



**T.C.**

**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL AKUT PANKRETİT'TE KAEMPFEROL VE  
KURKUMİN'İN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. MUSA TURGUT**

**DANIŞMAN**

**DR. ÖĞR. ÜYESİ HALİL KOCAMAZ**

**Denizli – 2019**



**T.C.**

**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL AKUT PANKRETİT’TE KAEMPFEROL VE  
KURKUMİN’İN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. MUSA TURGUT**

**DANIŞMAN**

**DR. ÖĞR. ÜYESİ HALİL KOCAMAZ**

**Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Koordinasyon Birimi’nin 31.07.2018 tarih ve 2018TPF016 nolu kararı  
ile desteklenmiştir.**

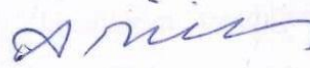
**Denizli – 2019**

Dr. Öğr. Üyesi Halil KOCAMAZ danışmanlığında Dr. Musa TURGUT tarafından yapılan 'Deneysel Akut Pankreatit'te Kaempferol ve Kurkumin'in Etkilerinin Araştırılması' başlıklı tez çalışması 18/04/2019 tarihinde gerçekleştirilen tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN: Prof. Dr. Dolunay GÜRSES



ÜYE: Doç. Dr. Ayşegül BÜKÜLMEZ



ÜYE: Dr. Öğr. Üyesi Halil KOCAMAZ



Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

18/04/2019

Prof. Dr. Osman ÇİFTÇİ

Pamukkale Üniversitesi

Tıp Fakültesi Dekanı



## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince, çok değerli bilgi ve deneyimlerini bizimle paylaşan, biz asistanlarına öğretmek için uğraşan saygıdeğer hocalarıma,

Tezimin hazırlanmasındaki destek ve katkılarından dolayı tez danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Halil Kocamaz'a, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Esin Avcı Çiçek ve Dr. Öğr. Üyesi Rukiye Nar'a, histolojik incelemelerdeki yardımları için Arş. Gör. Mutlu Yaka'ya, desteklerinden dolayı Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Öğr. Gör. Hande Şenol'a,

Birlikte çalışmaktan keyif aldığım, kendilerini tanıdığım için mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma,

Ayrıca zorlu pediatri asistanlığı süresince sabır ve fedakarlıkla her konuda her zaman en büyük desteğim olan hayat arkadaşım eşim Mübetcel'e, tüm tıp eğitimim boyunca maddi ve manevi desteklerini ve sevgilerini her zaman yanımda hissettiğim aileme,

En içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Musa Turgut

# İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER .....	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	VI
TABLOLAR DİZİNİ.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	IX
ÖZET.....	X
SUMMARY .....	XII
<b>1. GENEL BİLGİLER .....</b>	<b>1</b>
1.1. TARİHSEL GELİŞİM.....	1
1.2. PANKREAS ANATOMİSİ .....	1
1.3. SIÇAN PANKREAS ANATOMİSİ.....	2
1.4. PANKREAS HISTOLOJİSİ .....	3
1.5. PANKREAS KANALLARI.....	4
1.6. PANKREAS FİZYOLOJİSİ .....	5
1.7. KURKUMİN .....	5
1.8. KAEMPFEROL .....	5
<b>2. AKUT PANKREATİT .....</b>	<b>6</b>
2.1. PATOFİZYOLOJİ .....	6
2.2. ETİYOLOJİ .....	7
2.2.1. Safra Yolu Taşları .....	7
2.2.2. Alkol Kullanımı .....	8
2.2.3. İlaç Kullanımı.....	8
2.2.4. Enfeksiyonlar.....	9
2.2.5. Cerrahi Müdahaleler .....	9
2.2.6. Metabolik Hastalıklar .....	10
2.3. AKUT PANKREATİT PATOGENEZİ TEORİLERİ .....	10
2.3.1. Obstrüksiyon - Sekresyon Teorisi: .....	10
2.3.2. Duodenal Reflü Teorisi: .....	10
2.3.3. Ortak Kanal Teorisi: .....	10
2.3.4. Pankreatik Kanal Permeabilite Artışı: .....	11
2.3.5. Enzim Otoaktivasyonu: .....	11
2.4. PATOLOJİK MEKANİZMALAR.....	11
2.4.1. Akut Ödematöz Pankreatit .....	13
2.4.2. Akut Nekrotizan Pankreatit .....	13
2.5. KLİNİK SINIFLANDIRMA .....	14
2.6. KLİNİK BULGULAR.....	14
2.7. FİZİK MUAYENE .....	15
2.8. TANI .....	19
2.8.1. Akut Pankreatitte Laboratuvar Bulguları .....	19
2.8.2. Akut Pankreatitte Radyolojik Bulgular.....	23
2.9. PROGNOTİK KRİTERLER .....	24
2.10. TEDAVİ .....	25

<b>3. SERBET OKSİJEN RADİKALLERİ (SOR) .....</b>	<b>26</b>
3.1. ORGANİZMANIN SOR'A KARŞI SAVUNMA MEKANİZMALARI .....	27
3.2. AKUT PANKREATİT VE SOR .....	27
<b>4. DENEYSEL AKUT PANKREATİT MODELLERİ.....</b>	<b>28</b>
<b>5. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>30</b>
5.1. ETİK KURUL ONAYI.....	30
5.2. PROJE.....	30
5.3. ÇALIŞMA YERİ .....	30
5.4. İLAÇLAR .....	30
5.5. RATLAR.....	30
5.6. ÇALIŞMA GRUPLARI.....	31
5.7. BİYOKİMYASAL VE HİSTOLOJİK İNCELEMELER .....	32
5.7.1. <i>Biyokimyasal Analizler</i> .....	32
5.7.2. <i>Dokulardan MDA ve Katalaz Tayini</i> .....	33
5.7.3. <i>Serumdan SOD, TNF-<math>\alpha</math> ve IL-6 tayini</i> .....	33
5.7.4. <i>Histopatolojik İnceleme</i> .....	33
5.7.5. <i>Doku takibi, hematoksilen eosin ve immunhistokimyasal boyama</i> .....	34
<b>6. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM .....</b>	<b>37</b>
<b>7. BULGULAR.....</b>	<b>37</b>
7.1. PANKREAS DOKUSU VE SERUMDAKİ BİYOKİMYASAL İNCELEMELER .....	37
7.1.1. <i>Pankreatik Enzimler</i> .....	38
7.2. PANKREAS DOKUSUNDAKİ HİSTOPATOLOJİK İNCELEMELER .....	39
<b>8. TARTIŞMA .....</b>	<b>42</b>
<b>9. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>50</b>
<b>10. KAYNAKLAR.....</b>	<b>51</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>AP:</b> .....	Akut pankreatit
<b>SIRS:</b> .....	Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu
<b>SOR:</b> .....	Serbest Oksijen Radikalleri
<b>ÇOYS:</b> .....	Çoklu organ yetmezliği sendromu
<b>PAF:</b> .....	Platelet aktive edici faktör
<b>IL:</b> .....	İnterlökin
<b>TNF-<math>\alpha</math>:</b> .....	Tümör Nekroz Faktör alfa
<b>NF-<math>\kappa</math>B:</b> .....	Nükleer faktör $\kappa$ B
<b>HÜS:</b> .....	Hemolitik üremik sendrom
<b>TPN:</b> .....	Total parantral nütrisyon
<b>PMNL:</b> .....	Polimorfonükleer lökositler
<b>NO:</b> .....	Nitrik oksit
<b>US:</b> .....	Ultrason
<b>BT:</b> .....	Bilgisayarlı tomografi
<b>ARDS:</b> .....	Akut sıkıntılı solunum sendromu (Acute Respiratory Distress Syndrome)
<b>MOF:</b> .....	Multiorgan yetmezliği
<b>ABY:</b> .....	Akut böbrek yetmezliği
<b>GİS:</b> .....	Gastrointestinal sistem
<b>TAP:</b> .....	Tripsinojen aktivasyon proteini
<b>CRP:</b> .....	C-reaktif protein
<b>pO<sub>2</sub>:</b> .....	Parsiyel oksijen basıncı
<b>MR:</b> .....	Manyetik Rezonans
<b>ERCP:</b> .....	Endoskopik retrograd kolanjiopankreatikografi
<b>NG:</b> .....	Nazogastrik
<b>O<sub>2</sub>:</b> .....	Oksijen

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:**.....Hidrojen peroksit  
**OH:**.....Hidroksil radikali  
**SOD:**.....Süperoksit dismutaz  
**Gpx:**.....Glutasyon peroksidaz  
**MDA:**.....Malondialdehit  
**İP:**.....İntraperitoneal olarak  
**SF:**.....Serum fizyolojik  
**DMSO:**.....Dimetil sülfoksit  
**PBS:**.....Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi (Phosphate-Buffered Saline)  
**DAB:**.....Diaminobenzidin  
**ROP:**.....Reaktif oksijen partikülleri  
**YYD:**.....Yüksek yağlı diyet  
**ADA:**.....Adenosin deaminaz  
**GSH:**.....Glutasyon redüktaz



## TABLolar DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
Tablo 1. Akut Pankreatit Nedenleri (26) .....	7
Tablo 2. Akut pankreatit ile ilişkili olan ilaçlar .....	9
Tablo 3. Akut pankreatite yol açabilen enfeksiyonlar .....	9
Tablo 4. Akut pankreatitin komplikasyonları .....	19
Tablo 5. Akut pankreatitte ayırıcı tanı .....	19
Tablo 6. Modifiye ranson kriterleri (De Banto Jr) (Her parametre 1 puan değerindedir.) .....	24
Tablo 7. Akut pankreatit modelleri .....	29
Tablo 8. Akut pankreatitte histolojik skorelama .....	34
Tablo 9. Biyokimyasal parametreler .....	38
Tablo 10. Histolojik parametreler .....	40

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
Şekil 1. Pankreas'ın komşulukları.....	2
Şekil 2. Sıçan anatomisi. ....	3
Şekil 3. Pankreas kanalları.....	4
Şekil 4. Grey Turner İşareti (57). ....	15
Şekil 5. Pankreatit pannukulit; Tibia üzerinde inflamatuvar nodu (58). ....	16
Şekil 6. Akut pankreatit modelinde SIRS/MOF (Multiorgan yetmezliği) gelişimi .....	18
Şekil 7. a) Ratlardan pankreas dokusunun elde edilmesi. b) Ratlardan intrakardiyak kan alımı. ...	32
Şekil 8. Hematoksilen- Eosin Boyama.....	41
Şekil 9. İmmunoperoxidase Boyama.....	41

## ÖZET

### **Deneysel akut pankreatit'te kaempferol ve kurkumin'in etkilerinin araştırılması**

**Giriş:** Akut pankreatit karın ağrısı, serumda amilaz ve lipaz yüksekliği ile radyolojik görüntülemeyle tanı konulan bir hastalıktır. Morbitide ve mortalitesi yüksek seyretmektedir. Gelişmelere rağmen tanı ve tedavisinde eksiklikler vardır. Ayrıca hastalığın progresyonunu durduracak bir ilaç henüz yoktur.

**Amaç:** Ratlarda L-Arginin ile oluşturulan akut pankreatit modelinde kurkumin ve kaempferolün biyokimyasal ve histolojik olarak kombine etkisi araştırıldı. Pankreatit tedavisinde doku hasarını önleyici yeni ve etkili bir ajan bulunması amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Toplam 48 erkek Wistar Albino rat her grupta 8 adet olacak şekilde 6 gruba ayrıldı. 1. gruptaki (n=8) (Kontrol) ratlara intraperitoneal olarak (İP) serum fizyolojik (SF), 2. gruptaki (n=8) (L-Arjinin grubu) ratlara İP olarak L-Arginin iki kez, 3. gruptaki (n=8) (DMSO grubu) ratlara İP olarak DMSO, 4. gruptaki (n=8) (L-Arjinin + Kurkumin) ratlara İP olarak L-Arjinin ve kurkumin, 5. gruptaki (n=8) (L-Arjinin + Kaempferol) ratlara İP olarak L-Arjinin ve kaempferol ve de 6. gruptaki (n=8) (L-Arjinin + Kurkumin + Kaempferol) ratlara İP olarak L-Arjinin, kurkumin ve kaempferol uygulandı. Son enjeksiyondan 24 saat sonra anestezi altında ötenazi uygulanarak kan (intrakardiyak olarak) ve pankreas örnekleri alındı. Pankreas dokusu patolojik olarak incelemek ve biyokimyasal analizler için kullanılmak üzere saklandı. Serumdan amilaz, lipaz, spektrofotometrik olarak TNF- $\alpha$ , SOD ve IL-6 bakıldı. Pankreas dokusunda immün ölçüm yöntemleriyle MDA ve katalaz tayin edildi ve uygun skorlama sistemleri ile inflamasyon, ödem, nekroz ve immunhistokimyasal olarak NF- $\kappa$ B boyanması histopatolojik olarak ışık mikroskobunda değerlendirildi.

**Bulgular:** Histolojik incelememizde NF-κB boyanma, ödem, nekroz ve inflamatuvar hücre skoru klinik olarak L-Arjinin grubunda diğer tüm gruplara göre daha yüksekti ( $p>0,05$ ). NF-κB skoru L-Arjinin grubunda kontrol ve DMSO grubuna göre anlamlı düzeyde yüksekti ( $p<0,05$ ). Amilaz ve lipaz düzeyleri tüm gruplar arasında karşılaştırıldığında farklılık tespit edilmedi ( $p>0,05$ ). Tüm gruplarda SOD düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0,05$ ). Ancak SOD düzeyleri L-Arjinin + Kurkumin + Kaempferol grubunda diğer gruplara göre klinik olarak yüksekti ( $p>0,05$ ). Katalaz düzeylerinde kontrol grubu ile L-Arjinin + Kurkumin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi ( $p<0,05$ ), diğer gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadı. MDA değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel farklılık tespit edilmedi ( $p>0,05$ ). TNF-α düzeyleri bakımından kontrol grubu ve L-Arjinin ile diğer gruplar arasında karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ). Yine de en yüksek değer L-Arjinin grubunda tespit edildi. IL-6 değerleri gruplar arasında istatistiksel anlamlı değildi ( $p>0,05$ ).

**Sonuçlar:** Akut pankreatit modelimizde istatistiksel olarak anlamlı olmasada klinik olarak antioksidan sistem belirteçlerinin düzeyi L-arjinin grubu ile karşılaştırıldığında tedavi gruplarında daha yüksek, oksidatif stres belirteçlerinin seviyesi ise daha düşük bulundu. Modelimizde histolojik olarak ödem, nekroz, inflamasyon ve NF-κB boyanma düzeyi L-Arjinin grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksekti. Antioksidan madde verilen gruplarda ışık mikroskop incelemesinde hücre iskeletinin diğer gruplara göre daha iyi korunduğu gözlemlendi. Kurkumin ve kaempferolün, daha fazla çalışmada bu koruyucu etkilerinin desteklenmesi gerekmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Kurkumin, Kaempferol, L-arginin, deneysel akut pankreatit.

## SUMMARY

### **Investigation of the Effects of Kaempferol and Curcumin in Experimental Acute Pancreatitis**

**Introduction:** Acute pancreatitis is a disease that is diagnosed with abdominal pain, serum amylase and lipase elevation and radiological imaging. Morbidity and mortality are high. Despite the developments, there are deficiencies in the diagnosis and treatment. In addition, there is no drug to stop disease progression.

**Objective:** Biochemical and histological combined effects of curcumin and kaempferol were investigated in L-Arginine induced acute pancreatitis model. The aim of this study was to find a new and effective agent to prevent tissue damage in the treatment of pancreatitis.

**Materials and Methods:** Total 48 male Wistar Albino rats, each group was divided into six groups of eight. Group 1 (n = 8) (control) rats were administered intraperitoneally (IP) with saline (SF). In group 2 (n = 8) (L-Arginine group), L-Arginine was administered twice to the rats as IP. Rats in group 3 (n = 8) (DMSO group) were treated with DMSO as IP. L-Arginine and curcumin were administered to the rats in group 4 (n = 8) (L-Arginine + Curcumin) as IP. L-Arginine and kaempferol were administered to the rats in Group 5 (n = 8) (L-Arginine + Kaempferol) as IP. L-Arginine, curcumin and kaempferol were administered to the rats in group 6 (n = 8) (L-Arginine + Curcumin + Kaempferol) as IP. 24 hours after the last injection, euthanized under anesthesia, blood (intracardiac) and pancreas samples were taken. The pancreatic tissue was stored for pathological examination and biochemical analysis. Amylase, lipase and spectrophotometrically as TNF- $\alpha$ , SOD, IL-6 were examined in serum. MDA and catalase were determined in the pancreatic tissue by immunoassay methods. Inflammation, edema, necrosis and immunohistochemically NF- $\kappa$ B staining were evaluated histopathologically in light microscope.

**Results:** In our histological examination, NF- $\kappa$ B staining, edema, necrosis and inflammatory cell score were clinically higher in the L-Arginine group than in all other groups ( $p > 0,05$ ). The NF- $\kappa$ B score was significantly higher in the L-Arginine group than in the control and DMSO groups ( $p < 0,05$ ). Amylase and lipase levels were not statistically significant ( $p > 0,05$ ). Amylase and lipase levels were not statistically significant ( $p > .05$ ). However, SOD levels were significantly higher in the L-Arginine + Curcumin + Kaempferol group than in the other groups ( $p > 0,05$ ). A statistically significant difference was found between catalase levels and L-Arginine group ( $p < 0,05$ ) and no statistically significant difference was found between the other groups. When the MDA values were compared, no statistical significance was found between the groups ( $p > 0,05$ ). There was no significant difference in TNF- $\alpha$  levels between the control and L-Arginine groups ( $p > 0,05$ ). However, the highest value was found in the L-Arginine group. IL-6 values were not statistically significant ( $p > 0,05$ ).

**Conclusion:** The results were not statistically significant in our acute pancreatitis model. However, clinically, the level of antioxidant system markers was higher in the treatment groups compared to the L-arginine group and the level of oxidative stress markers was lower. In our model, histologically, edema, necrosis, inflammation and NF- $\kappa$ B staining levels were found to be statistically higher in L-Arginine group compared to the control group ( $p < 0,05$ ). In light microscope examination, it was observed that the cytoskeleton was better protected in the antioxidant group than in the other groups. These protective effects of curcumin and kaempferol need to be supported in further studies.

**Key words:** Curcumin, Kaempferol, L-arginine, experimental acute pancreatitis.

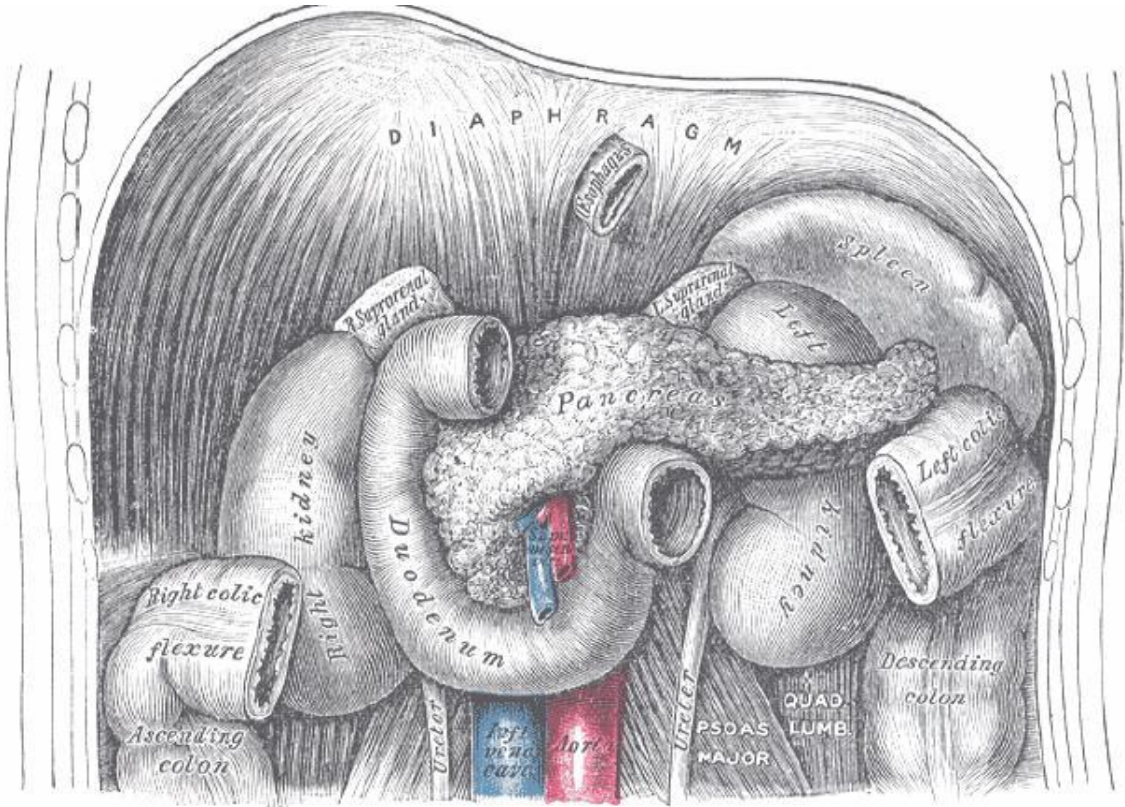
## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1. TARİHSEL GELİŞİM

İlk kez tarihte pankreası Herophilus M.Ö.300'lerde tanımlamış ve yaklaşık 400 yıl kadar sonra, organ, Rufus tarafından "pankreas" olarak adlandırılmıştır (1). Yine ilk kez 1579 yılında Pare tarafından akut ve kronik pankreatitin tanımlanmıştır (2). 1856 tarihinde Ancelet, akut pankreatit ve pankreatik absenin patolojik tanımlamasını yapmıştır (2). İlk kez 1856'da Claude Bernard tarafından pankreatik kanala safra ve yağ asitleri enjekte edilmiş ve deneysel pankreatit oluşturulmuştur (3,4). Serum amilaz düzeyi ile akut pankreatit arasındaki ilişkiyi ilk kez Elman 1929'da göstermiştir (3). Biyokimyasal belirteçler ilerleyen yıllarda yaygın olarak kullanılmaya başlanmış ve akut pankreatitin karın ağrılarının sık rastlanan sebeplerinden biri olduğu gözlenmiştir (3,6). 1989'dan başlayarak prospektif çalışmalar yapılmaya başlanmış. Ödematöz pankreatitli ve steril nekrotizan pankreatitli hastalar cerrahi dışı yöntemlerle tedavi edilmiş. Sadece iğne aspirasyonunda bakteri üremesi olanlar ameliyat edilmiş ve bu çalışmaların sonuçlarına göre pankreatik nekrozun kesin cerrahi endikasyon olmadığı anlaşılmış % 90 –95 başarı elde edilmiş (7). Pankreas nekrozu, enfekte ve steril nekroz, pankreas flegmonu, pankreas absesi, pankreatik sepsis, pankreas çevresi sıvı birikimleri, pseudokist ayrı ve özgül kavramlar olarak 1992 Atlanta sempozyumunda son bir kez daha tanımlanmış (8).

### 1.2. PANKREAS ANATOMİSİ

Pankreas batın arka duvarında 1. ve 2. lomber vertebra hizasında, hareketsiz, retroperitoneal bir organdır. Pankreas; solda dalak, sağda duodenum arasında transvers uzanır. Üstte bursa omentalis, önde transvers mezokolon ve aşağıda omentum majus ile ilişkilidir (Şekil 1) (9).



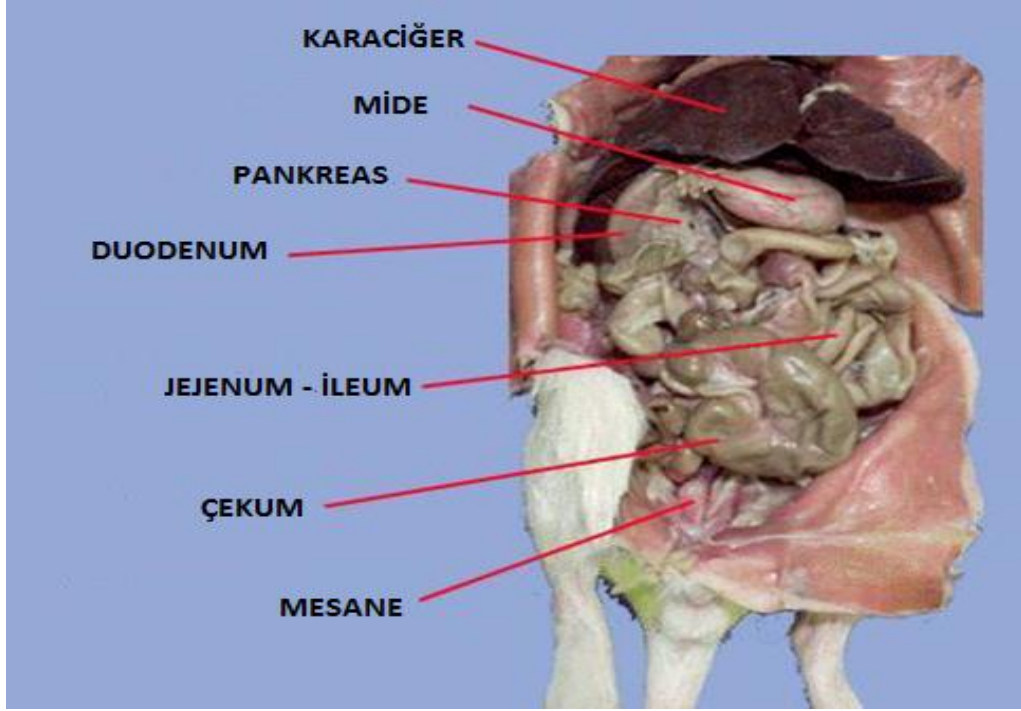
Şekil 1. Pankreas'ın komşulukları.

### 1.3. SIÇAN PANKREAS ANATOMİSİ

Sıçanda pankreas, dalak ile midenin büyük kurvaturunun alt bölümü, duodenum kavsi ile ileumun üst kısmı arasında mezenter içerisinde yayılmış loblar halinde bulunur (Şekil 2). Sıçanlarda pankreas, intraperitoneal yerleşimli bir organdır ve çok gevşek bir yapıya sahiptir. İki daldan oluşmuştur; sol dal (baş kısmı) duodenum kavsi içinde bulunurken, sağ dal (splenik kısım) midenin büyük kurvaturunun alt kısmından dalak hilusuna kadar uzanır. Sıçanda safra kesesi bulunmaz (10).

Karaciğerin loblarından gelen safra kanalları, tek bir tane duktus (duktus koledokus) oluşturarak birleşirler. Safra kanalı duodenuma ulaşmadan önce bir süre pankreası kateder ve bu sırada pankreastan gelen ortalama 10-12 kanal burada safra kanalına açılır. Daha sonra ortak, tek kanal şeklinde biliopankreatik kanal ismiyle duodenuma dökülür (10).





Şekil 2. Sıçan anatomisi.

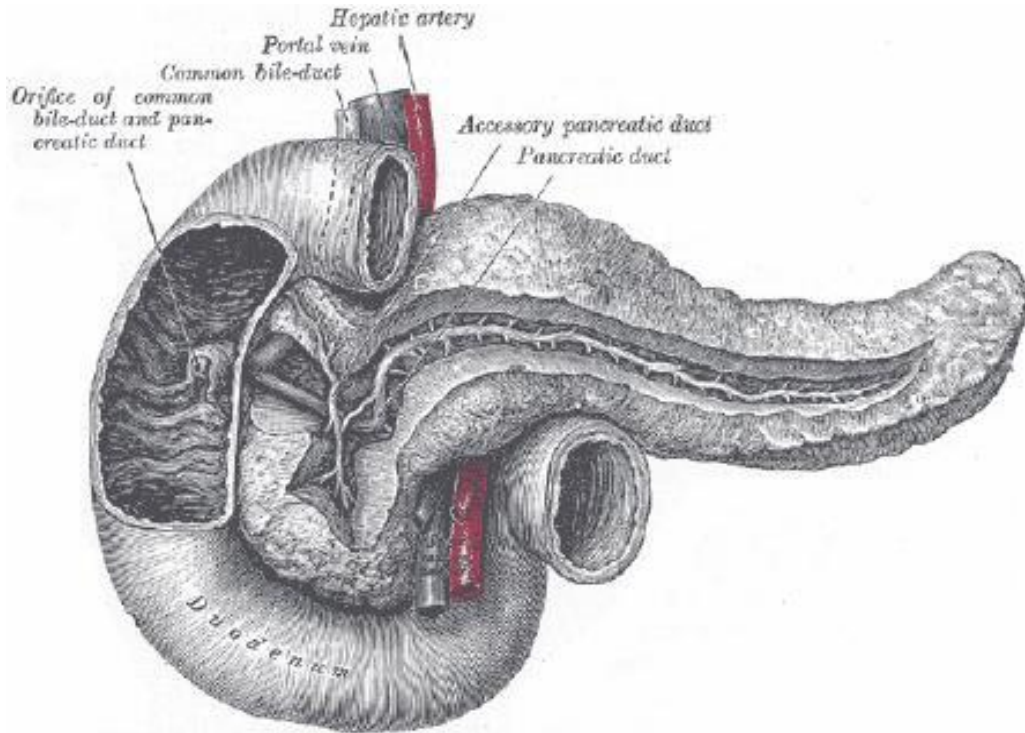
#### 1.4. PANKREAS HİSTOLOJİSİ

Pankreas sindirim enzimleri ve hormonlar üreten endokrin ve ekzokrin salgı organıdır. Enzimler ekzokrin kısmın hücreleri tarafından depolanır ve salınır. Endokrin salgılar ise Langerhans adacıkları olarak bilinen endokrin dokuda bulunan hücre grupları tarafından sentezlenir. Salgı ürünü olan zimojenik granüller apikal sitoplazmada toplanır. Asinüsü takip eden interkalar duktus tek katlı kübik epitelle kaplıdır. Hücrelerin apikalinde komşu hücrelerin membranları arasında zonula okludens, zonula adherens ve desmozom tipi bağlantı kompleksleri bulunur. Pankreasın baş, boyun ve korpus bölümlerinin salgılarını toplayan kanala Wirsung kanalı, başın bir bölümünün salgısını toplayan kanala ise Santorini kanalı adı verilir. Her iki kanal da yüksek prizmatik veya yalancı çok katlı epitelle döşeli olabilir. Arada Goblet hücreleri ve enteroendokrin hücreler de yer alabilir. İnsan ekzokrin pankreası su ve iyonlara ek olarak sindirim enzimleri ve proenzimler salgılar. Bunlar; tripsinojen, kimotripsinojen, karboksipeptidaz, deoksiribonükleaz, ribonükleaz, triaçilgliserol, lipaz, fosfolipaz A2, elaztaz ve amilaz'dır. Salgı başta sentroasiner hücreler ve küçük interkalar kanalları oluşturan hücreler tarafından üretilir.

Asinüslerde az miktarda, proteinden zengin sıvı üretilirken interkalar kanal hücrelerinde sodyum ve bikarbonattan zengin, daha fazla miktarda sıvı salgılanır. Pankreas salgısı duodenum mukozasındaki enteroendokrin hücreler tarafında üretilen sekretin ve kolesistokinin hormonları tarafından kontrol edilir. Hormonal etkinin yanı sıra pankreasın otonomik innervasyonu da salgılamada önemlidir. Sempatik sinir lifleri pankreasın kan akımını regüle ederken parasempatik lifler de sentroasiner hücrelerin ve asinüsün aktivitesini stimüle eder (11-13).

### 1.5. PANKREAS KANALLARI

Wirsung pankreasın esas kanalıdır, organın kuyruk kısmından başlayıp, gövde boyun ve baş kısmını geçerek Papilla Vateri'ye açılır (Şekil 3). Aksesuar kanal ise Santorini olarak isimlendirilir, baş kısmını drene eder ve daha kısadır. %60 vakada her iki kanal duodenuma açılır. % 30 vakada Wirsung kanalı tüm sekresyonları taşır ve Santorini kör uçla sonlanır. % 10 vakada Santorini tüm sekresyonları taşır, Wirsung küçük veya yoktur (14 -16).



Şekil 3. Pankreas kanalları.

## **1.6. PANKREAS FİZYOLOJİSİ**

Pankreas endokrin ve ekzokrin salgı yapan bir bezdir. Pankreasın endokrin sekresyonu (insülin, glukagon ve somatostatin ) Langerhans adacıklarından salgılanır. Langerhas adacıkları boyanma özellikleri ve morfolojisiyle birbirinden ayrılan üç tip hücreden oluşur.

- BETA hücreleri: İnsülin üretirler. Langerhans adacıklarının %60 –80'ini oluşturur.
- ALFA hücreleri: Glukagon salgırlar. Adacık hücrelerinin %10 –20'sini oluşturur.
- DELTA hücreleri: Somatostatin salgırlar. Adacıkların yaklaşık %10'unu oluşturur (17).

Pankreasta asinüsler temel ekzokrin salgı ünitesidir ve pankreas berrak izotonik ve alkali ekzokrin salgı yapar. Bu salgıda yirmiden çok sindirim enzimini vardır.

## **1.7. KURKUMİN**

Kurkumin zerdeçal köksapının (Curcuma longa) doğal bir bileşenidir. Biyolojik etkileri antioksidan, antienflamatuardan anjiyogenezin inhibisyonuna kadar uzanmaktadır ve spesifik antitümöral aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Kurkumin'in anjiyo-inhibitör etkilerine sahip olduğu bildirilmiştir. Kurkuminin proinflatuar özellikteki sitokin NF-κB'yi seviyelerini aşağı doğru düzenlediği ve IKB kinazı inhibe ettiği ve böylece proliferasyonu bastırdığı ve apoptozu indüklediği gösterilmiştir. TNF-α'yı, çeşitli çalışmalarda azalttığı gösterilmiştir (18).

## **1.8. KAEMPFEROL**

Greylfurt ve diğer bitki kaynaklarından izole edilmiş doğal bir flavonoiddir. Oksidatif stresi azaltarak bir antioksidan görevi gören, şu anda olası bir kanser tedavisi olarak kabul edilmektedir. Bir antibakteriyel madde, bitki metaboliti, insan ksenobiyotik metaboliti ve insan idrar metaboliti olarak rol oynar (19).

## 2. AKUT PANKREATİT

Akut Pankreatit (AP), klinik olarak ani başlayan karın ağrısı ile birlikte serumda ve/veya idrarda pankreas enzimlerinin yükselmesi ile karakterize ve pankreasta radyolojik değişikliklerin saptandığı bir hastalıktır (20).

Akut pankreatit, etiolojisinin ne olduğunun önemi olmaksızın asiner hücrelerde başlar ve devamında pankreasta değişen oranlarda ödem, hemoraji ve nekroz oluşur. AP' teki en önemli faktör başlangıçta tripsinojenin aktifleşerek tripsine dönüşümüdür.

Kalsiyum salınımı ve asidotik ortam bu uyarıda rol oynar. Ayrıca şiddetli AP, Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu'nun (SIRS) önemli nedenlerinden bir tanesidir. Pankreatit patolojisinde çeşitli Serbest Oksijen Radikalleri (SOR) ve inflamatuvar sitokinler görev almaktadır. Sistemik dolaşımda inflamatuvar sitokinlerin artışı böbrek ve akciğer gibi diğer organları da etkileyerek hipovolemi, şok ve Çoklu organ yetmezliği sendromu'na (ÇOYS) neden olmakta ve mortaliteyi arttırabilmektedir (21-25).

### 2.1. PATOFİZYOLOJİ

Pankreasın parankimal hücreleri (asiner ve stellat hücreler) sekrete ettikleri kemokinler yolu ile lökosit kemoatraksiyonu ve migrasyonunda görev alırlar. Pankreas dokusunun monosit, makrofaj ve polimorfonükleer hücrelerce infiltrasyonu platelet aktive edici faktör (PAF) gibi araşidonik asit metabolitlerinin, SOR'un ve sitokinlerin artmış üretimi ile sonuçlanır ve doku hasarı artar (21-23). AP'deki inflamatuvar yanıtta anahtar rol oynayan sitokinler İnterlökin (IL)-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18 ve Tümör Nekroz Faktör alfa (TNF- $\alpha$ )'dır. TNF- $\alpha$ ; hem asiner, hem de inflamatuvar hücrelerden salınır; kemotaksisi, hücre ölümünü, endotelial aktivasyonu ve proinflamatuvar gen ekspresyonunu uyarır. TNF- $\alpha$  ayrıca ksantin dehidrojenazın ksantin oksidaza modifikasyonu ve NO sentaz aktivitesinin artışı yolları ile pankreatitin sistemik komponentindeki oksidatif yanıtta katkıda bulunur (24,25).

İnflame pankreas dokusunda lökositler, lizozomal enzimler, pankreatik proteazlar ve vazoaktif faktörler (endotelin-1, fosfolipaz A2) aracılığı ile mikrosirkulatuvar disfonksiyon hızla gelişir (26,27). Oluşan iskemi sonucunda pankreatik ödem ve nekroz gelişir, sistemik inflamatuvar yanıt şiddetlenir, iskemi-reperfüzyon hasarı ve SOR üretimi meydana gelir. SOR direkt asiner hücre hasarına neden olur, apoptozu artırır, proteaz inhibitörlerini inaktive eder ve sitokinleri, selektinleri ve adhezyon moleküllerini kapsayan birçok proinflamatuvar mediyatörün gen ekspresyonunu düzenleyen nükleer faktör  $\kappa$ B'yi (NF- $\kappa$ B) aktive eder (28,29).

## 2.2. ETİYOLOJİ

Çocukluk çağında AP etiyojisi (Tablo 1) erişkinlerden oldukça farklıdır. Çocuklarda en sık nedenler sistemik hastalıklardır. Bunların arasında hemolitik üremik sendrom (HÜS) ve organ transplantasyonları en önemli klinik tablolardır.

<b>Tablo 1. Akut Pankreatit Nedenleri (30)</b>	
<i>Safra taşları</i>	<i>Enfeksiyonlar</i>
<i>Alkolizm</i>	<i>Virüsler</i> Sitomegalovirüs Kabakulak Kızamıkçık Coxsackie virüs B Hepatit A ve B
<i>Metabolik nedenler</i> -Hipertrigliseridemi -Hiperkalsemi	
<i>Genetik mutasyonlar</i> -Hereditör pankreatit -Kistik fibrozis -Otoimmün pankreatit	<i>Bakteriler</i> Klebsiella E. Coli Mikobakterium türleri
<i>Pankreas divisium</i>	<i>Mantarlar</i> Cryptosporidium Cryptococcus Candida
<i>İlaçlar</i> -Azatioprin -6-merkaptopürin -Pentamidin -Asetaminofen -Sülfonamidler -Valproik asit -Furosemid -Metronidazol -Didanozin	<i>Parazitler</i>
<i>Toksinler</i> -Organofosfat insektisidler -Akrep zehiri	<i>İskemik</i>
<i>Travma</i> -Endoskopik Retrograd Kolanjiopankreatografi	<i>İdiopatik</i>

### **2.2.1. Safra Yolu Taşları**

Safra taşının çapı, 5 mm'den daha küçük ise AP daha kolay oluşmaktadır (35). Bu, küçük taşların sistik kanaldan rahatlıkla geçip, ampullada tıkanıklık oluşturmaları ile ilişkilidir. Safra çamuru; 5 mm'den küçük taşları bulunduran kesedeki viskoz bir süspansiyondur. Hastalar genellikle asemptomatiktirler. Bu hastaların safralarında genellikle kolesterol monohidrat kristalleri ya da kalsiyum bilirubinat granülleri izlenir (36). Çamur oluşumu, fonksiyonel olarak ya da mekanik safra stazlarında meydana gelmektedir. Safra çamuru ile AP arasındaki ilişki net olarak ispatlanamamıştır.

### **2.2.2. Alkol Kullanımı**

Alkolün pankreası nasıl etkilediği tam olarak bilinmemektedir. Alkol, pankreastaki asiner hücrelerde sindirim enzimlerinin sentezlerini artırabilir. Alkolün Oddi sfinkterini spazma uğratarak veya genişleterek etki edebileceği öne atılmıştır (32,33). Başka bir teori de alkolün ve ya bir zararlı metabolitin direk pankreasa olan toksik etkisinin var olabileceğidir (32). Alkolün, viral pankreatite öncülük edebileceği ve Coxsackievirüs B3'ün toksik etkilerine karşı pankreası duyarlı hale getirebileceği bildirilmiştir (31).

### **2.2.3. İlaç Kullanımı**

İlaçların rolü AP'lerin gelişmesinde düşük olup yapılan bir çalışmada %1.4 oranında tespit edilmiştir (37). İlaça sekonder akut pankreatitlerde prognoz iyi ve mortalite çok düşüktür. Yapılan bir çalışmada ise %4.7 olarak bulunmuştur (34). Olguların çoğunluğu interstisyel formdadır (%86). Pankreatit'in ilaca bağlı olduğunu söyleyebilmek için şu kriterleri içermelidir;

- Pankreatit ilaç kullanımına başlandıktan sonra ortaya çıkmış olmalıdır.
- Pankreatitin başka bir nedeni bulunmamalıdır.
- İlaç bırakılınca klinik düzelmelidir.
- İlaç tekrar kullanılınca nüks gelişmelidir.

Akut pankreatite neden olduğu ispatlanmış olan ilaçlar Tablo 2’de görülmektedir.

<b>Tablo 2. Akut pankreatit ile ilişkili olan ilaçlar</b>		
<b><i>Kesinlikle ilişkisi olan ilaçlar</i></b>	<b><i>Muhtemel ilişkisi olan ilaçlar</i></b>	<b><i>İlişkisi olduğu düşünülen ilaçlar</i></b>
Azatioprin Klorotiazid Östrojenler Furosemid Sulfonamidler Tetrasiklinler Valproat Rifampisin Salisilatlar Simetidin Asetaminofen	L-Asparaginaz Kortikosteroidler Etakrinik asit Fenformin	Amfetamin Kolestiramin Propoksifen İndometazin İzoniazid Merkaptopürin Opiadlar

#### **2.2.4. Enfeksiyonlar**

Enfeksiyöz ajanlarla oluşan pankreatitlerin insidansı net bilinmemektedir.

Pankreatite neden olduğu bilinen enfeksiyonlar Tablo 3’te görülmektedir (38,39).

<b>Tablo 3. Akut pankreatite yol açabilen enfeksiyonlar</b>			
<b><i>Virüsler</i></b>	<b><i>Bakteriler</i></b>	<b><i>Mantarlar</i></b>	<b><i>Parazitler</i></b>
Kabakulak Coxsackievirüs Hepatit B CMV Varicella zoster Herpes simplex HIV	Mikoplazma Legionella Leptospira Salmonella Mikobakterium türleri	Aspergillus Candida Cryptococcus Criptosporidium	Toxoplasma Ascaris lumbricoides

#### **2.2.5. Cerrahi Müdahaleler**

Pankreas çevresindeki girişimler (gastrektomi, safra yolu cerrahisi, splenektomi), torasik operasyonlar ve renal transplantasyonlardan sonra pankreatit görülebilmektedir. Ameliyat esnasında pankreasa direk olan travmalar, pankreas kan dolaşımının bozulması, perioperatif periyotta oluşan hipotansiyon ve pankreatik sıvıdaki tripsin inhibitör seviyelerinin azalması pankreatit patogeneğinde rol oynadığı düşünülmektedir. Bilhassa abdominal cerrahi müdahalelerden sonra gelişen pankreatiti tanımak güçtür. Karın ağrısı ve hassasiyet kullanılan ilaçlardan dolayı silikleşmiş olup, postoperatif rahatsızlık hissi olarak değerlendirilmekte, tanı gecikmekte ve mortalite de yüksek oranda olmaktadır. Bir çalışmada postoperatif pankreatitin mortalite oranı %17 olarak tespit edilmiş (40).

### **2.2.6. Metabolik Hastalıklar**

**2.2.6.1. Hipertrigliseridemi:** Tüm akut pankreatitlerin nedenleri içinde %1.3–3.8'i hipertrigliseridemiye bağlıdır (41). Serum trigliserit konsantrasyonunun 1000 mg/dl'yi geçmesi AP ataklarına neden olmaktadır. Pankreatik lipazın, trigliseritleri serbest yağ asitlerine dönüştürmesi ve sonrasında açığa çıkan serbest yağ asitlerinin pankreatik dokuya zarar vermesi ile pankreatit ortaya çıkar. Serbest yağ asitleri aynı zamanda pankreas mikrosirkülasyonunu da bozarak iskemiye yol açmaktadır (32).

**2.2.6.2. Hiperkalsemi:** Hiperkalsemiye neden olan durumlar (hiperparatiroidizm, paratiroid adenomu, D vitamini intoksikasyonu, ailesel hipokalsiürik hiperkalsemi, total paranteral nütrisyon (TPN), kalsiyum karbonat içeren antiasitlerin uzun süreli kullanımı) akut pankreatite yol açabilmektedir. Kalsiyumun pankreatik kanal içinde birikmesi ve sonrasında parankim içinde tripsinojenin kalsiyum tarafından aktive edilmesi ile pankreatitin oluştuğu düşünülmektedir. Hiperparatiroidisi olan hastalardaki AP insidansı %0,2 –1,5 civarındadır (31).

### **2.3. AKUT PANKREATİT PATOGENEZİ TEORİLERİ**

**2.3.1. Obstrüksiyon - Sekresyon Teorisi:** Hayvanlarda deneysel olarak pankreatik kanalın obstrüksiyonu ödematöz pankreatite neden olmaktadır. Kısmi obstrüksiyon ise pankreatik hipersekresyonla ağır pankreatit oluşturmaktadır. Bu teori daha çok biliyer ile alkolik pankreatitin oluş mekanizmasını açıklar (43).

**2.3.2. Duodenal Reflü Teorisi:** Deneysel olarak hayvanlarda, duodenal içeriğin ampulla vateri'den pankreatik kanala reflüsünün pankreatit oluşturduğu izlenmiştir. Duodenum içi basıncın arttığı durumlarda Oddi sfinkterinde de yetersizlik varsa aktif enzimler pankreas kanalını geçerek akut pankreatite neden olabilir. Subtotal gastrektomi ve postoperatif dönemde görülen akut pankreatitin nedeni de duodenum sıvısının pankreatit kanala reflüsüdür (43).

**2.3.3. Ortak Kanal Teorisi:** Safra yolu taşının ampulla vateri'yi tıkararak pankreatik kanalda safra reflüsüne neden olduğu ileri sürülmektedir. İnfekte safra; dekonjuge safra tuzlarını ile lesitini içerir.



Pankreatik sıvı içerisinde bulunan fosfolipaz A lesitini izolesitine dönüştürür. Pankreatik hasarın altında bu mekanizmanın olduğu savunulmaktadır (43). Akut pankreatit geçirmiş kişilerin radyolojik incelemelerinde %52-67 oranında, safranın pankreas kanalına geçtiğinin gösterilmiş olması bu teoriyi desteklemektedir.

**2.3.4. Pankreatik Kanal Permeabilite Artışı:** Serbest oksijen radikalleri üreten maddelerin, pankreatik kanalın geçirgenliğini artırarak pankreatite neden oldukları bulunmuştur (45). Akut pankreatitte multisistemik toksik bir tablo vardır. Hastaların %20'sinde pulmoner, kardiyovasküler ve renal disfonksiyon ön planda olmak üzere pankreatik komplikasyonlar gelişir. Sıvı elektrolit değişiklikleri, intravasküler volümde azalma meydana gelir. Akut pankreatitin başlamasıyla birlikte, pankreasın çevresine ve retroperitoneal mesafeye sıvı sekestrasyonu olur (42, 44).

**2.3.5. Enzim Otoaktivasyonu:** Normalde inaktif halde salınıp duodenumda enterokinaz enzimi ile aktive olan tripsin herhangi bir sebeple pankreas içinde aktif hale gelir ve diğer pankreas enzimlerini de aktiflerse pankreatit sürecini başlatmış olur. Bu pankreas içi aktivasyonda alkolizm, safra ve duodenal içerik reflülerinin neden olduğu pankreatitte rol oynadığı düşünülmektedir (43,44).

## **2.4. PATOLOJİK MEKANİZMALAR**

Akut pankreatitte fizyopatolojik mekanizmanın aktive olmuş pankreatik enzimlerden daha çok aktive olmuş polimorfonükleer lökositler (PMNL)'den bırakılan oksidan moleküller olduğu düşünülmektedir. Lökositlerden salınan mediatörler ile sitokinler tahrip edici özellikleri vardır. Sitokinler düşük molekül ağırlıklı proteinlerdir, normal dokuda tespit edilmezler. Dış kaynaklı bir uyarı hücreyi sitokin üretmek için harekete geçirir. Meydana gelen sitokin kendisinin ve diğer bazı sitokinlerin üretimini artırır. Akut pankreatitte görev aldığı düşünülen proinflamatuvar sitokinler; IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, NF- $\kappa$ B ve PAF'dır. TNF- $\alpha$  ve NF- $\kappa$ B bu sitokinler arasında en kritik rolü oynayanlardır (46, 47). Ayrıca IL-2, IL-10, nitrik oksit (NO) ve serbest radikaller akut pankreatitin ilerlemesinde ve şiddetlenmesinde rol oynarlar.

IL-1 ve TNF- $\alpha$  infeksiyon ve inflamasyona ilk cevap olarak meydana gelen sitokinlerdir. Akut pankreatitte ortaya çıkan ateş, hipotansiyon, yaygın damar içi pıhtılaşma, şok gibi lokal ve/veya sistemik bir çok bulgudan sorumludurlar. Bu lökosit ürünleri damar duvarına direk etki ederek damar duvarı geçirgenliğini arttırmaları. Bunun sonucunda ödem ve trombus oluşumuna sebep olurlar. Bu da pankreasın mikrosirkülasyonunu bozar (48). Pankreatite sekonder gelişen komplikasyonlarda multiorgan yetmezliği erken ve geç faz olmak üzere iki şekilde karşımıza çıkmaktadır. Geç fazda multiorgan yetmezliği süperenfeksiyona ikincil meydana gelen sepsise bağlıdır. Erken dönemde ise mikrodolaşım bozuklukları, multiorgan yetmezliğinin patogeneğinde önemli bir yer edinir (49). Akut pankreatit'teki dolaşım bozukluklarının mekanizması çalışmalar incelendiğinde kapiller endotel hücrelerinin bu fenomende önemli bir rol üstlendiği görülmektedir (50). Yakın tarihteki bilgiler ışığında vasküler endotel hücrelerinin immün hücrelerle etkileşimi sonucunda meydana gelen kapiller staz dolaşım bozukluğunda ana etken olarak görülmektedir. Akut pankreatit seyrinde ilk değişiklikler, pankreasın interstisyel septumu boyunca yer alan yağ dokusunda nekroz ve az miktarda PMNL infiltrasyonu şeklindedir. Bu dönemde asiner hücrelerin çatısı sağlamdır, interstisyumda ödem ve hücre infiltrasyonu ile karakterize histopatolojik değişiklikler oluşur. Bu tablo ödematöz pankreatit olarak isimlendirilir.

Akut pankreatit vakalarının %80'inde inflamasyon bu haliyle sınırlı kalma eğilimi gösterir. Olaya glandüler hücreler ve yağ dokusunun koagülasyon nekrozu eklenirse nekrotizan pankreatit tablosu oluşur. Nekroz pankreasın tamamını uniform şekilde tutmayabilir. Nekrotik sahalar arasındaki sağlam bölgeler pankreasa benekli bir görünüme sebep olur. Vasküler duvarların aktive elastaz nedeniyle tahrip olması sonucu hemorajik pankreatit gelişir. Hemoraji dokular diseksiyon yapılarak cilt altına kadar ulaşabilir. Nekrotik dokular, pankreatik sıvı, kan ve yağ damlacıkları pankreas içinde veya kenarında toplanarak psödokist oluştururlar. Psödokistler retroperitoneal olarak büyüyebildikleri gibi, komşu organlara bası uygulayacak şekilde herhangi bir yönde de genişleyebilirler. Aktifleşmiş pankreas enzimleri ile inflamatuvar hücrelerin peritona irritan etkileri sonucu sıvı kolleksiyonu oluşur. Bu sıvı sıklıkla omentum

minusta olmak üzere intraperitoneal (pankreatik asit), diyafragmatik lenfatikler yoluyla intraplevral (plevral efüzyon) olabilir.

Nekrotik materyal ve pankreas sıvısı içeren koleksiyonların enfekte olması sonucu pankreas apseleri oluşur. Akut pankreatite sebep olan olay ne olursa olsun tablo aynı şekildedir (51). Patolojik hadiseler tanımlanırken iki gruba ayrılarak incelenmektedir;

#### **2.4.1. Akut Ödematöz Pankreatit**

Makroskopik olarak bez büyük, çevredeki mezenter ve omentumda beyazımsı gri renkli, yağ nekrozu alanları göze çarpar. Lakin ödematöz pankreatitte yağ nekrozu çok fazla değildir ve çoğu defa mikroskopik düzeyde tespit edilir. Sıklıkla batın içerisinde açık pembe renkte bir sıvı vardır, nekroz görülmez.

Mikroskopik olarak ise pankreas lobülleri cam gibi bir görünüm almıştır ve içleri inflamatuvar hücrelerle, özellikle PMNL ile doludur. Asiner hücreler genellikle sağlam kalmıştır. Ultrastrüktürel incelemede asiner hücrelerin lümen kenarındaki mikrovilluslarının kaybolduğu, endoplazmik retikulum ve mitokondrilerinin bozulduğu görülür. Enzimleri depolayan zimojen granüllerin membranları sağlam, büyüklük ve dansiteleri normaldir. Kapiller ve lenfatik ağlar genişlemiş olabilir, ancak tromboz yoktur (51).

#### **2.4.2. Akut Nekrotizan Pankreatit**

Makroskopik olarak gland şişmiş ve genişlemiştir. Retroperitoneal alanda, duodenum, kolon ve mide gibi komşu organlarda belirgin ödem oluşur. Batın üst bölümünde yaygın yağ nekrozları saptanır. Pankreatitin ağırlığı ile pankreas boşluğunda kirli kahverengi-siyah renkli bir sıvı oluşur. Retroperitoneal alanda, ağır vakalarda kolon mezosunda ve dalak pedikülünde kanamalar saptanır.

Mikroskopik olarak pankreasın tamamı nekroze olabileceği gibi, sağlam ve nekrotik alanlar yanyana da görülebilir. Nekroz için sabit bir bulgu, asini lobüllerini besleyen kapiller arteriol ve venüllerdeki trombozlardır. Nekroz için prelobüler damarların tıkanmaları tipiktir. Nekroz alanlarının yanında, ödemli, mononükleer hücre infiltrasyon sahaları da tespit edilir (52).

## 2.5. KLİNİK SINIFLANDIRMA

Akut pankreatit, klinikte aşağıdaki şekilde ayrılır:

- Hafif akut pankreatit: Organ yetmezliği ve lokal veya sistemik komplikasyonların olmaması ile karakterize olan formudur.
- Orta şiddetli akut pankreatit: Geçici organ yetmezliği (48 saat içinde düzelen) ve/veya kalıcı organ yetmezliği olmaksızın lokal veya sistemik komplikasyonlarla karakterize olan klinik tablodur.
- Şiddetli akut pankreatit: Bir veya birden fazla organı içerebilen kalıcı organ yetmezliği ile karakterize olan tipidir.

## 2.6. KLİNİK BULGULAR

Akut pankreatitli hastaların çoğunda akut başlangıçlı kalıcı, şiddetli epigastrik abdominal ağrı vardır (53). Bazı hastalarda ağrı izole sağ üst kadranda olabilir veya nadiren sol tarafa da yayılabilir.

Safra taşına sekonder pankreatit olan hastalarda ağrı lokalizedir ve ağrının başlangıcı hızlıdır. Ve 10 ila 20 dakika içinde maksimum yoğunluğa ulaşır. Buna karşılık, kalıtsal veya metabolik nedenlere veya alkole bağlı pankreatitli hastalarda, ağrı daha yavaş gelişir ve lokalize olması çok uzun zaman alabilir. Hastaların yaklaşık yüzde 50'sinde, ağrı sırta yayılır (54). Ağrı birkaç saatten birkaç güne kadar devam edebilir ve öne doğru eğilerek kısmen rahatlayabilir. Hastaların yaklaşık olarak %90'ında bulantı ve kusma vardır (55).

Şiddetli akut pankreatitli hastalarda; pankreatit, plevral efüzyon veya respiratuar distres sendromuna sekonder diyafragma iltihabına bağlı olarak dispne olabilir.

Akut şiddetli pankreatitli hastaların yaklaşık yüzde 5 ila 10'unda ağrı olmayabilir ve açıklanamayan hipotansiyona sahip olabilirler (Örn. Postoperatif ve kritik hastalar, diyaliz hastaları, organofosfat zehirlenmesi ve Lejyoner hastalığı) (56-58).

## 2.7. FİZİK MUAYENE

Fiziksel bulgular akut pankreatitin şiddetine bağlı olarak değişir. Hafif akut pankreatitli hastalarda epigastrium, palpasyona minimum düzeyde hassastır. Aksine, şiddetli pankreatitli hastalarda, epigastriumda daha yaygın olarak palpasyon ile anlamlı hassasiyet olabilir. Hastalarda, koledokolitiazis ya da pankreas başının ödemi nedeniyle tıkanma sarılığı oluşabilir, skleralarda ikter görülebilir.

Ağır pankreatitli hastalarda ateş, takipne, hipoksemi ve hipotansiyona tespit edilebilir. Akut pankreatitli hastaların %3'ünde periumbilikal bölgede (Cullen belirtisi) ve flank bölgesinde (Şekil 4. Grey Turner İşareti) ekimotik renk değişikliği görülebilir (59). Bu bulgular nonspesifik olsa da, pankreas nekrozu durumunda retroperitoneal kanama varlığını düşündürmektedir (60).

Nadir olarak, hastalarda subkütanöz nodüler yağ nekrozu veya pannikülit (Şekil 5. Pankreatit Pannukulit) görülebilir (61,62). Bu lezyonlar sıklıkla distal ekstremitelerde ortaya çıkmaktadır ancak başka yerlerde görülebilir.



Şekil 4. Grey Turner İşareti (63).



Şekil 5. Pankreatit pannukulit; Tibia üzerinde inflamatuvar nod (64).

Hasta ayrıca akut pankreatite neden olan etiyolojiyi düşündüren bulgulara da sahip olabilir.

Örnek olarak hepatomegali alkolik pankreatitte, hiperlipidemik pankreatitte ksantomlar ve kabakulak hastalarında parotis şişmesi olabilir.

Pankreatitte inflamasyonun mide ve duodenum mukozasına dağılımı sonucu gelişen akut antral gastrit ile duodenite bağlı minör mukozal kanamalar %20 olguda izlenir. Bu kanamalardan hariç %6 vakada pankreatik nekrozun arteriyollerde ve/veya splenik, gastroduodenal arterlerde oluşturduğu erozyona bağlı olarak; abdomen içine, oluşmuş ise psödokist veya apse içerisine, erozyona uğrayan damarın büyüklüğüne göre değişen şiddette kanamalar görülür.

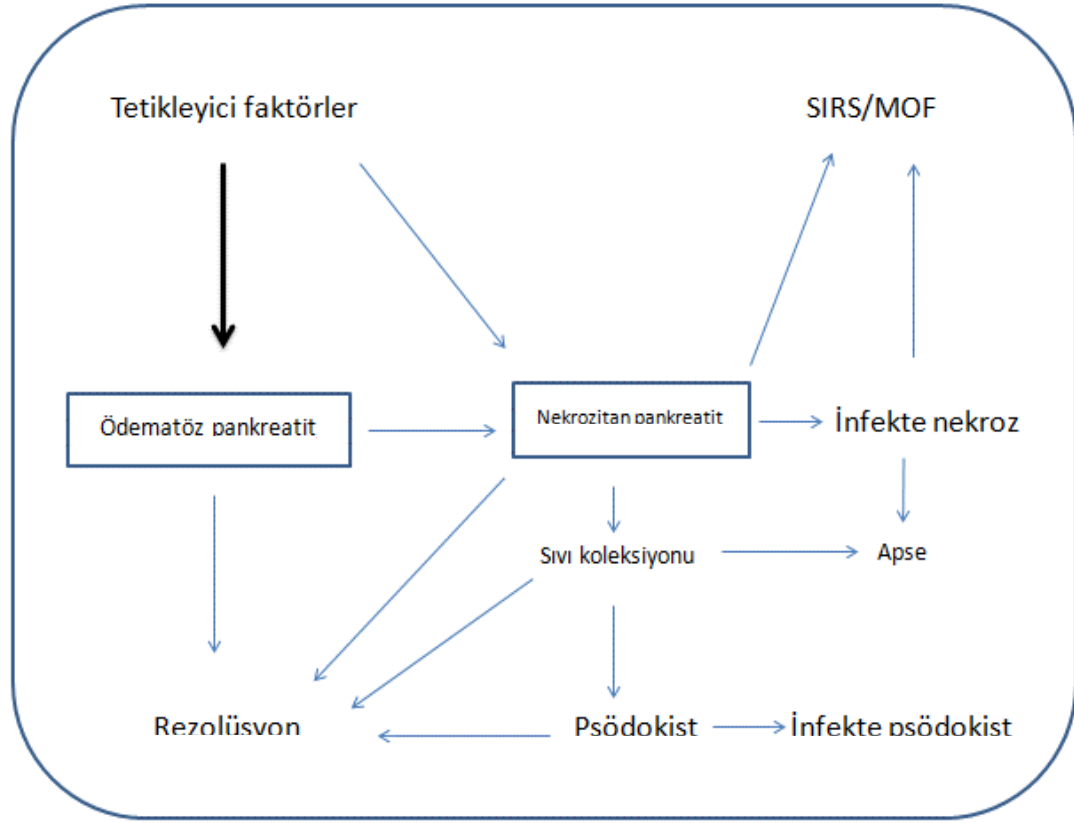
Pankreatik kanal içine de kanamalar olabilir ve endoskopide papilladan kanama gözlenebilir. Apse ya da psödokistin gastrointestinal kanala veya safra yollarına fistülizasyona sekonder melena gelişebilir, ancak bu kanamalar nadiren kan transfüzyonu gerektirir. İnflamasyonun bağırsak duvarına yayılımı sonucu bağırsakta spazm ile ödem gelişebilir, hipoaktif barsak sesleri duyulabilir. Segmental obstrüksiyon veya intestinal paralizi gelişir. Yaklaşık %10 kadar vakada aşikar paralitik ileus saptanabilir. İnflamasyonun bağırsaklara invazyonu sonucu obstrüksiyon, perforasyon, fistülizasyon meydana gelebilir.

Dalak; inflamasyonun ya da doğrudan infekte materyalin yayılımıyla veya splenik ven trombozu sonucu etkilenebilir. Dalakta hemoraji, apse, infarkt oluşabilir.

Şiddetli pankreatitlerin %50'sinde meydana gelen psödokist, %30 oranında ele gelen kitle şeklinde saptanabilir, %3-7 olguda ise apse oluşabilir (65).

Apse, geç dönemde (pankreatit başlangıcından 1-4 hafta sonra) meydana gelen bir komplikasyon olup nekrotik pankreasın ya da psödokistin infekte olması sonucu oluşur ve mortalitesi %25 kadardır. Ateşin yükselmesi, ağrının şiddetlenmesi, abdomende ele gelen kitle, lökositoz, taşikardi, hipotansiyon birlikteliğinde apsedan şüphelenilerek batın ultrasonu (US) veya bilgisayarlı tomografi (BT) yapılmalıdır. Kan kültürü sıklıkla negatiftir. BT veya US eşliğinde yapılan biyopsi ile apseyi kanıtama olasılığı %90'ın üzerindedir. Kültürde genellikle Escherichia coli, Klebsiella, Pseudomonas, Enterococcus, Proteus, Staphylococcus aureus ve de diğer enterik mikroorganizmalar ürer.

Olguların %20-40'ında, inflamasyonun diyafragmatik lenfatiklerle toraksa ilerlemesi ya da dolaşımdaki toksik maddelerin alveollerdeki hasarına bağlı olarak pulmoner semptom ve de bulgular gelişir. Hafif takipne ile dispne olguların %70'inde görülebilir. İlk iki günde görülen bu olaylar parsiyel oksijen basıncındaki düşüğe bağlıdır. Vakaların 1/3'ünde plevral efüzyon, pulmoner infiltrasyonlar ve %20'sinde Akut sıkıntılı solunum sendromu (Acute Respiratory Distress Syndrome - ARDS) gelişir. İntra-alveolar sıvı eksüdasyonu ve pulmoner dolaşımda kötüleşme sonucu kanın oksijenizasyonu bozulur. ARDS, pankreatitin şiddeti ile koreledir ve kötü prognozu gösterir. Patojenezde görev alan inflamatuvar mekanizmalar ile SIRS ve ÇOYS gelişebilir (Şekil 6).



Şekil 6. Akut pankreatit modelinde SIRS/MOF (Multiorgan yetmezliği) gelişimi

Bunlardan hariç söz konusu mekanizmalardan bağımsız olarak miyokard infarktüsünü taklit eden elektrokardiyografi bulguları izlenebilir; fibrilasyon ve flutter tipinde aritmiler görülebilir. Vakaların %80'inde oligüri, proteinüri, lökositüri görülebilir iken, %20 olguda akut böbrek yetmezliği (ABY) meydana gelir ki bu durumun mortalitesi %50'dir. Renal ven trombozu ve renal kortikal nekroz, nekrotizan pankreatitteki fatal komplikasyonlar arasındadır. AP'nin lokal ve sistemik komplikasyonları Tablo 4'te, ayırıcı tanıda akla gelmesi gereken hastalıklar ise Tablo 5'te gösterilmiştir (65).



<b>Tablo 4. Akut pankreatitin komplikasyonları</b>	
<b><i>Pulmoner</i></b> Hipoksemi Plevral Efüzyon Atelektazi Pulmoner İnfiltrasyon ARDS Mediastinal abse	<b><i>Metabolik</i></b> Hipokalsemi Hiperglisemi Hipertrigliseridemi
<b><i>Kardiovasküler</i></b> Hipotansiyon SIRS/Şok Perikardiyal efüzyon Aritmiler, ST-T değişiklikleri	<b><i>Göz ve Dermatolojik</i></b> Ani görme kaybı Subkutan yağ nekrozu
<b><i>Renal</i></b> Akut tübüler nekroz/ABY Oligüri Renal arter veya ven trombozu	<b><i>Gastrointestinal</i></b> Karaciğer fonksiyon bozukluğu Obstrüktif sarılık Eroziv gastrit Paralitik ileus İntestinal obstrüksiyon/perforasyon GİS kanaması Splenic ven trombozu/Portal hipertansiyon
<b><i>Hematolojik</i></b> Yaygın damar içi pıhtılaşma Trombositoz Hiperfibrinojenmi	<b><i>Nörolojik</i></b> Ensefelopati Psikoz Yağ embolisi

<b>Tablo 5. Akut pankreatitte ayırıcı tanı</b>	
Perfore duodenal ülser Akut kolesistit/Bilier kolik İntestinal obstrüksiyon Akut mezenterik obstrüksiyon	Kolon divertikülit/perforasyon Plevral/pulmoner enfeksiyon Peritonit Akut miyokard infarktüsü

## **2.8. TANI**

### **2.8.1. Akut Pankreatitte Laboratuvar Bulguları**

Serum amilaz ve lipaz değerlerinin AP tanısı açısından eşik değeri konusunda bir genel görüş olmasada; bu enzimlerdeki üç kat ve üzeri yükselişin anlamlı olduğu kabul edilir (66-68).

### **2.8.1.1. Amilaz**

Sağlıklı kişilerde serum amilazının 40%'ını pankreas, diğer kısmını ise tükürük bezi salgıları meydana getirir. Serum amilaz aktivitesinde normalin üç katı ve üzerindeki artışlar AP için tanı değeri taşır. Gumase ve ark. (66) AP tanısı için normalin üç kat ve üzerideki amilaz değerini eşik olarak aldıkları bir çalışmada sensitivitesini %72, spesifitesini %99 olarak bildirmişlerdir. Ayrıca AP'lerin %19-32'sinde normal amilaz değerleri saptanır (69). Serum amilaz düzeyi AP'nin ilk saatleri içerisinde yükselir ve 3-5 gün içerisinde normal düzeye döner. Renal fonksiyonları normal aralıkta olan vakalarda idrar amilazı, serum amilazı normale döndükten birkaç gün sonra normale döner, bu sebeple geç başvuran olgularda serum amilazından daha değerlidir. Eşik değer olarak 550 U/L alındığında idrar amilazının sensitivitesi %62, spesifitesi %97 saptanmıştır (70).

Ekzokrin pankreas yetmezliğine bağlı olarak kronik pankreatit zemininde gelişen AP'lerde serum amilaz değeri normal sınırlarda seyredebilir (71).

Hipertrigliseridemiye sekonder pankreatitlerde, seçilen analiz yöntemine göre amilaz hatalı olarak normal tespit edilebilir. Bu durum; kolorimetrik yöntemlerde lipemik serumun optik yanılması, trigliseritler ile analiz kitinin etkileşimi ve de lipemik serumdaki amilaz inhibitörü ile açıklanabilir (72-74). Lipemik serumun seri dilüsyonları ya da ultrasantrifüjü ile bu hatalı analizlerin önüne geçilebilir. Yeni nesil analiz yöntemlerinde böyle teknik sorunlar büyük oranda giderilmiştir (75-78). Normal amilaz düzeyleri nadiren erken gelişen total pankreatik nekrozdan, hastalığın hızlı rezolüsyonundan ya da amilazın hızlanmış renal atılımından kaynaklanabilir. Pankreas dışı hiperamilazemi sebepleri; intestinal obstrüksiyon, iskemi ve perforasyon, tuboovaryan hastalıklar gibi intraabdominal hastalıklar; tükürük bezi hastalıkları, pnömoni, tüberküloz, kafa travması gibi ekstraabdominal hastalıklar; bazı kanserler (over, prostat, akciğer) ile karaciğer yetmezliği, böbrek yetmezliği, diyabetik ketoasidoz ve anoreksiya nervoza gibi metabolik hastalıklardır. Gebelikte, benign familial hiperamilazemide, alkoliklerdeki alkol intoksikasyonunda ve ERCP sonrası dönemde de asemptomatik hiperamilazemi saptanabilir (79).

Makroamilazemi, amilazın immünglobulin ile renal filtrasyonla uzaklaştırılmayacak kadar büyük moleküler kütleli bir kompleks oluşturması sonucu oluşur ve serum amilazı yüksek iken idrar amilazı normal düzeyde bulunur (80). Amilaz klirensinin kreatinin klirensine oranı makroamilazemi durumunda tanıya yardımcı olur. Bu oranın normali %2-5'dir, >%5 olması AP'ye, <%2 olması makroamilazemi gösterir (81).

### **2.8.1.2. Lipaz**

AP tanısında serum lipazının sensitivitesi amilazın serum düzeyinden daha yüksek olup %85-100 arasındadır (67, 82, 83). Yarılanma ömrü, amilazın yarı ömründen 8-14 gün daha uzun ve aktivitesi amilaz aktivitesinin dört katı olduğu için geç başvuran olgularda ve kronik zeminde gelişen AP'lerde daha sensitiftir (83). Ayrıca kronik pankreatitte pankreatik dokudaki amilaz aktivitesindeki azalma, lipaz aktivitesindeki azalmadan anlamlı derecede daha fazladır (%91'e karşı %26) (84). Pankreas dışı hiperlipazemi; intestinal obstrüksiyon, perforasyon ve iskemi durumlarında, kemik fraktürlerinde, böbrek yetmezliğinde, yağ embolisinde ve "crush" zedelenmelerde görülür (85). Ve de serum lipaz analizindeki hatalar, pankreatitli hastaların serumlarında bulunan multiple lipaz fraksiyonları ve lipazın makro formlarından kaynaklanabilir. Amilaz gibi, lipaz ölçümü hipertrigliseridemiden etkilenmez (86).

### **2.8.1.3. Üriner Tripsinojen-2**

Tripsinojen, enterokinaz aracılığıyla tripsin ve tripsinojen aktivasyon proteinine (TAP) parçalanır. Tripsinojen-1 ve tripsinojen-2 olmak üzere iki tane majör izoenzim vardır. AP'de önemli miktarda artış gösteren tripsinojen-2'dir (87). Tripsinojen-2'nin üriner ve serum seviyeleri birkaç saat içerisinde yükselir ve birkaç gün içerisinde de normale döner. Akut karın ağrısı ile başvuran 500 hastayı kapsayan prospektif bir çalışmada idrar tripsinojen-2 (eşik değer 50 µg/L) ile serum ve idrar amilazı (eşik değerleri sırasıyla 300 ve 2000 IU/L) karşılaştırılmış; tripsinojen-2'nin sensitivite ve spesifitesinin (sırasıyla %94 ve %95) serum amilaz (%85 ve %91) ve idrar amilaz (%83 ve %88) testlerinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (88). Benzer bir çalışmada üriner tripsinojen-2 ile serum lipazı karşılaştırılmış sensitivite ve spesifiteleri sırası ile %93 ve %92'ye karşı %79 ve %88 saptanmıştır (89).

#### **2.8.1.4. Diğer kan testleri**

Akut pankreatit sırasında, amilaz ve lipaz gibi diğer pankreas enzimleri de sistemik dolaşıma geçmektedir ve tanıda kullanılabilirler. Bunları şöyle sıralayabiliriz; tripsin, tripsinojen, TAP, fosfolipaz A2, elastaz 1, karboksipeptidaz A. Çoğu rutin olarak kullanılmamaktadır ve hiçbiri tanıda amilaz veya lipazdan değerli değildir.

AST, olguların %50'sinde normalin beş katına kadar artabilir. ALT ve ALP yüksekliği özellikle safra yolları patolojilerinin varlığında görülür. Bilirubin seviyeleri hafif derecede yükselebilir. Bilirubin 2,5 mg/dl ya da daha yüksek saptanırsa safra yolu obstrüksiyonu akla gelmelidir.

Nekrotik pankreastan açığa çıkan hematinin albumine bağlanmasıyla methemalbuminemi gelişir, kötü prognoz ile ilişkilidir.

Vakaların birçoğunda başlangıç döneminde aşırı glukagon salınımına bağlı olarak geçici, hafif bir hiperglisemi oluşabilir. Olguların %30-60'ında pankreatit başlangıcının 2-3. Günlerinde hipokalsemi meydana gelir. İyonize Ca düşüklüğü ise sık görülmez. Total Ca'un <8 mg/dl olması kötü prognoz belirteçidir. Hiperlipidemiye sekonder olarak serum süt görünümünde olabilir. Trigliserit düzeyleri 1700-2000 mg/dl tespit edilebilir. Pankreatitin ilk gününden itibaren akut faz reaktanlarında, özellikle C-reaktif protein'de (CRP) yükseliş izlenir. Pankreatitin şiddetiyle ilgili olarak hipoproteinemi ve hipoalbuminemi oluşur. Parsiyel oksijen basıncı (pO<sub>2</sub>) düşebilir. Nadir olarak respiratuvar alkaloz saptanabilir. Pankreatit sırasında kan gazlarının takibi ARDS'nin erken tanınması açısından önemlidir (90).

## **2.8.2. Akut Pankreatitte Radyolojik Bulgular**

### **2.8.2.1. Direk karın ve akciğer grafileri**

Sıklıkla tespit edilen bulgu pankreasa komşu izole bir barsak ansında dilatasyondur. Bu duruma “sentinel loop” adı verilir. Gaz dolu sağ kolon ya da transvers kolonda ani bir kesilme izlenir. Bu bulgu enflamasyona komşu kolon segmentinde gelişen spazma ikincil gerçekleşir. Nadir olarak pankreas kalsifikasyonu ve safra taşları saptanabilir.

### **2.8.2.2. Akciğer filmi**

Sol diyafram yüksekliği, sol ya da bilateral plevral efüzyon görülebilir (91-93).

### **2.8.2.3. Ultrasonografi**

Safra kesesi ve safra yolu taşlarının değerlendirilmesinde en duyarlı yöntem olması nedeniyle en önemli tanı araçlarından birisidir. Safra taşlarını saptamada sensitivitesi %100’e yakındır. Ultrasonografi akut pankreatit sebebi ile oluşan değişiklikleri %33-90 oranında görüntüleyebilir. Ultrasonografi ödematöz, genişlemiş bir pankreası, peripankreatik sıvı koleksiyonu ve psödokisti tespit edebilir (91,93,95).

### **2.8.2.4. Bilgisayarlı Tomografi (BT)**

Pankreatit tanı ve şiddetinin belirlenmesinde en önemli görüntüleme yöntemidir. Pankreatitin başlangıç değerlendirmesinde klinik olarak şiddetli akut pankreatit tablosu görülen hastalarda, 72 saatlik konservatif tedavi ile klinik olarak hızlı düzelme göstermeyen veya komplikasyondan şüphe duyulduğunda çekilmesi düşünülmelidir. Normal pankreas, pankreatik ödem, peripankreatik enflamasyon, pankreatik veya peripankreatik sıvı koleksiyonu, psödokist ve apse tespit edilebilir.

Lokal komplikasyonların izlenmesinde, enfeksiyonun tespitinde, perkutan iğne aspirasyonunda oldukça faydalıdır. Komplikasyon gelişen vakalarda mortalitenin yüksek olması sebebiyle tomografik evreleme ve komplikasyonların erken tespiti, uygun tedavi için oldukça önemlidir (95).

### 2.8.2.5. Manyetik Rezonans (MR)

Akut pankreatit tanı ve evrelemede başarılı bir noninvazif alternatif yöntemdir. Özellikle de iyotlu kontrast maddeye karşı allerji ya da böbrek yetmezliği durumlarında tercih edilmelidir. Kontrastlı tomografi ile karşılaştırıldığında başarı oranlarının aynı düzeyde olduğu tespit edilmiştir (95).

### 2.8.2.6. Endoskopik retrograd kolanjiopankreatikografi (ERCP)

Özellikle idiopatik pankreatit vakalarında; duktal darlık, ampuller tümör gibi etiyolojik nedenlerin tespitinde kullanılır. İdiopatik pankreatit olgularında ERCP ile %30-50 oranında etiyoloji tespit edilebilmiştir. Ve de kolanjitin eşlik ettiği pankreatit olgularında erken dönemde tedavi amacı ile sfinkterotomi bu yöntemle uygulanabilir (91,94,96).

## 2.9. PROGNOTİK KRİTERLER

Debanto ve ark. 2002 senesinde erişkinlerde kullanılan akut pankreatit prognozunu belirlemede kullanılan Ranson ve Glasgow kriterlerini geliştirerek çocuklara uyarlamışlardır (97). Bu uyarlanan kriterlere göre akut pankreatitli hasta tanı anında ve ilk 48 saatte değerlendirilmektedir (Tablo 6). Bu kriterler tanı konulma sırasında; <7 yaş, <23 kg, lökosit sayısı  $18.5 \times 10^6/L$ , LDH >2000 IU/L olması ve ilk 48 saatte kan Ca düzeyi <8.3 mg/dl, albümin <2.6 g/dl, sıvı sekestrasyonu >75 ml/kg/48 saat, BUN'da yükselme 5 mg/dl olması şeklindedir. Her bir kriterin bulunmasına bir puan verilerek değerlendirilmekte ve 0-2 puan % 8.6 hafif akut pankreatit ve % 1.4 ölüm, 3-4 puan % 38.5 orta akut pankreatit ve % 5.8 ölüm , 5-7 puan % 80 ciddi akut pankreatit ve % 10 ölüm riski taşımaktadır.

<b>Tablo 6. Modifiye ranson kriterleri (De Banto Jr) (Her parametre 1 puan değerindedir.)</b>		
<b>Tanı anında</b>		<b>İlk 48 saatte</b>
<7 yaş		Ca düzeyi <8,3 mg/dl
<23 kg		Albumin <2.6 g/dl
Lökosit $>18.5 \times 10^6/L$		Sıvı sekestrasyonu 75 ml/kg/48 sa
LDH >2000 m/L		BUN da yükselme >5 mg/dl
<b>Puan</b>	<b>Ciddi akut pankreatit (%)</b>	<b>Mortalite (%)</b>
0-2	8.6	1.4
3-4	38.5	5.8
5-7	80	10

## 2.10. TEDAVİ

Akut pankreatit tedavisinin temelini sıkı genel durum ve vital takip, destek tedavisi, yeterli rehidrasyon ve analjezi oluşturur. Hastanın oral alımı kesilir. Karın ağrısını kesmek için opiyat analjezikler kullanılabilir.

Morfin, oddi sfinterinin kasılmasını ve amilaz düzeylerini artırması nedeniyle meperidin tercih edilir. Hafif pankreatitte rutin nazogastrik (NG) tüp takılmasının yararı yoktur, paralitik ileus oluşmadıkça kullanılmamalıdır. Aynı şekilde proton pompa inhibitörleri ve H2 reseptör blokörlerinin yararı yoktur (98).

Hipertrigliseridemi, oral alımın kesilmesi ve parenteral hidrasyon ile spontan olarak düzelmeye eğilimindedir. Akut dönemde atağın şiddetini azaltmak ve uzun dönemde ise nüksü önlemek amacıyla serum trigliserid düzeylerinin kontrol altında tutulması önemlidir.

Hiperkalsemi de spontan remisyona girme eğilimindedir (99).

İlaç öyküsü ayrıntılı bir şekilde sorgulanmalı, şüpheli ilaçlar derhal kesilmelidir (100).

Akut pankreatit; negatif azot dengesine neden olan hiperkatabolik bir durum olduğundan yeterli miktarda nutrisyonel destek verilmelidir (101). Enteral beslenmeye erken geçmenin intestinal bağışıklık sistemini koruyarak bakteriyel translokasyonu önlediği, iskemi-reperfüzyon hasarını düşürdüğü gösterilmiştir (102). Bir çalışmada AP'de enteral beslenmenin total parenteral nutrisyona göre maliyet, hastanede yatış süresi, septik komplikasyonlar ve cerrahi girişim ihtiyacı açısından daha avantajlı olduğu tespit edilmiştir (103). Nazojejunal (NJ) beslenme; klinik çalışmalarda mortalite ve morbidite açısından NG beslenmeye üstünlüğü gösterilememiştir. Ayrıca NG beslenme daha kolay uygulanabilir ve ucuz bir yöntem çeşididir (104). Beslenme rejimlerine selenyum, glutamin ve probiyotikler gibi ilavelerin yararı tartışmalıdır (105).

Steril pankreatik nekroz invaziv girişim gerektirmeden konservatif olarak tedavi edilebilir. Ancak, enfekte PN'nin mortalitesi yüksektir, hızlı tanı ve tedavi gerektirir. Enfekte PN şüphesi varlığında kültür sonuçları elde edilene kadar geniş spektrumlu antibiyotik başlanmalıdır (106).

Erken gelişen psödokistler gibi yaygın peripankreatik sıvı koleksiyonları genişler ya da komplikasyon (enfeksiyon, kanama, biliyer obstrüksiyon, intestinal obstrüksiyon) gelişirse drene edilmeleri gerekebilir (107).

### **3. SERBET OKSİJEN RADİKALLERİ (SOR)**

Dokularda iskemi, postiskemik reperfüzyon, oksijen toksisitesi, radyasyon, kimyasal karsinogenez, çeşitli inflamatuvar reaksiyonlar gibi doku hasarlanmasına neden olan süreçlerde SOR'un önemli mediyatörler olduğu tespit edilmiştir (108-112).

Oksijenin normal hücreler için toksik olabileceği ve doku hasarına yol açabileceği fikri ilk olarak 1878'de düşünülmüştür (113). Günümüzde SOR'un sitotoksik etkileri kanıtlanmıştır. Normal koşullarda, biyolojik sistemlerdeki moleküler oksijenin %95'i mitokondriyal sitokrom oksidaz sisteminde dört elektron daha alarak tetravalan indirgenmeyle suya dönüşür (114). Kalan moleküler oksijen; univalan indirgenmeyle süperoksit anyon ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve yüksek derecede reaktif olan hidroksil radikali ( $OH\cdot$ ) gibi SOR'a dönüşür. Süperoksit anyonu, moleküler oksijene tek bir elektron eklenmesiyle; hidroksil radikali ise süperoksit radikalın hidrojen peroksit ile bazı metal iyonları varlığında reaksiyona girmesi ile oluşur. Hidroksil radikali hücre membranlarında lipid peroksidasyonu reaksiyonlarını başlatabilir. Lipid peroksidasyonunda; poliansatüre yağ asitleri suda eriyebilir maddelere yıkılır, bu da membran bütünlüğünün bozulmasına sebep olur (115). Lizozomal membranların peroksidasyonu ise lizozomal hidrolazlar sitoplazmaya salınır, sonuç hücre ölümüne neden olur (116).

Ayrıca SOR, DNA'da mutasyonlara neden olabilir (117).



### 3.1. ORGANİZMANIN SOR'A KARŞI SAVUNMA MEKANİZMALARI

Vücudumuz kendini SOR'a karşı antioksidan enzimler ile korumaya çalışır. Dokularda SOR'un neden olduğu oksidatif hasara karşı primer savunma sistemini; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz (Gpx) enzimleri oluşturur.

Süperoksit dismutazın bilinen biyolojik etkisi sitotoksik olan süperoksit anyonlarının  $H_2O_2$ 'e ve  $O_2$ 'e katalizlemesidir. Oluşan  $H_2O_2$  de potansiyel sitotoksik bir ajandır. Fakat katalaz ve Gpx gibi intraselüler enzimler, bu bileşiği  $H_2O$ 'ya parçalamaktadır (110,111,118,119). Antioksidan bir enzim olan katalaz;  $H_2O_2$ 'in suya dönüşmesini katalize eder. Gpx ise selenyum içeren sitoplazmik bir enzimdir;  $H_2O_2$ 'in veya organik peroksitlerin suya ve kendine uyan organik alkole dekompozisyonunu katalizler. Dokularda SOR'un sebep olduğu hasara karşı diğer bir savunma sistemi ise; askorbik asit, sistein gibi suda eriyen maddeler ve alfa-tokoferol, beta-karoten gibi yağda eriyen maddelerdir. Bu maddeler antioksidan görevi görürler (120).

### 3.2. AKUT PANKREATİT VE SOR

Deneysel olarak yapılan birçok çalışmada SOR'un AP patojenezinde rol oynadığı, tedavide kullanılan antioksidan ajanların ise AP'ye bağlı oluşan morbidite ve mortaliteyi azalttığı tespit edilmiştir (121,122). Sanfey ve ark. köpeklerde oluşturdukları deneysel AP modelinde; çeşitli yöntemler ile AP'yi indüklemişler ve SOR'u elimine eden antioksidan enzimler (SOD ve katalaz gibi) kullanmışlardır. Deneysel sonucunda kullanılan antioksidan enzimlerin köpek pankreasında AP gelişimine karşı koruma sağladığını tespit etmişler (122).

Guice ark.'nın (123) ratlarda L-Arginin ile oluşturdukları AP modelinde, SOD ve katalazın yararlı etkilerini göstermiş. Bu çalışmada ratlar iki gruba ayrılmış, bir gruba sadece L-Arginin infüzyonu yapılmış, ikinci gruba ise L-Arginin infüzyonunu takiben SOD ve katalaz kombinasyonu uygulanmış, sonuç olarak sadece L-Arginin verilen grup ile karşılaştırıldığında antioksidan verilen ratlarda; pankreas ağırlığında anlamlı azalma ve pankreas histopatolojisinde iyileşme olduğu görülmüş.

SOR, asiner hücreler üzerine direkt toksik etki yapabileceği gibi pankreatik dokuda antioksidanların kaybına neden olarak iskemi-reperfüzyona bağlı asiner hücre hasarına sebep olabilir.

Yine yapılan çalışmalarda hasarlı dokuların reperfüzyonunun; SOR'un ve inflamatuvar sitokinlerin oluşumuna, bunun da dokuda hasara neden olduğu tespit edilmiştir. Schoenberg ve ark.'nın (113) serulein infüzyonu ile oluşturdukları AP modelinde; serulein infüzyonundan 30 dakika sonra pankreas dokusunda malondialdehit (MDA) düzeyinin arttığı; serulein infüzyonu öncesi ve sonrasında uygulanan SOD ve katalaz infüzyonlarının lipid peroksidasyonunu, zimojen degranülasyonunu ve doku nekrozunu önlediği; bununla beraber doku ödemi ve inflamatuvar cevabın etkilenmediği belirtilmiştir.

Dabrowski ark.'nın (124) serulein infüzyonu ile gerçekleştirdikleri AP modelinde ise; serulein infüzyonunun 3. saatinde pankreas dokusunda SOD aktivitesi düşük olarak ölçülürken, MDA aktivitesi yüksek olarak ölçülmüştür. İnfüzyonun 12. saatinde ise SOD aktivitesi ölçülemedi, MDA aktivitesi ise daha da artmış olarak tespit edilmiş.

Bu konuda klinik çalışmalar yeterli olmamakla birlikte şiddetli AP atağı geçiren hastalara antioksidan ajanlar verilerek hastalığın seyri olumlu yöne çevrilebilir (125).

Kuklinski ve ark.'nın (126) klinik çalışmalarında ise; AP'li hastalarda serum MDA düzeyleri yüksek olarak saptanırken, 24 saat içerisinde selenyum tedavisi verilen hastalarda MDA artışının verilmeyenlere göre daha az olduğu tespit edilmiştir.

#### **4. DENEYSEL AKUT PANKREATİT MODELLERİ**

Akut pankreatitin farklı özelliklerini araştırmak için farklı modeller oluşturulmuştur. Mevcut modeller non-invaziv ve invaziv olmak üzere ikiye ayrılır (Tablo 7): (127,128) :

<b>Tablo 7. Akut pankreatit modelleri</b>	
<i>Non-invaziv modeller</i>	<i>İnvaziv modeller</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hormon uyarımlı model</li> <li>• Alkol uyarımlı model</li> <li>• Gen knockout modelleri</li> <li>• Diyet uyarımlı modeller</li> <li>• İmmun aracılıklı modeller</li> <li>• L-Arginin modeli</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kapalı Duodenal Loop Tekniği</li> <li>• Biliopankreatik kanal injeksiyon modeli</li> <li>• Arteriyel obstrüksiyon ve iskemi</li> </ul>

Bizim çalışmamızda kullanılan L-Arginin modelinde ise; temel aminoasitlerin yüksek dozda rat pankreasında hasar oluşturarak akut pankreatit tablosunun gelişmesine neden oldukları deneysel çalışmalar sonucunda tespit edilmiştir. L-Arginin ile oluşturulan deneysel akut pankreatit modeli Mizunuma ve ark. tarafından geliştirilmiştir (129).

L-Arginin'in intraperitoneal enjeksiyonunu takiben peritoneal makrofajların uyarılması ve şiddetli pankreas hasarında makrofaj/monositlerin aktive olmasının görev aldığı ileri sürülmektedir. Czako ve ark. (130) yapmış oldukları deneysel çalışmada; L-Arginin'in intraperitoneal enjeksiyonunu takiben reversible akut nekrotizan pankreatit geliştiğini gösterdiler. L-Arginin enjeksiyonunu takiben serum amilaz seviyesinin yükselmeye başlayarak 24. saatte en üst seviyeye ulaştığı ve de takip eden saatlerde tedrici olarak düşüğü kaydedilmiştir. Kırksekizinci saatte kontrol grubu ile aynı değerlere indiği tespit edilmiş.

Yüksek doz L-Arginin verilmesine sekonder akut nekrotizan pankreatit gelişmektedir. Doz bağımlı olarak asiner hücre nekrozu oluşturması ise bir avantajdır.

Akut pankreatitin erken ve geç fazlarını araştırmak isteyen bir araştırmacı için uygun bir modeldir. Bu model ekstrapankreatik organ hasarı ve mekanizmalarını araştırmak için de kullanışlıdır.

## 5. GEREÇ VE YÖNTEM

### 5.1. ETİK KURUL ONAYI

Bu deneysel çalışmaya başlamak için Pamukkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan (No: PAUHADYEK-2018/14 - Sayı :60758568-020/31901) onay alındı.

### 5.2. PROJE

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Fonu'ndan (Proje No: 2018TIPF026) desteklenmiştir.

### 5.3. ÇALIŞMA YERİ

Deneysel çalışma Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda yapıldı. Histolojik incelemeler Pamukkale Üniversitesi Histoloji Laboratuvarı'nda çalışıldı.

### 5.4. İLAÇLAR

Kurkumin (Curcumin longa tozu 5 gr,  $\geq 65\%$  HPLC, Sigma-Aldrich), kaempferol (Kaempferia galanga 200 gr/paket, 98% min HPLC, CN Lab. Nutrition Asian Group), L-Arginin (Merck-1.01544.02), Dimetil sülfoksit (DMSO) (500 ml sıvı DMSO, Acar Kimya), serum fizyolojik (%0.9 NaCl 1000 ml'lik şişe, Eczacıbaşı-Baxter) kullanıldı.

### 5.5. RATLAR

Ortalama  $175 \pm 35$  gr (140-210 g) ağırlığında, toplam 48 Wistar rat çalışmaya alındı. Gruplar arasında ağırlık yönünden istatistiksel olarak fark yoktu ( $p > 0,05$ ). Ratar Pamukkale Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvar Merkezi'nden sağlandı. Ratar  $24 \pm 2$  °C ısıda, %50 nemli ortamda, fare yetiştirme yemi ve su ile beslenerek 12 saat gündüz 12 saat gece ortamında bekletildi. Ratar rastgele seçilerek 6 gruba ayrılarak çalışma yapıldı. Tüm gruplara sekizer rat alındı. Deneyin 4. günü L-arjinin + Kurkumin + Kaempferol grubundan iki, deneyin 6. günü L-arjinin + Kurkumin grubundan iki rat ex oldu. Bu kayıpların sebebi tam olarak açıklanamadı.

## 5.6. ÇALIŞMA GRUPLARI

1. **Gruptaki (n=8) (Kontrol)** ratlara intraperitoneal olarak (İP) 1 ml/ 100 gr olarak serum fizyolojik (SF) 6 gün süreyle,

2. **Gruptaki (n=8) (L-Arjinin grubu)** ratlara İP olarak 250 mg/ 100 gr L-Arginin 1 saat ara ile iki kez (SF içinde %20 çözelti oluşturacak şekilde -100 ml SF içinde 20 gr L-Arjinin) 6 gün süreyle,

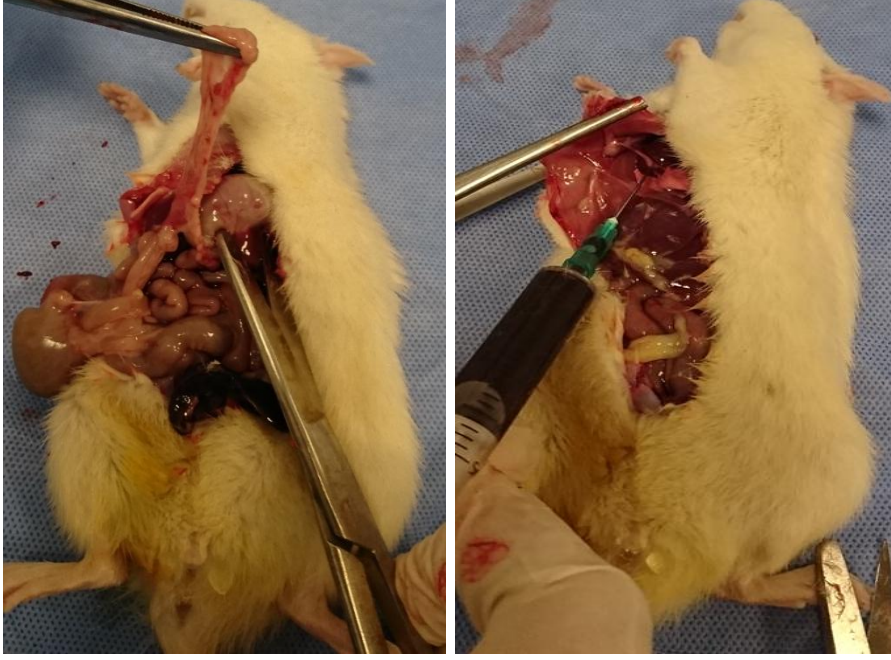
3. **Gruptaki (n=8) (DMSO grubu)** ratlara İP olarak 1 ml/100 gr Dimetil sülfoksit (DMSO) 6 gün süreyle,

4. **Gruptaki (n=8) (L-Arjinin + Kurkumin)** ratlara İP olarak ikinci L-Arginin enjeksiyonundan 1 saat sonra 6 gün boyunca aynı miktarda aynı saatte kurkumin 50 mg/kg (çözücü: 10% (100 mg/ml) Dimetil sülfoksit –DMSO),

5. **Gruptaki (n=8) (L-Arjinin + Kaempferol)** ratlara İP olarak ikinci L-Arginin enjeksiyonundan 1 saat sonra 6 gün boyunca aynı miktarda aynı saatte kaempferol 21 mg/kg (çözücü: 2.4% (100 mg/ml) DMSO),

6. **Gruptaki (n=8) (L-Arjinin + Kurkumin + Kaempferol)** ratlara İP olarak ikinci L-Arginin enjeksiyonundan 1 saat sonra 6 gün boyunca aynı miktarda aynı saatte kurkumin 50 mg/kg (çözücü:10% (100 mg/ml) DMSO) ve kaempferol 21 mg/kg (çözücü: 2.4 % (100 mg/ml) DMSO) uygulandı.

Son antioksidan madde enjeksiyonundan 24 saat sonra sonra 90 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg xylazine HCl anestezisi altında kan (intrakardiyak olarak) ve pankreas örnekleri alındı (Şekil 7). Daha sonra SF ile yıkanan pankreas tam olarak ikiye bölünerek yarısı patolojik olarak incelemek diğer yarısı da biyokimyasal analizler için kullanılmak üzere -80 °C de analizlerin yapılacağı güne kadar saklandı.



Şekil 7. a) Ratlardan pankreas dokusunun elde edilmesi. b) Ratlardan intrakardiyak kan alımı.

## **5.7. BİYOKİMYASAL VE HİSTOLOJİK İNCELEMELER**

### **5.7.1. Biyokimyasal Analizler**

Kan örnekleri intrakardiyak olarak alındı, kuru steril santrifüj tüplerine koyuldu, 30 dakika oda sıcaklığında pıhtılaşmaya bırakıldı, daha sonra yüksek hızda santrifüj ile 5000g' de 10 dakika santrifüje tabi tutuldu.

Serum örnekleri kuru temiz Pastör pipet ile ayrıldı. Numuneler eppendorf tüplere bölündü ve serum biyomarker seviyeleri analiz edilinceye kadar -80 °C'de donduruldu.

Çalışma gününde alınan kanların serumlarında amilaz ve lipaz düzeylerine Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda çalışıldı.

Amilaz ve lipaz düzeyleri otoanalizörlerde (Cobas C 702 Roche Diagnostics für Gesundheitsmischer) elektrokemilüminesan yöntemiyle çalışıldı. İnternasyonal ünite/mililitre (IU/ml) olarak ifade edildi.

### **5.7.2. Dokulardan MDA ve Katalaz Tayini**

Malondialdehit ve katalaz tayini için oda ısısına getirilen pankreas dokusu hassas terazide tartılmasının ardından deney tüpüne alındı. Deney tüpüne ağırlığı ile orantılı olarak  $ph=7,4$ 'te fosfat tamponu (PBS) konularak mikrotom cihazı ile homojenize edildi. Homojenizasyonun ardından eppendorf tüpüne alınan karışım 3000 devirde 20 dakika santrifüje edildi. Oluşan süpernatandan sandviç prensibine bağlı immün ölçüm yöntemi ile YL Biont (Shangai YL Biotech Co., Ltd, China) ticari kitleri kullanılarak MDA düzeyleri analiz edildi. Yöntemin çalışma içi CV < 8% ve çalışmalar arası CV< 10% idi. Aynı süpernatant ile doku katalaz düzeyi sandviç prensibine bağlı immün ölçüm yöntemi ile YL Biont (Shangai YL Biotech Co., Ltd, China) ticari kitleri kullanılarak saptandı. Yöntemin çalışma içi CV < 10% ve çalışmalar arası CV< 12% idi.

### **5.7.3. Serumdan SOD, TNF- $\alpha$ ve IL-6 tayini**

Anestezi altında intrakardiyak olarak alınan kan örnekleri 5 ml jelli tüplere konuldu. On dakika 3500 devirde santrifüjle serum elde edilerek -80 derecede çalışma gününe kadar saklandı. Çalışma günü oda sıcaklığına getirilen serumlardan TNF- $\alpha$  ve IL-6 tayini sandviç prensibine bağlı immün ölçüm yöntemi ile YL Biont (Shangai YL Biotech Co., Ltd, China) ticari kitleri kullanılarak analiz edildi. Her iki yöntem için çalışma içi ve çalışmalar arası CV değerleri sırası ile CV<8% ve CV<10% idi. Süperoksit dismutaz enzim tayini ise Cayman Chemical (Item no: 706002, Ann Arbor, Michigan 48108 USA) ticari kitleri ile enzimatik yöntem ile çalışılarak spektrofotometrik olarak tayin edildi.

### **5.7.4. Histopatolojik İnceleme**

Histopatolojik inceleme için gönderilen materyaller 24 saat %10'luk nötral tamponlu formalinde tespit edildi. Rutin doku işlemi sonrası parafin bloklara gömülen örneklerden 4 $\mu$ m kalınlığında kesitler alındı. Kesitler Hematoksilen-Eosin ile boyanarak ışık mikroskopunda Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı'nda incelendi. İncelemede pankreas dokusunda ödem, inflamasyon ve nekroz uygun skorlama sistemlerine göre değerlendirildi (131). Tablo 8'de skorlama sistemi görülmektedir.

İmmunhistokimyasal boyama Avidin-Biyotin kompleks sistemi (ABC) kullanılarak yapıldı. Bu yöntem için bloklardan hazırlanan 4µm kalınlığındaki kesitler poli-L-lysin (MicroSlides Snowcoat X-tra, Surgipath, Richmond, IL, USA) kaplı lamlara alınarak oda ısısında bekletildi. Tüm örnekler NF-κB immunhistokimyasal boyası uygulandı.

<b>Tablo 8. Akut pankreatitte histolojik skorlama</b>		
<b>Parametre</b>	<b>Skor</b>	<b>Bulgu</b>
<i>Ödem</i>	0	Yok
	1	Lobüller arasında fokal artış
	2	Lobüller arasında diffüz artış
	3	Asini harabiyeti ve ayrılması
<i>İnflamatuvar hücre infiltrasyonu</i>	0	Yok
	1	Nadir ve ya duktal kanalların çevresinde
	2	Parankim içinde (lobüllerin <%50'si)
	3	Parankim içinde (lobüllerin >%50'si)
<i>Nekroz</i>	0	Yok
	1	Mimari değişiklikler, piknotik nükleus
	2	Fokal nekroz (parankimin <%10'unda)
	3	Diffüz nekroz (parankimin >%10'unda)

#### **5.7.5. Doku takibi, hematoksilen eosin ve immunhistokimyasal boyama**

##### **5.7.5.1. Doku takibi ve hematoksilen eosin**

Alınan dokular formaldehitde 72 saat bekletildi. Akar suda 30 dakika yıkandı. %70'lik etil alkolde 1 saat bekletildi. %80'lik etil alkolde 1 saat bekletildi. %90'lık etil alkolde 1 saat bekletildi. %100'lük etil alkolde 1 saat bekletildi. Ardından ksilende 2 saat bekletildi. Parafinde 2 saat bekletildi. Dokulara parafinle gömme ve etiketlenme işlemi yapıldı.

Doku takip yöntemi tamamlanan doku bloklarından, mikrotom cihazıyla 5 µm'lik kesitler alınıp, kesitler benmariye bırakıldı. Ardından uygulanan protokol sırası aşağıdaki gibidir:



- 1) Kesitler, benmariden lamlara alınıp lam taşıma sepetine yerleştirildi.
- 2) Lam taşıma sepeti etüvde 60 °C’de bir gece bekletildi.
- 3) Ksilen solüsyonunda 60 dakika şeffaflaştırma amacı ile bekletildi.
- 4) Kesitler sırasıyla %100, %96, %80 ve %70 etil alkolde 10’ar dakika bekletildi.
- 5) Alkolden çıkarılan preparatlar distile su ile yıkandı.
- 6) Preparatların hematoksilene 3 dakika maruz kalması sağlandı.
- 7) Ardından akarsu ile yıkama yapıldı. Sonra asit -alkole batırıp çıkartıldı.
- 8) Amonyak ile 2 saniye işleme tabi tutuldu ve tekrar akarsu ile yıkama yapıldı.
- 9) Eozine 10 saniye maruz kalması sağlandı.
- 10) Kesitler sırasıyla %70, %80, %96 ve %100 etil alkolde 10’ar dakika bekletildi.
- 11) Alkolden çıkarılan preparatlar ksilende 10 dakika bekletildi.
- 12) Kapatma işlemi: Ksilenden alınan lamlar üzerine entellan damlatıldı. Hava kabarcığı bırakılmayacak şekilde lamellerle kapatılarak ışık mikroskobunda incelenmeye hazır hale getirildi.

#### **5.7.5.2. İmmünohistokimyasal boyama**

Doku takip yöntemi tamamlanan doku bloklarından, mikrotom cihazıyla 5 µm’lik kesitler alınıp, kesitler benmariye bırakıldı. Ardından uygulanan protokol sırası aşağıdaki gibidir:

- 1) Kesitler, benmariden lamlara alınıp lam taşıma sepetine yerleştirildi.
- 2) Lam taşıma sepeti etüvde 60 °C’de 1 gece bekletildi.
- 3) Ksilende, deparafinizasyon işlemi için 1 saat bekletildi.
- 4) Ksilenden çıkarılıp havada kurutulularak PAP pen ile dokular işaretlendi.
- 5) Kesitler sırasıyla %100, %96, %80, %70, %50’lik etil alkol serilerinde 2’şer dakika bekletildi.
- 6) Alkolden çıkan preparatlar distile su ile 3 kez 5 dakika süreyle yıkandı. Preparatlar antijen retrieval işlemi için önceden hazırlanmış ve sodyum sitrat buffer solüsyonuna (10 mM Sodium citrate, 0,05% Tween 20, pH 6.0) daldırıldı ve en yüksek dalga boyunda (800 W) kaynamaya bırakıldı, kaynama başladıktan 20 dakika sonra mikrodalga kapatıldı. Ve soğuduktan sonra 10 dakika PBS’de bırakıldı.

- 7) Dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesi, % 30'luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Metanol (1: 9) karışımı ile 10 dakikalık uygulamayla ortadan kaldırıldı.
- 8) PBS ile yıkanan kesitler, üzerlerine ilave edilen serum bloklama solüsyonu ile 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
- 9) Kesitler üzerine uygun primer antikorlar ilave edilerek 1 gece overnight yapıldı. Primer antikor NFκB olarak kullanıldı. Primer antikor PBS ile dilüe edildi.
- 10) Kesitler, PBS ile yıkandıktan sonra primer antikorlarla reaksiyon veren, biotinlenmiş afiniteye sahip sekonder antikorlarla 20 dakika muamele edildi.
- 11) Tekrar PBS ile yıkanması yapılan kesitlere, biotinlenmiş-sekonder antikorlara kolayca bağlanabilen horse radish peroksidaz konjugatı streptavidin (HRP-SA) 10 dakika kadar muamele edildi.
- 12) Kesitler son kez PBS ile yıkandıktan sonra kromojen boyası DAB ile 3-10 dakika kadar muamele edildi.
- 13) Antijenin lokalizasyonunun daha iyi gözlenmesi için kesitlere hematoksilin ile zıt boyama yapıldı.
- 14) Kesitler akan suda yıkanır ve sırasıyla %50, %70, %80, %96, %100'lük etil alkol serilerinde 2'şer dakika bekletildi.
- 15) Alkol serilerinden çıkan dokular ksilen I ve ksilen II'de 2'şer dakika bekletildi.
- 16) Ksilenden alınan dokuların üzeri kuruması beklenilmeden entellan ile kapatıldı.

Pozitif kontrol için önceden pozitifliği bilinen dokular kullanıldı. Boyanma aşamasında sonra kesitler ışık mikroskobu (Olympus BX51, Tokyo, Japan) altında 4, 10, 20 ve 40'lük büyütmelerde incelendi ve boyanma yok "0", zayıf boyanma "+", orta dereceli boyanma "++" ve kuvvetli boyanma "+++" olarak semikantitatif olarak skorlandı.

## 6. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

Veriler SPSS 24.0 paket programıyla analiz edildi. Sürekli değişkenler ortalama  $\pm$  standart sapma, medyan (minimum ve maksimum değerler) ve kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Parametrik test varsayımları sağlandığında bağımsız grup farklılıklarının karşılaştırılmasında Tek Yönlü Varyans Analizi (ikili incelemeler için Tukey testi), parametrik test varsayımları sağlanmadığında ise bağımsız grup farklılıklarının karşılaştırılmasında Kruskal Wallis Varyans Analizi (ikili incelemeler için Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U testi) kullanıldı. Tüm analizlerde  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 7. BULGULAR

### 7.1. PANKREAS DOKUSU VE SERUMDAKİ BİYOKİMYASAL İNCELEMELER

Tüm gruplarda SOD düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p=0,169$ ). Ancak SOD düzeyleri L-Arjinin + Kurkumin + Kaempferol grubunda diğer gruplara göre klinik olarak yüksekti ( $p > 0,05$ ). Yine SOD düzeyi L-Arjinin grubunda kontrol ve diğer gruplara göre klinik olarak düşüktü ( $p > 0,05$ ).

Katalaz düzeylerinde kontrol grubu ile L-Arjinin + Kurkumin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi ( $p=0,019$ ), diğer gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadı. En yüksek katalaz düzeyi kontrol grubundaydı. Ayrıca L-Arjinin + Kaempferol ile L-Arjinin + Kurkumin + Kaempferol gruplarındaki katalaz düzeyi L-Arjinin grubundan yüksek tespit edildi ( $p > 0,05$ ).

MDA değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel anlamlılık tespit edilmedi ( $p=0,132$ ). Fakat en düşük MDA düzeyi L-Arjinin + Kurkumin + Kaempferol grubunda bulundu. En yüksek MDA düzeyi L-Arjinin grubundaydı.

TNF- $\alpha$  düzeyleri kontrol grubu ve L-Arjinin ile diğer gruplar arasında karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmadı ( $p=0,481$ ). Yine de en yüksek değer L-Arjinin grubunda tespit edildi.

IL-6 değerleri gruplar karşılaştırıldığında arasında istatistiksel anlamlılık bulunmadı ( $p=0,422$ ).

### 7.1.1. Pankreatik Enzimler

Amilaz ve lipaz düzeyleri tüm gruplar arasında karşılaştırıldığında anlamlılık tespit edilmedi (sırasıyla p değerleri: 0,722 - 0,093).

Doku ve serumda çalışılan biyokimyasal parametrelerin gruplar arasındaki karşılaştırması Tablo 9'da verilmiştir.

<b>Tablo 9. Biyokimyasal parametreler</b>							
	<b>SOD</b> (A.O $\pm$ S.S)	<b>Katalaz</b>	<b>MDA</b>	<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	<b>IL-6</b>	<b>Amilaz</b>	<b>Lipaz</b>
<b>Grup 1</b> (n=8)	0,5 $\pm$ 0,6	9,49 $\pm$ 1,77	0,31 $\pm$ 0,12	64,81 $\pm$ 4,55	2,58 $\pm$ 0,34	1618,25 $\pm$ 160,3	4,03 $\pm$ 1,63
<b>Grup 2</b> (n=8)	0,2 <sup>b</sup> $\pm$ 0,43	7,67 $\pm$ 0,99	0,39 <sup>c</sup> $\pm$ 0,04	70,3 <sup>d</sup> $\pm$ 9,86	2,42 $\pm$ 0,15	1685,63 $\pm$ 286,83	4,33 $\pm$ 0,34
<b>Grup 3</b> (n=8)	0,48 $\pm$ 0,08	7,32 $\pm$ 1,11	0,37 $\pm$ 0,12	63,18 $\pm$ 4,07	2,46 $\pm$ 0,35	1779 $\pm$ 418,1	5,28 $\pm$ 0,85
<b>Grup 4</b> (n=6)	0,41 $\pm$ 0,16	7,09 <sup>a</sup> $\pm$ 0,99	0,33 $\pm$ 0,06	65,47 $\pm$ 7,36	2,44 $\pm$ 0,26	1518,5 $\pm$ 235,38	4,52 $\pm$ 0,55
<b>Grup 5</b> (n=8)	0,41 $\pm$ 0,32	8,46 $\pm$ 1,17	0,34 $\pm$ 0,07	64,74 $\pm$ 6,8	2,55 $\pm$ 0,1	1588,88 $\pm$ 339,15	4,61 $\pm$ 0,2
<b>Grup 6</b> (n=6)	0,74 $\pm$ 0,56	7,93 $\pm$ 0,74	0,28 $\pm$ 0,03	64,47 $\pm$ 9,69	2,67 $\pm$ 0,2	1659,33 $\pm$ 383,65	4,13 $\pm$ 0,69
Gruplar arası 'p'	0,169	0,019 <sup>a</sup> (Grup 1-4)	0,132	0,481	0,422	0,722	0,093

\*\*\* Grup 1: Kontrol, Grup 2: L-Arjinin, Grup 3: DMSO, Grup 4: L-Arjinin + Kurkumin, Grup 5: L-Arjinin + Kaempferol, Grup 6: L-Arjinin + Kurkumin + Kaempferol

\*\*\*A.O:Aritmetik Ortalama, S.S: Standart Sapma

\*\*\* a: Grup 4 < grup 1 ( $p<0,05$ )

c: Grup 2 > grup 1,3,4,5,6 ( $p>0,05$ )

b: Grup 2 < grup 1,3,4,5,6 ( $p>0,05$ )

d: Grup 2 > grup 1,3,4,5,6 ( $p>0,05$ )

## 7.2. PANKREAS DOKUSUNDAKİ HİSTOPATOLOJİK İNCELEMELER

Kontrol grubundaki ödem skoru L-Arjinin ve L-Arjinin + Kurkumin + Kaempferol grubundakine göre istatistiksel olarak daha düşük tespit edildi ( $p<0,05$ ). Diğer gruplar arasında ödem bakımından aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. L-Arjinin grubundaki ödem skoru klinik olarak L-Arjinin + Kurkumin, L-Arjinin + Kaempferol ve L-Arjinin + Kurkumin + Kaempferol gruplarından daha yüksek bulundu ( $p>0,05$ ).

Kontrol grubundaki inflamasyon skoru L-Arjinin grubundan daha düşük, L-Arjinin grubundaki inflamasyon skoru L-Arjinin + Kaempferol ve L-Arjinin + Kurkumin + Kaempferol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek tespit edildi ( $p<0,05$ ).

Kontrol grubundaki nekroz skoru L-Arjinin ve L-Arjinin + Kurkumin + Kaempferol grubundakinden daha düşük tespit edildi ( $p<0,05$ ). Yine DMSO grubundaki nekroz skorlaması L-Arjinin grubundakinden istatistiksel olarak daha düşük bulundu ( $p<0,05$ ). Klinik olarak L-Arjinin grubundaki nekroz skoru L-Arjinin + Kurkumin, L-Arjinin + Kaempferol ve L-Arjinin + Kurkumin + Kaempferol gruplarına göre daha yüksek hesaplandı ( $p>0,05$ ).

L-Arjinin grubundaki NF- $\kappa$ B boyanma skoru kontrol ve DMSO grubuna göre belirgin olarak daha yüksekti ( $p<0,05$ ). Kontrol grubundaki skor L-Arjinin + Kurkumin grubuna göre istatistiksel olarak daha düşüktü ( $p<0,05$ ). Klinik olarak L-Arjinin grubundaki NF- $\kappa$ B boyanma skoru L-Arjinin + Kurkumin, L-Arjinin + Kaempferol ve L-Arjinin + Kurkumin + Kaempferol gruplarına göre daha yüksek hesaplandı ( $p>0,05$ ).

Pankreas dokularında incelenen histolojik parametrelerin gruplar arasındaki karşılaştırması (Tablo 10) aşağıdadır:

<b>Tablo 10. Histolojik parametreler</b>				
	<b>Ödem</b> (A.O ±S.S)	<b>İnflamasyon</b>	<b>Nekroz</b>	<b>NF-κB</b>
<b>Grup 1</b> (n=8)	0,38 <sup>a</sup> ± 0,52	0,75 ± 0,46	0,5 ± 0,53	0,25 ± 0,46
<b>Grup 2</b> (n=8)	2,5 ± 0,53	2,88 <sup>b</sup> ± 0,35	2,88 <sup>c</sup> ± 0,35	2,75 <sup>e</sup> ± 0,46
<b>Grup 3</b> (n=8)	1,38 ± 0,52	1,5 ± 0,76	1,25 ± 1,04	0,38 ± 0,52
<b>Grup 4</b> (n=6)	1,33 ± 0,52	1,83 ± 0,75	1,67 ± 0,52	1,67 <sup>f</sup> ± 0,52
<b>Grup 5</b> (n=8)	1,38 ± 0,52	1,4 ± 0,53	1,63 ± 0,92	1,25 ± 0,46
<b>Grup 6</b> (n=6)	2 ± 0,63	1,17 ± 0,41	2,33 <sup>d</sup> ± 0,52	1,33 ± 0,52
<b>Gruplar Arası 'p'</b>	0.0001 <sup>a</sup> (Grup 1-2,1-6)	0.0001 <sup>b</sup> (2-1, 2-5, 2-6)	0.0001 <sup>c-d</sup> (2-1, 2-3, 1-6)	0.0001 <sup>e-f</sup> (1-2 ,3-2,1-4)

\*\*\* Grup 1: Kontrol, Grup 2: L-Arjinin, Grup 3: DMSO, Grup 4: L-Arjinin + Kurkumin, Grup 5: L-Arjinin + Kaempferol, Grup 6: L-Arjinin + Kurkumin + Kaempferol

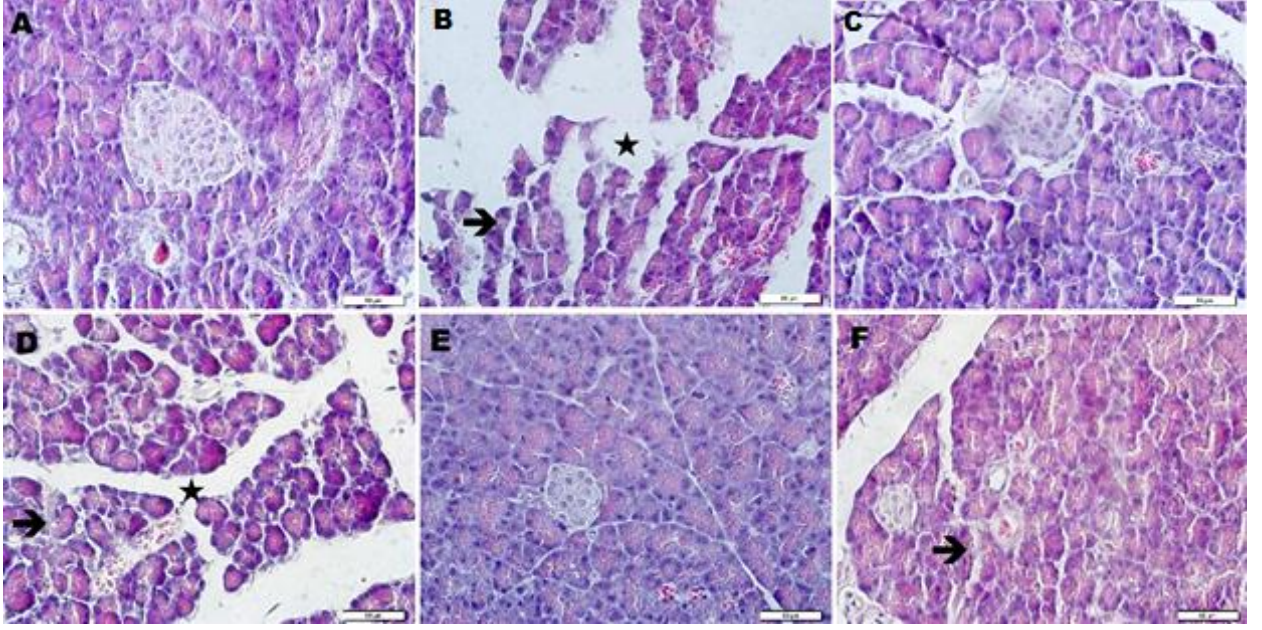
\*\*\* A.O:Aritmetik Ortalama, S.S: Standart Sapma

\*\*\* a:Grup 1 < grup 2 ve 6 (p<0,05)  
b:Grup 2 > grup 1,5 ve 6 (p<0,05)  
c:Grup 2 > grup 1 ve 3 (p<0,05)

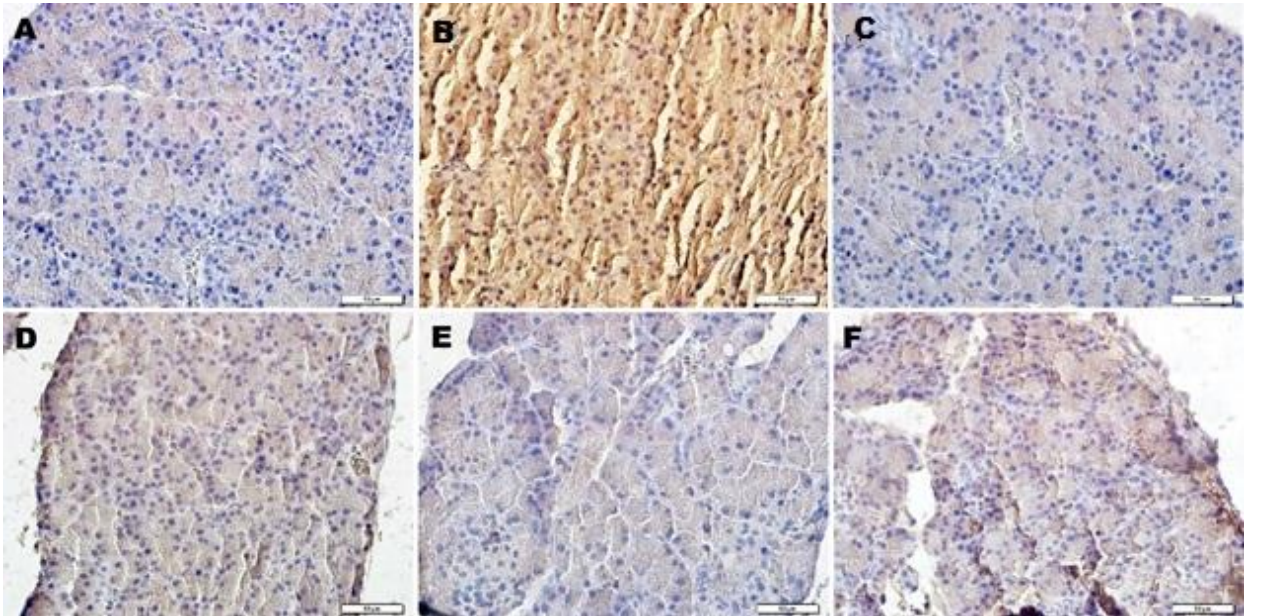
d: Grup 6 > grup 1 (p<0,05)  
e: Grup 2 >grup 1 ve 3 (p<0,05)  
f: Grup 4 > grup 1 (p<0,05)

Hematoksilen-Eosin ile boyanan histoloji preparatları 400X büyütmede incelendi. Birinci ve 3. grupta pankreas normal görünümde izlendi, 2. grupta doku bütünlüğünün kaybolduğu, hücrelerin birbirleriyle bağlantısının azaldığı ve hücrelerde dejenerasyonun oldukça fazla olduğu gözlemlendi, 4. ve 6. grupta yapının biraz korunduğu ve dejeneratif hücrelerde azalma olduğu dikkati çekti, 5. grupta dejeneratif değişiklikler izlenmekle beraber bunların oldukça az olduğu ve doku bütünlüğünün korunduğu tespit edildi (Şekil 8).

İmmunoperoksidaz boyama ile pankreas dokusunda NF-κB ekspresyonu en yoğun 2. grupta izlendi. Ekspresyon asinar hücrelerde sitoplazmik olup çekirdekte reaksiyon gözlenmemiştir (Şekil 9).



Şekil 10. Hematoksilen- Eosin Boyama. A; 1. grup, B; 2. grup, C; 3 grup, D; 4.grup, E; 5. grup, F; 6. grup. Bar; 50µm, X400. Ok: Bütünlüğün kaybolduğu alanlar. Yıldız: Asinar hücre dejenerasyonu. Birinci ve 3. grupta pankreas normal görünümde izlendi, 2. grupta doku bütünlüğünün kaybolduğu hücrelerin birbirleriyle bağlantısının azaldığı ve hücrelerde dejenerasyonun oldukça fazla olduğu gözlemlendi, 4. ve 6. grupta yapının biraz korunduğu dejeneratif hücrelerde azalma olduğu dikkati çekti, 5. grupta dejeneratif değişiklikler izlenmekle beraber bunların oldukça az olduğu ve doku bütünlüğünün korunduğu gözlemlendi.



Şekil 11. İmmunoperoxidase Boyama. A; 1. grup, B; 2. grup, C; 3 grup, D; 4.grup, E; 5. grup, F; 6. grup. Bar; 50µm, X400. Pankreas dokusunda NF-κB ekspresyonu en yoğun 2. grupta izlendi. Ekspresyon asinar hücrelerde sitoplazmik olup çekirdekte reaksiyon gözlenmedi.

## 8. TARTIŞMA

Akut Pankreatit (AP), klinik olarak ani başlayan özellikle epigastrik bölgede karın ağrısı ile birlikte serumda ve/veya idrarda pankreas enzimlerinin referans aralığının üst sınırının en az üç kat yükselmesi ile karakterize ve pankreasta radyolojik değişikliklerin saptandığı bir hastalıktır (20).

Akut pankreatit, asiner hücrelerde tripsinojenin aktifleşerek tripsine dönüşmesi ile başlar ve devamında pankreasta değişen oranlarda ödem, hemoraji ve nekroz meydana gelir.

Asiner hücre hasarı sonucunda pankreatik ödem ve nekroz gelişir, sistemik inflamatuvar yanıt şiddetlenir, iskemi-reperfüzyon hasarı ve SOR üretimi meydana gelir. SOR direkt asiner hücre hasarına neden olur, apoptozu artırır, proteaz inhibitörlerini inaktive eder ve sitokinleri, selektinleri ve adhezyon moleküllerini kapsayan birçok proinflamatuvar mediyatörün gen ekspresyonunu düzenleyen NF- $\kappa$ B aktive eder (28,29).

AP'deki inflamatuvar yanıtta anahtar rol oynayan sitokinler IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18 ve TNF- $\alpha$ 'dır (24,25).

Pankreatit patolojisinde çeşitli SOR ve inflamatuvar sitokinler görev almaktadır. Sistemik dolaşımında inflamatuvar sitokinlerin artışı böbrek ve akciğer gibi diğer organları da etkileyerek hipovolemi, şok ve Çoklu organ yetmezliği sendromu'na (ÇOYS) neden olmakta ve mortaliteyi arttırabilmektedir (21-25).

Intraperitoneal olarak L-Arginin enjeksiyonu sonrası peritoneal makrofajların uyarılması şiddetli pankreas hasarında görev aldığı düşünülmektedir. Bir çalışmada; L-Arginin'in intraperitoneal enjeksiyonunu takiben geriye dönüşlü akut nekrotizan pankreatit geliştiği gösterilmiş (130). Serum amilaz seviyesinin L-Arginin enjeksiyonunu takiben yükselmeye başlayarak 24. saatte en tepe noktaya ulaştığı ve takip eden saatlerde düştüğü kaydedilmiştir.



Biz de çalışmamızda kullandığımız antioksidan maddelere karşı oksidatif stres ve sitokin düzeylerini değerlendirmek istediğimiz için bu akut pankreatit modelini seçtik.

Serbest radikal; atomik ya da moleküler yapılarda ki çiftlenmemiş tek elektron bölümleridir. Diğer moleküllerle kolayca elektron alışverişine giren bu yapılara "oksidan moleküller" veya "reaktif oksijen partikülleri (ROP)" de denilmektedir (132). Doymamış yağ asitlerinin alil grubundan bir hidrojen çıkarsa lipid radikali oluşur. Bu lipid radikali oksijen ile reaksiyona girer ve lipid peroksi radikalini meydana getirir. Lipid peroksi radikali diğer lipidlerle zincir reaksiyonu başlatır ve lipid hidroperoksitler ortaya çıkar. Ortamda bulunan demir ve bakır iyonları lipid peroksidasyonuna ivme kazandırır (133).

Lipid radikalleri yüksek derecede sitotoksik ürünlere de dönüşebilir. Bunlar arasında en çok tanınan aldehid grubundan MDA'tir. Oksijen türleri membran lipidlerinde etkili bir şekilde peroksidasyon işlemini başlatırlar. Lipid peroksidasyon belirteci olan MDA 30 dk. sonra belirlenebilen önemli bir artış oluşturur ve bu 16 saate kadar devam eder (134).

Deneysel olarak kanıtlanmış katalaz, SOD ve Gpx gibi enzimler ile hücre içi total GSH, serbest oksijen radikallerinin hücrelere ve hücrelerin membranlarına verdikleri zararlardan korumaktadırlar (135).

Aynı zamanda, glutatyon tiyollerinde (GSH) belirgin bir azalma meydana gelir (136,137). Schonberg ve arkadaşları sodyum-taurokolat ile indüklenen hemorajik pankreatitte peroksidasyon ürünlerini ve MDA'ı tespit etmişler. Doku MDA düzeyleri yükselmiş ve 1 saat sonra en yüksek düzeyine ulaşmış. İki saat sonra lipid peroksitler kontrol düzeylerine geri dönmüş. Çalışmamızda dokuda MDA düzeylerine baktığımızda gruplar arasında istatistiksel farklılık yoktu ( $p>0,05$ ) ancak en düşük MDA düzeyi L-Arjinin + Kurkumin + Kaempferol grubunda bulundu ve en yüksek MDA düzeyi L-Arjinin grubundaydı. Kurkumin ve kaempferolün kombine etkisi MDA seviyesini düşürmüş olabilir.

Katalaz, hem katalitik hem de peroksidatik etkiye sahip olup iki molekül hidrojen peroksidin iki molekül su ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlamaktadır. Karaciğer, eritrosit, böbrek ve yağ dokusunda yüksek aktivitede iken kalp ve beyin dokusunda aktivitesi düşüktür. Kalpteki katalaz aktivitesi; karaciğerdeki aktivitenin ancak %2'sidir (133).

SOD, süperoksid anyonunun hidrojen peroksid ve oksijene dismutasyonun katalizler. SOD normal şartlarda aerobik organizmaların yaşamı için koruyucu bir enzimdir. Zn, Cu gibi metaller SOD aktivasyonu ve hidroksil radikalleri arasındaki ilişkilerde önemli bir role sahiptir (135).

Kurkumin çeşitli çalışmalarda antioksidan, antiinflamatuvar bir madde olarak kullanılmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır. Yu WG ve arkadaşlarınınca yapılan bir çalışmada altı gün boyunca ratlara 50 mg/kg kurkumin intraperitoneal uygulama sonrası serulein ile akut pankreatit oluşturulmuş, profilaktik tedavi verilen grupta TNF- $\alpha$  düzeyi düşük tespit edilmiştir (138).

Akut pankreatit modelimizde de en yüksek TNF- $\alpha$  değeri L-Arjinin grubunda tespit edildi ve istatistiksel olarak anlamlı olmasada kurkumin verilen grupta daha düşüktü ( $p>0,05$ ).

Zhang ve arkadaşlarının Ocak 2019 yılında yayınlanan bir çalışmasında (139) ratların dizlerinde iyodoasetat ile osteoartrit modeli oluşturmuşlar, kurkumin verilen ile verilmeyen osteoartrit grupları karşılaştırıldığında kurkumin alan grupta TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 ve NF- $\kappa$ B düzeyleri anlamlı şekilde düşükmüş. Nekrozitan pankreatit modelimizde de kurkumin alan gruba göre L-Arjinin verilen grupta TNF- $\alpha$  düzeyi daha yüksekti, IL-6 seviyesinde gruplar arasında böyle bir ilişki tespit edilemedi ( $p>0,05$ ). Dokuda NF- $\kappa$ B boyanması ise L-Arjinin grubunda en fazlaydı.

Abbas Heidai-Moghadam ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ratlara 7 gün boyunca 200 mg/kg kurkumin verilmiş ardından çinko oksit ile nefrotoksisite oluşturulmuş. Kurkumin profilaksisi verilen grupta MDA düzeyi

düşük, SOD ve glutatyon peroksidaz düzeyi yüksek tespit edilmiş. Histolojik olarak kontrol grubu ile kurkumin grubunda böbrek dokusu normal görünümdeymiş, çinko oksit uygulaması böbrekte inflamatuvar hücre artışına sebep olmuş, kurkumin verilen çinko oksit uygulanmış ratlarda histolojik düzelme görülmüş (140). Çalışmamızda da sadece L-Arjinin verilen grupta histolojik olarak doku bütünlüğünün kaybolduğu ve hücrelerde dejenerasyonun oldukça fazla olduğu tespit edildi. L-Arjinin + Kurkumin ile L-Arjinin + Kurkumin + Kaempferol uygulanan gruplarda yapının minimal korunduğu ve dejeneratif hücrelerde azalma olduğu dikkati çekti, L-Arjinin + Kaempferol grubunda ise dejeneratif değişiklikler izlenmekle beraber bunların oldukça az olduğu ve doku bütünlüğünün korunduğu görüldü.

Long Wang ve arkadaşları tarafından altı hafta boyunca yüksek yağlı diyet verilen ratlarda oluşturulan yağlı hepatite 50 mg/kg kurkumin uygulanmış, kurkumin verilen grupta MDA düzeyi anlamlı düşük tespit edilmiş. Histolojik olarak kurkumin ile tedavi verilen grupta mitokondri yapısı korunmuş (141).

Çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlılık olmasada L-Arjinin grubundan diğer kurkumin verilen üç grubun klinik olarak SOD düzeyleri daha yüksek, TNF- $\alpha$  düzeyleri daha düşük tespit edildi, bunun sebebi hayvan deneyi olması nedeniyle anlamlılık sağlayacak kadar rat üzerinde çalışılmamış olması olabilir. Modelimizde histolojik olarak kontrol grubundaki inflamasyon skoru L-Arjinin grubundan daha düşük, L-Arjinin grubundaki inflamasyon skoru L-Arjinin + Kaempferol ve L-Arjinin + Kurkumin + Kaempferol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulundu.

Bir başka çalışmada Chakraborty ve ark., siklofosfamid ile indüklenmiş miyokardite kurkumin ile başka bir antioksidan madde olan piperini kombine uygulamışlar ve tek başına kurkumin uygulanmış gruba göre kombine tedavi verilen grupta SOD ve katalaz düzeyi anlamlı düzeyde yüksekmış (142). L-Arjinin ile indüklediğimiz akut pankreatit modelimizde kurkumin ile kaempferölü birlikte vererek daha yüksek antioksidan ve antienflamatuvar etki elde etmeyi amaçladık.

Çalışmamızda L-Arjinin + Kurkumin grubuna göre kombine tedavi verilen L-Arjinin + Kurkumin + Kaempferol grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmasada SOD ve katalaz düzeyleri klinik olarak daha yüksek tespit edilmiştir.

Kaempferol de bir çok çalışmada kanıtlanmış antioksidan, antiinflamatuvar ve antibakteriyel özellikleri bulunan bir flavanoddir. Anamika Vishwakarma ve arkadaşlarınca iki gün boyunca cilt altına uygulanan izoprenalin ile ratlarda oluşturulan miyokardit öncesinde yedi gün boyunca kaempferol intraperitoneal çeşitli dozlarda farklı gruplara verilmiş. Kaempferol verilen, verilmeyen grup ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak SOD ve katalaz daha yüksek, MDA düzeyi daha düşük tespit edilmiş, TNF- $\alpha$  düzeylerinde gruplar arasında fark tespit edilememiş. Doku düzeyinde ise izoprenalin verildikten sonra kalp miyositleri arasında şiddetli mononükleer hücre birikimi gözlenmiş, öncesinde kaempferol verilen grupta yangısal hücre toplanması belirgin düzeyde daha düşükmüş (143).

Çalışmamızda TNF- $\alpha$  düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı olmasada L-Arjinin grubundan L-Arjinin + Kurkumin, L-Arjinin + Kaempferol ve L-Arjinin + Kurkumin + Kaempferol gruplarında daha düşük tespit edilmiştir. İlginç olarak tüm gruplar arasında IL-6 düzeylerinde istatistiksel anlamlı bir fark olmaması yanında L-Arjinin grubunda L-Arjinin + Kaempferol, L-Arjinin + Kurkumin + Kaempferol grubuna göre klinik olarak daha düşük bulunmuştur, bu durum açıklanamamıştır. Akut pankreatit modelimizde L-Arjinin verilen grupta dokuda yangısal hücrelerdeki artış kaempferol ve kurkumin verilen gruba göre istatistiksel olarak daha fazla idi.

Zhuang ve ark. tarafından IL-1 $\beta$  ile ratlarda osteoartrit modeli oluşturulmuş ve ardından kaempferol uygulanmış. Tedavi NF- $\kappa$ B sinyal yolağını inhibe ederek IL-1 $\beta$  ile uyarılmış proinflamatuvar mediatörlerde önemli ölçüde azalma sağlamış (144).

Bir başka çalışmada Hu ve ark., %5 sodyum taurokolatı ratlara duodenal papilladan biliopankreatik kanala enjekte ederek akut pankreatit oluşturmuşlar, ardından kuyruk veninden kalsitonin gen ilişkili peptit verilerek antioksidan, oksidan

enzimlere, inflamatuvar sitokinlere ve oksidatif stres belirteçlerine bakılmış. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında inflamatuvar sitokinlerden TNF- $\alpha$ , IL-6 düzeyi tedavi verilen grupta daha düşük tespit edilmiş. Oksidatif stres göstergelerinden olan SOD daha yüksek MDA ise daha düşük bulunmuş. Histolojik çalışmalarda; kontrol grubundaki sıçanlar normal pankreas dokularına ve asiner yapılara sahipken, akut pankreatit grubundaki sıçanların pankreas dokularında masif asiner nekroz, pankreas interstisyel dokularda vasküler genişleme, inflamatuvar hücrelerin bariz infiltrasyonu ve ödem tespit edilmiş (145).

Diğer bir çalışmada Tang ve ark., yine %5 sodyum taurokolatı ratlara biliopankreatik kanaldan enjente ederek akut pankreatit modeli oluşturmuşlar ve subkutan 5 mg/kg'dan çinko vermişler. Ardından kontrol grubu ile tedavi grubu karşılaştırıldığında tedavi grubunda SOD düzeyi daha yüksek, MDA düzeyi daha düşük bulunmuş. Sodyum taurokolat enjeksiyon sonrası pankreas dokusunda ödem, nekroz ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlenmiş (146).

Türkiye' de yapılan bir çalışmada serülein ile akut pankreatit oluşturmadan önce ratlara tedavi amacıyla asetilsalisik asit uygulanmış. Asetilsalisik asit uygulanan grupta antioksidan belirteçler (SOD, katalaz) yüksek, proinflamatuvar sitokinler ve oksidan belirteçler (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, MDA) düşük tespit edilmiş. Histopatolojik analizde; akut pankreatit grubunda interstisyel ödem, parankim kanaması ve nekroz görülürken öncesinde asetilsalisik asit verilmiş grupta anlamlı düzeyde histolojik parametre skorları daha düşük tespit edilmiş (148). Bizim çalışmamızda da istatistiksel olarak anlamlılık olmasada klinik olarak L-Arjinin grubuna göre tedavi verilen gruplarda SOD düzeyi daha yüksek, MDA ve TNF- $\alpha$  düzeyi daha düşük tespit edilmiştir. IL-6 düzeyinin gruplar arasında ilişkisi yoktur. Yine histolojik incelememizde NF- $\kappa$ B boyanma, ödem, nekroz ve inflamatuvar hücre skoru klinik olarak L-Arjinin grubunda diğer tüm gruplara göre daha yüksek bulundu ( $p>0,05$ ).

Çalışmamızdaki immünohistokimyasal boyama ile bakılan NF-κB skoru L-Arjinin grubunda kontrol ve DMSO grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit edildi. Kontrol grubundaki NF-κB boyanma skoru L-Arjinin + Kurkumin grubuna göre düşük bulundu.

Akut pankreatit (AP) hızlı bir başlangıç ve ilerlemeye sahiptir, bu da olumsuz bir prognoza yol açar. Bu nedenle tedavisi için yeni ilaçların geliştirilmesi kritik öneme sahiptir. Resveratrolün homolog bir türevidir olan pterostilben; anti-enflamatuar, antioksidan ve antitümör etkileri dahil olmak üzere çeşitli etkileri mevcuttur. Pterostilbenin etkileri, AP oluşturulan Wistar Albino sıçan modelinde değerlendirilmiştir. Serum amilaz, alanin aminotransferaz (ALT), TNF-α ve IL-1β'nin seviyeleri ölçülmüştür. Pankreas dokularındaki NF-κB ifadesi western blotlama ile ölçülmüştür. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi bir spektrometre kullanılarak belirlenirken, süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi test edilmiştir. AP sıçan modelinde, enflamatuar belirteçler TNF-α ve IL-1β'nin ekspresyonu, NF-κB'nin ekspresyonu ve serum indekslerinin (Amilaz ve ALT) seviyeleri kontrol grubuna kıyasla arttığı bulunmuştur (p <0,05). Pterostilben, serum TNF-α ve IL-1β seviyelerini düşürmüştür; NF-κB gen ekspresyonunu ve ROS üretimini azaltmıştır; SOD aktivitesinin doza bağlı bir şekilde arttırmıştır. Sonuç olarak, pterostilben, inflammatuar yanıtı azaltarak ve pankreas dokularının korunmasına yol açan antioksidasyonu teşvik ederek AP kaynaklı doku hasarını hafifletmiştir (149).

Bizde çalışmamızda ratlarda L-Arjinin ile indüklenen akut pankreatit modelinde daha önceden denenmemiş kaempferolü kullandık. L-Arjinin + Kaempferol verilen gruptaki SOD ve TNF-α seviyeleri L-Arjinin grubundakinden istatistiksel olarak farklı olmasada sırasıyla daha yüksek ve düşük tespit edildi. Katalaz düzeyleri ise L-Arjinin + Kaempferol verilen grupta L-Arjinin ile L-Arjinin + Kurkumin grubundan klinik olarak daha yüksek tespit edildi. L-Arjinin + Kaempferol verilen gruptaki MDA düzeyleri ise L-Arjinin grubundakinden klinik olarak daha düşük bulundu.

Mostafa ve ark. tarafından 100 mg/kg' dan nitrozamin ile ratlarda gastrit modeli oluşturulmuş, onaltı hafta boyunca günlük 200 mg/kg' dan kurkumin uygulanmış. SOD ve katalaz seviyeleri sadece nitrozamin verilen grupta nitrozamin + kurkumin verilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük tespit edilmiş (150).

Birçok çalışmada antioksidan maddeler birlikte kullanılarak sinerjistik etkiden yararlanılmak istenmiştir.

Bir çalışmada ratlardaki yüksek yağlı beslenme sonrası verilen kurkumin ve kapsaisin kombine tedavideki testis ve hepatik oksidan-antioksidan duruma etkileri araştırılmış. Sıçanlar rastgele beş gruba ayrılmış, kontrol grubuna standart laboratuvar yemi, bir gruba yalnızca toplam kalorisinin %60'ını oluşturacak şekilde yüksek yağlı diyet (YYD), diğer gruba YYD yanı sıra kurkumin, diğer başka gruba YYD ve kapsaisin ve son gruba ise YYD, kurkumin ve kapsaisin verilmiş. Sonuç olarak izole YYD verilen grupta reaktif oksijen radikalleri belirgin şekilde artmış, YYD ve bir antioksidan madde verilen gruplara göre kombine tedavi verilen grupta antioksidan belirteçler daha da artarken oksidatif stres düzeylerinin göstergeleri anlamlı şekilde daha aşağı seviye bulunmuş (151).

Ratlarda poloxamer-407 ile indüklenen hiperlipidemiye, 30 gün boyunca kurkumin ve/veya rutin uygulanmış, kombine tedavi verilen grupta hipertrigliseridemi ve inflamasyon baskılanmış (152).

Yine biz de çalışmamızda kurkumin ile kaempferolün kombine olarak akut pankreatit modelinde etkisini incelemeyi amaçladık. L-arjinin + Kurkumin + Kaempferol verilen grupta tek bir madde verilen L-arjinin + Kurkumin ve L-arjinin Kaempferol gruplarındakinden 'p' değeri anlamlı olmasada klinik olarak SOD seviyesi daha yüksek, MDA ve TNF- $\alpha$  daha düşük tespit edildi. Katalaz, IL-6 seviyelerinde ise böyle bir tutarlılık yoktu.

## 9. SONUÇ VE ÖNERİLER

L-arginin, ratlarda İP olarak yüksek dozda uygulandığında nekrotizan akut pankreatite neden olmaktadır. Bu şekilde indüklenen deneysel akut pankreatitte, indüksiyon sonrası tek tek ve kombine olarak uygulanan gruplarda kurkumin ve kaempferol istatistiksel olarak anlamlı olmasa da antioksidan belirteçler (SOD, katalaz) yüksek, proinflamatuvar sitokinler ve oksidan belirteçler (TNF- $\alpha$ , MDA) düşük tespit edilmiştir. IL-6 düzeylerinde istatistiksel anlamlı bir fark olmaması yanında L-Arjinin grubunda L-Arjinin + Kaempferol, L-Arjinin + Kurkumin + Kaempferol grubuna göre klinik olarak daha düşük bulunmuştur, bu durum açıklanamamıştır.

Histolojik incelememizde NF- $\kappa$ B boyanma, ödem, nekroz ve inflamatuvar hücre skoru istatistiksel olarak L-Arjinin grubunda kontrol grubuna göre daha yüksekti.

NF- $\kappa$ B skoru L-Arjinin grubunda kontrol ve DMSO grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit edildi. Kontrol grubundaki NF- $\kappa$ B boyanma skoru L-Arjinin + Kurkumin grubuna göre düşük bulundu. Antioksidan madde verilen gruplarda histolojik olarak hücre çatisının daha az hasar gördüğü tespit edildi.

Çalışmanın sayıca daha fazla ratta yapılması, antioksidan ajanlardan kaempferol ve kurkuminden daha yüksek etkinlik sağlanabilmesi amacıyla daha uzun süreyle uygulanması önerilebilir.

Sonuç olarak deneysel akut pankreatit modelimizde kurkumin ve kaempferolün histopatolojik olarak koruyucu etkileri izlenmiştir. Kurkumin ve kaempferolün hangi yolaklar üzerinden bu faydayı sağladığını bulmak için daha fazla ve ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.



## 10. KAYNAKLAR

1. Yeo CJ, Cameron JL. Acute pancreatitis. Sabiston DC, editor. Textbook of Surgery. 15th ed W.B. Saunders Company; 1997; p. 1156 –1165.
2. Ranson HJL. Acute Pancreatitis. Zinner MJ, Schwartz SI, Ellis H, editors. Maingot's Abdominal Operations. 10th ed. Appleton&Lande; 1997; p. 1899– 1905.
3. Ünal Hilal. Akut Pankreatit. Minkari T, Ünal G, Kafadar Y, editor. Pankreas Cerrahisi İstanbul: Logos; 1991; p. 119 –137.
4. Karne S, Gorelick FS. Etiopathogenesis of acute pancreatitis. Surg Clin North Am 1999; 79: 699–710.
5. Yavuz N, Ergüney S. Akut Pankreatitte serum elastaz 1'in tanısal ve prognostik değeri. Çağdaş Cerrahi Dergisi 1998; 7: 263 -264.
6. Türkmen A. Dopamin, kortizol, düşük molekül ağırlıklı heparin CY 216 ve dextran 40'ın akut pankreatit üzerine etkilerini karşılaştıran deneysel çalışma. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi (uzmanlık tezi) 1994.
7. Russel G, Postier MD. Past, present, and future of pancreatic surgery. Am J Surg 2001; 182:547–551.
8. Yeo CJ, Cameron JL. The pancreas. İn; Sabiston DC, editor. Sabiston Textbook of Surgery 16th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 2001. p. 116 –125.
9. Veli Ç, Yücel G, Ahmet S. Pankreas Anatomisi ve Varyasyonları. 2014; 2(2): 77-82.
10. Ayşe H, Emine K. Sıçanda Pankreas'ın Makroanatomisi ve İmmun Boyama Yöntemi ile İnnervasyonunun İncelenmesi. 2014; 9(1): 16-22.

11. Junqueira L.C. Carneiro J. Kelley R.O. Basic Histology. 9th Ed. Appleton & Lange 1998.
12. Şeftalioğlu A. Genel & Özel İnsan Embriyolojisi. Üçüncü Baskı. 1998.
13. Koçar İ.H. Mas R. Ünal M.T. Özütemiz Ö. Pankreatit'te Yeni Ufuklar. Ankara 2004; p. 1–5.
14. Snell R. The Gastrointestinal Tract. In: Snell R, editor. Clinical Anatomy. 4th ed. Little: Brown; 1992. p. 254–255.
15. Moore KL. The Abdomen. In: Gardner J, editor. Clinically Oriented Anatomy. 2nd ed. Williams & Wilkins; 1985. p. 220 –224.
16. John E. Skandalakis, Panajiotis N. Skandalakis, Lee John Skandalakis. Cerrahi Anatomi ve Teknik. Nobel Tıp Kitabevleri; 2000; p. 345 -353.
17. McHenry CR, Strain JW. Anatomy and Embryology of the pancreas. In: Clark OH, editor Textbook of endocrine Surgery. Philedelphia: Saunders; 1997. p. 549–555.
18. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/curcumin>, 24/01/2019' da erişildi.
19. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/kaempferol#section=Top>, 24/01/2019' da erişildi.
20. Yadav D, Lowenfels AB. Trends in the epidemiology of the first attack of acute pancreatitis: a systematic review. Pancreas 2006; 33: 323-330.
21. Frossard JL, Ster ML, Pastor CM. Acute pancreatitis. Lancet 2008; 371: 143-152.

22. Van Acker GJ, Perides G, Ster ML. Co-localization hypothesis: a mechanism for the intrapancreatic activation of digestive enzymes during the early phases of acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 1985-1990.
23. Hirota M, Ohmuraya M, Baba H. The role of trypsin, trypsin inhibitor, and trypsin receptor in the onset and aggravation of pancreatitis. *J Gastroenterol* 2006; 41: 832-836.
24. Criddle DN, McLaughlin E, Murphy JA, Petersen OH, Sutton R. The pancreas misled: signals to pancreatitis. *Pancreatology* 2007; 7: 436-446.
25. Lundberg AH, Eubanks JW III, Henry J, Sabek O, Kotb M, Gaber L, Gaber AO, et al. Trypsin stimulates production of cytokines from peritoneal macrophages in vitro and in vivo. *Pancreas* 2000; 21: 41-51.
26. Liu XH, Nakano I, Ito T, Migita Y, Miyahara T, Koyanagi S, Ohgoshi K, et al. Role of endothelin in the development of hemorrhagic pancreatitis in rats. *J Gastroenterol* 1995; 30: 275–277.
27. Aufenanger J, Samman M, Quintel M, Fassbender K, Zimmer W, Bertsch T. Pancreatic phospholipase A2 activity in acute pancreatitis: a prognostic marker for early identification of patients at risk. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40: 293–297.
28. Cuthbertson CM, Christophi C. Disturbances of the microcirculation in acute pancreatitis. *Br J Surg* 2006; 93: 518–530.
29. Rakonczay Z Jr, Hegyi P, Takacs T, McCarroll J, Saluja AK. The role of NF-kappaB activation in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Gut* 2008; 57: 259–267.
30. Guercioni G, Siquini W, Senati E. Epidemiology, Classification, Etiopathogenesis and Diagnosis of Acute Pancreatitis. In: Siquini Walter (ed). *Surgical Treatment of Pancreatic Diseases*. Springer 2009;31-63.

31. Baron TH, Morgan DE. Acute necrotizing pancreatitis. *N Engl. J. Med.* 1999;340:1412-1417.
32. Banks PA. Acute pancreatitis. *Bockus Gastroenterology*; Ed: Haubrich W. S, Schaffner F, Berk J. E; W. B. Saunders Com.Phil adelphia, 1995; 2888-2917.
33. Gorelick FS. Alcohol and zymogen activation in the pancreatic acinar cell. *Pancreas.* 2003 Nov;27(4):305–310.
34. Ayten R, Çetinkaya Z, Yeniçeriöđlu A. Akut Pankreatitli Olgularımızın Retrospektif Deđerlendirilmesi. *Firat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi.* 2007, Cilt 21, Sayı 3.
35. Diehl A. K, Holleman Jr DR, Chapman J. B. Gallstone size and risk of pancreatitis. *Arch Intern Med* 1997; 157: 1674.
36. Ros E, Navarro S, Bru C, Garcia-Puges A, Valderrama R. Occult microlithiasis in idiopathic acute pancreatitis: Prevention of relapses by cholecystectomy or ursodeoxycholic acid therapy. *Gastroenterology* 1991; 101: 1701.
37. Lankisch PG, Droege M, Gott esleben F. Drug induced acute pancreatitis: Incidence and severity. *Gut* 1995; 37: 565.
38. Parenti DM, Steinberg W, Kang P. Infectious causes of acute pancreatitis. *Pancreas.* 1996;13(4):356.
39. Dassopoulos T, Ehrenpreis ED. Acute pancreatitis in human immunodeficiency virus-infected patients: a review. *Am J Med.* 1999; 107(1):78.
40. Thomson JS, Bragg LE, Hodgson PE, Rikkers LF. Postoperative pancreatitis. *Surg Gynecol Obstet* 1988; 167: 377 –80.

41. Fortson MR, Freedman SN, Webster PD. Clinical assesment of hyperlipidemic pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 2134.
42. Yeo CJ, Cameron JL. The pancreas. *Sabiston Textbook of Surgery*. 16th ed. Philadelphia: W.B. Saunders. 2001; 116-125.
43. Yeo CJ, Cameron JL. Acute pancreatitis. Sabiston DC, editor. *Textbook of Surgery*. 15th ed. W.B. Saunders Company 1997; 1156-1165.
44. Ranson JHC. Acute Pancreatitis. Zinner MJ, Schwartz SI, Ellis H, editors. *Maingot's Abdominal Operations*. 10th ed. Appleton& Lande 1997;1899-1905.
45. Shackelford R T, Zuidema G D. *Surgery of the Alimentary Tract*. 2nd ed, W B Saunders Co. 1983.
46. Granger J, Remick D. Acute pancreatitis: models, markers, and mediators. *Shock* 2005;24:45–51.
47. Hirota M, Nozawa F, Okabe A, Shibata M, Beppu T, Shimada S, Egami H, et al. Relationship between plasma cytokine concentration and multiple organ failure in patients with acute pancreatitis. *Pancreas* 2000;21:141-146.
48. Fomella LS, Galloway W. Inflammatory mediators in acute pancreatitis. *Br J Surg* 1995;82:6-13.
49. Plusczyk T, Witzel B, Menger MD, Schilling M. ETA and ETB receptor function in pancreatitis-associated microcirculatory failure, inflammation, and parenchymal injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003;285:145-153.

50. Gao HK, Zhou ZG, Han FH, Chen YQ, Yan WW, He T, Wang C, Wang Z. Differences in platelet endothelial cell adhesion molecule-1 expression between peripheral circulation and pancreatic microcirculation in Cerulein-induced acute edematous pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2005;11:661-664.
51. Kloppel G. Acute pancreatitis. *Semin Diagn Pathol* 2004;21:221-226.
52. Slavin J, Ghaneh P, Sutton R, Hartley M, Rowlands P, Garvey C, Hughes M, Neoptolemos J. Management of necrotizing pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2001;7:476-481.
53. Swaroop VS, Chari ST, Clain JE. Severe acute pancreatitis. *JAMA* 2004; 291:2865.
54. Banks PA. Acute pancreatitis: Diagnosis. In: *Pancreatitis*, Lankisch PG, Banks PA (Eds), Springer-Verlag, New York 1998. p.75.
55. Banks PA, Freeman ML, Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Practice guidelines in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2006; 101:2379.
56. Lankisch PG, Schirren CA, Kunze E. Undetected fatal acute pancreatitis: why is the disease so frequently overlooked? *Am J Gastroenterol* 1991; 86:322.
57. Lankisch PG, Müller CH, Niederstadt H, Brand A. Painless acute pancreatitis subsequent to anticholinesterase insecticide (parathion) intoxication. *Am J Gastroenterol* 1990; 85:872.
58. Kesavan CR, Pitchumoni CS, Marino WD. Acute painless pancreatitis as a rare complication in Legionnaires disease. *Am J Gastroenterol* 1993; 88:468.

59. Mookadam F, Cikes M. Images in clinical medicine. Cullen's and Turner's signs. *N Engl J Med* 2005; 353:1386.
60. Dickson AP, Imrie CW. The incidence and prognosis of body wall ecchymosis in acute pancreatitis. *Surg Gynecol Obstet* 1984; 159:343.
61. Dahl PR, Su WP, Cullimore KC, Dicken CH. Pancreatic panniculitis. *J Am Acad Dermatol* 1995; 33:413
62. Bennett RG, Petrozzi JW. Nodular subcutaneous fat necrosis. A manifestation of silent pancreatitis. *Arch Dermatol* 1975; 111:896.
63. Masha L, Bernard S. Grey Turner's sign suggesting retroperitoneal haemorrhage. *Lancet* 2014; 383:1920.
64. Visual Diagnosis. [www.visualdx.com](http://www.visualdx.com) Eriřim tarihi: 03/10/18.
65. İlter T, Akut pankreatitler. Oruç N, Özütemiz AÖ (ed.ler). *Klinik gastroenteroloji ve atlas*,1. baskı. İzmir: Güven kitabevi, 2011: 704-706.
66. Gumaste VV, Roditis N, Mehta D, Dave PB. Serum lipase levels in nonpancreatic abdominal pain versus acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1993; 88: 2051–2055.
67. Steinberg WM, Goldstein SS, Davis ND, Shamma'a J, Anderson K. Diagnostic assays in acute pancreatitis. A study of sensitivity and specificity. *Ann Intern Med* 1985; 102: 576–580.
68. Keim V, Teich N, Fiedler F, Hartig W, Thiele G, Mossner J. A comparison of lipase and amylase in the diagnosis of acute pancreatitis in patients with abdominal pain. *Pancreas* 1998; 16: 45–49.

69. Clavien PA, Robert J, Meyer P, Borst F, Hauser H, Herrmann F, Dunand V, et al. Acute pancreatitis and normoamylasemia. Not an uncommon combination. *Ann Surg* 1989; 210: 614–620.
70. Treacy J, Williams A, Bais R, Willson K, Worthley C, Reece J, Bessell J, et al. Evaluation of amylase and lipase in the diagnosis of acute pancreatitis. *ANZ J Surg* 2001; 71: 577–582.
71. Spechler SJ, Dalton JW, Robbins AH, Gerzof SG, Stern JS, Johnson WC, Nabseth DC, et al. Prevalence of normal serum amylase levels in patients with acute alcoholic pancreatitis. *Dig Dis Sci* 1983; 28: 865–869.
72. Fallat RW, Vester JW, Glueck CJ. Suppression of amylase activity by hypertriglyceridemia. *JAMA* 1973; 225: 1331–1334.
73. Wickus GG, Dukerschein RO, Pierce JR, Davis KD. Interference in a chromogenic alpha-amylase assay caused by dye-labeled oligosaccharide-induced precipitation of lipoprotein. *Clin Chem* 1982; 28: 2131–2134.
74. Warshaw AL, Bellini CA, Lesser PB. Inhibition of serum and urine amylase activity in pancreatitis with hyperlipemia. *Ann Surg* 1975; 182: 72–75.
75. Lesser PB, Warshaw AL. Diagnosis of pancreatitis masked by hyperlipemia. *Ann Intern Med* 1975; 82: 795–798.
76. Foo AY, Bais R. Amylase measurement with 2-chloro-4-nitrophenyl maltotrioside as substrate. *Clin Chim Acta* 1998; 272: 137–147.
77. McCroskey R, Chang T, David H, Winn E. p-Nitrophenylglycosides as substrates for measurement of amylase in serum and urine. *Clin Chem* 1982; 28: 1787–1791.



78. Lorentz K. Routine alpha-amylase assay using protected 4-nitrophenyl-1, 4-alpha-Dmaltoheptaoside and a novel alpha-glucosidase. *Clin Chem* 2000; 46: 644–649.
79. Yadav D, Agarwal N, Pitchumoni CS. A critical evaluation of laboratory tests in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1309–1318.
80. Boyle CE, Fraser CG. Macroamylasaemia: how common is it? *Br Med J (Clin Res Ed)* 1985; 291: 1389.
81. Warshaw AL, Fuller AF Jr. Specificity of increased renal clearance of amylase in diagnosis of acute pancreatitis. *N Engl J Med* 1975; 292: 325–328.
82. Hemingway DM, Johnson I, Tuffnell DJ, Croton RS. The value of immunoreactive lipase in acute pancreatitis. *Ann R Coll Surg Engl* 1988; 70: 195–196.
83. Tietz NW, Shuey DF. Lipase in serum – the elusive enzyme: an overview. *Clin Chem* 1993; 39: 746–756.
84. Apple F, Benson P, Preese L, Eastep S, Bilodeau L, Heiler G. Lipase and pancreatic amylase activities in tissues and in patients with hyperamylasemia. *Am J Clin Pathol* 1991; 96: 610–614.
85. Chase CW, Barker DE, Russell WL, Burns RP. Serum amylase and lipase in the evaluation of acute abdominal pain. *Am Surg* 1996; 62: 1028–1033.
86. Tietz NW. Support of the diagnosis of pancreatitis by enzyme tests – old problems, new techniques. *Clin Chim Acta* 1997; 257: 85–98.

87. Petersson U, Appelros S, Borgstrom A. Different patterns in immunoreactive anionic and cationic trypsinogen in urine and serum in human acute pancreatitis. *Int J Pancreatol* 1999; 25: 165–170.
88. Kempainen EA, Hedstrom JI, Puolakkainen PA, Sainio VS, Haapiainen RK, Perhoniemi V, Osman S, et al. Rapid measurement of urinary trypsinogen-2 as a screening test for acute pancreatitis. *N Engl J Med* 1997; 336: 1788–1793.
89. Kylanpaa-Back ML, Kempainen E, Puolakkainen P, Hedström J, Haapiainen R, Korvuo A, Stenman UH. Comparison of urine trypsinogen- 2 test strip with serum lipase in the diagnosis of acute pancreatitis. *Hepatogastroenterology* 2002; 49: 1130–1134.
90. İlder T, Oruç N, Özütemiz AÖ. Klinik gastroenteroloji ve atlas, 1. baskı. İzmir: Güven kitabevi, Akut pankreatitler. 2011: 707-709.
91. Norton J A. Pancreas. Mulvihill S J. *Surgey Basic Science and Clinic* 1990.
92. Shackelford R T, Zuidema G D. *Surgery of the Alimentary Tract*. 2nd ed, W B Saunders Co. 1983.
93. Schwartz SI. Pancreas. Reber H A. *Principles of Surgery*. MvGraw-Hill Co 7th ed. 1999; 1467-99.
94. Marshall JB. Acute Pancreatitis, a review with an emphasis on new developments. *Arch. intern. Med*, 1993; 153:1185-98.
95. Balthazar JB. Acute pancreatitis: assesment of a severity with clinical and CT evaluation. *Radiology*, 2002; 223:603-13.
96. Blumgart LH, Fong Y. *Surgery of the Liver and Biliary Tract*, 3 rd ed. Edinburg: Churchill Livingstone; 2000; 1277-301.

97. DeBanto JR, Goday PS, Pedroso MR, Fazel A, Nayyar S, Conwell DL, Demeo MT, et al. Acute pancreatitis in children. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1726-1731.
98. R. Pezzilli A, Zerbi A, Di Carlo V, Bassi C, Delle Fave GF; Working Group of the Italian Association for the Study of the Pancreas on Acute Pancreatitis. Practical guidelines for acute pancreatitis. *Pancreatology*. 2010; 10: 523–535.
99. UK Working Party on Acute Pancreatitis. UK guidelines for the management of acute pancreatitis. *Gut* 2005; 54 (Suppl. 3): 1–9.
100. Balani AR, Grendell JH. Drug-induced pancreatitis: incidence, management and prevention. *Drug Saf* 2008; 31: 823–837.
101. Meier RF, Beglinger C. Nutrition in pancreatic diseases. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006; 20: 507–529.
102. Moore FA, Feliciano DV, Andrassy RJ, McArdle AH, Booth FV, Kellum JM Jr, Welling RE, et al. Early enteral feeding, compared with parenteral, reduces postoperative septic complications. The results of a meta-analysis. *Ann Surg* 1992; 216: 172–183.
103. Marik PE, Zaloga GP. Meta-analysis of parenteral nutrition versus enteral nutrition in patients with acute pancreatitis. *BMJ* 2004; 328: 1407.
104. Eatock FC, Chong P, Menezes N, Murray L, McKay CJ, Carter CR, Imrie CW. A randomized study of early nasogastric versus nasojejunal feeding in severe acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 432–439.
105. Ioannidis O, Lavrentieva A, Botsios D. Nutrition support in acute pancreatitis. *JOP* 2008; 9: 375–390.

106. Werner J, Feuerbach S, Uhl W, Buchler MW. Management of acute pancreatitis: from surgery to interventional intensive care. *Gut* 2005; 54: 426–436.
107. Singhal D, Kakodkar R, Sud R, Chaudhary A. Issues in management of pancreatic pseudocysts. *JOP* 2006; 7: 502–507.
108. Sanfey H, Bulkley GB, Cameron JL. The role of oxygen derived free radicals in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Ann Surg* 1984; 200: 405-443.
109. Baker GI, Corry RJ, Autor AP. Oxygen free radical induced damage in kidneys subjected to warm ischemia and reperfusion. Protective effect of superoxide dismutase. *Ann Surg.* 1998; 202: 628-641.
110. Fantone JC, Ward PA. Polymorphonuclear leukocyte-mediated cell and tissue injury; oxygen metabolites and their relations on human disease. *Hum Pathol* 1985; 16: 973-978.
111. Parks DA, Bulkey GB, Granger DN. Role of oxygen free radicals in shock, ischemia and organ preservation. *Surgery* 1993; 94: 428-432.
112. Sanfey H, Bulkey GB, Cameron JB. The pathogenesis of acute pancreatitis. The source and role of oxygen-derived free radicals in three different experimental models *Ann Surg* 1985; 201: 633-639.
113. Schoenberg MH, Büchler M, Gaspar M. Oxygen free radicals in acute pancreatitis of rat. *Gut* 1990; 31: 1138-1143.
114. Weiss SJ. Oxygen, ischemia and inflammation. *Acta Physiol Scand* 1986; 548: 9-37.
115. Del maestro RF. An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol Scand* 1990; 492: 153-168.

116. Weisiger RA. Oxygen radicals and ischemic tissue injury. *Gastroenterology* 1996; 90: 494-496.
117. Hassan HM. Biosynthesis and regulation of superoxide dismutases. *Free Radical Biol Med.* 1998; 5: 377-385.
118. Proctor PH; Reynolds ES. Free radicals and disease in man. *Physiol Chem Phys Med NMR* 1984; 16: 175-195.
119. McCord JM, Roy RS. The pathophysiology of superoxide: roles in inflammation and ischemia. *Can J Physiol Pharmacol.* 1992; 60: 1346-1352.
120. Parks D. Oxygen radicals: Mediators of gastrointestinal pathophysiology. *Gut* 1989; 30: 293.
121. Leung PS, Chan YC. Role of oxidative stress in pancreatic inflammation. *Antioxid Redox Signal* 2009; 11: 135–165.
122. Sanfey H, Sarr MG, Bulkey GB, Cameron JL. Oxygen-derived free radicals and acute pancreatitis: a review. *Acta Physiol Scand Suppl* 1986; 548: 109-118.
123. Guice KS, Miller DE, Oldham KT. Superoxide dismutase and catalase: A possible role in established pancreatitis. *Am J Surg* 1986; 151: 163-169.
124. Dabrowski A, Gabryelewicz A. Oxygen-derived free radicals in cerulein induced acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1988; 23: 1245-1249.
125. Virlos IT, Mason J, Schofield D, McCloy RF, J. M. Eddleston JM, Siriwardena AK. Intravenous n-acetylcysteine, ascorbic acid and selenium-based anti-oxidant therapy in severe acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 2003; 38: 1262–1267.

126. Kuklinski B, Buchner M, Müller T, Schweder R. Anti-oxidative therapy of pancreatitis. *Z Gesamte Inn Med* 1992; 47: 239-245.
127. Akut pankreatit modelleri, Pratik Uygulama (2007). 4.Ulusal Deneysel Cerrahi Kongresi, Türk Cerrahi Derneği, GATA, Ankara. s.112-115.
128. Su K.H, Cuthbertson C, Christoph C. (2006). Review of experimental animal models of acute pancreatitis. *HPB(Oxford)* 8(4):264-286.
129. Mizunuma T, Kawamura S, Kishino Y. (1984). Effects of injecting excess arginine on rat pancreas. *J. Nutr.*;114(3):467-71.
130. Czako L, Takacs T, Varga I.S, Ha D.Q, Tiszlavacz L, Hegye P, MandaY, et al. The pathogenesis of Larginine induced acute necrotizing pancreatitis: inflammatory mediators and endogenous cholecystokinin. *J Physiol Paris* 2000; 94(1):43-50.
131. Van Laethem JL, Marchant A, Delvaux A, Goldman M, Robberecht P, Velu T, Deviere J. Interleukin-10 prevents necrosis in murine experimental pancreatitis. *Gastroenterology* 1995; 108: 1917-22.
132. Halliwell B. Drug antioxidant effects. *Drugs* 1991; 42: 569 - 605.
133. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stres-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006;160:1-40.
134. Kour H, Perkins MJ. The free radical chemistry of food additives, In Ed: Arvoma O.I, Halliwell B. *Free radicals and food additives*, 1991.
135. Allen RG, Venkatraj VS. Oxidant and antioxidants in development and differantiation. *J Nutr* 1992; 122:631-635.

136. Granger J, Remick D. Acute pancreatitis: models, markers, and mediators. *Shock* 2005; 24:45-51.
137. Matheus AS, Coelho AM, Sampietre S, Patzina R, Jukemura J, Cunha JE, Machado MC. Effect of inhibition of prostaglandin E2 production on pancreatic infection in experimental acute pancreatitis. *HPB* 2007;9:392-397.
138. Wen-Guang Y, Gang X, Gui-Jie R, Xia X, Hui-Qing Y, Xiao-Li Q and Ke-Li T. Preventive action of curcumin in experimental acute pancreatitis in Mouse. 2011; *134*(5): 717–724.
139. Zhang Y, Zeng Y. Curcumin reduces inflammation in knee osteoarthritis rats through blocking TLR4 /MyD88/NF- $\kappa$ B signal pathway. 2019; doi: 10.1002/ddr.21509.
140. Abbas H, Layasadat K, Zahra J. Curcumin attenuates nephrotoxicity induced by zinc oxide nanoparticles in rats. 2019; *26*:179–187.
141. Long W, Yisong L, Huixiang Y, Li Y, Jianhui S. Curcumin prevents the non-alcoholic fatty hepatitis via mitochondria protection and apoptosis reduction. 2015; *8*(9):11503-11509.
142. Manodeep C, Ananya B, and Jagadish V K. Cardioprotective effect of curcumin and piperine combination against cyclophosphamide-induced cardiotoxicity. 2017; *49*(1): 65–70.
143. Anamika V, Thakur U. S, Soya R, Kumar T, Kandasamy A, Parida S, Kumar D. Effect of Kaempferol Pretreatment on Myocardial Injury in Rats. 2018; *18*:312–328.
144. Zhuang Z, Ye G, Huang B. Kaempferol Alleviates the Interleukin-1 $\beta$ -Induced Inflammation in Rat Osteoarthritis Chondrocytes via Suppression of NF- $\kappa$ B. 2017; *23*:3925-3931.

145. Shao-Hui H, Yi G, Wei-Xing W. Protective Effects of Calcitonin Gene-Related Peptide-Mediated p38 Mitogen-Activated Protein Kinase Pathway on Severe Acute Pancreatitis in Rats. 2018; doi: 10.1007/s10620-018-5345-4.
146. Qin-qing T, Shi-yue S, Mao F. Zinc Supplement Modulates Oxidative Stress and Antioxidant Values in Rats with Severe Acute Pancreatitis. 2014; 159:320–324.
147. Schonberger, MH., Birk, D., Beger, HG., 1995. Oxidative stress in acute and chronic pancreatitis. *Am J Clin Nutr.* 62:1306S-14S.
148. Ibrahim A, Evren E, Ahmet G, Elif E, Zeynep L Ç, Damla H, Ozcan M, et al. Long-term aspirin pretreatment in the prevention of cerulein-induced acute pancreatitis in rats. 2013; 19: 2894-2903.
149. Lin YJ, Ding Y, Wu J, Ning BT. Pterostilbene as treatment for severe acute pancreatitis. 2016; 15(3). doi: 10.4238/gmr.15038330.
150. Mostafa I W, Ismail M, Shaimaa A, Nejib G, Raya Nasser Al-M, and Mohammad S R. The Protective Effect of Curcumin against Nitrosamine-Induced Gastric Oxidative Stress in Rats. 2018; 23(4): 288–293.
151. Tanrikulu Küçük S, Basaran-Kucukgergin C, Seyithanoğlu M, Dogru-Abbasoglu S, Koçak H, Beyhan-Özdaş S, Öner-İyidoğan Y. Role Of Dietary Curcumin And Capsaicin On Testicular And Hepatic Oxidant-Antioxidant Status In Rats Fed A High Fed Diet. 2019; doi: 10.1139/apnm-2018-0622.
152. Manzoni AG, Passos DF, da Silva JLG, Bernardes VM, Bremm JM, Jantsch MH, de Oliveira JS, et al. Rutin and curcumin reduce inflammation, triglyceride levels and ADA activity in serum and immune cells in a model of hyperlipidemia. 2019 May; 76:13-21.