım aralığını göstermektedir.

III – HEMATOLOJİK İNCELEMELER

Deney sonrası her gruptaki ratlardan hematolojik çalışmalar için kan örnekleri (2 ml) alındı. Hematolojik kan örneklerinden lökosit ve hemoatokrit değerleri çalışıldı. Sonuçlar gruplara göre ortalama değerleri (M) ± standart hata (SEM) olarak tablolandırıldı (Tablo 16).

Tablo 16 : Hematolojik değerler (M±SEM).

Parametreler	SHAM	TEMPOL	ANP	ANP+TEMPOL
Lökosit (K/ μ l)	4,95±0,89	6,98±0,76	5,50±0,98	6,05±0,95
Hematokrit (%)	43,80±4,18	43,66±3,25	40,11±3,72	42,56±2,98

Gruplar arasında lökosit ve hematokrit değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır (lökosit: F=0,92, df=3, p=0,448, Hematokrit: F=0,229 df=3, p=0,875).

IV – HİSTOPATOLOJİK İNCELEMELER

Hematoxylin-eosin boyalı kesitler histopatolojik incelemeye alındı. Pankreas dokusu histopatolojik skorlaması pankreasta ödem, asiner nekroz, hemoraji ve yağ nekrozu, inflamasyon ve perivasküler infiltrat derecesine göre yapıldı. Sonuçlar gruplara göre ortalama değerleri (M) ± standart hata (SEM) olarak tablolandırıldı (Tablo 16).

Tablo 17 : Histopatolojik bulgular (M±SEM).

Parametreler	SHAM	TEMPOL	ANP	ANP+TEMPOL
Ödem	0,00±0,00 [#] ^{\$}	0,41±0,15 [‡]	2,08±0,15	1,16±0,27 ^{\$}
Asiner Nekroz	0,00±0,00 [#]	0,00±0,00	1,25±0,49	0,00±0,00 ^{\$}
Yağ Nekrozu ve Hemoraji	0,00±0,00 [#]	0,00±0,00	1,08±0,37	0,00±0,00 ^{\$}
İnflamasyon ve Perivasküler İnfiltrat	0,00±0,00 [#]	0,50±0,12	1,83±0,27	0,83±0,10 ^{\$}

ANP : Akut nekrotizan pankreatit, #, \$, ‡, § için $p < 0,05$

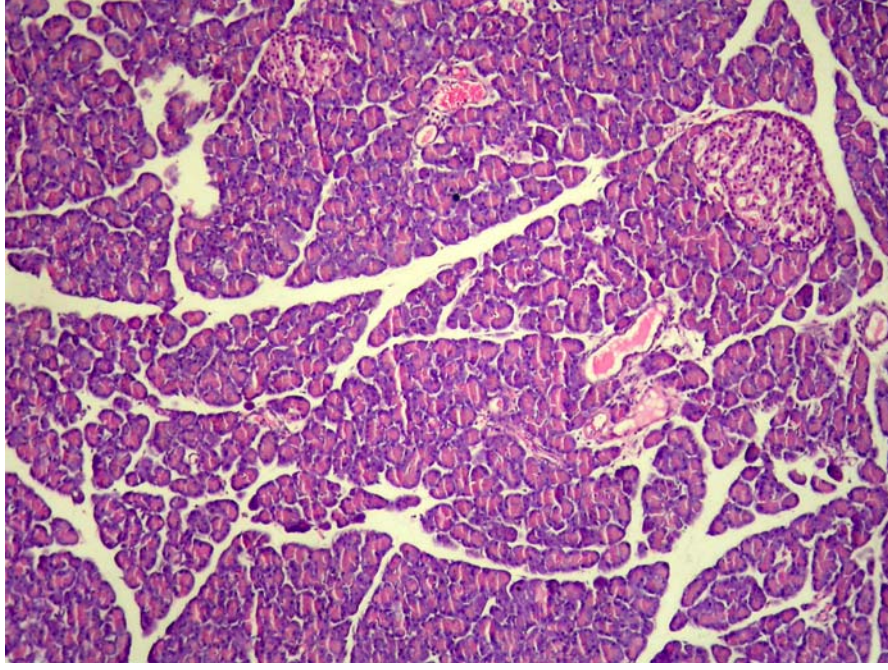
Sham vs ANP

\$ Sham vs ANP + TEMPOL

‡ TEMPOL vs ANP

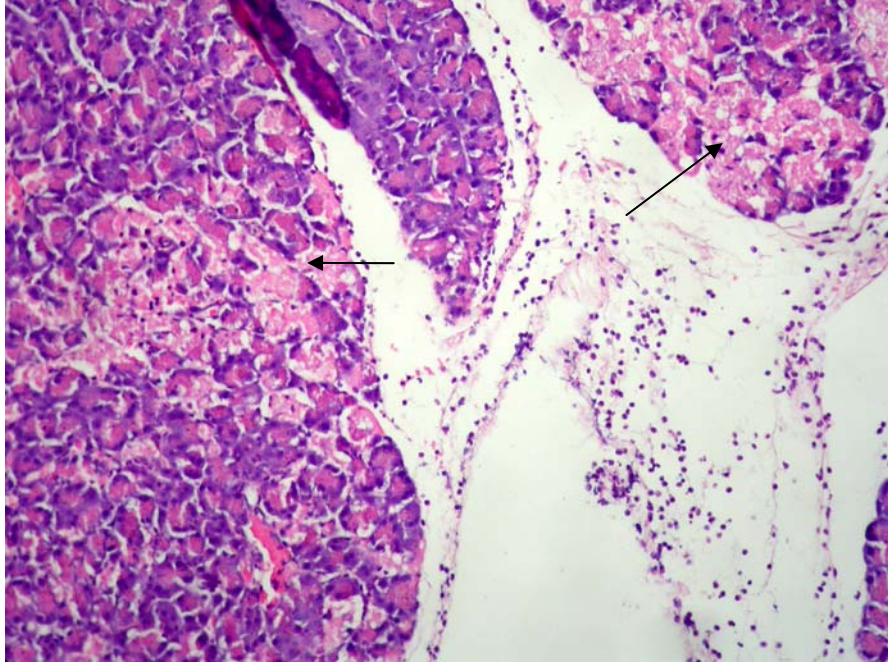
§ ANP + TEMPOL vs ANP

Gruplar arasında ödem karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmuştur ($F=26,81$, $df=3$, $p=0,0003$). Sham grubu ile Tempol grubu karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,366$). Sham grubu ile ANP ve ANP + Tempol grupları karşılaştırıldığında anlamlı olarak sham grubu dışındaki gruplarda ödem artmıştır ($p=0,0003$, $p=0,001$). Tempol ve ANP grubu karşılaştırıldığında ödem ANP grubunda anlamlı olarak artmıştır ($p=0,0009$). ANP + Tempol ile ANP grubu karşılaştırıldığında ANP + Tempol grubunda ödem anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,008$). Diğer gruplarda ödem görülmesine karşılık sham grubunda ödem izlenmemiştir (Şekil 8).



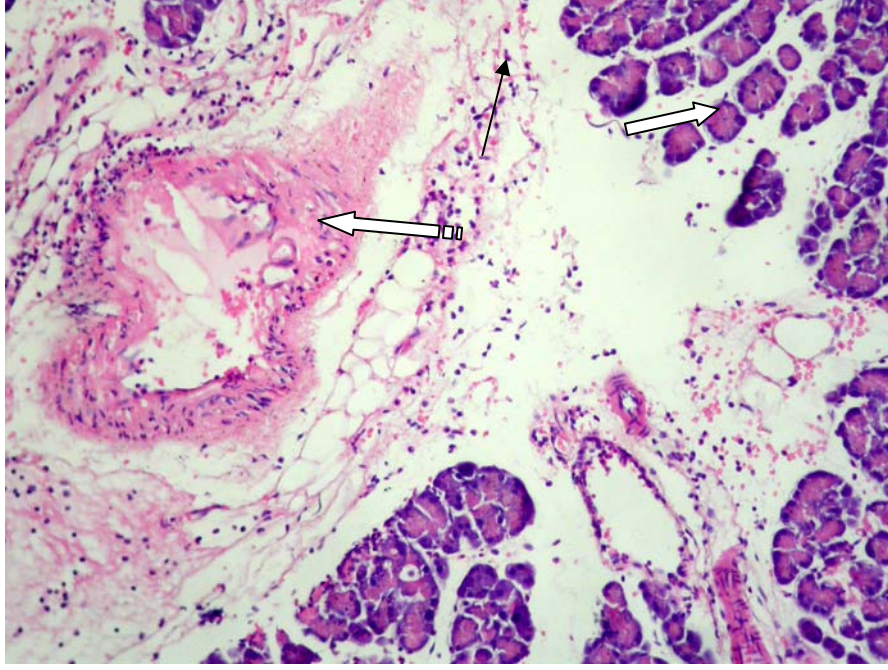
Şekil 8 : Sham grubuna ait pankreas dokusunun mikroskopik görüntüsü,normal bulgular (HE, x100).

Gruplar arası asiner nekroz karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmuştur ($F=6,35$, $df=3$, $p=0,003$). Sham grubu ile Tempol ve ANP + Tempol grupları karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır ($p=1,000$, $p=1,000$). Sham grubu ile ANP grubu karşılaştırıldığında ANP grubunda anlamlı olarak asiner nekroz artmıştır ($p=0.010$, Şekil 9). ANP + Tempol grubu ile ANP grubu karşılaştırıldığında ANP + Tempol grubunda asiner nekroz anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,010$).



Şekil 9 : ANP grubuna ait pankreas dokusunda asiner nekroz alanlarının mikroskopik görüntüsü,(HE, x100).

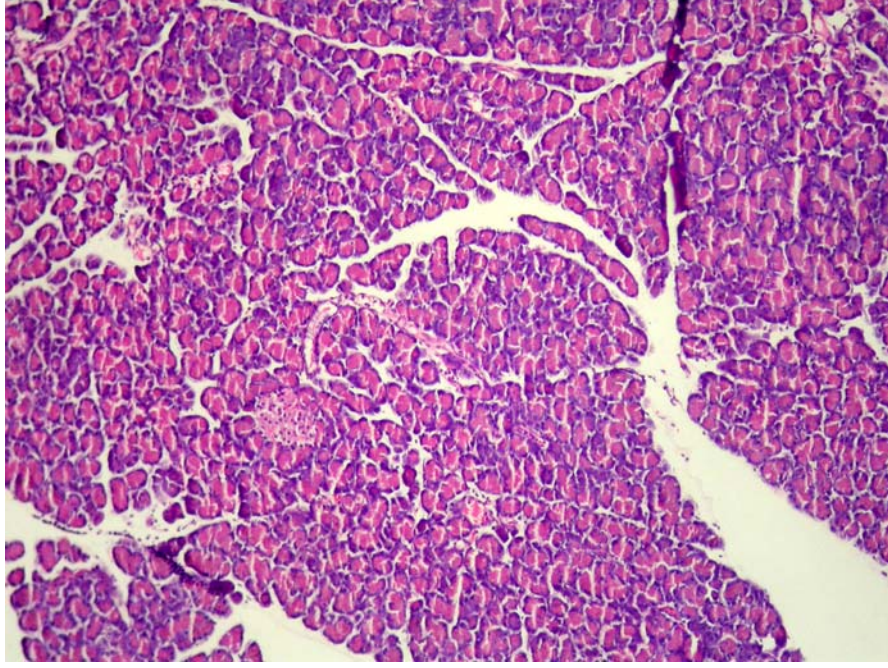
Gruplar arasında yağ nekrozu ve hemoraji karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmuştur ($F=8,36$, $df=3$, $p=0,001$). Sham grubu ile Tempol ve ANP + Tempol grupları karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır ($p=1,000$, $p=1,000$). Sham grubu ile ANP grubu karşılaştırıldığında ANP grubunda anlamlı olarak yağ nekrozu ve hemoraji artmıştır ($p=0.003$, Şekil 10). ANP + Tempol grubu ile ANP grubu karşılaştırıldığında ANP + Tempol grubunda anlamlı olarak yağ nekrozu ve hemoraji azalmıştır ($p=0,003$).



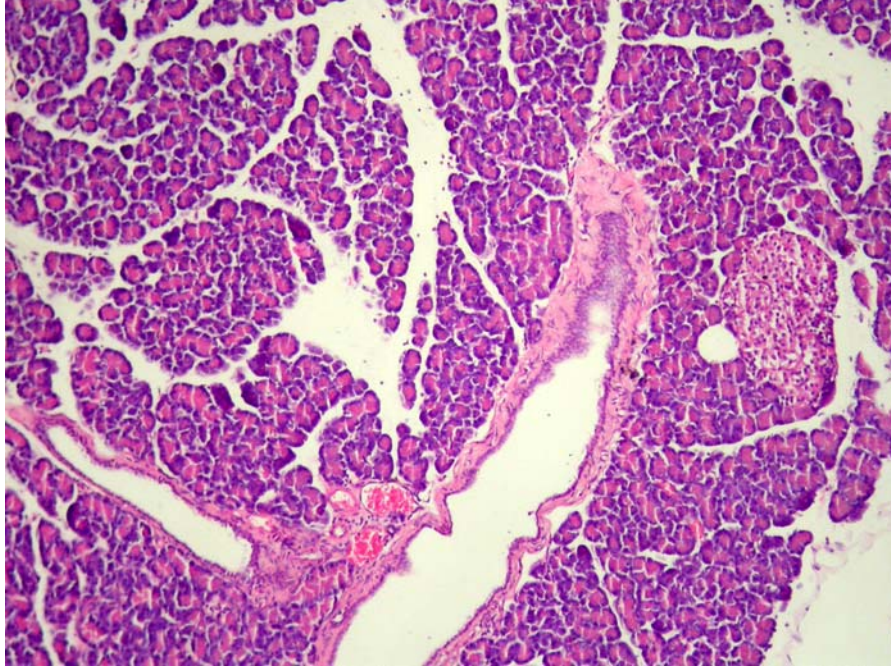
Şekil 10 : ANP grubuna ait pankreas dokusunda yağ nekrozu, perivasküler inflamasyon ve ödem alanlarının mikroskopik görüntüsü, (HE, x200).

—► Yağ nekrozu alanları, ⇨ Ödem alanları, ◻⇨ perivasküler inflamasyon alanlarını işaret etmektedir.

Gruplar arasında inflamasyon ve perivasküler infiltrat karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmuştur ($F=22,71$, $df=3$, $p=0,0001$). Sham grubu ile Tempol grubu karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,164$ Şekil 11). Sham grubu ile ANP grubu karşılaştırıldığında inflamasyon ve perivasküler infiltrat ANP grubunda anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ($p=0,0006$ Şekil 10). ANP + Tempol grubu ile ANP grubu karşılaştırıldığında, inflamasyon ve perivasküler infiltrat, ANP + Tempol grubunda anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,002$, Şekil 12).



Şekil 11 : Tempol grubuna ait pankreas dokusunun mikroskopik görüntüsü,normal bulgular (HE,x100).



Şekil 12 : ANP + Tempol grubuna ait pankreas dokusunun mikroskopik görüntüsü, asiner nekroz, yağ nekrozu, perivasküler inflamasyon alanları oluşmamıştır (HE,x100).

V – T A R T I Ő M A

Akut pankreatit etiyolojisinde çok değişik faktörlerin rol aldığı, asiner hücrelerin harabiyeti ile seyreden, pankreasta ödemden nekroza kadar değişik şiddette histopatolojik bulgular gösteren pankreasın nonbakteriyel inflamasyonudur.

Akut pankreatit tüm tedavi modellerine rağmen, özellikle şiddetli pankreatik nekroz ile karakterize uzak organ yetmezliği olan % 10-20 hasta grubunda mortalite oranlarının % 40 lara ulaşabilmesi nedeniyle halen güncelliğini korumaktadır.

Bir çok deneysel akut pankreatit modellerinde akut pankreatitin patofizyolojik mekanizmaları tanımlanmaya ve anlaşılmaya çalışılmıştır. Değişik çalışmalar serbest oksijen radikallerinin, akut pankreatitin başlangıcı ve devamında önemli rol aldığını göstermiştir. Hasar görmüş asinüs hücrelerinden serbest oksijen radikalleri açığa çıkar ve lökositleri inflamasyon sahasına çekerler. Lökositlerden açığa çıkan medyatörler ve sitokinler özellikle tahrip edicidir. Akut pankreatitte serbest oksijen radikalleri, lökosit aktivasyonu ile süperoksid anyonların açığa çıkmasına ve lipit peroksidasyonuna neden olarak, akut pankreatitin ilerlemesinde ve uzak organ işlev bozukluğunda rol alırlar (57).

Deneysel akut pankreatit modellerinde farklı modeller kullanılmıştır. İdeal pankreatit modeli, insanda oluşan pankreatitteki morfolojik bulgulara benzemeli, tekrarlanılabilmeli ve tedavinin pankreatitin şiddeti üzerine önemli etkilerini kolayca gösterilebilmelidir. Serulein ile indüklenen akut pankreatit modellerinde hafif pankreatit oluşmaktadır. Pankreas dokusunda ödem, pankreatik enzimlerde artış görülmektedir ancak nekroz izlenmemektedir (58, 59, 60). Benzer şekilde glukodeoksikolik asitin tek başına kullanıldığı pankreatit modellerinde hafif pankreatit oluşmaktadır. Serulein ve glukodeoksikolik asitin, akut pankreatit modelinde birlikte kullanılması ile pankreas dokusunda ödem, pankreatik enzimlerde artış ile asiner hücrelerde nekroz görülmektedir (51, 61). Bizde çalışmamızda insanlardaki akut nekrotizan pankreatitteki morfolojik bulgulara benzemesi, tekrarlanabilir olması ve tedavideki değişikliklerin kolayca

gösterilebilmesi nedeni ile serulein ve glukodeoksikolik asitin birlikte kullanıldığı akut nekrotizan pankreatit modelini kullandık.

Tempol (4 – hidroksi - 2, 2, 6, 6 – tetrametilpiperidin – N - oksil), elektron spin rezonans spektroskopide geniş çapta kullanılan spin label Tempo'nun suda çözünen bir analogudur. Tempol, biyolojik membranları geçen düşük moleküler ağırlıklı (moleküler ağırlığı, 172 Dalton) stabil bir piperidin nitroksid'tir (49). Tempol'ün *in vitro* olarak süperoksit anyonlarının etkilerini azalttığını gösteren çalışmalar vardır (49). Tempol Fenton reaksiyonunda hücre içi ferröz demir seviyelerini düşürerek, meydana gelen hidroksil radikallerinin oluşumunu azaltmaktadır (49, 63). Tempol'ün rat kalp myoblastlarında hidrojen peroksite bağlı, mitokondriyal solunumda bozulmayı konsantrasyona bağımlı olarak azalttığı 1999 yılında McDonald ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir. Aynı çalışmada tempolün lipid peroksidasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Tempol'ün koruyucu etkilerinin, serbest oksijen radikallerinden süperoksit anyonlarının ve hidroksil radikallerinin temizleyicisi olarak çalışmasına bağlı olduğunu söylemişlerdir (62).

Serbest oksijen radikalleri membran lipid peroksidasyonu, protein denatürasyonu ve DNA zincir kırığı gibi mekanizmalarla hücre hasarlanmasına ve nekroza neden olur (64). Tempol verilmesi biyolojik sıvılarda tempol birikimine yol açar ve DNA zincir kırıklarını önler. Tempol'ün kültüre ekilmiş insan endotelial hücrelerinde H₂O₂'e bağlı PARP (poli[adenozin 5'-difosfat riboz] polimeraz) aktivitesindeki artışı önlediği bulunmuştur (49, 56). Cuzzocrea ve arkadaşları tarafından Tempol'ün lokal veya sistemik inflamasyonla karakterize hastalıklarda kullanımının faydalı olduğu gösterilmiştir (64). Dabrowska ve arkadaşları L-arginine ile oluşturulan akut pankreatit modelinde tempolün serbest radikal toksisitesinden koruyucu etkilerinin olduğunu göstermişlerdir (65). Tempol'ün, renal sempatik sinir aktivitesi, ortalama arteriyel kan basıncı ve kalp hızında doza bağlı düşümlere sebep olduğu gösterilmiştir.

Tempol ile yapılan çalışmalar Tempol'ün iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine, kalp kasında, böbrekler üzerine, beyinde, intestinal iskemide yaralı etkileri olduğu gösterilmiştir. İnflamasyon ile giden pankreatit, plörezi, artrit ve çoklu organ yetmezliği gibi hastalıklarda tempolün yararlı etkileri gösterilmiştir (49, 63, 69). Bu

çalışma ratlarda oluşturulan akut nekrotizan pankreatitte Tempol'ün lokal organ hasarını azaltıcı etkileri olduğunu göstermiştir. Bu konuyla ilgili olarak yaptığımız literatür taramasında Tempol'ün akut pankreatit tedavisinde kullanıldığını gördük. Ancak literatürde rastladığımız çalışmalar akut ödematöz pankreatit üzerine Tempol'ün etkilerini araştırmaktaydı. Bu çalışma akut nekrotizan pankreatit modeli üzerine Tempol'ün yaralı etkileri olduğunu göstermiştir.

Akut pankreatit modellerinde biyokimyasal değişiklikler olmaktadır. Akut pankreatitin başlaması ile birlikte serum amilaz, pankreatik amilaz, lipaz seviyelerinde artış gözlenmektedir. Bu çalışmada literatür ile benzer şekilde, pankreatit oluşturulması ile pankreatik enzimlerde artış olduğunu gözlemledik. Tempol ile tedavi edilen grupta pankreatik enzim değerlerinin, akut nekrotizan pankreatit modeli uygulanan gruba göre anlamlı olarak düşük olduğunu gözlemledik. Cuzzocrea ve arkadaşları, süperoksid dismutaz taklitçisi M40401 ile tedavi edilen akut pankreatitli ratlarda serum amilaz ve lipaz seviyelerini tedavi edilmeyen gruba göre daha düşük bulmuşlardır (57). Küçüktülü ve arkadaşları akut pankreatit oluşturdukları ratlarda octreotid tedavisi uygulamış ve tedavi gruplarında amilaz seviyelerini daha düşük olarak bulmuşlardır (66).

Çalışmamızda serum transaminazları açısından anlamlı farklılık görülmemiştir. Alhan ve arkadaşları, deneysel akut nekrotizan pankreatit oluşturdukları grupta transaminaz değerlerini yüksek olarak ölçmüşlerdir ve şiddetli akut pankreatitte octreotidin transaminazlar üzerine etkilerinin olmadığını gözlemlemişlerdir (66).

Akut nekrotizan pankreatit oluşturduğumuz ratlarda serum glukoz seviyeleri kontrol gruplarına göre düşük olarak ölçüldü. Tempol'ün glukoz düşüklüğünü düzeltici yönde bir etkisi olmamıştır. Alhan ve arkadaşları akut pankreatitte nitrik oksid sentaz inhibitörünün etkilerini araştırmışlar ve benzer şekilde akut nekrotizan pankreatit oluşturdukları ratlarda serum glukoz seviyelerini düşük olarak ölçmüşlerdir ve nitrik oksid sentaz inhibitörü bu düşüklüğe düzeltici yönde bir etkisi olmamıştır (61).

pH değerleri ve baz açığı ölçümleri incelendiğinde ANP oluşturulan grupta asidoz derinleşmiş ve baz açığı artmıştır. Tempol ile tedavi edilen grupta Tempol pH değerlerini ve baz açığını düzeltmiştir.

Hematolojik değerlerden lökosit ve hematokrit değerlerine bakıldığında ANP grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır. ANP'te serum hematokrit değerleri dehidratasyona bağlı olarak yüksek bulunabileceği gibi, pankreatik veya retroperitoneal kan kaybı nedeniyle düşük te olabilir (4). Bizim alışmamızda fark oluşmamıştır.

Serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonu hücre membranı hasarının en önemli nedenlerinden biridir. Lipid radikali, hücre membranlarında bol miktarda doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna sebep olarak hücre hasarına neden olmaktadır. Hücre membranlarında yapısal ve fonksiyonel bozukluklara neden olarak membran bütünlüğünü bozabilir. Serbest oksijen radikalleri çok kısa ömürlüdürler ve direkt yöntemlerle ölçümleri zordur. Bu yüzden indirekt yöntemler tercih edilir. Serbest oksijen radikallerinin doku hasarının araştırılmasında lipid peroksidasyon ürünü ve lipid peroksidasyonunun indirek bir göstergesi olan malondialdehid (MDA) düzeyine bakılmaktadır. Virlos ve arkadaşları farelerde serulein ile oluşturdukları akut pankreatitte pankreas MDA seviyelerini sham grubuna göre yüksek bulmuşlardır (67). Alhan ve arkadaşları 2002 yılında yapmış oldukları deneysel çalışmada akut nekrotizan pankreatitte pankreas MDA seviyelerinin yükseldiğini göstermişlerdir (68). Tempol'ün inflamasyonda, sepsite, çoklu organ yetmezliğinde, iskemi reperfüzyon hasarında dokuda yükselen MDA seviyelerini düşürdüğünü Cuzzocrea ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda göstermişlerdir (56, 64, 69). Bizim alışmamızda, akut nekrotizan pankreatit sonrası meydana gelen pankreas dokusundaki lipid peroksidasyonu, malondialdehid (MDA) düzeyi ölçülerek tayin edilmiştir. Literatür ile benzer şekilde akut nekrotizan pankreatit pankreas dokusundaki MDA seviyelerini artırmıştır. Tempol ile tedavi edilen akut nekrotizan pankreatit grubunda pankreas dokusundaki malondialdehid (MDA) düzeyi belirgin olarak azalmıştır.

Serbest oksijen radikalleri lökositleri inflamasyon sahasına çekerler. Burada önce nötrofiller, sonra monosit, lenfosit ve diğerleri görölür. Lökositlerden açığa

çıkan medyatörler ve sitokinler özellikle tahrip edicidir. Lökosit aktivasyonunu göstermek için, myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ölçümü yararlı bir yöntemdir. Bizde çalışmamızda lökosit aktivasyonunu göstermek için MPO aktivitesini ölçtük. Aytekin ve arkadaşları uyguladıkları akut pankreatit modelinde akciğer hasarını göstermek için MPO seviyelerini ölçmüşler ve pankreatit oluşturulan grupta yüksek olarak bulmuşlardır (39, 55). Cuzzocrea ve arkadaşları zymosan ile oluşturulan çoklu organ yetmezliğinde doku MPO aktivitesini yüksek olarak bulmuşlar ve Tempol ile tedavi sonucu doku MPO aktivitesinin düştüğünü göstermişlerdir (56). Bizde çalışmamızda, akut nekrotizan pankreatit sonrası meydana gelen pankreas dokusundaki lökosit aktivasyonunu göstermek için, myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ölçümünü kullandık. Literatür ile benzer şekilde, akut nekrotizan pankreatit oluşturulan grupta pankreas dokusunda MPO aktivitesi artmıştır. Tempol ile tedavi edilen akut nekrotizan pankreatit grubunda ise pankreas dokusundaki myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi belirgin olarak azalmıştır. Tempol akut nekrotizan pankreatite bağlı lökosit infiltrasyonunu azaltmıştır.

Kapiller kaçağı ve ödem formasyonunu göstermek için yaş/kuru ağırlık oranı yaygın olarak kullanılmaktadır (39, 56). Bizde çalışmamızda ödem formasyonu ve kapiller kaçağı göstermek için pankreas dokusunun yaş/kuru ağırlık oranını kullandık. Akut nekrotizan pankreatit oluşturulan grupta, pankreas dokusunda yaş/kuru ağırlık oranları anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Cuzzocrea ve arkadaşları Tempol ile tedavi edilen çoklu organ yetmezlikli ratlarda yaş/kuru ağırlık oranlarının anlamlı olarak azaldığını göstermişlerdir (56). Bizim çalışmamızda, akut nekrotizan pankreatit uygulanan ratlarda Tempol tedavisi ile pankreas dokusunun yaş/kuru ağırlık oranlarının anlamlı olarak düştüğü gözlenmiştir.

Akut pankreatitin şiddetinin belirlenmesinde histolojik skora önemli bir yer tutmaktadır. Pankreatit sonucu pankreas dokusunda oluşan ödem, asiner nekroz, hemoraji ve yağ nekrozu ve inflamasyon ve perivasküler infiltrat histopatolojik inceleme ile skorlanarak pankreatitin şiddeti yorumlanabilir (51). Bizde pankreatit şiddetini belirlemek için Schmidt ve arkadaşlarının tariflemiş olduğu pankreas histopatolojik skor sistemini kullandık. Serulein ve glukodeoksikolik asit ile pankreatit oluşturduğumuz modelde asiner nekrozların varlığı ile akut nekrotizan

pankreatit geliştiğini gösterdik. Aynı model ile literatürde yapılmış olan çalışmalarda akut nekrotizan pankreatit olduğu gösterilmiştir (51, 61, 68). Zacharowski ve arkadaşları, gram pozitif septik şok ile oluşturdukları çoklu organ hasarında, akciğer, böbrek ve karaciğer histopatolojik incelemelerini yapmışlardır. Tempol ile tedavi ettikleri grupta önemli derecede iyileşme gözlemlemişlerdir (70). Bizim çalışmamızda, akut nekrotizan pankreatit modelinde pankreasta meydana gelen, ödem, asiner nekroz, hemoraji ve yağ nekrozu ve inflamasyon ve perivasküler infiltrat derecelerinin Tempol ile tedavi sonrası belirgin bir şekilde azaldığı bulunmuştur. Tempol, serulein ve glukodeoksikolik asit ile oluşturulan pankreastaki histopatolojik değişiklikleri önlemiştir.

Bu çalışma, deneysel akut nekrotizan pankreatit modelinde Tempol'ün lokal organ hasarı üzerine etkilerini incelemiştir. Tempol ANP modelinde pankreatitin şiddetini azaltmaktadır. Serbest oksijen radikallerine etkilerinden dolayı Tempol'ün, dokulardaki hasar üzerine olan etkileri araştırmaya açık bir konudur ve bu konuyla ilgili olarak daha ileri çalışmaların yararlı olacağı kanısındayız.

VI – SONUÇLAR

Bu çalışmada, ratlarda akut nekrotizan pankreatite bağlı gelişen lokal organ hasarında Tempol'ün etkisi incelenmiş ve şu sonuçlar elde edilmiştir.

1. Seruleinin intravenöz infüzyonu ile glukodeoksikolik asitin intarduktal olarak birlikte uygulanması sonucunda ratlarda akut nekrotizan pankreatit gelişmektedir.

2. Akut nekrotizan pankreatit oluşturulan rat grupları ve diğer gruplar arasında biyokimyasal parametrelerden AST, ALT değerleri ve hematolojik parametrelerden lökosit ve hematokrit değerleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

3. Tempol, akut nekrotizan pankreatite bağlı meydana gelen biyokimyasal değişikliklerden amilaz, P.amilaz ve lipaz değerlerinde anlamlı dercede düzelme meydana getirmiştir ($p<0,05$). Serum glukoz değerleri akut nekrotizan pankreatit oluşturulan grupta anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Serum glukoz düşüklüğü Tempol ile düzeltilememiştir.

4. Tempol, akut nekrotizan pankreatit oluşturulan grupta asidozu düzeltmiş ve baz açığını azaltmıştır ($p<0,05$).

5. Deneysel akut nekrotizan pankreatit modellerinde lipid peroksidasyonunun göstergesi olan malondialdehid (MDA) düzeyleri ve lökosit aktivasyonunun göstergesi olan myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi Tempol verilmesi ile anlamlı derecede azaltılmaktadır ($p<0,05$).

6. Ödem formasyonunun göstergesi olan organ yağ/kuru ağırlık oranları, Tempol verilmesi ile anlamlı derecede azaltılmaktadır ($p<0,05$).

7. Tempol akut nekrotizan pankreatite bağlı olarak gelişen pankreastata ödem, asiner nekroz, hemoraji ve yağ nekrozu ve inflamasyon ve perivasküler infiltrat dercelerini anlamlı olarak azaltmıştır ($p<0,05$).

VII – ÖZET

Akut pankreatit konusunda deneysel çalışmalarda etkili olduğu gösterilen pekçok etken maddenin klinik çalışmalarda yararının olmadığı görülmüştür. Akut pankreatit hasarının patofizyolojisinin anlaşılmasında büyük ilerlemeler görülmesine rağmen akut pankreatit gelişmesini önleyebilecek veya seyrini hafifletebilecek etken bir madde tanımlanmamıştır.

Bu çalışmada, Tempol'ün deneysel akut nekrotizan pankreatit modelinde lokal organ hasarı üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla 24 adet Wistar-Albino cinsi erkek rat kullanıldı ve 6 rattan oluşan 4 randomize gruba ayrıldı. Sham grubunda akut nekrotizan pankreatit modeli oluşturmaksızın sadece sağ internal juguler ven kateterizasyonu ve laparotomi yapılarak duktus pankreatikus kanülasyonu yapıldı. Akut nekrotizan pankreatit oluşturulmayan kontrol grubunda duktus pankreatikus kanülasyonu yapılarak, sağ internal juguler ven kateterinden tempol infüzyonu yapıldı. Akut nekrotizan pankreatit oluşturulan grupta duktus pankreatikustan, glikodeoksikolik asid, pankreatik kanala verildi, sağ internal juguler ven kateterinden serulein infüzyonu yapıldı. Tedavi grubunda serulein infüzyonu ile birlikte sağ internal juguler ven kateterinden Tempol infüzyonu başlandı. Deney süresi sonunda sakrifiye edilen ratlardan kan örnekleri ve pankreas dokuları alındı. Histopatolojik olarak pankreasta meydana gelen hasar değerlendirildi. Biyokimyasal olarak serum analizleri, kan gazı analizleri ve pankreas dokusunda MDA ve MPO düzeylerine bakıldı. Hematolojik incelemelerden lökosit ve hematokrit değerleri ölçüldü. Organ ödem formasyonunun bir göstergesi olarak pankreas dokusunda organ yaş kuru/ağırlık oranlarına bakıldı.

Sonuç olarak, akut nekrotizan pankreatite bağlı olarak meydana gelen lokal organ hasarı, hem histopatolojik hem de biyokimyasal incelemelere göre, ayrıca ödem formasyonunun bir göstergesi olarak kullanılan organ yaş/kuru ağırlık oranlarına göre Tempol verilmesi ile anlamlı derecede azaltılmaktadır. Bu bulgular ratlarda akut nekrotizan pankreatite bağlı oluşan lokal organ hasarında Tempol'ün koruyucu etkisini göstermiştir.

VIII – SUMMARY

Many of the drugs shown to be beneficial in acute pancreatitis in experimental studies are not revealed to be effective in clinical trails. Although information about the pathophysiology of acute pancreatitis is getting clear to date, any drug to stop the development or to lessen the improvement of acute pancreatitis has been discovered.

This study shows the effects of Tempol on local organ damage in experimental acute pancreatitis models. Twenty-four Wistar-Albino male rats were used in the study and 4 randomised groups containing 6 rats were formed. In the Sham group, right internal jugular vein catheterization and laparotomy was performed without forming acute pancreatitis model. In the control group without acute pancreatitis model, ductus pancreaticus was cannulated and Tempol was infused through right internal jugular vein. In the acute pancreatitis group, glicodeoxycholic acid was infused to pancreatic duct through ductus pancreaticus and serulein was infused through right internal jugular vein. In the treatment group, Tempol was started to be infused with serulein trough the right jugular vein catheter. At the end of the experimental time, blood samples and pancreatic tissues were obtained from the sacrificed rats. Injury occurred in the pancreas was evaluated histopathologically. Serum analysis, blood gases analysis and MDA and MPO levels in pancreatic tissues were studied biochemically and leukocyte and hemotocyte levels were studied hematologically. Dry/watery weight measurement of pancreatic tissue, showing tissue edema formation, were measured.

In conclusion, local organ damage due to acute pancreatitis is reduced by tempol infusion shown by either histopathological and biochemical analysis or by dry/watery weight measurement of pancreatic tissue. These findings demonstrate that tempol has protective effects on local organ damage due to acute pancreatitis in rats.

IX – KAYNAKLAR

1. Michael L. Steer Exocrine Pancreas Townsend M. Courtney, Beauchamp R. Daniel, Evers B. Mark, Mattox L. Kenneth. Sabiston Textbook of Surgery The Biological Basis of Modern Surgical Practise 17th Edition Elsevier Saunders 2004;1643-1678
2. Brian Reemsten, Oscar J.Hines, Howard Reber Anatomy and Embryology of the Pancreas In George D Zuidema ed. Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract: Fifth edition.W.B. Saunders Company Vol III; 3-8
3. Skandalakis John E., Pancreas. Sakandalakis J. E., Sakandalakis P. N., Skandalakis L. J., Surgical Anatomy and Technique, Springer-Verlag New York Inc. 1995: 327-370
4. Reber HA. Çeviri:Baykal A. Pankreas Schwartz SI, Shires T, Spencer FC, Daly JM, Fischer JE, Galloway AC Principles of Surgery Seventh Edition, İ. Ethem Geçim Cerrahinin İlkeleri McGraw-Hill Antıpa.Ş. 1999:1489-1522
5. Gerard M. Doherty, Lawrence W. Way Pancreas In Lawrence W. Way, Gerard M. Doherty Current Surgical Diagnosis and Treatment.: Eleventh edition McGraw-Hill Companies 2003;625-65
6. Emre Ali, Akut Pankreatit. Kalaycı Göksel Genel Cerrahi Cilt-2 Nobel Tıp Kitabevleri 2002:1247-1257

7. John H.C. Ranson, B.M., B.Ch Diagnostik standarts for acute pancreatitis World J. Surg. 21,136-142, 1997
8. Fitz, R.H.: Acute pancreatitis: a consideration of pancreatic hemorrhage hemorrhagic, suppurative and gangrenous pancreatitis. Boston,Med. Surg. J. 70:181, 1889
9. Beger H.G. Natural course of acute pancreatitis World J. Surg. 21, 130-135, 1997
10. Sayek İ. Pankreatit. Sayek İskender, Temel Cerrahi 3.baskı. Güneş Kitabevi 2004;1409-1416
11. Bradley EL. A clinically based classification system for acute pancreatitis: summary of the Atlanta symposium. *Arch Surg* 1993;128:586–590
12. S.L. Triester and K.V. Kowdley Prognostic Factors in Acute Pancreatitis J. Clin Gastroenterol 2002;34(2):167-176
13. John D.Vogel , Charles J. Yeo Acute pancreatitis. In George D Zuidema ed. Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract: Fifth edition.W.B. Saunders Company Vol III; 2002;9-25
14. Yonetcı N. Sungurtekin U. Is procalcitonin a reliable marker for the diagnosis of infected pancreatic necrosis ? ANZ J. Surg. 2004;74:591-595

15. Reber HA. Pancreas In Schwartz SI, Shires T, Spencer FC, Daly JM, Fischer JE, Galloway AC Principles of Surgery Seventh Edition. Volume 2, McGraw-Hill, 1999:1467-1499
16. Zeyt nli M,  oker A. Hydatid Acute Pancreatitis, Turk J. Gastroenterol 2004;15(4): 229-232
17. J. Augusto Bastidas, John E. Niederhuber The Pancreas In John E. Niederhuber Fundamentals of Surgery. Appleton and Lange 1998;375-389
18. Remy F.Meier, Cristoph Beglinger, Nutrition in pancreatic diseases, Best Practice and Research Clinical Gastroenterology Vol.20 No.3, pp. 507-529, 2006
19. Nciholas J. Zyromski ,  eviri: Ak ay N. M fide Akut ve kronik pankreatit Mayo Kiniği Gastrointestinal Sistem Cerrahisi Keith A.Kelly, Michea G.Sarr, Ronald A.Hinder, Yeşim Erbil,  nal Değerli Nobel Tıp Kitabevleri 2004 321-340
20. Ereneoğlu C, Uluutku A.Haldun, Do MRI agents cause or worsen acute pancreatitis? Ulus Travma Acil Cerrahi Derg 2007;13(1):78-79
21. Opie El: The etiology of acute hemorrhagic pancreatitis. Bull Johns Hopkins Hosp 12:182-192,1901
22. Acosta J.M.,Pellegrini C.A. and Skinner D.B.: Etiology and pathogenesis of acute biliary pancreatitis. Surgery 88:118,1980

23. Apte M.V., Wilson J.S., Alcohol-induced pancreatic injury: Best Practice and Research Clinical Gastroenterology Vol.17, No.4, pp.593-612, 2003
24. Chowdhury Parimal, Gupta Priya, Pathophysiology of alcoholic pancreatitis: An overview: World J Gastroenterol. 2006 December 14; 12(46):7421-7427
25. Wilson J.S., Apte M.V., role of alcohol metabolism in alcoholic pancreatitis: Pancreas, Volume 27, Number 4, November 2003
26. Ian Gan S., Alun L. Edwards, Christopher J. Symonds, Paul L. Beck, Hypertriglyceridemia induced pancreatitis: A case based review: World J Gastroenterol. 2006 November 28; 12(44): 7197-7202
27. Yoshifumi Okura, Kozo Hayashi, Tetsuji Shingu, Goro Kajiyama, Yoshiyuki Nakashima, Keijiro Saku, Diagnostic evaluation of acute pancreatitis in two patients with hypertriglyceridemia: World J Gastroenterol. 2004; 10(24): 3691-3695
28. Mitchell R. M. S., Byrne M. F., Baillie J., Pancreatitis: Lancet 2003; 361: 1447-1455
29. Safalı M. Pankreas Patolojisi. Kuzey G. Mocan, Temel Patoloji Güneş Kitabevi 2007; 517-525

30. Greenberger J. Norton, toskes P. Philip, Isselbacher J. Kurt Acute and chronic pankreatitis. Fauci S. Anthony, Braunwald Eugene, Isselbacher J. Kurt, Wilson D. Jean, Martin B. Joseph, Kasper L. Dennis, Hauser L. Stephen, Longo L. Dan, Harrison's Principles of Internal Medicine 14th edition Mcgraw-Hill 1998; 1741-1752
31. Merkle M. Elmar, Görich Johannes, Imaging of acute pancreatitis: Hepatobiliary – Pancreas : Eur Radiol (2002) 12: 1979-1992
32. Maher M. Micheal, Mueller R. Peter, Acute pancreatitis: The role of imaging and interventional radiology: Cardiovasc Intervent Radiol (2004) 27: 208-225
33. Nicholas T. Matthew, Chen K. Yang, Pancreatic imaging cyrrent and emerging Technologies: Pancreas Volume 33, Number 3, October 2006 : 211-220
34. Rösch T., Mayr P., Kasem M.A., Endoscopic ultrasonography in acute biliary pancreatitis: Journal of Gastrointestinal Surgery Vol. 5, No. 3 2001: 223-228
35. Mary Ann Turner, The role of US and CT in pancreatitis: Gastrointestinal Endoscopy Volume 56. Number 6. December 2002
36. Matos Celso, Antonietta Maria, Delhaye Myriam, Deviere Jacques, Magnetic resonance imaging in the detection of pancreatitis and pancreatic neoplasm : Best Practice and Research Clinical Gastroenterology Vol.20,No.1.pp. 157-178, 2006

37. Sungurtekin H., Ozden A., Kaleli İ., Sungurtekin U., Gönüllü M., Somatostatin: possible cause of bacterial translocation in obstructive jaundiced rats: J. Hepatobiliary Pancreat Surg (1999) 6: 405-409
38. Bassi Claudio, Pederzoli Paolo, Prophylaxis for septic complications in acute necrotizing pancreatitis: J. Hepatobiliary Pancreat Surg (2001) 8: 211-215
39. Aytekin F. Önder, Tekin Koray, Kabay Burhan, Tekin Mehmet, Özer Atilla, Güney Yıldız, Özden Akın, Deneysel akut pankreatit modelinde gelişen akciğer hasarına antitrombin III etkisi: ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi 2004; 5(2): 11-14
40. Tenner Scott, Banks A. Peter, Acute pancreatitis: Nonsurgical Management : World J. Surg. 21, 143-148, 1997
41. Beger H.G., Rau B., Isenman R., Schwarz M., Gansauge F., Poch B., Antibiotic prophylaxis in severe acute pancreatitis : Pancreatology 2005 ; 5: 10-19
42. Rau B., Uhl W., Buchler M. W., Beger H. G., Surgical treatment of infected necrosis : World J. Surg. 21, 155-161, 1997
43. Browne W. George, Pitchumoni CS., Pathophysiology of pulmonary complications of acute pancreatitis : World J. Gastroenterol 2006 November 28; 12(44) : 7087-7096

44. Richard N. Mitchell, Ramzi S. Cotran, Hücre Zedlenmesi Adaptasyonu ve Ölümü, Kumar Vinay, Ramzi S. Cotran, Robbins L. Stanley, Çeviri editörü : Çevikbaş Uğur, Robbins Basic Pathology, 7Th Edition, Nobel Tıp Kitabevleri 2003: 3-31
45. Slater F. Trevor, Free-radical mechanism in tissue injury: Biochem J. (1984) 222, 1-15
46. Kargı Aydanur, Özer Erdener, Hücre zedelenmesi ve hücre ölümü, Kuzey G. Mocan, Temel Patoloji Güneş Kitabevi 2007; 9-27
47. Halliwell Barry, Phagocyte-derived reactive species: salvation or suicide ? : Trends in Biochemical Sciences 2006 Vol.31 No.9 509-515
48. Czako Laszlo,lonovics Janos, Involvement of oxygen – derived free radicals in L- Arginin – induced acute pancreatitis: Digestive Diseases and Sciences Vol. 43, No.8 (August 1998), pp. 1770-1777
49. Thiemermann C. Membrane-permeable radical scavengers (tempol) for shock, ischemia-reperfusion injury, and inflammation. Crit Care Med 2003; 31: No. 1 (Suppl.) 76-84
50. Volk T, Hensel M, Schuster H. Secretion of MCP-1 and IL-6 by cytokine stimulated production of reactive oxygen species in endothelial cells. Mol Cell Biochem 2000; 206:105–112

51. Sledzinski Z., Wozniak M., Antosiewicz J., Protective effect of 4-hydroxy-TEMPO, a low molecular weight superoxide dismutase mimic, on free radical toxicity in experimental pancreatitis. *Int J. Pancreatol* 1995; 18:153-160
52. Schmidt Jan, Warshaw L. Andrew, A better model of acute pancreatitis for evaluating therapy. *Ann. Surg.* January 1992 Vol. 215 No.1 44-56
53. Okhawa H, Ohishi N, Yag K. Assay for lipid peroxidation in animal tissues by the reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358
54. Doğan A. Lale, Doğan Ayça, Canpınar Hande, Düzgünçinar Övünç, Demirpençe Ediz, effect of fludarabine on leukocyte functions. *Chemotherapy* 2004 ; 50 : 283-288
55. Aytekin FO, Tekin K, Kabay B, Erdem E, Güney Y, Fırat P, Sungurtekin U, Kaya ŞÖ, Özden A. Antithrombin III attenuates pulmonary tissue injury caused by mesenteric ischemia-reperfusion. *The American Journal of Surgery* 2005; 189 : 161-166
56. Cuzzocrea Salvatore, Thiemermann Christoph, Beneficial effects of tempol, a membrane-permeable radical scavenger, on the multiple organ failure induced by zymosan in the rat. *Crit. Care Med.* 2001 Vol. 29, No.1, 102-111
57. Cuzzocrea Salvatore, Genovese Tiziana, Salvemini Daniella, Reduction in the development of cerulein-induced acute pancreatitis by treatment with M40401, a new selective superoxide dismutase mimetic. *Shock*, Vol. 22, No. 3, pp. 254-261, 2004
58. Yönetçi Nadir, Batur Yücel, Effects of methimazole pretreatment on cerulein induced acute pancreatitis in rats. *Exp. Toxic Pathol* 2002;54: 197-2001

59. Kruse Peter, Lason Ake, Hage Esther, Proteases and protease inhibitors in cerulein-induced acute pancreatitis in rats. *Journal of Surgical Research* 85, 294-300 (1999)
60. Jahovic Nermina, Alican İnci, α -Melanocyte stimulating hormone has beneficial effects on cerulein-induced acute pancreatitis. *Peptides* 25 (2004) 129-132
61. Alhan Ethem, Erçin Cengiz, The effects of nitric oxide synthase inhibitors on acute necrotising pancreatitis in rats. *Eur J Surg* 1998; 164: 697-702
62. McDonald C. Michelle, Zacharowski Kai, Bowes Joanne, Tempol reduces infarct size in rodent models of regional myocardial ischemia and reperfusion. *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 27, Nos. 5/6, pp. 493–503, 1999
63. Haiquan Li, Ma Li, Carleton J. C. Hsia, Zweier L. Jay, Kuppusamy Periannan, Polynitroxyl-albumin (PNA) enhances myocardial infarction therapeutic effect of tempol in rat hearts subjected to regional ischemia-reperfusion. *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 32, No. 8, pp. 712-719, 2002
64. Cuzzocrea Salvatore, McDonald C. Michelle, Thiemermann Christoph, Beneficial effects of tempol, a membrane-permeable radical scavenger, in a rodent model of collagen-induced arthritis. *Arthritis & Rheumatism* Vol. 43, No. 2, February 2000, pp 320-328
65. Dabrowska Aleksandra, Jacewicz Dagmara, Chmurzynski, Pivotal participation of nitrogen dioxide in L-arginine induced acute necrotizing pancreatitis: protective role of superoxide scavenger 4-OH-TEMPO. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 326 (2005) 313-320
66. Küçüktülü Uzer, Alhan Ethem, Effects of octreotide on acute pankreatitis of varying severity in rats. *Eur J Surg* 1999; 165: 891-896

67. Virlos Ioannis, Mazzon Emanuella, Cuzzocrea Salvatore, Pyrrolidine dithiocarbamate reduces the severity of cerulein-induced murine acute pancreatitis. *Shock*, Vol. 20, No. 6, pp. 544-550, 2003
68. Alhan Ethem, Çiçek Ramazan, Cinel Akif, Effects of the tyrosine kinase inhibitor tyrphostin AG 556 on acute necrotising pankreatitis in rats. *Eur J Surg* 2002; 168: 557-562
69. Cuzzocrea S., McDonald C. M., Thiernemann C., Effects of tempol, a membrane-permeable radical scavenger, in gerbil model af brain injury. *Brain Research* 875 (2000) 96-106
70. Zacharowski Kai, Olbrich Antje, Cuzzocrea Salvatore, Thiernemann Christoph, Membrane-permeable radical scavenger, tempol, reduces multiple organ injury in a rodent model of Gram-positive shock. *Crit Care Med* 2000 Vol. 28, No. 6, 1953-1961