

T.C
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

RATLARDA SODYUM TAUROKOLAT İLE
OLUŞTURULAN AKUT NEKROTİZAN PANKREATİTTE
ADALİMUMAB'IN ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ
DR. SELMA DİNÇER TEKEKOĞLU

TEZ DANIŞMANI
DOÇ.DR MUSTAFA YILMAZ

DENİZLİ-2009

Doç.Dr.Mustafa YILMAZ danışmanlığında Dr.Selma DİNÇER TEKEKOĞLU tarafından yapılan “Ratlarda Sodyum Taurokolat ile Oluşturulan Akut Nekrotizan Pankreatitte Adalimumab’ın Etkileri” başlıklı çalışma jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

ÜYE

ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

...../...../.....
(gün/ay/yıl)

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANI**

TEŐEKKÜR

HoŐgörü, sabır ve sonsuz fedakarlıkları için anne ve babama teŐekkürler.

Dr. Selma DİNÇER TEKEKOĞLU

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
GİRİŞ	9
GENEL BİLGİLER	11
AKUT PANKREATİT	11
Etyoloji.....	11
Patogenez.....	11
Tümör Nekrozis Faktör Alfa	14
Patoloji.....	15
Akut Ödematöz Pankreatit.....	16
Akut Nekrotizan Pankreatit.....	16
Tanı.....	16
Laboratuvar Yöntemleri.....	17
ADALİMUMAB	20
Farmakodinamik.....	20
Farmakokinetik.....	21
GEREÇ VE YÖNTEM	22
HAYVANLAR	22
DENEY DÜZENİ	22
BİYOKİMYASAL İNCELEME	23
HİSTOPATOLOJİK İNCELEME	23
Malondialdehid Analizi.....	23
Miyeloperoksidaz Aktivitesi Ölçümü.....	24
İSTATİSTİKSEL İNCELEME	24
BULGULAR	25
TARTIŞMA	32

SONUÇLAR.....	40
ÖZET.....	41
YABANCI DİL ÖZETİ.....	43
KAYNAKLAR.....	45

ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

	Sayfa No
Şekil-1 Tedavi almayan pankreatit grubundan bir ratın pankreasının görünümü, nekrotik odaklar ve yer yer hemorajiler	25
Şekil-2 Tedavi alan gruptan bir ratın pankreasındaki daha küçük nekrozlar alanları	26
Şekil-3 Tedavi almayan gruptan bir ratın karın boşluğunda hemorajik asit sıvısı	26
Şekil-4 İlaç uygulanmayan gruptaki şiddetli ve yaygın pankreatitis, nekroz şiddetli nötrofil infiltrasyonu ve ödem	27
Şekil-5 İlaç uygulanan gurupdaki bir ratın pankreasında hafif nötrofil infiltrasyonu olmasına rağmen asiner nekroz görülüyor	28
Şekil-6 Serum amilaz düzeylerinin grup ortalamalarına göre grafiği	30
Şekil-7 Pankreatik doku MPO düzeylerinin grup ortalamalarına göre grafiği	30
Şekil-8 Pankreatik doku MDA düzeylerinin grup ortalamalarına göre grafiği	30
Şekil-9 Serum LDH düzeylerinin grup ortalamalarına göre grafiği	31
Şekil-10 Histopatolojik skorların grup ortalamalarına göre grafiği	31

TABLolar ÇİZELGESİ

		Sayfa No
Tablo-1	Deney düzenindeki gruplar ve işlemler	22
Tablo-2	Histopatolojik lezyon skorları	27
Tablo-3	Histopatolojik kriterlerin gruplara göre dağılımı	28
Tablo-4	Biyokimyasal ve histopatolojik bulguların istatistik analiz sonuçları	29

KISALTMALAR

AP	:	Akut pankreatit
AS	:	Ankilozan spondilit
CD	:	Cronhn hastalığı
CL	:	Total serum klirensi
Cmax	:	Zirve değeri
HCO₃	:	Bikarbonat
HE	:	Hematoxylin-eosin
JIA	:	Juvenil idiyopatik artrit
PsA	:	Psoriatik artrit
IL	:	İnterleukin
LDH	:	Laktik dihidrogenaz
MDA	:	Malondialdehid
MPO	:	Myeloperoksidaz
PNL	:	Polimorfonükleer lökosit
RA	:	Romatoid artrit
MOY	:	Multiple organ yetmezliği
NK	:	Naturel killer
SIRS	:	Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu
TAP	:	Tripsinojen aktive edici peptid
TNF	:	Tümör nekrozis faktör
TNF- α	:	Tümör nekrozis faktör alfa

GİRİŞ

Akut pankreatit (AP) asiner hücrelerde inaktif halde bulunan pankreas enzimlerinin herhangi bir etyolojik ajanla aktivasyonu sonucu intertisyuma geçerek pankreasın otodigesyonuna ve sistemik dolaşıma geçerek de bazı olgularda multisitemik organ yetmezliğine kadar ilerleyebilen inflamatuvar bir süreçtir (1).

Teknolojideki önemli gelişmelere rağmen AP'in morbite ve mortalitesi hala yüksektir. Klinik bulgular müphem bir karın ağrısından, hipotansiyon, metabolik bozukluklar, sepsis ve şoka kadar ilerleyebilen tablolar sergileyebilir. Hastaların %25 kadarında şiddetli bir atak gözlenir ve bunlarında %30-50'si mortal seyreder (2).

Patolojik bulgular hafif intersitisyel ödemden ağır hemoraji ve nekroza kadar uzanan geniş bir spektrum sergiler. Son dönemde yapılan çalışmalar sitokinlerin AP'in patogenezinde ve sonrasındaki inflamatuvar cevapta kritik öneme sahip olduğunu ortaya koymuştur (2,3). Sitokinler bir yandan akut pankreatiti şiddetlendirirken, diğer yandan sistemik olarak artmış kapiller permeabilite ile lökosit adherensine ve ekstrasvazasyona neden olarak multiple organ yetmezliği gelişmesinde rol oynarlar (4). Sitokin ailesinin prototipik bir üyesi olan TNF- α (Tümör nekrozis faktör alfa) stres ve yaralanmaya yanıtta büyük ölçüde aracılık eder. Bu sitokin romatoid artrit ve inflamatuvar barsak hastalıklarında olduğu gibi akut pankreatit sürecinde de inflamasyonun gelişiminde önemli role sahiptir. Denham ve arkadaşları TNF- α reseptör-1'e sahip olmayan genetiği ayarlanmış farelerin akut pankreatit ve komplikasyonlarına karşı korunduğunu göstermişlerdir. Douni ve Kollias da TNF- α reseptör-1 transgenik fare üretiminin ciddi inflamatuvar sendromla sonuçlandığını ileri sürmüşlerdir (5). Tüm bu çalışmalar hala spesifik tedavisi olmayan akut pankreatitte TNF- α ve reseptörlerini araştırmacılar için cazip hale getirmiştir (5,6,7). Adalimumab TNF- α 'ya karşı oluşmuş tam bir insan rekombinant antikordur. İnsan IgG1'den yapısal ve işlevsel olarak ayırt edilemez (7). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, insan TNF- α eksprese

eden transgenik farelerde oluşturulan kronik inflamatuvar artrit modelinde TNF- α 'ya karşı oluşturulmuş monoklonal antikorların in vivo verilmesinin artrit gelişimini önlediği gösterilmiştir (8). Romatoid artrit (RA), juvenil idiyopatik artrit (JIA), psoriatik artrit (PsA), ankilozan spondilit (AS), Crohn hastalığı (CD) ve psoriasis (Ps) gibi inflamatuvar orjinli hastalıklarda kullanılan TNF- α blokerlerinden etanercept ve infliksimabın deneysel akut pankreatit modellerinde pankreatit gelişimini hafiflettiği bilinmektedir (5,9). Bu çalışmanın amacı ratlarda taurocholate ile oluşturulan akut nekrotizan pankreatitte adalimumabın etkinliğini değerlendirmek ve akut pankreatit tedavisinde yeni yaklaşımlara katkıda bulunmaktır.

GENEL BİLGİLER

AKUT PANKREATİT

Pankreasın iltihabi ve enzimatik nekrozu sonucu oluşan hafif kendini sınırlayan pankreatik inflamasyondan yaşamı ileri derecede tehdit eden sistemik bulgulara kadar değişen tablolar ile karşımıza çıkan bir hastalıktır (10). Akut pankreatit insidansı hastane kayıtlarına dayanılarak yapılan analizlerde yılda 1-5/10.000'dir. Ancak hafif olguların hastaneye başvurmadiğı düşünöldüğünde gerçek sıklığın bunun üzerinde olduğı tahmin edilmektedir. Her yaşta görölebilmekle beraber en sık 30-60 yaş arası pik yapar. Cinsiyet dağılımı açısından fark yoktur.

Etyoloji

Akut pankreatit için bir çok predispozan faktör tanımlanmıştır. Safra taşı ve alkolizm toplam olguların %80'inden sorumludur. Olguların %10-20'sinde ise belirgin bir neden olmaksızın ortaya çıkmaktadır. Bizim ölkemizde tam net veriler olmamakla beraber safra taşı nedenli akut pankreatit olguları daha ön plandadır (10,11).

Patogenezi

Akut pankreatit patogenezi henüz net olarak aydınlatılmamıştır. Pek çok teoriler ileri sürölmektedir.

Günümüzde alkolik pankreatitin patofizyolojisini izah etmek için duktal, hormonal ve vasküler hipotezler ileri sürölmüştür. Bunlar içerisinde en sık kabul gören duktal hipotezler arasında yer alan duktal tıkaç hipotezidir. Buna göre kronik alkol alımı, su ve HCO₃'dan fakir proteinden zengin bir bazal pankreas enzim sekresyonunun oluşmasına sebep olur. Bunun sonucunda pankreas taş proteinleri oluşur. Bunların pankreas kanallarına çökmesi ile pankreas kanal tıkanmaları ortaya çıkar. Bu durum pankreas bezinin aktivasyonuna yol açarak akut pankreatitte neden olur (12,13).

Biliyer pankreatitin patofizyolojisi için taşın papilladan geçişi sırasında oddi sfinkter fonksiyonunun geçici olarak bozulması ve bunun sonucunda safranin pankreasa reflüsüne bağlı olarak pankreas kanal basıncının artarak pankreas sıvısının dokuya geçmesi teorisi kabul edilmektedir (12,13).

Mekanizması ne olursa olsun pankreas içindeki inaktif proenzim içeren zimogenlerin uygunsuz aktivasyonu asiner hücrelerde hasar meydana getirir. İntra-asiner seviyede tripsinojenden tripsinin oluşması, diğer proenzimlerinde aktifleşmesine ve pankreatit patogenezindeki bir çok olayın başlamasına neden olur. Tripsinojen aktive edici pepdit (TAP), tripsinojenin N terminal bölgesinde yer alan küçük bir pepdittir ve hidrolizi ile tripsinojen aktive olmaktadır (14). Frossard ve arkadaşları tarafından TAP'ın akut pankreatitte hastalığın şiddetiyle ilişkili iyi bir marker olduğu belirtilmiştir (1).

Sebepler ne olursa olsun, pankreatik enzimler aktive olursa lokal inflamatuvar bir cevap oluşur ve pankreas kendini sindirmeye başlar. Bu inflamatuvar süreç, akut pankreatitin morbite ve mortalitesinden sorumlu çoklu organ yetmezliği ile sonuçlanan, sistemik inflamatuvar cevap sendromuna kadar ilerleyebilir (15).

Son zamanlarda akut pankreatitin patogenezi çeşitli hayvan deneylerinde hücresel düzeyde araştırılmaya başlanmıştır. Canlıların çoğu yaşamını devam ettirmek için moleküler oksijene ihtiyaç duyar. Metabolizma sırasında moleküler oksijenin tek elektron ile tam olmayan indirgenmesi sonucu, oksijenin reaktif ve toksik ürünleri olan serbest oksijen radikalleri oluşur. Bu radikallere karşı aerobik canlılarda enzimatik bir koruma mekanizması mevcuttur. Oksijen radikalleri özellikle de en reaktif ve kısa ömürlü olan hidroksil radikali, proteinler, polisakkaritler, lipidler ve nükleik asitler gibi biyolojik maddelerle reaksiyona girerler. Malondialdehid (MDA), oksidatif stress sonucu gelişen lipidlerin peroksidasyon hasarının son ürünü olup, luminal oksidatif stresin hücre stoplazma düzeyi göstergesi olarak kullanılmaktadır. Membran bileşenlerinin çok büyük kısmını poliansatüre yağ asitleri oluşturur ve bunun serbest radikallerle tepkimeye girmesi lipid

peroksidasyonuna ve hücre ölümüne yol açar. Bu hasarın pankreastaki kapillerlerin endotel tabakasına etkisi sonucu permabilite artışı, doku ödemi ve hücrelerin ekstravazasyonuna sebep olur (15). Pankreastaki bu etki, akut pankreatitte enflamasyonun en erken bulgusu olan mikrosirkülasyon bozukluğuna sonrasında da dolaşımdaki monosit ve nötrofillerin göçüne neden olur. Lökositler kapiller duvarına yapışır ve bazen bütün damarı tıkayabilir, böylece mikrosirkülatur dolaşımı daha da bozarlar. Ayrıca gelen lökositler çeşitli enzimleri (myeloperoksidaz, elastaz, nötral ve asit proteazlar gibi...), prostaglandinleri ve lökotrien metabolitlerini salgılayarak enflamasyonun büyümesine katkıda bulunurlar. Oksijen radikallerinin pankreastaki etkileri en sık cerulein ile indüklenen deneysel pankreatit modellerinde çalışılmıştır. Cerulein ile indüklenen pankreatitin histolojik görünümü insanlardaki akut ödematöz pankreatitin erken dönemini taklit eder (16). Bu reaktif oksijen radikallerinin doğrudan ve dolaylı etkileri neticesinde onları akut pankreatitte inflamatuvar sürecin moleküler düzeyde hem tetikçisi hem de şiddetinin artmasında aracı mediyatör yapmıştır.

Diğer taraftan sitokinlerin tanımlanması ve rollerinin daha iyi anlaşılması akut pankreatit patogenezinde başka bir boyut getirmiştir. Deneysel çalışmalar akut pankreatitte hasarın IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α gibi proinflamatuvar araçlar ve nötrofil, makrofaj, lenfositler gibi inflamatuvar hücrelerin aktivasyonu ile oluştuğunu göstermektedir (1). İnflamasyon bölgesine göç eden aktive makrofajlardan salınan TNF- α , IL-1 akut pankreatitte ilk sıra sitokinlerdir ve inflamasyonun şiddetini artırır. Nitekim deneysel akut pankreatit modellerinde yüksek TNF- α ve IL-1 seviyeleri tespit edilmiş ve IL-1 reseptör antagonistleri, IL-1 dönüştürücü enzim blokerleri veya TNF- α antagonistleri kullanılarak akut pankreatitin şiddetinin azaldığı gösterilmiştir (17). Hastalarda TNF- α ve IL-1 seviyeleri klinik ile uyumlu olmayabilir. Bu durum TNF- α 'nın karaciğerde klirensinin hızlı olmasına, çözünebilir TNF- α reseptörü, IL-1 reseptör antagonistleri gibi doğal üretilen düzenleyicilerin varlığına bağlı olabilir. Çözünebilir TNF- α reseptörleri bu etkisinin yanısıra TNF- α 'yı da bağlayarak yapısını sağlamlaştırır ve böylece pankreatitin lokal inflamatuvar etkilerini daha

ilerilere taşıyarak sistemik inflamatuvar yanıt oluşmasını sağlar. IL-6'nın akut faz cevabının primer indükleyicisi olduğu bilinmektedir ve dolaşımdaki seviyeleri akut pankreatitin 24-48 saatleri arasında maksimuma ulaşır. IL-8 de göç eden makrofajlar, nötrofiller hatta endotel hücrelerinden salgılanır ve nötrofil kemotaksisi yanı sıra enzim salınmasını da uyararak doku yıkımına neden olur. Hem IL-6 hem IL-8 akut pankreatitte hastalığın seyri ve komplikasyonlardan sorumludur (17).

Tümör Nekrozis Faktör Alfa

İlk olarak 1975'de Carswell ve arkadaşları tarafından çeşitli tümörlerde endotoksin ile indüklenmiş nekroza aracılık eden bir madde olarak tanımlanan TNF- α inflamatuvar cevabın başlamasında anahtar rol oynar. Başta aktive makrofajlar olmak üzere, B hücreleri, T hücreleri, NK hücreleri, keratinositler, astrositler, fibroblastlar, eozinofiller ve epitelyal hücreler tarafından salınır (18,19). Gukovskaya ve arkadaşları tarafından hem rat pankreasında hem de dağılık pankreatik asinüs kültürlerinde TNF- α mRNA'sının eksprese edildiği, TNF- α üretildiği ve salındığı gösterilmiştir (19).

TNF- α 'nın matür formu 157 aminoaside sahip, 20-50kDa molekül ağırlığında homotrimer yapıdadır (18). Hücre membranlarında Tip1 (55kDa;p55) ve Tip2 (75kDa;p75) olmak üzere iki adet reseptörü bulunur (20). Tip 2 reseptörü daha yüksek affiniteye sahiptir. Tip1 reseptörü, sitotoksik aktiviteyi ve fibroblast proliferasyonunu hızlandırır. Tip 2 reseptörü ise T hücrelerinin proliferasyonunu hızlandırır (18). TNF- α 'nın membrana bağlı bu reseptörlerinden proteolitik ayrılma ile çözünebilir reseptörleri (sTNF-Rs) oluşur (6,17). Bu çözünebilir reseptörlerin inflamatuvar süreçte kesin rolü tam olarak anlaşılmasa da hücre yüzey reseptörleri ile yarışarak antagonist etki, TNF- α 'yı bozunmadan koruyarak ise agonist etki yapar (17). Agonist etki TNF- α 'nın timerik yapısını kuvvetlendirerek yarı ömrünü uzatır ve eksprese olduğu hücrelerden çok uzakta etkilerinin oluşmasına aracılık eder. Bu durum TNF- α 'nın pankreatitdeki sistemik etkilerinden sorumludur (6,20).

TNF- α 'nın infüzyonu farelerde tipik olarak septik şok benzeri tabloya neden olabilir. TNF- α geninin ortadan kaldırılmasının farelerde endotoksik şoka dirençli bir fenotip oluşturduğu gösterilmiştir (18). Klinik ve deneysel çalışmalar ile akut pankreatitli hastalarda artmış serum TNF- α ve çözünebilir reseptörü gösterilmiş ve bunlarında hastalığın şiddeti ile orantılı olduğu ortaya konmuştur (21). Ayrıca dolaşımdaki TNF- α bloke edildiğinde pankreatitin sistemik etkilerinin şiddetinin azaldığı bildirilmiştir (20). Ancak yapılan bir çalışmada artmış TNF- α 'nın hastaların %29-38'inde gösterilememesinin nedeninin karaciğerdeki klirens hızıyla ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür. Bu nedenle hastalığın şiddetini göstermede çözünebilir TNF- α reseptör düzeyi TNF- α 'ya göre daha güvenilirdir. TNF- α düzeylerinin saptanamadığı durumlarda TNF- α reseptör düzeyinin organ yetmezliğinin belirleyicisi olabileceği gösterilmiştir (1,17).

Patoloji

Akut pankreatit gelişme sürecinde ilk gözlenen değişiklikler, pankreasın interstisyel septumu boyunca yer alan yağ dokusunda nekroz ve az miktarda lökosit infiltrasyonu şeklindedir. Asiner hücreler genellikle sağlamdır. İnterstisyumda ödem ve hücre infiltrasyonu ile karakterize histopatolojik değişiklikler oluşur. Bu tablo ödematöz pankreatit olarak adlandırılır. Olguların % 70-80'inde patoloji bu haliyle sınırlı kalma eğilimi gösterir. Olaya glandüler hücreler ve yağ dokusunun koagülasyon nekrozu eklenirse nekrotizan pankreatit tablosu gelişir. Nekroz pankreasın tümünü uniform olarak tutmayabilir. Nekrotik alanlar arasındaki sağlam bölgeler pankreasa benekli bir görünüm kazandırır. Damar duvarlarının aktive elastaz nedeniyle tahrip olması sonucu hemorajik pankreatit gelişir. Hemoraji dokuları diseke ederek cilt altına kadar ulaşabilir. Ölü dokular, pankreatik sıvı, kan ve yağ damlacıkları pankreas içinde veya kenarında birikerek psödokistlere neden olur. Aktive olmuş pankreas enzimleri ve inflamatuvar hücrelerin peritona irritatif etkileri sonucu sıvı kolleksiyonu gelişebilir. Nekrotik materyal ve pankreas sıvısı içeren kolleksiyonların infekte olması sonucu pankreas apseleri gelişebilir. Pankreas apseleri, infekte psödokistler ve infekte nekroz ayrı histopatolojik durumları temsil ederler (10).

Akut pankreatite neden olan olay ne olursa olsun klinik tablo aynıdır. Akut pankreatitte patolojik lezyonlar iki gruba ayrılır (22).

Akut Ödematöz Pankreatit

Makroskopik olarak çevredeki mezenter ve omentumda beyazımsı gri renkli sert yağ nekrozu alanları görülebilir. Ancak yağ nekrozu fazla değildir ve mikroskopik düzeyde kalır. Genellikle karın içinde açık pembe renkli bir sıvı vardır. Mikroskopik olarak pankreas lobülleri buzlu cam görünümü almıştır ve içleri inflamatuvar hücrelerle, özellikle PNL'ler ile doludur. Asiner hücreler genellikle bozulmamıştır. Ultrastrüktürel incelemede asini hücrelerinin lümen kenarındaki mikrovillilerinin kaybolduğu, endoplazmik retikulum ve mitokondrilerinin bozulduğu görülür. Enzimleri depolayan zimojen granüllerin membranları sağlam olup büyüklük ve dansiteleri normaldir. Kapiller ve lenfatikler genişlemiş olabilir, ancak tromboz görülmez (10,22).

Akut Nekrotizan Pankreatit

Akut nekrotizan pankreatitte morfoloji pankreasa salınan aktif pankreas enzimlerinin etkisine direkt olarak bağlıdır. Makroskopik olarak gland şişmiş ve büyümüştür. Retroperitoneal alanda, duodenum, kolon ve mide gibi komşu organlarda belirgin ödem vardır. Karın üst bölümünde yaygın yağ nekrozları saptanır. Pankreatitin ağırlığına paralel olarak pankreas boşluğunda kirli kahverengi-siyah renkli bir sıvı bulunur. Ağır olgularda retroperitoneal bölgede kolon mezosu ve dalak pedikülünde kanamalar saptanır. Mikroskopik olarak pankreasın tümü nekroze olabileceği gibi, yer yer normal ve nekroze pankreas yanyana da görülebilir. Nekroz için sabit bir bulgu asini lobüllerini besleyen kapillerler, arterioller ve venüllerdeki tıkanmalardır. Nekroz alanlarının yanısıra mononükleer hücre infiltrasyonunun olduğu ödemli alanlar da görülür (10,22).

Tanı

İyi bir anamnez ve fizik muayene sonucunda akut pankreatit tanısı genellikle akla gelir. Ancak laboratuvar ve radyolojik görüntüleme

yöntemleriyle tanının doğrulanması gerekir. Bu tezin konusu dışında olduğu için radyolojik yöntemlerden bahsedilmeyecektir.

Laboratuvar Yöntemleri

Akut pankreatit tanısında kullanılan çok sayıda biyokimyasal parametre mevcuttur.

Amilaz

Akut pankreatit atağının ilk 2-12 saati arasında hızla yükselir ve 3-5 gün içinde yavaşça normal seviyesine döner. Akut pankreatit kliniği olan bir olguda serum amilaz seviyesinin 3-4 kat artması tanıyı koymada önemli bir kriterdir. Amilaz düzeyi ile hastalığın prognozu arasında bir ilişki yoktur. Gerçekten de mortalite ile sonlanan akut pankreatit olgularının %10 kadarında serum amilaz düzeyi normal bulunmuştur (11). Safra yollarında taşa bağlı akut pankreatit gelişen olgularda, alkolik pankreatitlere kıyasla amilaz düzeyleri daha yüksektir. Ayrıca hipertrigliseridemi olan akut pankreatitli hastalarda serumdaki inhibitörlere bağlı amilaz düşük tespit edilebilir (11,23).

Amilaz tayini ucuz ve pratik bir yöntem olmasına rağmen pankreas dokusuna özgünlüğü zayıftır. Total serum amilazının ancak %40'nı pankreas izoamilazı oluşturur. Serum amilazının yükselmesi akut pankreatit tanısı için değerli olsa da, hiperamilazemi akut pankreatit dışı nedenlerde de oluşabilir.

Akut pankreatitte idrar amilazı serum amilazından daha erken yükselir ve daha geç düşer. Akut pankreatitin erken dönemlerinde böbrek tubülüslerinden amilaz reabsorbsiyonunda azalma görülür. Bu durum amilaz klirensinde artışa yol açar. Dolayısıyla akut pankreatitin erken evresinde renal amilaz klirensi kreatinin klirensine göre artış gösterir. Bu değer normalde %1-4, iken akut pankreatitte %4'den daha yüksektir (23).

Lipaz

Trigliseridleri digliseridlere ve yağ asitlerine parçalayan lipaz, ekzokrin pankreasta asiner hücreler tarafından salgılanır ve salgılandığı anda aktive olur. Moleküler ağırlığı amilaza yakındır. Glomerüler filtrasyondan sonra tamamen emildiği için idrarda görülmez. Akut pankreatitli olgularda serum lipaz düzeyi olguların % 87'sinde yüksek bulunur. Amilazdan daha spesifiktir. Ancak akut kolesistit, peptik ülser perforasyonu, mezenter emboli, inflamatuvar ve perfore barsak gibi hastalıklarda da yükselebilir (11). Serum lipaz yüksekliği amilaz yüksekliğinden daha uzun süre devam ettiği için klinik tanısı geç konan hastalarda daha yararlı bir parametredir (11,23). Lipaz, alkolik pankreatitte biliyer pankreatite oranla, amilazdan daha fazla artış göstermektedir.

C Reaktif Protein

İlk kez 1930 yılında Tillet ve Francis tarafından, pnömonili hastalarda pnömokokun karbonhidrat maddesine karşı oluşmuş bir protein "karbonhidrat reaktif protein" olarak tanımlanmıştır (1,18). Hepatositler tarafından salınan bir akut faz reaktanıdır. Beş subünitten oluşan 105 kDa'luk bir polipeptittir (18). Nedenden bağımsız olarak tüm akut pankreatitlerde artar. 120mg/L'nin üzerindeki değerler pankreatik nekrozu %67-100 oranında saptayabilir. Ancak bir çok çalışmada CRP için sınır değer 150mg/L'nin üzeridir (1). CRP hastalığın şiddetini tahminde iyi bir belirteç olsada, plazmada belirlenmesi için 24-48 saat gibi bir gecikme dezavantajdır.

Laktik Dehidrogenaz

Hücre sitoplazmasında yerleşmiş bir enzimdir. Pirüvatın laktata çevrilmesinde görevlidir. Hücre hasarının olduğu her durumda artar. Laktik dehidrogenazın 5 farklı izoenzimi vardır ve akut pankreatitte LDH4, LDH5 izoenzimlerinin miktarı artar. Amilazın yanı sıra LDH'nin erken dönemde yüksek bulunması spesifik olmamakla beraber akut pankreatit tanısında yardımcıdır (24).

Akut pankreatitte Ranson skorundaki 11 kriterden biridir (25,26). Bu nedenle tanı yanı sıra prognoz açısından da önemlidir.

Kalsiyum

Hipokalsemi, hastaların %30'unda hastalığın başlangıcından 2-3 gün sonra rastlanılan bir bulgudur. Serum albumin seviyesinde azalma, yağ nekrozu olan bölgelerde yağ asitlerinin aracılığı ile kalsiyumun sabunlaşarak çökmesi hipokalsemiden sorumludur. Hastalık iyileştikten sonra hipokalsemi birkaç hafta daha devam edebilir ve nadiren tedavi gerektirir. Kalsiyumun 8mg/dl altında olması kötü prognozu gösterir (11).

Hiperglisemi

Hafif ve geçici hiperglisemi akut pankreatitte sık görülen bir bulgudur. Pankreasta glukagon salınımının artması, insülin salınımının azalması ve adrenal glukortikoid, katekolamin salınımında artma hipergliseminin nedenidir. Kan şekerinin 200mg/dl üzerinde bulunması yaygın pankreatik nekroz ve kötü prognozu düşündürür (11).

Hipertrigliseridemi

Hastaların %15-20'sinde hipertrigliseridemi gelişir. Özellikle alkolik nedenli pankreatitler başta olmak üzere pankreatit atağı sırasında hastaların serumları süte benzer görünümündedir. Bu olay pankreas kapiller dolaşımdaki fazla miktar toksik yağ asitlerinin lipaz ile serbestleşmesiyle olur. Trigliserid düzeyi 1700-2000mg/dl civarındadır. Kolesterol düzeyleri normal veya hafif yüksektir. Serumun süte benzer görünümü 5-7 gün içinde normale döner (11).

Bilirubin

Serum bilirubinlerinde hafif artış akut pankreatitli olgularda sık görülen bir bulgudur. Koledok kanalının intrapankreatik kısmına olan basıyı gösterir. Serum bilirubin değerinin 2,5mg/dl üzerine çıkması koledokolitiazis olasılığını akla getirmelidir (11).

ADALİMUMAB

Kimyasal ismi: LU200134, laboratuvar ismi: D2E7 olan adalimumab (HUMİRA ®, Abbott, Almanya): 148,108± 8 kDa molekül ağırlığındadır. Protein yapısı 214 aa' den oluşan hafif zincir ve 451aa' den oluşan ağır zincirden meydana gelir. Ağır zincirde 4 adet, hafif zincirde 2 adet disülfid köprüleri mevcuttur.

Faj görüntüleme teknolojisiyle adalimumabın ağır ve hafif zinciri için genler içeren bir plazmidin Çin'li hamster yumurta hücrelerine transfeke edilmesiyle, stabil klonlar şeklinde genetik olarak üretilmiştir. Diğer humanize antikolar insan dizi elementlerinde gömülü murin serilere sahipken adalimumab, TNF- α 'ya karşı oluşmuş tam bir insan recombinant antikordur. Doğal insan IgG1'den yapısal ve işlevsel olarak ayırt edilemez (7,27).

Farmakodinamik

Adalimumab, hem membrana bağlı hem de çözünebilir TNF- α 'yı bağlar. TNF- α için yüksek spesifite ve affinite gösterir (çözünme sabiti=6x10mmol/L). Lenfotoksin- α eski adıyla TNF- β dahil diğer sitokinlere bağlanmaz (28).

TNF- α , romatoid artrit (RA), juvenil idiyopatik artrit(JIA), psoriatik artrit (PsA), ankilozan spondilit (AS), Crohn hastalığı (CD) ve psoriasis(Ps) gibi bir çok inflamatuvar ve immünolojik hastalığın patogenezinde rol oynayan sitokindir. Etki edebilmesi için membrana tutunmuş reseptörlere bağlanması gerekir (29). Adalimumabın TNF- α 'ya bağlanmasıyla membrana tutunmuş reseptörleriyle etkileşimi gerçekleşemez ve biyolojik fonksiyonu nötralize olur.

Adalimumab TNF- α 'ya bağlanarak klasik kompleman yolağını aktive eder ve antikor bağımlı hücre aracılı sitotoksiteyi başlatır. Böylece membranından TNF- α exprese eden hücrelerde apoptozu indükler ve hücre yıkımına neden olur (7,30). Bir çalışmada şiddetli kombine immün yetmezliği olan farelerde in vivo ve in vitro olarak adalimumabın monosit hücre dizilerinin kaspaz 3 aracılı apoptozunu indüklediği ve etkilerinin fareye eş zamanlı verilen bir kaspaz inhibitörüyle geri döndürülebileceği gösterilmiştir. Aynı zamanda doku metalloproteinaz inhibitörü-1'in üretimini ve

miyofibroblastların göçünü de artırarak dokularda yara iyileşmesini kolaylaştırdığının gösterilmesi adalimumabın inflamatuvar hastalıklarda doku hasarını azaltabileceğinin kanıtıdır (31).

Farmakokinetik

Adalimumabın insan IgG1 ile kıyaslanabilir ortalama bir yarı ömrü vardır (29). Yapılan çalışmalarda 15-19 gün(ortalama:14 gün) gibi yarı ömrünün uzun olarak tespit edilmesi iki haftada bir uygulanmasına olanak sağlar (28,32).

Adalimumab için Cmax (zirve değer) infüzyonun tamamlanmasından hemen sonra ortaya çıkmaktadır. Ortalama plazma konsantrasyonu, Cmax ve AUC (konsantrasyon - zaman eğrisi altındaki bölge) değerleri dozdaki bir artışla birlikte orantılı olarak artmaktadır. Adalimumabın CL (total serum klirensi) düşüktür (0,009-0,012) ve doza bağlı değildir. Adalimumabın CL'sine yaşın ve uygulanan dozun etkisi yoktur. Ortalama adalimumab Vss (Sabit durumdaki dağılımın açık volümü)'si dozdan bağımsızdır ve 5,10'dan 5,75L'ye kadar değişiklik gösterir. Bu da ilacın hem vasküler hem de ekstravasküler alanlara iyi dağıldığını gösterir (28,32).

Aktif RA'li hastalarda yapılan çok merkezli ve plasebo kontrollü bir çalışmada metotreksata adalimumab eklenmesinin tek başına metotreksata göre anlamlı radyografik, klinik ve fonksiyonel yarar sağladığı gösterilmiştir (29). Metotreksat ve adalimumabın ortak kullanımında 2 ajan arasında farmakokinetik etkileşimin olmadığı ve doz ayarlamalarına ihtiyaç duyulmadığı gösterilmiştir (28).

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu (2009/005) tarafından onaylanmış olup, Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Ünitesinde gerçekleştirilmiştir.

HAYVANLAR

Çalışmada 150–180 gr ağırlığında, 32 adet dişi, Wistar albino rat kullanıldı. Hayvanlara deney süresince standart rat yemi ve ad libitum olarak su verildi ve ısı kontrollü ortamda bakıldı. Ratlar işlemden önce 24 saat aç bırakıldı.

DENEY DÜZENİ

Akut pankreatit oluşturmak için pankreatik kanala, retrograd ductal injeksiyon modeline göre % 3 sodyum (Na) taurokolat (0.1ml/100g) (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) verildi (33,34).

Rastgele olarak 8 hayvanlık 4 grup yapıldı. Grup I ve grup II'ye 1 ml/kg dozda serum fizyolojik içerisinde çözdürülmüş %3 sodyum taurokolat (Sigma, T-9034) solüsyonu verilerek akut pankreatit oluşturuldu (33). Grup I'deki ratlar adalimumab (HUMİRA ®, Abbott,Almanya) ile tedaviye alındı (35). Gruplar tablo 1'deki gibi düzenlendi.

(Tablo-1) Deney düzenindeki gruplar ve işlemler

GRUP	YAPILAN İŞLEM
Grup-I	Pankreatit + anti-TNF +24 saat sonra inceleme
Grup-II	Pankreatit + 24 saat sonra inceleme
Grup-III	Pankreatik kanülasyonla taurokolat çözücüsü + 24 saat sonra inceleme
Grup-IV	24 saat sonra inceleme

Bütün ratlara 10mg/kg dozda xylazine hidroklorid (Rhompun®, Bayer, İstanbul) ve 60-100 mg/kg dozda ketamin (Ketalar®, Eczacıbaşı Warner-Lambert, İstanbul) anestezisi altında steril koşullarda laparotomi uygulandı.

Abdomen midline insizyonla açıldı. Duodenum bulunarak biliopankreatik kanal yoluyla manuplasyon gerçekleştirildi. Bu amaçla duodenum seromusküler tabakası, anti mezenterik bölgede bilier kanal girişinin 2–3 mm uzağından, 27-gouge iğne (introcán-w, Braun; inner diameter 7 mm) ile delindi. Duodenum ve biliyer kanalın perforasyon olmamasına dikkat edilerek iğne yerleştirildi. Steril % 3 sodyum taurokolat 1 ml/kg dozunda infüze edildi ve iğne çekildi. Abdomen steril koşullarda kapatıldı. Ratlara 1 ml/100gr olmak üzere serum fizyolojik sıvı replasmanı amacıyla verildi. Gruplardaki hayvanlara adalimumab uygulandı. Bütün gruplarda 24 saat sonunda hayvanlardan anestezi altında kardiyak kan örnekleri alındı ve ardından ötenazi edildi. Kan örnekleri 3000 rpm/10 dakika santrifüj edildi ve -20°C’de dondurularak enzim analizleri için saklandı. Hayvanlardan patolojik inceleme ve MDA-MPO analizleri için pankreas dokuları %10 formaldehid içerisinde tespit edildi.

BİYOKİMYASAL İNCELEME

Amilaz ve LDH ölçümleri Idexx vettest kitleri ile otoanalizörde rat için spesifik kitler kullanılarak kuru yöntemle incelendi.

HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Alınan pankreas örnekleri %10 formaldehit içerisinde tespit edilerek rutin takip prosedüründen sonra parafine gömüldü. Mikrotom ile 5 µm kalınlığında kesilen doku örnekleri hematoxylin-eosin (HE) ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Patolojik bulgular Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında değerlendirildi. Histopatolojik değerlendirmede ödem, kanama, infiltrasyon, nekroz, fibrozis ve rejenerasyonlar gibi patolojik lezyonlar 0-3 arasında skorlandı. Histopatolojik bulgular Nikon E-600 model mikrofotografi ataçmanlı mikroskop ile fotoğraflandı.

Malondialdehid Analizi

Pankreas dokularındaki Malondialdehid (MDA) düzeyleri Draper ve Hadley’in çift ısıtma yöntemi ile saptandı (36).

Miyeloperoksidaz Aktivitesi Ölçümü

Dokuda PNL birikiminin hassas bir göstergesi olan miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi, miyeloperoksidazın katalize ettiği, H₂O₂ bağımlı tetrametylbenzidine oksidasyonu kullanılarak saptandı (37).

İSTATİSTİKSEL İNCELEME

Çalışmada elde edilen bulguların istatistiksel analizleri için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 10.0 programı kullanıldı. Kan biyokimyasal analizleri, arasındaki farklar parametrik analizlerle test edildi. İstatistik analiz için One-way Anova ve Duncan testleri kullanıldı. Elde edilen verilere göre gruplar arasındaki farklar tablolaştırıldı ve her parametreye ait farklar grafikler haline getirildi.

BULGULAR

Akut pankreatit oluşturulduktan sonra anesteziden çıkan fakat tedavi edilmeyen grupta belirgin şekilde tüylerde kabarma, sırtta kamburlaşma, hareketlerde azalma ve karında sıvı toplanması sebebiyle gerginlik ve yere sürtünme gibi bulgular saptandı. Bulgular tedavi uygulanan gruptaki ratlarda çok hafifti ve bazıları ise tamamen normal hareketler gösteriyorlardı. Karın boşluğu açıldığında tedavi uygulanmayan gruptaki ratlarda belirgin asit sıvısı saptandı (Şekil-3). Bu sıvı genellikle kanlı ve bulanık, bazı ratlarda ise sarımsı renkli ve seröz görünümdeydi. Sıvı birikimin fazla olduğu hayvanlarda diyaframa basınçtan dolayı solunum güçlüğü semptomları belirgindi. Durumu şiddetlenen ratların ise arka ayakları üzerinde oturur pozisyonda nefes almaya çalıştıkları dikkati çekti. Bu bulguların ilaç uygulanan gruptaki ratların çoğunda hiç gözlenmediği, birkaç ratta ise hafif olduğu görüldü.

Pankreatit oluşturulan ratların birçoğunda pankreas üzerinde beyazımsı renkli küçük nekroz odakları dikkati çekti. Damarlar hiperemik görünümdeydi ve tedavi uygulanmayan ratlarda daha şiddetli olmak üzere kanamalara ve yer yer nekrozlara rastlandı (Şekil 1-2). Bütün hayvanlarda pankreas ve çevre dokularda ödem görülmekle birlikte, bu bulgular tedavi grubunda daha hafifti ($p<0,001$). Hiçbir ratta operasyon ile ilgili komplikasyonlara rastlanmadı.



(Şekil-1): Tedavi almayan pankreatit grubundan bir ratın pankreasının görünümü, nekrotik odaklar ve yer yer hemorajiler.



(Şekil-2) Tedavi alan gruptan bir ratın pankreasındaki daha küçük nekroz alanları.



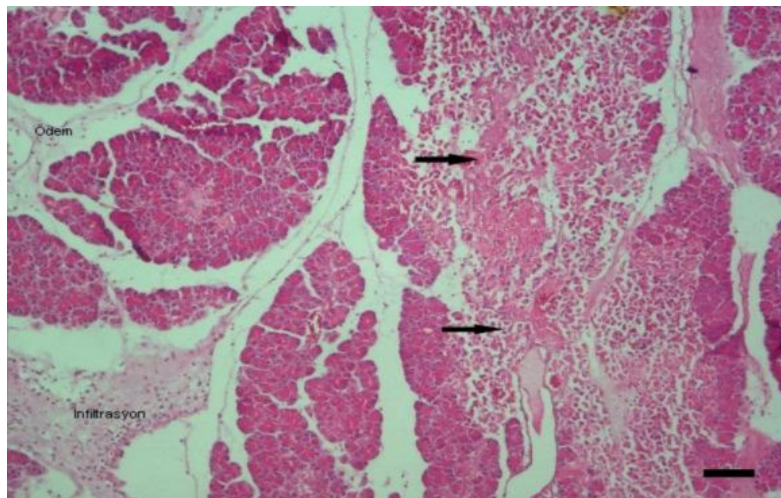
(Şekil-3) Tedavi almayan gruptan bir ratın karın boşluğunda hemorajik asit sıvısı.

Histopatolojik inceleme için pankreas dokuları daha önceki çalışmalardan adapte edilen parametrelere göre incelendi (38,39). Pankreatitin şiddeti ödem, kanama, lökosit infiltrasyonu, parankimal nekroz, yağ nekrozu ve fibrozise göre skorlandı (Tablo-2). Ödem ve hemoraji lokalize oldukları bölgelere göre intertubular veya interglandular olarak değerlendirildi. Lökosit infiltrasyonu, parankimal nekroz ve fibrosis etkilenen lobül sayısına göre, yağ nekrozu ise peripankreatik dokudaki yoğunluğuna göre skorlandı.

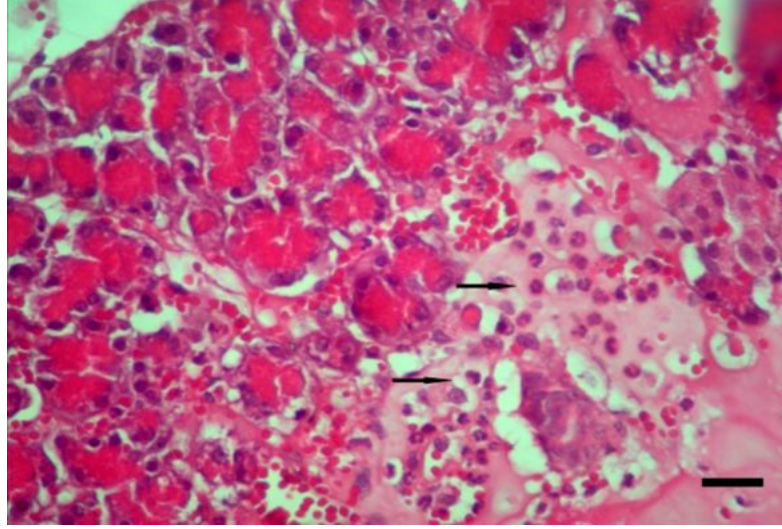
(Tablo-2) Histopatolojik lezyon skorları

	0	1	2	3
Ödem	Gözlenmedi	Hafif –interlobüler	Orta şiddette- interglandüler	Şiddetli- interglandüler
Kanama	Gözlenmedi	Hafif	Orta şiddette	Şiddetli
Lökosit infiltrasyonu	Gözlenmedi	Hafif 1-2 lobülde	Orta şiddette 3-4 lobülde sınırlı	Şiddetli- 4'ten fazla lobülde yaygın
Parankim nekrozu	Gözlenmedi	1-2 lobülde	3-4 lobülde	4'ten fazla lobülde yaygın
Yağ nekrozu	Gözlenmedi	Hafif	Orta şiddette	Şiddetli
Fibrozis	Gözlenmedi	1-2 lobülde	3-4 lobülde sınırlı	4'ten fazla lobülde yaygın

Histopatolojik inceleme sonucunda grup I ve grup II'deki bütün hayvanlarda pankreatit geliştiği kesin olarak belirlendi ve en sık gözlenen lezyonların kanama ve parankimal nekrozlar olduğu saptandı (Şekil-4). Grup III ve Grup IV'deki hayvanların pankreasları normal görünümdeydi. Ödem, kanama, nekroz ve lökosit infiltrasyonu pankreatit yapılan fakat tedavi uygulanmayan grupta (Grup II) oldukça şiddetli şekillenirken, adalimumab tedavisi uygulanan grupta (grup I) nekroz ve infiltrasyonlarda belirgin şekilde azalma dikkati çekti ($P<0,001$). Kanamalar ilaç uygulanan gruptaki bazı ratlarda şiddetli olarak gözlemlendi, ancak bu hayvanlarda bile infiltrasyon ve nekrozlarda belirgin şekilde azalma saptandı ($p<0,001$) (Şekil-5).



(Şekil-4) İlaç uygulanmayan grupta şiddetli ve yaygın pankreatit, nekrozlar (oklar), şiddetli nörofil infiltrasyonu ve ödem, HE, Bar=400µm.



(Şekil-5) İlaç uygulanan gruptaki bir ratın pankreasında hafif nötrofil infiltrasyonu olmasına rağmen asiner nekroz görülüyor, HE, Bar= 50µm.

Pankreasın histopatolojik yoklaması adalimumab ile tedavinin akut pankreatit üzerine iyileştirici etkiye sahip olduğunu gösterdi. Gruplar arası farklar istatistiksel olarak da anlamlı bulundu (Tablo-3).

(Tablo-3) Histopatolojik kriterlerin gruplara göre dağılımı

	İ grubu	P grubu	Ş grubu	P değeri
Ödem	0,41±0,07 ^a	0,56±0,06 ^a	0,00±0,00 ^b	P<0,001***
Kanama	0,34±0,08 ^a	0,45±0,05 ^a	0,00±0,00 ^b	P<0,001***
Parankim nekrozu	0,28±0,05 ^a	0,71±0,05 ^b	0,00±0,00 ^c	P<0,001***
İnfiltrasyon	0,18±0,04 ^a	0,58±0,09 ^b	0,00±0,00 ^c	P<0,001***
Yağ nekrozu	0,03±0,02 ^a	0,30±0,05 ^b	0,00±0,00 ^a	P<0,001***

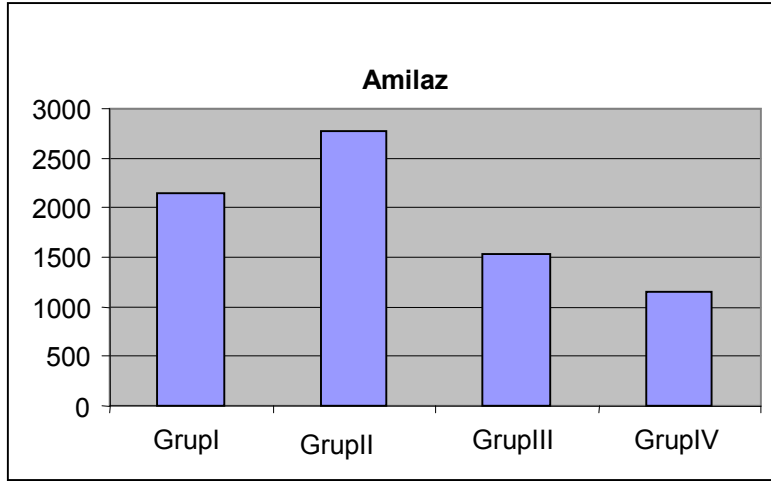
^{a,b,c}: Gruplar arasındaki ortalama değerlerin önemli derecede farklı olduğunu belirtmektedir. (p<0.001, p<0.01 ve p<0.05 önemli, p>0.05 önemsiz).

Adalimumab ile tedavi edilen ve edilmeyen grupta normal rat değerleri ile karşılaştırıldığında yüksek amilaz ve LDH değerleri saptandı. Değerler, tedavi grubunda tedavi almayan gruba göre daha düşük bulundu (p<0,001). Pankreas dokusunda MDA ve MPO düzeyleri adalimumab ile tedavi alan grupta tedavi almayan pankreatit grubuna göre anlamlı derecede daha düşük saptandı. Gruplar arasındaki farkların amilaz, LDH, MPO, MDA ve toplu histopatolojik incelemelere göre yapılan istatistik analizi Tablo 4’de verilip grafiklerde gösterilmiştir (Şekil-6,7,8,9,10).

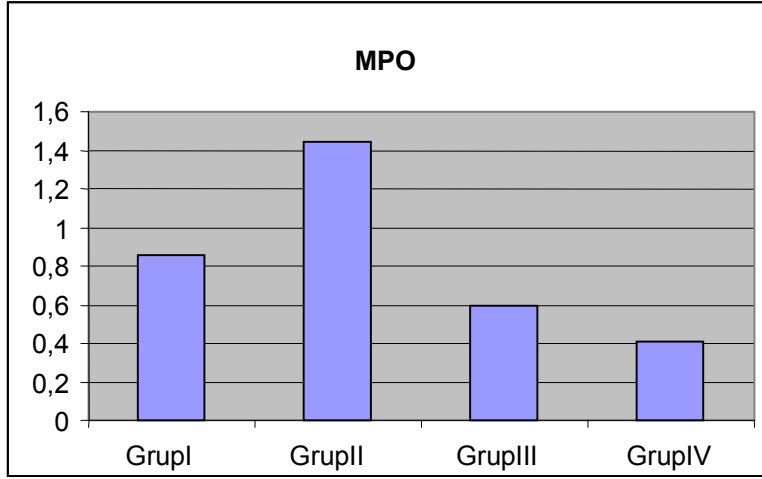
(Tablo-4) Biyokimyasal ve histopatolojik bulguların istatistik analiz sonuçları

	Histopatoloji	Amlaz	LDH	MPO	MDA
GRUP I	1,50±0,19 ^a	2143,13±221,69 ^{ab}	2582,75±164,23 ^a	0,86±0,01 ^a	7,66±2,27 ^a
GRUP II	2,75±0,16 ^b	2778,25±298,80 ^b	2778,25±298,80 ^a	1,44±0,20 ^b	16,94±3,98 ^b
GRUP III	0,00±0,00 ^c	1541,00±148,39 ^{ac}	2431,25±135,93 ^a	0,60±0,17 ^c	9,07±1,00 ^a
GRUP IV	0,00±0,00 ^c	1143,00±256,30 ^c	582,62±99,37 ^b	0,41±0,007 ^a	3,58±0,30 ^a
P DEĞERİ	p<0,001***	p<0,001***	p<0,001***	p<0,001***	P<0,01**

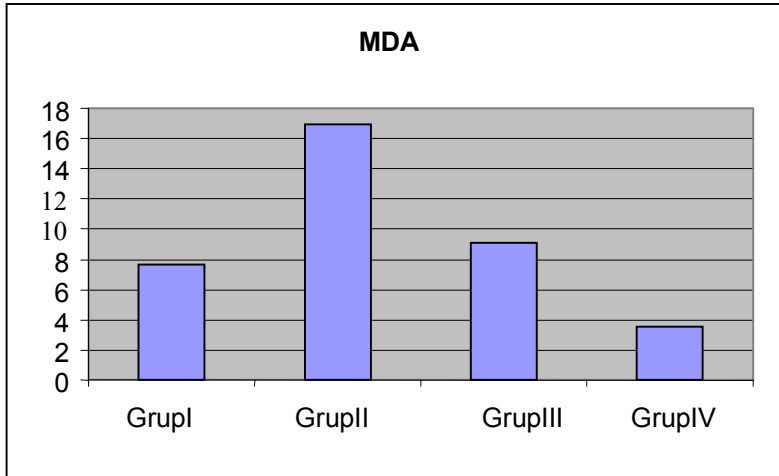
^{a, b, c} : Ortalama değerlerin gruplar arasında önemli derecede farklı olduğunu belirtmektedir. , (p<0.001, p<0.01 ve p<0.05 önemli)



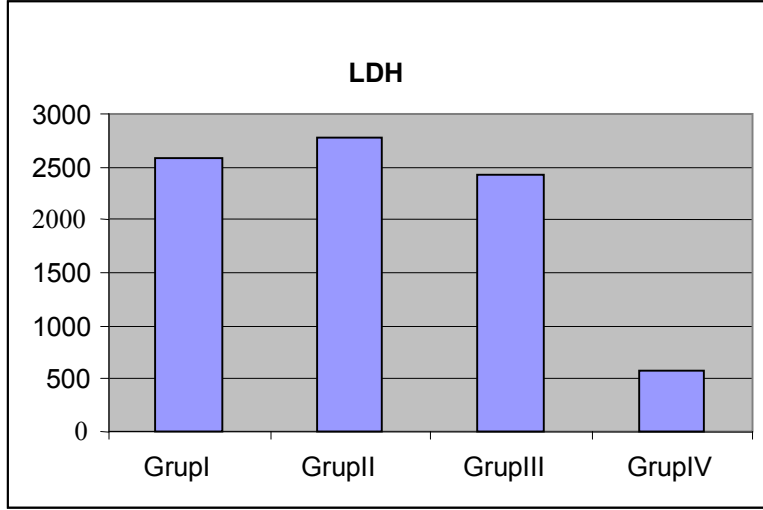
(Şekil-6) Serum amilaz düzeylerinin grup ortalamalarına göre grafiği



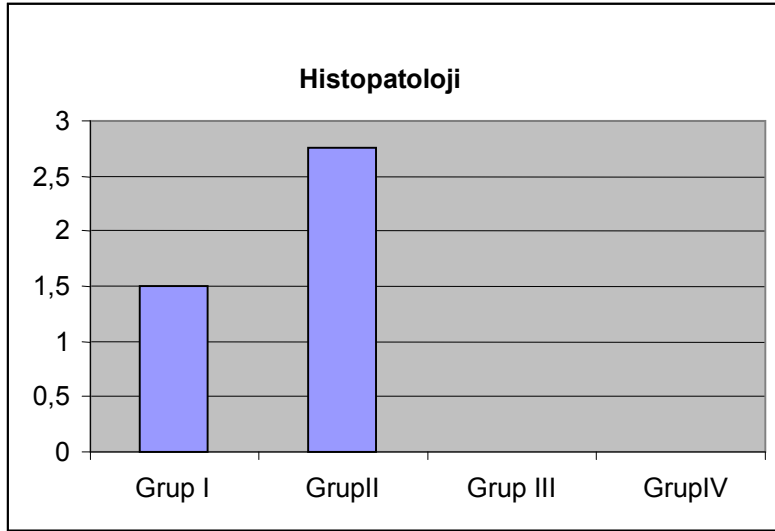
(Şekil-7) Pankreatik doku MPO düzeylerinin grup ortalamalarına göre grafiği



(Şekil-8) Pankreatik doku MDA düzeylerinin grup ortalamalarına göre grafiği



(Şekil-9) Serum LDH düzeylerinin grup ortalamalarına göre grafiği



(Şekil-10) Histopatolojik skorların grup ortalamalarına göre grafiği

TARTIŞMA

Akut pankreatit, çeşitli inflamatuvar mediyatörlerin aktivasyonu ile oluşan, patofizyolojisi tam anlaşılamayan multifaktöryel bir hastalıktır. Patogenezi hakkında bir çok teori ileri sürülmektedir. Patogenetik mekanizma ne olursa olsun sonuçta hastalarda pankreas otodigesyonu ve pankreas hasarı oluşmaktadır. Hastaların %15-20'sinde hastalık kötü prognozlidir ve ekstrapankreatik lezyonlara bağlı olarak hastalığın morbitesi ve mortalitesi önemli ölçüde değişmektedir.

Akut pankreatit, ciddi ve ölümlü sonuçlanabilen bir hastalık olmasına rağmen hala tedavisinde ve komplikasyonların önlenmesinde soru işaretleri mevcuttur. Hastalığın etyopatogenezinde inflamatuvar mediyatörlerin etkilerinin daha iyi anlaşılması yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine olanak tanımaktadır.

Son dönemde yapılan çalışmalar sitokinlerin pankreatit patogenezinde ve sonrasındaki inflamatuvar cevapta kritik öneme sahip olduğunu göstermiştir (2). Sitokinler bir taraftan akut pankreatiti şiddetlendirirken, diğer taraftan sistemik olarak artmış kapiller permeabilite ile lökosit adherensine ve ekstrasvazasyona neden olarak multiple organ yetmezliği gelişmesinde rol oynarlar. Çoğu sistemik inflamasyonda olduğu gibi deneysel pankreatit modellerinde de inflamatuvar sitokinleri hedef alan ajanlar kullanılmaktadır. İnflamasyonun bilinen bir mediyatörü ve sitokin ailesinin prototipik bir üyesi olan TNF- α akut pankreatit patogenezinde önemli rol oynar. İnterlökin-1 ve TNF- α infeksiyon ve inflamasyona ilk cevap olarak ortaya çıkarlar. Akut pankreatitte görülen ateş, hipotansiyon, yaygın damar içi pıhtılaşma, şok gibi lokal ve sistemik bir çok bulgudan sorumludurlar. Nitekim deneysel akut pankreatit modellerinde yüksek TNF- α ve IL-1 seviyeleri tespit edilmiş ve IL-1 reseptör antagonistleri, IL-1 dönüştürücü enzim blokerleri veya TNF- α antagonistleri kullanılarak akut pankreatitin şiddetinin azaldığı gösterilmiştir (17). Hastalarda TNF- α ve IL-1 seviyeleri klinik ile uyumlu olmayabilir. Bu durum TNF- α 'nın karaciğerde klirensinin hızlı olmasına, çözünebilir TNF- α

reseptörü, IL-1 reseptör antagonistleri gibi doğal üretilen düzenleyicilerin varlığına bağlı olabilir. Çözünebilir TNF- α reseptörleri bu etkisinin yanısıra TNF- α 'yı da bağlayarak yapısını sağlamlaştırır ve böylece pankreatitin lokal inflamatuvar etkilerini daha ilerilere taşıyarak sistemik inflamatuvar yanıt oluşmasını sağlar. Bu durum akut pankreatit için TNF- α ve reseptörlerini araştırmacılar için cazip hale getirmiştir.

Deneysel çalışmalarda akut pankreatitte sitokinlerin etkinliğinin azaltılması veya oluşumunun engellenmesi ile uzak organ işlev bozukluğunun azaldığı bildirilmiştir. Denham ve arkadaşları TNF- α reseptör-1'e sahip olmayan genetiği ayarlanmış farelerin akut pankreatit ve komplikasyonlarına karşı korunduğunu göstermişlerdir. Douni ve Kollias da TNF- α reseptör-1 transgenik fare üretiminin ciddi inflamatuvar sendromla sonuçlandığını ileri sürmüşlerdir (5). Bu yüzden tedavideki temel yaklaşımlardan biri de inflamatuvar mediatörlerin baskılanması olmalıdır.

Bizim çalışmamızda deneysel modelde sodyum taurocholate kullanılarak oluşturulan akut pankreatitte TNF- α 'ya karşı oluşmuş tam bir insan rekombinant antikoru olan adalimumab kullanıldı. Bu ilaç spesifik olarak hem membrana bağlı hem de solubl TNF- α 'yı bağlar ve böylece TNF- α 'nın reseptörleriyle etkileşmesini engelleyerek fonksiyon gösterir (7,28).Grewal ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada antiTNF- α poliklonal antikoru kullanılarak tedavinin fizyolojik ve biyokimyasal değişikliklere etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda serum TNF- α , amilaz, kalsiyum, hemotokrit, glukoz ve asit volumü incelenmiş ve bu parametrelerde tedavi gruplarında istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandığı bildirilmiştir (40). Norman ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada TNF- α antagonizmasının süresi irdelenmiş, pankreatitin erken döneminde yapılan antogonizmanın daha etkili olduğu bildirilmiştir. Biz de çalışmamızda pankreatit indüksiyonuyla eş zamanlı TNF- α blokajının pankreatit tedavisine yararlı etkilerini gösterdik.

Hughes ve arkadaşları taurokolat ile deneysel pankreatit modelinde TNF- α poliklonal antikoru kullanmışlar ve ratların pankreas ve AC dokularını

patolojik olarak incelemişlerdir. Gross patolojik skorlama kullanılarak ödem, hemoraji, yağ nekrozu, akciğer konjesyonu, akciğer hemorajisi ve asit incelenmiş tüm parametrelerde tedavi grubunda istatistiksel olarak anlamlı farklar saptadıklarını belirtmişlerdir. Çalışmalarında pankreasın histopatolojik skorlaması; ödem, vasküler değişiklik, inflamasyon, kalsifikasyon, yağ nekrozu kriterlerine göre yapılmış, bunlar arasında vasküler değişiklik ve inflamasyonda istatistiksel olarak anlamlı farklar saptadıklarını bildirmişlerdir. Böylece deneysel akut pankreatit modelinde TNF- α monoklonal antikoru kullanarak morbite ve mortalitede anlamlı azalma sağlandığını göstermişlerdir (41). Bizim çalışmamızda da adalimumab tedavisi alan gruptaki ratlarda histopatolojik inceleme sonucunda nekroz ve infiltrasyonda belirgin şekilde azalma varken tedavi uygulanmayan grupta ödem, kanama, nekroz ve lökosit infiltrasyonu daha şiddetliydi. Bu durum adalimumabın TNF-alfa blokajı ile akut pankreatitin şiddetinde, dolayısıyla pankreas hasarında azalmaya sebep olduğunun kanıtıdır.

Oruç ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile 2004 yılında ilk kez akut ödematöz ve nekrotizan pankreatitte, TNF- α rekombinant soluble antikoru olan infliximab tedavisi denenmiştir. Çalışmalarında İnfliximab tedavisi pankreatit indüksiyonu ile birlikte verilmiştir ve TNF- α 'nın maksimum konsantrasyonu pankreatit indüksiyonu sonrası 1-3 saatte tespit edilmiştir. TNF- α 'nın hücre membranına bağlanmasına engel olan infliximab'ın çalışmalarında TNF- α 'nın konsantrasyonunu azalttığı, böylece akut inflamasyonun etkilerinin engellendiği gösterilmiştir. Çalışma sonucunda infliximab'ın deneysel akut ödematöz pankreatitte özellikle PNL aktivasyonunu bloke ederek antioksidan olarak rol oynadığı, nekrotizan pankreatitte parankimal ve yağ nekrozunda anlamlı azalmaya sebep olduğu bildirilmiştir (9). Dokudaki nekroz oranı azaldıkça iyileşme daha hızlı şekillenmekte olup inflamatuvar olaylarda nekrozu minimumda tutmak aynı zamanda iyileşmeye de aktive etmektedir. Biz de adalimumab ile oluşturduğumuz TNF- α inaktivasyonu ile pankreasta oluşan hem parankimal hem de yağ nekrozu boyutlarında azalma tespit ettik. Dolayısıyla nekrotik alanlara olan lökosit infiltrasyonu ve buna bağlı lökosit kaynaklı

inflamatuvar mediatörlerin salınımının azaldığı, böylece adalimumabın hücre harabiyetini önleyerek iyileşmeyi aktive ettiğini gösterdik.

Serum amilaz aktivitesinin ölçümü akut pankreatit tanısında halen en önemli laboratuvar yöntemidir (42). Amilaz akut pankreatit atağının ilk 2-12 saati arasında yükselir ve 3-5 gün içinde yavaşça normal seviyesine döner. Amilazın erken dönemde normal seviyesine dönmesi, hastalığın düzelmekte olduğunu gösterebileceği gibi ağır pankreas hasarının belirtisi de olabilir(11,23). Akut pankreatit prognozu ve amilaz arasında bir ilişki yoktur. Mortalite ile sonlanan akut pankreatit olgularının %10 kadarında serum amilaz düzeyi normal olarak tespit edilmiştir (11). Fakat amilaz tayini pratik ve ucuz bir yöntem olması nedeniyle akut pankreatit tanısında kullanılabilirliğini yitirmemiştir. Yaptığımız bu çalışmada deneysel akut nekrotizan pankreatit oluşturulduktan sonra serum amilaz düzeylerinin ilaç uygulanmayan pankreatit grubunda önemli derecede yükseldiğini saptadık. Bu yüksek serum amilaz düzeyleri akut inflamatuvar ve nekrotik değişiklikler sebebiyle parçalanan hücrelerden açığa çıkan ve kana karışan enzim düzeyleri ile dolayısıyla aşırı parankimal nekroz ile ilişkili bulundu. Adalimumab ile tedavi alan gruptaki hayvanlarda daha düşük saptanan amilaz değerleri ise iyileşmenin başlaması ve parankim nekrozunun azalması dolayısıyla ilacın faydalı etkisi olarak yorumlandı. Fakat, Hughes ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tedavi gruplarında amilaz düzeyleri kontrol grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadığını bildirmişlerdir (41). Oruç grubunun yaptığı çalışmada ise İnfliximab tedavisi verilen nekrotizan pankreatit grubunda amilazda istatistiksel olarak önlemleri azalma saptandığı bildirilmiştir (9).

Akut pankreatitin patogenezinin çeşitli hayvan deneylerinde hücresel düzeyde araştırılmaya başlanması deneysel pankreatitlerin erken basamağında oksijen radikallerinin etkisi olduğunu göstermiştir. Canlıların çoğu yaşamını devam ettirmek için moleküler oksijene ihtiyaç duyar. Metabolizma sırasında moleküler oksijenin tek elektron ile tam olmayan indirgenmesi sonucu, oksijenin reaktif ve toksik ürünleri olan serbest oksijen

radikalleri oluşur. Oksijen radikalleri, proteinler, polisakkaritler, lipidler ve nükleik asitler gibi biyolojik maddelerle reaksiyona girerler. Membran bileşenlerinin çok büyük kısmını poliansatüre yağ asitleri oluşturur. Hücre membranındaki bu poliansatüre yağ asitlerinin oksijen radikalleriyle direk etkileşimi membranda lipid peroksidasyonuna ve sonuçta irreversibl hücre hasarına neden olmaktadır (43). Bu hasarın pankreastaki kapillerlerin endotel tabakasına etkisi sonucu permabilite artışı, doku ödemi ve hücrelerin ekstrasvazasyonuna sebep olur. Pankreastaki bu etki, akut pankreatitte enflamasyonun en erken bulgusu olan mikrosirkülasyon bozukluğuna sonrasında da dolaşımdaki monosit ve nötrofillerin göçüne neden olur (15). Lökositler kapiller duvarına yapışır ve bazen bütün damarı tıkayabilir, böylece mikrosirkülatur dolaşımı daha da bozarlar. Ayrıca gelen lökositler çeşitli enzimleri (myeloperoksidaz, elastaz, nötral ve asit proteazlar gibi...), prostaglandinleri ve lökotrien metabolitlerini salgılayarak enflamasyonun büyümesine katkıda bulunurlar (44). Oksijen radikallerinin pankreastaki etkileri en sık cerulein ile indüklenen deneysel pankreatit modellerinde çalışılmıştır. Cerulein ile indüklenen pankreatitin histolojik görünümü insanlardaki akut ödematöz pankreatitin erken dönemini taklit eder (16).

MDA, oksidatif stress sonucu gelişen lipidlerin peroksidasyon hasarının son ürünü olduğu için hücre zedelenmelerinde önemli bir belirteç olarak kabul edilmektedir. Wisner ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada seruleinle oluşturulan pankreatit indüksiyonundan 30 dakika sonra MDA düzeyinde hafif bir artış, 3,5 saatte ise en yüksek doku konsantrasyonu tespit edilmiştir. Bu sürede pankreatik glandlarda orta düzeyde pankreatit histolojik bulguları saptanmış ve bu bulgular serbest radikallerin ağır organ hasarı öncesi dokuda lipid peroksidasyonunu artırmasına bağlanmıştır (45). Daha önce yapılan çalışmalarda pankreatit gruplarında antioksidan tedavilerle pankreatik gland hasarında ve enzim düzeylerinde anlamlı azalma sağlanmıştır (46). Bizim çalışmamızda serum MDA değeri tedavi almayan pankreatit grubunda adalimumab ile tedavi alan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek seviyede tespit edildi. Bu sonuç adalimumabın lipid

peroksidasyonunun önlenmesinde, dolayısıyla akut pankreatit tedavisinde etkili bir ilaç olduğunun göstergesi olarak kabul edildi.

Akut pankreatitin önemli işaretlerinden biri pankreas içine nötrofil birikimidir ve bu da pankreas hasarını artırır (47). Nötrofillerin inflame dokuya infiltrasyonu hasarlı dokunun remodellingine katkıda bulunur. Ancak pankreasa aşırı miktarda nötrofil girişinin olması doku yıkımının artması ile sonuçlanır. Nötrofillerin pankreasa infiltrasyonunu MPO (Myeloperoksidaz) ile değerlendirmek mümkündür. Bu enzim lökositlerin lizozomlarında bulunur ve oraya spesifiktir. Doku MPO seviyesi nötrofil sayısı ile direkt orantılıdır (5). Çalışmamızda adalimumab ile tedavi edilen grupta pankreatit grubuna göre MPO düzeyleri anlamlı derecede düşük tespit edildi ve doku MPO-MDA düzeyleri arasında paralellik saptandı. Bu sonuç adalimumabın pankreatik dokuda iyileştirici etkisi olarak düşünüldü.

LDH hücre sitoplazmasına yerleşmiş bir enzimdir (24). Hücre hasarının olduğu her durumda artar. Ranson skorundaki 11 kriterden biridir. Bu yüzden akut pankreatitte LDH erken dönemde tanının yanı sıra prognoz açısından da belirleyicidir (25). Chen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada akut pankreatitli 42 hastada serum LDH seviyelerinin şiddetli vakalarda hafif vakalara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (1). Safra ve pankreatik kanal obstürüksiyonlarının pankreatit oluşumuna etkisinin incelendiği bir çalışmada pankreatit gelişen sıçanlarda LDH'ın CRP gibi erken dönemde yüksek tespit edilmesinin, spesifik olmamakla beraber LDH'ın pankreatit tanısında ve prognozunda yaralı bir marker olduğunun kanıtı olarak göstermişlerdir (24). Çalışmamızda pankreatit oluşturulan, ancak tedavi almayan grupta adalimumab ile tedavi alan gruba göre LDH değerleri anlamlı derecede yüksek tespit edilmiştir. Pankreatik nekroza duyarlı olan LDH'ın tedavi olan grupta düşük olması, adalimumab'ın doku hasarını iyileştirebileceğinin bir göstergesidir.

Günümüzde RA, JIA, PsA, AS, CD ve Ps gibi patogenezinde TNF- α 'nın önemli rol oynadığı inflamatuvar orjinli hastalıklarda TNF- α blokerleri

(Etanercept, İnfliksimab, Adalimumab) kullanılmaktadır (48). Yapılan klinik çalışmalarda bu ilaçların olumlu sonuçlar verdikleri, hastalık semptomlarını iyileştirerek mortaliteyi azalttıkları ve güvenilir oldukları bildirilmektedir (7,28,49). Aktif romatoid artritli hastalarda yapılan çok merkezli ve plasebo kontrollü bir çalışmada metotreksata TNF- α blokerlerinin eklenmesinin tek başına metotreksata göre anlamlı radyografik, klinik ve fonksiyonel yarar sağladığı, farmakolojik etkileşimin olmadığı, doz ayarlamalarına ihtiyaç duyulmadığı gösterilmiştir. Rekombinant humanize solubl TNF- α reseptörü-2 (p75) olan etanercept ve monoklonal antikor olan infliximabın deneysel akut pankreatit modellerinde nötrofil infiltrasyonunu, TNF- α üretimini, pankreatik dokuda apoptotik hücre varlığını, doku hasarını azalttığı ve böylece akut pankreatit gelişimini hafiflettiği bilinmektedir (5,3).

Sitokinler pankreatit patogenezinde ve sonrasında gelişen inflamatuvar cevapta kritik öneme sahiptir. Pankreastaki asiner hücre hasarı lokal inflamatuvar cevaba yol açar ancak inflamatuvar araçlar özellikle sitokinler olayın tüm vücuda yayılmasından sorumludurlar. Bu akut pankreatitdeki morbite ve mortalitenin nedenidir. Sitokin ailesinin en önemli üyesi olan TNF- α 'nın deneysel pankreatitlerin erken döneminde arttığı ve şiddet markeri olduğu kanıtlanması akut pankreatitin tedavisinde dikkatleri sitonkinlere çekmiştir (5). Pankreas gibi digestiv enzimlere sahip olan bir organda inflamasyonun sitokin düzeyinde azaltılması veya engellenmesi hücre harabiyetinin dolayısıyla nekrozun azaltılmasına ve iyileşmenin hızlanmasına neden olur. TNF- α 'nın bir çok inflamatuvar ve immünolojik hastalığın patogenezinde rol oynuyor olması bu hastalıkların tedavisinde TNF- α blokerlerinin kullanılmasını gündeme getirmiştir.

Adalimumab TNF- α 'ya bağlanarak klasik kompleman yolağını aktive eder ve antikor bağımlı hücre aracılı sitotoksiteyi başlatır. Böylece membranından TNF- α exprese eden hücrelerde apoptozu indükler ve hücre yıkımına neden olur (7,30). Bir çalışmada şiddetli kombine immün yetmezliği olan farelerde in vivo ve in vitro olarak adalimumabın monosit hücre dizilerinin kaspaz 3 aracılı apoptozunu indüklediği ve etkilerinin fareye eş

zamanlı verilen bir kaspaz inhibitörüyle geri döndürülebileceği gösterilmiştir. Bizde çalışmamızda TNF- α monoklonal antikoru olan Adalimumabın akut pankreatit üzerine etkisini taurocholate indüklenmiş deneysel rat modelinde inceledik. Gerek doku hasarının azaltılmasında, gerek serum enzim aktivitelerinin düzeltilmesinde gerekse lipid peroksidasyonunun azaltılmasında adalimumabın iyileştirici etkisi olduğunu saptadık. Çalışmada elde edilen histopatolojik skorlar, serum amilaz, LDH değerleri ile pankreatik doku MPO ve MDA değerlerinin istatistik incelemesinde adalimumab ile tedavi edilen grup ile tedavi almayan pankreatit grubu arasında önemli farklar bulduk. Böylece adalimumabın TNF- α blokajı ile inflamasyonu önleyerek akut pankreatit tedavisinde etkili olduğunu gösterdik.

SONUÇLAR

Akut pankreatit patogenezinde sitokinlerin önemli olmaları deneysel AP modellerinde inflamatuvar sitokinleri hedef alan ajanların kullanılmasını gündeme getirmiştir. Biz bu çalışmada TNF- α 'ya karşı oluşmuş tam bir rekombinant antikor olan Adalimumab kullanarak sitokinlerin önemini bir daha vurguladık.

Histopatolojik inceleme sonucunda adalimumab tedavisi alan gruptaki ratlarda nekrozun belirgin şekilde az olduğunu tespit ettik. İnflamatuvar olaylarda dokudaki nekroz oranı azaldıkça iyileşme daha hızlı şekillenmekte olup adalimumab ile TNF- α inaktivasyonunun iyileşmeyi aktive ettiğini böylece gösterdik.

Adalimumab almayan grupta yüksek serum amilaz düzeylerini akut inflamatuvar ve nekrotik değişiklikler sebebiyle parçalanmış hücrelerden açığa çıkan ve kana karışan enzim düzeyleri ile dolayısıyla aşırı parankimal nekroz ile ilişkilendirdik. Tedavi alan grupta düşük saptanan amilaz değerlerini ise iyileşmenin başlaması ve parankim nekrozunun azalması dolayısıyla ilacın faydalı etkisi olarak yorumladık.

MDA değerlerinin tedavi alan grupta düşüklüğü adalimumabın lipid peroksidasyonunun önlenmesinde etkili olduğunu göstergesidir. Doku MPO-MDA düzeyleri arasında saptadığımız paralelliği ve pankreatik nekroza duyarlı olan LDH'nin düşüklüğünü adalimumabın doku hasarını iyileştirebileceğinin göstergesi olarak kabul ettik.

Böylece adalimumabın TNF- α blokajı ile inflamasyonu önleyerek akut pankreatit tedavisinde etkili olduğunu gösterdik.

ÖZET

RATLARDA SODYUM TAUROKOLAT İLE OLUŞTURULAN AKUT NEKROTİZAN PANKREATİTTE ADALİMUMAB'IN ETKİLERİ

Dr. Selma DİNÇER TEKEKOĞLU

Akut pankreatit herhangi bir etyolojik ajanla pankreas enzimlerinin uygunsuz aktivasyonu sonucu oluşan inflamatuvar bir hastalıktır. Teknolojideki önemli gelişmelere rağmen morbite ve mortalitesi hala yüksektir. Tedavisi ve komplikasyonlarının önlenmesi konusunda soru işaretleri vardır.

Son dönemde yapılan çalışmalarda sitokinlerin akut pankreatit patogeneğinde ve sonrasında inflamatuvar cevapta kritik öneme sahip olduğu gösterilmiştir. Deneysel akut pankreatit modellerinde inflamatuvar sitokinleri hedef alan ajanların kullanılması tedaviye yeni bir boyut kazandırmıştır. Rekombinant humanize solubl TNF- α reseptörü-2 (p75) olan etanercept ve monoklonal antikor olan infliximabın deneysel akut pankreatit modellerinde akut pankreatit gelişimini hafiflettiği gösterilmiştir.

Bu çalışmada deneysel modelde sodyum taurocholate kullanılarak oluşturulan akut pankreatitte TNF- α 'ya karşı oluşmuş tam bir insan rekombinant antikor olan adalimumab kullanıldı. Bu amaçla ratlar 4 gruba bölündü. GrupI ve GrupII'de akut pankreatit pankreatik kanala % 3 sodyum taurokolat enjeksiyonu ile oluşturuldu. GrupI'deki ratlara tedavi amacıyla 0,5 mg/kg dozda Adalimumab intraperitoneal olarak taurokolat enjeksiyonu ile eşzamanlı olarak uygulandı. GrupIII'deki ratların batinları açılarak pankreatik kanala taurokolat çözücüsü verildi. Grup IV deki ratlara herhangi bir işlem uygulanmadı.

Tüm gruplardaki ratlar akut pankreatit oluşturulduktan 24 saat sonra sakrifiye edildi. Grup I ve II'deki ratların serum amilaz ve LDH düzeyleri diğer gruplardaki ratların değerlerine göre önemli ölçüde yüksek tespit edildi. Grup I ve Grup II birbirleri ile kıyaslandığında tedavi alan ratlarda bu değerler daha düşüktü ($p < 0,001$). Pankreatik dokudaki malondialdehid (MDA) ve miyeloperoksidaz (MPO) düzeyleri tedavi edilmeyen grupta edilenlere göre yüksek bulundu. Histopatolojik incelemelerde tedavi almayan grupta tedavi alan gruba göre daha şiddetli lezyonlar gözlemlendi. Tedavi edilen ve edilmeyen grup arasında histopatolojik skorlama, serum amilaz ve LDH değerleri ile pankreatik doku MPO ve MDA değerleri arasında istatistik açıdan anlamlı farklar bulundu ($p < 0,001$). Bu bulgular Adalimumabın sodyum taurokolat ile oluşturulan akut pankreatitin iyileştirilmesinde etkili olduğunu gösterdi.

Anahtar kelimeler: Akut nekrotizan pankreatit, adalimumab, patoloji, rat

SUMMARY
THE EFFECTS OF ADALIMUMAB ON ACUTE NECROTIZING
PANCREATITIS INDUCED BY SODIUM TAUROCHOLATE IN
RATS

Dr. Selma DINCER TEKEKOGLU

Acute pancreatitis is an inflammatory disease which is a result of improper activation of pancreatic enzymes with an etiologic agent. Mortality and morbidity rates are still high despite the technological advances. There are many question marks about its cure and prevention of complications.

In recent years, studies shows us cytokines have critical importance in pathogenesis of acute pancreatit and inflammatory response. In experimental acute panceratit modellings, application of agents targeting the inflammatory cytokines are being very important. It was shown that progression of pancreatitis had been retarded with etanercept, recombinant humanized soluble TNF- α receptor-2 (p75); and infliximab, monoclonal anticore.

In our experiment; we used the adalimumab, a human recombinant antibody, against to TNF- α which was formed during the sodium taurocholate induced acute pancreatitis. For this aim rats were divided into four groups. In Group I and Group II acute pancreatitis was induced with the injection of 3% sodium taurocholate into the pancreatic canal. Adalimumab was simultaneously administered at 0,5 mg/kg intraperitoneallyto rats in Group I. Taurocholate solvent was administered to abdomen of rats in Group III. No procedures were carried out with Group IV.

Acute pancreatit has occurred all rats were sacrificed 24 hours later. Serum amylase and LDH levels were significantly higher in Group I and II, compared to other groups. Comparing the Group I and II, these levels are lower in treated group ($p<0,001$). Malondialdehyde (MDA) and myeloperoxidase (MPO) levels in pancreatic tissues were higher in untreated

group. At histopathological examination, severe lesions were observed in untreated group versus treated group. Statistically significant difference was detected in terms of total histopathological scores, amylase, serum lipase levels, MDA and MPO levels in pancreatic tissue in the treatment group versus untreated group ($p < 0,001$). These results showed that adalimumab has ameliorating effect on sodium taurocholate induced acute necrotic pancreatitis.

Key words: Acute necrotic pancreatitis, adalimumab, pathology, rat

KAYNAKLAR

1. Frossard JL, Hadengue A, Pastor CM. New serum markers for the detection of severe acute pancreatitis in humans. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164: 162-170.
2. Madhav Bhatia, Mark Brady, Shelia Shokuhi, Stephen Christmas. Inflammatory mediators in acute pancreatitis. *Journal of Pathology* 2000;190: 117-125.
3. Kingsnorth A. Role of cytokines and their inhibitors in acute pancreatitis. *Gut* 1997;40: 1-4.
4. Viedma JA , Perez-Mateo M, Dominguez JE, Carballo F. Role of interleukin-6 in acute pancreatitis comparison with C-reactive protein and phospholipase A. *Gut* 1992;33: 1264-1267.
5. Malleo, Giuseppe, Mazzon, Emanuela, Genovese, Tiziana et al. Etanercept attenuates the development of cerulein-induced acute pancreatitis in mice: A comparison with TNF-alpha genetic deletion. *Basic Science Aspects* 2007;27(5): 542-551.
6. Aderka D, Engelmann H, Maor Y, Brakebusch C, Wallach D. Stabilisation of the bioactivity of tumour necrosis factor by insoluble receptors. *J Exp Med* 1992;175: 323-329.
7. Marina Papoutsaki, Maria-Sole Chimenti, Antonio Costanzo, Marina Talamonti, Arianna Zangrilli, Alessandro Giunta et al. Adalimumab for severe psoriasis and psoriatic arthritis: An open-label study in 30 patients previously treated with other biologics. *J Am Acad Dermatol* 2007;57: 269-275.
8. Jeanne Keffer, Lesley Probert, Haris Cazlaris, Spiros Georgopoulos, Evangelos Kaslaris, Dimitris Kioussis et al. Transgenic mice expressing human tumour necrosis factor: A Predictive genetic model of arthritis. *The Embo Journal* 1991;10: 4025-4031.
9. Nevin Oruc, A. Omer Ozutemiz. Infliximab: A new therapeutic agent in acute pancreatitis? *Pancreas* 2004;28: 1-5.
10. Stanly L.Robins, Ramzi S.Cotran, Vinay Kumar, Robbins Basic. *Pathology* 2003;7: 635-657.

11. Çalangu S, Güler K. Acil Dahiliye 2002;6: 359-381.
12. Klöppel, G., Maillet, B. Pathology of acute and chronic pancreatitis. *Pancreas* 1993;8: 659-670.
13. Charles J.Yeo, T.Daniel Demsey,Andrew S. Klein, John H.Pemberton. Shackelford's surgery of the alimentary tract. WB.Saunders Company 2007;8: 1296-1318.
14. Bruno MJ. Current insights into the pathogenesis of acute and chronic pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 2001;234(6): 103-108.
15. Mark Brady at al. Cytokines and acute pancreatitis. *Bailliere's Clinical Gastroenterology* 1999;13(2): 265-289.
16. Yuk Cheung Chan, BSc and Po Sing Leung, PhD. Acute pancreatitis animal models and recent advances in basic research. *Pancreas* 2007;34: 1-14.
17. Jun-Ichiro Yamauchi, Kazuhiko Shibuya, Makoto Sunamura, Kousuke Arai, Hiromune Shimamura, Fuyuhiko Motoi at al. Cytokine modulation in acute pancreatitis. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2001;8: 195-203.
18. Kaya Kılıç Turgay. *İmmünoloji* 2003;3: 113-153.
19. Gukovskaya AS. Gukovsky I. Zaninovic V. Song M. Sandoval D. Gukovsky S. et al. Pancreatic acinar cells produce release and respond to tumor necrosis factor-alpha. Role in regulating cell death and pancreatitis. *J Clin Invest* 1997;100: 1853-1862.
20. Susana Granell, Javier Perda, Daniel Closa et al. Circulating TNF-alpha and its soluble receptors during experimental. Acute Pancreatitis *Cytocine* 2004;25: 187-191.
21. Hughes, Christopher B., Gaber, Lillian W. Inhibition of TNF improves survival in an experimental model of acute pancreatitis. *American Surgeon* 1996;62: 13-48.
22. Anderson JR. Anderson's pathology. Toronto: Mosby, 1990.
23. Yazıcı H, Hamuryudan V, Sonsuz A. *Cerrahpaşa İç Hastalıkları* 2005;1: 930-936.
24. Orhan Demircan, Hüsnü Sönmez, Canan Ersöz, Asena Atay. Safra ve pankreatik kanal obstrüksiyonlarının pankreatit oluşumuna etkisi. *Ulusal Travma Dergisi* 1997;3: 175-180.

25. Selçuk Hazinedaroğlu, Hüseyin Ayhan Kayaoğlu, Kaan Karayalçın. Akut pankreatit tanısı almış 47 hastanın analizi: Gelişen tanı ve tedavi olanakları prognozu etkiliyor mu? *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2005;25: 383-386
26. Blamey SL, Imrie CW, O'Neil J. Prognostic factors in acute pancreatitis. *Gut* 1984;25: 1340-1344.
27. Adair JR et al. Recombinant antibodies specific for TNF-alpha. *International Patent Application* 1992;92: 113-183
28. Michael H.Wiesman, Larry W.Moreland, Daniel E.Furst, Michael E.Weinblatt. Efficacy, pharmacokinetic, and safety assessment of adalimumab, a fully human anti-tumor necrosis factor-alpha monoclonal antibody, in adults with rheumatoid arthritis receiving concomitant methotrexate: A pilot study. *Clinical Therapeutics* 2003;25(6): 1700-1721.
29. Edward C.Keystone, Arthur F. Kavanaugh, John T. Sharp, Hyman Tannenbaum, Ye Hua, Leah S. Teoh et al. Radiographic, clinical, and functional outcomes of treatment with adalimumab (a human anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody) in patients with active rheumatoid arthritis receiving concomitant methotrexate therapy. *Arthritis&Rheumatism* 2004;50(5): 1400-1411.
30. C. Shen, G.V. Assche, S. Colpaert, P. Maerten, K. Geboes, P. Rutgeerts et al. Adalimumab induces apoptosis of human monocytes: A comparative study with infliximab and etanercept. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;21: 251-258.
31. Maida Wong,David Ziring,Yael Korin,Sheetal Desai,Sungjin Kim, Jan Lin, et al. TNF alpha blockade in human diseases: Mechanisms and future directions. *Clinical Immunology* 2008;126: 121-136.
32. Y.Bankmann, V. Buehler, Z. Kaymakcalan, A. Lassmann, J. Salfeld. Pharmacokinetics of the full human anti-TNF-monoclonal antibody adalimumab (D2E7) in the non-human primate. *Clinical Immunology* 2002;103(3): S72
33. Haim Paran, Ami Mayo, Dvor Kidron, Galit Sivak, Tamar Reshef, Tsahi Vider. Experimental acute necrotising pancreatitis: Evaluation and

- characterisation of a model of intraparenchymal injection of sodium taurocholate in rats. *Eur J Surg* 2000;166: 894-898.
34. Weber A, Friess H, Sill U, Buchler M. The closed duodenal loop technique. *Eur Surg Res* 1992;24: 24-28.
 35. Kaymakcalan Z, Beam C, Kamen R, Salfeld J. Comparison of adalimumab (D2E7), infliximab and etanercept in the prevention of polyarthritis in a transgenic murine model of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2002;304: 46-49.
 36. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990;186: 421-431.
 37. Tullis MJ, Brown S, Gewertz BL. Hepatic influence on pulmonary neutrophil sequestration following intestinal ischemia reperfusion. *J Surg Res* 1996;66: 143-146.
 38. Schmidt J, Rattner DW, Lewandrowski K, Compton CC, Mandavilli U, Knoefel WT et al. A better model of acute pancreatitis for evaluating therapy. *Ann Surg* 1992;215: 44-56.
 39. Shields CJ, Winter DC, Sookhai S, Ryan L, Kirwan WO, Redmond HP. Hypertonic saline attenuates end-organ damage in an experimental model of acute pancreatitis. *Br J Surg* 2000;87: 1336-1340.
 40. Grewal HP, Mohey el Din A, Gaber L, Kotb M, Gaber A O. Amelioration of the physiologic and biochemical changes of acute pancreatitis using an anti-TNF-alpha polyclonal antibody. *Am J Surg* 1994;167: 214-219.
 41. Hughes CB, Grewal HP, Gaber LW, Kotb M, El-din AB, Mann L et al. Anti-TNFalpha therapy improves survival and ameliorates the pathophysiologic sequelae in acute pancreatitis in the rat. *Am J Surg* 1996;171: 274-280.
 42. Jill Granger, Daniel Remick. Acute Pancreatitis: Models, markers and Mediators. *Shock* 2005;24: 45-51.
 43. Slater TF. Free radical mechanism in tissue injury. *Biochem J* 1984 ;222: 1-15.
 44. Petrone WF, English DK, Wong K, McCord JM. Free radicals and inflammation: Superoxide-dependent activation of a neutrophil chemotactic factor in plasma. *Proc Natl Acad Sci* 1980;77: 1159-1163.

45. Wisner J, Green D, Ferrell L, Renner I. Evidence for a role of oxygen-derived free radicals in the pathogenesis of caerulein-induced acute pancreatitis. *Gut* 1988;29: 1516-1623.
46. Laura Ramudo, Manuel A. Manso, Secundino Vicente, Isabel De Dios. Pro- and anti-inflammatory response of acinar cells during acute pancreatitis. Effect of N-acetylcysteine. *Cytokine* 2005;32: 125-131.
47. Changbin Shi, Xiangdong Wang, Xia Zhao, Roland Andersson. Review Article. Cellular and molecular events in acute pancreatitis. *Journal of Organ Dysfunction* 2006;2: 142-150.
48. Salih Pay. The use of anti-TNF drugs in rheumatic disorders. *Medical Education: Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 2006.
49. GR Burmester, P Mease, BA C Dijkmans, K Gordon, D Lovell, R Panaccione et al.. Adalimumab safety and mortality rates from global clinical trials of six immune-mediated inflammatory diseases. *ARD* 2009;10: 11-36