

37962

T.C.
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı
Gastroenteroloji Bilim Dalı
Prof. Dr. Hanefi Çavuşoğlu

SIÇANLARDA SERÜLEİN'LE UYARILAN
AKUT PANKREATİTE'E TRİMETAZİDİN'İN
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Uzmanlık Tezi

Dr. Mehmet İŞLER

Tez Yönetmeni: Prof. Dr. Yücel BATUR

İzmir, 1994

Bu çalışma için teşvik eden ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Yücel Batur'a, yardımlarını eksik etmeyen ağabeyim Dr. Ömer Özütemiz'e, sayın hocam Prof. Dr. Gül Yüce'ye, kıymetli katkılarından dolayı Sn. Çiğdem Dinçer'e ve çalışkan, saygıdeğer teknisyenler İsmail Zonguldaklı ile Hilmi Mete'ye teşekkür ederim.

Bu vesileyle, gastroenterolojiye ayak basmamda önemli yardımları olan değerli hocam Prof. Dr. Hanefi Çavuşoğlu ile, sıcak ilgilerini her zaman gördüğüm bütün hocalarımı saygı ve özlemle anacağımı söylemek istiyorum.

Mehmet İşler

İÇİNDEKİLER

Giriş.....	1
Akut Pankreatit.....	1
Serbest Oksijen Radikalleri.....	3
Akut Pankreatit ve Serbest Oksijen Radikalleri.....	5
Trimetazidin: Kardiyovasküler Etkileri Bilinen Bir İlaç.....	7
Trimetazidin ve Serbest Oksijen Radikalleri.....	8
Amaç.....	9
Gereç ve Yöntem.....	10
Bulgular.....	12
Tartışma.....	17
Özet.....	20
Kaynaklar.....	21

GİRİŞ

AKUT PANKREATİT

Akut pankreatit (AP), sindirim enzimlerinin pankreas dokusu içinde aktive olmasıyla gelişen inflamatuvar bir hastalıktır. Klinikte semptomların şiddeti ve komplikasyonlar açısından değişik tablolar halinde karşımıza çıkabilir. Patolojik yaklaşımla ele alındığında, *akut ödematöz pankreatit*'te pankreas inflamasyonu ılımlıdır, pankreasta intersitisiyel ödem vardır. Ekzokrin, endokrin ve duktal hücreler hasarlanmaz. İnflamasyonun yayılması ve pankreasla çevre dokularda koagülasyon nekrozu gelişimi *nekrotizan pankreatit*'e yol açar. Pankreas içinde veya çevresinde yaygın kanama alanlarının olduğu nekrotizan pankreatit, *hemorajik pankreatit*'tir. *Flegmon*, nekrotik doku içeren inflamasyonlu pankreas dokusudur.

Gelişen klinik tablo, birçok hastalığı taklit ederek ayırıcı tanıda güçlükler yol açar. İngiltere'de yapılan bir çalışma, ciddi pankreatit geçiren hastaların %42'sine ilk anda doğru tanı konulmadığını göstermiştir (86). Sezer'e (76) göre ülkemiz sağlık istatistikleri ve ölüm kayıtları AP insidensini yansıtmaktan yoksundur. Aynı yazar, ülkemizde her yıl 1500-2000 kişinin bu hastalıktan vefat ettiğini tahmin etmektedir (76). Şüphesiz ki, hastalığın gerçek sıklığının bilinmesi, hekimlerin her karın ağrısı karşısında bu hastalığı düşünme ve araştırma konusundaki çabalarna bağlıdır (54). Görüntüleme tekniklerinde ve genel destek tedavisinde son yıllarda sağlanan ilerlemelere karşın AP'de mortalite değişmemiş ve önemli bir sağlık sorunu olma niteliğini korumaya devam etmiştir (18).

AP'DE ETYOLOJİK FAKTÖRLER Pankreatit'e en sık neden olan iki faktör, safra yolu taşları ve alkolizm'dir. AP etyolojisi ülkeden ülkeye farklılaşma göstermektedir. ABD, Avustralya, Güney Afrika Cumhuriyeti gibi aşırı alkol tüketilen ülkelerde AP hastalarının % 50'den çoğunun etyolojisinde alkol vardır (26). Oysa, kliniğimizde 1987-1992 yılları arasında izlenen 119 AP'li hastanın %57'sinde biliyer faktörler, %13'ünde alkol etyolojik faktör olarak saptanmıştır (36). AP olgularının %15-20'sinde etyolojik bir neden bulunamaz ve "*idyopatik*" olarak isimlendirilir. Son yıllarda elde edilen bulgular, bu hastaların çoğunda sorumlu faktörün tanınamamış mini safra kesesi taşları ya da safra çamuru olduğunu göstermektedir (44, 67). AP'e yol açtığı bilinen birçok antite vardır ve bunlar Tablo 1'de toplanmıştır.

AP PATOGENEZİNDE PATOGENETİK SÜREÇLER İskemi, anoksi, travma, infeksiyonlar, endo-ve ekzotoksinler, tripsinojenin tripsine aktivasyonuna ve tripsinin etkisiyle fosfolipaz A, elastaz, lipaz gibi diğer zimojenlerin aktive olmasına yol açmaktadır. Son yıllarda, tripsin

ve protein parçalayıcı diğer enzimlerin pankreas asiner hücresi içinde lizozomal enzimler tarafından aktive edildiği yönünde bulgular elde edilmiştir (78). Aktive olmuş enzimler, safra

Tablo I: Akut pankreatit nedenleri (26, 30, 35, 38).

-
- * Aşırı alkol alımı - akut aşırı alım veya kronik alkolizm
 - * Safra yolu taşları
 - * Cerrahi: Abdominal veya nonabdominal
 - * Künt batin travması - özellikle çocuk ve gençlerde
 - * ERCP
 - * İnfeksiyonlar: Viral: kabakulak, viral hepatit, infeksiyöz mononükleoz, ekovirüs, koksaki virüs grup B, sitomegalovirüs infeksiyonu. Bakteriyel: tüberküloz; mikoplazma infeksiyonları. Pankreas kanalını tıkayan parazitler: askaris, clonorchis sinensis
 - * Metabolik bozukluklar
 - Hipertrigliseridemi: Genellikle trigliserid düzeyi 1000 mg/dl üzerindeyse Özellikle Frederickson tip I, IV, V hiperlipoproteinemi
 - Hiperkalsemi-hiperparatiroidizm
 - * Gebelik: Gebeliğin 3. trimestr'inde "akut gebelik yağlı karaciğeri" gelişen kadınlarda
 - * Vaskülit, bağ dokusu hastalıkları: Henoch - Schönlein purpurası, trombositopenik purpura, SLE, mikst bağ dokusu hastalığı, poliarteritis nodoza
 - * İlaçlar: Sulfonamidler, estrojenler/oral kontraseptifler, tetrasiklinler, azatioprin, furosemid, tiazidler, valproik asit, etakrinik asit, klortalidon, metildopa, L-asparaginaz, prokainamid, kortikosteroidler, aşırı dozda asetaminofen, aminosalisilik asit, ACE inhibitörleri, danazol, interlökin2, metronidazol, sulfasalazin, pentaminid, pirosikam, difenoksilat, sulindak
 - * Ampulla Vateri'ni ilgilendiren anatomik anormallikler ve obstrüksiyona neden olan durumlar: Duodenal Crohn hastalığı, duodenum divertikülü, anuler pankreas, pankreas divisum
 - * Penetre peptik ülser
 - * Hereditör
 - * Böbrek yetmezliği
 - * Böbrek, kalp, kalp-akciğer transplantasyonu
 - * Penetre duodenum ülseri
 - * Pankreas kanseri, metastazları
 - * Ampulla Vateri tümörleri.
 - * Diğer: Akrep sokması, şiddetli sistemik hipotansiyon, kolesterol embolizasyonu, Reye sendromu, fulminan hepatit
-

asitlerinin deterjan etkisiyle birlikte hücre membranlarını, kan damarlarının elastik liflerini sindirmekte; vasküler harabiyet yanı sıra intersitisiyel ödem, kanama ve pankreas ile çevre dokularda yağ nekrozu gelişmektedir. Tripsinin etkinleştirdiği kallikrein kinin sisteminin ürünleri, vazodilatasyon ve permeabilite artışına neden olarak ödem ve inflamasyona katkıda bulunmaktadır. Tripsinin aktive ettiği protein parçalayıcı bir enzim olan elastaz, lipid parçalayıcı enzim fosfolipaz A parankim ve vasküler yapılarda yıkıma

neden oldukları gibi, dolaşıma karışarak sistemik etkilere de sebep olurlar (14). Lipaz, safra asitleri varlığında, yağ nekrozuna yol açarak pankreasın kendi kendini sindirmesinde rol oynar (6, 45). AP'de pıhtılaşma, fibrinoliz ve kompleman sistemleri de aktive olabilir (30).

On yıl önce, Sanfey ve ark. (71) AP patogeneğinde, perfüze köpek pankreası modeliyle, serbest oksijen radikallerinin potansiyel rolünü göstermişlerdir. Bunu izleyen birçok deneysel (21, 22, 32, 70, 75, 87) ve klinik çalışmada (41) da, değişik pankreatit formlarında oksijen radikallerinin katkısının bulunduğunu destekleyen bulgular elde edilmiştir.

SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ

Oksijenin normal hücreler için toksik olabileceği ve doku hasarlanmasına yol açabileceği düşüncesi, ilk kez 1878'de Bert (12) tarafından ortaya atılmıştır. Bugün, serbest oksijen radikallerinin idantifiye edilmesi ve sitotoksik etkilerinin gösterilmesi ile Bert hipotezi doğrulanmış bulunmaktadır.

Normal koşullar altında, biyolojik sistemlerdeki moleküler oksijenin yaklaşık %95'i, mitokondrial sitokrom oksidaz sisteminde dört elektron daha alarak, tetravalan indirgenmeyle suya dönüşür (84). Kalan moleküler oksijen, univalan indirgenmeyle, - kısmen indirgenmiş- serbest oksijen radikallerini oluşturur. Bunlar süperoksit anyon (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve yüksek derecede reaktif olan hidroksil radikalidir (OH^\cdot). Süperoksit anyon, moleküler oksijene tek bir elektronun eklenmesi ile; hidroksil radikal ise, süperoksit radikalini hidrojen peroksitle, bazı metal iyonları varlığında, reaksiyona girmesi ile meydana gelir (24).

İskemi, postiskemik reperfüzyon, oksijen toksisitesi, radyasyon, kimyasal karsinogenezis, çeşitli tip inflamatuvar reaksiyonlar gibi doku haraplanmasının değişik formlarına neden olan süreçlerde, serbest oksijen radikallerinin önemli mediatörler olduğu ortaya konmuştur (10,19,27,52,59,60,72). Hücre membranları içinde hidroksil radikali, *lipid peroksidasyonu* olarak bilinen zincir reaksiyonunu başlatabilir. Lipid peroksidasyonunda; poliansature yağ asitleri, suda eriyebilir maddelere yıkılır ve bu da membran bütünlüğünün bozulmasına neden olur (24). Lizozomal membranların peroksidasyonu ise, lizozomal hidrolazların sitoplazmaya salınmasına yol açarak yine hücre ölümüne sebep olurlar (83).

Diğer taraftan oksijen radikalleri, DNA'da mutasyonlar yapabilir (34); hyaluronik asit ve ilgili makromolekülleri depolimerize edebilirler (53).

ORGANİZMANIN OKSİJEN RADİKALLERİNE KARŞI SAVUNMA MEKANİZMALARI Dokuda oksidatif zararlanmaya karşı primer savunma sistemini, süperoksid dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri oluşturur. Süperoksid dismutaz'ın bilinen tek biyolojik etkisi, potansiyel olarak sitotoksik olan süperoksid anyonların (O_2^-), hidrojen peroksid (H_2O_2) ve O_2 'ye katalitik dismütasyonudur (27,49,64,72). H_2O_2 de potansiyel olarak sitotoksiktir, fakat katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi intraselüler enzimler, bu bileşiği H_2O 'ya katabolize etmektedirler (27,49,52,77). Eser miktarlarda süperoksid dismutaz aktivitesi plazma, spinal sıvı ve lenf sıvısında da saptanmıştır (47). Katalaz, bir hemoprotein'dir. H_2O_2 'ın suya dekompozisyonunu katalize eder. Glutatyon peroksidaz ise, selenyum içeren sitoplazmik bir enzimdir. H_2O_2 veya organik peroksitlerin suya veya kendine uyan organik alkole dekompozisyonunu katalize eder (58).

Antioksidan enzimlere ek olarak, oksidanların neden olduğu doku hasarına karşı, ikinci kuşak savunmada askorbik asit, sistein gibi suda eriyen maddeler ve alfa-tokoferol, beta-karoten gibi yağda eriyen maddeler de antioksidan fonksiyon görürler (58).

OKSİJEN RADİKALLERİNİN KAYNAKLARI Mitokondrial elektron transport sisteminin değişik komponentlerinden, endoplazmik retikulumdan, prostaglandin sentetaz ve hipooksijenaz sistemlerinden, solubl enzim ve proteinlerden ve çeşitli bileşiklerin otooksidasyonundan serbest oksijen radikalleri oluşabilir.

İskemi-reperfüzyonla ilgili doku hasarında, reaktif oksijen metabolitlerinin potansiyel kaynağı olarak, başlıca iki enzim suçlanmıştır: Ksantin oksidaz ve nötrofilik NADPH oksidaz.

Ksantin oksidaz, reaktif oksijen türevlerinin en iyi anlaşılmiş biyolojik kaynağıdır. Birçok bakteri ve hayvan türünde varlığı gösterilmiştir (58). Çalışılan memeli dokularında, en fazla ksantin oksidaz aktivitesi karaciğer ve ince barsaklarda bulunmuştur (61). Ksantin oksidaz aktivitesi, doku homojenatlarında ölçülebilmesine karşın, selüler lokalizasyonu tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. İmmünofloresan mikroskopi, ksantin oksidaz aktivitesinin kapiller endoteliumla sınırlı olduğunu göstermiştir (40). Fakat bu bulgu, intestinal ve hepatic epitel sitozolünün önemli miktarda ksantin oksidaz aktivitesi içerdiğini telkin eden histoşimik verilere (8) ters düşmektedir. Diğer taraftan, ksantin oksidaz'ın kompetitif inhibitörü olan allopürinol tarafından inhibe edilebilen bir süreç içinde, izole hepatositlerin hipoksantini, ürik asit ve allantoin'e metabolize ettiğinin gösterilmesi (81) de bu enzimin epetelial lokalizasyonunu destekleyen bir bulgudur.

Nötrofiller: Nötrofil, monosit, eozinofil ve makrofajların NADPH oksidaz ile ilişkili plazma membranı da, reaktif oksijen metabolitlerinin bir diğer potansiyel kaynağıdır (58). NADPH oksidaz, sitozolik NADPH'nin oksidasyonu ile birlikte, moleküler oksijeni O_2^- 'ye indirger. Nötrofiller ayrıca, yüksek konsantrasyonda miyeloperoksidaz içerirler (58).

Aktive olmuş fagositik hücreler, bakterileri öldürmek için oksijen radikallerini üretirler ve bu süreç, sonunda, kendilerinin de ölümüne neden olur (83). Ayrıca, bu radikaller enfeksiyonun yaptığı doku hasarına da katkıda bulunabilir (7). Öte yandan, oksijen radikallerinin, enfeksiyon veya doku hasarı bölgesine nötrofilleri yönelten kemotaktik maddelerin yapımı için plazma faktörü ile reaksiyona girerek akut inflamatuvar cevapta önemli bir rol oynadıkları da gösterilmiştir (63).

LİPID PEROKSİDASYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ Oksijen radikallerinin düzeyi ve lipid peroksidasyonu; ansatüre yağ asitlerinin kaybının, peroksidasyon ürünlerinin ve sekonder karbonil ve hidrokarbon gazlarının ölçülmesi ile değerlendirilebilir (33). Bunları ölçmek için değişik testler geliştirilmiştir.

Malondialdehid (MDA), lipid peroksidasyonu esnasında meydana gelen bir yan üründür ve serbest radikal yapımını değerlendirmek için muhtemelen en yaygın kullanılanıdır. MDA konsantrasyonunu ölçmek için *tiobarbitürik asit testi*'nde, ilke olarak, lipid materyal, düşük pH'da tiobarbitürik asitle ısıtılır ve oluşan pembe kromojen, 532 nm veya buna yakın dalga boyunda okunur. Kromojen bir molekül MDA ile, iki molekül tiobarbitürik asidin reaksiyonu ile meydana gelmiştir (33).

AKUT PANKREATİT VE SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ

Serbest oksijen radikallerinin AP patogeneğinde potansiyel rolü, Sanfey ve ark.nın (71,73) eks vivo perfüze köpek pankreası modeli ile ortaya konmuştur. Bu otörler serbest yağ asitleri ile arteriel perfüzyon, bir süre total arteriel iskemi oluşturma, pankreas kanalının parsiyel obstrüksiyonu+sekretin stimülasyonu gibi çeşitli yöntemler kullanarak AP modelleri oluşturmuşlar ve -serbest oksijen radikallerini elimine eden enzimler-superoksid dismutaz ve katalaz ile köpek pankreasının perfüzyonunun AP gelişimine karşı önemli koruma sağladığını göstermişlerdir.

Bununla beraber, farelerde hem serüleinle oluşturulan AP, hem de hayvanları kolinden fakir, etinin katkılı diyetle besleyerek oluşturulan letal hemorajik AP modellerinde, serbest oksijen radikallerinin potansiyel etkisinin olmadığına ilişkin bazı sonuçlar alınmıştır (25,69). Diyetle oluşturulan pankreatitte, egzojen verilen katalazın, peripankreatik ödemi, hiperamilazemi ve mortalite oranlarını düşürmediği (69) ve

faralarda serüleinle indüklenen pankreatitte, egzozen verilen süperoksid dismutazın pankreatik ödem ve hiperamilazemiye engellemediği (25) bildirilmiştir.

Başka bir araştırmacı grubu ise, sıçanlarda, serüleinle indüklenen akut pankreatitte süperoksid dismutaz ve katalazın yararlı etkilerini saptamışlardır (32). Bu çalışmada, Guice ve ark (32), sıçanlarda tek doz iv süperoksid dismutaz ve katalaz kombinasyonunu 12 saat iv serülein infüzyonundan 30 dakika sonra verdikleri zaman, 24. saatte, sadece serülein verilen hayvanları ile karşılaştırdıklarında, pankreas ağırlığında anlamlı azalma ve pankreas histopatolojisinde iyileşme olduğunu bildirmişlerdir. Ancak bu çalışmada, dakikalarla ölçülen kısa dolaşım yarı ömrü olan doğal süperoksid dismutazın (1,50), tek doz ile, 24 saati aşan bir deney periyodunda böyle belirgin bir etkiyi nasıl meydana getirdiği, açıklanması zor bir noktadır.

Wisner ve ark (87) da, egzozen süperoksid dismutazın etkisini, sıçanlarda iv serülein infüzyonu ile oluşturdukları AP modelinde incelemişlerdir. Fakat bu araştırmacılar, sıçanlarda doğal süperoksid dismutazın yarı ömrü 6 dakika kadar iken, polietilen glikol:süperoksid dismutaz bileşiğinin 35 saat olması ve doğal süperoksid dismutaz'dan daha fazla bir anti-inflamatuvar potansiyele sahip bulunması nedeni ile, doğal süperoksid dismutaz yerine polietilen glikol:süperoksid dismutaz bileşiğini kullanmışlardır. Saatte kg başına 40 000 Ü polietilen glikol:süperoksid dismutaz'ın 6 saat infüzyonunun bilinçli sıçanları AP'ten anlamlı olarak koruduğunu saptayarak, serbest oksijen radikallerinin serüleinle oluşturulan AP'in erken dönem patogeneziye katıldığını göstermişlerdir (87).

Saluja ve ark (70) ise, saatte kg başına 130 000 Ü doğal süperoksid dismutaz'ı 1.5 saat infüze ettikten sonra, 3.5 saat süperoksid dismutaz + serülein infüzyonu yapmışlardır. Bu şekilde AP için uyarılan hayvanlarda, sadece serülein infüzyonu yapılanlara göre pankreas ağırlığının anlamlı olarak düşük olduğunu, fakat serum amilaz yükselmesinin etkilenmediğini bildirmişlerdir.

Sıçanlarda yapılan daha yeni bir çalışmada, Schoenberg ve ark (75), serülein infüzyonundan 30 dakika sonra pankreas dokusu *konjüge dienes* ve MDA düzeyinin arttığını, 3.5 saat sonra pik yaptığını ve 12 saat sonra normale döndüğünü saptamışlardır. Ayrıca, serülein infüzyonuna başlamadan hem önce, hem de sonra uygulanan süperoksid dismutaz ve katalaz infüzyonlarının lipid peroksidasyonunu, zimogen degranülasyonunu ve doku nekrozunu önlediğini bununla beraber, doku ödemi ve inflamatuvar cevabın tedavi edilen sıçanlarda etkilenmediğini bildirmişlerdir.

Dabrowski ve ark.nın (21) kısmen değişik bir yaklaşımla elde ettikleri sonuçlar da, serüleinle indüklenen pankreatitte, pankreas dokusunda lipid peroksidasyon artışına serbest oksijen radikallerinin aracılık ettiğini ortaya koymaktadır. Bu yazarlar, 5 µg/kg/saat dozunda, 3 saat serülein uyguladıkları sıçanlarda, biyosimik ve histolojik olarak tipik akut ödematöz pankreatit meydana geldiğini, pankreas dokusunda süperoksid dismutaz aktivitesi azalırken, MDA aktivitesinin arttığını, 12 saat infüzyon yapılanlarda ise, dokuda süperoksid dismutaz aktivitesinin ölçümediğini ve MDA düzeyinin ise, 3 saatliklerde ölçülden de fazla arttığını bildirmişlerdir (21).

Bir başka çalışmada, Dabrowski ve Gabryelewicz (22), sıçanlarda retrograd intraduktal %5 *Na-taurocholate* enjeksiyonu ile akut hemorrajik pankreatit oluşturmuşlardır. Erken saatlerde pankreas, karaciğer ve akciğerde MDA düzeylerinde belirgin artma, ve sülfidril gruplarıyla süperoksid dismutaz düzeylerinde belirgin azalma saptamışlardır. 24. saatte, doku MDA düzeyleri normale dönerken, pankreas sülfidril gruplarının bariz düşük düzeylerinin sürdüğünü bildirmişlerdir.

Bu deneysel bulgular yanı sıra, AP'in, *serbest oksijen radikallerinin hastalığı* olduğunu destekleyen bir klinik çalışmayı, Kuklinski ve ark (41) bildirmişlerdir. Yazarlar, AP'li bireylerde, yaş cins uyumlu normallere göre, daha yüksek MDA düzeyleri saptarken, MDA düzeylerinin, hastalık seyri esnasındaki serum kalsiyum düzeyleri ile ters korelasyon gösterdiğini de bulmuşlardır. Ayrıca, 24 saat içinde yapılan selenyum tedavisinin, serum kalsiyumunu normalleştirdiğini ve MDA artışlarını azalttığını saptamışlardır. Dahası, sodyum selenit tedavisi yapılan akut nekrotizan pankreatit'li 8 hastada hiç ölüm olayı olmamasına karşın, kontrol grubundaki 9 hastadan 8'inin (%89) öldüğünü gözlemişlerdir (41).

TRİMETAZİDİN: KARDİOVASKÜLER ETKİLERİ BİLİLEN BİR İLAÇ

Trimetazidin'in (TMZ) iskemik kalp hastalığında, egzersiz toleransını arttırdığı, anjina eşliğini yükselttiği deneysel ve klinik çalışmalarda gösterilmiştir (13,23,56). Söz konusu ilaç bu işlevi, oksijen tüketimini azaltıcı ve kan akımını arttırıcı bir etki oluşturmadan meydana getirmektedir. TMZ'nin, intraselüler asidozu azaltarak (43,65), yüksek enerjili fosfatların deplesyonunu önleyerek (9,68), miyokarda kalsiyum birikimini sınırlayarak (28,29,65,89), nötrofil akümülyasyonunu inhibe ederek (85) ve reperfüzyon esnasında meydana gelen serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerinden miyokardı koruyarak (16,31,62) kardiyoprotektif etki yaptığı ortaya konmuştur.

TRİMETAZİDİN VE SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ

Serbest oksijen radikallerinin eliminasyonunda TMZ'in etkinliğini ortaya koyan çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

Kalp yetmezliğini provake ettiği, enerji yönünden zengin bileşikleri tüketmek ve serbest radikal üretmek suretiyle mitokondrial fonksiyonu deprese ettiği bilinen, bitkisel kaynaklı bir alkaloid olan *monokrotalin* enjeksiyonu yanı sıra TMZ tedavisine alınan sıçanlarda, sadece monokrotalin verilen gruba göre, kardiyak yetersizliğin daha hafif geliştiği ve ATP üretimi, MDA ve süperoksid oluşumunun önemli oranda düştüğü saptanmıştır (31). Benzer bir düşünce ile, serbest radikal gelişiminin etken olduğu düşünülen doksorubisin'in miyokard toksisitesine TMZ'in etkisini araştırdıkları çalışmada Perletti ve ark (62), TMZ ile tedavi edilen sıçanlarda erken kardiyotoksik bulgularda önemli azalma gözlemişlerdir.

Catroux ve ark (15), sıçanda, postiskemik akut renal yetersizlikte TMZ'in antilipoperoksidan etkisini açıkça göstermişlerdir. Daha önce tek böbreği alınmış sıçanların bir grubuna, 5 gün süreyle oral yoldan 2.5 mg/kg/gün TMZ, diğer grubuna plasebo verilmiş, kalan böbreğin pedikülünün oklüzyonu ve bunu izleyen reperfüzyondan sonra, çıkarılan böbrek dokusunda TMZ alan grupta MDA düzeyinin anlamlı olarak azaldığı bildirilmiştir (15).

Charlon ve ark (16) ise, 5 gün süreyle 2.5 mg/kg dozda TMZ ile tedavi edilen sıçanların kalbini, aorttan sabit basınçla perfüze etmişler, bir total iskemi fazından sonra reperfüzyon yaparak likid azot içinde dondurmuşlardır. Bu çalışmada, serbest radikallerin hücresel eliminasyonundan sorumlu temel enzimlerin aktivitesinin değişmediği, ancak, TMZ ile tedavi edilen grupta, MDA konsantrasyonunda %17'lik bir azalma ($p<0.001$) olduğu tespit edilmiş, ayrıca, elektronik paramanyetik rezonans spektroskopisi ile, lipid peroksitlere karşılık gelen sinyalin TMZ alan grupta 2/3 oranında düşük olduğu saptanmıştır. Aynı şekilde, iskemi-reperfüzyona tabi tutulmuş izole kalp üzerinde, elektronik paramanyetik rezonans spektroskopisinde Maupoil ve ark (48), kalbin TMZ ile perfüze edilmesinin serbest radikallere bağlı sinyalde %20'lik bir azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir.

Bir başka çalışmada ise, terapötik dozda TMZ alan sağlıklı gönüllülerden toplanan entrositlerde, süperoksid anyonları ve diğer serbest oksijen radikallerinin hücre membranına etkisinin hafiflediği, lipid peroksidasyon göstergelerinin azaldığı gözlenmiştir (46).

AMAÇ

Bu çalışmada, sıçanlarda sc serülein enjeksiyonları ile oluşturulmuş bir AP modelinde, TMZ'nin (a) histolojik iyileşmeye ve hiperamilazeminin azaltılmasına katkısını ve (b) AP'in değişik evrelerinde meydana gelen lipid hidroperoksidlerin indirekt göstergesi olan doku MDA düzeylerine etkisini araştırmayı amaçladık.



GEREÇ VE YÖNTEM

HAYVANLAR Çalışmaya 43 adet, erkek, ağırlıkları 240-255 g arasında Wistar albino sıçan alınmıştır. Hayvanlar, Ege Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Merkezi'nden temin edilmişlerdir. Her hayvan, deney süresince kendi tel kafesinde tutulmuş ve altındaki özel delikli tel sistemi ile dışkılarını yemeleri engellenmiştir.

ÇALIŞMA YERİ Bu çalışma, EÜ Deneysel Cerrahi laboratuvarında yapılmıştır.

ÇALIŞMA PROTOKOLÜ *Evre I:* Hayvanlar dört gruba ayrılmıştır (Grup I, III ve IV onbir, Grup II on hayvan). Tüm hayvanlar, 7 gün, TMZ veya serum fizyolojik'le (SF) şu şekilde ön tedaviye tabi tutulmuşlardır: Grup I ve III: SF, 1 cc/gün, intraperitoneal (ip); Grup II ve IV: TMZ (Trimetazidin dihidroklorür, Servier İlaç ve Araştırma AŞ, İstanbul) 2.5 mg/kg/gün, 1 cc, ip.

Evre II: 7 günlük ön tedaviden sonra deney süreci başlatılmıştır. Deneiden 12 saat önce aç bırakılan hayvanlara AP indüksiyonu için, ip serülein veya plasebo (SF) uygulanmıştır: Grup I ve II'ye: Birer saat ara ile, dört kez, 1 cc SF, subkutan (sc); Grup III ve IV'e: Birer saat ara ile, dört kez, serülein (Takus^R, Farmitalia Carlo Erba GmbH) 20 µg/kg, sc.

Evre III: Plasebo ve serülein ile AP indüksiyonu başlatıldıktan 12 saat sonra, servikal dislokasyonla hayvanların yaşamına son verilmiştir. Önce intrakardiyal ponsiyonla amilaz tayini için 4 cc kan alınmıştır. Daha sonra laparotomi yapılarak pankreas bütün halinde çıkarılmış, SF ile yıkanarak, aşağıdaki işlemler yapılncaya kadar geçen maksimum 20 dakika süre için polietilen tüplerde, buzlu kavanozda tutulmuştur. Çıkarılan pankreasları:

- a- Bütün olarak ağırlıkları ölçülmüştür.
- b- Pankreaslar, ikisi küçük üç parçaya ayrılmıştır.
- c- Büyük parça histopatolojik inceleme için %10 formol solüsyonuna konmuştur.
- d- Küçük parçalardan biri, MDA ölçümü için polietilen tüplere yerleştirilmiş, tüpler parafinle kapatılarak, MDA ölçümü yapılncaya kadar (4 gün) -20 °C'da saklanmıştır.
- e- İkinci küçük pankreas dokusu, yukarıdaki gibi hazırlanarak, glutatyon peroksidaz aktivitesi tayini için -20 °C'da saklanmaktadır. Bu işlem henüz yapılmamıştır.

HISTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME Hematoksilen-eozin ile boyanan pankreas kesitleri, ışık mikroskobunda, deney protokolünden ve pankreasın ait olduğu hayvana yapılan işlemden habersiz bir patoloj tarafından değerlendirilmiştir.

Değerlendirmede, Schoenberg ve ark.nın (75) önerdiği derecelendirme ve evrelendirme skalası kullanılmıştır:

Ödem: Derece 0= Doku ödemi yok, derece 1= interlobüler ödem, derece 2= ılımlı interlobüler ve intra-asiner ödem, derece 3= şiddetli interlobüler ve intra-asiner ödem.

Nötrofilik Yangısal Yanıt (NYY): Evre 1= Kapiller ve postkapiller venüllerde granüositlerin intravasküler marjinasyonu, evre 2= perivasküler dokuda granüosit bulunması, evre 3= tüm dokuda yaygın infiltrasyon.

SERUM ALFA-AMILAZ ÖLÇÜMÜ 2 ml amilaz reageni (DMA, Inc, Arlington, Texas) deney tübünde 37 °C'a kadar ısıtıldıktan sonra, 0.05 ml 1/5 dilüe serum buna eklenmiş ve yumuşak olarak karıştırılmıştır. 30 sn, 37 °C'da inkübasyonun ardından, spektrofotometrede 405 nm dalga boyunda 60 sn aralıklarla dört kez absorbans okunmuştur. Bir dakikada gözlenen ortalama absorbans artışı, önerilen katsayı ve dilüsyon rakamı ile çarpılarak amilaz aktivitesi elde edilmiştir.

DOKU MDA ÖLÇÜMÜ Dokular soğuk % 1.15 KCl ile yıkandıktan sonra, 2.5 ml KCl ile homojenize edilmiştir. 3000 devir/dk'da 15 dk santrifüj edildirmesinin ardından, 0.5 ml homojenizat veya standard üzerine 0.4 ml % 8.1 sodyum dodesil sülfat + 3.5 pH'ta, 1 ml % 20 asetik asit + 1 ml % 0.8 tiobarbitirik asit ilave edilerek karıştırılmıştır. Karışım, 40 dk kaynar su banyosunda tutulmuş, buz içinde soğutulmuş ve 535 nm dalga boyunda spektrofotometrede köre karşı absorbansı okunmuştur. Köre numunesinde homojenat yerine, KCl kullanılmıştır.

Standardlar, tetrametoksi propan ile hazırlanmıştır. Sonuçlar, standard grafikten nmol olarak bulunmuştur. Değerlendirme nmol/yaş ağırlık (g) olarak yapılmıştır.

İSTATİSTİK DEĞERLENDİRME Veriler, ortalama±standard sapma olarak sunulmuştur. Multipl parametrik verilerin karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ikili karşılaştırmalarda Student *t*. testi kullanılmıştır. Histolojik derecelendirme ve evrelendirmelerin gruplar arası farklılaşmasının önemini değerlendirmek için Mann Whitney U testi'nden yararlanılmıştır. p<0.05 önemlilik sınırı olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

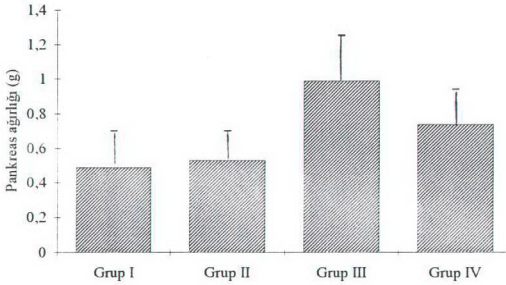
Araştırma tamamlanincaya kadar herhangi bir hayvan ölmemiş ve hasta görünümü vermemiştir. Histopatolojik incelemeler sırasında, Grup III'de 11. hayvanın pankreasında yaygın mantar enfeksiyonu kanıtları bulunduğu için bu hayvanın verileri değerlendirmeye alınmamıştır.

Hayvanlar sakrifiye edildikten sonra, çıkarılan pankreaslarda en fazla ağırlık artımı, SF ile plasebo ön tedavisinden sonra serüleinle AP uyarılan grupta (Grup III) gözlenmiştir. Grup I ve Grup II (AP uyarılmayan hayvanlar) pankreas ağırlığı yönünden benzerdi. TMZ ön tedavisinden sonra, serüleinle AP uyarılan hayvanların (Grup IV) pankreas ağırlığı, Grup I ve II ile Grup III'tekilerin arasında bulundu ve diğer grupların pankreas ağırlıklarından istatistik önemde farklılaşma gösteriyordu ($p<0.05$) (Tablo II, VI, Şekil 1).

Tablo II: Pankreas ağırlıkları (g.)

No	Grup I (SF+SF)	Grup II (TMZ+SF)	Grup III (SF+Cer)	Grup IV (TMZ+Cer)
1	0,59	0,73	0,91	0,67
2	0,34	0,47	1,35	0,66
3	0,77	0,55	0,75	0,86
4	0,69	0,63	0,63	0,94
5	0,41	0,28	0,85	1,12
6	0,8	0,5	0,84	0,53
7	0,48	0,71	1,12	0,94
8	0,23	0,36	1,3	0,58
9	0,18	0,72	0,82	0,66
10	0,58	0,34	1,32	0,74
11	0,37			0,45
Ort.±SD	0,49±0,21	0,53±0,17	0,99±0,26	0,74±0,20

SF: Serum fizyolojik, TMZ: Trimetazidin, Cer: Serülein.



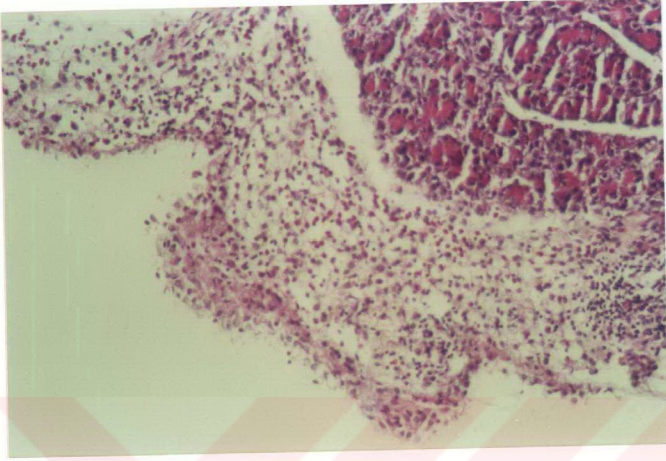
Şekil I: Çalışma gruplarında pankreas ağırlıkları.

Pankreas kesitlerinin histopatolojik incelemeleri sonucunda, Grup I ve II'de ödem ve NYY saptanmamıştır. Plaseboda sonra AP yapılan tüm hayvanlarda (Grup III) değişik derecelerde bu reaksiyonlar gelişmiştir (Resim 1,2). TMZ ön tedavisinin ardından serüleinin AP uyanılan hayvanlardan (Grup IV) sadece üçünde ödem ve NYY gözlenmiştir (Tablo III). Ödem derecesi, Grup III'de ortalama 2.7 ± 0.5 iken, Grup IV'de 0.5 ± 0.8 bulunmuştur ($p < 0.001$). NYY evresi ise, Grup III'de ortalama 2.6 ± 0.6 bulunmasına karşın, Grup IV'de 0.7 ± 1.3 olarak saptanmıştır ($p < 0.01$). Öte yandan, değerlendirme kriteri olarak alınmamasına karşın, Grup III'deki hemen tüm olguda ve IV'dekilerin çoğunda asiner hücrelerde vakuolizasyon dikkati çekmiştir.

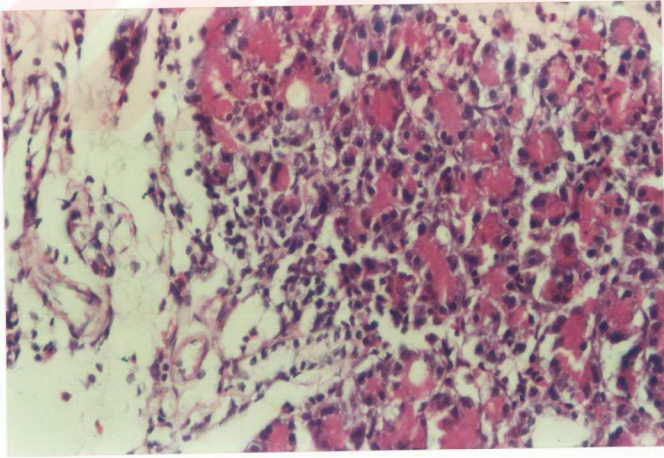
Tablo III: Pankreas kesitlerinin histopatolojik sonuçları.

Grup I (SF+SF)		Grup II (TMZ+SF)		Grup III (SF+Cer)		Grup IV (TMZ+Cer)	
Ödem	NYY	Ödem	NYY	Ödem	NYY	Ödem	NYY
0	0	0	0	3	3	0	0
0	0	0	0	3	3	0	0
0	0	0	0	2	2	0	0
0	0	0	0	2	3	0	0
0	0	0	0	3	3	0	0
0	0	0	0	3	2	2	3
0	0	0	0	2	2	1	2
0	0	0	0	3	3	0	0
0	0	0	0	3	2	0	0
0	0	0	0	3	3	0	0
0	0					2	3

SF: Serum fizyolojik, TMZ: Trimetazidin, Cer: Serülein, NYY: Nötrofilik yangısal yanıt.



Resim 1: Pankreas dokusu çevresinde ve içinde yoğun nötrofil lökosit infiltrasyonu ve bağ dokusunda gevşek görünüme yol açan ödem (HEx10).



Resim 2: Pankreas asinusları arasında nötrofilik infiltrasyon (HEx20).

Serum amilaz aktiviteleri de, pankreas ağırlıklarındaki benzer bir dağılım göstermiştir. SF ve TMZ ön tedavisinden sonra AP uyanılmayan gruplarda yaklaşık ortalama 5000 Ü/L alfa-amilaz aktivitesi saptanırken, Plasebodan sonra AP uyanılan grupta (Grup III), alfa-amilaz aktivitesinin anlamlı olarak ($p<0.001$) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan, TMZ ön tedavisinden sonra AP uyanılan hayvanların alfa-amilaz aktiviteleri de, Grup III'dekilerden önemli derecede düşük bulunmuştur ($p<0.001$) (Tablo IV, VI).

Tablo IV: Serum amilaz aktiviteleri (Ü/L).

No	Grup I (SF+SF)	Grup II (TMZ+SF)	Grup III (SF+Cer)	Grup IV (TMZ+Cer)
1	5296	3417	10079	7260
2	4100	5125	9340	9396
3	5979	5204	8371	4100
4	4883	3929	8542	4613
5	5638	5638	8713	6244
6	7688	-	8590	7004
7	5894	4783	9931	8115
8	4271	4918	9396	5979
9	-	5345	8892	5125
10	3417	5296	10421	6490
11	5100			8833
Ort.±SD	5227±1194	4851±723	9228±721	6651±1690

SF: Serum fizyolojik, TMZ: Trimetazidin, Cer: Serülein.

Pankreas MDA konsantrasyonu Grup III'de en yüksek düzeyde bulunmuştur. TMZ ön tedavisi olarak AP uyanılan hayvanlardaki (Grup IV) MDA düzeyi, Grup III'dekilerden önemli olarak düşük ($p<0.01$), fakat aynı zamanda Grup I ve II'dekilerden önemli olarak yüksek ($p<0.001$) saptanmıştır (Tablo V, VI).

Tablo V: Pankreas dokusunda malondialdehid konsantrasyonları (nmol/gr.yaş ağırlık).

No	Grup I (SF+SF)	Grup II (TMZ+SF)	Grup III (SF+Cer)	Grup IV (TMZ+Cer)
1	0	0,221	0,909	0,448
2	0,01	0,1	1,105	0,441
3	0	0,115	0,875	0,407
4	0	0,071	0,966	0,475
5	0,02	0,09	1,125	0,484
6	0,083	0	0,894	0,466
7	0,135	0,119	0,515	0,416
8	0,212	0,01	0,27	0,394
9	0,151	0,018	0,157	0,215
10	0,321	0,04	0,546	0,115
11	0,286			0,188
Ort.±SD	0,111±0,120	0,078±0,067	0,736±0,342	0,368±0,131

SF: Serum fizyolojik, TMZ: Trimetazidin, Cer: Serülein.

Tablo VI: Çalışmaya alınan tüm gruplarda pankreas ağırlıkları, serum amilaz aktivite ve doku malondialdehid düzeyleri.

	Grup I (SF+SF)	Grup II (TMZ+SF)	Grup III (SF+Cer)	Grup IV (TMZ+Cer)
n	11	10	10	11
Pankreas ağırlığı (g)	0,49±0,21	0,53±0,17	0,99±0,26 *** ^{¶¶¶}	0,74±0,20 * [†]
S. Amilaz aktivitesi (Ü/L)	5227±1194	4851±723	9228±721 *** ^{¶¶¶}	6651±1690 * ^{¶¶¶}
Pankreas MDA konsantrasyonu (nmol/g.yaş ağırlık)	0,111±0,120	0,078±0,067	0,736±0,342 *** ^{¶¶¶}	0,368±0,131 *** ^{¶¶¶} ††

Serum amilaz aktivitesi, Grup I'de 10, Grup II'de 9 hayvanda çalışılmıştır. SF: Serum fizyolojik, TMZ: Trimetazidin, Cer: Serülein, MDA: Malondialdehid. Grup I'e göre * p<0.05, *** p<0.001; Grup II'ye göre ¶ p<0.05, ¶¶ p<0.01, ¶¶¶ p<0.001; Grup III'e göre, † p<0.05, †† p<0.01, ††† p<0.001.

TARTIŞMA

AP'te medikal tedavi, temel olarak vital bulguların izlenmesi, normal intravasküler volümün sürdürülmesi, elektrolit dengesinin sağlanması, analjezi ve muhtemel komplikasyonların tedavisi ilkelerini içermektedir. AP'in tedavisinde hiçbir ilaç uygulamasının yararı, bugüne kadar net olarak gösterilebilmiş değildir ve ilaç arayışları sürmektedir. Aprotinin, gabeksat mesilat, glukagon, kalsitonin değişik çalışmalarda kullanılmış, yararlı etkileri saptanmamıştır (37,55). Pankreasın enzim salgılamasını baskıladığından, somatostatin'in teorik olarak AP'te yarar sağlayabileceği düşünülmüş, bir çok çalışmada, ya çok az yararlı bulunmuş veya faydası gösterilememiştir (17,20,80). Fakat altı kontrollü çalışmanın metaanalizinde somatostatinin yararlı olduğu yönünde bulgular elde edilmiştir (11). Önceleri, pankreatik sekresyonları azalttığı düşünülen antikolinerjiklerin olumlu katkısının olmadığı anlaşılmıştır. Diğer taraftan, H₂ reseptör blokörü ve profilaktik antibiyotik kullanımının da, bir değeri olmadığı kabul edilmektedir.

Bu prelininer çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar, ümit vericidir. AP şiddetini derecelendirmek için alınan, ödem gelişimi ve NYY kriterleri, TMZ ön tedavisi uygulanan sadece üç hayvanın pankreasında ortaya konabilmiştir. Deneysel çalışmalarda AP'in değerlendirilmesinde en çok kullanılan diğer iki kriter, pankreas ağırlığı ve hiperamilazemidir. SF ön tedavisinden sonra serüleinde AP oluşturduğumuz hayvanlarda pankreas ağırlığı en fazla bulunmuştur. Oysa, TMZ ön tedavisinden sonra AP uyanıklarda bu organın ağırlığı önemli derecede daha düşüktür. Bununla beraber, TMZ ön tedavisi alan ve almayan AP uyanılmamış hayvanların pankreas ağırlıkları diğer iki gruptan da düşük bulunmuştur (Tablo VI). Amilazemi aktiviteleri de, pankreas ağırlıklarında elde edilen örneği göstermiştir.

Bu sonuçlar, TMZ'in sıçanlarda serüleinde uyanılmış AP'te belirgin bir koruyucu etkisinin varlığını açıkça ortaya koymaktadır. Yani sıra, TMZ ön tedavisinden sonra pankreatik uyanıklarda hayvanlarda pankreas MDA konsantrasyonlarının önemli ölçüde azalması, ilacın koruyucu rolünü, serbest oksijen radikallerini elimine ederek yaptığının bir kanıtı kabul edilebilir.

Serüleinde indüklenen pankreatit modelini seçmemizin nedeni, lezyonların hızlı olarak meydana gelmesi, noninvaziv bir yöntem olması ve insan pankreatitine benzerlikleri (66) nedeniyledir. Serüleinde oluşturulan AP modeli, AP çalışmalarında ve bu hastalıkta potansiyel terapötik ajanların değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmıştır (3,4,74)

Bir dekaeptid olan serülein, ilk önce *Hyla caerulea* isimli Avustralya kurbağasının derisinden izole edilmiştir (5). Sıçanlara hem bolüs enjeksiyon olarak, hem de intravenöz infüzyon şeklinde verildiği zaman, bir kaç saat içinde pankreasta belirgin ödem, histolojik olarak asiner hücrelerin vakuolizasyonu, lökosit infiltrasyonu gibi değişiklikler ve serum amilaz aktivitesinde artma ile karakterize akut ödematöz pankreatit yaptığı açık şekilde dökümante edilmiştir (2,4,42,82). Farelerde ise, yaygın nekrozlarla giden bir pankreatite neden olmaktadır (57). Bu çalışmada da, plasebo ön tedavisi yapılmış sıçanların tümünde sc serülein enjeksiyonları ile akut ödematöz bir pankreatit geliştiği histopatolojik olarak saptanmıştır. Serülein uygulanmayan grupların pankreasları ise, tümüyle normal bulunmuştur.

Serüleinle oluşturulan AP'te, serbest oksijen radikallerinin kaynağı nedir? Bu açıkça bilinmiyor, fakat bazı bulgular var. Örneğin, Sanfey ve ark (72), izole perfüze köpek pankreas modellerinde ve Wisner ve ark (88) ise, sıçanlarda serüleinle oluşturulan AP modelinde, bir ksantin oksidaz inhibitörü olan allopürinol'ün erken dönemde meydana gelen pankreas ödemi ve hiperamilazemiyi anlamlı olarak azalttığını göstermişlerdir. Ayrıca, Rutledge ve ark (69), farelerde diyetle uyarılan akut letal hemorrajik pankreatitte, allopürinol'ün hiperamilazemi, pankreas nekroz büyüklüğü ve farelerin ölüm oranını değiştirmeyse de, peripankreatik ödemi azalttığını bildirmişlerdir. Bu bulgular, ksantin oksidaz'ın en azından farklı hayvan modellerinde AP patogenezi katıldığını göstermeleri yönünden birbiri ile uyumludur.

Ksantin oksidaz, ksantin dehidrogenaz'ın intra selüler enzimatik konversiyonu ile meydana gelir ve moleküler oksijenin süperoksid anyonuna indirgenmesinden sorumlu bir enzimdir.

Yukarıdaki çalışmalardan farklı olarak, Devenyi ve ark (25), farelerde serüleinle meydana getirilen AP'te, pankreatik ksantin oksidaz aktivitesi saptayamamışlardır. Ayrıca allopürinolün de, bu deneysel modelde pankreas ödemi ve hiperamilazemiyi değiştirmedeği görülmüştür (25).

Devenyi ve ark.nın (25) ve diğer çalışmaların arasındaki uyumsuzluk, hayvan türlerindeki değişiklik, doz farklılıkları ve allopürinol'ün tedavi süresindeki farklılıkların sonucu olabilir. Yine de bu veriler göstermektedir ki, AP'te serbest oksijen radikallerinin kaynağını ve rolünü anlamak için başka araştırmalara da gereksinim vardır.

MDA, lipid peroksidasyonu esnasında meydana gelen bir yan üründür ve serbest radikal yapısını değerlendirmek için kullanılmaktadır. Serülein'le uyarılan AP'te, doku MDA

düzeyinin ne zaman doruk noktasına ulaştığı ve ne zaman kaybolduğuna ilişkin değişik modellerde, farklı sonuçlar bildirilmiştir. Schoenberg ve ark (75), serülein infüze edilen sıçanlarda, 30 dakika sonra pankreas dokusu MDA düzeyinin arttığını ve 3.5 saat sonra pik yaparak 12 saat sonra normale döndüğünü göstermişlerdir. Buna karşın, Dabrowski ve ark (21), aynı dozda 12 saat serülein infüze edilen sıçanların pankreas dokusundaki MDA düzeylerinin, sadece 3 saat infüze edilenlerinkinden de yüksek olduğunu saptamışlardır. Yine, Dabrowski ve Gabryelewicz (22), sıçanlarda intraduktal %5 N-taurocholate enjeksiyonu ile hemorajik pankreatit yapmışlar, doku MDA düzeylerinin 24. saatte normale döndüğünü tespit etmişlerdir. Bizim modelimizde serülein, sc enjeksiyonlarla verilmiştir ve indüksiyonun başlamasından sonraki 12. saatte, yüksek MDA konsantrasyonu saptanabilmiştir. Pankreas örneklerinin daha önceki veya sonraki saatlerde incelenmesi ile çok daha anlamlı sonuçlar alınması muhtemeldir. Farklı modellerin farklı bulguları da olsa bu sonuçlar, serbest oksijen radikallerinin ortaya çıkışının AP'nin erken döneminde olduğunu ve klinikte ilk 24 saatte başlanacak bir radikal eliminasyon tedavisinin yararlı sonuçlar getireceğini düşündürmektedir.

Trimetazidin'in farklı hayvan türlerinde, değişik AP deneysel desenlerinde denenmesi ile ağır hemorajik pankreatit'teki etkinliği ve klinik kullanım için elverişliliği daha da aydınlanacaktır.

Sonuç olarak, sc serülein enjeksiyonları ile uyarılmış sıçan AP modelinde, TMZ pankreası histolojik olarak korumaktadır ve hiperamilazemiye azaltmaktadır. TMZ ön tedavisinin, akut pankreatit uyarılan hayvanların pankreas MDA konsantrasyonunda oluşturduğu önemli düşme ise, ilacın bu yararlı etkisini serbest oksijen radikallerinin eliminasyonu yoluyla gerçekleştirdiğini düşündürmektedir.

ÖZET

Oksijen radikallerinin eliminasyonunda yararlı etkileri bilinen bir ilaç olan trimetazidin'in, sıçanlarda subkutan serülein enjeksiyonları ile uyarılmış akut pankreatitte histolojik iyileşme ile hiperamilazeminin azaltılmasına katkısını ve pankreas malondialdehid konsantrasyonuna etkisini araştırmayı amaçladık.

Çalışmaya 43 erkek Wistar albino sıçan alınmıştır. Hayvanlar dört gruba ayrılmıştır. Yedi gün süreyle Grup I ve III'e serum fizyolojik (1 cc/gün, ip), Grup II ve IV'e trimetazidin (2.5 mg/kg/gün, 1 cc, ip) ön tedavisi uygulanmıştır. Ön tedaviden sonra, Grup III ve IV'e birer saat ara ile, dört kez, serülein 20 µg/kg, sc enjekte edilerek akut pankreatit uyarılmıştır.

12 saat sonra, servikal dislokasyonla yaşamına son verilen hayvanların laparotomi ile pankreasları çıkarılmıştır. En fazla pankreas ağırlık artımı, Grup III'de gözlenmiş ve Grup IV'dekilerin pankreas ağırlığı, Grup III'dekilerden önemli olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Pankreas histopatolojisinde de, Grup IV'de ödem ve nötrofilik yangısal yanıt Grup III'e göre anlamlı olarak daha az saptanmıştır ($p<0.001$, $p<0.01$).

SF ve TMZ ön tedavisinden sonra AP uyanılmayan gruplarda yaklaşık ortalama 5000 Ü/L alfa-amilaz aktivitesi saptanırken, plasebodan sonra AP uyanılan grupta (Grup III), alfa-amilaz aktivitesinin anlamlı olarak ($p<0.001$) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan, TMZ ön tedavisinden sonra AP uyanılan hayvanların (Grup IV) alfa-amilaz aktiviteleri de, Grup III'dekilerden önemli derecede düşük bulunmuştur ($p<0.001$).

Pankreas MDA konsantrasyonu Grup III'de en yüksek düzeyde gözlenmiştir. Trimetazidin ön tedavisi olarak AP uyanılan hayvanlardaki (Grup IV) malondialdehid düzeyi, Grup III'dekilerden önemli olarak düşük ($p<0.01$), fakat aynı zamanda Grup I ve II'dekilerden önemli olarak yüksek ($p<0.001$) saptanmıştır.

Bu sonuçlara göre, sıçanlarda sc serülein enjeksiyonları ile uyanılan akut pankreatitte trimetazidin pankreası histolojik olarak korumakta ve hiperamilazemiyi azaltmaktadır. Bu ilaçla ön tedavinin, pankreas malondialdehid konsantrasyonunda oluşturduğu önemli düşme ise, ilacın bu yararlı etkisini, serbest oksijen radikallerini elimine etmek suretiyle yaptığını düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

- 1 Abuchowski A, McCoy JR, Palczuk NC, et al: Effect of covalent attachment of polyethylene glycol on immunogenicity and circulating life of bovine liver catalase. *J Biol Chem* 252:3582, 1977
- 2 Adler G, Hupp T, Kern HF: Course and spontaneous regression of acute pancreatitis in the rat. *Virchows Arch Path Anat Histol* 382:31, 1979
- 3 Adler G, Kern HF, Scheele GA: Experimental models and concepts in acute pancreatitis. VLW Go, FP Brooks, EP DiMagno, JD Gardner, E Leberthal, GA Scheele (eds). *The Exocrine Pancreas: Biology, Pathobiology, and Diseases*. New York, 1986, Raven Press. p 407
- 4 Adler G, Rohr G, Kern HF: Alteration of membrane fusion as a cause of acute pancreatitis in the rat. *Dig Dis Sci* 27:993, 1982
- 5 Anastasi A, Erspamer V, Endean R: Isolation and structure of caerulein, an active decapeptide from the skin of *Hyla caerulea*. *Experientia* 15:699, 1967
- 6 Anderson MC, Mohn WH, Method HL: An evaluation of the common channel as a factor in pancreatic or biliary disease. *Ann Surg* 151:79, 1960
- 7 Arthur MJP, Bentley IS, Tanner AR, et al: Oxigen-derived free radicals promote hepatic injury in the rat. *Gastroenterology* 89:1114, 1985
- 8 Auscher C, Amory N, Pasquier C: Localization of xanthine oxidase activity in hepatic tissue. A new histochemical method. *Adv Exp Med Biol* 76:605, 1977
- 9 Ayoub S, Cruz C, Clauser P, et al: Effects of trimetazidine on calcium injury of anoxic myocytes. Ionic currents and ischemia. Leuven University Press, 1990, p 322
- 10 Baker GL, Corry RJ, Autor AP: Oxygen free radical induced damage in kidneys subjected to warm ischemia and reperfusion. *Ann Surg* 202:628, 1985
- 11 Baxter JN, Imrie CW, McKay CJ: Acute pancreatitis and octreotide. *Lancet* 338: 389, 1991
- 12 Bert P: Barometric pressure: researches in experimental physiology. Paris, 1878. Translated by MA Hitchcock and FA Hitchcock. Columbus, Ohio: College Book, 1943 (Guice KS, et al: Superoxyde dismutase and catalase: a possible role in established pancreatitis. *Am J Surg* 151:163, 1986)dan alınmıştır.
- 13 Bricaud H, Brottier L, Barat JL, et al: Cardioprotective effect of trimetazidine in severe ischemic cardiomyopathy. *Cardiovasc Drugs Ther* 4 (suppl 4p):861, 1990
- 4 Buchler M, Malfertheiner P, Schadlich H, et al: Role of phospholipase A2 in human acute pancreatitis. *Gastroenterology* 97:1521, 1989
- 15 Catroux P, Cambar J, Benchekroun N, et al: Antilipoperoxidant effect of trimetazidine in post ischaemic acute renal failure in the rat. *Adv Exp Med Biol* 264P:383, 1990

- 16 Charlon V, Boucher F, Clauser P, et al: Effect of a 5 day trimetazidine pretreatment in a model of ischemic and reperfused isolated rat heart: spin trapping experiments. *Adv Exp Med Biol* 264P:377, 1990
- 17 Choi TK, Mok F, Zhan WH, et al: Somatostatin in the treatment of acute pancreatitis: a prospective randomized controlled trial. *Gut*, 30:223, 1989.
- 18 Corfield AP, Cooper MJ, Williamson RC: Acute pancreatitis: a methal disease of increasing incidence. *Gut* 26:724, 1985
- 19 Crapo JD, Delong DM, Sjostrom K, et al: The failure of aerosolized superoxide dismutase to modify pulmonary oxygen toxicity. *Am Rev Respir Dis* 115:1027, 1977
- 20 D'Amico D, Favia G, Biasiato R: The use of somatostatin in acute pancreatitis: results of a multicenter trial. *Hepato-gastroenterology* 37:92, 1990
- 21 Dabrowski A, Gabryelewicz A, Wereszczynska-Siemiatkowska U et al: Oxygen-derived free radicals in cerulein-induced acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 23:1245, 1988
- 22 Dabrowski A, Gabryelewicz A: Oxidative stress. An early phenomenon characteristic of acute experimental pancreatitis. *Int J Pancreatol* 12:193, 1992
- 23 Dalla-Volta S, Maraglino G, Della-Valentina P, et al: Comparison of trimetazidine with nifedipine in effort angina: a double-blind, crossover study. *Cardiovasc Drugs Ther* 4 (suppl 4p):853, 1990
- 24 Del Maestro RF: An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol Scand* 492 (suppl):153, 1980
- 25 Devenyi ZJ, Orchard JL, Powers RE: Xanthine oxidase activity in mouse pancreas: effects of caerulein-induced acute pancreatitis. *Biochem Biophys Res Commun* 149:841, 1987
- 26 Eastwood GL, Avunduk C: *Manuel of Gastroenterology*, Little Brown and Company, 1988, Boston, p 231
- 27 Fantone JC, Ward PA: Oxygen-derived free radicals and their metabolites: relationship to tissue injury. *Curr Concepts Kalamazoo, Mich: The Upjohn Co, 1985:4*
- 28 Fitoussi M, Rochette L, Bralet J, et al: Incidences fonctionnelles et metaboliques d'un pretraitement par la trimetazidine au niveau du coeur de rat. *Arch Mal Coeur* 78:460, 1985 (abstract)
- 29 Gargoil YM, Chahine M: Effects de la trimetazidine sur les mouvements ioniques cellulaires dans le myocarde. *Gaz Med (France)* 91:40, 1984
- 30 Geokas MC, Baltaxe HA, Banks PA, et al: Acute pancreatitis. *Ann Intern Med*, 103:86, 1985
- 31 Guarnieri C, Muscari C: Beneficial effects of trimetazidine on mitochondrial function and superoxide production in the cardiac muscle of monocrotaline-treated rats. *Biochem Pharmac* 37:4685, 1988
- 32 Guice KS, Miller DE, Oldham KT, et al: Superoyd dismutase and catalase: a possible role in established pancreatitis. *Am J surg* 151:163, 1986

- 33 Gutteridge JMC, Halliwell B: The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *TIBS* 15:129, 1990
- 34 Hassan HM: Oxygen toxicity and mutagenesis in prokaryotes. G. Cohen, R.A. Greenwald (eds). *Oxy radicals and their scavenger systems*. Vol 1, New York, 1983, Elsevier Biomedical, p 198
- 35 Howard JM: Pancreatitis: multiple diseases with multiple causes and varying naturel histories (a progress report based on a clinical review). Howard JM, Jordan GL Jr, Reber HA (ed.): *Surgical Diseases of the Pancreas*, Lea & Febiger, Philadelphia, 1987. p171
- 36 İşler M, Özütemiz Ö, Batur Y: Akut pankreatit: 119 olgunun irdelenmesi. *Klinik ve Deneysel Cerrahi Dergisi* 1:244, 1993
- 37 Imrie CW, Benjamin IS, Ferguson JC: A single centre double blind trial of Trasylol therapy in primary acute pancreatitis. *Br J Surg* 65:337, 1978
- 38 Imrie CW: Acute Pancreatitis. Winawer SJ (ed.): *Management of Gastrointestinal Diseases*, Volume 1'de, Gower Medical Publishing, New York, 1992. p 8.1
- 39 Itoh M, Guth PH: Role of oxygen derived free radicals in hemorrhagic shock-induced gastric lesion in the rat. *Gastroenterology* 88: 1162, 1985
- 40 Jarasch ED, Bruder G, Heid HW: Significance of xanthine oxidase in capillary endothelial cells. *Acta Physiol Scand* 126 (suppl 548):39, 1986
- 41 Kuklinski B, Buchner M, Schweder R, et al: Akute pankreatitis -eine "free radical disease". Letalitassenkung durch natriumselenit (Na₂SeO₃)-therapie. *Z Gesamte Inn Med* 46:145, 1991
- 42 Lampel M, Kern HF: Acute interstitial pancreatitis in the rat induced by excessive doses of a pancreatic secretagogue. *Virchows Arch Pathol Anat Histol* 373:97, 1977
- 43 Lavanchy N, Martin J, Rossi A: Anti-ischemic effects of trimetazidine: ³¹P-NMR spectroscopy in the isolated rat heart. *Arch Intern Pharmacodyn Ther* 286:97, 1987
- 44 Lee SP, Nicholls JF, Park HZ: Biliary sludge as a cause of acute pancreatitis. *N Engl J Med* 326:589, 1992
- 45 Lerch MM, Saluja AK, Dawra R, et al: Acute necrotising pancreatitis in the opossum: earliest morphological changes involve acinar cells. *Gastroenterology* 103:205, 1992
- 46 Maridonneau-Parini I, Harpey C: Trimetazidine protects the human red blood cell against oxygen free radical damage. *Cardiovasc Drugs Ther* 4 (Suppl 4P):818, 1990
- 47 Marklund SL: Extracellular superoxide dismutase in human tissues and human cell lines. *J Clin Invest* 74: 1396, 1984
- 48 Maupoil V, Rochette L, Tabard A, et al: Direct measurement of free radical generation in isolated rat heart by electron paramagnetic resonance spectroscopy: effect of trimetazidine. *Adv Exp Med Biol* 264P:373, 1990
- 49 McCord JE: The superoxide free radical: Its biochemistry and pathophysiology. *Surgery* 94:412, 1983

- 50 McCord JM, English D: Superoxide dismutase: an anti-inflammatory drug. J.S. Holcenberg, J. Roberts (eds). Enzymes as drugs. New York, 1981, John Wiley, p 353
- 51 McCord JM, Fridovich I: Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem* 244: 6049, 1969
- 52 McCord JM, Roy RS: The pathophysiology of super-oxide: roles in inflammation and ischemia. *Can J Biochem Physiol Pharmacol* 60:1346, 1982
- 53 McCord JM: Free radicals and inflammation: protection of synovial fluid by superoxide dismutase. *Science* 185:529, 1974
- 54 Mentş NK: Klinik Gastroenteroloji, Cilt II, İzmir, 1983: 847-53.
- 55 MRC Multicentre Trial of Glucagon and Aprotinin. Death from acute pancreatitis. *Lancet* 2:632, 1977
- 56 Mueller HS, Chahine RA: Interim report of multicentre double-blind, placebo-controlled studies of nifedipine in chronic stable angina. *Am J Med* 71:645, 1981
- 57 Niederau C, Ferrell LD, Grendell JH: Caerulein-induced acute necrotizing pancreatitis in mice: Protective effects of proglumide, benzotript, and secretin. *Gastroenterology* 88: 1192, 1985
- 58 Parks D: Oxygen radicals: mediators of gastrointestinal pathophysiology. *Gut* 30:293, 1989
- 59 Parks DA, Bulkley GB, Granger DN: Role of oxygen-derived free radicals in digestive tract disease. *Surgery* 94:415, 1983
- 60 Parks DA, Granger DN: Ischemia-induced vascular changes: role of xanthine oxidase and hydroxyl radicals. *Am J Physiol* 245:G285, 1983
- 61 Parks DA, Granger DN: Xantine oxidase: biochemistry, distribution and physiology. *Acta Physiol Scand* 126 (suppl 548):87, 1986
- 62 Perletti G, Monti E, Paracchini L, et al: Effect of trimetazidine on early and delayed doxorubicin myocardial toxicity. *Arch Intern Pharmacodyn Ther* 302P:280, 1989
- 63 Petrone WF, English DK, Wong I, et al: Free radicals and inflammation: superoxide-dependent activation of neutrophil chemotactic factor in plasma. *Proc Natl Acad Sci usa* 77:1159, 1980
- 64 Proctor PH, Reholds ES: Free radicals and disease in man. *Physiol Chem Physiol Med NMR* 16:175, 1984
- 65 Renaud JF: Internal pH, Na⁺ and Ca⁺⁺ regulation by trimetazidine during cardiac cell acidosis. *Cardiovasc Drugs Ther* 1:677, 1988
- 66 Robert A, Lum JT, Lancaster C, et al: Prevention by prostaglandins of caerulein-induced pancreatitis in rats. *Laboratory Investigation* 60:677, 1989
- 67 Ros E, Navarro S, Bru C, et al: Occult microlithiasis in 'idiopathic' acute pancreatitis: prevention of relapses by chole-cystectomy or ursodeoxycholic acid therapy. *Gastroenterology* 101:1701, 1991

- 68 Rossi A, Lavanchy N, Martin J: Anti-ischemic effects of trimetazidine: ³¹P-NMR spectroscopy study in the isolated rat heart. *Cardiovasc Drugs Ther* 4:812, 1990
- 69 Rutledge PL, Saluja AK, Powers RE, et al: Role of oxygen-derived free radicals in diet-induced hemorrhagic pancreatitis in mice. *Gastroenterology* 93:41, 1987
- 70 Saluja A, Powers RE, Saluja M, et al: The role of oxygen-derived free radicals in caerulein-induced pancreatitis. *Gastroenterology* 90:1613, 1986
- 71 Sanfey H, Bulkley GB, Cameron JB: The role of oxygen-derived free radicals in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Ann Surg* 200:405, 1984
- 72 Sanfey H, Bulkley GB, Cameron JL: The pathogenesis of acute pancreatitis. The source and role of oxygen-derived free radicals in three different experimental models. *Ann Surg* 20:633, 1985
- 73 Sanfey H, Sarr MG, Bulkley GB, et al: Oxygen-derived free radicals and acute pancreatitis: a review. *Acta Physiol Scand (suppl)* 548:109, 1986
- 74 Scheele GA: Biochemical concepts and markers in acute pancreatitis. K.Gyr, M. Singer, H.Sarles (eds). *Pancreatitis: concepts and classification*. Amsterdam, 1984, Elsevier, p 19
- 75 Schoenberg MH, Büchler M, Gaspar M, et al: Oxygen free radicals in acute pancreatitis of the rat. *Gut* 31:1138, 1990
- 76 Sezer R: Akut pankreatitte klinik ve laboratuvar tanı kriterleri. *İÜ İstanbul Tıp Fakültesi Mecmuası* 49:315, 1986
- 77 Slater TF: Free radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J* 222:1, 1984
- 78 Steer ML, Meldolesi J, Figarella C: Pancreatitis: the role of lysosomes. *Dig Dis Sci* 29:934, 1984
- 79 Taylor AE, Martin D, Parker JC: The effects of oxygen radicals on pulmonary edema formation. *Surgery* 94:433, 1983
- 80 Usadel KH, Uberla KK, Leuschner U: Treatment of acute pancreatitis with somatostatin: results of a multicenter double-blind trial. *Dig Dis Sci* 30:992, 1985
- 81 Vincent MF, Van Den Berghe G, Hers HG: Metabolism of hypoxanthine in isolated hepatocytes. *Biochem J* 222:145, 1983
- 82 Watanabe O, Baccino FM, Steer ML, et al: Supramaximal caerulein stimulation and ultrastructure of rat pancreatic acinar cell: Early morphologic changes during development of experimental pancreatitis. *Am J Physiol* 246:G457, 1984
- 83 Weisiger RA: Oxygen radicals and ischemic tissue injury. *Gastroenterology* 90: 494, 1986
- 84 Weiss S: Oxygen, ischemia and inflammation. *Acta Physiol Scand* 126 (suppl 548):9, 1986
- 85 Williams FM, Tanda K, Kus M, et al: Inhibition of neutrophil accumulation in to ischemic-reperfused myocardium in the rabbit by trimetazidine. *J Mol Cell Cardiol*, 1992
- 86 Wilson C, Imrie CW: Deaths from acute pancreatitis: why do we miss the diagnosis so frequently. *Int J Pancreatol* 3:273, 1988

- 87 Wisner J, Green D, Ferrell L, et al: Evidence for a role of oxygen derived free radicals in the pathogenesis of caerulein induced acute pancreatitis in rats. *Gut* 29:1516, 1988
- 88 Wisner JR, Renner IG: Allopurinol attenuates caerulein- induced acute pancreatitis in the rat. *Gut* 29:926, 1988
- 89 Yanagisawa T, Satoh K, Taira N: Simultaneous assessment of the effects of trimetazidine on the myocardium and coronary vasculature of the dog. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 237:316, 1979

